

ÇEŞİTLİ SU ÖRNEKLERİNDE AEROMONAS SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI*

Ergun METE, İlknur KALELİ, Melek DEMİR, Nural CEVAHİR

ÖZET

Aeromonas türleri özellikle sularda serbest yaşayan Gram olumsuz bakterilerdir. İnsanlarda intestinal ve ekstra-intestinal infeksiyonlara neden olabilirler. Bu infeksiyonlarda bulaş kaynağı genellikle su ve su ürünleridir. *Aeromonas*'lar, durgun sularda, çeşme suyunda, su depolarında ve drenaj borularında ürerler. Bu çalışmada Denizli ve çevresinden alınan 449 farklı su örneğinde *Aeromonas* cinsi bakteriler araştırılmıştır. Kırk değişik ana şebekeden alınan 345 şebeke suyu örneğinden 5 (% 1.4), 78 artezyen suyu örneğinden 3 (% 3.8), 22 havuz suyu örneğinden 3 (% 13.6) olmak üzere toplam 11 *Aeromonas* cinsi bakteri izole edilmiştir. Şebeke sularından ikişer *Aeromonas hydrophila* ile *Aeromonas caviae* ve bir *Aeromonas sobria*; artezyen sularından iki *A. sobria* ve bir *A. hydrophila*, havuz sularından ise birer *A. hydrophila*, *A. sobria* ve *A. caviae* izole edilmiştir. Dört kuyu suyunda *Aeromonas* cinsi bakteri saptanmamıştır.

Anahtar sözcükler: *Aeromonas*, su örnekleri

SUMMARY

The investigation of Aeromonas spp. frequency in various water samples.

Aeromonas species living freely in waters are Gram negative bacteria and may cause intestinal and extra-intestinal infections. The contamination source is generally drinking and other types of water. *Aeromonas* species can reproduce in still waters, tap waters, water tanks and in drainage pipes. In this study, *Aeromonas* species have been investigated in 449 different water samples taken from Denizli and surrounding area. *Aeromonas* spp. were isolated in 5 samples out of 345 tap water samples (from 40 different main city water supplies) (1.4 %), in 3 samples out of 78 artesian tap water samples (3.8 %) and 3 samples out of 22 pool water samples (13.6 %). 2 of 5 *Aeromonas* strains isolated from tap water were *Aeromonas hydrophila*, 2 others were *Aeromonas caviae* and 1 was *Aeromonas sobria*. 2 of 3 *Aeromonas* strains isolated from artesian water were *A. sobria* and 1 was *A. hydrophila*. 1 of 3 *Aeromonas* strains isolated from pool waters was *A. hydrophila*, 1 was *A. sobria* and 1 was *A. caviae*. No *Aeromonas* species were isolated in four different well-water samples.

Key words: *Aeromonas*, water samples

GİRİŞ

Aeromonas türleri özellikle sularda serbest yaşayan Gram olumsuz bakterilerdir. Daha çok soğuk kanlı su hayvanlarında infeksiyon yaparlar (3). İnsanlarda intestinal ve ekstra-intestinal infeksiyonlara neden olabilirler (13). Hareketli, mezofil *Aeromonas*'lar potansiyel insan patojenidirler (17). *Aeromonas*'lar insanlarda özellikle fırsatçı infeksiyonlar ve hastane infeksiyonları oluştururlar (3,12). İntra-abdominal infeksiyonlar, deri, yara, yumuşak doku, kas, kemik infeksiyonları, menenjit, endokardit, pnömoni, otit, konjunktivit, idrar yolu infeksiyonlarından soyutlanmışlardır. Erişkin ve çocuklarda koleriform diyareler oluştururlar (2). Başlıca türleri *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* ve

Aeromonas caviae'dir (2,3).

Bu infeksiyonlarda bulaş kaynağı genellikle su ve su ürünleridir (2,3,13). Durgun sularda, çeşme suyunda, su depolarında ve drenaj borularında ürerler (3). *Aeromonas* türlerinin sağlıklı hayvan popülasyonlarında ve içme sularında bulunması insanlar için infeksiyon riski doğurmaktadır. İçme suyu kaynaklarından sık izole edildiği bildirilmektedir (5,9,19,21).

Bu çalışmada Denizli ve çevresinden alınan çeşitli su örneklerinde *Aeromonas* cinsi bakterilerin araştırılması amaçlanmıştır.

* 10. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresinde sunulmuştur (15-19 Ekim 2001, Adana). Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli.

GEREÇ VE YÖNTEM

Denizli ve çevresinden alınan 449 su örneğinde *Aeromonas* cinsi bakteriler araştırılmıştır. Bu örneklerden 345'i (40 değişik şebekeden alınan) içme suyu örnekleri, 78'i derinden çekilen ve içme suyu olarak kullanılan artezyen (kaynak) suyu, 22'si havuz suyu ve 4'ü kuyu suyu örnekleriydi. Tüm örnekler kuru ısı ile steril edilmiş 100 ml'lik renkli şişelere alınmıştır. Artezyen suyu örnekleri direkt, şebeke suyu örnekleri ise musluk yarım saat akıtıldıktan sonra şişenin ağzı alevden geçirilerek alınmıştır. Kuyu ve havuz suyu örnekleri ise; eller iyice yıkanıp alkollendikten sonra steril şişenin her yeri iyice alkolle silinip, alkole batırılmış bir ip yardımıyla suya daldırılarak alınmıştır (8). Örnekler 4 saat içinde laboratuvara ulaştırılmıştır. Su örneklerinden 2.5 ml'si 25 ml alkalin (pH 8.6) peptonlu su (APS) besiyerine ekilmiştir

(5). 37°C'de bir gecelik inkübasyondan sonra 10 µg/ml ampisilin içeren koyun kanlı agara ekilmiş (4,10,17), yirmidört saat 37°C'de inkübe edilmiştir.

Gram negatif, oksidaz pozitif ve katalaz pozitif kolonilere; TSI, hareket, sitrat, indol, ornitin dekarboksilaz, lizin dekarboksilaz, arginin-hidrolaz, Voges-Proskauer, eskülin hidrolizi, L-arabinoz, sukroz, mannitol testleri uygulanmıştır. Koyun kanlı agardaki hemolizleri, glukozdan gaz oluşturmaları değerlendirilmiştir. Biyokimyasal testler 37°C'de 24 saat inkübasyon sonrası değerlendirilmiştir (5,15). Bu testlere ilave olarak suşlardan 8 tanesi API 20E kiti ile identifiye edilmiştir. İzole edilen *Aeromonas* türlerinin antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon yöntemiyle saptanmıştır.

BULGULAR

Bu çalışmada Denizli ve çevresinden alınan 449 su örneğinden toplam 11 *Aeromonas* suşu (% 2.4) izole edilmiştir. Üçyüzkırkbeş şebeke suyu örneğinden 5 (% 1.4), 78 artezyen (kaynak) suyu örneğinden 3 (% 3.8), 22 havuz suyu örneğinden 3 (% 13.6) suş izole edilmiştir.

Şebeke suyu örneklerinden izole edilen 5 *Aeromonas* suşunun 2'si *Aeromonas hydrophila*, 2'si *Aeromonas caviae*, 1'i *Aeromonas sobria* olarak; artezyen sularından izole edi-

len 3 suşun 2'si *Aeromonas sobria* ve 1'i *Aeromonas hydrophila*; havuz sularından izole edilen 3 suş ise *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas caviae* olarak identifiye edilmiştir. Dört kuyu suyunda *Aeromonas* cinsi bakteri saptanmamıştır (Tablo 1).

İzole edilen *Aeromonas* suşlarının hepsi ampisilin ve sefalotine dirençli, ofloksasin, siprofloksasin ve imipenem duyarlı olarak bulunmuştur (Tablo 2).

Tablo 1. Çeşitli su örneklerinden izole edilen *Aeromonas*'ların sayısı ve oranları.

Örnek alım yeri	Örnek sayısı	<i>Aeromonas</i> soyutlanan			
		Örnek sayısı (%)	A.hydrophila	A.caviae	A.sobria
Şebeke suyu	345	5 (1.4)	2	2	1
Kaynak suyu (Artezyen)	78	3 (3.8)	1		2
Havuz suyu	22	3 (13.6)	1	1	1
Kuyu suyu	4	0			
Toplam	449	11 (2.4)	4	3	4

Tablo 2. İzole edilen *Aeromonas* türlerinin antibiyotiklere direnç durumları.

Antibiyotik	A.hydrophila (n=4)	A.sobria (n=4)	A.caviae (n=3)
Ampisilin	4	4	3
Amoksisilin-klavulanat	2	3	1
Mezlosilin	1	1	1
Amikasin	0	1	0
Gentamisin	0	1	0
Sefalotin	4	4	3
Sefoksitin	2	1	2
Sefotaksim	1	1	0
Seftazidim	0	1	0
Seftriakson	1	3	0
Sefuroksim	1	2	1
Ofloksasin	0	0	0
Siprofloksasin	0	0	0
İmipenem	0	0	0

TARTIŞMA

Yapılan çeşitli çalışmalarda gerek arıtılmamış doğal su örneklerinde, gerekse şebeke sularında *Aeromonas* cinsi bakteriler izole edilmiştir (5,9,19,21). *Aeromonas*'lar daha çok soğuk kanlı hayvanlarda hastalık oluşturmaktadır. İnsanda her ne kadar salgınlar bildirilmemişse de, veriler gastroenterit etkeni olabileceğini, barsak dışı infeksiyonların yanısıra bağışıklığı bozulmuş kişilerde değişik infeksiyon tablolarına hatta nozokomiyal infeksiyonlara yol açabileceğini göstermektedir (2,3,13,17). Laboratuvarımızda daha önce 12 klinik örnekte *Aeromonas* cinsi bakteri izole edilmiştir.

Bu çalışmada çeşitli yerlerden alınan toplam 449 su örneğini incelenmiştir.

Çalışmada 345 şebeke suyu örneğinde 5 (% 1.4), 78 kaynak (artezyen) suyu örneğinde 3 (% 3.8), 22 havuz suyu örneğinde 3 (% 13.6) olmak üzere toplam 11 *Aeromonas* suşu izole edilmiştir. Bu suşların 4'ü *A.hydrophila*, 4'ü *A.sobria*, 3'ü *A.caviae* olarak identifiye edilmiştir. Dört kuyu suyunda *Aeromonas* cinsi bakteri bulunmamıştır.

İzole edilen *Aeromonas* suşlarının tümü ampisilin ve sefalotine dirençli, ofloksasin, siprofloksasin ve imipeneme duyarlı olarak bulunmuştur.

Gildow ve Alm (6) Michigan'da nehir ve göllerden Ampisilin Dekstrin Agar kullanarak *Aeromonas* suşları izole etmişlerdir. Bunların % 61'i *A.sobria* ve % 3'ü *A.hydrophila* olarak bulunmuş ve suşların % 88'inin amoksisilin-klavulanata dirençli olduğu, ayrıca sefalotine yüksek oranda direnç olduğu belirtilmiştir. Kuzucu ve ark. (18) çalışmalarında *Aeromonas* spp.'nin ampisilin direncini % 93.3 ve sefalotin direncini % 13.3 olarak bulmuşlardır. *A.sobria*'nın çoğunlukla sefalotine duyarlı olduğu belirtilmekle birlikte dirençli suşlar da bildirilmektedir. Ko ve ark. (16) 256 örnekte *Aeromonas* spp.'nin ampisilin direncini % 99.6, ofloksasin duyarlılığını % 100 ve siprofloksasin duyarlılığını % 99 olarak; 59 örnekte *A.sobria*'nın sefalotine direncini % 42 olarak bulmuşlardır. Ayrıca yapılan bir çalışmada tüm suşlarda toplam olarak sefalotin direnci % 93 olarak bildirilmiş ve toplam 138 *Aeromonas* suşunun % 16'sının *A.sobria* olduğu belirtilmiştir (7). Çalışmamızda toplam 4 *A.sobria* izole edilmiş ve bunlar sefalotine dirençli bulunmuştur.

Ülkemizde Ankara'da yapılan bir çalışmada askeri birliklerin yararlandığı içme suyu örneklerinin % 3.3'ünde ve kuyu suyu örneklerinin % 56.6'sında hareketli *Aeromonas* cinsi bakteri saptanmıştır (9). İstanbul'da yapılan bir çalışmada 42 çevre suyu örneğinde 36 (% 85.7), 32 kullanma ya da içme suyu olarak tüketilen arıtılmamış su örneklerinde 13 (% 40.6) *Aeromonas* cinsi bakteri saptanmıştır (21). Ghenghesh ve ark. (5) Libya'da inceledikleri su örneklerinin % 48.7'inde *Aeromonas* türlerini izole etmişlerdir. Albert ve ark.(1) Bangladeş'te çevresel su örneklerinin % 28.3'ünden *Aeromonas* spp. izole etmişlerdir.

Çalışmamızda 449 çeşitli su örneğinde % 2.4 oranında

Aeromonas cinsi bakteri saptanmıştır. Bu, Ankara'da Gürsoy'un (9) yaptığı çalışmada içme suyunda bulunduğu orana yakındır. Örneklerimizin büyük çoğunluğu içme suyundan alınmıştır. Ayrıca artezyen suyu örnekleri derinden çekilen ve içme suyu olarak kullanılan su örnekleriydi. Çalışmamızdaki su örneklerinden 4 kuyu suyu, 78 kaynak suyu ve 2 havuz suyu dışındakiler klorluydu. Suların uygun şekilde klorlanması durumunda tüm sporsuz bakterilerin % 100'e yakınının ölebileceği ve bu amaçla klorun suların dezenfeksiyonunda yaygın olarak kullanıldığı belirtilmektedir. Ancak klorlanmış sular da *Aeromonas*'ların bulunabileceği ve klora dirençli *Aeromonas*'ların olduğu da vurgulanmaktadır (7). Yapılan bir çalışmada klor düzeyi düştükçe bakterilerin sayısının arttığı belirtilmiştir (9). Klora dirençli *Aeromonas*'ların varlığı bilinmekle birlikte çalışmamızda izolasyon oranımızın düşüklüğünün nedenleri arasında suların klorlanmış olmasının önemli olduğu düşünülmüştür. Havuz suyunda saptadığımız 3 pozitif örnekte 2'si kloruz olanlardır. Kuyu suyu örneklerinde *Aeromonas* saptanmamıştır. Bu, örnek sayımızın çok az olmasından ve suların mineral içeriğinden kaynaklanmış olabilir. Bu çalışmada ampisilinli kanlı agar kullanılmıştır. Ampisiline duyarlı olan türlerden *A.trota*'nın yapılan çeşitli çalışmalarda % 1-3 izole edildiği görülmüştür (5,14). *A.trota* düşük oranda izole edildiğinden bu çalışmada göz ardı edilebileceği düşünülmüştür.

Su örneklerinin mikrobiyolojik incelenmesinde membran filtrasyon yöntemi kullanılmaktadır. Çalışmamızda su örnekleri APS içerisinde zenginleştirilerek ekim yapılmıştır. Böylece suların içinde bulunan az sayıdaki *Aeromonas*'ların daha iyi saptanması amaçlanmıştır. Midilli (21) çalışmasında direkt yayma ya da membran filtre ile ekim yapılan örneklerde üreme olmadığında APS'de zenginleştirme yöntemini kullanmıştır. Ghenghesh ve ark. (5) çalışmalarında *Aeromonas* izolasyonu için APS'de zenginleştirme yöntemini kullanmışlardır. Kühn ve ark. (19) da örnekleri APS'de zenginleştirmişlerdir. Hernandez (11) çalışmasında membran filtrasyon yöntemini kullanmış fakat daha sonra filtrelelere APS içinde zenginleştirme işlemi uygulamış ve zenginleştirmeden sonra izolasyon oranlarının daha yüksek olduğunu bildirmiştir. İnsan sağlığı açısından suların içerdiği koloni sayısı önemlidir. Bu amaçla belirlenmiş standart sayıların olduğu bilinmektedir (20,21). Hollanda'da şebeke sularında dağıtım öncesinde 20 CFU/100 ml ve şebekeye verilmiş sulara ise 200 CFU/100 ml *Aeromonas* sayısı sınır olarak belirlenmiştir (22). Bu çalışmada APS'de zenginleştirme yapıldığı için koloni sayımının yapılmasının uygun olmadığı düşünülmüş ve bu nedenle yapılmamıştır. Ancak suların laboratuvarlarda yapılan rutin analizlerinde kalite kriteri olarak *Aeromonas*'ların da varlığının araştırılmasının önemli olduğu düşünülmektedir. İçme suyu kaynaklarının kirlenmeye karşı korunması su aracılığı ile gelişebilecek *Aeromonas* infeksiyonlarının önlenmesi açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

- 1- Albert M J, Ansaruzzaman M, Talukder K A, Chopra A K, Kuhn I, Rahman M, Faruque ASG, Islam M S, Sack R B, Mollby R: Prevalence of enterotoxin genes in *Aeromonas* spp. isolated from children with diarrhoea, healthy controls, and the environment, *J Clin Microbiol* 38:3785 (2000).
- 2- Bilgehan H: *Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Klinik Mikrobiyoloji*, 10. basım s.134, Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir (2000).
- 3- Birsal E: *Aeromonas ve Plesiomonas*, "Ustaçelebi Ş (ed): *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, 1. baskı" kitabında s. 527, Güneş Kitabevi, Ankara (1999).
- 4- Ghenghesh KS, Bara F, Bukris B, El-Surmabi A, Abeid SS: Characterization of virulence factors of *Aeromonas* isolated from children with and without diarrhoea in Tripoli, Libya, *J Diarrhoeal Dis Res* 17:75 (1999).
- 5- Ghenghesh KS, El-Ghodban A, Dkakni R, Beid S, Altomi A, Tarhuni A, Marialigeti K: Prevalence, species differentiation, haemolytic activity and antibiotic susceptibility of aeromonads in untreated well water, *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 96:169 (2001).
- 6- Gildow JS, Alm WE: The abundance and antibiotic resistance of environmentally isolated *Aeromonas* species, *Proceedings of 100. ASM General Meeting* p. 558, Los Angeles (2000).
- 7- Goni-Urriza M, Pineau L, Capdepuy M, Roques C, Caumette P, Qentin C: Antimicrobial resistance of mesophilic *Aeromonas* spp. isolated from two European rivers, *J Antimicrob Chemother* 46:297 (2000).
- 8- Güler Ç, Çobanoğlu Z: *Su Kirliliği*, TC Sağlık Bakanlığı-Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No:12, s. 58, Ankara (1994).
- 9- Gürsoy TK: Ankara'daki askeri birliklerin su kaynaklarında *Aeromonas*'ların bulunuşu, *Yüksek Lisans Tezi*, AÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara (1993).
- 10- Handfield M, Simard P, Letarte R: Differential media for quantitative recovery of waterborne *Aeromonas hydrophila*, *Appl Environ Microbiol* 62:3544 (1996).
- 11- Hernandez P: Prevalence of *Aeromonas* spp. in surface water, *Arch Latinoam Nutr* 47:44 (1997).
- 12- Hsueh PR, Teng LJ, Lee LN, Yang PC, Chen YC, Ho SW, Luh KT: Indwelling device-related and recurrent infections due to *Aeromonas* species, *Clin Infect Dis* 26:651 (1998).
- 13- Janda JM, Abbott SL, Carnahan AM: *Aeromonas* and *Plesiomonas*, "Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 6. baskı" kitabında s. 477, ASM, Washington (1995).
- 14- Janda JM, Abbott SL, Khashe S, Kellogg GH, Shimida T: Further studies on biochemical characteristics and serologic properties of the genus *Aeromonas*, *J Clin Microbiol* 34:1930 (1996).
- 15- Janet S: Test methods used in the identification of commonly isolated aerobic Gram-negative bacteria, "Isenberg HD (ed.): *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 1. baskı" kitabında s. 1.19.1, ASM, Washington (1992).
- 16- Ko WC, Yu KW, Liu CY, Huang CT, Leu HS, Chuang YC: Increasing antibiotic resistance in clinical isolates of *Aeromonas* strains in Taiwan, *Antimicrob Agents Chemother* 40:1260 (1996).
- 17- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr WC: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5. baskı" kitabında s. 348, JB Lippincott Co., Philadelphia (1997).
- 18- Kuzucu Ç, Acar N, Akan N, Karakoç EA: İntestinal ve ekstraintestinal örneklerde *Aeromonas* izolasyon sıklığı, *Flora* 1:74 (2000).
- 19- Kühn I, Albert MJ, Ansaruzzaman M, Bhuiyan NA, Alabi SA, İslam MS, Neogi PKB, Huys G, Janssen P, Kersters K, Möllby R: Characterization of *Aeromonas* spp. isolated from humans with diarrhea, from healthy controls and from surface water in Bangladesh, *J Clin Microbiol* 2:369 (1997).
- 20- Kühn I, Allestram G, Huys G, Janssen P, Kersters K, Krovacek K, Stenstrom TA: Diversity persistence and virulence of *Aeromonas* strains isolated from drinking water distribution systems in Sweden, *Appl Environ Microbiol* 63:2708 (1997).
- 21- Midilli K: İstanbul ve çevresinden toplanan çeşitli su örneklerinde *Aeromonas* cinsi bakterilerin varlığı, sıklığı ve biyotip özellikleri, *Uzmanlık Tezi*, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul (1998).
- 22- Van der Kooij D: Properties of aeromonads and their occurrence and hygienic significance in drinking water, *Zentralbl Bakteriolog Mikrobiol Hyg [B]* 187:1 (1988).