

Araştırma Makalesi

Tüketime Sunulan Alabalıklarda *Aeromonas hydrophila* Varlığı ve Antibakteriyel Duyarlılıklarının Saptanması

Presence of *Aeromonas hydrophila* in Trout Served for Human Consumption and Determination of Antibacterial Susceptibility of the Isolates

Gökçen DİNÇ¹, Seyda CENGİZ², Mehtap Ünlü SÖĞÜT³

¹Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tibbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

²Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum

³Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun Sağlık Yüksekokulu, Samsun

Özet

Amaç: Sucul çevrenin bir üyesi olan *Aeromonas*'lar içme sularında, deniz ürünlerinde ve çeşitli hayvansal gıdalarda bulunmakta, zoonotik özellik göstermekte ve insanlarda enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Bu çalışmada tüketime sunulan balıklarda özellikle son yıllarda önemli bir gıda patojeni olarak tanımlanan *Aeromonas hydrophila* varlığının araştırılması ve antibakteriyel duyarlılık durumlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada Kayseri, Erzurum ve Samsun'da satışa sunulan 100 adet Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) *A. hydrophila* varlığı yönünden konvansiyonel mikrobiyolojik metodlar ile incelenmiştir. *A. hydrophila* izolatlarının antibakteriyel duyarlılık profilleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. İzolatlara Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages (UPGMA) metodu kullanılarak antibiyotiplendirme yapılmıştır.

Bulgular: İncelenen balıketi örneklerinin 28'inden (%28.0) *A. hydrophila* izole edilmiştir. İzole edilen etkenlerin antibiyogram sonuçları değerlendirildiğinde; izolatların 17'sinin (%60.7) nalidiksik aside, 15'inin (%53.5) oksitetrasiyline, 13'ünün (%46.4) flumequine, 12'sinin (%42.8) amoksisiline, 9'unun (%32.1) oksolinik aside, 8'inin (%34.7) eritmomisine, 3'ünün (%10.7) neomisine dirençli olduğu ve izolatların tamamının florfenikole karşı duyarlı olduğu saptanmıştır. Antibiyotiplendirme sonucuna göre ise izolatların 17 farklı gruba dağıldıkları belirlenmiştir.

Sonuç: Tüketime sunulan çığ balıkların, *A. hydrophila* taşıyıcıları bakımından halk sağlığı için potansiyel bir tehlke oluşturabilecegi düşünülmüştür.

Anahtar Sözcükler: *Aeromonas hydrophila*; antibakteriyel duyarlılık; balıketi; halk sağlığı; antibiyotiplendirme

Abstract

Aim: *Aeromonas spp.*, which are members of aquatic environments, are found in drinking water, seafoods and various animal food products. These strains show zoonotic characteristics and can cause infection in humans. In recent years *Aeromonas hydrophila* was reported as an important foodborne pathogen. The aim of this study was to investigate the presence of *A. hydrophila* in fish intended for human consumption and antibiotic susceptibility of these strains.

Method: In the present study, one hundred marketed Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from Kayseri, Erzurum and Samsun were evaluated for the presence of *A. hydrophila* with conventional microbiological methods. Antibacterial susceptibilities of *A. hydrophila* isolates were determined by Kirby-Bauer disc diffusion method. The Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages (UPGMA) was performed for antibiotyping of isolates.

Results: A total of 28 (28%) *A. hydrophila* were isolated from fish meat samples. According to the antibiogram results, it was found that 17 (60.7%), 15 (53.5%), 13 (46.4%), 12 (42.8%) 9 (32.1%), 8 (34.7%), 3 (10.7%) of all isolates were found resistant to nalidixic acid, oxytetracycline, flumequin, amoxicillin, oxolinic acid, erythromycin, neomycin respectively whereas all of the isolates were determined susceptible to florphenicol. As a result of antibiotyping, it was determined that isolates were dispersed in 17 different groups.

Conclusions: It has been considered that the presence of *A. hydrophila* in raw fish intended for human consumption may pose a potential hazard to public health.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*; antibacterial susceptibility; fish meat; public health; antibiotyping

Giriş

Sucul faunanın bir üyesi olan *Aeromonas* cinsi mikroorganizmalar, mezofilik ve psikrofilik türler olarak bilinen hareketli (*A. hydrophila* grubu; *A. hydrophila*, *A. sobriae*, *A. caviae*) ve hareketsiz türleri (*A. salmonicida* ve alt türleri) içermektedir. *Aeromonas* türleri sucul çevreden, içme sularından ve birçok gıda ürününden kolaylıkla izole edilebilmektedir (1,2). *Aeromonadaceae* familyasının üyesi olan *Aeromonas* cinsi Gram negatif çomak şekilli, sporsuz, oksidaz ve katalaz pozitif bakterilerdir (3). *Aeromonas*'ların balık ve soğukkanlı türler için önemli bir patojen olması ile birlikte, son yıllarda yapılan çalışmalarla hareketli *Aeromonas* türlerinin özellikle immun sistemi baskılanmış bireylerde lokal veya sistemik enfeksiyonlara yol açan, önemli bir insan patojeni olduğu vurgulanmakta ve çevrede bu etkenlerin yüksek düzeyde bulunmasının halk sağlığını tehdit ettiği düşünülmektedir. *Aeromonas* türleri insanlarda travmatik ve akutatif yara enfeksiyonu, menenjit, peritonit, endokardit, sepsis ve gastroenterite neden olmakta, özellikle beş yaş altı çocuklarda, yaşlılarda ve turistlerde yaz ishallerinden sorumlu tutulmaktadır (4,5). Kontamine sular ve sularla bulaşık gıdalar, balık, karides, istiridye ve midye gibi deniz ürünlerinin hareketli *Aeromonas*'ların insanlara bulaşında önemli role sahip oldukları belirtilmektedir (2,6-8). Ayrıca bu etkenlerin çiğ kırmızı et, kanatlı ürünleri, süt ürünleri ve sebzelerden de izole edildikleri bildirilmiştir (5,9). Son yıllarda bir alternatif tedavi yöntemi olarak gittikçe artan sülük uygulamalarının da dirençli *A. hydrophila* enfeksiyonlarına yol açtığı bildirilmiştir (10-12).

Aeromonas türleri stres ve çevresel faktörlerin etkisiyle balıklarda da enfeksiyona neden olmaktadır. Balıklarda enfeksiyona yol açan en yaygın tür *A. hydrophila*'dır. Bununla birlikte *Aeromonas*'lar sağlıklı balıkların bağışak mikroflorasında, solungaçlarında ve derisinde bulunmakta olup, tüketime sunulan çiğ balık etleri insanlara bulaşta rol oynayabilmektedir (13,14). Son yıllarda yapılan çalışmalarla hareketli *Aeromonas*'larda artan oranda saptanan çoklu ilaç direncinin hem insanlarda hem de hayvanlarda enfeksiyonun tedavisini zorlaştırdığı belirtilmektedir. Bu nedenle izotatların antibiyotik duyarlılık durumlarının belirlenmesi klinik açıdan önemlidir (5,15). Bu çalışmada satışa sunulan çiğ balık etlerinde *A. hydrophila* varlığının belirlenmesi ve izotatların antibakteriyel duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Çalışmaya Kayseri (35 adet), Samsun (33 adet) ve Erzurum'da (32 adet) satışa sunulan çiftlik üretimi Gökkuşağı alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*) tesadüfi olarak seçilen toplam 100 adet balık dahil edildi. Balıklar 2013 yılının Mayıs-Eylül ayları arasında il merkezlerindeki balık satış noktalarından temin edilerek

kısa süre içerisinde ve soğuk zincir altında laboratuvarlara getirildi. Her balıkta 25 g taze balığı tırtılarak 225 ml alkalen peptonlu suda homojenize edildi ve 37 °C'de 18 saat inkübasyona bırakıldı. Zenginleştirme işlemini takiben homogenatlardan, içerisinde 30 mg/L ampicilin (Sigma Chemical Co, USA) bulunan kanlı agaraya (Oxoid, UK) ekim yapılarak 28 °C'de 24 saat inkübe edildi. *Aeromonas spp.* şüpheli koloniler fenotipik identifikasiyon için Tripticase Soy Agara (TSA, Oxoid, UK) ekilerek 37 °C'de 18 saat inkübasyona bırakıldı. Saf kültürler; Gram boyama, koloni morfolojis, hareket, oksidaz, katalaz, oksidasyon/fermentasyon (glukoz) testi, indol, Voges-Proskauer, metil red, vibriostat O/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine; 150 µg/ml)'a duyarlılık, NaCl içermeyen ve %6 NaCl içeren Nutrient buyyonda üreme, eskulin hidrolizi, sisteinden H₂S oluşumu, gaz üretimi, KCN buyyonda üreme, salisin ve arabinoz fermentasyonu ve lizin dekarboksilaz yönünden değerlendirildi. *A. hydrophila* (ATCC 7966) referans suzu kontrol olarak kullanıldı (16,17).

A. hydrophila olarak identifiye edilen izotatlar Tripticase Soy Broth'da (TSB, Oxoid, UK) üretildi ve antibiyotik duyarlılıkları Mueller Hinton (Oxoid, UK) agar besiyerinde Kirby-Bauer disk difüzyon metodu ile belirlendi (18). Testte oksitetasiklin (30 µg), oksolinik asit (2 µg), amoksisilin (30 µg), nalidiksik asit (30 µg), flumekuin (30 µg), eritromisin (15 µg), neomisin (10 µg), florfenikol (30 µg) diskleri kullanıldı. Izotatların çeşitli antibiyotiklere karşı direnç durumlarını belirlemek amacıyla yapılan antibiyograma göre sonuçlar duyarlı (S), orta derecede duyarlı (I) ve dirençli (R) olarak değerlendirildi (19).

Antibiyogram sonuçlarının Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages (UPGMA) analizi ile antibiyotiplendirmesi yapıldı. Suşlar arasındaki filofenotipik ilişki %80 benzerlik katsayısı göz önüne alınarak belirlendi. Antibiyotiplendirmenin ayırıcı gücü Grundmann ve ark. (20)'nın bildirdiği formüle göre ve güven aralıkları da Hunter ve Gaston (21)'nın bildirdiği şekilde hesaplandı.

Bulgular

Çalışmada incelenen 100 çiğ balığı örneğinin 28'i (%28) *A. hydrophila* yönünden pozitif bulunmuştur. *A. hydrophila* izotatlarının biyokimyasal özellikleri Tablo 1'de sunulmuştur. İzotatların 11'i (%39.2) Samsun'dan, 10'u (%28.5) Kayseri'den ve 7'si (%25) Erzurum'dan alınan örneklerden izole edilmiştir. *A. hydrophila* izotatlarının antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre izotatların 17'sinin (%60.7) nalidiksik aside, 15'inin (%53.5) oksitetasikline, 13'ünün (%46.4) flumekuine, 12 sinin (%42.8) amoksisiline, 9'unun (%32.1) oksolinik aside, 8'inin (%34.7) eritromisine, 3'ünün (%10.7) neomisine dirençli olduğu saptanırken, izotatların hibrisinde florfenikole karşı direnç belirlenmemiştir (Tablo 2). *A. hydrophila* izotatlarının antibiyotik duyarlılıkları illere göre değerlendirildiğinde; Samsun

izolatlarında en yüksek dirençlilik oranları nalidiksik asit, oksitetrasiklin ve amoksisin için (%54.5), Kayseri izolatlarında oksitetrasiklin (%60), flumekuin (%60) ve nalidiksik asit (%50) için ve Erzurum izolatlarında ise nalidiksik asit (%85.7) için belirlenmiştir. Samsun izolatlarında neomisine direnç gözlenirken (%27.2), Kayseri ve Erzurum izolatlarının tamamının neomisine duyarlı olduğu saptanmıştır. Izolatların illerle göre antibakteriyel direnç profilleri Tablo 3'de sunulmuştur. Antibiyotiplendirme için, izolatların antibiyotik

Tablo 1. *A. hydrophila* izolatlarının biyokimyasal özelliklerı

Testler	Sonuç
Gram boyama	(-)
Morfoloji	Çomak
Hareket	+
Oksidaz	+
Katalaz	+
Oksidasyon/ Fermantason testi (O/F)	F
İndol	+
Voges-Proskauer	+
Metil red	+
O/129 duyarlılığı	-
NaCl'siz besiyerde üreme	+
%6 NaCl içeren besiyerde üreme	-
Eskülin hidrolizi	+
H ₂ S oluşumu	+
Gaz üretimi	+
KCN besiyerde üreme	+
Salisin fermentasyonu	d
Arabinoz fermentasyonu	+
Lizin dekarboksilaz	+

Semboller: +, izolatların >%90'u pozitif; d, izolatların %11-89'u pozitif; -, izolatların <%10'u pozitif

Tablo 2. Balıklardan izole edilen *A. hydrophila* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarını

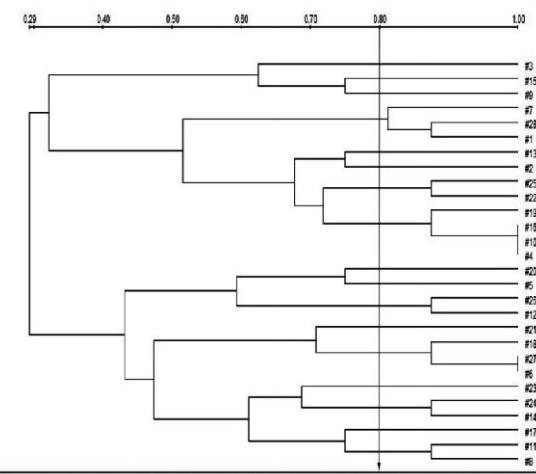
Antibiyotikler	<i>A. hydrophila</i> [n:28]		
	R [n, (%)]	I [n, (%)]	S [n, (%)]
Nalidiksik asit	17 (60.7)	4 (14.2)	7 (25.0)
Oksitetrasiklin	15 (53.5)	3 (10.7)	10 (35.7)
Flumekuin	13 (46.4)	11 (39.2)	4 (14.2)
Amoksisin	12 (42.8)	4 (14.2)	12 (42.8)
Oksolinik asit	9 (32.1)	7 (25.0)	12 (42.8)
Eritromisin	8 (28.5)	8 (28.5)	12 (42.8)
Neomisin	3 (10.7)	6 (21.4)	19 (67.8)
Florfenikol	0 (0.0)	19 (67.8)	9 (32.1)

R: Dirençli, I: Orta derecede duyarlı, S: Duyarlı

Tablo 3. İllerde göre *A. hydrophila* izolatlarının antibakteriyel direnç profilleri

Antibiyotikler	İzolatların illere göre antibiyotik direnç oranları		
	Samsun (n: 11)	Kayseri (n: 10)	Erzurum (n: 7)
Nalidiksik asid	%54.5	%50.0	%85.7
Oksitetrasiklin	%54.5	%60.0	%42.8
Flumekuin	%36.3	%60.0	%42.8
Amoksisin	%54.5	%30.0	%42.8
Oksolinik asit	%36.3	%40.0	%14.2
Eritromisin	%27.2	%30.0	%28.5
Neomisin	%27.2	%0	%0
Florfenikol	%0	%0	%0

duyarlılık profillerinden UPGMA metodу kullanılarak dendogram oluşturulmuştur (Şekil 1). Dendogram, izolatların tüm antibiyotiklere direnç ve duyarlılık durumuna göre hazırlanmıştır ve dendogram için antibiyotik disk ayrımı ve izolat orijini yapılmadan, tüm antibiyotiklere direnç/duyarlılık durumu temel alınmıştır. Suşlar arasındaki filofenotipik ilişki %80 benzerlik katsayısı göz önüne alınarak belirlenmiştir ve bu değerlendirmeye sonrasında ana kümeler (cluster) A, B, C, vb. olarak adlandırılmıştır. Ana cluster içerisinde %80 benzerlik olanlar tekli kümeler olarak değerlendirilmiştir. Bazı kümelerde ise alt gruplar görülmüştür ve bu alt kümeye sayısına göre de ikili, üçlü, dörtlü kümeler olarak tanımlanmıştır (Tablo 4). Buna göre izolatların fenotipik olarak 17 ana kümeye ayrıldıkları, 10 izolatin %80 oranında fenotipik olarak benzedeği ve diğer 18 izolatın ise birbirlerine fenotipik olarak benzerlik oranının daha yüksek olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca filofenotipik ilişkinin belirlenmesinde kullanılan antibiyotiplendirmenin 0.94-0.97 güven aralığında %95.8 oranında ayırm gücü olduğu hesaplanmıştır.



Şekil 1. *A. hydrophila* izolatlarının antibiyotik duyarlılık profillerine göre dendogramı

Tablo 4. *A. hydrophila* izolatlarının antibiyotiplendirmelerine göre gruplar

Grup	Tip	İzolat no.
A	Tekli tip	3
B	Tekli tip	15
C	Tekli tip	9
D	Üçlü küme	1, 7, 28
E	Tekli tip	13
F	Tekli tip	2
G	İkili küme	22,25
H	Dörtlü küme	4, 10, 16, 19
I	Tekli tip	20
J	Tekli tip	5
K	İkili küme	12, 26
L	Tekli tip	21
M	Üçlü küme	5, 18, 27
N	Tekli tip	23
O	İkili küme	14, 24
P	Tekli tip	17
R	İkili küme	8, 11

Tartışma

Son yıllarda özellikle gıda kaynaklı enfeksiyonlarda öne çıkan *A. hydrophila*, zoonotik bir etken olarak soğuk ve sıcakkanlı canlılarda çeşitli enfeksiyonlara yol açmaktadır. Etkenin deniz ürünlerinden, süt ürünlerinden, kanatlı ürünlerinden, kırmızı çiğ etten, bitkisel kaynaklı gıdalardan izole edildiği ve insanlarda gastroenteritlerin önemli bir kısmının *Aeromonas* türleri, özellikle *A. hydrophila* (HG1 hibridizasyon grubu) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (5,22,23). Gıdalarda, içme sularında *Aeromonas* spp. varlığını araştıran çeşitli çalışmalar yurt içinde ve yurt dışında yapılmış ve balıklarda *A. hydrophila* izolasyon oranları bildirilmiştir (4,15,17,24,25). Tüketime sunulan balıklarda Boynukara ve ark. (26), yaz aylarında örneklerin %80'inden hareketli *Aeromonas* spp. izole ettiklerini bunun da %35'inin *A. hydrophila* olduğunu belirtirken, Vivekanandhan ve ark. (27), %33.5, Hatha ve ark. (15), %61, İşleyici ve ark. (25), %38 (çiğ balıketinde) ve %46 (bağırsak içeriğinde) ve Erdem ve ark. (24), %30 oranında *A. hydrophila* izole ettiklerini bildirmiştir. Tüketime sunulan Gökkuşağı alabalıklarında *A. hydrophila* varlığının araştırılarak, var olan izolatların antibiyotiklere duyarlılık durumlarının saptanmasının amaçlandığı bu çalışmada diğer çalışmaların sonuçlarına benzer şekilde incelenen balıkların %28'inde *A. hydrophila* izole edilmiştir.

Balıklardan izole edilen *A. hydrophila* suşlarında antibiyotik direnç profilleri çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (15,24,26-29). Son ve ark. (28), balık izolati *A. hydrophila* suşlarının nalidiksik asit, eritromisin ve tetrasikline karşı dirençli olduğunu, Vivekanandhan ve ark. (27) ise balıklardan izole ettikleri *A. hydrophila* suşlarının tamamının metisilin ve rifampisine dirençli iken, kloramfenikole duyarlı olduğunu belirtmişlerdir.

Penders ve Stobberingh (29), balık ve çiftlik sularından izole ettikleri suşların tamamının oksitetrasikline dirençli, kloramfenikole ise duyarlı olduğunu saptamışlardır. Erdem ve ark. (24), balık izolati *A. hydrophila* suşlarının tamamının tetrasiklin ve ampisiline dirençli, büyük çoğunuğunun gentamisin, streptomisin ve kanamisine duyarlı olduğunu bildirmiştirlerdir. Hindistan'da yapılan bir çalışmada balıklardan izole edilen *A. hydrophila* suşlarının tamamının ampisiline, büyük çoğunuğunun amoksisin, polimiksin-B, novobiosin ve oksitetrasikline dirençli olduğu, kloramfenikole duyarlı olduğu belirtilmiştir (15). Bu çalışmada *A. hydrophila* izolatları genel olarak nalidiksik asit, oksitetrasiklin, flumekuin ve amoksiline karşı dirençli, neomisin ve florfenikole ise duyarlı olarak bulunmuştur. Bu veriler diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Bakteriler arasındaki farklılıkların belirlenebilmesi için tiplendirme metodları kullanılmaktadır. Bakteriyel suşların tiplendirilmesinde fenotipik ya da moleküler birçok yöntemden yararlanılabilir. Tiplendirmede kullanılacak yöntemler test edilen suşlardan kesin sonuçlar çıkartılmalı, yer ve zaman bağımlılığı olmaksızın her çalışmada aynı sonuçları verebilmeli ve epidemiyolojik olarak ilgisiz suşları belirleyebilmelidir (30). Tiplendirme sonucunda, yapılan suşların epidemiyolojik olarak ilişkili olup olmadıkları ortaya konmaktadır (31). Bu çalışmada da izolatların antibiyotik duyarlılık profillerine göre antibiyotiplendirmeleri yapılmıştır. Tiplendirme sonucunda incelenen toplam 28 adet izolatin %80 eşik değeri göz önüne alındığında fenotipik olarak 17 farklı gruba ayrıldıkları, 10 adet tekli tip ve 7 adet çoklu küme oluşturdukları belirlenmiştir. Bu sonuç da *A. hydrophila* izolatları arasındaki çeşitliliği ve fenotipik varyasyonları göstermektedir. Elde edilen bu verilerin aşısı ya da teşhis kitlerinde kullanılmak üzere ülkemizi temsil eden dominant izolatin belirlenmesinde ve bu izolatin suş olarak karakterize edilmesinde yardımcı olacağı düşünülmektedir.

A. hydrophila, durgun veya akan sularda, göllerde tabii olarak bulunmaktadır. Sulak alanlarda çalışmalarda, balıkçılıkla uğraşanlarda küçük yaralanmalar sonucu dahi *A. hydrophila* deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına yol açabilmektedir. Klinik tablo hafif selülit olabileceği gibi, etkennekrotizan selülit gibi ağır ve hayatı tehdit eden enfeksiyona da neden olabilmektedir (2,23). Bu bakteri genellikle ampisiline dirençlidir. Aminoglikozidlere, kinolonlara, kloramfenikole, trimetoprim/ sulfametoksazole ve üçüncü kuşak sefolosporinlere genellikle duyarlıdır (15,24,29). Bu çalışmada da, izolatların amoksiline yüksek oranda dirençli olduğu, bir aminoglikozid olan neomisine ve kloramfenikol türevi olan florfenikola duyarlı oldukları görülmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma ile tüketime sunulan alabalık etlerinde *A. hydrophila* kontaminasyonunun olabileceği ve izolatlarda farklı düzeylerde antibakteriyel direnç gelişiminin şekillendiği belirlenmiştir. Klinik

pratik uygulamalarda balıketi tüketimi sonucu gelişen ishallerin ayırcı tanısında, balıkçılıkla uğraşanlar ve sulak arazide çalışanlarda gelişen deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının etkenleri arasında *A. hydrophila*'nın da düşünülmesi gerektiği ve özellikle iyi pişirilmemiş balıketi tüketimi sonucunda bu etkenlerin insan sağlığı için bir tehdite oluşturabileceği kanaatine varılmıştır.

Teşekkür

Çalışmada *A. hydrophila* izolatlarının antibiyotip-lendirmelerinin yapılarak dendogram hazırlanmasında yardımlarından dolayı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Alper Çiftçi ve makaleyi okuyarak kritiğini yapan Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Mehmet Doğanay'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Carnahan AM, Joseph SW. Family I. Aromonadaceae. In: Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT Eds: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd Ed., vol.2., New York: Springer, 2005;556-78.
2. Janda JM, Abbott SL. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity and infection. *Clin Microbiol Rev* 2010;23(1):35-73.
3. Abbott S, Cheung WK, Janda JM. The genus *Aeromonas*: Biochemical characteristics, atypical reactions and phenotypic identification schemes. *J Clin Microbiol* 2003;41(6): 2348-57.
4. Sreedharan K, Philip R, Singh IS. Virulence potential and antibiotic susceptibility pattern of motile *Aeromonads* associated with freshwater ornamental fish culture systems: a possible threat to public health. *Braz J Microbiol* 2012;43(2):754-65.
5. Daskalov H. The importance of *Aeromonas hydrophila* in food safety. *Food Control* 2006;17(6):474-83.
6. Burke V, Robinson J, Gracey M, Peterson D, Meyer N, Haley V. Isolation of *Aeromonas spp.* from an unchlorinated domestic water supply. *Appl Environ Microbiol* 1984;48(2): 367-70.
7. Yucel N, Erdem B, Kaya D. Some virulence properties and characterization of motile *Aeromonas* species from milk and white cheese. *Int J Dairy Technol* 2005;58(2):106-10.
8. Krovacek K, Dumontet S, Eriksson E, Baloda SB. Isolation, and virulence profiles, of *Aeromonas hydrophila* implicated in an outbreak of food poisoning in Sweden. *Microbiol Immunol* 1995;39(9):655-61.
9. Yucel N, Citak S. The occurrence, hemolytic activity and antibiotic susceptibility of motile *Aeromonas spp.* Isolated from meat and milk samples in Turkey. *J Food Saf* 2003;23(3):189-200.
10. Hoşnute M, Demircan N, Ünalacak M, Kargı E, Aktunç E, Babucu O. Modern tıbbın yeniden keşfettiği bir alternatif tedavi metodu: Hirudoterapi. *Türk Aile Hek Derg* 2003;7(4): 177-79.
11. Levine SM, Frangos SG, Hanna B, Colen K, Levine JP. *Aeromonas* septicemia after medicinal leech use following replantation of severed digits. *Am J Crit Care* 2010;19(5): 469-71.
12. Giltner CL, Bobenchik AM, Uslan DZ, Deville JG, Humphries RM. Ciprofloxacin-resistant *Aeromonas hydrophila* cellulitis following leech therapy. *J Clin Microbiol* 2013;51(4):1324-6.
13. Tanrikul T, Çağırın H, Tokşen E. Motil *Aeromonas* Enfeksiyonu. *Bornova Vet Kont ve Arş Enst Müd Derg* 1996;20(34):118-20.
14. Karataş-Düngenci S, Candan A. Isolation of *Aeromonas* strains isolated from intestinal flora of Atlantic salmon (*Salmo salar L.* 1758). *Turk J Vet Anim Sci* 2003;5(27): 1071-75.
15. Hatha M, Vivekanandhan AA, Joice GJ, Christol. Antibiotic resistance pattern of motile *Aeromonads* from farm raised fresh water fish. *Int J Food Microbiol* 2005;98(2):131-4.
16. Joseph SW, Carnahan A. The isolation, identification and systematics of motile *Aeromonas* species. *Ann Rev Fish Dis* 1994;4:315-43.
17. Castro-Escarpulli G, Figueras MJ, Aguilera-Arreola G, Soler L, Fernández-Rendón E, Aparicio GO, Guarro J, Chacón MR. Characterisation of *Aeromonas spp.* Isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico. *Int J Food Microbiol* 2003;84(1):41-9.
18. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am J Clin Pathol* 1966;45(4):493-96.
19. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 17th Informational Supplement. Approved Standard, MS100-S17, Wayne, Pennsylvania, USA. 2007.
20. Grundmann H, Hori S, Tanner G. Determining confidence intervals when measuring genetic diversity and the discriminatory abilities of typing methods for microorganisms. *J Clin Microbiol* 2001;39(11):4190-92.
21. Hunter PR, Gaston MA. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *J Clin Microbiol* 1988;26(11): 2465-66.
22. Kirov SM. The public health significance of *Aeromonas spp.* in foods. *Int J Food Microbiol* 1993;20(4):179-98.
23. Yalçın AN. *Aeromonas* Türleri ve *Plesiomonas* Türleri. Wilke-Topcu A, Söyletir G, Doğanay M. Ed: Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Etkenlere Göre Enfeksiyonlar 2, 3. Baskı, İstanbul, Nobel Tip Kitabevleri, 2008: 2212-14.

-
24. 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(4):453-62.
25. İşleyici Ö, Sancak YC, Hallaç B. Van'da tüketime sunulan balıklarda hareketli *Aeromonas* türlerinin varlığı ve yaygınlığı. *YYÜ Vet Fak Derg* 2007;18(1):79-85.
26. Boynukara B, Gürtürk K, İlhan Z, Gülhan T, Öğün E, Ekin İH. Van gölünde yaşayan *Chalcalburnus tarichii* balıklarından izole edilen *Aeromonas*'ların görülmeye sıklığı. *Van Tip Derg* 1998;5(4):239-42.
27. Vivekanandhan G, Savithamani K, Hatha AAM, Laksmanaperumalsamy P. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from marketed fish and prawn of South India. *Int J Food Microbiol* 2002;76(1-2):165-68.
28. Son R, Rusul G, Sahilah AM, Zainuri A, Raha AR, Salmah I. Antibiotic resistance and plasmid profile of *Aeromonas hydrophila* isolates from cultured fish, *Telapia (Telapia mossambica)*. *Lett Appl Microbiol* 1997;24(6):479-82.
29. Penders J, Stobberingh EE. Antibiotic resistance of motile *Aeromonads* in indoor catfish and eel farms in the southern part of The Netherlands. *Int J Antimicrob Agents* 2008;31 (3):261-5.
30. Köksal F. Moleküler biyolojik tiplendirme yöntemlerinin hastane enfeksiyonlarında kullanımı. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 1999;3(4):189-95.
31. Yağcı A. Restriction Fragment Length Polymorphism ve Polimeraz Zincir Reaksiyon Bazlı Tipleme Yöntemleri. Durmaz R. Ed: Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji, 2. Baskı, Ankara, Nobel Tıp Kitabevleri, 2001:149-60.