

Perakende Su Ürünlerinde *Aeromonas hydrophila* Varlığının Araştırılması

Tülay ELAL MUŞ*

Figen ÇETİNKAYA*

Geliş Tarihi: 27.06.2013

Kabul Tarihi: 02.09.2013

Özet: Mevcut çalışma, Bursa’da perakende satışa sunulan çeşitli su ürünlerinde (balık, midye, karides) tehlikeli gıda patojenlerinden *A. hydrophila*’nın insidensini ortaya koymak amacıyla gerçekleştirildi. Etkenin örneklerden izolasyonu, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından önerilen standart prosedürlerden yararlanılarak sağlandı. Örneklerden alınan *Aeromonas* izolatları API 20E bakteri tanımlama sistemi ile tür düzeyinde identifiye edildi. Çalışmanın sonuçları, analiz edilen 100 örnekten 14’ünün *A. hydrophila* ile kontamine olduğunu ve su ürünlerinin *A. hydrophila*’nın insanlara bulaşmasında potansiyel bir araç olabileceğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: *Aeromonas hydrophila*, su ürünleri, balık, kontaminasyon.

Investigation of the Presence of *Aeromonas hydrophila* in Seafood at Retail Level

Abstract: The present study was carried out to determine the incidence of *A. hydrophila*, which is considered as a hazardous foodborne pathogen, in various seafood (fish, mussel, shrimp) sold at the retail level in Bursa. The isolation of the bacterium was performed using the standard procedures recommended by the U.S. Food and Drug Administration (FDA). *Aeromonas* isolates obtained from the samples were identified to species level by API 20E Bacterial Identification System. The results of this study showed that 14 out of 100 samples analysed was contaminated with *A. hydrophila*, and seafood could be a potential vehicle for transmission to humans of *A. hydrophila*.

Key Words: *Aeromonas hydrophila*, seafood, fish, contamination.

Giriş

Aeromonas’lar hareket özelliklerine ve üreme sıcaklıklarına göre 35-37°C’de gelişen, mezofilik, hareketli bakteriler ve 22-25°C’de çoğalan, psikrofilik, hareketsiz bakteriler olmak üzere ikiye ayrılır. *A. hydrophila*, hareketli *Aeromonas*’lar arasında insanlarda en fazla hastalığa sebep olan etkidir¹ ve doğada yaygın olarak bulunmasından dolayı “aquatik emerging” patojen olarak tanımlanmıştır. Balık, reptil, amfibi gibi soğukkanlı hayvanlar yanı sıra memeli ve kuşlar gibi sıcakkanlı hayvanlarda da hastalık oluşturmaktadır. Bu da *A. hydrophi-*

la’nın zoonotik hastalık etkeni olduğunu ve bulaşmanın hayvanlardan insanlara ya da insanlardan hayvanlara olabileceğini göstermektedir². İnsanlarda infeksiyon ise kontamine gıda ve suların tüketilmesi sonucu³ ve bireylerin kontamine gıdalara teması sonucu oluşmaktadır⁴. Aynı zamanda sağlıklı balıkların intestinal florasında bulunmakta^{5,6} ve deniz ürünlerinden de sıklıkla izole edilmektedir⁶.

A. hydrophila ve *A. caviae* 5°C’de üreme özelliğine sahip olduklarından, et ve et ürünleri başta olmak üzere soğukta muhafaza edilen gıdalar bu bakteriler yönünden potansiyel tehlike oluşturmaktadır⁷. *Aeromonas*’ların balık ve

* Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Bursa, tulayelalmus@uludag.edu.tr

diğer su ürünleri arasında midyelerden daha fazla izole edildiği ve kontamine midyeler aracılığıyla balıklara ve insanlara aktarılabilceği belirtilmiştir. Etken portranteli deriden bulaşabilmekte ve *Aeromonas* infeksiyonları su ürünleri ile uğraşan kişilerde meslek hastalığı olarak kabul edilmektedir⁸.

*Aeromonas*ların virulensinde cytotoksin, endotoksin, hemolysin, enterotoksin, proteaselar, sideroforlar, adherenz faktörleri etkili olup, bu virulens faktörlerinin tamamı insanlarda oluşturdukları infeksiyonların patogenezinde rol oynamaktadır⁹. *A. hydrophila* kaynaklı infeksiyonlarda, gastroenterit ilk sırada yer almakta ve 2 yaşın altındaki çocuklar ve 50 yaş üstü bireylerde daha fazla ortaya çıkmaktadır. En sık karşılaşılan semptomlar ise, sulu ishal ve çocuklarda kusmadır. Bu belirtilere ek olarak ateş ve epigastrik etkiler de görülmektedir. Etkenin hafif belirtilerle seyretmesinin yanında, kolera ya da dizanteri benzeri klinik tablo gözlenen vakalar da rapor edilmiştir⁸. Etken gastroenterit tablosu dışında bazı vakalarda septisemi, travmatik ve aquatik yara infeksiyonlarına neden olabilmektedir. Ayrıca medikal sülük tedavisi uygulanan bireylerde, tedavi sonrası *A. hydrophila* infeksiyonlarının gözleendiği rapor edilmiştir².

Bu çalışma perakende satışa sunulan balık ve kabuklu deniz ürünlerinde *A. hydrophila*'nın insidensini ve dolayısıyla etkenle kontamine su ürünlerinin tüketimi sonucu ortaya çıkabilecek halk sağlığı risklerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Materyal ve Metot

Örnekler

2012 yılı Mayıs-Ağustos aylarını kapsayan dönemde Bursa ili ve ilçelerinde bulunan çeşitli balıkçı, semt pazarı ve süpermarketlerden toplam 100 adet su ürünü (78 balık, 12 midye, 10 karides) örneği toplanmış ve aynı gün analizi yapılmak üzere aseptik koşullarda laboratuara getirilmiştir.

A. hydrophila'nın izolasyonu ve identifikasyonu

A. hydrophila'nın izolasyonu Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration, FDA) tarafından önerilen standart izolasyon ve identifikasyon metodundan yararlanılarak gerçekleştirildi¹⁰. Bu amaçla, 25 gr

örnek 225 ml %2 NaCl ilave edilmiş Alkaline Pepton Water (APW) içerisinde 2 dakika süre ile homojenize edildi ve 35±2°C'de bir gece inkübasyona bırakıldı. Ön zenginleştirme kültüründen bir öze dolusu alınarak Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS) agara ekildi. 35±2°C'de 18-24 saat inkübasyonu takiben, sarı renkli tipik koloniler öze yardımı ile alınarak % 2 NaCl katkılı Triptic Soy Agar'a (TSA) inokule edildi. Üreyen koloniler gram boyama, hareket ve oksidaz testlerine tabi tutuldu. Gram negatif, hareketli ve oksidaz pozitif suşlar *Aeromonas* spp. olarak değerlendirildi.

Şüpheli suşların tür düzeyinde identifikasyonu, API 20E test kitleri kullanılarak gerçekleştirildi. Bu amaçla her bir suş 2-nitrofenil-βD-galaktopiranozid (ONPG), L-arjinin (ADH), L-lizin (LDC), L-ornitin (ODC), trisodyum sitrat (CIT), sodyum thiosülfat (H₂S), üre, L-triptofan (IND), sodyum pürivat (VP), jelatin (GEL), D-glukoz (GLU), D-mannitol (MAN), inositol (INO), D-sorbitol (SOR), L-rhamnoz (RHA), D-sukroz (SAC), D-melibioz (MEL), amygdalin (AMY), L-arabinoz (ARA)'dan oluşan biyokimyasal testlere tabi tutuldu. Daha sonra *apiweb* identifikasyon yazılımı (BioMerieux, France) kullanılarak suşların API profilleri yorumlandı.

Bulgular

Mayıs-Ağustos 2012 tarihleri arasında Bursa'da çeşitli perakende satış ünitelerinden toplanan, 78'i balık, 12'si midye ve 10'u karides olmak üzere, 100 su ürünü örneğinin 14'ünde *A. hydrophila* kontaminasyonu gözleendi. *A. hydrophila*'nın insidensine ilişkin bulgular Tablo 1'de ve pozitif bulguların örnek türü ve aylara göre dağılımı Tablo 2'de verilmektedir.

Tablo 1: Analiz edilen örneklerde *A. hydrophila*'nın insidensi

Table 1. Incidence of *A. hydrophila* in the samples analysed

Örnek	Örnek sayısı	Pozitif örneklerin sayısı (%)
Balık	78	10 (% 12,8)
Midye	12	1 (% 8,3)
Karides	10	3 (% 30)
Toplam	100	14 (% 14)

Tablo 2: Pozitif örneklerin aylara göre dağılımı**Table 2. Distribution according to months of positive samples**

Örnek türü	Toplam örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı			
		Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos
Dil balığı	6				
İstavrit	10	2			1
Hamsi	7				
Alabalık	6				
Barbun	5		1		
Somon	5	1	1	1	
Kırlangıç	5			1	
Mırmır	5		1		
Mezgit	6				
Uskumru	5				
Sardalya	6				
Çupra	6				
Levrek	6		1		
Midye	12			1	
Karides	10		1	2	
Toplam	100	3	5	5	1

Tartışma

Aeromonas türleri akuatik çevrelerde yaygın olarak bulunan mikroorganizma grubudur ve dolayısıyla su ve su ürünleri söz konusu etkenin insanlara nakledilmesinde önemli bir araç olarak görülmektedir^{11,12}. *Aeromonas* spp. insanlarda gastroenteritis, deri ve yumuşak doku infeksiyonları ile septisemi gibi çeşitli hastalıklardan sorumludur¹³.

Aeromonas cinsinin en tehlikeli türü olarak bildirilen *A. hydrophila*'nın balık ve diğer bazı su ürünlerinde varlığını ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilen çalışmamızda, analiz edilen örneklerin %14'ü (14/100) etkenle kontamine bulundu. İzolatlar 10 balık, 3 karides ve bir midye örneğinden alındı (Tablo 1).

Balık ve diğer su ürünlerinin, *A. hydrophila* başta olmak üzere, hareketli *Aeromonas* türlerini barındırdığını ortaya koyan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Finlandiya'da yapılan bir çalışmada¹⁴, 29 balık örneğinin 27'sinde (%93) ve 12 karidesin 2'sinde (%16) *Aeromonas* spp. izole edildiği rapor edilmiştir. Vivekanandhan ve ark.¹⁵, Hindistan'da 2 yıl süreyle inceledikleri 536 balık ve 278 karides olmak üzere toplam 814 su ürününde 319 *A. hydrophila* suşu izole ettiklerini bildirmişlerdir. Yine Ottaviani ve ark.³ tarafından Adriyatik denizinden avlanan 144 adet midyenin 32'sinde *Aeromonas* kontaminasyonu gözlenmiş ve bu suşlar-

dan 22'si *A. hydrophila* olarak tanımlanmıştır. Kuzeydoğu Çin'de⁵ 13 farklı balık avlama noktasından temin edilen sazan balıklarından *A. hydrophila*'nın 59 adet suşunun izole edildiği rapor edilmiştir. Türkiye'de bir çalışmada, Çanakkale Denizi kıyısından toplanan 97 midye, 30 karides olmak üzere 127 deniz kabuklusu örneğinin 37'sinin (%29,1) *A. hydrophila*'yı barındırdığı bildirilmiştir¹⁶. Sağlam ve ark.¹⁷, Erzurum bölgesinde bulunan 20 balık işletmesinden sağlanan 380 adet gökkuşacağı alabalığında *A. hydrophila*'nın insidensini araştırmış ve örneklerin %35'inde etkeni belirlemiştir.

Mevcut çalışmada geleneksel kültür teknikleri ile izole edilen suşların tamamı API 20E ile *A. hydrophila* olarak tanımlanmış, diğer *Aeromonas* türleri ile kontaminasyona rastlanmamıştır. Diğer taraftan Castro-Escarpulli ve ark.¹², Meksika'da 250 dondurulmuş balık örneğinde 82 adet *Aeromonas* spp. izole etmiş ve bunların %67.5'u *A. salmonicida*, %20.9'u *A. bestiarum*, %5.2'si *A. veronii*, %3.9'u *A. encheleia* ve %2.6'sı *A. hydrophila* olarak tanımlanmıştır. Malezya'da analiz edilen balık örneklerinde *Aeromonas* spp. ile kontaminasyon oranı %69 (60/87) olarak belirlenirken, bunların 10'u *A. hydrophila*, 48'i *A. veronii*, 2'si *A. caviae* olarak tanımlanmıştır¹⁸. Durmaz ve Türk'ün⁷ bir çalışmasında, alabalık işletmelerinden toplanan 73 adet balık örneğinin 34'ünde *Aeromonas* spp. izole edildiği, bu izolatlardan 15'ünün (%44.1) *A. hydrophila*, 14'inin (%41.1) *A. caviae* ve 5'inin (%14.7) *A. sobria* olarak tanımlanmış olduğu rapor edilmiştir. Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmanın sonuçları, Van Gölü'nde yaşayan ve piyasadan temin edilen 100 inci kefali örneğinin 46'sında *Aeromonas* spp. kontaminasyonu bulunduğunu ve alınan izolatların 15'inin *A. hydrophila*, 18'sinin *A. caviae* ve 13'ünün *A. sobria* olarak tür düzeyinde tanımlanmış olduğunu ortaya koymuştur¹⁹.

Çalışmada elde edilen bulgular, analiz edilen balık, midye ve karides örneklerinin %14'ünde *A. hydrophila*'nın varlığını ortaya koydu. *A. hydrophila*'nın deniz çevrelerinde yaygın olarak bulunan ve buzdolabı sıcaklık derecelerinde gelişebilen bir patojen olması dikkate alındığında, etkenle kontamine su ürünlerinin tüketici sağlığına yönelik potansiyel tehlikeler sunması kaçınılmazdır. İnsanlarda söz konusu patojenin neden olduğu infeksiyonlardan korunmada; ürünlerin satışa sunulduğu balıkçı, market ya da semt pazarları gibi birimlerde deniz ürünlerinin *A. hydrophila* ile sekon-

der kontaminasyonlarının önlenmesi son derece kritiktir. Ayrıca tüketicilerin balık ve diğer su ürünlerini çiğ ya da az pişmiş olarak tüketmekten kaçınması etkenin eliminasyonu ve dolayısıyla halk sağlığının korunmasında önemli bir prosestir.

Kaynaklar

1. Parker, J.L., Shaw, J.G., 2011. *Aeromonas* spp. clinical microbiology and diseases. J. Infect., 62, 109-118.
2. Daskalov, H., 2006. The importance of *Aeromonas hydrophila* in food safety. Food Control, 17, 474-483.
3. Ottaviani, D., Santarelli, S., Bacchiocci S., Masini L., Ghittino C., Bacchiocci I., 2006. Occurance and charecterization of *Aeromonas* spp. in muscels from Adriatic Sea. Food Microbiol., 23, 418-422.
4. Butt, A.A., Aldridge K.E., Sanders C.H., 2004. Infections related to the ingestion of seafood part I: viral and bacterial infections. The Lancet Infect. Dis., 4, 201-212.
5. Shao-wu, L., Di, W., Hong-bai, L., Tong-yan, L., 2013. Molecular typing of *Aeromonas hydrophila* isolated from common carp in Northeast China. J. NE Agr. Univ., 20, 30-36.
6. Erol, İ., 2007. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Pozitif Matbaacılık, Ankara, Türkiye.
7. Durmaz, Y., Türk, N., 2009. Alabalık işletmelerinden motil *Aeromonas*'ların izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg., 15, 357-361.
8. İşleyici, Ö., Sancak, Y.C., 2009. Gıdalarda hareketli *Aeromonaslar*'dan kaynaklanan sağlık riskleri. YYU Vet. Fak. Derg., 20, 69-74.
9. Yang, C.C., Sun, I.F., Liu, C.M., Lai, C.S., 2004. *Aeromonas hydrophila* septicemia in acute hand injury: A case report. Kaohsiung J. Med. Sci., 20, 351-356.
10. Kaysner, C.A., DePaola, A., 2004: Bacteriological Analytical Manual, *Vibrio*, Chapter 9.
11. Vivekanandhan, G., Hatha, A.A.M., Lakshmanaperumalsamy, P., 2005. Prevalence of *Aeromonas hydrophila* in fish pawns from the seafood market of Coimbatore, South India. Food Microbiol., 22, 133-137.
12. Castro-Escarpulli, G., Figueras, M.J., Aguilera-Arreola, G., Soler, L., Fernandez-Rendon, E., Aparicio, G.O., Guarro, J., Chacon, M.R., 2003. Characterisations of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico. Int. J. Food Microbiol., 84, 41-49.
13. Chi-Jung, W., Po-Lin, C., Hung-Jen, T., Hong-Mo, C., Fan-Chen, T., Hsin-I, S., Yuan-Pin, H., Chih-Huan, C., Wen-Chien, K., 2012. Incidence of *Aeromonas* bacteriemia in southern Taiwan: *Vibrio* and *Salmonella* bacteriemia as comparators. J. Microbiol. Immunol. Infect., xx, 1-4.
14. Hanninen, M.L., Oivanen, P., Hirvela-Koski, V., 1997. *Aeromonas* species in fish, fish-eggs, shrimp and fresh water. Int. J. Food Microbiol., 34, 17-26.
15. Vivekanandhan, G., Savithamani, K., Hatha, A.A.M., Lakshmanaperumalsamy, P., 2002. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from marketed fish and pawn of South India. Int. J. Food Microbiol., 76, 165-168.
16. Colakoğlu, F.A., Sarmasik, A., Koseoglu, B., 2006. Occurance of *Vibrio* spp. and *Aeromonas* spp. in shellfish harvested of Dardanelles coast of Turkey. Food Control, 17, 648-652.
17. Sağlam, Y.S., Işık, N., Arslan, A., Erer, H., 2006. Erzurum bölgesinde gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* W. 1792) *Aeromonas hydrophila* ve *Yersinia ruckeri* izolasyonu ve patolojik incelemeler. Atatürk Üniv. Vet. Bil. Derg., 1, 6-10.
18. Radu, S., Ahmad, N., Ling, F.H., Reezal, A., 2003. Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail fish in Malaysia. Int. J. Food Microbiol., 81, 261-266.
19. Boynukara, B., Gürtürk, K., İlhan, Z., Gülhan, T., Öğün, E., Ekin, İ.H., 1998. Van gölünde yaşayan *Chalcaburnus tarichii* balıklarından izole edilen hareketli *Aeromonas*'ların görülme sıklığı. Van Tıp Derg., 5, 239-242