

## BURSA ET VE BALIK KURUMUNDA KESİLEN KOYUN VE KEÇİLERİN HAREKETLİ AEROMONASLAR YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

Mustafa TAYAR\*

Ayşin ŞEN\*\*\*

Cengiz ÇETİN\*\*

Ayşegül EYİGÖR\*\*\*\*

Cem ŞEN\*

### ÖZET

*Aeromonas* cinsine ait hareketli aeromonas türleri (*A. hydrophila*, *A. sobria* ve *A. caviae*) çeşitli hayvan türlerinde enfeksiyonlar oluşturmakta, insanlarda ise sindirim sistemi ve ekstraintestinal sistem hastalıklarına neden olmaktadır.

Bu çalışmada; Bursa E.B.K. Kombinasında kesilen 113 adet koyun ile keçiye ait karkas ve dışkı örneklerinden izole edilen hareketli aeromonas türleri, morfolojik, kültürel ve biyokimyasal özellikleri yönünden incelenerek tanımlanmıştır.

İncelenen toplam 241 örneğin 21'inden (% 8.71) hareketli *Aeromonas* izole edildi. İzolasyon oranları karkas örneklerinde 13/113 (% 11.50) rektal içerik örneklerinde 8/113 (% 7.07) olarak saptandı. İzole edilen aeromonasların 14/21'i (% 66.66) *A. hydrophila*, 5/21'i (% 23.80) *A. sobria* ve 2/21'i (% 9.52) *A. caviae* olarak tanımlanmıştır. Su örneklerinden (serbest klor miktarı  $0.34 \pm 0.04$  mg/l) aeromonas izole edilemedi.

Sonuç olarak, kesim sırasında koyun ve keçi karkaslarının dışkı ile kontamine olduğu ve bu karkasların insanlar için bir tehlike olabileceği kanaatine varıldı.

### SUMMARY

#### A Study on Motile Aeromonas Species From Sheep and Goat Slaughtered in Bursa Meat and Fish Organisation

Motile aeromonas spp., included in *Aeromonas* genus, both cause infections in several kinds of animals and gastrointestinal, extra-intestinal system infections in human.

\* Yard. Doç. Dr.; U.Ü. Vet. Fak., Besin Hij. ve Tek. Anabilim Dalı, Bursa / TÜRKİYE.

\*\* Dr.; U.Ü. Vet. Fak., Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa / TÜRKİYE.

\*\*\* Yard. Doç. Dr.; U.Ü. Vet. Fak., Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa / TÜRKİYE.

\*\*\*\* Arş. Gör.; U.Ü. Vet. Fak., Besin Hij. ve Tek. Anabilim Dalı, Bursa / TÜRKİYE.

*In this study morphological, cultural, biochemical characteristics of motile aeromonads were examined which isolated from 113 carcasses and faecal samples of sheep and goat slaughtered in Bursa Meat and Fish Organisation Slaughterhouse.*

*The isolation rates were determined as 13/113 (11.50 %) in carcasses and 8/113 (7.07 %) in rectal swabs. Isolation rates of the identified aeromonas species are as follows: 14/21 (66.66 %) *A. hydrophila*, 5/21 (23.80 %) *A. sobria* and 2/21 (9.52 %) *A. caviae*. No aeromonads were found in water samples (with free chlorine amount of  $0.34 \pm 0.04$  mg/L.).*

*As a result motile aeromonas contaminated sheep and goat carcasses during slaughter can be convinced as a source of infection for human beings.*

## GİRİŞ

Gıdalara bağlı akut barsak enfeksiyonları en sık görülen hastalıklar arasında, solunum sistemi enfeksiyonlarının hemen ardından ikinci sırayı almaktadır<sup>1,2</sup>. Bu enfeksiyonlarla mücadele ve eradikasyon için etiyojilerini belirlemek giderek önem kazanmakta ve daha kapsamlı incelemelere gerek duyulmaktadır<sup>3</sup>. Çünkü olayların % 35-70'inde etken tanımlanamamaktadır<sup>4,5</sup>. Bir zamanlar bakteriyel besin zehirlenmesi olaylarında *Staph. aureus*, *Cl perfringens* ve *Salmonella*'lar akla gelirken günümüze kadar yeterince önemsenmedikleri için az tanınan, *Vibrio parahaemolyticus*, *Campylobacter* ve *Aeromonas* enfeksiyonlarına gittikçe artan oranlarda rastlanılmaktadır<sup>2,3,6,7,8</sup>.

*Aeromonas* olarak tanımlanan bakteri ilk olarak 1890 yılında çeşme suyundan izole edilmiş ve *Bacillus punctatus* olarak adlandırılmıştır<sup>3</sup>. *Enterobacteriaceae*'lerle ve özellikle *E. coli* ile karıştırılmış olan *Aeromonas*'lar son yıllarda ayrı bir cins olarak tanımlanmıştır<sup>3,9</sup>. *Aeromonas* genus'u, *Vibrionaceae* familyasında yer alan, kesin olarak tanımlanmış iki alt gruptan oluşan bir cinstir<sup>9,10</sup>. İlk grup psikrofilik ve hareketsiz aeromonasları, ikinci grup ise mezofilik ve hareketli aeromonasları kapsar ve *A. hydrophila*, *A. sobria* ve *A. caviae* olmak üzere üç tür altında incelenir<sup>9,11</sup>. Hareketli aeromonas türleri yaygın olarak yüzeysel su, çamur ve atık sularda bulunur<sup>12,13</sup>. Soğuk kanlı hayvanlarda ve balıklarda çeşitli hastalıklar oluşturur<sup>14</sup>. Son yıllarda sıcak kanlı hayvanlarda ve insanlardaki çeşitli enfeksiyonlardan izole edilmiştir<sup>15</sup>. Akutik çevrede yaygın olmalarına rağmen, çeşitli hayvanların fekal materyalinden de izole edilen aeromonaslar hayvansal orjinli gıdaların doğal kontaminantı olarak kabul edilmektedir. Kesim işlemleri sırasında kolayca karkaslara bulaşabilmektedir<sup>16,17,18,19,20</sup>.

*Aeromonas* türleri son yıllarda dünyanın her yerinde gastroenteritis etkenleri arasında gösterilmektedir. Gerek erişkin ve gerekse çocuklarda görülen difterilerin, kolera benzeri bir enterotoksin oluşturan aeromonasların etkisiyle oluştuğu kabul edilmektedir<sup>1,15,20,21,22,23</sup>. Son yıllarda, potansiyel tehlike kaynağı olarak değerlendirilen aeromonaslarla ilgili çalışmalar ülkemizde sınırlı sayıdadır<sup>1,18,24</sup>.

Bu çalışmada Bursa E.B.K. kombinasında kesilen koyun, keçi, karkas ve dışkılarında hareketli aeromonas türlerinin dağılımının ve olası kontaminasyon kaynaklarından birisi olan sulardaki varlığının belirlenmesi amaçlandı.

## MATERYAL VE METOD

Hareketli aeromonas türlerinin izolasyonu amacıyla Bursa Et ve Balık Kurumu Kombinasında, kesilen koyun ve keçilerden steril Swablarla karkas ve rektal içerik ile numunelerin toplandığı günlerde kesim salonu yıkama suyu örnekleri alındı. İncelenen örneklerin orijin ve sayıları Tablo: I'de gösterilmiştir.

**Tablo: I**  
**Hareketli Aeromonas Türlerinin İzolasyonunda**  
**Kullanılan Örneklerin Orijin ve Sayıları**

Örneklerin Orjini	Örnek Sayısı
<b>Karkas</b>	
Koyu	100
Keçi	13
<b>Rektal İçerik</b>	
Koyun	100
Keçi	13
<b>Su</b>	15
<b>T O P L A M</b>	241

İzolasyon için örnekler önce zenginleştirme amacıyla APW (Alkali Peptone Water)'ye transfer edildi ve aerobik koşullarda 28°C'de 24 sat inkübe edildi<sup>17,26</sup>. Daha sonra % 7 steril defibrine koyun kanı içeren kanlı agar ve 100.000 İ.Ü. Sodyum Penicillin G/L içeren GSP-Glutamate Starch Phenol Red-Agar'a (Merck) ekimler yapıldı. İnkübasyon (28°C'de 24 saat) sonunda üreyen mikroorganizmaların koloni özellikleri aeromonas yönünden incelendi. Şüpheli koloniler seçilerek gram boyama yöntemi ile boyandı. Gram negatif ve çomakçık şeklindeki mikroorganizmalara ait kolonilerden Nutrient buyyona ekimler yapılarak 28°C'de bir gece inkübe edildi. Sıvı besi yerinde üreme özelliği incelenerek lam lamel arası hareket muayenesi ve gram boyama yöntemi ile boyanarak saflık kontrolü yapıldı. Gram negatif, hareketli çomakçıklara ait kültürler identifikasyon için gerekli olan testlerde kullanılmak üzere -20°C'de saklandı.

İzole edilen suşlar, oksidaz, katalaz, oksidasyon fermentasyon (glikoz ile), indol, nitrat redüksiyonu, Voges-Proskauer, lizin dekarboksilaz, tuzsuz ve % 6 tuzlu buyyon da üreme, mannitol, arabinoz ve salisin fermentasyonu, eskulin hidroliz ve glikozdan gaz testleri ile identifiye edildi<sup>3,8,9,14</sup>.

Su örneklerinde serbest klor miktarı T.S. 266<sup>25</sup>'a göre saptandı.

## BULGULAR

Toplanan 241 adet materyalden izole ve identifiye edilen aeromonas türlerinin sayı ve oranları Tablo: II'de gösterilmiştir.

İncelenen 241 adet örneğin 21'inden (% 8.71) hareketli aeromonas türü izole edildi. İzolasyon oranları karkas örneklerinde 13/113 (% 11.50), rektal içerik örneklerinde 8/113 (% 7.07) olarak saptandı. İzole edilen aeromonasların 14/21'i (%



66.66) *A. hydrophila*, 5/21'i (% 23.80) *A. sobria* ve 2/21'i (% 9.52) *A. caviae* olarak tanımlanmıştır (Tablo: III).

**Tablo: II**  
**Hareketli Aeromonas Türlerinin İzolasyonunda Kullanılan Örneklerin Orijinleri, İzolat Sayı ve Yüzdeleri**

Örneklerin Orijini	Örneklerin Sayısı	Pozitif Numune Sayısı	Pozitif Numune %'si
<b>Karkas</b>	<b>113</b>	<b>13</b>	<b>11.50</b>
Koyun	100	11	11.00
Keçi	13	2	15.38
<b>Rektal İçerik</b>	<b>113</b>	<b>8</b>	<b>7.07</b>
Koyun	100	8	8.00
Keçi	13	—	0.00
Su	15	—	0.00
<b>T O P L A M</b>	<b>241</b>	<b>21</b>	<b>8.71</b>

**Tablo: III**  
**İzole Edilen Hareketli Aeromonas Türlerinin Orijinlerine Göre Dağılımı**

Örnek Tipi	İzolat Sayısı	Aeromonas spp.		
		<i>A. hydrophila</i>	<i>A. sobria</i>	<i>A. caviae</i>
<b>Karkas</b>				
Koyun	11	7 (% 63.63)	3 (% 27.27)	1 (% 9.09)
Keçi	2	2 (% 100.00)	—	—
<b>Rektal İçerik</b>				
Koyun	8	5 (% 62.50)	2 (% 25.00)	1 (% 12.00)
Keçi	—	—	—	—
Su	—	—	—	—
<b>T O P L A M</b>	<b>21</b>	<b>14 (% 66.66)</b>	<b>5 (% 23.80)</b>	<b>2 (% 9.52)</b>

Su örneklerinden (Serbest klor miktarı ortalama  $0.34 \pm 0.04$  mg./lt) aeromonas izole edilemedi.

Hareketli aeromonas türleri, aerobik koşullarda 28°C'da 24 saatte kanlı agar'da, gri-beyaz, yuvarlak, düzgün kenarlı, 2-3 mm çapında, GSP agar'da ise geniş, sarı renkli koloniler oluşturdular. İzole edilen suşların hepsi Gram negatif ve aktif hareketli bulundu. Mikroskopik incelemede etkenler tek tek veya ikili çomakçıklar şeklinde görüldü.

İzole edilen hareketli aeromonas türlerinin çeşitli özellikleri Tablo: IV'de özetlenmiştir. İzole edilen 21 suş; hareketli, oksidaz, katalaz, indol ve nitrat redüksiyonu testleri yönünden pozitif ve O/F testinde fermentatif bulundu. Tüm suşlar tuz içermeyen buyyonlarda üreme gösterirken, hiçbirisi % 6 NaCl içeren buyyonda üremedi. Suşların tümü mannitol fermentasyonu yönünden pozitif bulundu. Voges-Proskauer testinde *A. hydrophila* suşlarının 12/14'ü (% 85.71), *A. sobria* suşlarının 3/5'i (% 60), lizin dekarboksilaz testinde *A. hydrophila* suşlarının 8/14'ü

(% 57.14), *A. sobria* suşlarının 2/5'i (% 40) pozitif reaksiyon verdi. *A. caviae* suşları ise her iki test yönünden negatif bulundu.

**Tablo: IV**  
**İzole Edilen Aeromonas Türlerinin Bazı Biyokimyasal Özellikleri**

TEST	<i>A. Hydrophila</i>	<i>A. Sobria</i>	<i>A. Caviae</i>
Hareket	+	+	+
Oksidaz	+	+	+
Katalaz	+	+	+
O/F	+	+	+
İndol	+	+	+
Nitrat redüksiyonu	+	+	+
Voges-proskauer	d	d	-
Lizin dekarboksilaz	d	d	-
NaCl'süz buyyon'da üreme	+	+	+
% 6 NaCl'li buyyonda üreme	-	-	-
Mannitol fermentasyonu	+	+	+
Arabinoz fermentasyonu	+	-	+
Salisin fermentasyonu	+	-	+
Eskulin hidrolizi	+	-	+
Glikozdan gaz oluşumu	+	+	-

d= Suşlar arasında değişiklik gösterdi.

Hareketli aeromonasların tür düzeyindeki identifikasyonu; arabinoz ve salisin fermentasyon, eskulin hidrolizasyon ve glukozdan gaz testlerine göre yapıldı. Sözü edilen bu testler yönünden pozitif bulunan suşlar *A. hydrophila*, glukozdan gaz testi yönünden pozitif, diğer testler yönünden negatif bulunan suşlar *A. sobria* ve arabinoz ile salisin fermentasyon, eskulin hidrolizasyon testi yönünden pozitif, glukozdan gaz testi yönünden negatif bulunan suşlar ise *A. caviae* olarak identifiye edildi.

## TARTIŞMA

Bu çalışmada, Bursa E.B.K. Kombinasi'nda kesilen koyun ve keçilerin karkas ve rektal içeriklerinden hareketli aeromonas suşları izole edildi. Bu suşların morfolojik, kültürel ve biyokimyasal özellikleri incelenerek identifikasyonları yapıldı.

İncelenen 241 örneğin 21'inden (% 8.71) hareketli aeromonas izole edildi. İzolasyon oranları karkas örneklerinde 13/113 (% 11.50), rektal içerik örneklerinde 8/113 (% 7.07) olarak saptandı. Majeed ve ark.<sup>17</sup> kuzularda yaptıkları çalışmada 50 karkas örneğinin 11'inde (% 22), 47 dışkı örneğinin 5'inde (% 10.63), bir başka çalışmada<sup>16</sup> ise koyun dışkılarında 10/111 (% 9.0) oranında hareketli aeromonas suşu izole edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen oranlar ile diğer araştırmacıların sonuçları karşılaştırıldığı zaman koyun karkaslarındaki izolasyon oranı Majeed ve ark.<sup>17</sup>'nin elde ettikleri orandan düşük bulunurken, dışkı örneklerindeki izolasyon oranı ise her iki çalışmayla paralellik gösterdi. Keçi karkas ve rektal içerikleri ile ilgili benzer çalışmalara rastlanmadığı için sonuçlar karşılaştırılamamıştır. Çalışmalar arasındaki izolasyon oranları farklı kullanılan metodlar ve izolasyon yapılan hayvanların kesildiği mezbahalardaki hijyenik şartlar ile ilgili olabilir.



Klorlanmış sulardan aeromonas izolasyonu ile ilgili çalışmalar<sup>13,24</sup> olmasına rağmen, çalışmamızda işlenen su örneklerinin hiçbirinden aeromonas izole edilemedi. Van Der Kooij<sup>12</sup>, sulara aeromonas varlığı üzerinde serbest klor miktarının çok etkili olduğunu 0.3 mg/lit miktarındaki serbest klorun aeromonasları tamamen elimine ettiğini bildirmiştir. Elde edilen sonuç kurumda kullanılan suyun kontrollü ve sistemli olarak klorlanması ile açıklanabilir.

Hareketli aeromonas türlerinin izolasyonu için çeşitli besiyerleri bildirilmiştir<sup>27,28,29</sup>. Bu çalışmada hareketli aeromonas suşlarının izolasyonu amacıyla 100.000 İ.Ü. Sodyum Penicillin G/L içeren GSP-Glutamate Starch Phenol Red Agar - (Merck) ve kanlı agar kullanıldı. GSP agar'da izole edilen ve aeromonas şüpheli olarak ayrılan tüm suşlar daha sonra biyokimyasal özellikleri incelendiğinde *Aeromonas* spp. olarak tanımlanıp edildi. Ancak antibiyotik içeren besiyerlerinin bazı suşların üremesini inhibe edebileceği de daima göz önünde bulundurulmalıdır.

Hareketli aeromonas suşlarının identifikasyonu, morfolojik kültürel ve biyokimyasal özelliklerine göre yapılmaktadır<sup>3,9</sup>. Çalışmada izole edilen suşların gerek cins ve gerekse tür düzeyinde ayrılması için yapılan biyokimyasal test sonuçları diğer araştırmalarda<sup>15,18</sup> bildirilen bulgulara ve hareketli aeromonas suşlarının klasik özelliklerine<sup>9</sup> uygunluk gösterdi.

Sonuç olarak gıda zehirlenmelerinde rol oynayabilecek organizmalardan olan hareketli aeromonas türleri sadece soğuk kanlı hayvanlarda ve sulara değil, evcil memeli hayvanlarda da bulunabilmektedir. Ayrıca hijyenik olmayan kesim koşullarında kolayca karkaslara bulaşabilmekte ve olası tehlike kaynağı olarak ortaya çıkmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. BİLGEHAN, H.: *V. parahaemolyticus*, *Aeromonas*, *Plesimonas*, *Campylobacter* ve infeksiyonları. Ülkemizde yeterince incelenmeyen enterik patojenler (Ed), TÖREÇİ, K., A.Ü. Tıp Fakültesi, 47-68 (1989).
2. JOHNSON, E.A.: Infrequent microbial infections, Food Borne Disease (Ed) CLIVAR, D.O., Academic Press Inc., 260-273 (1990).
3. VON GRAEVENITZ, A.: Research on *Aeromonas* and *Plesimonas*, *Experientia*, 43:4, 347-374 (1987).
4. OKREND, A.J.G., ROSE, B.E., BENNETT, B.: Incidence and toxigenicity of *Aeromonas* species in retail of poultry, beef and pork. *J. Food Protection*, 50:6, 509-513 (1987).
5. BUCHANAN, R.L., PALUMBO, S.A.: *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* as potential food poisoning species: A review. *J. Food Safety*, 7:1, 15-29 (1985).
6. FRAZIER, W.C., WESTHOFF, D.C.: *Food microbiology*, McGraw-Hill Ed., Singapore, 430-470 (1988).
7. MORGAN, D.R., LINDSEY, V.W.: Is *aeromonas* sp. a foodborne pathogen? Review of clinical data, *J. Food Safety*, 9, 59-72 (1988).
8. KHARDORI, U., FAINSTEIN, V.: *Aeromonas* and *plesimonas* as etiological agents, *Ann. Rev. Microbiol.* 42: 395-419 (1988).
9. POPOFF, M.: *Aeromonas*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Ed), KRIEG, N.R., HOLT, J.G.: Vol. 1, 541-548, Williams & Wilkins, Baltimore, London (1984).

10. LJUNGH, A., WANDSTRÖM, T.: *Aeromonas* toxins, *Pharmac. Ther.* 15, 339-354 (1982).
11. LALLIER, R., HIGGINS, R.: Biochemical and Toxicogenic characteristics of *Aeromonas* spp. isolated from disased mammals, moribund and healthy fish, *Vet. Microbiol.* 18: 63-71 (1988).
12. VAN DER KOOIJ, D.: Properties of aeromonads and their occurrence and hygienic significance in drinking water, *Zentralblatt für Bacteriologie und hygiene. B* 187, 1-17 (1988).
13. ARAUJO, R.M., ARRIBAS, R.M., LUCENA, F., PARES, R.: Relation between *Aeromonas* and faecal coliforms in fresh waters, *J. Appl. Bacteriol.* 67: 213-217 (1989).
14. PALUMBO, S.A., BENCIVENGO, M.M., CORRAL, F.D., WILLIAMS, A.C., BUCHANAN, R.L.: Characterization of the *Aeromonas hydrophila* Group isolated from retail foods of animal origin, *J. Clin. Microbiol.*, 27: 5, 854-859 (1989).
15. MOYER, N.P.: Clinical significance of *Aeromonas* species isolated from patients with diarrhea, *J. Clin. Microbiol.*, 25: 2044-2048 (1987).
16. GRAY, S.J.: *Aeromonas hydrophila* in livestock: Incidence, biochemical characteristics and antibiotic susceptibility, *J. Hygiene*, 92: 365-375 (1984).
17. MAJEED, K.N., EGAN, A.F., MACRAE, I.C.: Incidence of aeromonads in sample from an abattoir processing lambs, *J. Appl. Bacteriology*, 67: 6, 597-604 (1989).
18. AKAN, M.: Hayvanlardan ve çevresel kaynaklardan izole edilen hareketli aeromonas türlerinin biyokimyasal, toksijenik, enzimatik ve yüzey özellikleri, *Doktora Tezi, A.Ü. Vet. Fak., Ankara*, s. 95 (1993).
19. MAJEED, K.N., EGAN, A.F., MACRAE, I.C.: Enterotoxigenic aeromonads on retail lamb meat and offal, *J. Appl. Bacteriol.* 67: 2, 165-170 (1989).
20. STERN, N.J., DRAZEK, E.S., JOSEPH, S.W.: Low incidence of *Aeromonas* spp. in livestock faeces, *J. Food Protection* 50: 66-69 (1987).
21. KINDSCHUH, M., PICKERING, L.K., CLEARY, T.G., PALACIOGIS, G.R.: Clinical and biochemical significance of toxin production by *Aeromonas hydrophila*, *J. Clinical Microbiology*, 25, 5, 916-921 (1987).
22. MILLERSHIP, S.E., BARER, M.R., TABAQCHALI, S.: Toxin production by *Aeromonas* spp. from different sources, *J. Med. Microbiol.* 22: 311 (1986).
23. BARER, M.R., MILLERSHIP, S.E., TABAQCHALI, S.: Relationship of toxin production to species in the genus *Aeromonas*, *J. Med. Microbiol.* 22: 303-309 (1986).
24. GÜRSOY, K.: Ankara'daki askeri birliklerin su kaynaklarında *Aeromonas*'ların bulunuşu, *A.Ü. Vet. Fak. Yüksek Lisans Tezi, Ankara*, s. 66 (1993).
25. ANONYMOUS: T.S. 266 İçme suları standardı, *Türk Standartlar Enstitüsü* (1986).
26. BARON, E.J., FINEGOLD, S.M.: *Bailey & Scotts Diagnostic Microbiology*, Eighth Ed. C.V. Mosby Comp. pp. 665 (1990).
27. KAY, B.A., GUERRERO, C.E., SACK, R.B.: Media for the isolation of *Aeromonas hydrophila*, *J. Clin. Microbiol.* 22: 5, 888-890 (1985).
28. KAPER, J., SEIDLER, R.J., LOCKMAN, H., COLWELL, R.R.: Medium for the presumptive identification of *Aeromonas Hydrophila* and *Enterobacteriaceae*, *Appl. Environ. Microbiol.* 38: 5, 1023-1026 (1979).
29. MISHRA, S., NAIR, G.B., BHADRA, R.K., SIKDER, S.N., PAL, S.C.: Comparison of selective media for primary isolation of *Aeromonas* species from human and animal faeces, *J. Clin. Microbiol.*, 25: 11, 2040-2043 (1987).