

T.C.
AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KIRŞEHİR İLİNDE, DONDURMALARDAN İZOLE
EDİLEN HAREKETLİ *AEROMONAS*'LARIN
ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ VE YAĞ ASİDİ
KOMPOZİSYONLARININ İNCELENMESİ**

Mikail YENİÇERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KIRŞEHİR 2014

T.C.
AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KIRŞEHİR İLİNDE, DONDURMALARDAN İZOLE
EDİLEN HAREKETLİ *AEROMONAS*'LARIN
ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ VE YAĞ ASİDİ
KOMPOZİSYONLARININ İNCELENMESİ**

MİKAİL YENİÇERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ergin KARIPTAŞ

KIRŞEHİR 2014

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan (İmza)

Doç. Dr. Ergin KARİPTAŞ

Üye (İmza)

Doç. Dr. Harun ÇİFTÇİ

Üye (İmza)

Yrd. Doç. Dr. Belgin ERDEM

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

.../.../2014

Doç. Dr. Mahmut YILMAZ

Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Mikail YENİÇERİ

**KIRŞEHİR İLİNDE, DONDURMALARDAN İZOLE EDİLEN
HAREKETLİ *AEROMONAS*'LARIN ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ VE YAĞ
ASIDI KOMPOZİSYONLARININ İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Mikail YENİÇERİ

Ahi Evran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü

ÖZET

Bu çalışmada Kırşehir'deki dondurmacılardan alınan 52 adet dondurma örneğinden izole edilen 10 *Aeromonas* türü bakteri örneğinin izolasyonu, identifikasyonu, antibiyotik direnç profilleri ve yağ asidi içerikleri incelenmiştir. Dondurma örneklerinin incelenmesi neticesinde izole edilen 3 *A. caviae*, 6 *A. hydrophila*, 1 *A. sobria* suşu ile *A. hydrophila* (ATCC 7966), *A. veronii* bv. *sobria* (ATCC 43979), ve *A. caviae* (ATCC 15468) referans suşlarının antibiyotik dirençleri belirlenmiştir.

Sonuç olarak; izole edilen *Aeromonas* türü bakteri örneklerinin ampisilin ve tetrasikline karşı % 100 dirençli olduğu belirlenmiştir. İzole edilen örneklerin önce ince tabaka daha sonrada gaz kromatografisinde analizleri yapılmış neticede *A. hydrophila*'nın 12:0 (laurik asit), 14:0 (miristik asit), 15:0 (pentadekanoik asit), 15:0 3OH (3 hidroksi pentadekanoik asit), 16:1 palmitoleik asit), 16:0 (palmitik asit), 17:1 (margaroleik asit), 17:0 3OH (3 hidroksi heptadekanoik asit), 18:1 (oleik asit) ve 18:0 (stearik asit) yağ asitlerini içerdiği tespit edilmiştir.

Bilim kodu:

Anahtar Kelimeler: *Aeromonas*, antibiyotik direnç, yağ asidi, dondurma

Sayfa Adedi: 56

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Ergin KARİPTAŞ

**A STUDY ON THE ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND FATTY ACID
COMPOSITIONS OF MOTILE *AEROMONAS* ISOLATED FROM ICE
CREAM SAMPLES IN THE CITY OF KIRŞEHİR (TURKEY)**

(Master Thesis)

Mikail YENİÇERİ

Ahi Evran University

Institute of Science

ABSTRACT

In this study, the isolation, identification, antibiotic resistance profiles and fatty acid contents of 10 *Aeromonas* species bacteria samples isolated from 52 ice cream samples taken from ice cream sellers in Kırşehir. The antibiotic resistance of 3 *A. caviae*, 6 *A. hydrophila*, 1 *A. sobria* strain with *A. hydrophila* (ATCC 7966), *A. veronii* by *sobria* (ATCC 43979), and *A. caviae* (ATCC 15468) reference strains isolated as a result of the examination of the ice cream samples was determined.

As a conclusion, isolated *Aeromonas* species bacteria samples were found to be resistant 100 % to ampicilline and tetracycline. Firstly thin layer and then gas chromatographies of the isolated samples were conducted and they were seen to be containing 12:0 (lauric acid), 14:0 (myristic acid), 15:0 (pentadecanoic acid), 15:0 3OH (3 hydroxy pentadecanoic acid), 16:1 (palmitoleic acid), 16:0 (palmitic acid), 17:1 (margaroleic acid), 17:0 3OH (3 hydroxy heptadecanoic acid), 18:1 (oleic acid) and 18:0 (stearic acid) fatty acids of *A. hydrophila*.

Science Code:

Keywords: *Aeromonas*, antibiotic resistance, fatty acid, ice cream

Number of Pages: 56

Director of Thesis: Doç. Dr. Ergin KARİPTAŞ

TEŞEKKÜR

Çalışma konumun seçilmesinde ve çalıőmamın yürütülmesinin her aşamasında yardım ve desteklerini esirgemeyen danışmanım, kıymetli hocam Doç. Dr. Ergin KARİPTAŞ'a içtenlikle teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalıőmalarına yaptığı katkı ve desteklerinden dolayı Yrd. Doç. Dr. Belgin ERDEM'e çok teşekkür ederim.

Çalıőmam süresince maddi manevi destekleriyle, tez çalıőmamın her aşamasında yanımda olan ve beni yalnız bırakmayan Sevgili Anneme, Babama ve Eőim Kübra'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Son olarak çalıőmalarımnda beni yalnız bırakmayan, bana destek olan tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkür ederim. Bu çalıőmayı PYO-FBA 11-19 numaralı proje ile maddi olarak destekleyen Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araőtırma Projeleri birimine teşekkür ederim.

Mikail YENİÇERİ

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
ÇİZELGELER LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. <i>AEROMONAS</i> 'LARIN GENEL ÖZELLİKLERİ.....	4
2.2. <i>AEROMONAS</i> TÜRLERİNİN GELİŞİMİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER....	5
2.2.1. Sıcaklık.....	5
2.2.2. pH.....	6
2.2.3. NaCl ve aw (su aktivitesi).....	6
2.2.4. Atmosfer.....	7
2.2.5. Radyasyon	7
2.3. <i>AEROMONAS</i> TÜRLERİNİN GIDALARDA BULUNUŞU.....	7
2.3.1. Süt ve Süt Ürünleri.....	8
2.4. <i>AEROMONAS</i> TÜRLERİNİN ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞI	10
2.5. BAKTERİYEL LİPİTLER	11
2.5.1. Yağ asitleri	12
2.5.2. Polar Lipitler	14
2.5.3. <i>Aeromonas</i> 'larda Yağ Asitleri ve Önemi.....	16
3. MATERYAL VE METOT	17
3.1. MATERYAL	17
3.1.1. Hareketli <i>Aeromonas</i> Türlerinin İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasal Maddeler.....	17
3.1.1.1. Besiyerleri	17
3.1.1.2. Kimyasal maddeler.....	19
3.1.1.3. Gaz Kromatografisi Ekipmanları	21
3.1.1.4. Test suşları	21
3.1.1.5. pH metre.....	21

3.2. METOT	21
3.2.1. Hareketli <i>Aeromonas</i> Türlerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu	22
3.2.1.1. Hareketli <i>Aeromonas</i> türlerinin izolasyonu	22
3.2.1.2. Gram boyama ve mikroskopik tanı	23
3.2.1.3. Oksidaz testi	23
3.2.1.4. Katalaz testi	23
3.2.1.5. Hareketlilik testi	23
3.2.1.6. Vibriostatik Ajan O/129'a Dirençlilik testi	24
3.2.1.7. NaCl içermeyen ve % 6 NaCl içeren Nutrient Broth'da üreme	24
3.2.1.8. Eskulin hidrolizasyonu	24
3.2.1.9. KCN Broth'da üreme	24
3.2.1.10. Karbonhidrat fermentasyon testleri	24
3.2.1.11. Metil Red testi	25
3.2.1.12. Voges Proskauer testi	25
3.2.1.13. İndol testi	25
3.2.2. Hareketli <i>Aeromonas</i> Türlerinin İdentifikasyonu	25
3.2.3. Antimikrobiyal Direnç Testleri	25
3.2.3.1. <i>Aeromonas</i> kültürleri	26
3.2.4. Yağ Asidi Analizleri	26
3.2.4.1. Yağların ekstraksiyonu	27
3.2.4.2. Yağ asidi metil esterlerinin analitik ve preparatif ince tabaka kromatografisi	27
3.2.4.3. Yağ asidi metil esterlerinin gaz kromatografisi ile analizi	28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	30
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	39
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ	56

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Bakterilerde bulunan bazı yağ asitleri.....	13
Şekil 2.2. Bazı fosfolipit örnekleri	15
Şekil 4.1. <i>Aeromonas</i> 'ların GSP Agar'da görünümü.....	30
Şekil 4.2. Vibriostatik Ajan'a dirençlilik testi	30
Şekil 4.3. Eskulin hidrolizasyonu.....	31
Şekil 4.4. Karbonhidrat fermentasyonu	31
Şekil 4.5. Metil Red testi.....	31
Şekil 4.6. Voges Proskauer testi.....	31
Şekil 4.7. İndol testi.....	32
Şekil 4.8. SİM Medium'da hareketlilik testi.....	32
Şekil 4.9. Antibiyogram.....	32
Şekil 4.10. Kırşehir'de satışa sunulan dondurmалardan izole ve tanıfiye edilen hareketli <i>Aeromonas</i> türlerinin yüzdeleri	33
Şekil 4.11. İ tanıfiye edilen hareketli <i>Aeromonas</i> türlerinin dağılımı.....	34
Şekil 4.12. <i>Aeromonas hydrophila</i> 'nın yağ asitlerinin ince kâğıt kromatografisindeki görünümü	36
Şekil 4.13. <i>Aeromonas hydrophila</i> suşuna ait yağ asidi metil esterlerinin kromatogramı.....	38

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1.1. <i>Aeromonas</i> türlerinin ayrımı için yapılan biyokimyasal testler (Popoff, 1984; Abbott, 2003).	5
Çizelge 3.1. Hareketli <i>Aeromonas</i> türlerinin identifikasyon testleri (Palumbo ve ark., 1992; Abbott ve ark., 2003).....	22
Çizelge 4.1. Kırşehir’de tüketime sunulan dondurmaların hareketli <i>Aeromonas</i> türleri.....	33
Çizelge 4.2. Kırşehir’de satışa sunulan dondurmalarda hareketli <i>Aeromonas</i> türlerinin dağılımı.....	34
Çizelge 4.3. Dondurmalardan izole edilen <i>Aeromonas</i> türlerinin antibiyotiklere dirençliliği	35
Çizelge 4.4. <i>Aeromonas hydrophila</i> ’daki yağ asidi kompozisyonlarının karşılaştırılması.....	37

SİMGELER VE KISALTMALAR

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
a_w	Su aktivitesi
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
DNase	Deoksiribonükleaz
FAME	Yağ asidi metil esterleri (Fatty Acid Methyl Esters)
g	Gram
GC	Gaz kromatografisi
GSP Agar	Glutamat Nişasta Fenol Kırmızı Agar (Glutamate Starch Phenol Red Agar)
H₂S	Hidrojen Sülfür
kob-cfu	Koloni oluşturan birim (Colony Forming Unit)
l	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
μ	Mikron
μg	Mikrogram
μm	Mikrometre
MR	Metil kırmızısı (Metil Red)
nm	Nanometre
pH	Hidrojen iyon konsantrasyonu
spp.	Tür (Species)
TLC	İnce tabaka kromatografisi (Thin Layer Chromatography)
%	Yüzde

1. GİRİŞ

Dondurma pastörize edilmiş süt ve katı madde karışımının dondurulmasıyla üretilen ve besin değeri açısından zengin bir süt ürünüdür. Dondurma stabilizör, emülsifiyer, yağ ve şeker içeriği zengin bir besin olup, lezzet içeriğinin artırılması için şekerleme, meyve, şurup ve diğer tat verici maddeler de eklenmektedir (El-Khair ve ark., 2014).

Dondurmanın mikrobiyal kalitesi iç faktörlere (malzeme bileşeni) ve dış faktörlere (imalat aşaması) bağlıdır. Pastörizasyondan sonra lezzet maddeleri ve bazı bileşenlerin eklenmesi dondurmadaki kontaminasyonun kaynağıdır. Buna bağlı olarak pastörizasyon sonrası kontaminasyon ekipmanların yetersiz temizlenmesi, bozuk ürünün tekrar kullanılması ve personelle meydana gelmekte, bundan dolayı üretim, taşıma ve depolama sırasında çeşitli patojenik mikroorganizmalarla kontamine olmaktadır (Arslan ve ark., 2013). Bakteri miktarının son derece düşük olması gereken dondurmada birçok araştırmacı tarafından yüksek bakteri sayısının olduğu rapor edilmiştir. Bu duruma pastörizasyon işlemi sırasında ya da sonrasındaki kontaminasyon neden olmaktadır (Hunter ve Burge 1987; Arslan ve ark., 2013; El-Khair ve ark., 2014).

Dondurmada enterotoksijenik *Aeromonas* türlerinin bulunduğu (Yadav ve ark., 2000), ve hareketli *Aeromonas*'ların insanlarda gastroenterit, solunum yolu hastalıkları, göz enfeksiyonları, menenjit gibi hastalıklara neden olduğu rapor edilmiştir (Janda ve ark., 1998).

İmmun sistemi zayıflamış insanlar ile beş yaş altı çocuklar özellikle risk altındaki gruplar olup, *Aeromonas*'lardan kaynaklanan gastroenterit enfeksiyonların belirtileri çeşitlidir. Diyare sulu, kanlı, olabilmekte ayrıca bulantı, karın ağrısı, kusma ve ateşinde bu belirtilere eşlik ettiği rapor edilmiştir (Waites ve ark., 1991).

Antimikrobiyaller, mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarını tedavi etmek için kullanılan ilaçlardır. Ortak dezavantajları, yan etkilerinin olması ve mikroorganizmalarda direnç gelişimine neden olmalarıdır. Bu nedenle gerektiği durumlarda, etkene ve konağa ait faktörler dikkate alınarak seçilip kullanılmaları gerekir. "Antibiyotikler", bazı bakteri ve mantarlarca üretilen ve diğer

bakterilerin çoğalmasını engelleyen (bakteriyostatik) veya onları öldüren (bakterisidal) doğal maddelerdir. Penisilin, sefalosporinler ve makrolidler antibiyotiklere örnektir. Antibiyotiklerle aynı etkiyi gösteren, ancak sentetik olarak sentezlenen kimyasal bileşikler ise “kemoterapötik ajanlar” olarak adlandırılır. Sülfonamidler, kinolonlar, imidazoller bunlara örnektir. Kimyasal olarak sentezlenebilen bazı antibiyotikler veya türevleride (semi-sentetik antibiyotikler) bulunmaktadır (Saran ve ark., 2010).

Gelişmekte olan birkaç ülkede yaygın olarak kullanılan ucuz oral antibiyotiklere karşı enterik patojenler arasında yüksek oranda direnç olduğu rapor edilmiştir (Urio ve ark., 2001). Tıpta ve hayvansal kökenli gıda üretiminde antimikrobiyal ajanların sık kullanımı bakterilerdeki ilaç direncinin yanı sıra R plazmidi artışına yol açtığı rapor edilmiştir (Ngoci ve ark., 2012)

Bununla beraber *Aeromonas*'ların farklı ülkelerdeki farklı antimikrobiyal ajanlara karşı direnç oranlarının çeşitlilik gösterdiği gözlemlenmiştir. Direnç frekansındaki farklılıklar *Aeromonas* kaynağı ile ilişkili olup; farklı coğrafik alanlarda *Aeromonas* enfeksiyonları için farklı tipte ve frekansta olan antimikrobiyal ajanlar reçetelere yazılmaktadır. (Son ve ark., 1997).

Hücre duvarı, Mikoplazmalar hariç, bakterilerin etrafını tam ve kesintisiz olarak saran, kalınlığı bakteri cins ve türlerine göre değişiklik gösteren, genellikle 10-25 nm arasında bir ölçüye sahip olup, bakteri hücresinin bütünlüğünden ve dış etkileşiminden sorumludur. Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerde ortak bulunan peptidoglikan (murein, mukopeptid) tabakası bakteri hücre duvarının ana polimeridir (Kariptas, 1999).

Yağ asitleri, genelde uzun, alifatik kuyruklu monokarboksilik asitlerdir. Yağ asidi metil esterleri, metanol ve yağ asitleri arasındaki alkali kataliz reaksiyonu sonucunda oluşan ürünlerdir. Uzun karboksilik yağ asitlerinden 4 karbonlu (butirik asit) ve daha uzun zincirli olan yağ asidi olarak sayılmakta; doğal yağları (trigliseritleri) oluşturan yağ asitlerinin ise en az 8 karbonlu olduğu (kaprilik asit gibi) varsayılabilir. Çoğu doğal yağ asitlerinde çift sayılı karbon atomu bulunmakta, biyolojik sentezlerinde bu iki karbon atomlu asetat kullanılmaktadır (Anonim 2013a).

Bakteri hücre duvarını oluşturan kimyasal yapı ve bu yapının moleküler kompozisyonundaki değişimler çeşitli analiz yöntemleriyle belirlenebilmektedir. Kimyasal ve morfolojik yöntemler bir arada kullanılarak, genel düzeyde güvenilir bir tanımlama mümkün olabilmektedir (Karıptaş, 1999). Peptidoglikan ve sitoplazmik membran yapısında bulunan yağ asitleri, mikolik asitler, şekerler, polar lipitler, izoprenoid kinonlar ve aminoasitler kemotaksonomik çalışmalarda kullanılan önemli belirteçlerdendir. Kemotaksonomik karakterler morfolojik karakterlere göre genomu daha fazla yansıttığı için daha güvenilir sınıflandırılmaların yapılmasına olanak sağlamaktadır. Bu biyokimyasal belirteçler, hızlı ve hassas teknikler olarak kabul edilen, kromatografik (GC, GC-MS, HPLC, PyMS) ve elektroforetik yöntemlerle analiz edilmektedirler (Karıptaş ve ark., 2010).

Dış membranda ve sitoplazmik membrandaki yağlarda farklı çeşitleri ve oranları bulunan yağ asitleri bakteriyel suşlar için en önemli kimyasal özellikler arasında sayılmaktadır. Günümüzde kemotaksonomi çalışmalarında bakterilerin karakterize edilmesinde ve tanımlanmasında yağ asidi kompozisyonları temel alınmaktadır. Her mikroorganizmada yağ asidi bulunduğundan bu belirteçler mikrobiyal soyağacının takibinde önemli bir araç olarak kullanılmaktadır (Karıptaş ve ark., 2010).

Çeşitli metotlarla, bakteri kültürlerinden yağ asidi özütlenmesi yapılmakta ve devamında bir seri uygulamalarla metil esterleştirilmesi gerçekleştirilen örnekler daha sonra analiz edilmektedir. Yapılan analizlerde yağ asitlerinin uzunlukları, bağları, halkaları ve dalları belirlenmektedir (Anonim, 2013b).

Bu çalışmada Kırşehir'de farklı yerlerde tüketime sunulan sade, kakaolu ve meyveli dondurmalarından izole edilen hareketli *Aeromonas* türü bakterilerin identifikasyonu, antimikrobiyal dirençlerinin incelenmesi ve yağ asidi kompozisyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. AEROMONAS'LARIN GENEL ÖZELLİKLERİ

Bugün *Aeromonas* olarak bilinen etkeni Chemnitz ve Zimmerman 1890 yılında musluk suyundan izole etmişler ve *Bacillus punctatus* olarak isimlendirmişlerdir. 1894'de Emmerih ve Weibel etkeni balıklardan izole ederek *Bacterium salmonicida* olarak isimlendirmiştir. Kluyver ve Van Niel 1936'da *Aeromonas* ismini ilk olarak ortaya koymuşlardır. Caselitz etkeni 1955 yılında septisemili bir insandan izole ederek *Vibrio jamaicensis* olarak isimlendirmiştir. Popoff ve Veron DNA hibridizasyon çalışmalarlarıyla *Aeromonas* türlerini test etmişlerdir (Popoff, 1984; Joseph ve ark., 1988; Joseph ve Carnahan, 1994; Amaro ve Biosca, 1996; Caselitz, 1996).

Daha önce *Vibrionaceae* familyasında içerisinde sınıflandırılan ancak yapılan 16S rRNA gen sekans analizleri sonucunda *Aeromonadaceae* familyası içerisinde yer alan (Janda ve ark., 2010) *Aeromonas* türleri, Gram negatif, sporsuz, kapsülsüz, çubuk şeklinde, kamçıları sayesinde hareketli ya da hareketsiz, sıklıkla da peritrik kamçıya sahip olup, yeni hücre kültürlerinde peritrik kamçı, eski hücre kültürlerinde polar kamçılar vardır. Hareketli *Aeromonas* türleri 0.3-1.0 µm genişliğinde, 1.0-3.5 µm uzunluğunda, uçları yuvarlak şekilde sonlanan bakterilerdir. Çoğunlukla tek, ikili veya kısa zincirler şeklinde bulunurlar (Abbott ve ark., 2003). Hareketli *Aeromonas* türleri katı besiyerlerinde konveks, yuvarlak, düzgün kenarlı ve gri-beyaz görünüme sahip pigmentsiz koloniler oluşturmaktadırlar (Hunter ve ark., 2006). *Aeromonas* türlerinin üreme sıcaklığı 4-42 °C ve optimum üreme sıcaklığı 28 °C'dir. Hareketli *Aeromonas* türleri için üreme aralığının pH 4-10 arasında olduğu, buna karşın optimum pH değerinin 7.2 olduğu bildirilmiştir (Küplülü ve ark., 2000).

Aeromonas cinsi bakteriler iki alt gruptan oluşmaktadır. İlk grup psikrofilik ve hareketsiz *Aeromonas*'ları, ikinci grup ise mezofilik ve hareketli *Aeromonas*'ları kapsamaktadır. Hareketsiz *Aeromonas* grubu özellikle somon balıkları için patojen olan *Aeromonas salmonicida*'yı kapsar. Hareketli *Aeromonas* grubu ise *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* ve *Aeromonas caviae* türlerini kapsar. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda yeni türleri de ortaya konmuştur (Janda, 1991).

Aeromonas türlerini birbirinden ayırmak için kullanılan bazı biyokimyasal testler vardır bu testlerden en çok kullanılanı Çizelge 1.1.'de gösterilmiştir (Popoff, 1984; Abbott, 2003).

Çizelge 1.1. *Aeromonas* türlerinin ayrımı için yapılan biyokimyasal testler (Popoff, 1984; Abbott, 2003).

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	+	+	+

(+) Pozitif, (-) Negatif.

2.2. AEROMONAS TÜRLERİNİN GELİŞİMİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

2.2.1. Sıcaklık

4 °C'den 42 °C'ye kadar değişen sıcaklık derecelerinde üreyebilen hareketli *Aeromonas* türleri için optimum üreme sıcaklığının 28 °C olduğu ve 37 °C'de de rahatlıkla üreyebildiği rapor edilmiştir (Popoff, 1984; Palumbo ve ark., 1985; Knochel, 1990; Mc Clure ve ark., 1994).

Aeromonas türleri 60 °C’de 20 dakikada, 65 °C’de 10 dakikada inaktive olmasına rağmen ısıya dayanıklı suşlarının da olduğu ve ısıtma işlemi sırasında *Aeromonas*’ların ürettiği ekstrasellüler proteolitik ve hemolitik ürünlerin tahrip olduğu bildirilmiştir (Wang ve Gu, 2005). Yapılan bir çalışmada 5 °C’de saklanan *Aeromonas* türleri ile kontamine sebzelerin depolama süresince sayılarının arttığı rapor edilmiştir (Palumbo ve ark., 1985). *Aeromonas hydrophila*’nın çiğ sütte 5 °C’deki varlığı üzerine yapılan çalışmada, 2×10^3 ile 7×10^6 düzeyinde artışların olduğu bildirilmiştir (Palumbo ve ark., 1985). Yapılan diğer bir çalışmada kesim aşamasının çeşitli evrelerinden alınarak buzdolabında muhafaza edilen broiler karkaslarda *Aeromonas* türlerinin sayısında artış olduğu bildirilmiştir (Hinton ve ark., 2004).

2.2.2. pH

Hareketli *Aeromonas* türlerinin üreyebildiği pH değerleri 4-10 arasında olmasına rağmen optimum pH değerinin 7.2 olduğu bildirilmiştir. *Aeromonas* türlerinin yüksek pH düzeylerinde bile canlılıklarını koruduğu ve *Aeromonas* türlerinin pH 5.5’in altındaki değerlere duyarlı oldukları bildirilmiştir (Palumbo ve Buchanan, 1988; Kirov, 1993; Roberts ve ark., 1996).

Yapılan bir çalışmada *Aeromonas spp.*’nin oldukça düşük pH’ya duyarlı (<5.2) ve pH 9.8’e kadar toleransı olduğu rapor edilmiştir (Wang ve Gu., 2005).

2.2.3. NaCl ve aw (su aktivitesi)

Su aktivitesi (aw), aynı sıcaklıktaki saf suyun buhar basıncının, gıda içerisindeki suyun buhar basıncına olan oranı olarak ifade edilmektedir. Mikroorganizmaların gelişebildikleri su aktivitesi sınır değerleri vardır. Başlıca patojen olan bakteriler için bu değer, 0.90 aw’dır. Su aktivitesi; ürünün raf ömrünü, rengini, kokusunu, lezzetini ve yapısını etkiler (Anonim, 2013c). Bu nedenle su aktivitesinin ölçülmesi, mikrobiyolojik riskleri en aza indirmenin ve gıda kalitesini optimum seviyede tutmanın en önemli yoludur (Anonim, 2013c).

Hareketli *Aeromonas* türlerinin optimum tuz konsantrasyonu % 1-2, optimum su aktivitesi (a_w) değeri 0.94_{a_w} - 0.98_{a_w} 'dir. *Aeromonas* türlerinin sıcaklık düşürüldüğünde tuzu tolere etme yeteneklerinin azaldığı bildirilmiştir (Sautour ve ark., 2003). Yapılan bir diğer çalışmada % 3,5 NaCl içeren ve düşük sıcaklık derecelerinde muhafaza edilen gıdalarda *Aeromonas*'ların elimine olduğu rapor edilmiştir (Palumbo ve ark., 1991; Mary ve ark., 2003).

2.2.4. Atmosfer

Son ürünlerde *Aeromonas hydrophila*'nın üremesinin önlenmesi hatta tamamıyla elimine edilebilmesi için modifiye atmosfer uygulamalarına ek olarak yüksek tuz, düşük pH, düşük sıcaklık uygulamalarıyla beraber kimyasal koruyucularında ilave edilmesi gerektiği bildirilmiştir (Palumbo ve Buchanan, 1988, Allende ve ark. 2002).

Yapılan bir çalışmada modifiye CO₂ kullanılmasının su aktivitesini düşürdüğü ve *A. hydrophila*'nın üremesini engellediği bildirilmiştir (Devlieghere ve ark., 2000).

2.2.5. Radyasyon

Radyasyon işleminin, gıda kaynaklı patojenleri ortadan kaldırılmada etkili bir yöntem olduğu ve bu amaçla yapılan çalışmada kanatlı etlerinde ve taze balıklarda *Aeromonas* türlerinin yıkımlanması için 150 kiloradlık (rad: absorbe olan radyasyon doz birimi) dozun yeterli olduğu bildirilmiştir (Palumbo ve Buchanan, 1988).

2.3. AEROMONAS TÜRLERİNİN GIDALARDA BULUNUŞU

Gıda kaynaklı ilk hareketli *Aeromonas* enfeksiyonu, 1982 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde çiğ olarak tüketilen istiridyelerden kaynaklandığı rapor edilmiştir (Abeyta ve ark., 1986).

Daha sonra yapılan araştırmalarda diğer gıda maddelerinden de (balık, tavuk, kıyma, kanatlı eti, kırmızı et, sebze ve meyve) hareketli *Aeromonas*'ların izole edildiği ve bu mikroorganizmanın insanlarda çeşitli hastalıklara neden olduğu rapor edilmiştir (Carnahan ve Altwegg 1996; Hanninen ve ark., 1997; Martins ve ark., 2002).

2.3.1. Süt ve Süt Ürünleri

Hareketli *Aeromonas* türlerinin süt ve süt ürünlerinde kontaminasyona neden olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Janda ve ark., 2010; Nazem ve ark., 2010; Ahmed ve ark., 2014).

Avustralya'da yapılan bir çalışmada 72 çiğ ve 183 pastörize süt numunesinde, çiğ sütlerin % 60'ından, pastörize sütlerin ise % 3.8'inden *Aeromonas* türleri izole edilmiş ve çiğ süttten identifiye edilen türlerin % 74'ünü *A. hydrophila*, pastörize süttten identifiye edilen türlerin çoğunu ise *A. sobria*'nın oluşturduğu rapor edilmiştir (Kirov ve ark., 1993).

Hareketli *Aeromonas*'lar yönünden 80 gıda örneğinin incelendiği bir çalışmada, çiğ süt ve peynir örneklerinin % 20'sinden hareketli *Aeromonas*'ların izole edildiği bildirilmiştir (Pin ve ark., 1994).

Ülkemizde yapılan çalışmada 80 çiğ süt örneğinin 23'ünden (% 28.7) hareketli *Aeromonas* türleri izole edilmiş ve izole edilen 23 izolatın 15'inin (% 65.3) *A. hydrophila*, 7'sinin (% 30.4) *A. sobria* ve 1'inin (% 4.3) *A. caviae* olduğu bildirilmiştir (Akan ve ark., 1996). Pastörize sütlerden hareketli *Aeromonas* türlerinin izolasyonu üzerine yapılan bir diğer çalışmada ise etkenin % 19 oranında izole edildiği rapor edilmiştir (Sarımehmetoğlu ve ark. 1998).

175 adet çiğ süt numunesinin incelendiği bir başka çalışmada ise çiğ süt örneklerinin 44'ünden (% 25.4) hareketli *Aeromonas* suşları izole edilmiştir (Tayar, 2001). 100 çiğ süt örneğinin incelendiği bir başka çalışmada örneklerin 6'sından hareketli *Aeromonas*'ların izole edildiği bildirilmiştir (Solmaz ve ark., 2002).

Çiğ sütlerde hareketli *Aeromonas* türlerinin bulunma sıklığını ortaya koymak ve ilk sağılan süttün kontaminasyondaki rolünü belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, 100 adet sağmal inekten direkt el sağımı ile alınan süt örneklerinin % 3'ünden hareketli *Aeromonas* türlerinin izole edildiği, sağım sonrası hijyen kurallarına gerekli özen gösterilmediğinde çiğ süttlerin *Aeromonas* türleri ile kontaminasyon riskinin yüksek olabileceği bildirilmiştir (Alişarlı, 2003).

Buzdolabı muhafaza koşullarında gelişme yeteneğine sahip olan hareketli *Aeromonas* türlerinin pastörize sütlerde bulunması, *Aeromonas*'ların gıdalarda potansiyel enfeksiyon kaynağı olabileceği bildirilmiştir (Palumbo ve ark., 1985).

Aeromonas spp. ile kontamine olan çiğ sütte % 17.14 oranında *Aeromonas hydrophila* olduğu bildirilmiş (Subashkumar ve ark., 2010) olup bir başka çalışmada çiğ süt örneklerinin % 47.7'sinde *Aeromonas hydrophila* tespit edilmiştir (Yücel ve Çıtak, 2003).

Yapılan bir çalışmada *Aeromonas hydrophila* dışında, *Aeromonas sobria*'nında sütte görüldüğü rapor edilmiştir (Yadav ve ark., 2000).

Çiğ inek sütünde mikrobiyal yoğunluk düzeyinin, örneklerin % 15.9'unda 3×10^2 ile 5×10^3 cfu/ml arası *Aeromonas hydrophila*, % 13'ünde 2×10^2 ile 3×10^3 arası *Aeromonas caviae* ve % 3.6'sında 2.5×10^3 ile 5×10^3 arası *Aeromonas sobria* olduğu bildirilmiştir (Melas ve ark., 1999).

Nijerya'da yapılan bir çalışmada yoğurt örneklerinin % 25'inden *Aeromonas* izole edildiği bildirilmiştir (Nwamaka ve Chike, 2010).

Yumuşak peynir örneklerinin % 17.7'sinde *Aeromonas hydrophila* ve *Aeromonas caviae* rapor edilmişken (Araujo ve ark., 2002), Urfa peynir örneklerinin % 27'sinin *Aeromonas spp.* ile kontamine olduğu bildirilmiştir (Uraz ve ark., 2008).

Yapılan bir çalışmada 64 dondurma örneğinin 3'ünden *A. caviae* izole edildiği bildirilmiştir (Hunter ve Burge, 1987)

Botsvana'da kapalı pakette ve açıkta satılan dondumalarda izole edilen *Aeromonas*'ların % 2 oranında olduğu bildirilmiştir (Mathews ve ark., 2013)

Libya'da yapılan bir çalışmada 111 adet açık dondurma örneği ve 49 adet kapalı pakette satılan dondurma örneklerinden sırası ile % 18 ve % 20'sinin *Aeromonas spp.* yönünden pozitif olduğu bildirilmiştir (Ghenghesh ve ark., 2008).

Yapılan bir başka çalışmada dondurma örneklerinin % 19'unun *Aeromonas spp.* yönünden pozitif olduğu bildirilmiştir (El-Sharef ve ark., 2006).

Aeromonas spp. ile kontamine olmuş çiğ sütlerin insan sağlığı için tehlikeli olduğu rapor edilmiş olup süttten başlıca sitotoksijenik ve daha az sıklıkta entorotoksijenik ve hemolitik *Aeromonas hydrophila* izole edildiği rapor edilmiştir (Martins ve ark., 2002).

Enterotoksijenik *Aeromonas*'lar dondurmada nadir olarak bulunmaktadır. Hindistan'da yapılan bir çalışmada dondurma örneklerinin de bulunduğu 285 gıda örneğinden % 14 oranında *Aeromonas sp.* izole edilmiş ve izole edilen *Aeromonas*'lar arasında *A. hydrophila*'nın oranının yüksek olduğu rapor edilmiştir (Ghengesh ve ark., 2008).

2.4. AEROMONAS TÜRLERİNİN ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞI

Antibiyotikler genel olarak bakteri türü mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan ve hayat kurtarıcı olabilen çok önemli bir ilaç grubudur. Günümüzde en çok reçete edilen ilaçlardan olan antibiyotiklerin bilinçsiz kullanımı sonrasında bakterilerin bu ilaçlara karşı direnç geliştirmeleri nedeniyle normalde tedavi edilebilecek olan enfeksiyonların tedavisi zorlaşmakta, ilaca bağlı yan etkiler artmakta, hastaların hastanelerde kalış süreleri uzamakta ve tedavi maliyeti çok yükselmektedir. Hastaların kaybedilmesine yol açabilecek kadar ciddi sonuçları olan “direnç gelişmesi” sorunu nedeniyle bilinçsiz antibiyotik kullanımı en önemli toplumsal problemlerden birisini oluşturmaktadır (Anonim, 2013d).

Aeromonas'ların penisilinler ve diğer antibiyotiklere karşı dışarıdan alınan plazmidler ile direnç kazandığı bildirilmiştir (Awan ve ark., 2009).

Yapılan bir çalışmada *Aeromonas*'ların tetrasiklin, kloramfenikol, neomisin ve gentamisine duyarlı, ampisilin, penisilin ve eritromisine karşı dirençli olduğu saptanmıştır (Sinha ve ark., 2004).

İshal dışında başka bir *Aeromonas* enfeksiyonunda hastalara önceden hazırlanmış ampisilin verilebileceği bildirilmiştir (Ghengesh ve ark., 1999).

Aeromonas enfeksiyonları gastrointestinal bölge ile sınırlı olmasına rağmen bulaşıcı ishal semptomlu hastalarda kullanılan antibiyotik uygun kan ve dışkı kültürlerinde test edildikten sonra ağır ve ekstraintestinal enfeksiyonlu hastalarda kullanılmaya başlanmıştır (Haeusler ve ark., 2013).

Gelişmekte olan ülkelerdeki kıtlık zamanlarında *Aeromonas* kaynaklı ekstraintestinal enfeksiyonlar hakkında bilgiler mevcuttur. Güney Tayland'da tsunami mağdurları arasında cilt ve yumuşak dokulardan izole edilen *Aeromonas sp.*'nin amikasin, gentamisin, sefepim, sefotaksim, seftazidim, siprofloksasin, imipenem ve trimetoprim-sülfametoksazol antibiyotiklerine karşı duyarlı olduğu, bununla beraber *Aeromonas* izolatlarının % 21'nin sefazoline ve % 23'nün amoksisilinklavulanateye duyarlı olduğu rapor edilmiştir. Özel kliniklerde yapılan incelemelerde tedavisi yapılan hastaların yalnızca yerel halktan olmadığı, % 90'ından fazlasını turistlerin oluşturduğu rapor edilmiştir (Ghenghesh ve ark., 2008). Kuveyt'te yaşlı hastaların idrar yolu enfeksiyonları sırasında izole edilen *A. caviae*'nin siprofloksasin, sefotaksim ve gentamisine duyarlı olduğu buna karşın amoksisilin, sotrimoksazol, ampisilin, sefuroksim ve sepalotine dirençli olduğu rapor edilmiştir. Üç ay boyunca takibi yapılan hastalara idrar kültüründe tekrarlanarak yapılan antibiyotik testinden sonra iki hafta boyunca her iki saatte bir 500 mg siproflazosin verildiği ve bakterilerde hiçbir büyümenin olmadığı gözlemlenmiştir (Hiransuthikul ve ark., 2005).

Venezüella'da yapılan çalışmada kandan izole edilen *Aeromonas hydrophila*'nın amikasin, gentamisin oksasilin, piperasilin, ampisilin-sulbaktam, sefotaksim, levofloksasin ve siprofloksasine dirençli, imipenem ve sefoperazon sulbaktama duyarlı olduğu rapor edilmiştir (Rodriguez ve ark., 2005).

Bakterilerin, mevcut ve yeni nesil antibiyotiklere olan direnci geliştikçe, değişen ortam şartlarına kolayca adapte olabilmekte ve insanlarda hastalık etkeni olma potansiyeli artmaktadır. Bu çalışmada, önceki yapılan çalışmalara katkı sağlayarak daha sonraki yapılacak olan araştırmalara ışık tutması ve hareketli *Aeromonas* türlerinin antibiyotik direnç frekanslarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2.5. BAKTERİYEL LİPİTLER

Dünya'da diğer canlılarda olduğu gibi bakterilerde de en temel organik bileşiklerden birisi lipitlerdir. Sitoplazmik membranların fonksiyonlarında önemli rol oynayan lipitler; sıcaklık, yüzey gerilimi, osmotik basınç ve pH gibi farklı çevresel faktörlerden etkilenmektedirler. Bakterilerin tanımlanmasında ve karakterize

edilmesinde lipitleri oluşturan yağ asitleri temel taksonomik kriterlerden birisi olarak kabul edilmektedir (Karıptas, 1999).

2.5.1. Yağ asitleri

Yağ asitleri uzun zincirli alifatik moleküllerin karboksilik asit türevleridir. Bakterilerde 12-20 karbon atomu arasında değişen uzun zincirli yağ asitleri ile 20 ila 80-90 karbon atomuna sahip mikolik asitler olmak üzere iki ana grup şeklinde yerleşim göstermektedirler (Minnikin ve Goodfellow, 1976; Karıptas, 1999)

Sitoplazmik membranın bileşiminde polar lipit ve glikolipit olarak bulunan çoğu yağ asitleri (Kates, 1964) iki katmanlı lipit tabakasının ayrılmaz bileşenlerini oluşturmaktadırlar (Ratledge ve Wilkinson, 1988). Yağ asit çeşitleri ile yapılan kapsamlı çalışmalarda (zincir uzunlukları, çift bağ pozisyonları, değişken grupları) yağ asitlerinin yüksek oranda düzenli olan yapıları onların faydalı bir belirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Suzuki ve ark., 1993).

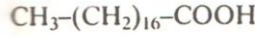
Yağ asitleri karbon iskeletinin temel yapısına, örneğin karbon atomu sayısı, karbon zincirindeki çift bağın pozisyonu ve sayısı ile fonksiyonel grubun varlığına göre sınıflandırılmaktadırlar (Suzuki ve ark., 1993).

Bacillus, *Staphylococcus*, ve *Streptomyces* gibi diğer önemli organizmalara ait cinslerde ise, özellikle düz zincirli ve iso, anteiso dallanmış yağ asitleri ile nadiren dallanmamış yağ asitleri bulunmaktadır (Okami ve ark., 1970; Bowie ve ark., 1972; Kaneda, 1977; O`Donnell ve ark., 1985; Saddler ve ark., 1987; Kaneda, 1991). Hem düz zincirli doymuş ve doymamış yağ asitlerini bunun yanı sıra dallanmış yağ asitleri gibi kompleks yağ asidi profilleri *Microbispora*, *Streptosporangium* ve *Nocardioides* gibi aktinomiset cinsleri için karakteristik yağ asitlerindedir (Yano ve ark., 1969; O`Donnell ve ark., 1982; Collins ve ark., 1983; Kudo ve Seino, 1987; Miyadoh ve ark., 1990).

Yağ asidi metil esterlerinin hazırlanmasında dondurularak kurutulmuş hücreler kullanılmakta, hücresel yağ asitlerinin kantitatif analizleri metilasyonu takiben gaz kromatografisinde (GC) yapılmaktadır. (Goodfellow ve ark., 1993). Bakterilerde bulunan yağ asit çeşitlerinden bazıları Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.

Doymuş asitler

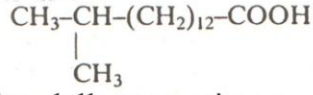
Düz-zincirli asit



n-Oktadekanoik asit

(n-18:0)(stearik asit)

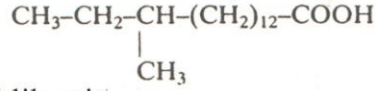
Iso-dallanmış asit



14-Metil pentadekanoik asit

(i-16:0)

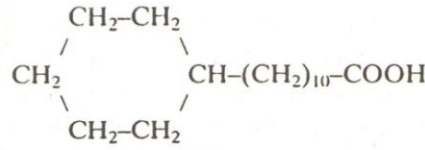
Anteiso-dallanmış asit



14-Metil hegzadekanoik asit

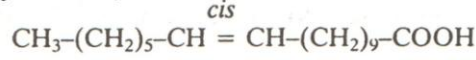
(a-17:0)

w-Siklik asit



w-Sikloheksil undekanoik asit

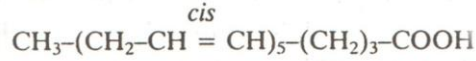
Doymamış asitler ve türevleri



11-Oktadekanoik asit

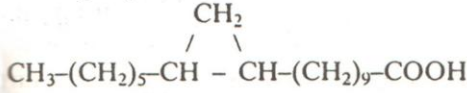
(18:1(Δ^{11})) (cis-vaksenik asit)

Poliienoik asit



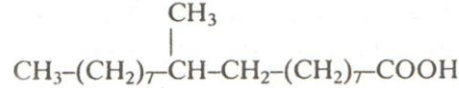
5,8,11,14,17-Eikosapentaenoik asit (EPA)
(20-5, w 3)

Siklopropan asit



11,12-Metilen oktadekanoik asit
(siklo-19:0) (laktobasilik asit)

10-Metil asit



10-Metil oktadekanoik asit
(t-19:0) (tübekülostearik asit)

Hidroksi asitler

3-Hidroksi asit



3-Hidroksi dekanik asit
(3OH-10:0)

2-Hidroksi asit



2-Hidroksi hegzadekanoik asit
(2OH-16:0)

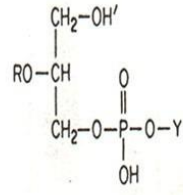
Şekil 2.1. Bakterilerde bulunan bazı yağ asitleri

2.5.2. Polar Lipitler

Polar lipitler, bakteri hücre membranının başlıca bileşenlerinden olup, aktinomisetlerin sınıflandırılması ve tanımlanmasında kullanılan önemli belirteçlerdendir (Minnikin ve Goodfellow, 1980; Minnikin, 1982; Minnikin ve ark., 1984b; Komagata ve Suzuki, 1987; Suzuki ve ark., 1993). Fosfolipitlere özgü olan amfipatik karakter hem hidrofobik hemde hidrofilik bölgelere sahip olmasından kaynaklanmaktadır (Komagata ve Suzuki, 1987; Kariptas, 1999).

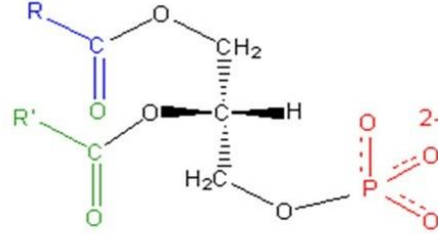
Polar lipitler bütün serbest yaşayan organizmalarda bulunan, nötr organik çözücüler kullanılarak özütlenmeleri (ekstraksiyonları yapılarak ince tabaka kromatografisinde analiz edilen ve taksonların tanımlanmasında kullanılan özel belirteçlerdir (Lechevalier ve ark., 1977; Minnikin ve ark., 1977a, b, 1979; 1984a; Minnikin ve O`Donnell 1984; O`Donnell ve ark., 1984; Kariptas, 1999)

Bakterilerde başlıca polar lipit tipleri fosfolipitler ve glikolipitler (Goldfine, 1972; Shaw, 1974), olmasına karşın ornitin ve lisin amid gibi daha az yaygın olan tipleride belli oranlarda görülmektedir (Goodfellow ve Minnikin, 1977). Bazı fosfolipit örnekleri Şekil 2.2.'de verilmiştir.

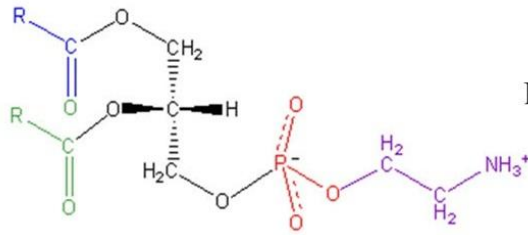


Y=gliserol, etanolamin, vb.

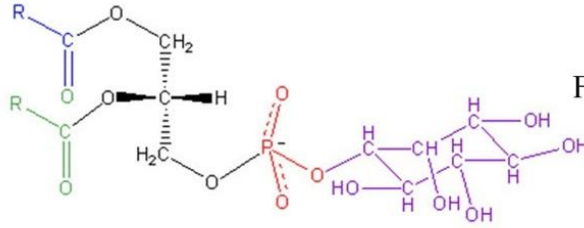
R, R' = Uzun zincirli açil



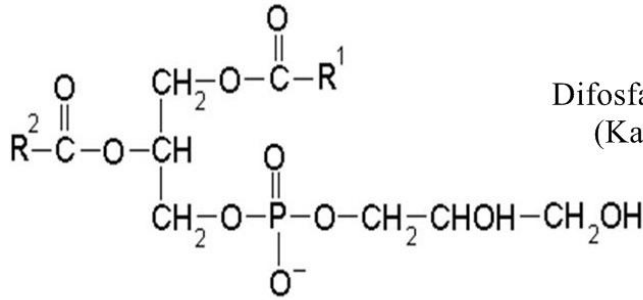
Fosfatidik asit (FA)



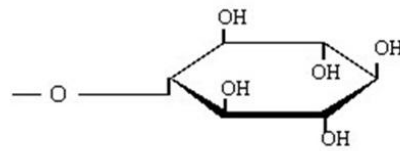
Fosfatidiletanolamin (FE)



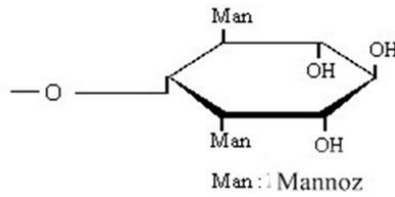
Fosfatidilgliserol (FG)



Difosfatidilgliserol (DFG)
(Kardiolipin)



Fosfatidilinozitol (Fİ)



Fosfatidilinozitolmannosit (FİDM)

Şekil 2.2. Bazı fosfolipit örnekleri

2.5.3. *Aeromonas*'larda Yağ Asitleri ve Önemi

Başlangıçta yalnızca klinik *Aeromonas* türlerini klinik olmayan *Aeromonas* türlerinden ayırmak için yapılan yağ asidi analizi çalışmaları klinik *Aeromonas*'ların yağ asitlerinin analizleri üzerine yoğunlaşmıştır. Klinik olmayan *Aeromonas*'larda yağ asidi analizi çalışmaları sınırlı olup buna ek olarak, *Aeromonas* cinsine ait *Aeromonas* suşlarının belirli yağ asidi metil esterleri (FAME) çalışmalarında hibridize grup (HG_s) arasındaki fenotipik ve genotipik taksonomik farklılıklar dikkat çekmektedir (Anonymous, 1994).

Klinik olmayan *Aeromonas*'larda da yağ asidi analizi çalışmaları yapılmış olup, *Aeromonas*'lara ait 44 yağ asidi ve ikili alkollerin incelendiği bir çalışmada 90 suşun 12:0, 13:0 iso, 14:0, 15:0 iso 3OH, 16:0, 16:1 ω7c, 17:0 iso, iso 17:1 ω9c yağ asitlerini içerdikleri rapor edilmiştir (Huys ve ark., 1994). Gökkuşluğu balıklarından izole edilen *A. salmonicida* ile yapılan bir çalışmada ise 14:0 3OH/16:1 iso 1, 16:1 ω7c/15 iso 2 OH, 16:0 ve 18:1 ω7c yağ asitlerinin bulunduğu bildirilmiştir (Bektas ve ark., 2007).

Bakteriyel sistematikte kullanımını artan serbest yağ asidi komplekslerinin, farklı büyüme ortamlarında mikrobiyal ekoloji bakımından iyi bir kemotaksonomik özellik olacağı düşünülmektedir (Kariptas, 1999). Biyoteknoloji ve genetik mühendisliği alanındaki gelişmelere bağlı olarak mikroorganizmaların tanı ve teşhis yöntemlerinde de hızlı gelişmeler olmuştur. Mikroorganizmaların makromoleküllerinin bileşimi ve oransal yüzdelerinden yararlanılarak geliştirilen moleküler tanı teknikleri arasında günümüzde yaygın olarak kullanılan metotlardan birisi de yağ asidi metil esterlerinden (FAME) faydalanılarak yapılan mikrobiyal tanı sistemidir (Dikbaş ve ark., 2009).

Aeromonas türlerinin hücre duvar kompozisyonları hakkında yapılan literatür çalışmasında çok az bilgi mevcut olup, dondurma örneklerinden izole edilen *Aeromonas* türlerinin hücre duvar kompozisyonlarında incelendiği bu çalışmada, *Aeromonas*'ların hücre duvar kompozisyonlarına dair yeni bilgiler verilmesi amaçlanmıştır.

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. MATERİYAL

Bu çalışmada, Kırşehir'in farklı semtlerinde bulunan dondurmacılardan 2012 yılı Mayıs-Temmuz ayları arasında toplanan 21'i sade, 20'si kakaolu ve 11'i meyveli olmak üzere toplam 52 dondurma örneği materyal olarak kullanılmıştır. Dondurma örnekleri, yaklaşık 200 g miktarında, aseptik şartlarda alınmış ve soğuk zincir altında laboratuara getirildikten hemen sonra mikrobiyolojik yönden analize alınmıştır.

3.1.1. Hareketli *Aeromonas* Türlerinin İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasal Maddeler

3.1.1.1. Besiyerleri

Ampisilin'li Alkali Peptonlu Su

Hazırlanışı

Peptonlu Su (Merck 6579) besiyerinden 15.6 g alınarak 1000 ml distile suda çözdürülmüştür. Homojenize edilen karışımın pH'sı 8.6'ya ayarlanarak 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra 50 °C'ye soğuyan besiyerine, 5 ml distile suda çözdürülen 0.02 g ampisilin membran filtreden geçirilerek steril ortamda besiyerine eklenmiştir.

Glutamate Starch Phenol Red Agar (GSP) Agar (Merck 110230)

Hazırlanışı

Glutamate Starch Phenol Red Agar (Merck 110230) besiyerinden 30.6 g alınarak 1000 ml distile suda çözdürülmüş ve homojenize edilen karışımın pH'sı 8.5'e ayarlanarak 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra 50 °C'ye soğuyan besiyerine, 5 ml distile suda çözdürülen 0.02 g ampisilin membran filtreden geçirilerek steril ortamda besiyerine eklenmiş ve steril petrilere dökülmüştür.

Tryptone Soya Agar (Sigma Aldrich 22091)

Hazırlanışı

Tryptone Soya Agar (Sigma Aldrich 22091) besiyerinden 41.6 g alınarak 1000 ml distile suda karıştırılmış ve su banyosunda tamamen çözdürüldükten sonra 121 °C’de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiş 50 °C’ye kadar soğutulmuş ve steril petrilere dökülmüştür.

DNase Agar (LAB 095, idg[®], Lancashire)

Hazırlanışı

DNase Agar (LAB 095, idg[®], Lancashire) besiyerinden 43.6 g alınarak, üzerine 0.01 g Toluidin mavisi ilave edilmiş ve 100 ml distile suda karıştırılmış ve su banyosunda tamamen çözdürüldükten sonra 121 °C’de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiş 50 °C’ye kadar soğutulmuş ve steril petrilere dökülmüştür.

Nutrient Broth (HIMEDIA M002)

Hazırlanışı

Nutrient Broth (HIMEDIA M002) besiyerinden 8.3 g alınarak, 1000 ml distile suda çözdürülmüş ve deney tüplerine 10’ar ml paylaştırılarak 121 °C’de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

Bile Esculin Agar (Merck 100072)

Hazırlanışı

Bile Eskülin Agar (Merck 100072) besiyerinden 46.2 g alınarak, 1000 ml distile suda karıştırılmış ve su banyosunda tamamen çözdürüldükten sonra 121 °C’de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiş 50 °C’ye kadar soğutulmuş ve steril petrilere dökülmüştür.

Sulphate Indol Motility (SIM) Medium (Sigma Aldrich 85438)

Hazırlanışı

SIM Medium (Sigma Aldrich 85438) besiyerinden 31.2 g alınarak, 1000 ml distile suda karıştırılmış ve su banyosunda tamamen çözdürüldükten sonra deney tüplerine 10’ar ml paylaştırılarak 121 °C’de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

Potassium Cyanide (KCN) Broth (Hopebio HB4101)

Hazırlanışı

KCN Broth base (Hopebio HB4101) besiyerinden 14.3 g alınarak, 1000 ml distile suda karıştırılmış ve su banyosunda tamamen çözdürüldükten sonra deney tüplerine 10'ar ml paylaştırılarak 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

MRVP (Methyl Red-Voges Proskauer) Medium (HIMEDIA M070)

Hazırlanışı

MRVP medium (Oxoid CM 43) besiyerinden 15.6 g alınarak, 1000 ml distile suda çözdürüldükten sonra deney tüplerine 10'ar ml paylaştırılarak 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

Voges Proskauer Ayıracı (VP)

Bileşimi

α - Naphtol (Merck 6223)	5 g
Absolute Alcohol (Sigma Aldrich)	100 ml
Potassium Hydroxide (Merck 5032)	40 g
Distile Su	100 ml

Methyl Red Ayıracı (MR)

Bileşimi

Methyl Red (Merck 159276)	0,1 g
Ethanol (%95) (Sigma Aldrich)	300 ml
Distile Su	500 ml

3.1.1.2. Kimyasal maddeler

Oksidaz Test Kiti (Merck, Bactident Oxidase, 1.13300)

Vibriostatik Ajan O/129 Test Kiti (10 µg (Oxoid DD14)) ve 150 µg (Oxoid DD15) O/129 (2-4-diamino-6,7- diisopropylpteridine) içeren diskler kullanılmıştır.

Ampicillin Selective Supplement (Sigma-Aldrich A9393)

Hydrogen peroxide (H₂O₂–Merck 8597)

Sodium hydroxide (NaOH–Merck 101564)

Sodium chloride (NaCl–Merck 106404)

D-Mannitol (Merck 5980)

L-Arabinose (Merck 1492)

Salicin (Merck 7665)

D-Glucose (Merck 8337)

L-Cysteine Hydrochloride Monohydrate (Merck 102839)

Kovacs Indol Reagent (Merck 109293)

Methanol (J. T. Baker 9193)

Toluene (Carlo Erba P0711010)

Con. H₂SO₄ (Merck 10907)

Hexane (Merck 104374)

Na₂HPO₄ (Merck 109477)

NAOH (Merck 106467)

Molybdophosphoric acid (Sigma-Aldrich 221856)

Ethanol (% 95) (Sigma Aldrich 32205)

Acetone (Merck 100020)

Rhodamine 6G (Sigma-Aldrich 252433)

Diethyl ether (Merck 100929)

3.1.1.3. Gaz Kromatografisi Ekipmanları

PTFE (Polytetrafluoroethylene) kapaklı tüpler (Lp Italiana Spa)

Su banyosu (Nüve BS 402)

Nitrojen gazı (Peak NM 32 LA)

TLC (Thin Layer Chromatography) Alüminyum Tabakalar (Merck 5554)

TLC (Thin Layer Chromatography) Plastik Tabakalar (Merck 5735)

Kromatografi tankı için uygun 10 x 10 cam plaklar (Merck 5715)

Spektrofotometre (Hitachi UV/VIS 1800)

3.1.1.4. Test suşları

Referans suşları olarak, *A. hydrophila* (ATCC 7966), *A. veronii* bv. *sobria* (ATCC 43979), ve *A. caviae* (ATCC 15468) kullanılmıştır. Suşlar analiz edilinceye kadar trypticase soy broth (TSB) ile birlikte 15 % (v/v)'lik steril gliserolde -70 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.1.5. pH metre

Örneklerin pH değerlerinin ölçülmesinde elektronik pH metre (HANNA HI 9024) kullanılmıştır.

3.2. METOT

21 adet sade, 20 adet kakaolu ve 11 adet meyveli dondurma örneği aseptik koşullarda alınıp, soğuk zincir altında Ahi Evran Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilmiş ve aynı gün ekim yapılmıştır. Yöntem gereğince dondurma örneklerine zenginleştirme işleminden sonra spesifik katı besiyerine ekim yapılarak buradan şüpheli kolonilerin değerlendirilmesine geçilmiştir.

Çizelge 3.1. Hareketli *Aeromonas* türlerinin identifikasyon testleri (Palumbo ve ark., 1992; Abbott ve ark., 2003).

Biyokimyasal Testler	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. caviae</i>	<i>A. sobria</i>
İndol üretimi	+	+	+
KCN Broth'da üreme	+	+	-
Voges-Proskauer Testi	+	-	-
Glukozdan gaz oluşumu	+	-	+
Eskulin hidrolizi	+	-	-
Sisteinden H ₂ S oluşumu	+	-	+
Hareketlilik	+	+	-

3.2.1. Hareketli *Aeromonas* Türlerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu

3.2.1.1. Hareketli *Aeromonas* türlerinin izolasyonu

Dondurma örneklerinden *Aeromonas* türlerinin izolasyonu, zenginleştirme işlemini takiben katı besiyerine ekilerek gerçekleştirilmiştir.

a) Zenginleştirme: Dondurma örneklerinden 25 g alınıp steril numune poşetine konularak üzerine 225 ml Alkali Peptonlu Su (pH 8.4-Merck 6579) ilave edilmiş ve stomacher'de 2 dakika süre ile homojenize edildikten sonra 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

b) Katı Besiyerine Ekim ve Şüpheli Kolonilerin Değerlendirilmesi: İnkübasyon sonrası zenginleştirme sıvısından bir öze dolusu alınarak, 5 mg/l ampisilin içeren GSP Agar'a (Merck 110230) çizme yöntemi ile ekim yapılmış ve plaklar 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. GSP Agar'da inkübasyon süresi sonunda üreyen sarı opak koloniler şüpheli kabul edilmiştir. Tipik kolonilerden en az 10'u seçilerek Tryptone Soy Agar'da (Sigma Aldrich 22091) 30 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

Tryptone Soy Agar'da üreyen kolonilerden sırası ile Gram boyama, oksidaz testi, katalaz testi, hareketlilik testi, DNase testi, Vibriostatik ajan O/129'a (2-4-diamino-6,7-diisopropylpteridine) dirençlilik, NaCl içermeyen ve % 6 NaCl içeren Nutrient Broth'da 35 °C'de üreme testleri yapılmış ve bu testler sonucunda hareketli *Aeromonas* olduğu belirlenen kültürlerden tür tayini yapılmıştır.

3.2.1.2. Gram boyama ve mikroskopik tanı

Şüpheli *Aeromonas spp.* kolonilerinden Gram boyama yapılarak, mikroskopun (CX21FS1 Olympus) immersiyon objektifinde Gram negatif, çubuk formda görülen mikroorganizmalar değerlendirmeye alınmıştır.

3.2.1.3. Oksidaz testi

Bu amaçla, hazır test kitleri (Oxoid BR 064) kullanılmıştır. Şüpheli *Aeromonas* kolonileri iğne uçlu öze ile alınıp oksidaz sticklere sürülmüş, 10-15 saniye sonra oluşan menekşe mor renk pozitif kabul edilmiştir.

3.2.1.4. Katalaz testi

Bu amaçla, % 3'lük Hidrojen peroksit (H₂O₂) solüsyonundan bir öze dolusu lam üzerine alınarak üzerine öze yardımı ile 24 saatlik şüpheli *Aeromonas spp.* kolonisinden konulup karıştırılmış, 1-2 saniye içerisinde gözlemlenen köpürme şeklindeki gaz oluşumunun görülmesi katalaz pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.1.5. Hareketlilik testi

Şüpheli *Aeromonas spp.* kolonilerinden iğne uçlu öze yardımı ile bir miktar alınarak Sulphate Indol Motility (SIM) mediuma dik olarak inoküle edilmiş, takiben 25 °C'de 7 gün inkübasyona bırakılmış ve her gün kontrol edilmiştir. Bu süre zarfında inokulasyon hattından yanlara doğru olan üremeler hareketlilik pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.1.6. Vibriostatik Ajan O/129'a Dirençlilik testi

Şüpheli *Aeromonas spp.* kolonilerinden Tryptone Soy Agara ekim yapılarak, Vibriostatik ajan (2,4-Diamino-6,7-di-iso-propylpteridine phosphate) O/129 (Oxoid DD-14, DD-15) diskleri yerleştirilmiş ve 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonrasında diskler çevresinde zon oluşmaması, üreme olması pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.1.7. NaCl içermeyen ve % 6 NaCl içeren Nutrient Broth'da üreme

Şüpheli *Aeromonas spp.* kolonilerinden NaCl içermeyen ve % 6 NaCl içeren Nutrient Broth'a (Merck 105443) ekim yapılarak 35 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmış, inkübasyon sonucu buyyonlardaki bulanıklık incelenerek NaCl içermeyen ve % 6 NaCl içeren Nutrient Broth'da üreme pozitif olarak değerlendirilmiştir. *Aeromonas* türleri NaCl içermeyen buyyonda üreme testinde pozitif, % 6 NaCl içeren Nutrient Broth'da üreme testinde ise negatif sonuç vermektedirler.

3.2.1.8. Eskulin hidrolizasyonu

Aeromonas spp. kolonilerinden Eskulin agara (Bile Aesculin Agar Oxoid CM888) ekim yapılarak 30 °C'de 18–24 saat inkübasyona bırakılmış, açık kahverengi olan besiyerinin üreme sonucunda koyu kahverengine dönüşmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.1.9. KCN Broth'da üreme

KCN Broth hazırlanarak *Aeromonas spp.* kolonilerinden inokülasyon yapılmış 30 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda berrak olan KCN Broth'un bulanıklıklaşması pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.1.10. Karbonhidrat fermentasyon testleri

Deney tüplerindeki L-arabinoz, D-mannitol, D-glukoz ve Salisin şekerlerinden birini içeren steril Purple Broth Base üzerine *Aeromonas spp.* kolonilerinden inokülasyon yapıp 30 °C'de 7 gün inkübe edilmiş, inkübasyon süresince tüpler her gün kontrol edilmiştir. Menekşe morundan sarıya renk değişikliği pozitif, renk değişmemesi ise negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.1.11. Metil Red testi

MRVP besiyeri bulunan tüplere *Aeromonas spp.* kolonilerinden öze ile ekim yapılmış, inoküle edilen tüpler 30 °C'de 5 gün inkübe edilmiş ve bu süre sonunda metil red ayırıcından 5 damla damlatılmış, oluşan kırmızı renk pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.1.12. Voges Proskauer testi

MRVP besiyeri bulunan tüplere *Aeromonas spp.* kolonilerinden öze ile ekim yapılmış, inoküle edilen tüpler 30 °C'de 48 saat inkübe edilmiş ve bu süre sonunda 1 ml steril koşullarda başka bir tüpe aktarılmıştır. Bunun üzerine 0.6 ml α -naftol çözeltisi ve 0.2 ml kreatinli KOH çözeltisi ilave edilmiş, 2–4 saat sonra oluşan kırmızı renk pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.1.13. İndol testi

Aeromonas spp. kolonilerinden % 1'lik tripton çözeltisi bulunan tüplere öze ile ekim yapılmış, inoküle edilen tüpler 30 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkubasyon sonrası 0.2–0.3 ml kovacs ayırıcı ilave edilmiş, üst kısımda pembe–kırmızı halka oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2. Hareketli *Aeromonas* Türlerinin İdentifikasyonu

Aeromonas türlerinin identifikasyonunda, *Aeromonas* olduğu belirlenen saf kültürlerle; Eskülin hidrolizasyonu, Sisteinden H₂S oluşumu, D-glukozdan gaz oluşumu, L-arabinozdan asit oluşumu, D-mannitol ve salisin fermentasyonu, Metil Red–Voges Proskauer testleri uygulanmıştır (Abbott ve ark., 2003).

3.2.3. Antimikrobiyal Direnç Testleri

Dirençli suşların tümü farklı antimikrobiyal ajanlar kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile tanımlanmıştır (Erdem ve ark., 2009). Bakteriler TSB'de kültür edilmiş ve Mueller-Hinton Agar yüzeyine yayma ekim yapılmıştır.

Bu amaçla 10 adet antibiyotik kullanılmıştır. Testte sırası ile: ampicilin, 10 µg; amoksisilin, 10 µg; gentamisin, 10 µg; kanamisin, 30 µg; neomisin, 10 µg;

seftazidim, 30 µg; siprofloksazin, 5 µg; streptomisin, 10 µg; tetrasiklin, 30 µg; trimetoprim, 5 µg antibiyotikleri ve konsantre oranları kullanılmıştır.

Antibiyotiklerin tümü Oxoid Limited'den temin edilmiştir (Hampshire, England). Bakteri inoküle edilen plakalar 28 °C'de 4 gün inkübe edilmiştir. Kültür ortamında oluşan inhibisyon zonlarının son noktası milimetrik ölçülerek değerlendirilmiş, direncin kesim noktaları ise National Committee for Clinical Laboratory Standards'deki gram negatif bakterilere göre tanımlanmıştır (NCCLS, 2004). Kontrol suşları olarak *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *A. hydrophila* (ATCC 7966) ve *A. caviae* (ATCC 15468) kullanılmıştır.

3.2.3.1. *Aeromonas* kültürleri

GSP agar besiyerine çizgi ekim yapılarak 72 saat ve 30 °C'de inkübe edilen ve büyüyen tek kolonilerden izole edilen *Aeromonas*'lar, daha sonra steril 1 L'lik küçük şişe içerisinde TSB broth ortamına (500 ml) inoküle edildikten sonra inkübatörde (NÜVE FN 400) 30 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Hücreler, 20 dakika boyunca 9000 rpm'de santrifüjleme ile toplanmıştır. Dondurulup kurutulan hücreler daha sonra -70 °C'de muhafaza edilmiştir. Bu işlem izole edilen her bir *Aeromonas* türü için uygulanmıştır.

3.2.4. Yağ Asidi Analizleri

Bakteri hücre duvarlarında bulunan uzun zincirli yağ asitleri ve mikolik asitler asit metilasyonu ile kolayca serbest kalırken, hidroksillenmemiş yağ asidi bileşenlerinden olan fosfolipitler zardan bir saatten az bir sürede serbest kalmaktadır.

Yüksek molekül ağırlığına sahip mikolik asitlerin ekstraksiyon işleminin tamamlanması için ise bir gece gerekmektedir (Goodfellow ve ark., 1993).

Bu çalışmada *Aeromonas* türlerinin yağ asidi metil esterleri hazırlanmış ve saflaştırılarak ince tabaka kromatografisi (TLC) ve gaz kromatografisinde (GC) analiz edilmiştir.

3.2.4.1. Yağların ekstraksiyonu

1. Asit Metanolizi

Yağ asitlerinin ve diğer tüm organizmalardaki uzun zincir oluşumlarının ekstraksiyonu için modifiye edilmiş bir asit metanolizis işlemi uygulanmıştır (Minnikin ve ark., 1975, 1980). Bu süreçte, donmuş kuru hücreler (50 mg) metanol (2 ml), toluene (1 ml) ve konsantre sülfirik asit (0.1 ml) ile 8.5 ml vidalı kapaklı tüplerde karıştırılmıştır. Metanolizisin gece boyunca 75 °C'de tutulan bir fırında oluşması beklenmiş, reaksiyon karışımının oda sıcaklığında soğuması sağlanmış ve 2 ml petrol eter (b.p. 60-80 °C) eklenerek üst kutupsuz tabakaya uzun zincir bileşenlerinin ekstraksiyonunu kolaylaştırmak için karışım çalkalanmıştır. Bu işlem iki kez yapılmıştır. İki tabakayı ayırmak için tüpler düşük hızda santrifüj edilmiş ve üst tabaka başka bir tüpe aktarılmıştır. 4 ml fosfat tamponu (0.3 M: 42.57 g Na₂HPO₄, 12.0 g NaOH ve distile su ile hazırlanmış ve pH değeri 11-12'ye ayarlanmıştır) üst tabakalara eklenmiş, tüpler çalkalanmış ve düşük hızda santrifüj edilmiştir. İki tabaka ayrıştırılmış ve bulanık olan alt tabaka dikkate alınmamıştır. Yağ asitlerinin metil esterlerini içeren üst tabaka, 40 °C'den düşük nitrojen gazı akışında kuruyana kadar buharlaştırılmıştır (Hamid ve ark., 1993).

3.2.4.2. Yağ asidi metil esterlerinin analitik ve preparatif ince tabaka kromatografisi

Yağ asidi metil esterlerini içeren kurutulmuş özütler petrol eterinde (b.p. 60-80 °C; 100 µl) çözülmüş ve 5 µl'lik şırınga kullanılarak 20 x 20 tabakadan kesilen 6.6 x 6.6 cm alüminyum sırtlı silika jel levhasına damlatılmıştır (Merck 5554, Darmstadt, FRG). Herbir levhaya tek bir örnek 1 cm alttan ve yandan uygulanmıştır. Levhalar petrol eter (b.p. 60-80 °C; 100 µl) ve aseton (95:5, v/v) karışımı kullanılan bir tank içerisinde işleme tabi tutulmuş ve havada kurutulmuştur. Kurutulmuş levhalara % 10'luk etanolik molibdofosforik asit püskürtülmüş ve yağ asidi metil esterlerini belirlemek için 15 dk. boyunca 120 °C'lik sıcak hava fırınında ısıtılmıştır 20 x 20 cm tabakadan kesilen 10 x 10 cm plastik sırtlı silika jel levha (Merck 5735 Darmstadt, FRG) üzerine uygulanan örnekten yağ asidi metil esterleri elde edilmiştir (Gunstone ve Jacobsberg, 1972).

Herbir levhaya dipten yaklaşık 1 cm olacak şekilde 5 örnek şırınga edilmiştir. Levhalar önceki gibi oluşturulmuş, havada kurutulmuş ve Rodamin 6G (% 0.01, w/v etanol içinde) püskürtülerek birkez daha kurutulmuştur. Ayırıştırılmış yağ asidi esterleri uzun dalga ultraviyole ışıkları altında tespit edilmiştir (365 nm, Spectroline light UV lamp, Model ENF-260, Spectronics Corporation, Westbury, New York, U.S.A). Ayırıştırılmış unsurlar tanımlanmış, hafif bir şekilde kurşun kalemle yuvarlak içerisine alınmış, işaretlenmiş bölümler levhalardan kesilmiş ve dietil eter kullanılarak yağ asidi metil esterlerinin özütlenmesi yapılmıştır. Kesilen bölümler 8.5 ml cam tüplere yerleştirilmiş, 3 ml dietileter eklenmiş ve vidalı kapakları kapatılmıştır. Tüp içerikleri tüp döndürücü kullanılarak 30 dk. boyunca karıştırılmış ve 5 dk. boyunca santrifüj edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi tekrarlanmış ve yüzeyde kalan sıvı küçük cam şişelere aktarılmıştır. Daha sonra özütler kuruyana kadar 40 °C'den düşük sıcaklıktaki nitrojen gaz akışı altında buharlaştırma işlemi uygulanmış ve gaz kromatografisi için + 4 °C'de saklanmıştır (Karıptas, 1999).

3.2.4.3. Yağ asidi metil esterlerinin gaz kromatografisi ile analizi

Yaklaşık 0.5 ml petrol eterinde (b.p. 60–80 °C) çözülen yağ asidi örneklerinin gaz kromografisi ile analizi 25 m SGE erimiş silis kapiler kolon (QC3/BP1, 1 µm) England, U.K.) bulunan (Shimadzu, GC-Mini 2 kromatografisi Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) kullanılarak yapılmış, taşıyıcı gaz olarak nitrojen, alev için de hidrojen kullanılmıştır. Başlangıç ısı 140 °C olan enjektörün sıcaklığı dakikada 10 °C artırılarak son sıcaklığının 300 °C'ye ulaşması sağlanmıştır. Total zirve bölgesi olarak ifade edilen yağ asidi metil esterlerini tutma zamanları ve nispi oranları Trivector Trio kromatografisi kullanılarak ölçülmüştür Tutma zamanlarının gerçek *Rhodococci*'nin standart profillerindeki tutma zamanlarıyla karşılaştırması yapılarak yağ asidi metil esterleri tanımlanmıştır (Barton ve ark., 1989).

Gaz Kromatografisi Entegratör Parametreleri:

Metot Adı: FASTCHROM

Veri Toplama: Çalışma Süresi-dakika 40.00

Pik Geniřlięi: 5.0

Voltaj Giriři: 10000

Pik Algısı: Bařlama ve Bitiř zamanı: 5.00-40.00

Hassasiyet: 2

Maksimum Taban: 0.10

Tepe Uç Eęimi: 1

Yaęsız Oran: 1

Rapor Türü: Tüm uç noktalar

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, Kırşehir’de farklı yerlerde bulunan dondurmacılardan 2012 yılı Mayıs-Temmuz ayları arasında toplanan 21 sade, 20 kakaolu ve 11 meyveli dondurma örneklerinden oluşan toplam 52 dondurma örneği hareketli *Aeromonas* türlerinin varlığı yönünden incelenmiştir.

Yapılan testler sonucunda; hareketli *Aeromonas* türleri ile kontamine olduğu saptanan 10 dondurma örneğinin 6’sından (% 60) *A. hydrophila*, 3’ünden (% 30) *A. caviae* ve 1’inden (% 10) *A. sobria* identifiye edilmiştir. *Aeromonas* türlerine laboratuvar ortamında yapılan testlere ait şekiller sırasıyla gösterilmiştir.



Şekil 4.1. *Aeromonas*’ların GSP Agar’da görünümü



Şekil 4.2. Vibriostatik Ajan’a dirençlilik testi



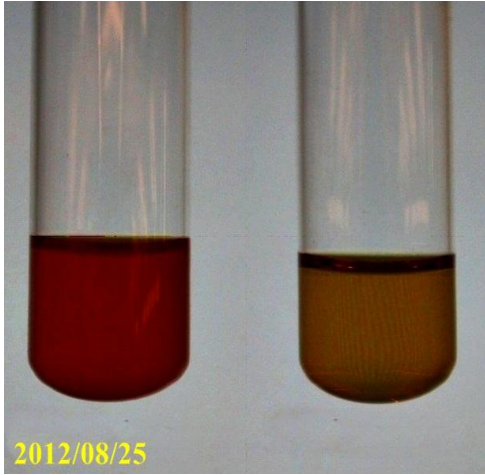
Negatif (-) Pozitif (+)

Şekil 4.3. Eskulin hidrolizasyonu



Negatif (-) Pozitif (+)

Şekil 4.4. Karbonhidrat fermentasyonu



Pozitif (+) Negatif (-)

Şekil 4.5. Metil Red testi



Negatif (-) Pozitif (+)

Şekil 4.6. Voges Proskauer testi



Pozitif (+)

Negatif (-)

Şekil 4.7. İndol testi



Şekil 4.8. SİM Medium'da hareketlilik testi



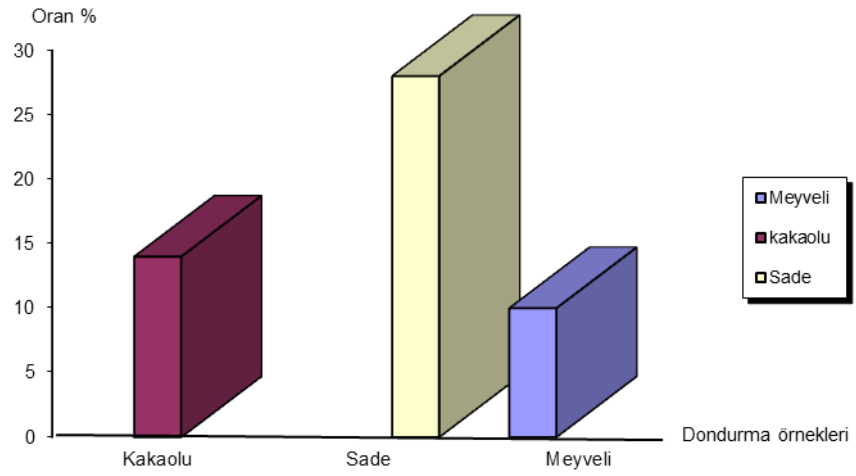
Şekil 4.9. Antibiogram

Çalışma kapsamında incelenen, 21 sade dondurma örneğinin 6'sında (% 28), 21 kakaolu dondurma örneğinin 3'ünde (% 14) ve 10 meyveli dondurma örneğinin 1'inde (% 10) olmak üzere toplam 52 dondurma örneğinin 10'unda (% 19) hareketli *Aeromonas* türleri izole edilmiştir (Çizelge 4.1.).

Kırşehir'de satışa sunulan dondurmalarından izole ve tanımlanmış hareketli *Aeromonas* türlerinin yüzde oranları Şekil 4.10.'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Kırşehir’de tüketime sunulan dondurmaların hareketli *Aeromonas* türleri

Örnek Çeşidi	Örnek Sayısı (n)	Pozitif Örnek Sayısı (n)
Sade	21	6
Kakaolu	21	3
Meyveli	10	1
Toplam	52	10

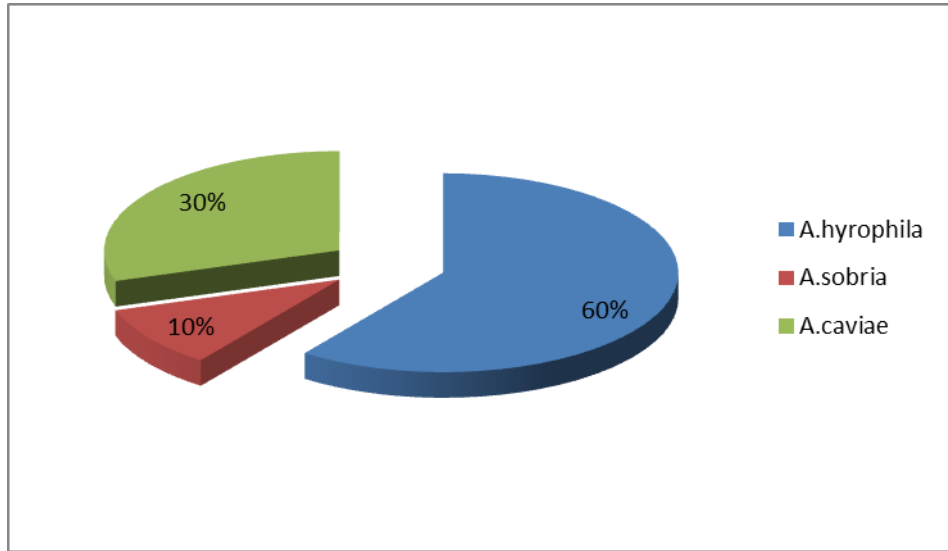


Şekil 4.10. Kırşehir’de satışa sunulan dondurmalarından izole ve tanımlanmış hareketli *Aeromonas* türlerinin yüzdeleri

Bu çalışma sonucunda belirlenen, hareketli *Aeromonas* türleri ile kontamine olduğu saptanan 10 dondurma örneğinin 6’sından (% 60) *A. hydrophila*, 3’ünden (% 30) *A. caviae* ve 1’inden (% 10) *A. sobria* tanımlanmıştır (Çizelge 4.2.; Şekil 4.11.).

Çizelge 4.2. Kırşehir’de satışa sunulan dondurmalarda hareketli *Aeromonas* türlerinin dağılımı

Örnek Çeşidi	Pozitif Örnek Sayısı	<i>A.hydrophila</i>		<i>A.sobria</i>		<i>A.caviae</i>	
		n	%	n	%	n	%
Sade	6	3	50	1	16.6	2	33.3
Kakaolu	3	2	66.6	-	-	1	33.3
Meyveli	1	1	100	-	-	-	-
Toplam	10	6	60	1	10	3	30



Şekil 4.11. İdentifiye edilen hareketli *Aeromonas* türlerinin dağılımı

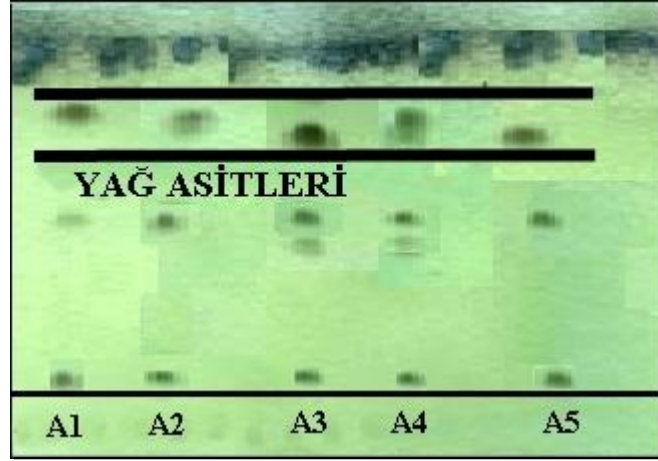
Çalışmaya dahil edilen bütün suşların ampisilin ve tetrasikline % 100, trimetoprime % 67, seftazidime % 36.3 oranında dirençli oldukları, amoksisiline dirençli olmadıkları gözlenmiştir. Streptomisine siprofloksasine ve kanamisine karşı direncin düşük olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Dondurmalardan izole edilen *Aeromonas* türlerinin antibiyotiklere dirençliliği

Antibiyotik diskler ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	<i>A. hydrophila</i> (n=6)	<i>A. sobria</i> (n=1)	<i>A. caviae</i> (n=3)	Dirençli suşlar (%)
Amoksisilin (10 μg)	0.0	0.0	0.0	0.0
Ampisilin (10 μg)	100	100	100	100
Gentamisin (10 μg)	16.8	0.0	16.7	11.16
Kanamisin (30 μg)	0.0	15	0.0	15
Neomisin (10 μg)	0.0	0.0	0.0	0.0
Seftazidim (30 μg)	27.9	45	36	36.3
Siproflaksasin (5 μg)	10	14	20	14.6
Streptomisin (10 μg)	14	15	9	12.6
Tetrasiklin (30 μg)	100	100	100	100
Trimetoprim (5 μg)	45	75	81	67

Çalışmamızda, tüm *Aeromonas* suşlarının ampisilin ve tetrasikline % 100 dirençli olduğu, yapılan bir çalışmada da balıklardan izole edilen *Aeromonas* türlerinde de benzer antimikrobiyal direnç bulgularının olduğu rapor edilmiştir (Erdem ve ark., 2009).

Aeromonas'ların dondurularak kurutulmuş hücrelerinin yağ asitlerinin özütlenme işlemi değiştirilmiş asit metanolizis prosedürüne göre yapılmış, koşturulma işlemi petrol eter (b.p. 60°-80°C)-aseton (95:5, v/v) karışımının içinde gerçekleştirilmiştir (Merck 5554, Darmstadt, FRG) (Minnikin ve ark., 1975; Kariptas, 1999). Spesifik sprej reaktifler (Ek A) yağ asidi metil esterlerinin varlığını ortaya çıkarmıştır (Şekil 4.12.).



Şekil 4.12. *Aeromonas hydrophila*'nın yağ asitlerinin ince kâğıt kromatografisindeki görünümü

Açıklamalar A1: *Aeromonas hydrophila* S1 A2: *Aeromonas hydrophila* S2 A3: *Aeromonas hydrophila* S3 A4: *Aeromonas hydrophila* K1 A5: *Aeromonas hydrophila* M1 (S:Sade dondurma, K: Kakaolu dondurma, M: Meyveli dondurma)

Bakterilerin tanımlanmasında ve karakterize edilmelerinde yağ asitleri temel taksonomik özelliklerden birisi olarak kabul edilmektedir. Gaz kromatografisi, yağ asitlerinin analizi için hızlı bir yöntem sunmaktadır (Minnikin ve ark., 1975; Kariptas, 1999). Bakteriyel organizmaların tanısında kullanılmak üzere toplam 200'ün üzerinde yağ asidi türü kullanılmakta olup bunlar doymuş, doymamış, hidroksi-, siklopropan-, iso ve anteiso-yağ asitlerini içermektedir (Erdoğan, 2010). Daha önce yapılan birçok çalışmada bakteri örneklerinden elde edilen yağ asidi örnekleri saflaştırılmış, gaz kromatografisi ile analiz edilmiştir (Huys ve ark., 1994; Kariptas, 1999).

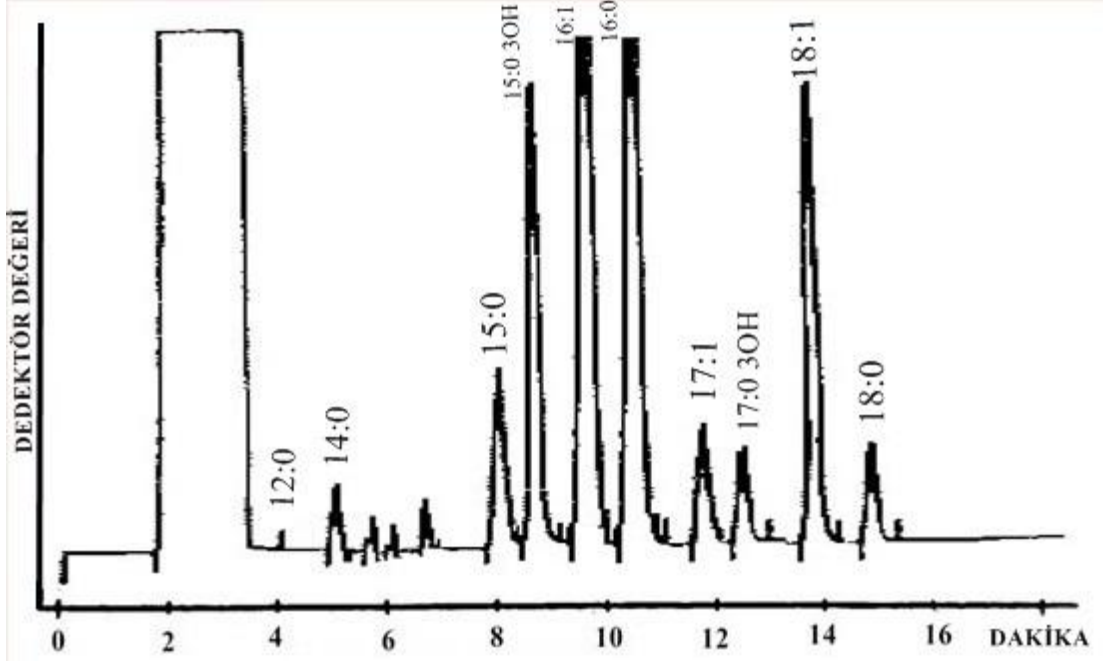
Yapılan bu çalışmada analiz edilecek örnekler gaz kromatografisi için yeterince elde edilememesinden dolayı *Aeromonas hydrophila*'ya ait sadece bir suş gaz kromatografisi ile analiz edilebilmiştir. Analiz edilen *Aeromonas hydrophila*'nın yağ asitlerinin zincir uzunlukları 12 ile 18 karbon atomu arasında değişmektedir. Yapılan bu analizde doymamış yağ asitlerinin oranı % 56.02, doymuş yağ asitlerinin oranı ise % 42.12 olarak gözlenmiştir (Çizelge 4.4.). Bu suşa ait yağ asidi profili 12:0, 14:0, 15:0, 15:0 3OH, 16:1, 16:0 ve 17:1, 17:0 3OH, 18:1 ve 18:0 şeklindedir

(Şekil 4.13.). Elde ettiğimiz bu profil sonuçları yapılan birçok araştırmanın analiz sonuçlarına benzerlik göstermektedir (Canonica ve ark., 1985; 1988).

Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada gökkuşuğu balıklarından izole edilen *A. salmonicida*'nın gaz kromatografisi analizi sonucunda 14:0 3OH/16:1 iso 1, 16:1 ω 7c/15 iso 2 OH, 16:0 ve 18:1 ω 7c yağ asidi profiline sahip olduğu rapor edilmiştir (Bektas ve ark., 2007). Analiz edilen türler aynı olmamasına rağmen yağ asidi profili bakımından sonuçlar birbirlerine benzerlikler göstermektedir.

Çizelge 4.4. *Aeromonas hydrophila*'daki yağ asidi kompozisyonlarının karşılaştırılması

Pik adı	Yüzde
Bilinmeyen	1.86
12:0	6.02
14:0	4.07
15:0	3.27
15:0 3OH	5.32
16:1	45.08
16:0	6.30
17:1	4.40
17:0 3OH	9.21
18:1	6.54
18:0	7.93



Şekil 4.13. *Aeromonas hydrophila* suşuna ait yağ asidi metil esterlerinin kromatogramı

Çizelge 4.4.'de görüldüğü gibi bakteriyel lipitlerden toplam 10 tane farklı yağ asidi tanımlanmıştır. Tanımlanan yağ asitleri 16:1 (% 45.08), 17:1 (% 4.40), 18:1 (% 6.54) doymamış yağ asitleri ve 12:0 (% 6.02), 14:0 (% 4.07), 15:0 (% 3.27), 15:0 3 OH (%5.32), 16:0 (% 6.30), 17:0 3 OH (% 9.21) ve 18:0 (% 7.93) doymuş yağ asitleri olarak belirlenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada, 2012 yılı Mayıs-Temmuz ayları arasında Kırşehir'in değişik semtlerindeki dondurmacılardan satın alınan toplam 52 dondurma örneğinden (21 sade, 21 kakaolu ve 10 meyveli dondurma) 10'unun (% 19) hareketli *Aeromonas* türleri ile kontamine olduğu saptanmış olup, bu durum insan sağlığı açısından önem taşımaktadır (Çizelge 4.1; Şekil 4.10).

Çizelge 3.1.'e göre yapılan bu çalışmada hareketli *Aeromonas*'ların izolasyonu için ön zenginleştirme ortamı olarak Alkali Peptonlu Su (APS), izolasyon ve identifikasyonda Ampisilinli (0.02 µg/ml) GSP Agar kullanılmıştır. Besiyerine eklenen ampisilin, besiyerinin seçici olmasını sağlayarak istenmeyen mikroorganizmaların üremesini engellemiş, *Aeromonas*'ların üreme şansını artırmıştır. Örnekler ön zenginleştirme ortamında 30 °C'de 18-24 saat inkübasyondan sonra GSP Agar'a tek koloni ekimleri yapılmış ve tekrar 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu besiyerinde üreyen pembe ve bal rengi koloniler muhtemel *Aeromonas* kolonileri olarak değerlendirilmiş ve Ampisilinli TSB'ye (Tryptic Soy Broth) alınmıştır. Burada saflaştırılan kültürlerle identifikasyon için çeşitli biyokimyasal testler uygulanmıştır.

Daha önce belirttiğimiz gibi bu çalışmada hareketli *Aeromonas* türleri ile kontamine olduğu saptanan 10 dondurma örneğinin 6'sından (% 60) *A. hydrophila*, 3'ünden (% 30) *A. caviae* ve 1'inden (% 10) *A. sobria* identifiye edilmiştir.

Çalışmamızın ikinci aşamasını oluşturan antibiyotiklere dirençlilik çalışmasına dâhil edilen bütün suşların ampisilin ve tetrasikline % 100, trimetoprime % 67, seftazidime % 36.3 oranında dirençli oldukları fakat amoksisiline dirençli olmadıkları gözlenmiştir. Streptomisin, siprofloksasin, gentamisin ve kanamisine karşı direncin düşük oranda olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3.).

Gıda mikrobiyolojisi bakımından çok önemli bir yer teşkil eden *Aeromonas* türlerinin antibakteriyel direnci ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Libya'da yapılan bir çalışmada çeşitli kaynaklardan izole edilen *Aeromonas*'ların gentamisin ve siprofloksasine duyarlı olduğu bildirilmiştir (Ghengesh ve ark., 2013). İran'da yapılan bir başka çalışmada ise gıdalardan izole edilen *Aeromonas*'ların ampisilin ve

tetrasikline dirençli ama gentamisin, kanamisin ve neomisine duyarlı olduğu rapor edilmiştir (Dallal ve ark., 2012).

Yine Hindistan'da yapılan önemli bir çalışmada ise, izole edilen *Aeromonas*'ların gentamisin ve siproflaksasine duyarlı olduğu bildirilmiştir (Adikesavalu ve ark., 2014). Tayvan'da yapılan bir başka çalışmada *Aeromonas*'ların ampisiline dirençli, gentamisin, seftazidim ve siproflaksasine duyarlı olduğu rapor edilmiştir (Tang ve ark., 2014). Bu çalışmalardaki sonuçlar ile yapmış olduğumuz çalışmanın sonuçları benzerlikler göstermektedir. Oysa Awan ve ark. (2009)'ları, tarafından yapılan çalışmada çeşitli gıdalardan ve çevreden izole edilen *Aeromonas*'ların tetrasikline duyarlı, gentamisine dirençli olduğu, yine Mansour ve ark. (2014)'larının yaptığı başka bir çalışmada ise izole edilen *Aeromonas*'ların tetrasiklin ve seftazidime duyarlı, amoksisiline dirençli olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalardaki sonuçlar ile yaptığımız çalışmadaki sonuçlar karşılaştırıldığında çalışmamızda *Aeromonas*'ların tetrasikline dirençli, gentamisin, seftazidime duyarlı ve amoksisiline dirençli ve duyarlı olmadığı bulunmuştur. Bu durumun numune sayısı, saklama koşulları gibi durumlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Hayatımızda büyük öneme sahip antibiyotiklerin bakteriyel direncinin azaltılması için henüz pratik bir çözüm yolu yoktur. Dünyada ve ülkemizde akılcı antibiyotik kullanım politikalarını belirleyip, belirlenen kurallara uyumu sağlamak zorunlu hale gelmiştir. Antibiyotiklerin yanlış ve aşırı kullanımından kaçınarak toplam antibiyotik tüketimini azaltmak dirençli kökenlerin seçilmesini ve gelişmesini önleyen en etkili metottur. Ayrıca viral enfeksiyonlar için gereksiz antibiyotik kullanımı ile hayvan yemlerine antibiyotik katılmasını önlemek ilk planda alınması gereken önlemler arasındadır (Özaslan, 2009).

Gerek sık sık ortaya çıkan kontaminasyonlar gerekse örneklerin izolasyonu sonrasında yeterince biyokütle örneğinin elde edilememesi çalışmamızı olumsuz etkilemiş olup, çalışmamızın üçüncü aşamasını oluşturan yağ asitlerinin profillerinin incelenmesi daha önce bulgular kısmında belirtildiği gibi yalnızca bir *Aeromonas* türü üzerinde yapılabilmektedir. Gaz kromatografisi analizi sonucunda yağ asidi profili 12:0, 14:0, 15:0, 15:0 3OH, 16:1, 16:0 ve 17:1, 17:0 3OH, 18:1 ve 18:0 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.13.). Benzer olarak *Aeromonas* türleri ile yapılan bir çalışmada

12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 16:1, 18:1, ve 3-OH 14:0 yağ asitlerini içerdiği rapor edilmiştir (Canonica ve ark., 1988).

A. salmonicida ile yapılan bir çalışmada yağ asidi oranlarının 16:1 w7c/15 ISO 2OH (% 46,12), 18:1 w7c (% 8,83) doymamış yağ asitleri ve 14:0 3OH/16:1 iso I (% 8.83), 16:0 (% 23.75) doymuş yağ asitleri şeklinde olduğu rapor edilmiştir (Bektas ve ark., 2007). Yine Batı Bengal'de *Aeromonas salmonicida subsp. achromogenes* ile yapılan bir çalışmada ise yağ asidi oranlarının 16:1 w7c/16:1 w6c (% 39.09) doymamış yağ asidi, ikinci olarak 16:0 (26.84%) doymuş yağ asidi, üçüncü ve dördüncü olarakta 18:1 w7c (8.89%) ve 16:1 iso I/14:0 3OH (8.49%) tekli doymamış yağ asitleri olarak bulunduğu bildirilmiştir (Adikesavalu ve ark., 2014). Görüldüğü gibi farklı türler ile yapılan çalışmalar sonucunda belirlenen yağ asidi profilleri ile çalışmamızda elde edilen *A. hydrophila*'ya ait yağ asidi profili benzerlikler göstermektedir.

Ayrıca *A. hydrophila*'ya ait bu suşun doymamış yağ asitlerinin oranı (% 56.02), doymuş yağ asitlerine göre (% 42.12) daha yüksek bulunmuştur. Bu mikroorganizmanın daha önce diğer araştırmacılar (Bektas ve ark., 2007; Adikesavalu ve ark., 2014) tarafından belirtilen doymuş ve doymamış yağ asitleri bakımından da bir benzerlikten bahsedilebilir. Daha sağlıklı değerlendirmeler yapabilmek için daha fazla suş ile analiz yapılmalıdır. Çünkü daha önce belirtildiği gibi yağ asit profili, içerik oranı ve varyasyona ilişkin veriler mikroorganizmaların cins ve türlerini belirlemek kullanılmaktadır. Bu bakımından bakterilerin yağ asiti kompozisyonları bakteriyal identifikasyona yardımcı olmaktadır.

Laboratuar imkânlarının yetersizliğine rağmen yapılan bu çalışma, Türkiye'de ilk olma özelliği taşımakta ve daha önce yapılan çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada yakın zamana kadar üzerinde çok fazla durulmayan, insanlarda gastroenterit kaynaklı enfeksiyonlara yol açarak halk sağlığını tehdit eden ve fırsatçı patojen olarak değerlendirilen hareketli *Aeromonas* türlerinin zengin bir besin kaynağı olan ve büyük, küçük herkes tarafından tüketilen dondurmada bulunma sıklığı ile antibiyotik dirençleri belirlenmiştir. Bu çalışma sonuçları ile dünyada ve ülkemizde giderek artan mikroorganizmaların antibiyotiklere direnç aktiviteside göz önünde bulundurularak, bu grup

mikroorganizmalardan kaynaklanabilecek gıda kaynaklı enfeksiyonların tedavisi için uygun antibiyotiklerin seçimine katkıda bulunulması ve yağ asitlerinin kompozisyonları ile de bu cinse ait türlerin identifiye edilmesine yardımcı olunması amaçlanmıştır.

Sonuç olarak; Kırşehir’de satışa sunulan dondurmalar ile yapılan bu çalışmada incelenen dondurma örneklerinde *Aeromonas spp.* bulunmasının halk sağlığı açısından potansiyel bir sağlık tehdidi oluşturabileceği sonucuna varılmıştır. Yaz aylarının vazgeçilmez gıdası olan dondurmadan kaynaklı *Aeromonas* enfeksiyonlarını önlemek için dondurma üretiminin yapıldığı işletmelerde standart hijyen kurallarının uygulanması ve mikrobiyoloji konularında uzman kişilerin görev alması, pastörizasyon öncesi ve sonrası kontaminasyonları en aza indirmek amacıyla işletmelerde üretimin hijyenik ve teknolojik şartlarda yapılarak, ekipmanların temizliğine dikkat edilmesi ve çalışan personele belirli aralıklarla seminerler düzenlenerek bu konuda gerekli eğitimin verilmesi alınabilecek önlemlerin başında gelmektedir.

KAYNAKLAR

Abbott, S.; Cheung, W. and Janda M. *The Genus Aeromonas: Biochemical Characteristics, Atypical Reactions, and Phenotypic Identification Schemes*, *J. Clin Microbiol*, **2003**; 41, 6, 2348–2357.

Abeyta, C.J.R.; Charles, A.K.; Wekell, M.M.; Sullivan, J.J.; Stelma, G.N. *Recovery of Aeromonas hydrophila from oysters implicated in an outbreak of foodborne illness*, *J. Food Prot.*, **1986**, 49, 8, 643-646.

Adikesavalu, H.; Patra, A.; Mondal, A.; Banerjee, S.; Abraham, T. J. *Association of Aeromonas salmonicida subsp. achromogenes in the haemorrhagic blister of cultured carp Cyprinus carpio in West Bengal, India*, *Asian Pac J Trop Dis.*, **2014**; 4, 1, 500-504.

Ahmed, I.N.; El Aal, F.A.S.; Abd, Ayoub, M.A.; El Sayed, M.S. *Enumeration and Characterization of Aeromonas spp. Isolated from Milk and Some Dairy Products in Sharkia Governorate Egypt*, *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, **2014**, 40, 52-64.

Akan, M.; Diker, K.S.; Koçak, C.; Yıldırım, M.; Bozkurt, S. *Çiğ Sütlerden Hareketli Aeromonas Türlerinin İzolasyonu*, *Gıda*, **1996**, 21, 383-386.

Alişarlı, M. *İnek Sütlerinin Hareketli Aeromonas Türleri Yönünden İncelenmesi*, *Gıda*, **2003**, 28, 369-372.

Allende, A.; Jacxsens, L.; Devlieghere, F.; Debevere, J. and Artes, F. *Effect of superatmospheric oxygen packaging on sensorial quality, spoilage, and Listeria monocytogenes and Aeromonas caviae growth in fresh processed mixed salads*, *Journal of Food Protection*, **2002**, 65, 10, 1565-1573.

Amaro, C.; Biosca, E.G. *Vibrio Vulnificus Biotype 2, Pathogenic For Eels, Is also an Opportunistic Pathogen for Humans*, *Applied and Environmental Microbiology*, **1996**, 62, 4, 1454-1457.

Anononymous, 1994. *Cellular fatty acid compositions*.

<http://ijs.sgmjournals.org/content/44/4/651.full.pdf+html>. Erişim tarihi:

30.06.2013.

Anonim, 2013a. *Yağ asidi*. http://tr.wikipedia.org/wiki/Yağ_asidi. Erişim tarihi: 20.07.2013.

Anonim, 2013b. *Fatty acid methyl ester*. http://en.wikipedia.org/wiki/Fatty_acid_methyl_ester. Erişim tarihi: 20.07.2013.

Anonim, 2013c. *Su aktivitesi*. <http://www.suaktivitesi.com>. Erişim tarihi: 25.07.2013.

Anonim, 2013d. *Doğru Antibiyotik Kullanımı*. <http://sakur.uludag.edu.tr/dosya/FR-HYE-04-501-01.pdf>. Erişim tarihi: 30.05.2013.

Araujo, V.S.; Pagliares, V.A.; Queiroz, M.L.; Freitas-Almeida, A.C. *Occurrence Of Staphylococcus And Enteropathogens In Soft Cheese Commercialized In The City Of Rio De Janeiro, Brazil, J.Appl. Microbiol*, **2002**, 92, 6, 1172-1177.

Arslan, S.; Küçüksarı, R. and Eyi, A. *Microbiological Quality Of Open Ice Cream In Retail Stores By, Egyptian J. Dairy Sci.*, **2013**, 41, 2, 193-199.

Awan, M.B.; Maqbool, A.; Bari, A.; Krovacek, K. *Antibiotic Susceptibility Profile Of Aeromonas Spp. Isolates From Food In Abu Dhabi, United Arab Emirates, New Microbiologica*, **2009**, 32, 1, 17-23.

Barton, M.D.; Goodfellow, M. and Minnikin, D.E. *Lipid Composition In The Classification Of Rhodococcus Equi. Zentralblatt Für Bakteriologie*, **1989**, 272, 2, 154-170.

Bektas, S.; Ayik, Ö.; Yanik, T. *Fatty Acid Profile and Antimicrobial Susceptibility of Aeromonas salmonicida Isolated from Rainbow Trout, Int. Journal of Pharmacology*, **2007**, 3, 2, 191-194.

Bowie, I.S.; Grigor, M.R.; Dunckley, G.G.; Loutit, M.W. and Loutit, J.S. *The Dna Base Composition And Fatty Acid Constitution Of Some Gram-Positive Pleomorphic Soil Bacteria, Soil Biology and Biochemistry*, **1972**, 4, 4, 397-412.

Canonica, F.P. and Pısanı, M.A. *Identification of Hydroxy Fatty Acids in Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, and Aeromonas caviae, Journal Of Clinical Microbiology*, **1985**, 22, 6, 1061-1062.

Canonica, F.P. and PIsano, M.A. *Gas-Liquid Chromatographic Analysis of Fatty Acid Methyl Esters of Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, and Aeromonas caviae*, *Journal Of Clinical Microbiology*, **1988**, 26, 4, 681-685.

Carnahan, A.M. & Altwegg, M. *Taxonomy. In The Genus Aeromonas* (ed. B. Austin, M. Altwegg, P. J. Gosling & S. Joseph), pp. 1–38. John Wiley & Sons, New York, NY, 1996.

Caselitz, F.H. *How the Aeromonas story started in medical microbiology*, *Med. Microbiol. Lett*, **1996**, 5, 1, 46-54.

Collins, M.D.; Keddie, R.M. and Kroppenstedt, R.M. *Lipid Composition Of Arthrobacter Simplex, Arthrobacter Tumescens And Possibly Related Taxa, Systematic and Applied Microbiology*, **1983**, 4, 1, 236-252.

Dallal, M.M.S.; Yazdi, M.K.S. and Avadisians, S. *Study of prevalence and antibiotic resistance in Aeromonas species isolated from minced meat and chicken samples in Iran*, *African Journal of Microbiology Research*, **2012**, 6, 2, 460-464.

Devlieghere, F.; Lefevre, I.; Magnin, A. and Debevere, J. *Growth of Aeromonas hydrophilain modified-atmosphere-packedcooked meat products*, *Food Microbiology*, **2000**, 17, 2, 185-196.

Dikbaş, N.; Kotan, R.; Dadaşoğlu, F. *İçme Sularından İzole Edilen Bakterilerin Tanısı ve Yağ Asidi Metil Esterleri ile Antibiyotik Duyarlılıkları Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi*, *Gıda*, **2009**, 34, 4, 225-230.

El Khair, E.A.; Salama, A.R.; Radwan, H.; Khalafallah, A.; Arafa, H. *Bacteriological quality of packaged ice cream in Gaza city, Palestine*, *Journal of Food and Nutrition Sciences*, **2014**, 2, 3, 68-73.

El-Sharef, N.; Ghenghesh, K.S.; Abognah, Y.S.; Gnan, S.O.; Rahouma, A. *Bacteriological quality of ice cream in Tripoli-Libya*, *Food Control*, **2006**, 17, 637-41.

Erdem, B.; Kariptaş, E.; Kaya, T. *Siderophore, hemolytic, protease, and pyrazinamidase activities and antibiotic resistance in motile Aeromonas isolated from fish*, *Turk J Biol*, **2010**, 34, 453-462.

Erdoğan, E.E. *Petrol ile Kirlenmiş Toprakların Biyolojik Olarak İyileştirilmesinin Laboratuvar Koşullarında Denenmesi*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 236s, 2010.

Ghenghesh, K.S.; Bara, F.; Bukris, B.; El-Surmani, A.; Abeid, S.S. *Characterization of virulence factors of Aeromonas isolated from children with and without diarrhoea in Tripoli, Libya, J Diarrhoeal Dis Res*, **1999**, 17, 75-80.

Ghenghesh, K.S.; Ahmed, S.F.; El-Khalek, R.A.; Al-Gendy, A.; Klena, J. *Aeromonas-Associated Infections in Developing Countries, J Infect Developing Countries*, **2008**, 2, 2, 81-98.

Ghenghesh, K.S.; El-Mohammady, H.; Levin, S.Y.; Zorgani, A.; Tawil, K. *Antimicrobial resistance profile of Aeromonas species isolated from Libya, Libyan Journal of Medicine*, **2013**, 8, 21320.

Goldfine, H. *Comparative Aspects Of Bacterial Lipids, Advances In Microbial Physiology*, **1972**, 8, 1-58.

Goodfellow, M. and Minnikin, D.E. *Nocardioform Bacteria, Annual Review Of Microbiology*, **1977**, 31, 159-180.

Goodfellow, M.; Minnikin, D.E. *Selected Readings in Chemosystematics of Microorganisms*, Research Center for Molecular Microbiology, Seoul National University, Seoul, 1993.

Gunstone, F.D. and Jacobsberg, F.R. *Fatty Acids, Part 35 The Preparation And Properties Of The Complete Series Of Methyl Epoxyoctadecanoates, Chemistry and Physics of Lipids*, **1972**, 9, 26-34.

Haeusler, G.M. and Curtis, N. *Non-typhoidal Salmonellain Children: Microbiology, Epidemiology and Treatment*, Hot Topics in Infection and Immunity in Children IX *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 764, 2013.

Hamid, M.E.; Minnikin, D.E.; Goodfellow, M. and Ridell, M. *Thin Layer Chromatographic Analysis Of Glycolipids And Mycolic Acids From*

Mycobacterium Farcinogenes, Mycobacterium Senegalense And Related Taxa, Zentralblatt Für Bakteriologie, 1993, 279, 3, 354-367.

Hanninen, M.L.; Oivanen, P. & Hirvela-Koski, V. *Aeromonas species in fish, fish-eggs, shrimp and freshwater, Int. J. Food Microbiol., 1997, 34, 1, 17–26.*

Hinton, A.; Cason, J.A. and Ingram, K.D. *Tracking Spoilage Bacteria In Commercial Poultry Processing And Refrigerated Storage Of Poultry Carcasses, International Journal Of Food Microbiology, 2004, 91, 2, 155-165.*

Hiransuthikul, N.; Tantisiriwat, W.; Lertutsahakul, K.; Vibhagool, A. and Boonma, P. *Skin and Soft-Tissue Infections among Tsunami Survivors in Southern Thailand, Clinical Infectious Diseases, 2005; 41, 10, e93–e96.*

Hunter, P.R.; Burge, S.H. *Isolation of Aeromonas caviae from ice-cream, Letters Applied. Microbiol, 1987, 4, 3, 45-46.*

Hunter, W.J.; Kuykendall, L.D. *Identification and Characterization of an Aeromonas salmonicida (syn Haemophilus piscium) Strain That Reduces Selenite to Elemental Red Selenium, Current Microbiology, 2006, 52, 4, 305–309.*

Huys, G.; Vancanneyt, M.; Coopman, R.; Janssen, P.; Falsen, E.; Altwegg, M.; Kerstersl, M. *Cellular Fatty Acid Composition as a Chemotaxonomic Marker for the Differentiation of Phenospecies and Hybridization Groups in the Genus Aeromonas, International Journal Of Systematic Bacteriology, 1994, 44, 4, 651-658.*

Janda, J.M. *Recent Advances In The Study Of The Taxonomy, Pathogenicity and Infectious Syndromes Associated With The Genus Aeromonas, J.Clin. Microbiol. Rev, 1991, 4, 4, 397-410.*

Janda, M. and Abbott, S. *Evolving concepts regarding the genus Aeromonas: an expanding Panorama of species, disease presentations, and unanswered questions, Clin Infect Dis, 1998, 27, 2, 332-44.*

Janda, M. and Abbott, S. *The Genus Aeromonas: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection, Clinical Microbiology Reviews, 2010, 23,1, 35–73.*

Joseph, S.W.; Janda, M.; Carnahan, A. *Isolation enumeration and identification of Aeromonas spp*, *J.Food Safety*, **1988**, 9,1, 23-25.

Joseph, S.W.; Carnahan, A. *The isolation, identification and systematics of the motile Aeromonas species*, *Annu.Rev.Fish.Dis*, **1994**, 4, 315-343.

Kaneda, T. *Fatty Acids Of The Genus Bacillus: An Example Of Branched-Chain Preference*, *Bacteriological Reviews*, **1977**, 41, 2, 391-418.

Kaneda, T. *Iso- And Anteiso-Fatty Acids In Bacteria: Biosynthesis, Function And Taxonomic Significance*, *Microbiological Reviews*, **1991**, 55, 2, 288-302.

Karıptaş, E. *Chemical Composition of Rhodococcus ruber with Different Growth Conditions*, PhD Thesis, University of Newcastle upon Tyne, England, 233p, 1999.

Karıptaş, E.; Demirci, H.; Erdem, B. *Bakteriyel sistemattkte hücre duvarı kimyasal kompozisyonunun önemi*, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-25 Haziran 2010, Denizli, Türkiye.

Kates, M. *Bacterial Lipids*, *Advances In Lipid Research*, **1964**, 2, 17-90.

Kirov, S.M. *The public health significance of Aeromonas spp. in foods: a review*, *J.Food Microbiol*, **1993**, 20, 4, 179-198.

Knochel, S. *Growth characteristics of motile Aeromonas spp. Isolated from different environments*, *Int. J. Food Microbiol*, **1990**, 10, 3-4, 235-244.

Komagata, K. and Suzuki, K.I. *Lipids And Cell-Wall Analysis In Bacterial Systematics*, *Methods In Microbiology*, **1988**, 19, 161-207.

Kudo, T. and Seino, A. *Transfer Of Streptosporangium Indianense Gupta 1965 To The Genus Streptomyces As Streptomyces Indiaensis (Gupta 1965) Comb. Nov*, *International Journal Of Systematic Bacteriology*, **1987**, 37, 3, 241-244.

Küplülü, Ö.; Sarımehtetoğlu, B.; Kasımoğlu, A. *Sığır Kıymalarından Hareketli Aeromonas türlerinin izolasyon ve identifikasyonu*, *Turk J Vet Anim Sci*, **2000**, 24, 423-428.

Lechevalier, M.P.; De Bievre, C. Lechevalier, H.A. *Chemotaxonomy Of Aerobic Actinomycetes: Phospholipid Composition, Biochemical Systematics And Ecology*, **1977**, 5, 4, 249-260.

Mansour, A.M.A.; Zaki, H.M.; Hassan, N.A. and El-Nashar, N.A.M. *Phenotyping, Virulence Characteristics Of Aeromonas Species And The Effects Of Essential Plant Oils As Antimicrobial Agents Against Pathogenic Isolates From Different Sources*, *American Journal of Infectious Diseases*, **2014**, 10, 1, 21-35.

Martins, L.M.; Marquez, R.F.; Yano, T. *Incidence of toxic Aeromonas isolated from food and human infection*, *FEMS Immunol Med Microbiol*, **2002**, 32, 3, 237-42.

Mary, P.; Sautour, M.; Chihıb, N.E.; Tierny, Y.; Hornez, J.P. *Tolerance and starvation induced cross-protection against different stresses in Aeromonas hydrophila*, *Int. J. Food Microbiol*, **2003**, 87, 1-2, 121-130.

Mathews, S.; Ngoma, L.; Gashe, B. and Mpuchane, S. *General Microbiological Quality of Ice Cream and Ice Pop Sold in Gaborone, Botswana*, *Ethno Med*, **2013**, 7, 3, 217-226.

Mc Clure, P.J.; Cole, M.B.; Davies, K.W. *An example of the stages in the development of a predictive mathematical model for microbial growth: the effects of NaCl, pH and temperature on the growth of Aeromonas hydrophila*, *Int. J. Food Microbiol*, **1994**, 23, 3-4, 359-375.

Melas, D.S.; Papageorgiou, D.K.; Mantis, A.I. *Enumeration and confirmation of Aeromonas hydrophila, Aeromonas caviae, and Aeromonas sobria isolated from raw milk and other milk products in Northern Greece*, *J. Food Prot*, **1999**, 62, 5, 463-6.

Minnikin, D.E.; Alshamaony, L. and Goodfellow, M. *Differentiation Of Mycobacterium, Nocardia And Related Taxa By Thin-Layer Chromatographic*

Analysis Of Whole-Organism Methanolyses, Journal Of General Microbiology, **1975**, 88, 200-204.

Minnikin, D.E. and Goodfellow, M. *Lipid Composition In The Classification And Identification Of Nocardiae And Related Taxa*, In: *The Biology Of The Nocardiae* (Goodfellow, M., Brownell, G.H. & Serrano, J.A., Eds.), Pp. 160-219. Academic Press, London, 1976.

Minnikin, D.E.; Pirouz, T. and Goodfellow, M. *Polar Lipid Composition In The Classification Of Some Actinomadura Species, International Journal Of Systematic Bacteriology*, **1977a**, 27, 118-121.

Minnikin, D.E.; Patel, P.V.; Alshamaony, L. and Goodfellow, M. *Polar Lipid Composition In The Classification Of Nocardia And Related Bacteria, International Journal Of Systematic Bacteriology*, **1977b**, 27, 104-17.

Minnikin, D.E.; Collins, M.D. and Goodfellow, M. *Fatty Acid And Polar Lipid Composition In The Classification Of Cellulomonas, Oerskovia And Related Taxa, Journal Of Applied Bacteriology*, **1979**, 47, 1, 87-95.

Minnikin, D.E.; Hutchinson, I.B.; Caldicott, A.B. and Goodfellow, M. *Thin-Layer Chromatography Of Methanolysates Of Mycolic Acid-Containing Bacteria, Journal Of Chromatography*, **1980**, 188, 1, 221-233.

Minnikin, D.E. and Goodfellow, M. *Lipid Composition In The Classification And Identification Of Acid-Fast Bacteria*. In: *Microbiological Classification And Identification*, (Goodfellow, M. & Board, R.G., eds.), Pp.189-256, Academic Press, London, 1980.

Minnikin, D.E. *Lipids: Complex Lipids, Their Chemistry, Biosynthesis And Roles*. In: *The Biology Of The Mycobacteria*, (Ratledge, C. & Standford, J.L., eds.), Pp. 95-184, Academic Press, London, 1982.

Minnikin, D.E.; Dobson, G. and Draper, P. *Characterization Of Mycobacterium Leprae By Lipid Analysis, Acta Leprologica*, **1984**, 2, 2-4, 113-120.

Minnikin, D.E.; Minnikin, S.M.; O'Donnell, A.G. and Goodfellow, M. *Extraction Of Mycobacterial Mycolic Acids And Other Long-Chain Compounds By An Alkaline Methanolysis Procedure, Journal Of Microbiological Methods, 1984a*, 2, 5, 243-249.

Minnikin, D.E.; O'Donnell, A.G.; Goodfellow, M.; Alderson, G.; Athalye, M.; Schaal, A. and Parlett, J.H. *An Integrated Procedure For The Extraction Of Bacterial Isoprenoid Quinones And Polar Lipids, Journal Of Microbiology Methods, 1984b*, 2, 5, 233-241.

Miyadoh, S.; Amano, S.; Tohyama, H. and Shomura, T. *A Taxonomic Review Of The Genus Microbispora And A Proposal To Transfer Two Species To The Genus Actinomadura And To Combine Ten Species Into Microbispora Rosea, Journal Of General Microbiology, 1990*, 136, 9, 1905-1913.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing*. Fourteenth informational supplement. NCCLS document M100-514, National Committee for Clinical Laboratory Standards Wayne, Pa, 2004.

Nazem, A.M.; Amer, A.A. and Soukayna, A.E.A. *Prevalence Of Some Food Poisoning Microorganisms In Some Dairy Products, Alex. J. Vet. Science, 2010*, 30, 1, 1-6.

Ngoci, N.S.; Silas, K.; Limo, M.; Jessica M.M.; Njagi, E.N.M.; Okemo P.O. and Nathan, L. *Antimicrobial resistance and plasmid profiles of Aeromonas hydrophila isolated from River Njoro, Kenya, African Journal of Biotechnology, 2012*, 11, 96, 16284-16290.

Nwamaka, N.T.; Chike, A.E. *Bacteria Population Of Some Commercially Prepared Yoghurt Sold In Enugu State, Eastern Nigeria, Afr. J. Microbiol. Res, 2010*, 4, 10, 984-988.

O'Donnell, A.G.; Goodfellow, M. and Minnikin, D.E. *Lipids In The Classification Of Nocardioides: Reclassification Of Arthrobacter Simplex (Jensen) Lochhead In The Genus Nocardioides (Prauser) Emend. O'donnell Et*

Al., *As Nocardioides Simplex Comb. Nov*, *Archives Of Microbiology*, **1982**, 133, 4, 323-329.

O'Donnell, A.G.; Minnikin, D.E.; Goodfellow, M. and Piot, P. *Fatty Acid, Polar Lipids And Wall Amino Acid Composition Of Gardnerella Vaginalis*, *Archives Of Microbiology*, **1984**, 138, 1, 68-71.

O'Donnell, A.G.; Nahaie, M.R.; Goodfellow, M.; Minnikin, D.E. and Hajek, V. *Numerical Analysis Of Fatty Acid Profiles In The Identification Of Staphylococci*, *Journal Of General Microbiology*, **1985**, 131, 8, 2023-2033.

Okami, Y.; Hamada, M. and Ueda, N. *Relationship Between Genera Of Actinomycetes With Reference To Gas Chromatographic Analysis*. In: *Proceedings Of The First International Conference On Culture Collections* (Iizuka, H. & Hasegawa, T., eds.), Pp. 457-475, University Of Tokyo Press, Tokyo, 1970.

Özaslan, A. *Adana İçme Suyunda Fekal Koliform Düzeyinin Belirlenmesi Ve Antibiyotik Dirençlilik Frekansı*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 54s, 2009.

Palumbo, S.A.; Maximo, F.; Williams, A.C.; Buchanan, R.L.; Thayer, D.W. *Influence of temperature, NaCl, and pH on the growth of Aeromonas hydrophila*, *J. Food Protect*, **1985**, 50, 5, 1417-1421.

Palumbo, S.A.; Buchanan, R.L. *Factors affecting growth or survival of Aeromonas hydrophila in foods*, *J. Food Safety*, **1988**, 9, 1, 37-51.

Palumbo, S.A.; Williams, A.C.; Buchanan, R.L.; Philips, J.G. *Model for the Aerobic growth of Aeromonas hydrophila. K144*, *J. Food Protect*, **1991**, 54, 6, 429-435.

Palumbo, S.A.; Abeyta, C.; Stelma, G. *Chapter 30: Aeromonas hydrophila Group*. In: *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food*, Third edition, Ed.: C. Vanderzant, D.F. Splittstoesser, p.: 497-515, APHA, Washington D.C., 1992.

Pin, C.; Marín, M.L.; Garcia, M.L.; Tormo, J.; Selgas, M.D.; Casas, C. *Incidence of Aeromonas spp. in foods. Microbiologia*, **1994**, 10, 3, 257-262.

Popoff, M. *Genus III Aeromonas*, Kluyver and Van Niel 1936, 398AL, In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 1, Ed.: N.R. Krieg, J.G. Holt. Williams&Wilkins, London, p.: 545-548, 1984.

Ratledge, C. and Wilkinson, S.G. *An Overview Of Microbial Lipids*. In: *Microbial Lipids* (Ratledge, C. & Wilkinson, S.G.), p. 3-22, Academic Press, London, 1988.

Roberts, T.A.; Baird-Parker, A.C.; Tompkin, R.B. *Aeromonas*. In: *Microorganisms in Foods Characteristics of Microbial Pathogens*, Vol, 5, ICMSF, p.: 5-19, Blakie Academic and Professional, London, 1996.

Rodríguez, C.N.; Campos, R.; Pastran, B.; Jimenez, I.; Garcia, A.; Meijomil, P.; Rodríguez-Morales, A.J. *Sepsis due to extended-spectrum β -lactamase-producing Aeromonas hydrophila in a pediatric patient with diarrhea and pneumonia*, *Clin Infect Dis*, **2005**, 41, 3, 421-2.

Saddler, G.S.; O'Donnell, A.G.; Goodfellow, M. and Minnikin, D.E. *Simca Pattern Recognition In The Analysis Of Streptomyces Fatty Acids*, *Journal Of General Microbiology*, **1987**, 133, 5, 1137-1147.

Saran, B.; Karahan, Z.C. *Antimikrobiyal Ajanlara Genel Bakış*, *Türk Urol Sem*, **2010**, 1, 216-20.

Sarımehmetoğlu, B.; Küplülü, Ö.; Kaymaz, Ş. *Ankara'da Tüketime Sunulan Pastörize Sütlerden Hareketli Aeromonas Türlerinin İzolasyon ve İdentifikasyonu*, *Gıda*, **1998**, 23, 2, 141-145.

Sautour, M.; Mary, P.; Chihib, N.E.; Hornez, J.P. *The Effects Of Temperature, Water Activity And Ph On The Growth Of Aeromonas hydrophila and On Its Subsequent Survival In Microcosm Water*, *J Appl Microbiol*, **2003**, 95, 4, 807-813.

Shaw, N. *Lipid Composition As A Guide To The Classification Of Bacteria, Advances In Applied Microbiology*, **1974**, 17, 63-108.

Sinha, S.; Shimada, T.; Ramamurthy, T.; Bhattacharya, S.K.; Yamasaki, S.; Takeda, Y.; Nair, G.B. *Prevalence, Serotype Distribution, Antibiotic Susceptibility And Genetic Profiles Of Mesophilic Aeromonas Species Isolated From Hospitalized Diarrhoeal Cases In Kolkata, India, J Med Microbiol*, **2004**, 53, 6, 527-34.

Solmaz, H.; Aksakal, A.; Gülhan, T. *İneklerin sütlerinde hareketli Aeromonas türlerinin varlığı, Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Dergisi*, **2002**, 2, 1, 29-32.

Son, R.; Rusul, G.; Sahilah, A.M.; Zainuri, A.; Raha, A.R.; Salmah, I. *Antibiotic resistance and plasmidial profile of Aeromonas hydrophila isolates from cultured fish Telapia (Telapia mossambica), Lett Appl Microbiol*, **1997**, 24, 6, 479-82.

Subashkumar, R.; Thayumanavan, T.; Thilagavathy, C.; Vivekanandhan, G.; Savithamani, K.; Lakshmanaperumalsamy, P. *Typing Of Haemolytic And Antibiotic Resistant Aeromonas hydrophila Isolated From Raw Milk Of Coimbatore, South India, Int. J. Dairy Sci*, **2010**, 5, 3, 211-224.

Suzuki, K.; Goodfellow, M. and O'Donnell, A.G. *Cell Envelopes And Classification*. In: *Handbook Of New Bacterial Systematics* (Goodfellow, M. & O'Donnell, A.G., Eds.) p. 195-250, Academic Press, London, 1993.

Tang, H.J.; Lai, C.C.; Lin, H.L.; Chao, C.M. *Clinical Manifestations of Bacteremia Caused by Aeromonas Species in Southern Taiwan, Plos One*, **2014**, 9, 3, e91642.

Tayar, M. *Çiğ sütlerin hareketli Aeromonas yönünden incelenmesi, Vet. Hek. Mikrobiyoloji Derg.*, **2001**, 1, 1, 34-38.

Uraz, G.; Coskun, S.; Ozer, B. *Microflora and Pathogen Bacteria (Salmonella, Klebsiella, Yersinia, Pseudomonas, Aeromonas, Escherichia Coli, Staphylococcus Aureus) In Urfa Cheese (A Traditional White-Brined Turkish Cheese), Pak. J. Nutr*, **2008**, 7, 5, 630-635.

Urio, E.M.; Collison, E.K.; Gashe, B.A.; Sebunya, T.K.; Mpuchane, S. *Shigella and Salmonella strains isolated from children under 5 years in Gaborone, Botswana, and their antibiotic susceptibility patterns, Trop Med Int Health*, **2001**, 6, 1, 55-9.

Waite, W.M.; Dodd, E.R.; Bolton, K.J. *Microbial food poisoning: Problems and solutions, British Food Journal*, **1991**, 93, 1, 4-9.

Wang, Y.; Gu, J.D. *Influence Of Temperature, Salinity And Ph On The Growth Of Environmental Aeromonas and Vibrio Species Isolated From Mai Po And The Inner Deep Bay Nature Reserve Ramsar Site Of Hong Kong, J. Basic Microbiol*, **2005**, 45, 1, 83-93.

Yadav, A.S. and Kumar, A. *Prevalence of enterotoxigenic motile aeromonads in children, fish, milk and ice-cream and their public health significance, SE Asian J Trop. Med. Public Health*, **2000**, 31, 1, 153-156.

Yano, I.; Furukawa, Y. and Kusunose, M. *Occurrence Of α -Hydroxy Fatty Acids In Actinomycetales, Febs Letters*, **1969**, 4, 2, 96-98.

Yücel, N.; Citak, S. *The occurrence, hemolytic activity and antibiotic susceptibility of motile Aeromonas spp. isolated from meat and milk samples in Turkey, J Food Sci*, **2003**, 23, 3, 189-200.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Soyadı Adı: YENİÇERİ Mikail

Uyruğu: T.C.

Doğum Yeri ve Tarihi: KIRŞEHİR 05.02.1986

e-mail: mikailyeniceri@hotmail.com

Eğitim

Lise: Hacı Fatma Erdemir Anadolu Lisesi (2004)

Lisans: Karadeniz Teknik Üniversitesi Rize Fen-Edebiyat Fakültesi (2009)

Yüksek Lisans: Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (2014)

Lisans Tezi: siRNA ve Kullanım Alanları

Yüksek Lisans Tezi: Kırşehir İlinde, Dondurmalardan İzole Edilen Hareketli *Aeromonas*'ların Antimikrobiyal Direnç Ve Yağ Asidi Kompozisyonlarının İncelenmesi

Yabancı Dil: İngilizce