

# ***Aeromonas hydrophila* Genel Bilgiler (Kaynak 1)<sup>1</sup>**

[01. Genel Bilgiler](#)

[02. \*A. hydrophila\* Standart Analiz Yöntemi](#)

[03. Örnek Hazırlama ve Analiz](#)

[04. Doğrulama Testleri](#)

[05. Hareketli \*Aeromonas\* Türlerinin Ayırt Edilmesi](#)

[06. \*A. hydrophila\* Tanımlanmasında Kullanılan Hızlı Yöntemler](#)

## **01. Genel Bilgiler**

*Aeromonas hydrophila*, Vibrionaceae familyasına ait, fakültatif anaerobik gram negatif, çubuk şeklinde, özellikle su ortamlarında bulunan bir bakteridir. *A. hydrophila* 'nın genel özellikleri; polar flagellumlu ve hareketli olması, glikozu fermentatif ve oksidatif olarak metabolize edebilmesi, oksidaz ve katalaz pozitif olması ve amilaz, proteaz, fosfolipaz ve DNase gibi ekzoenzimleri üretebilmesidir. *Aeromonas* cinsi sıcaklık gereksinimine ve hareketlilik özelliklerine göre *A. hydrophila* grubu (*A. hydrophila*, *A. caviae* ve *A. sobria*) ve *A. salmonicida* (*A. salmonicida* ve alt türleri) olarak iki gruba ayrılmaktadır. Buna göre *A. hydrophila* grubu hareketli olup 37 °C 'da gelişebilirken; *A. salmonicida* grubu hareketsiz olup 37 °C 'da gelişmemektedir. Bu nedenle *A. hydrophila* grubu genellikle "hareketli" veya "mezofilik" *Aeromonas* 'lar olarak adlandırılmaktadır.

Hareketli *Aeromonas* 'lar, tatlı ve tuzlu su kaynaklarında, kanalizasyon sularında ve başlıca diğer alıcı su kaynaklarında yaygın olarak bulunmakta ayrıca, serbest klor miktarına ve sıcaklığa bağlı olarak değişmekle birlikte, klorlanmış ve klorlanmamış içme sularında da sıklıkla rastlanmaktadır. Özellikle midye başta olmak üzere, balık ve diğer deniz ürünleri gibi su ile direkt temas halinde olan gıdalar hareketli *Aeromonas* 'ların en sık rastlanan bulaşma kaynakları arasındadır. Bunun dışında; soğukta muhafaza edilen kanatlı etleri, kırmızı etler, çiğ süt ve süt ürünleri ile sebzeler de hareketli *Aeromonas* 'lar açısından dikkat edilmesi gereken gıdalar arasındadır. Bilindiği gibi soğukta muhafaza edilen böyle ürünlerde baskın florayı *Pseudomonas* spp. oluşturmaktadır. Ancak modifiye atmosfer yöntemi ile paketlenmiş etlerde, başlangıçta çok düşük olan hareketli *Aeromonas* 'ların sayısı depolama süresi aşıldığında, 10<sup>6</sup> *A. hydrophila*/cm<sup>2</sup> düzeyine ulaşabilmektedir. Benzer şekilde çiğ sütlerde başlangıçta hareketli *Aeromonas* 'lara rastlanmazken, 5 °C 'da bir hafta depolamadan sonra organizma sayısı 10<sup>3</sup> – 10<sup>4</sup> /ml düzeyine ulaşmaktadır.

*A. hydrophila* insanlarda gastroenteritis, septisemi, pnomoni ve menenjit gibi enfeksiyonlara neden olmaktadır. Özellikle su veya toprak ile direkt temasın söz konusu olduğu yaralanmalarda, sağlıklı bireylerde enfeksiyon sadece yaralanmış bölge ile sınırlı kalırken; bağışıklık sistemi zayıf veya hasta bireylerde septisemi şeklinde görülmekte, hatta bazen ölüme bile neden olabilmektedir. *A. hydrophila* 'nın diğer bir bulaşma kaynağı ise insandır. Gıda ile direkt temas halinde çalışan insanlar bakterinin yayılmasında önemli bir taşıyıcı konumundadır.

---

<sup>1</sup> Kaynak : [Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları ; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü](#)

Hareketli *Aeromonas* 'ların patojenitesi, üretmiş oldukları sitotoksik ( $\beta$ -hemolisin) ve sitotonik (kolera benzeri) enterotoksinlerden kaynaklanmaktadır. Ayrıca bu bakterilerin, bağırsak mukozasına tutunma ve buradan da kana geçme özelliğine sahip oldukları bilinmektedir.

## 02. *A. hydrophila* Standart Analiz Yöntemi

Klinik örneklerde *Aeromonas* spp. aranmasında Sheep Blood agar (SBA), SBA+30 mg/l Ampicillin, SBA+10 mg/l Ampicillin ve Cefsulodin Irgasan Novobiocin agar (CIN A) en çok kullanılan besiyerleridir. Ancak gıda örneklerinde hareketli *Aeromonas* 'ların aranmasında, gıdanın zengin bir floraya sahip olması, işlem sırasında hücrelerde hasarlanmaların meydana gelmesi ve sayım yapılması gereken durumlarda bu besiyerleri kullanılamamaktadır. Hayvansal veya bitkisel taze gıdalarda *Aeromonas* spp. aranmasında *Aeromonas* besiyeri, Starch Ampicillin (SA) agar, modifiye SA agar, Bile Salts Brilliant Green Starch (BBGS) agar, Tryptic Soy agar (TSA), TSA+30 mg/l Ampicillin, Xylose-Deoxycholate (XDC) agar, Xylose-Galactosidase agar, CIN agar ve çok yaygın olmamakla birlikte Salmonella-Shigella agar besiyerleri kullanılması önerilmektedir. Çevresel örneklerden izolasyon yapılması gereken durumlarda ise genel amaçlı alkali peptonlu su (APW) besiyerinin zenginleştirme amacıyla kullanılabileceği belirtilmektedir.

Özellikle şişelenmiş içme suyu örneklerinde çok az sayıda bulunan hareketli *Aeromonas* 'ların izole edilmesinde ve *Aeromonas* sayımı yapılması gereken durumlarda membran filtrasyon yöntemi kullanılması önerilmektedir. Membran filtrasyon yönteminde kullanılan besiyerinde trehaloz, ampicillin ve etanol gibi selektif inhibitörlerin kullanılması izolasyonda daha başarılı sonuçlar alınmasını sağlamaktadır.

## 03. Örnek Hazırlama ve Analiz

*A. hydrophila* grubu mikroorganizmalar hayvansal ve bitkisel taze gıdalarda buzdolabı sıcaklığında rahatlıkla gelişebilmektedir. Bu nedenle analiz için gelen örneklerin olabildiğince hızlı bir şekilde laboratuvara getirilip, analize alınması gerekmektedir. Hareketli *Aeromonas* 'lar pH 5,5 'in altında zarar görebilmektedir. Bu nedenle asidik gıdaların analizine öncelik verilmesi gerekmektedir. Dondurulmuş gıdalarda *A. hydrophila* varlığının belirlenmesinde az sayıdaki hasar görmüş hücrelerinde kazanılması için zenginleştirme yapılması gerekmektedir. Zenginleştirme besiyeri olarak APW ve Tryptic Soy broth + 30  $\mu$ g/ml ampicillin (TSBA) besiyerleri kullanılmaktadır.

Gıdalarda *Aeromonas* spp. grubu mikroorganizma aranmasında kullanılan standart bir analiz yöntemi bulunmamaktadır. Ancak bir çok araştırmacının üzerinde fikir birliğine vardığı yönteme göre; 25 g gıda örneği 225 ml, %0,1 steril peptonlu su çözeltisinde homojenize edildikten sonra uygun dilüsyonlardan SA agar, modifiye SA agar veya BBGS agar besiyerlerine yayma kültür yöntemine göre ekim yapılmakta ve 28 °C 'da en fazla 24 saat inkübasyona bırakılmaktadır. İnkübasyondan sonra petri kutusunda gelişen kolonilerin üzerine agar yüzeyini kaplayacak kadar Lugol'un iyot çözeltisi ilave edilmekte ve tipik koloniler sayılmaktadır. *A. hydrophila* grubu SA ve BBGS agar üzerinde sarıdan bal rengine değişen tonlarda, 5 mm çapında koloniler oluşturmakta iyot çözeltisi damlatıldıktan sonra siyaha dönüşen besiyerinde etrafında açık zonlar oluşan tipik koloniler *A. hydrophila* olarak

tespit edilmektedir. Modifiye SA agar kullanıldığında ise iyot çözeltilisine gerek kalmadan *A. hydrophila* kolonileri koyu mavi besiyeri üzerinde oluşturdukları opak zonlardan kolayca ayırt edilebilmektedir.

*A. hydrophila* sayısının çok düşük olduğu durumlarda APW broth veya TSBA besiyerlerinde ilk 1/10 'luk dilüsyon, zenginleştirme amacıyla 28 °C 'da bir gece inkübasyona bırakılması gerekmektedir. Bazı durumlarda zenginleştirme işlemi EMS yöntemi ile birleştirilip, 3 veya 5 tüp sistemine göre APW veya TSBA besiyerlerine ekim yapılabilmektedir.

#### 04. Doğrulama Testleri

SA agar besiyerinde yapılan amilaz testine göre amilaz pozitif olan kolonilerin büyük bir çoğunlukla *A. hydrophila* olduğu bilinmektedir. Buna rağmen şüpheli durumlarda *A. hydrophila* 'nın doğrulanması amacıyla SA agardan alınan tipik *A. hydrophila* kolonileri; Nutrient agar, Tryptic Soy agar veya karbohidrat içermeyen herhangi bir uygun besiyeri ve DNase Test agar besiyerlerine sürme yöntemi ile ekim yapılmakta, buradan elde edilen koloniler Gram reaksiyonu, katalaz testi, DNase testi ve saflık kontrolü testlerinde kullanılmaktadır.

*Aeromonas* ve *Vibrio* türlerini birbirinden ayırmak için *vibrio* statik ajan 2, 4-diamino-6, 7-diisopropyl pteridine (0/129) phosphate duyarlılık testi ve tuz testi önerilmektedir. Buna göre % 0,5 oranında NaCl içeren Nutrient agar besiyerine 10 µg veya 150 µg düzeyinde 0/129 *vibrio* statik ajan içeren disk yerleştirildikten sonra ekim yapılmakta, inkübasyondan sonra disk etrafında oluşan zon hassas veya pozitif olarak değerlendirilmektedir. *A. hydrophila* 'nın *vibrio* statik ajan 0/129 'a dirençli olması nedeniyle herhangi bir zon vermemektedir.

Modifiye SA Agar (Lachia's Medium) bileşimi ; Hearth Infuzyon Agar 40,0 g ; Amiloz azure (Calbiochem, CA) 3,0 g ; Amphotericin 0,01 g Destile su 1,0 litre şeklindedir. Besiyeri bileşenleri çözüldükten sonra 121 °C 'da 15 dakika sterilize edilir.

#### 05. Hareketli *Aeromonas* Türlerinin Ayırt Edilmesi

Hareketli *Aeromonas* 'ların birbirinden ayırt edilmesinde en çok karşılaşılan sorun Enterobacteriaceae familyası üyeleri ile olan benzerliklerdir. Bu iki familyayı birbirinden ayırmanın en basit yolu oksidaz testidir. Bunun dışında *A. hydrophila* grubu üyelerini birbirinden ayırmak için kullanılan biyokimyasal testler Çizelge 1 'de verilmiştir.

Çizelge 1. Hareketli *Aeromonas* türlerinin ayırımında kullanılan biyokimyasal testler

Testler	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. caviae</i>	<i>A. Sobria</i>
Eskulin hidrolizi	+	+	-
KCN broth da gelişme	+	+	-
L-arjinin kullanımı	+	+	-
L-lisin kullanımı	+	-	+
L-arabinoz kullanımı	+	+	-
Salisin fermantasyonu	+	+	-
Sakkaroz fermantasyonu	+	+	+
Mannitol fermantasyonu	+	+	+

Inositol yıkımı	-	-	-
Voges-Proskauer Testi	+	-	D
Glikozdan gaz oluşumu	+	-	+
İndol üretimi	+	+	+
Beta-hemoliz b	+	-	+
Sisteinden H <sub>2</sub> S oluşumu	+	-	+

a İnkübasyon sıcaklığı 28 - 30 °C, b TSA besiyerinde insan kanı alyuvarları, D: değişken

## 06. *A. hydrophila* Tanımlanmasında Kullanılan Hızlı Yöntemler

*A. hydrophila* 'nın tanımlanması amacıyla geliştirilmiş hızlı testlerden en yaygın olarak kullanılan "tek-tüp besiyeri" olarak bilinen Kaper's Medium besiyerinde yapılan bir grup testtir. Bu teste göre; mannitol ve inositol fermantasyonu, ornitin dekarboksilasyonu ve deaminasyonu, indol oluşumu, hareketlilik, sodyum tiyosulfat ve sisteinden H<sub>2</sub>S üretimi testleri tek bir tüp besiyeri içinde yapılabilmektedir. Bu test özellikle çevresel örneklerde ve su örneklerinde hareketli *Aeromonas* 'ların aranmasında ve Klebsiella, Proteus ve diğer enterik türlerle olan farklılıkların ortaya konulmasında kullanılmaktadır. Teste göre, bir tüpte 5 ml olacak şekilde hazırlanan besiyerine ekim yapılmakta ve tüpler 35 °C 'da 18-24 saat inkübasyona bırakılmaktadır. *A. hydrophila* bu testin sonucunda: besiyerinin üst kısmında alkali reaksiyon (renk değişimi yok), alt kısmında ise asit reaksiyon (sarı renk oluşumu) gözlenmekte ve asit oluşumu, hareket ve indol pozitif, H<sub>2</sub>S negatif reaksiyon vermektedir.

Kaper's besiyeri bileşimi: Proteoz pepton 5,0 g ; Yeast extract 3,0 g ; Tripton 10,0 g ; L-Ornitin HCl 5,0 g ; Mannitol 1,0 g ; İnositol 10,0 g ; Sodyum tiyosulfat 0,4 g ; Demir amonyum sitrat 0,5 g ; Bromocresol purple 0,02 g ; Agar 3,0 g ; Destile su 1,0 litre şeklindedir. Besiyeri bileşenleri destile suda çözüldükten sonra pH 6,7 'ye ayarlanır ve 121 °C 'da 12 dakika sterilize edilir.

Diğer bir çok bakteride olduğu gibi hareketli *Aeromonas* izolatlarının tanımlanmasında da API 20E, API ZYM, PASCO MIC-ID ve Mast-ID gibi bazı hızlı identifikasyon kitleri başarı ile kullanılabilir. Bu gibi kitlerden alınan sonuçların doğruluk oranı, tipik izolatların seçilmesindeki başarıya bağlı olarak % 90 'ın üzerinde bulunmaktadır.

*A. hydrophila* 'nın identifikasyonunda kullanılan bir diğer hızlı yöntem serolojik antijenlerin belirlenmesi prensibine dayanmaktadır. Bugüne kadar hareketli *Aeromonas* 'larda 12 adet somatik O ve 1 adet flagella H antijeni tespit edilmiştir.

Hareketli *Aeromonas* 'ların birbirinden ayırt edilmesinde kullanılan başka bir yöntemde göre izolatların CAMP benzeri bir etki oluşturma özellikleri test edilmektedir. Buna göre *A. hydrophila* türleri hem aerobik hem de anaerobik koşullarda pozitif sonuç verirken; *A. sobria* sadece aerobik koşullarda pozitif, *A. caviae* ise her iki koşulda da negatif sonuç vermektedir.

*Aeromonas* türleri DNA/DNA homolojilerine göre HG1 'den HG7 'ye kadar 7 hibridizasyon grubuna ayrılmış, ancak bu grupların tanımlanmasında da fenotipik testlerden ve ilave moleküler metotlardan yararlanılması tavsiye edilmiştir. Bunun dışında PCR yöntemi ile tanımlama çalışmaları da yapılmakla beraber, henüz resmi olarak onaylanmış bir yöntem bulunmamaktadır.