

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HAYVANSAL VE ÇEVRESEL KAYNAKLARDAN HAREKETLİ
AEROMONAS BAKTERİYOFAJLARININ İZOLASYONU**

Vet. Hek. Rajhab Sawasawa MKAKOSYA

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Doç.Dr. Mehmet AKAN

89004

1999 – ANKARA

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
KURULUŞ BAŞKANLIĞI

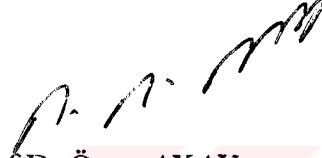
Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Mikrobiyoloji Doktora Programı

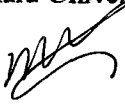
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

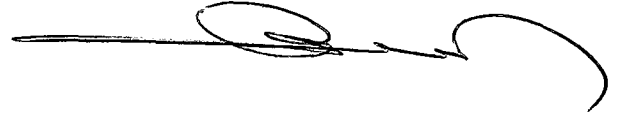
Tez Savunma Tarihi: 06.10.1999


Prof. Dr. Ömer AKAY
İstanbul Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Müjgan İZGÜR
Ankara Üniversitesi



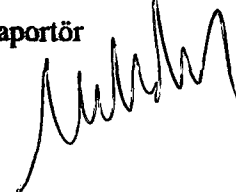
Prof. Dr. K. Serdar DİKER
Ankara Üniversitesi



Doç. Dr. Osman KUTSAL
Ankara Üniversitesi



Doç. Dr. Mehmet AKAN
Ankara Üniversitesi
Raportör



ÖNSÖZ

Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar, hareketli *Aeromonas* türlerinin gıda kaynaklı gastroenteritislerin en önemli nedenlerinden biri olduğunu ortaya koymuştur. Hareketli *Aeromonas* türleri gastro-intestinal sistem florasında, sularda ve gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu etkenler insan, hayvan ve sularda yaşayan canlılarda infeksiyon oluşturmaktadırlar.

Bakteriyel taksonomideki gelişmelere paralel olarak hareketli *Aeromonas* türlerinin sistematüğinde de değışimler olmuştur. Yapılan çalışmalarda, bugüne kadar bilinen klasik hareketli *Aeromonas* türlerine (*A. hydrophila*, *A. sobria*, ve *A. caviae*) yeni türler ilave edilmiştir. Günümüzde hareketli *Aeromonas* türleri arasında *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. trota*, *A. jandaei*, *A. schubertii*, *A. allosaccharophila*, *A. eucrenophila*, *A. enteropelogenes* ve *A. ichthiosmia* bulunmaktadır. Sistematikteki bu değışiklerle birlikte, hayvanlarda ve insanlarda hastalık oluşturan ve özellikle hayvansal kaynaklarda kontaminant olarak bulunan bu grup etkenlerin epidemiyolojilerinin belirlenmesi önem kazanmaktadır. Bazı araştırmacılar bu etkenlerin, tavuk karkaslarında kontaminasyon düzeyini saptamada belirleyici rol oynayabileceklerini bildirmektedirler.

Tüm dünyada yapılan çalışmalarda özellikle yaz aylarında insanların yoğun olarak tükettikleri tavuk etlerinde bu bakterilerle kontaminasyonun artması, insanlar için önemli bir problem oluşturmaktadır. Kontamine etlerin tüketilmesi sonrasında çocuklarda diyare ve yetişkinlerde gastrointestinal sistem bozuklukları ve ekstraintestinal hastalıklar ortaya çıkmaktadır.

Bu çalışmada her geçen gün önemi artan hareketli *Aeromonas* türlerine ait bakteriyofajların değışik kaynaklardan izole edilmesi, izole edilen bakteriyofajların litik spektrumlarının değeriendirilmesi ve bakteriyofajların hareketli *Aeromonas*ların identifikasyonunda kullanılabilirliğinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Bu doktora tez çalışmasının yürütülmesinde bana yol gösteren yardım ve ilgilerini esirgemeyen başta danışmanım sayın Doç.Dr. Mehmet AKAN olmak üzere, A.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalının saygıdeğer öğretim üyeleri sayın Prof.Dr.Müjgan İZGÜR, Prof.Dr.K. Serdar DİKER, Doç.Dr.Hakan YARDIMCI, Doç.Dr.Ömer M. ESENDAL, Doç.Dr.Jale ERDEĞER'e, sayın Prof.Dr.Mustafa ARDA (A.Ü. Vet. Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından emekli öğretim üyesi), Prof.Dr.Ömer AKAY (İ.Ü. Vet. Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi)'a ve çalışmalarımda kullandığım koyun-sığır barsaklar ve karkas yıkama suların teminindeki katkılarından dolayı Mısırdal et kombinasi personeline, A.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı araştırma görevlilerine, doktora ve yüksek lisans öğrenci arkadaşlarıma ve idari personele, çalışmam süresince beni sürekli destekleyen eşim Caroline'ye ve oğlum Andondosye'ye teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
Önsöz	iii
İçindekiler	v
Simgeller ve Kısaltmalar	vii
Tablolar	viii
1. GİRİŞ	1
2. GEREÇ VE YÖNTEM	18
2.1 Örneklerin toplanması	18
2.2 Besiyerleri	18
2.2.1 Alkali Peptonlu Su (APS)	18
2.2.2 Ampisilinli Kanlı Agar (AKA)	19
2.2.3 Nutrient Buyyon (NB)	19
2.2.4 Diğer Besiyerleri	19
2.3 Tampon sıvıları	19
2.3.1 Fizyolojik Tuzlu Su	19
2.3.2 Ringer solusyonu	19
2.4 Hareketli Aeromonas suşları	20
2.5 Bakteriyofajların izolasyonunda kullanılan konaçı suşları	20
2.6 Hareketli Aeromonas suşlarının izolasyon ve identifikasyonu	20
2.7 Hareketli aeromonas bakteriyofajlarının izolasyon	24
2.8 Bakteriyofajların Rutin Testi Dilusyonlarının (RTD) saptanması	26
3. BULGULAR	27
3.1 Hareketli aeromonaslarının izolasyon ve identifikasyon bulguları	27
3.2 Bakteriyofaj izolasyon bulguları	29
3.3 Litik spektrum bulguları	31
3.4 Rutin Testi Dilusyon (RTD) sonuçları	37
4. TARTIŞMA	38

5. SONUÇ	44
ÖZET	45
SUMMARY	46
KAYNAKLAR	47



SİMGELER VE KISALTMALAR

dk	Dakika
g	Gram
l	Litre
LPS	Lipopolisakkarit
MA	Molekül Ağırlık
µg	Mikrogram
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
RTD	Rutin Testi Dilusyon



TABLOLAR

Tablo 1.1. Ackermannin Bakteriyofaj Klasifikasyonu	10
Tablo 1.2. Bakteriyofajlarla Tiplendirme Şemaları Geliştirilen Mikroorganizmalar	15
Tablo 2.1. İncelenen Materyallerin Kaynakları ve Sayıları	18
Tablo 2.2. Hareketli Aeromonas Türlerinin İzolasyon	22
Tablo 2.3. Hareketli Aeromonasların İdentifikasyonu (Carnahan, 1991)	23
Tablo 2.4. Bakteriyofaj İzolasyonu ve Standardizasyonu	25
Tablo 3.1. Materyallere göre Çeşitli Kaynaklardan Hareketli Aeromonas Suşlarının İzolasyon Oranları	27
Tablo 3.2. Materyallere Göre Çeşitli Kaynaklardan İzole Edilen Suşların Türlerine Dağılımı	28
Tablo 3.3. Çeşitli Kaynaklardan İzole Edilen Bakteriyofajların Sayıları ve Oranları	29
Tablo 3.4. Materyallere Göre İzole Edilen Bakteriyofajların Türlerine Dağılımı	30
Tablo 3.5. A. hydrophila Konakçılarında İzole Edilen Bakteriyofajların Litik Spektrumu	32
Tablo 3.6. A. sobria Konakçılarında İzole Edilen Bakteriyofajların Litik Spektrumu	33
Tablo 3.7. A. schubertii Konakçılarında İzole Edilen Bakteriyofajların Litik Spektrumu	35
Tablo 3.8. A. jandaei Konakçılarında İzole Edilen Bakteriyofajların Litik Spektrumu	36
Tablo 3.9. Rutin Test Dilusyon Sonuçları	37

1. GİRİŞ

Aeromonaslar, bilinen en eski balık patojenlerinden olup, memeli hayvanlarda ve kanatlılarda sindirim sistemi ve ekstraintestinal sistem infeksiyonlarına neden olan mikroorganizmalardır (Freij, 1987; Austin ve ark., 1989; Carnahan ve ark., 1991; Bilgehan, 1995; Sugita ve ark., 1995; Adams ve ark., 1998). Sularda, çevresel kaynaklarda ve insan gıdalarında yüksek oranda bulunması, bu mikroorganizmalara bağlı infeksiyon riskini arttırmaktadır (Donta ve Haddow, 1978; Stevenson, 1978; Monofort ve Baleux, 1990; Gürsöy, 1993; Gavriel ve ark., 1998; Özcan ve ark., 1998).

Aeromonas olarak tanımlanan ilk bakteri, 1894 yılında Emmerich ve Weibel tarafından izole edilmiştir. Araştırmacılar Almanya'da bir balıktan izole ettikleri etkeni, alabalık bulaşıcı hastalığının basili anlamına gelen 'Bacillus der forellenseuch' şeklinde isimlendirmişlerdir. Etkenin neden olduğu 'Frunculosis' hastalığının 1894'ten önceki yıllarda varlığını saptamak için Williamson 1928'de ve MacCarthy ve Roberts 1980'de değişik literatürleri incelemişler ve hastalığın o dönemden önce tanımlanmadığını ispatlamışlardır. Ancak bazı araştırmacılar (Paterson, 1974; MacInnes ve ark., 1979; Leblane ve ark., 1981; Austin ve Lee 1992; Martinez-Murcia, ve ark., 1992), 1868'de Forel 1890'da, Fabre-Domerque ve 1892'de Fischel ile Enoch tarafından izole edilen bakterilerin A. salmonicida olduğunu bildirmişlerdir.

Aeromonas grubundaki etkenler, Kuzey Amerika'da ilk kez 1902 yılında Marsh tarafından izole edilmiştir ve Bacillus truttae olarak adlandırılmıştır (Austin ve Lee, 1992). Bu etkenin Amerika kıtasından önce Avrupa'da görüldüğü ve Amerika'ya alabalıkların ithal edilmesiyle getirildiği gösterilmiştir. Fish (1937) kuzey Amerika'dan Avrupa'ya getirilen gökkuşağı alabalıklarının furunkulozis'e karşı dirençliliklerine dayanarak furunkulozis etkenin Avrupa'dan Amerika'ya değil Amerika'dan Avrupa'ya getirildiğini vurgulamıştır. 1900 yıllarının başında furunkulozis, birçok Avrupa ülkesinde tanımlanmıştır (Arkwright, 1912). İlk tanımlandığında hastalığın

sadece havuz balıklarında görüldüğü bildirilmişse de, Plehn (1909, 1911) yaptığı çalışmalarda Bavariya'da 25 nehir ve ırmaktan tutulan alabalıklarda furunkulozis hastalığını tespit etmiştir. Amerika'da Beldin (1927), furunkulozis nedeniyle, Massachusetts eyaletindeki devlete ait bir yetiştirme havuzunda tüm balıkların öldüğünü bildirmiştir.

Kanada'da furunkulozis ile ilgili çalışmalar Duff ve Stewart (1933) tarafından yapılmış ve bu ülkede 1929-1933 döneminde ölen balıkların çoğunun furunkulozis belirtileri gösterdiği saptanmıştır. 1931'de hastalanan balıklar üzerinde yapılan çalışmada *Bacillus salmonicida* izole edilmiştir.

Son yıllarda furunkulozis hastalığı dünyanın her yerinde bildirilmiştir. Trust ve ark. (1980) Avustralya'da, Fryer ve ark. (1986) furunkulozisin görülmediği Asya'da (Kore) hastalık etkenini izole ettiklerini ve bu etkene bağlı hastalık tablosunu bildirmişlerdir. McCarthy ve Roberts (1980)'a göre furunkulozis hastalığının değişik yerlerde değişik zamanlarda bildirilmesinin, hastalığın belli bir yerden başlamasından değil bakteriyolojik teşhisteki gelişmelerin değişik bölgelerde değişik zamanlarda olmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.

Türkiye'de *Aeromonas*'ların neden olduğu hastalıkların incelenmesi ve etkenin izolasyon ve identifikasyon çalışmaları 1980'li yıllarda yoğunlaşmıştır (Baran ve ark. 1980; Erer, 1983; Diker ve ark., 1984). Baran ve ark. (1980), Çifteler Sakaryabaşı Balık Üretim ve Araştırma İstasyonu yetiştirme havuzunda bulunan gökkuşağı alabalıklarından *A. hydrophila*, Diker ve ark. (1984) Mogan gölünde bulunan sazanlardan *A. sobria* izole ve identifiye etmişlerdir.

Son yıllarda, *Aeromonas* taksonomisinde büyük değişiklikler olmuştur (Eddy, 1960; Eddy, 1962; Schubertii, 1967; Schubertii, 1974; Shaw ve Hodder, 1978; Allen ve ark., 1983b; Hedges ve ark., 1985). *Aeromonas*'a çok benzeyen ilk mikroorganizma, 1890 yılında Zimmerman tarafından tanımlanmıştır (Von Gravenitz, 1987). Araştırmacı, Chemnitz'de çeşme suyundan izole ettiği etkeni "*Bacillus devorans*" olarak isimlendirmiştir. 1894'te Emmerich ve Weibel alabalıklardan izole ettikleri etkenin çomak

şeklinde olduğunu dikkate alarak, etkenin *Bacterium* cinsine ait olduğunu söylemişlerdir. 1896'da Lehmann ve Neumann, etkeni *Bacterium salmonicida* ismini vermişlerdir (Austin, 1992).

Farklı kaynaklardan izole edilen ve birbirine benzeyen bu bakterilere "Aeromonas" cins ismi, ilk kez 1936 yılında Kluvyer ve van Niel tarafından önerilmiştir. Araştırmacılar, balık ve kurbağalardan izole edilen ve *Bacillus*, *Bacterium* veya *Aerobacter* olarak tanımlanan bakterilerin patojenitesini ve biyokimyasal özelliklerini inceleyerek *Aeromonas* ismini uygun bulmuşlar ve etkenlere sırasıyla *A. hydrophila*, *A. punctata* ve *A. liquefaciens* isimlerini vermişlerdir (MacInnes, 1979; Allen, ve ark., 1983a; Toranzo ve ark., 1986; Sayeed ve ark., 1996).

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'in 1957'deki baskısında *Aeromonas* cinsindeki etkenler, *Pseudomonadaceae* familyasında yer almıştır (Snieszko, 1957). Fakat yapılan taksonomik incelemeler sonucunda *Aeromonas* cinsinin *Vibrionaceae* familyasında yer almasının daha uygun olacağı bildirilmiş ve bunun üzerine 1984'teki Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'de, *Aeromonas* cinsi *Vibrionaceae* familyasında değerlendirilmiştir (Popoff, 1984). Ancak *Aeromonas*ların çok tuzlu (%6 NaCl) ortamlarda ürememesinden dolayı, Colwel ve ark. (1986) *Aeromonadaceae* familyasının oluşturulmasını ve *Aeromonas*ların bu familyada toplanmasını önermişlerdir. Son zamanlarda yayımlanan makale ve kitaplarda *Aeromonas*lar kendi ismini taşıyan *Aeromonadaceae* familyasında incelenmektedirler (Austin ve Lee, 1992; Flint, 1996; Chuang ve ark., 1997).

*Aeromonas*lar Gram negatif, fakultatif anaerobik, spor ve kapsül oluşturmayan, uçları yuvarlak ve aside dirençli olmayan çomak veya çomakçık şeklindeki mikroorganizmalardır (Bernheimer, 1974; Carnahan ve ark., 1991a). Optimal üreme ısısına ve hareketliliklerine göre *aeromonas*lar iki gruba ayrılmıştır. Bunlardan birincisi psikrofil ve hareketsiz *aeromonas*lar; ikincisi ise mezofil ve hareketli *aeromonas*lardır. Birinci gruptaki *aeromonas* türleri *A. salmonicida*, *A. media*, *A. achromogenes* ve *A. masoucida* olarak

adlandırılmışlardır. Bunlardan *A. salmonicida* ve *A. media*, balıklarda ve diğer soğuk kanlı hayvanlarda ender olarak hastalık oluşturabilirlerse de doğal koşullar altında saprofitik özellik taşırlar (Donlon ve ark., 1983; Allen ve ark., 1983a; Turnbull ve ark. 1984; Barnhart ve ark., 1989; Panigua ve ark., 1990). İkinci gruptaki aeromonaslar ise insan, memeli ve kanatlılarda hastalık oluşturabilen mikroorganizmalar olup, fenotipik ve genotipik farklılıklarına göre *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. schubertii*, *A. jandaeii*, *A. allosaccharophila*, *A. enteropelogenes*, *A. ichthiosmia* ve *A. eucrenophila* olarak ayrılmıştır (MacInnes ve ark., 1979; Carnahan, 1989; Kampfer ve Altwegg, 1992; Martinez-Murcia ve ark., 1992; Euzeby, 1993; Kaznowski, 1998).

Hareketli aeromonaslar mikroskop altında incelendiklerinde değişik morfoloji ve büyüklükler gösterirler. Bazı suşlar kısa çomak, bazıları ise ince ve uzun filamentöz şekilde görülebilirler. Çomak şeklinde olanlar genellikle $0.6-1 \times 1-4.4 \mu\text{m}$ boyutlarında, filamentöz olanları ise $8 \mu\text{m}$ uzunluğunda olabilirler (Eddy, 1960; Schubertii, 1974; Austin ve ark., 1989; Jawetz ve ark., 1989). Mikroskopta tek tek, ikili veya kısa zincirler halinde görülürler. Hareketli aeromonaslar sahip oldukları polar flagella sayesinde aktif hareketlidirler. Genellikle taze kültürlerde monotrik flagelaya sahiptirler. İnkubasyon süresi kısa tutulduğunda lateral flagella görülebilir (Snieszko, 1957; Nzeako, 1991).

Hareketli *Aeromonas* türleri rutin laboratuvarında kullanılan birçok besiyerinde kolaylıkla üreyebilirler (Eddy, 1962; Shotts ve Rimler, 1973; Knochel, 1989; Del Corral ve ark., 1990; Chuang, ve ark., 1997). Bazı hareketli *Aeromonas* türleri, azot kaynağı olarak sadece amonyum, karbon kaynağı olarak ise sadece glikoz, arjinin, asparjin veya histidini kullanarak basit bir mineral ortamda üreyebilirler (Kaper ve ark., 1979; Havelaar ve ark., 1987; Mahajan ve ark., 1998). Tüm hareketli aeromonaslar L-arjinin, asparjin, löysin ve metiyonin karışımli besiyerinde ürerler. Optimum üreme ısı 22-30°C olmasına karşın bazı suşlar 5°C'de ve diğerleri de daha yüksek ısılarda (37-41°C) üreyebilirler. Nutrient agarda 37 °C'de 18 saatte 1-2 mm

apında, kenarları düzgün, yuvarlak, kabarık, nemli, parlak, Őeffaf, gri-beyaz renkli, S-formda ve kendine has kokulu koloniler meydana getirirler (Schubertii, 1967; Burke ve ark., 1984; Toranzo ve ark., 1986). Koloniler eskidikçe rengi açık kahve olur. Pigment oluŐturmazlar. Kanlı agarda üretilen bazı suşlar beta hemoliz oluŐturabilir. Sıvı besiyerinde genellikle homojen bulanıklık yaparak ürerler. Bazı suşlar ve eski kültürler tüpün dibinde tortu oluŐturarak üreme gösterir (Ross, 1962; Needham ve ark., 1979; Janda ve Duffey, 1988; Jawetz ve ark. 1989; Sugita ve ark., 1995).

Hareketli aeromonaslar, kemoorganotrofiktirler ve hem oksidatif hem de fermentatif metabolik respirasyona sahiptirler. Vibriostatik ajan olan O/129 (2,4 diamino 6,7, diisopropyl piteridine)'a karşı dirençlidirler (Carnahan ve ark., 1991a; Carnahan ve ark., 1991b; Schubertii, 1974). Oksidaz testinde pozitif olmasının dışında hareketli aeromonasların birçok biyokimyasal reaksiyonu enterobakterilere benzemektedir (Colwel ve ark., 1986; Jawetz ve ark., 1989 Bilgehan, 1995; Haburchak ve ark., 1996). Tüm aeromonaslar birçok karbondhidratı fermente ederek bunlardan asit ve gaz meydana getirirler. Aeromonaslar fruktoz, glikoz, maltoz ve trehalozu fermente etmesine karşın adonitol, dulsitol, inositol, inulin, meleztoz, sorboz ve tilozu fermente edemezler. NiŐasta, dekstrin, gliserol, kazein ve jelatini hidrolize ederler. DNaz, arjinin dihidrojenaz ve fosfataz testlerinde pozitifler. reyi paralayamazlar. Bu testlerden güvenilir sonuç elde etmek için, testler aeromonasların optimal üreme ısısı olan 30  C'de yapılmalıdır (Wilson ve Miles, 1964; Schubertii, 1967). Aeromonas türlerinin identifikasyonları, biyokimyasal özelliklerine göre yapılabilmektedir (Carnahan ve ark., 1991a; Euzeby, 1993). Carnahan ve ark. (1991a), hareketli aeromonasların tür düzeyinde identifikasyonu için yeni bir identifikasyon Şeması geliŐtirmiŐtir.

Hareketli aeromonaslar, balıklarda, memelilerde ve kanatlılarda hastalığa neden olurlar (Hill ve ark., 1954; Gracey ve ark., 1982; Janda ve Brenden, 1987; Majeed ve ark., 1989; Del Corral ve ark., 1990). Yapılan ilk çalışmalarda, aeromonasların sadece balıklarda ve diğer soğuk kanlı

hayvanlarda yaşadığı ve zaman zaman bu hayvanlarda değişik klinik bozukluklar meydana getirdikleri düşünölmüştür (Eurell ve ark., 1978; Austin ve ark., 1989; Del Corral ve ark., 1990). Soğuk kanlı hayvanların dışında *Aeromonas* nedenli infeksiyon, insanlarda ilk kez Hill ve ark. (1954) tarafından septisemi vakasında saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda hareketli aeromonasların sağlıklı görönen insanlarda da bulunduğu ve birçok hastalık vakasında primer veya sekonder etken olarak izole edildiği bildirilmiştir (Carnahan ve ark., 1991c; Bilgehan, 1995; Haburchak ve ark., 1996; Agarwal ve ark., 1998). Hareketli aeromonaslar insanlarda sindirim sistemi infeksiyonlarından başka çeşitli sistem veya organlarda sporadik olgular şeklinde ekstraintestinal infeksiyonlara neden olur. Bu vakalar arasında, meningitis, konjunktivitis, korneal ülser, peritonitis, üriner sistem infeksiyonu, endokarditis, balanitis ve vaginitis sayılabilir (Donta ve Haddow, 1978; Travis ve Washington, 1986; Freij, 1987; Bigehan, 1995; Haburchak ve ark., 1996; Jorga ve ark., 1998)

Hareketli *Aeromonas* türlerinin çiftlik hayvanlarında varlığı ilk kez Gray (1987) tarafından ortaya konmuştur. Araştırıcı, sığır, domuz, at ve koyun dışkılarında bu etkenlerin varlığını belirlemiştir. Bu etkenler, sığırlarda abortus, artiritis ve vesikulitis vakalarından primer olarak izole edilmiştir (Wohlgemuth ve ark., 1972; Gray ve ark., 1989; Gray ve ark., 1990; Jindal ve ark., 1993; Moro ve ark., 1999). Keçilerde pnömoni (Alonso ve ark., 1996), köpeklerde septisemi (Pierce ve ark., 1973) ve koyunlarda infeksiyon (Majeed ve ark., 1989; Tayar ve ark., 1994) oluşturdukları bildirilmiştir. Hareketli *Aeromonas* türlerinin, evcil hayvanların barsaklarında normal flora etkeni olarak bulunduğu da açıklanmıştır (Gray ve ark., 1989; Borrell ve ark., 1998).

Hareketli aeromonaslar, kanatlıların sindirim sisteminde bulunmasına karşın bu hayvanlarda ishal, iştahsızlık, kilo kaybının yanı sıra hemorajik septisemi, enteritis, pnömoni, konjunktivitis, iç organlarda hemorajiler, barsak ve midede ülserlere yol açmaktadırlar (Gerlach ve Bitzer, 1971; Panigrahy ve ark., 1981; Ocholli ve Kalejaiye, 1990; Garcia ve ark., 1992).

Kanatlı hayvanlardan ilk aeromonas izolasyonu Mazarkiewicz ve Wachnizk (1969) tarafından bildirilmiştir (Ocholi ve Kalejaiye, 1990). Araştırmacılar *E. coli* infeksiyonu saptanan kazlarda sekonder etken olarak *A. hydrophila*'yı izole etmişlerdir. Gerlach ve Bitzer (1971) Almanya'da 3-16 haftalık ticari hindilerde *A. hydrophila*'ya bağlı hastalık tablosu tanımlamışlardır. Araştırmacılar bu hayvanlarda %10'dan %30'a varan morbidite ve %1-5 mortalite saptamışlardır. Ocholi ve Kalejaiye (1990) hayvanat bahçesinde bulunan tropikal bir kuşun (Groud hornbill) hemorajik septisemi sonucunda ölmesi üzerine yaptıkları bakteriyolojik incelemelerde, iç organlardan saf kültür olarak *A. hydrophila*'yı izole ve identifiye etmişlerdir. Panigrahy ve ark. (1981) ölümlerin görüldüğü bir kuş evinde bulunan 6 ergin kanaryada klinik olarak ishal, tüylerin kabarması, zayıflama ve iştahsızlık saptamışlar ve bu kanaryaların (Toucan ve Coekatiel) organ ve barsaklarından saf beta hemolitik Gram negatif mikroorganizmalar izole etmişler ve bunları *A. hydrophila* olarak tanımlamışlardır. Garcia ve ark. (1992) evde beslenen 3 yaşındaki bir muhabbet kuşunda bilateral konjunktivitis, anoreksi, kaşeksi ve depresyon; Glünder (1988) psittacine ve ispinoz (Finch) kuşlarında belirlediği pnömonileri *A. hydrophila*'ya bağlamıştır.

Birçok araştırmacı aeromonasların hazır gıdalarda, et ve et ürünlerinde bulunduklarını bildirmişlerdir. Hareketli aeromonasların özellikle kırmızı-beyaz et ve ürünlerinde, çiğ süt ve sebzelerde, salam ve sosislerde, pişirilmiş et ve ürünlerinde, balık ve ürünlerinde, salata ve mayonezde bulunabildikleri saptanmıştır (Khalil ve Mansour, 1997; Khurana ve Kumar, 1997; Borrell ve ark., 1998). Majeed ve ark. (1989) kuzu kesimhanesinden aldıkları karaciğer, böbrek, karkas, dışkı ve karkas yıkama sularından ayırdıkları 41 hareketli aeromonas suşunun 27'sini karkaslardan ve 14'ünü dışkılarından izole etmişlerdir. Khurana ve Kumar (1997), Hindistan'ın Haryana kentindeki marketlerden ve tavuk çiftliklerinden 102 adet tavuk yumurtası, 100'er adet tavuk et ve organı, 102'şer adet koyun et ve organı olmak üzere toplam 506 gıda örneğini inceledikleri çalışmalarında, koyun etlerinin %37.5'inden, tavuk organlarının %32.6'sından, tavuk etlerinin

%28'inden, koyun organlarının %24.2'sinden ve tavuk yumurtalarının %0.9'undan *Aeromonas* spp. izole ettiklerini bildirmişlerdir. Son ve ark. (1997) Malezya'da marketlerde satılan balıkların derileri üzerindeki ülserlerden aldıkları 35 örneğin 21'inden *A. hydrophila* izole etmişlerdir.

Konu ile ilgili olarak Türkiye'de yapılan çalışmalarda, Erdem (1995), 205 tavuk organının 70'inden *Aeromonas* türlerini izole ve tanımlamıştır. Bir diğer çalışmada, Akan (1993) incelediği 197 tavuk karkasının 111'inden, 74 tavuk dışkısının 13'ünden, 37 tavuk karkas yıkama suyunun 29'undan, 72 sığır dışkısının 12'sinden ve 5 doğal akarsu örneğinin 3'ünden hareketli *Aeromonas* türlerini izole ettiğini bildirmiştir.

Bakteriyofaj, bakterileri infekte edebilen, infeksiyon sonunda ya bakterileri lize ederek ürettiği ortama yeni bakteriyofaj partiküllerinin salıverilmesine veya bakteriyofajın bir profaj olarak yaşayıp varlığını devam ettirmesine neden olan bakteri virusları olarak tanımlanmaktadır (Primrose ve Day, 1977; West, 1988, p.:49). Bakteriyofajlar hakkında ilk bilgiler 1915 yılında Twort tarafından ortaya konulmuştur. Araştırmacı, buzağların stafilokok infeksiyonuna karşı aşı çalışması sırasında ürettiği etkenlerin üzerinde, bakteri üremesi görülmeyen zonlar oluştuğunu fark ederek, bu zonların mikroskopik muayenesinde biyolojik önemi olmayan şekilsiz granülleri gözlemiştir. Araştırmacı, zonlardan aldıkları materyalleri başka stafilokok kolonilerine transfer ettiğinde bu kolonilerde de aynı şekilde zonlar oluştuğunu saptamıştır. Ayrıca bu kültürlerden buyyonda üremiş başka bir stafilokok kültürüne pasaj yaptıktan kısa bir süre sonra besiyerinin bulanıklılığını kaybettiğini ve buyyonun mikroskopik muayenesinde ortamdaki tüm mikroorganizmaların morfolojilerinin bozulduğunu tespit etmiştir. Twort (1915) bakteriyofajların bu litik özelliğinin sadece bakteri kültürlerinde değil, kültürlerden hazırlanan filtratın da aynı özelliği taşıdığını bildirmiştir.

Bakteriyofaj terimi ilk kez d-Herelle (1917) tarafından kullanılmıştır. Araştırmacı, dizanteriden yeni kurtulan hastalara ait dışkı örneklerinden hazırladığı filtratın, dizanteri etkeni olan *Bacillus dysenteriae*'i tahrip ettiğini

gözlemiştir. Araştırmacı, Twort'un bakteriyofajlarla ilgili pneumokoklarda yaptığı çalışmanın normal bir otolizis olayı olduğunu, kendi bulgularının Twort'un bulgularından farklı olduğunu ifade etmiştir. D-Herelle, bakteriyofaj aktivitesinin bakteriyofaj pasajlanarak arttığını göstermiştir. Araştırmacı ayrıca, bakteriyofajların defalarca pasajlanmasından sonra, litik özelliklerini 10 yıla kadar muhafaza ettiğini de bildirmiştir. Bir bakteriyofajın optimum litik aktivitesinin, konakçı bakterinin optimum üreme ısısında gerçekleştiği de d-Herelle tarafından bildirilmiştir. D-Herelle (1917) çalışmalarının çoğunu *B. dysenteriae* ve buna benzer diğer enterik bakteriler üzerinde yapmış olmasına rağmen, araştırmacının izole ettiği bakteriyofajların birçoğunun daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarla diğer bakterilerde de litik etki gösterdikleri tespit edilmiştir (Frobisher, 1948). Araştırmacı filtratlarda bakteri lizisine neden olan canlı bir faktörü ima ederek, bakteri yiyen tek hücreli canlı anlamına gelen *Protobios bacteriophagum* şeklinde bir isim kullanmıştır.

Bakteriyofajın canlı bir organizma olduğu birçok araştırmacı arasında geniş yankı uyandırmıştır (Kabeshima, 1920; Bordet, 1923; Andrewes ve Elford, 1932; White, 1937; Lyscov ve Moshkovsky, 1969). Bordet (1923) bu fenomeni bakterinin metabolik reaksiyonundan sonra ortaya çıkan litik reagentler tarafından oluştuğunu söylemiştir. Kabeshima (1920), bakteriyofajı bakteride litik özellik taşıyan bir substansın katalize ettiğini, Northrop (1939) ise, bakteriyofaj aktivitesinin enzimler tarafından oluşturulduğunu söylemiştir. Kültür solüsyonlarda sürekli dondurma ve çözündürme sonucu DNA da "cryolysis" oluştuğu bildirilmiştir. "Cryolysis", DNA fragmentinin denatüre olmadan yıpranması olarak tanımlanmış ve elektron mikroskopta gözlendiği bildirilmiştir (Campbell-Renton, 1941; Lyscov ve Moshkovsky, 1969).

Elektronmikroskopla yapılan çalışmalarda, bakteriyofajların morfolojik özellikleri hakkında ayrıntılı bilgiler elde edilmiştir (Mahony, 1968; Birge, 1994, böl.: 6-7; Arda, 1997). Bu amaç için *Escherichia coli*'ye ait bakteriyofajlardan yararlanılmıştır. Bakteriyofajların morfolojileri hayvan

virüslerinin göre oldukça değişik ve komplike olduğu saptanmıştır (Frobisher, 1948). Hayvan virüsleri, genellikle, oval-yuvarlak veya mermi biçiminde olmalarına karşın, bakteriyofajların kuyruklu, kuyuksuz, yuvarlak-oval, filamentöz ve pleomorfik bir biçime sahip oldukları açıklanmıştır (Ackermann ve ark., 1985; Ackermann ve ark., 1994; Arda, 1997). Bradley, bakteriyofajları morfolojik özelliklerine göre 6 gruba ayırmıştır (Arda, 1997). Bunlardan ilk 3 gruba (tip A, B ve C) girenlerin kuyruklu olup, kuyruk uzunluğunun ve yapılarının birbirinden farklı olduğu bildirilmiştir. Tip A bakteriyofajların kuyruklarında, tip B bakteriyofajlarında olmayan, kontraktıl kılıf, kuyruk levhası, kuyruk iğnesi ve kuyruk fibrillerine sahip olduğu saptanmıştır. Tip C bakteriyofajlarının ise kuyukları kısadır. Tip D ve E bakteriyofajlar, kuyuksuz olup, kapsidlerindeki kapsomerlerin büyüklükleri ile birbirinden ayrıldığı gözlenmiştir. Tip F bakteriyofajlar ise filamentöz yapıdadır (Bradley, 1965; Ackermann ve ark., 1985; Merino ve ark., 1990a). Ackermann ise bakteriyofajların morfolojik özelliklerinin yanı sıra diğer özelliklerin de dikkate alarak 4 temel gruba ayırmıştır. Ackermann'ın klasfikasyon şeması Tablo 1.1'de gösterilmiştir (Arda, 1997).

Tablo 1.1: Ackermann'ın bakteriyofaj klasfikasyon (Arda 1997)

Şekil	Nükleik asit	Familya	Cins	Özellik	Örnek	Bradley
1) Kuyruklu fajlar	DNA 2, L	Myoviridae	-	Uzun kuyruk, Kontraktıl	T4	A
		Styloviridae	-	Uzun kuyruk, Nonkontraktıl	Lambda	
		Podoviridae	-	Kısa kuyruk	T7	C
2) Kübik simetrlili fajlar	DNA 1, C 2, C,S 2, L	Microviridae	microvirus	İri kapsomerli, Kompleksi	φx174	
		Corticoviridae	Cortivirus	Kapsid lipid	PM2	
		Tectiviridae	tectivirus	Çift kapsid	PRD1	
	RNA 1,L 2,L, Seg	Leviviridae	levivirus	Pseudokuyruk, Lipid	MS2	E
		Cystoviridae	Cystovirus	Zarflı lipid	θ6	
3) Flamentöz fajlar	DNA 1,C 2, L	Inoviridae	Inovirus	Uzun çomak	Fd	F
		F3 grubu	-	Kısa çomak Zarflı lipid	MNL1 TTV1	
4) Pleomorfik	DNA 2,C,S	Plasmaviridae	Plasmaviruss	Zarflı lipid, kapsid yok	MVL2	

Bakteriyofajların kendi konakçılarında veya duyarlı bakteri hücrelerinde üremeleri ve infeksiyon oluşturmalarının başlıca 4 aşamada

gerçekleştirdiği saptanmıştır (Bradley, 1965; Stewart ve Beswick, 1980). Bu aşamalardan adsorbsiyon ilk basamağı oluşturur. Birinci aşama geri dönüşümlüdür ve bakteriyofaj ile bakteri hücresinin rasgele çarpışmasını kapsar (Stewart ve Beswick, 1980; Arda, 1997). Çarpışma sonunda bakteri hücresinde homolog reseptör varsa dönüşümsüz karakterdeki adsorbsiyonun ikinci aşaması gerçekleşir. Her bakteriyofaj için bakteri hücresi üzerindeki reseptörlerin, birbirinden ayrı olduğu bildirilmiştir. Bakteri yüzeyindeki bakteriyofaj reseptör bölgeler kendi bakteriyofajı ile antijenik bir ilişkiye sahip olduğundan, ancak kendisine bu yönden homolog olan bakteriyofajları adsorbe ettiği saptanmıştır (Blair ve Williams, 1961; Corbel, 1979; Birge, 1994). Yapılan araştırmalarda, bir bakteriyofaja karşı direnç kazanan bakterinin aynı gruptaki bakteriyofajı adsorbe etmediği fakat başka bir bakteriyofajı adsorbe edebileceği gösterilmiştir. Bir bakteri hücresine bir anda adsorbe olabilen bakteriyofajların ortalama miktarına infeksiyon multiplisitesi denir (Stewart ve Beswick, 1980; Birge, 1994 böl.: 6-8). Bakteri yüzeyindeki pilus, teikoik asit, flagella, lipoprotein, protein ve lipopolisakkarid (LPS) molekülleri ve hücre duvarının diğer bazı komponentlerinin bakteriyofaj adsorbsiyon reseptörleri oldukları açıklanmıştır (Bayer, 1968; Tokunaga, 1968; Arda, 1997; Rubres ve ark., 1998).

Bakteri viruslarının konakçılara adsorbe olmalarını takip eden aşama penetrasyon olarak tanımlanmaktadır. Bu aşamada, bakteriyofajın genetik materyali bakteri içine girer. Genetik materyal önce periplasmik boşluğa daha sonra bakteri sitoplazmasına geçer. Penetrasyonda bakteri üzerinde oluşan delikler, bakteri tarafından hemen kapatılır (Stewart ve Beswick, 1980; Birge, 1994, böl.: 6-7; Arda, 1997).

Bakteriyofajların genetik materyallerinin bakteri sitoplazmasına girmesinden olgun bakteriyofajların oluşumuna kadar geçen süre latent dönem olarak adlandırılmaktadır. Bu dönem bakteriyofaj infeksiyonunun 3. aşamasını oluşturur. Bu sürenin 37 °C'de üretilen T- even bakteriyofajlar için 25 dakıkada olduğu hesaplanmıştır (Stewart ve Beswick 1980). Latent dönemin sonunda bakteriyofaj türüne ve bakteri suşuna bağlı olarak değişik

sayıda bakteriyofaj partikülü oluşur. Bir bakteri hücrelerinden meydana gelen olgun bakteriyofaj sayısı patlatma sayısı (*burst size*) olarak tanımlanmaktadır ve bu sayının her bakteri hücresi için ortalama 100 bakteriyofaj partikülü olduğu düşünülmektedir (Stewart ve Beswick 1980). Latent dönemin birinin, hiç bir olgun bakteriyofaj rastlanılmadığı ve latent periodun ilk aşamasını teşkil eden eklips dönemi; diğerinin ise, sentezlenen bakteriyofaj komponentlerinin birleştirilerek olgun bakteriyofaj partiküllerinin meydana getirildiği olgunlaşma dönemi olmak üzere iki aşamadan oluştuğu belirtilmiştir (Birge 1994, böl.: 6-7; Arda, 1997).

Bakteriyofaj infeksiyonunun son aşaması lizistir. Bu dönem, litik bakteriyofajlar için konakçı bakteri hücrenin ölmesi sonunda olgun bakteriyofajların bakteri hücrelerinden dışarı çıktığı dönemdir. Virulent bakteriyofajlarda, bakteri hücresinin lize olmasında ve infeksiyöz bakteriyofaj partiküllerinin dışarı çıkmasında, bakteriyofaj genomunda kodlanan litik enzimlerin rol oynadığı belirtilmiştir (Stewart ve Beswick 1980; Arda, 1997). Nonlitik infeksiyonlarda, bakterilerde lizis meydana getirmeden bakteriyofajlar bakteri hücrelerinde üredikten sonra hücre duvarından dışarı çıktıkları gözlenmiştir (Birge, 1994, p.:199).

Bakteriyofajların duyarlı bakterilerde genellikle 3 tür infeksiyona neden olduğu belirlenmiştir (Watanaba, 1968; Stewart ve Beswick 1980; Young, 1992; Birge, 1994, böl.: 6-8).

1. Litik infeksiyon: Litik veya virulent bakteriyofaj, kendisine duyarlı konakçı suşun katı besiyerindeki kolonileri üzerinde üreyerek, belli bir süre sonra, çapları, şekli ve görünümü, bakteriyofaj ve konakçı türüne göre değişmek üzere gözle görülebilecek büyüklükte plakları meydana getirir. Plakların sayılması ile orijinal süspansiyondaki plak oluşturan infeksiyöz bakteriyofaj partikül sayısının (*pfu*) hesaplandığı belirtilmiştir. Sıvı ortamda üretilen bakteri kültürü için bakteriyofaj infektivitesi besiyerinin berraklaşması ile anlaşılır (Dougherty ve Lambart, 1950; Stewart ve Beswick, 1980; Birge, 1994, p.: 168).

2. Nonlitik infeksiyon: Temperate bakteriyofajlarda görülen bu tür

infeksiyonda, bakteriyofajlar hücreler içinde üremesine ve dışarı çıkmalarına karşın, konakçının beslenme ve çoğalmasında herhangi bir bozukluk gözlenmez (Mahony, 1968; Birge, 1994, p.: 199; Arda, 1997). Flamentöz bakteriyofajlardan M13 ve fd bakteriyofajları bu tarz infeksiyona sahiptirler (Birge, 1994, chapter.: 7; Arda, 1997). Bir kısım bakteriyofajların konakçı sitoplasmasında bulunmasına karşın bağımsız bir replikasyon karakterinde olmadığı, ancak konakçısının her bölünmesinde bakteriyofajın da replike olarak bir kopyasının kardeş hücreye aktarıldığı saptanmıştır (Birge, 1994, p.: 230; Arda, 1997).

3. Lizojenik infeksiyon: Bazı bakteriyofajlar, konakçının içine girdikten sonra bakteriyofaj DNA'sı konakçının genomu ile birleşir ve onun bir devamı haline gelir. Bu tarzda yaşayan bakteriyofaj DNA'sına profaj ve konakçı hücrelerine lizojen adı verilmektedir. Profajların bazı koşullar (UV ışınlarına maruz kalması, mitomisin ile muamele vs) altında, üzerinde bulunduğu konakçının genomundan ayrılarak virulent form kazandığı bildirilmiştir (Birge, 1994, chapter.: 7; Arda, 1997).

Bakteriyofajların bakterilere değişik özellikler kazandırdığı saptanmıştır (Kada, 1962; Colon ve ark., 1970; Stewart ve Beswick, 1980; Young, 1992). *Corynebacterium diphtheriae*'nın özel bakteriyofajı ve *Clostridium botulinum* tip-A suşunun profajı ile lizojenize edildiklerinde toksijenik hale geldikleri bildirilmiştir (Stewart ve Beswick, 1980; Arda, 1997). *C. botulinum* tip-C suşuna ait sporların 70 °C'de ısıtıldığında lizojenik ve aynı zamanda toksijenik özelliğini kaybettiğini ancak bu özelliği bakteriyofaj ile muamele sonunda tekrar kazandığı açıklanmıştır. Ayrıca lizojenik *C. botulinum* tip-C suşunun (toksijenik tip-C'ye sahip) ikinci bir bakteriyofaj ile infekte edildiğinde toksijenik tip-D'ye sahip suşa dönüştüğü ve üçüncü profajı ile infekte edildiğinde ise *Clostridium novyi* tip-A'nın meydana geldiği açıklanmıştır (Stewart ve Beswick, 1980).

Bakteriyofajların bakterileri öldürme yeteneklerinden yararlanılmak suretiyle hastalıkların profilaksi ve sağaltımında kullanılabilme olanakları araştırılmış, ancak yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda anlamlı bir

sonuç elde edilemediği bildirilmiştir (Frobisher, 1948; Sandiford, 1970; Arda, 1997; Barrow ve ark., 1998). Yanıklar sonucu oluşan infeksiyonlara karşı profilaktik olarak Stafilokok bakteriyofajları kullanılmış, ancak denemeler boyunca tiplendirilemeyen ve bakteriyofaja karşı duyarlılıkları azalmış Stafilokokların sayısının arttığı gözlenmiştir (Lowbury, 1970; Sandiford, 1970). Dougherty ve Lambart (1950), bakteriyofaj aktivitesinin büyük ölçüde irin ve diğer vücut sıvıları tarafından yok edildiğini ifade etmiştir.

Bakteriyofajlar, genel ve özel transdüksiyondaki rollerinden yararlanılarak genetik mühendislik alanında kullanılmaktadır (Stewart ve Beswick, 1980; Birge, 1994, p.: 7; Arda, 1997). Birge (1994, p.:7), genetik manipülasyonlarda istenilen bakteri kültürünün seçilmesinde antibiyotik ve üreme faktörlerin yanı sıra bakteriyofajların da kullanılabileceğini bildirmiştir.

Peynir, yoğurt ve genetik uygulamalar gibi bakteri kültürüne ihtiyaç duyulan teknolojilerde, bakteriyofajların litik özellikleri kullanılarak saf bakteri kültürü elde edilmektedir. Araştırmacılar bakteriyofajın litik özelliğini kullanarak besiyerinde istenmeyen bakteri türlerinin ortamdan duyarlı oldukları bakteriyofajlar ile uzaklaştırılabileceğini açıklamışlardır (Dougherty ve Lambart, 1950; Birge, 1994, p.:7).

Bakteriyofaj duyarlılık testi, bakteri sınıflandırılmasında sensitivitesi yüksek olan konvansiyonel biyolojik yöntemlerdendir. Bu test, Stafilokokların gruplandırılması, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *Salmonella/Shigella* türlerinin gruplandırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Towner ve Cockayne, 1993; Mee-Marquet ve ark., 1997). Bakteriyofajla tiplendirilen bakteri listesi Tablo 1.2'de sunulmuştur (Towner ve Cockayne, 1993).

Bakteriyofaj tiplendirmesinin bazı dezavantajlarının olduğu bildirilmiştir (Meitert ve Meitert, 1978; Towner ve Cockayne, 1993). Bakteriyofaj duyarlılık testi çevresel koşullardan etkilendiğinden testi yaparken incelenen konakçı kültürünün ve test ortamının, test için uygun duruma getirildiğinden emin olunmalıdır. Yapılan araştırmada bazı aeromonas bakterifajlarının sadece 30 °C'de bazılarının ise sadece 37 °C'de çalıştığı gösterilmiştir (Chow ve Rouf, 1983; Towner ve Cockayne,

1993). Bazı bakterilerin, çok az sayıdaki bakteriyofaj tarafından lize edilirken bazılarının birçok bakteriyofaj tarafından lize edildiği ve bazı bakteriyofajların ise geniş litik spektruma, bazılarının da dar litik spektruma sahip olduğu saptanmıştır (Chow ve Rouf, 1983; Ackermann ve ark., 1985). Bouvet (1991), *Acinetobacter* için oluşturulan bakteriyofaj tiplendirme şemasının ülkeden ülkeye değiştiğini bildirmiştir. Lizojenik konversiyon, profaj kaybı ve R plasmidinin kazanılması veya kaybedilmesi gibi bazı genetik mekanizmalar oluştuğunda bakteriyofaj tiplendirme yönteminin de değiştiği açıklanmıştır. Ayrıca elde edilen bakteriyofajların aktivitelerinde değişiklik olmadan tutulabilmeleri için duyarlı konakçılarında sürekli pasaj yapılmalarının uygun olacağı bildirilmiştir (Towner ve Cockayne, 1993). Buna karşın bazı araştırmacılar ise, bakteriyofajın sürekli pasajlanması sonunda bazı özelliklerini kaybedebileceğini ifade etmişlerdir (Frobisher, 1948; Birge, 1994 böl.: 9).

Tablo 1.2 Bakteriyofaj tiplendirme şemalarını geliştirilen mikroorganizmalar (Towner 1993)

Mikroorganizma	Araştırmacı (yıl)
<i>Acinetobacter</i> spp.	Bouvet (1991)
<i>Bacillus</i> spp.	Berkeley et al. (1984)
<i>Brucella</i> spp.	Corbel (1984)
<i>Clostridium difficile</i>	Bacon et al. (1988)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Saragea (1979)
<i>Enterobacter cloacae</i>	Verschraegen et al. (1988)
<i>Erysipelothrix insidiosa</i>	Stoeve (1979)
<i>Escherichia coli</i>	Milch (1978)
<i>Klebsiella</i> spp.	Slopek (1978)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Mclauchlin et al. (1986)
<i>Mycobacterium</i> spp.	Redmond et al. (1979)
<i>Proteus</i> spp.	Bergan (1978b)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bergan (1978a)
<i>Salmonella</i> spp.	Guinee and van Leeuwen (1978)
<i>Shigella</i> spp.	Bergan (1979)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Parker (1972)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Stringer (1984)
<i>Streptococcus faecalis</i>	Smyth et al. (1987)
<i>Vibrio cholerae</i>	Mukerjee (1978)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Bergan (1978c)

Aeromonaslara ait olduğu düşünülen ilk bakteriyofaj 1965 yılında tanımlanmıştır (Bradley, 1965). Bu bakteriyofaj daha sonraki yıllarda

Aeromonas spp olduğu anlaşılan *Acetobacter*'de izole edilmiştir. Daha sonra Paterson (1969), 9 adet *A. salmonicida*'ya ait ve Wiebe (1968), 825 m derinliğindeki deniz suyundan *Aeromonas*lara spesifik psikrofilik ve halofilik bakteriyofajı izole ettiklerini birdirmişlerdir. Popoff (1971) bir balıkçılık işletmesinden, lağım ve yüzeysel sulardan *aeromonas*lara ait bakteriyofaj izole etmiş ve lizojenik bakterileri serolojik olarak gruplandırmıştır.

Hareketli *Aeromonas*lara ait bakteriyofajlar Chow ve Rouf (1983) tarafından izole edilmiştir. Araştırmacılar lağım suyundan izole ettikleri iki bakteriyofajdan birinin (Aeh2), incelenen *aeromonas* fajlarının en büyüğü olduğunu vurgulayarak, bakteriyofajın konakçı bakteri kolonisi üzerinde turbid plaklar oluşturduğunu bildirmişlerdir. Her iki bakteriyofajın formole karşı duyarlı, 60 °C'de 1 saat ısıtıldığında, pH 3 ve pH 11 de tamamen inaktive olduğu saptanmıştır. Aeh1 bakteriyofajının 22 °C'de 8 saat, pH'sı 10 olan solusyona bırakılması sonucunda infektivitesinin 5 kat arttığı gözlenmiştir. Bakteriyofaj Aeh1 ve Aeh2 serolojik olarak birbirinden farklı olup, latent periyotları sırasıyla 39 ve 52 dakika olarak tespit edilmiştir. Aeh1 ortalama burst sayısının 17 (pfu) olurken Aeh2'nin 97 (pfu) olduğu saptanmıştır. Bakteriyofaj Aeh1, incelenen 22 adet *A. hydrophila* suşunun 13'ünü, Aeh2 ise, sadece üretildiği orijinal *A. hydrophila* suşunu lize etmiştir. Ayrıca Aeh1'in *A. hydrophila* suşlarını hem 37 °C'de hem de daha düşük ısılarda lize ettiği gözlenmiştir. Her iki bakteriyofaj da, çalışmada kullanılan 2 *Plesiomonas shigelloides* suşunu lize edememiştir (Chow ve Rouf, 1983).

Ackermann ve ark. (1985), *aeromonas*lara ait 34 bakteriyofajı elektronmikroskopta incelemiş ve bakteriyofajların 33'ünün kontraktıl kuyruğa sahip olduğunu ve Myoviridae familyasında yer aldığını, 1 bakteriyofajın ise kısa kuyruğa sahip olduğunu ve Podoviridae grubundan olduğunu bildirmiştir. Bakteriyofajların çoğunun morfolojisinin, enterobakterilere ait T2, T7, P1 ve P2 bakteriyofajlarına benzediği gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre araştırmacılar *Aeromonas*lar ve enterobakteriler arasında filogenetik ilişki olduğu bildirmişlerdir. İncelenen bakteriyofajların başlarının uzun olduğu da gözlenmiştir. Araştırmacı, bu

sonucu göre aeromonas bakteriyofajları ile T-even bakteriyofajlarının ortak bir atadan geldiklerini, başlarının uzaması ve kısalması sonucunda birbirinden ayrıldığını iddia etmiştir. Araştırmacı, incelediği aeromonas bakteriyofajlarından T-even bakteriyofajlarına benzeyen 1 bakteriyofajın çok sayıda dev başlı ve çok kuyruklu anormal bakteriyofaj partikülleri oluşturduğunu göstermiştir. Merino ve ark. (1990a), tatlı su örneklerinden, çok sayıda *A. hydrophila* ve *A. sobria* suşuna ait kolonilerde plak oluşturan, Enterobacteriaceae ve Vibrionlarda plak oluşturmeyen bakteriyofaj Pm2'i izole ettiğini bildirmiştir. İzole edilen bakteriyofajın, polihedral baş ve kontraktıl kuyruğa sahip olduğu ve konakçı bakterinin LPS reseptörlerini tanıdığı açıklanmıştır.

Diğer bakterilerde olduğu gibi Aeromonasların hücre yüzeyindeki bakteriyofaj reseptörleri incelenmiştir. Merino ve ark. (1990b), bakteriyofaj 18'e duyarlı *A. hydrophila* suşunu incelemiş ve bu bakteride bakteriyofaj reseptörünün LPS'nin düşük MA kısmında olduğunu söylemiştir. Bu bakteriyofaja dirençli olan mutant *A. hydrophila* suşlarında LPS O antijeninin olmadığı ve hücre duvarının LPS iskeletinde bazı değişiklikler olduğu saptanmıştır. Ayrıca konakçı Aeromonas suşlarının polar flagellasına adsorbe olan bakteriyofaj Pm3'ünün izole edildiği bildirilmiştir.

Flint (1996) yaptığı çalışmada, çevresel kaynaklardan izole edilen aeromonas suşlarına ve standart *A. hydrophila*, *A. sobria* ve *A. caviae* suşlarına ait bakteriyofajlar izole ettiğini bildirmiştir. Her 3 türe ait bakteriyofajların izole edildiği lağım sularından aynı zamanda çok sayıda konakçı bakteri de izole edilmiştir. İncelenen örneklerin çoğunda *A. hydrophila*'ya ait bakteriyofajlar izole edilirken *A. caviae* bakteriyofajlarının sadece lağım ve kontamine su örneklerinden izole edildiği açıklanmıştır.

Bu çalışmada sığır, koyun, kanatlı barsak içeriklerinden, atık su ve doğal akarsulardan hareketli Aeromonas türlerine ait bakteriyofajların izole edilmesi, izole edilen bakteriyofajların litik spektrumlarının değerlendirilmesi ve bakteriyofajların hareketli Aeromonasların identifikasyonunda kullanılabilirliğinin ortaya konulması amaçlanmıştır,

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Örneklerin toplanması

Bu çalışmada, hareketli Aeromonas türlerine ait bakteriyofajların izolasyonu amacıyla çeşitli kaynaklardan materyaller toplandı. İncelenen örneklerin kaynakları ve sayıları Tablo 2.1.de sunulmuştur. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına muayene için getirilen tavuk ve civcivlerden 39 adet, süs kuşlarından 5 adet, özel sektöre ait bir mezbahada kesilen koyunlardan 16 adet ve sığırlardan 10 adet barsak içeriği ve 12 adet (6'sı arıtmadan önce ve 6'sı arıtmadan sonra olmak üzere) karkas yıkama suyu, Ankara ili çevresinde bulunan derelerden 5, kanalizasyonlardan 3 atık su örneği olmak üzere toplam 90 materyal toplandı. Barsak örnekleri, barsaklar iki ucundan ligatüre edildikten sonra ligatürün dış bölgesinden kesilerek alındı ve steril torbalara aktarıldı. Su örnekleri ise steril şişelerle toplandı ve ağızları steril pamuk ile kapatıldı. Toplanan tüm örnekler soğuk zincirde laboratuvara ulaştırıldı ve 2 saat içinde incelemeye alındı.

2.2. Besiyerleri

2.2.1. Alkali Peptonlu Su (APS): Bu besiyeri, hareketli Aeromonas türlerinin izolasyonunda ön zenginleştirme amacıyla kullanıldı. Bu amaçla 8 g Pepton (Difco) 1000 ml distile suda eritildi ve %10'luk NaOH ile pH 8,5' e ayarlandı. Besiyeri 121 °C'de 15 dk sterilize edildi. Besiyerinin ısısı 40-50 °C'ye düşürüldükten sonra içine 20 µg/ml miktarında ampisilin ilave edilerek iyice karıştırıldı ve 10 ml miktarında steril tüplere taksim edildi.

Tablo 2.1. İncelenen materyallerin kaynakları ve sayıları

Barsak İçeriği				Su			
Tavuk	Koyun	Sığır	Süs kuşu	Karkas yıkama	Doğal	Atık	Toplam
39	16	10	5	12	5	3	90

2.2.2. Ampisilinli Kanlı Agar (AKA): Hareketli *Aeromonas* türlerinin izolasyonu amacıyla kullanıldı. Blood Agar Base No 2 (Oxoid) 40 g/l olacak şekilde distile suda eritildi ve pH 7,4'e ayarlandı. Otoklavda 121 °C'de 15 dk sterilize edildikten sonra 45 °C'ye soğutuldu ve 20 µg/ml konsantrasyonda ampisilin ve %5 steril defibrine koyun kanı ilave edilerek steril petri kutularına döküldü. Hazırlanan besiyerleri 37 °C'de 24 saat bekletilerek sterilite kontrolü yapıldı. Bu besiyerleri +4 °C'de saklanarak en fazla bir hafta içinde kullanıldı.

2.2.3. Nutrient Buyyon (NB): *Aeromonas* bakteriyofajlarının izolasyonunda ve standardizasyonunda kullanıldı. Ayrıca bu besiyerinden *Aeromonas* suşlarının biyokimyasal aktivitelerinin saptanmasında yararlanıldı. 1 l distile su içinde 8 g pepton (Oxoid), 8 g NaCl (Oxoid), 3 g yeast extract (Oxoid) ve 3 g beef extract (Oxoid) olacak şekilde eritildi, buyyonun pH'sı 7,4'e ayarlandı ve 250 ml'lik erlenmayerlere 100 ml miktarlarında taksim edildikten sonra otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi.

2.2.4. Diğer Besiyerleri: Hareketli *Aeromonas* türlerinin üretilmesinde, pasajlarının yapılmasında ve bakteriyofaj duyarlılık testinde Nutrient agar (NA) ve suşların saklanması için %20 gliserinli NB'den yararlanıldı. Hareketli *Aeromonas* suşlarının identifikasyonunda Eskülin agar (Oxoid), Tripple Sugar Iron Agar (Oxoid), Oksidasyon-Fermentasyon besiyeri (Merck) ve Voges-Proskauer (VP) buyyon (Merck) kullanıldı.

2.3. Tampon sıvılar

2.3.1. Fizyolojik Tuzlu Su (FTS): Dışkıların süspanse edilmesi amacıyla ve bakteriyofajların lizik spektrumunun belirlenmesi sırasında negatif kontrol olarak pH'si 7,2 olan %0,85 NaCl eriyiği kullanıldı.

2.3.2. Ringer solusyonu: Çalışmada elde edilen bakteriyofajların RTD'lerini belirlemek amacıyla sulandırma solusyonu olarak kullanıldı. Solusyon 1 l distile suda 9 g NaCl, 0,22 g CaCl ve 0,42 g KCl eritilerek hazırlandı ve otoklavda sterilize edildikten sonra kullanıldı (West, 1988, p.:537).

2.4. Hareketli Aeromonas suşları

Çalışmada toplam 66 hareketli Aeromonas suşu kullanıldı. Bu suşlarının 15'i çalışmada kullanılan materyallerden izole edilirken, 51'i Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan sağlandı. Kültür koleksiyonundan sağlanan bu suşların 3'ü *A. hydrophila* (10, 57 ve Her 1210 (ATCC 7966)), 7'si *Aeromonas sobria* (11, 17, 18, 21, 28, 34 ve 52), 11'i *Aeromonas caviae* (4, 6, 9, 32, 43, 49, 50, 55, 58 ve 59), 5'i *Aeromonas schubertii* (12, 16, 35, 36, ve 37) ve 25'i *Aeromonas jandaei* (1, 2, 3, 5, 7, 8, 13, 15, 20, 22, 23, 24, 26, 29, 30, 31, 33, 38, 44, 45, 46, 47, 54, 56 ve 60) türlerine ait suşlardı.

2.5. Hareketli Aeromonas türlerine ait bakteriyofajların izolasyonunda kullanılan konakçı suşları

Bu suşların belirlenmesi amacıyla, kültür koleksiyonundan sağlanan suşların, sodiumdodesilsüfat-poliakrilamid jel elektroferizi (SDS-PAGE) ile tüm hücre protein profilleri incelendi. Birbirinden farklı tüm hücre protein patternlerine sahip suşlardan ikisi, bakteriyofaj izolasyonunda kullanılmak için seçildi. Bu çalışma sonucunda *A. hydrophila* 10 ve 57, *A. sobria* 18 ve 28, *A. caviae* 32 ve 50, *A. jandaei* 22 ve 23, *A. schubertii* 35 ve 37 suşları, konakçı olarak belirlendi. Ayrıca örneklerden izole edilen her türe ait bir suş da konakçı olarak bakteriyofaj izolasyonunda kullanıldı.

2.6. Hareketli Aeromonas suşlarının izolasyon ve identifikasyonu

Toplanan barsak örnekleri laboratuvarında aseptik koşullarda steril boş bir petri içine aktarıldı. Yaklaşık 1g içerik alınarak 10 ml APS'e konuldu ve homojenize edildikten sonra bir gece 37°C de inkubasyona bırakıldı. Bu süre sonunda APS'den bir öze dolusu alınarak Ampisilin Kanlı agara ekim yapıldı ve petriler 37°C de 24 saat inkübe edildi. Ayrıca bakteriyofaj izolasyonu için ilk filtrasyon işlemi kullanılan membran filtre APS'e konularak bir gece 37°C de inkubasyona bırakıldı. Bu süre sonunda besiyerinden öze ile alınan sıvı AKA'a ekildi. Besiyerleri 37 °C'de 24 saat inkübe edildi ve üreyen koloniler hareketli Aeromonas türleri yönünden değerlendirildi (*Schubertii*,

1974; Popoff, 1984; Carnahan ve ark. 1991a).

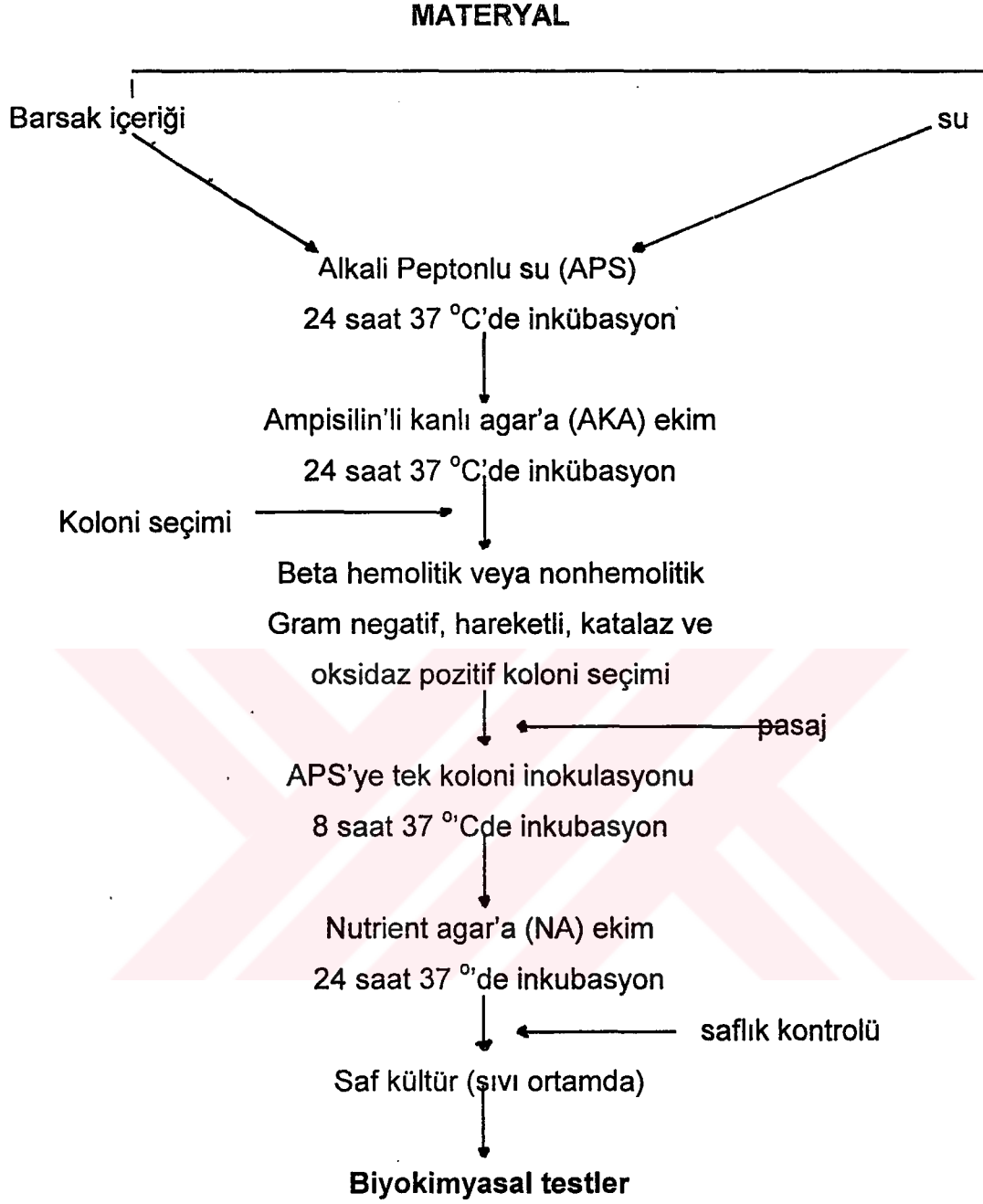
Su örnekleri milipor filtreden (0,2 µm) yaklaşık 100 ml süzöldükten sonra, membran filtre 10 ml APS içeren tüplere aktarıldı ve 37°C de bir gece bekletildi. Bu sürenin sonunda AKA'a öze yardımı ile ekim yapıldı ve ekim yapılan besiyerleri 37°C de 24 saat inkübe edildi.

İnkubasyon sonrasında AKA'da üreyen mikroorganizmaların morfolojileri hareketli Aeromonas'lar yönünden incelendi. Şüpheli koloniler seçilerek Gram yöntemi ile boyandı. Gram negatif çomakların kolonilerinden APS'e pasajlanarak 8 saat bekletildikten sonra NA'a ekildi. NA'da üreyen koloniler NB'ye ekildi ve 37 °C'de 1 gece inkübe edildi. Sıvı besiyerinde üreme özelliği incelenerek lam-lamel arası hareket muayenesi yapıldı ve Gram yöntemi ile boyanarak saflık kontrolü yapıldı. Hareketli Gram negatif çomaklar, biyokimyasal özellikleri incelenerek identifiye edildi (Carnahan ve ark., 1991a). Identifiye edilen kültürler, daha sonra izole edilen bakteriyofajların litik spektrumunu saptamak amacıyla -70 °C'de gliserinli NB' de saklandı.

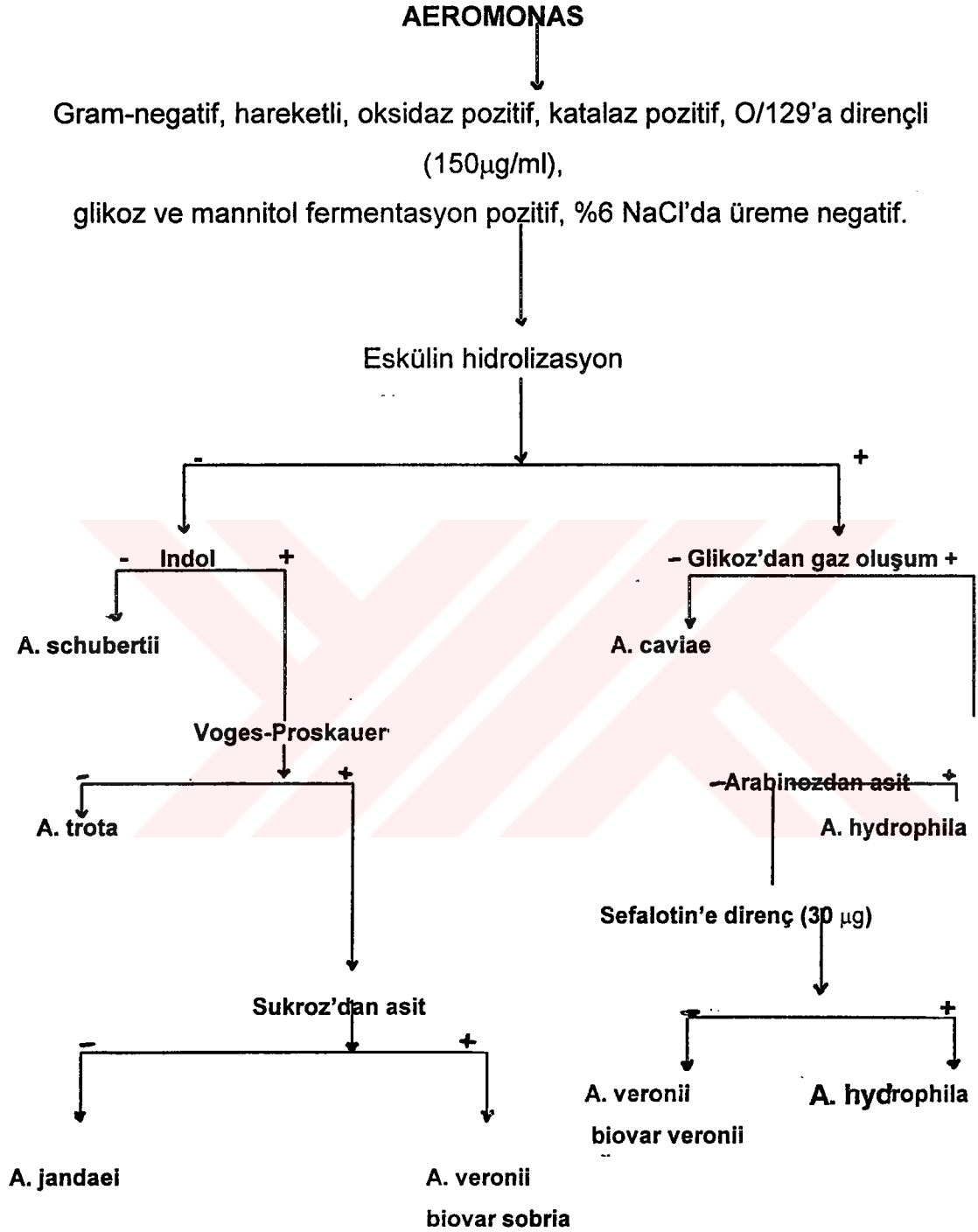
Ayrıca, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan sağlanan suşlar ve A. hydrophila Her 1210 (ATCC 7966) suşu, çalışmada kullanılmadan önce üreme ve biyokimyasal özellikleri yeniden test edildi .

Hareketli aeromonasların izolasyon şeması Tablo 2.2. ve tür düzeyinde identifikasyonunda kullanılan testler Tablo 2.3..de sunulmuştur.

Tablo 2.2. Hareketli Aeromonas türlerinin İzolasyonu



Tablo 2.3. Hareketli Aeromonasların Identifikasyonu (Carnahan ve ark., 1991a)



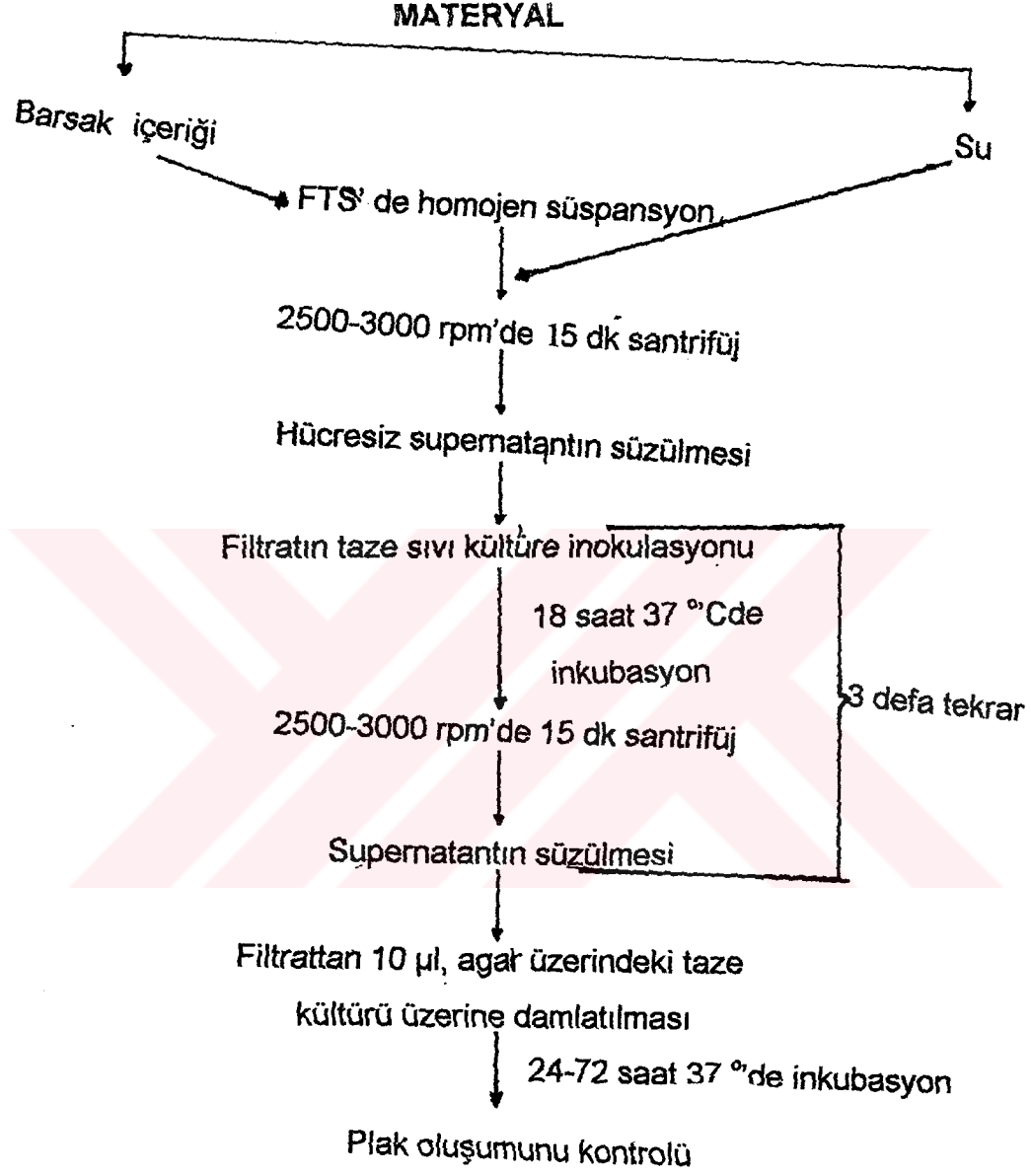
2.7. Hareketli aeromonas bakteriyofajlarının izolasyonu

Ligatüre edilmiş barsaklar laboratuvarında aseptik koşullarda petri kutularına alınıp, bakteri izolasyonu amacıyla ekimler yapıldıktan sonra, bir ucu açılarak barsak içeriği steril FTS ile süspanse edildi. Süspansiyon daha sonra 250 ml'lik erlenmayerlere aktarıldı ve iyice karıştırıldı. Bu karışım daha sonra santrifüj tüplerine alınarak 2500-3000 devirde 20 dk santrifüj edildi. Çalışmada kullanılan su örnekleri de laboratuvara ulaştırıldıktan sonra santrifüj tüplerine alındı ve dışkı örneklerinde olduğu gibi santrifüj edildi. Bu aşamadan sonraki işlemler tüm örnekler için aynı şekilde yapıldı. Santrifüj işleminden sonra alınan tüm üst sıvılar milipor filtreden (0,2 µm çapında) süzüldü. Daha sonra 100 ml buyyonda yeni üremiş (18-24 saatlik kültür) konakçı Aeromonas kültürleri (*A. hydrophila* 10, 57; *A. sobria* 18, 28; *A. caviae* 32, 50; *A. schubertii* 35, 37 ve *A. jandaei* 22, 23) üzerine 10 ml filtrat ilave edildi ve erlenmayerler 37°C de bir gece inkubasyona bırakıldı. Bu süre sonunda inkübe edilen kültür-filtrat karışımı santrifüj edildi, üst sıvı filtreden geçirildi ve taze kültürler üzerine 10 ml olarak ilave edildi. Bu işlem tüm örnekler için 3 kez tekrarlandı (Flint, 1996). Ayrıca, seçilen konakçı suşlarının dışında örneklerden izole edilen hareketli Aeromonas suşları üzerinde de aynı işlemler yapıldı. Son filtrattan ekimler yapılarak sterilite kontrolü gerçekleştirildi. Steril filtratlardan, konakçı suşlarının NA'daki yayma kültürü üzerine 10 µl damlatıldı ve 37 °C'de 48-72 saat inkube edildi. Inkubasyon sonunda, filtratın damlatıldığı bölgede plak oluşumu bakteriyofaj yönünden pozitif olarak değerlendirdi ve daha sonra RTD'sini ve litik spektrumunu belirlemek amacıyla, filtrat -20°C'de muhafaza edildi. Bakteriyofaj izolasyon ve standardizasyonunda izlenen aşamalar Tablo 2.4.de sunulmuştur.

İzole edilen bakteriyofajların standardizasyonu, zenginleştirme yöntemiyle yapıldı (Flint, 1996). Lizis görülen fakat tam olmayan filtratlar yeniden zenginleştirme işlemine tabii tutuldu ve aynı konakçı(lar) üzerinde test edildi. Bu işlem sonunda lizis oluşup oluşmamasına göre sonuçlar değerlendirildi. Lizis görülen filtratlarda bakteriyofaj pozitif, görülmeyenler ise negatif olarak kaydedildi. Pozitif olarak belirlenen tüm örnekler, kültür koleksiyonundan sağlanan 51 adet ve çalışmada izole edilen 15 hareketli

Aeromonas suşu üzerinde test edildi ve bakteriyofajların litik spektrumu belirlendi.

Tablo 2.4. Bakteriyofaj İzolasyon ve Standardizasyonu (Flint, 1996)



2.8. Bakteriyofajların Rutin Test Dilusyonlarının (RTD) saptanması

RTD'leri saptamak amacıyla kendi konakçılarında aktive edilen bakteriyofajlar, Ringer çözeltisi ile iki katlı (1/2, 1/4, 1/8 ...1/256) sulandırıldı. Daha sonra petri kutusundaki agar üzerine yayılan ve kurutulan taze konakçı suşu üzerine kültür filtratları direkt ve filtratların her bir dilusyonundan ayrı ayrı 10 µl olarak damlatıldı. Besiyerleri 37 °C'de 24-72 saat inkübe edildi ve petek tarzındaki görünümün belirlendiği sulandırma 1 RTD olarak kabul edildi. Tüm işlemlerde kontrol olarak steril FTS kullanıldı (Flint, 1996).

3. BULGULAR

3.1.Hareketli aeromonas suşlarının izolasyon ve identifikasyon bulguları

Çeşitli kaynaklardan toplanan 90 adet örnekten izole ve identifiye edilen hareketli Aeromonas türlerinin sayıları ve oranları Tablo 3.1.de sunulmuştur. Toplam 90 adet materyalin 15'inden (%16,7) hareketli Aeromonas türleri izole edildi. İzole edilen suşların 5'i (%33,3) *A. hydrophila*, 4'ü (%26,7) *A. schubertii*, 3'ü (%20) *A. jandaei*, 2'si (%13,3) *A. sobria* ve 1'i (%6,7) *A. caviae* olarak ayrıldı. En yüksek oranda izolasyon atık sulardan (%100), en düşük izolasyon ise sığır barsak içeriğinden (%10) gerçekleştirildi.

Tablo 3.1. Materyallere göre çeşitli kaynaklardan Hareketli Aeromonas suşlarının izolasyon oranları

Kaynak		Materyal sayısı	Izolasyonu (%)
Dışkı	Tavuk	39	4 (10,3)
	Koyun	16	2 (12,5)
	Sığır	10	1 (10)
	Süs kuşu	5	1 (20)
Toplam		70	8 (11,4)
Su	Karkas yıkama su	12	3 (25)
	Doğal su	5	1 (20)
	Atık su	3	3 (100)
Toplam		20	7 (35)
Toplam		90	15 (16,7)

İncelenen 70 adet dışkı örneğinden toplam 8 adet hareketli Aeromonas izolasyonu yapıldı. Kanatlı hayvanlara ait 39 adet barsak içeriklerinden 4 (%10,3), koyunlara ait 16 barsak içeriğinden 2 (%12,5), 10 adet sığır barsak içeriğinden 1 (%10) ve süs kuşlarına ait 5 adet dışkı örneğinden 1 (%20) izolasyon yapıldı. İzole edilen suşların 3'ü (%37,5) *A.*

hydrophila, 3'ü (%37,5) *A. schubertii*, 1'i (%12,5) *A. jandaei* ve 1'i (%12,5) *A. sobria* olarak ayrıldı. İncelenen su örneklerinden toplam 7 (%35) izolasyon yapıldı. Karkas yıkama sularından arıtmadan önce alınan 6 örneğin 2'sinden (%33,3), arıtmadan sonra alınan 6 örneğin 1'inden (%16,7), 5 doğal akarsu örneğinin 1'inden (%20) ve 3 atık su örneğinin 3'ünden (%100) hareketli aeromonas izolasyonu yapıldı. Bu suşlardan 2'si (%28,6) *A. hydrophila*, 2'si (%28,6) *A. jandaei*, 1'i (%14,3) *A. sobria*, 1'i (%14,3) *A. caviae* ve 1'i (%14,3) *A. schubertii* olarak identifiye edildi.

İzole edilen hareketli aeromonas suşları izole edildiği kaynağa göre adlandırıldı. Buna göre *A. hydrophila* suşlar Hk1, Hmks, hkyö, Hkan ve Hp; *A. sobria* suşlar smk ve skyö; *A. jandaei* suşlar JK, Jp1 ve Jp2; *A. schubertii* suşlar sck, scAt, scmk ve sckys ve *A. caviae* suşu ise CD olarak adlandırıldı. Bu isolatların türlere göre dağılımı Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Materyallere göre çeşitli kaynaklardan izole edilen suşların türlere dağılımı

Kaynak		İzole edilen türleri					
		A. hyd.	A. sob.	A. cav.	A. sch.	A. jan.	Toplam
Dışkı	Tavuk	1	-	-	2	1	4
	Koyun	-	1	-	1	-	2
	Sığır	1	-	-	-	-	1
	Süs kuşu	1	-	-	-	-	1
Su	Karkas yıkama su	1	1	-	1	-	3
	Doğal su	-	-	1	-	-	1
	Atık su	1	-	-	-	2	3
Toplam		5	2	1	4	3	15
(%)		(33.33)	(13.33)	(6.67)	(26.67)	(20.0)	(100)

A. hyd. = *A. hydrophila* A. sob. = *A. sobria* A. cav = *A. caviae* A. sch. = *A. schubertii* A. jan. = *A. jandaei*

3.2. Bakteriyofaj izolasyon bulguları

Çeşitli kaynaklardan toplanan 90 adet materyalden izole edilen hareketli *Aeromonas* suşlarına ait bakteriyofajların sayı ve oranları Tablo 3.3.'de gösterilmiştir. İncelenen 90 adet örnekten toplam 30 (%33,3) bakteriyofaj izole edildi. En yüksek izolasyon oranı atık su örneklerinden (%100, 3 örnekten 5 adet bakteriyofaj izole edildi) elde edildi. Süs kuşlarından alınan barsak içeriği ve doğal su örneklerinden bakteriyofaj izole edilemedi. Tavuk barsak içeriklerinden 16 (%41) adet bakteriyofaj, koyun barsak içeriklerinden 4 (%25) ve sığır barsak içeriklerinden ise 2 (%20) adet bakteriyofaj izole edildi. Arıtmadan önceki karkas yıkama suyunda 3 adet bakteriyofaj saptanırken, arıtma sonrasındaki karkas yıkama suyunda bakteriyofaj saptanamadı.

Tablo 3.3. Çeşitli kaynaklardan izole edilen bakteriyofajların sayı ve oranları

Kaynak		Materyal sayısı	İzolasyonu (%)
Dışkı	Tavuk	39	16 (41)
	Koyun	16	4 (25)
	Sığır	10	2 (20)
	Süs kuşu	5	0
Toplam		70	22 (31,4)
Su	Karkas yıkama su	12	3 (25)
	Doğal su	5	0
	Atık su	3	5 (100)
Toplam		20	8 (40)
Toplam		90	30 (33,3)

Tavuk barsak içeriklerinden yapılan izolasyon çalışmalarında elde edilen hareketli *Aeromonas* suşlarına ait 16 (%53,3) adet bakteriyofajın 7'si (%43,8) *A. hydrophila*'da, 4'ü (%25) *A. sobria*'da, 3'ü (%18,8) *A. schubertii*'de ve 2'si (%12,5) *A. jandaei*'de üretildi. Atık sularından izole edilen 5 adet bakteriyofajın 2'si *A. sobria*'da, 1'i *A. hydrophila*'da, 1'i *A. schubertii*'de ve 1'i

A. jandaei'de izole edildi. Karkas yıkama suyundan izole edilen 3 bakteriyofajın 1'i A. hydrophila'da, 1'i A. sobria'da ve 1'i A. schubertii'de üretildi. Koyun ve sığır barsaklarından izole edilen toplam 6 (%23,1) adet bakteriyofajın 1'i (%16,7) A. hydrophila'da, 2'si (%33,3) A. sobria'da, 2'si (%33,3) A. schubertii'de ve 1'i (%16,7) A. jandaei'de izole edildi. Çalışmada A. caviae'da herhangi bir bakteriyofaj üretilmedi. İzole edilen bakteriyofajlar, materyallere ve türlere göre dağılımları Tablo 3.4.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.4. Materyallere göre izole edilen bakteriyofajların türlere dağılımı

Kaynak		İzole edilen bakteriyofajlarının Aeromonas türlerine dağılımı					
		A. hyd.	A. sob.	A. cav.	A. sch.	A. jan.	Toplam
Dışkı	Tavuk	7	4	-	3	2	16
	Koyun	-	2	-	1	1	4
	Sığır	1	-	-	1	-	2
	Süs kuşu	-	-	-	-	-	-
Su	Karkas yıkama su	1	1	-	1	-	3
	Doğal su	-	-	-	-	-	-
	Atık su	1	2	-	1	1	5
Toplam		10	9	-	7	4	30
(%)		(33,3)	(30)	-	(23,3)	(13,3)	(100)

A. hyd. = A. hydrophila A. sob. = A. sobria A. cav = A. caviae A. sch. = A. schubertii A. jan. = A. jandaei

Çalışmada izole edilen bakteriyofajlar da izole edildiği kaynak ve konakçı bakterilere göre farklı kodlarla isimlendirildi. Bu bakteriyofajlardan A. hydrophila konakçısında izole edilenler P₁₀, K₁₀, At₁₀, K2₁₀, Atk₁₀, Mky₁₀, Mk3₁₀, At1₁₀, K1₁₀, ve At2₁₀; A. sobria konakçısında izole edilenler P₂₈, K₂₈, At₂₈, G₁₈, P2₂₈, At2₂₈, Mky₂₈, Mk4₂₈, ve Mk3₂₈; A. schubertii konakçısında izole edilenler P₃₇, K₃₇, At₃₇, Mky₃₇, Mk3₃₇, Mks₃₇ ve G₃₅; A. jandaei konakçısında izole edilenler ise P₂₂, K₂₂, At₂₂ ve Mk3₂₂ olarak adlandırıldı.

3.3. Litik spektrum bulguları

A. hydrophila konakçı suşlarından izole edilen bakteriyofajların litik spektrumu incelendiğinde, test edilen 66 Aeromonas suşu üzerinde en geniş spektrum 36 Aeromonas suşu ile Mk3₁₀ bakteriyofajında en düşük spektrum ise 21 aeromonas suşu ile K2₁₀ bakteriyofajında saptandı. A. hydrophila konakçılarından üretilen bakteriyofajlarının litik spektrumu Tablo 3.5.'de gösterilmiştir. İzole edilen A. hydrophila bakteriyofajlarının, A. hydrophila suşları üzerine litik etkisinin incelenmesi sonucunda, 10 ve Her 1210 suşlarının izole edilen tüm A. hydrophila bakteriyofajları tarafından lize edildiği tespit edildi. A. hydrophila Hp suşu ise sadece 2 A. hydrophila bakteriyofajı tarafından lize edildi. A. hydrophila'da üretilen bakteriyofajlarının çalışmada kullanılan hareketli Aeromonas türleri üzerine etkisi incelendiğinde, A. sobria 28, A. jandaei 45 ve A. schubertii 35 suşlarının izole edilen tüm bakteriyofajlar tarafından, A. caviae 43 suşunun ise 9 bakteriyofaj tarafından lize edildiği saptandı. Çalışmada kullanılan A. sobria 11 ve 17, A. caviae 9, 50, 55, 59 ve CD, A. jandaei 2, 15, 24, 26, 38, 46, 54, 56, 60 ve JP2, A. schubertii 16 suşları, izole edilen A. hydrophila'da izole edilen bakteriyofajlarının hiçbirisi tarafından lize edilemedi.

A. sobria bakteriyofajlarının litik spektrumu Tablo 3.6.'da gösterilmiştir. A. sobria konakçı suşlarından izole edilen bakteriyofajların litik spektrumu incelendiğinde, test edilen 66 Aeromonas suşu üzerinde en geniş spektrum 17 hareketli Aeromonas suşu ile K₂₈ bakteriyofajında en düşük spektrum ise 6 hareketli Aeromonas suşu ile At₁₂₈ bakteriyofajında saptandı. A. sobria bakteriyofajlarından K₂₈ bakteriyofajı, çalışmada kullanılan 9 A. sobria suşunun 5'ini ve At₁₂₈ bakteriyofajı sadece 1'ini lize etti. A. sobria bakteriyofajlarının çalışmada kullanılan diğer Aeromonas türleri üzerine etkisi incelendiğinde, en yüksek düzeyde litik etki A. hydrophila 10 suşunda 6 bakteriyofaj ile, A. caviae 43 suşunda 5 bakteriyofaj ile, A. jandaei 45 suşunda 9 bakteriyofaj ile ve A. schubertii sck suşunda 5 bakteriyofaj ile belirlendi.

Tablo 3.5. *A. hydrophila* konakçılarında izole edilen bakteriyofajlarının litik spektrumu

Bakteri suşu	Bakteriyofaj										
	P ₁₀	K ₁₀	At ₁₀	K2 ₁₀	Atk ₁₀	Mky ₁₀	Mk3 ₁₀	Mks ₁₀	K1 ₁₀	At2 ₁₀	Toplam
A. hyd n=8	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10
	57	-	+	+	+	+	+	+	+	+	5
	1210	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10
	Hk1	-	+	+	+	+	+	+	+	+	9
	Hmks	-	+	+	-	+	+	+	+	+	8
	hkyö	-	+	+	-	+	+	+	+	+	4
	Hkan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9
	Hp	+	-	-	-	-	-	+	-	-	2
Toplam	4	6	7	4	5	6	7	8	5	5	
A. sob n=9	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9
	21	+	-	+	-	+	+	-	-	-	4
	28	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10
	34	-	+	-	-	-	+	-	-	-	2
	52	-	+	-	-	-	-	-	-	-	1
	smk	-	-	-	-	+	-	+	-	-	2
Toplam	4	4	4	2	4	3	4	2	2	2	
A. cav n=12	4	-	-	-	-	-	+	+	+	+	4
	6	-	-	-	-	+	+	+	+	-	5
	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	32	+	-	-	-	+	+	+	+	+	5
	43	+	+	+	+	+	+	-	+	+	9
	49	-	+	-	+	-	+	-	+	-	4
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	51	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	58	-	-	-	-	+	-	-	-	-	1
	59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	CD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Toplam	3	2	1	2	3	4	4	3	4	3	
A. jan. n=28	1	-	-	+	+	+	+	+	+	+	8
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	3	-	-	+	-	-	-	+	-	+	3
	5	+	+	+	-	-	+	+	-	+	7
	7	+	-	+	+	+	+	+	+	+	9
	8	+	-	+	+	+	-	+	+	-	6
	13	+	-	-	+	+	+	+	-	-	5
	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	20	+	-	-	-	+	+	-	-	-	3
	22	+	+	+	+	+	+	-	-	+	8
	23	+	-	-	-	-	+	-	-	-	2
	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	29	+	+	-	+	+	+	+	+	+	9
	30	-	-	+	-	+	+	-	-	-	3
	31	+	-	+	+	-	+	-	-	-	4
	33	-	-	+	-	-	-	+	-	-	2
	38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	44	-	-	-	-	-	+	+	-	+	4
	45	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10
	46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	47	+	-	-	-	+	+	-	-	+	5
	54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	JK	-	+	+	+	+	-	+	+	+	7
	Jp1	+	+	+	-	-	+	-	-	+	5
	Jp2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Toplam	12	6	12	9	9	11	15	11	5	11	
A. sch. n=9	12	-	-	-	+	-	+	+	-	+	5
	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	35	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10
	36	-	-	+	-	-	+	-	+	+	5
	37	-	+	+	-	+	+	+	+	-	7
	sck	-	+	+	+	+	-	+	+	-	7
	scAt	-	+	+	+	+	-	+	+	-	6
	scmk	-	-	+	-	-	+	+	-	-	3
Toplam	2	4	6	4	4	5	6	6	6	3	
Toplam (%)	25 (37,9)	22 (33,3)	30 (45,4)	21 (31,8)	24 (36,4)	29 (43,9)	36 (54,5)	30 (45,5)	22 (33,3)	24 (36,4)	

A. hyd. = *A. hydrophila* A. sob. = *A. sobria* A. cav. = *A. caviae* A. sch. = *A. schubertii*
A. jan. = *A. jandaei*

Tablo 3.6. *A. sobria* konakçılarında izole edilen bakteriyofajlarının litik spektrumu

Bakteri suşu	Bakteriyofaj									
	P _{2R}	K _{2R}	At _{2R}	G _{1R}	P _{2R}	At _{12R}	MkV _{2R}	Mk4 _{2R}	Mk3 _{2R}	Toplam
A. hyd. n=8	10	+	+	-	+	-	+	+	+	6
	57	-	-	-	+	-	-	-	-	1
	1210	-	+	-	+	-	-	-	-	2
	Hk1	-	+	+	+	-	-	-	-	3
	Hmks	+	+	-	-	-	-	+	+	4
	hkyö	-	-	-	-	+	-	-	-	2
	Hkan	-	+	-	-	-	-	+	+	3
	Hp	+	-	-	-	+	+	+	+	5
Toplam		3	5	1	3	3	0	3	4	4
A. sob. n=9	11	-	-	+	-	-	-	-	-	1
	17	-	-	-	-	+	-	-	+	2
	18	-	-	-	+	-	+	-	-	2
	21	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	28	+	+	+	-	+	+	+	+	8
	34	-	+	-	-	-	+	-	+	3
	52	+	+	+	-	-	-	-	-	2
	smk	-	+	+	+	-	-	+	-	4
	skyö	+	+	-	+	+	+	-	-	5
Toplam		3	5	3	3	3	1	3	2	3
A. cav n=12	4	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	6	-	-	-	-	+	-	-	-	1
	9	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	32	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	43	+	-	-	-	+	-	+	+	5
	49	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	51	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	55	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	58	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	59	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	CD	+	-	-	-	+	+	+	-	4
Toplam		2	0	0	0	2	3	1	1	1
A. jan. n=28	1	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	8	-	+	+	-	-	+	-	+	4
	13	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	15	-	-	-	-	-	+	-	-	1
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	22	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	23	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	24	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	26	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	29	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	30	-	+	-	-	-	-	-	-	1
	31	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	33	+	-	-	-	-	-	-	-	1
	38	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	44	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	45	+	+	+	+	+	+	+	+	9
	46	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	47	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	54	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	56	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	60	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	JK	-	+	+	+	+	-	-	-	4
	Jp1	+	+	-	-	-	+	-	-	3
	Jp2	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Toplam		3	5	3	2	1	2	4	1	2
A. sch n=9	12	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	16	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	35	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	36	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	37	-	+	+	-	+	+	-	-	4
	sck	-	+	-	-	+	+	+	+	5
	scAt	-	-	+	-	-	-	-	-	1
	scmk	-	-	-	-	-	-	+	+	2
	sckvs	-	-	-	-	+	+	-	-	2
Toplam		0	2	2	0	3	-	3	2	2
Toplam (%)		11 (16,7)	17 (25,8)	9 (13,6)	8 (12,1)	12 (18,2)	6 (9,1)	15 (22,7)	10 (15,2)	12 (18,2)

A. hyd. = *A. hydrophila* A. sob. = *A. sobria* A. cav. = *A. caviae* A. sch. = *A. schubertii*
A. jan. = *A. jandaei*

A. schubertii'de izole edilen bakteriyofajlarının litik spektrumu Tablo 3.7.'de gösterilmiştir. A. schubertii konakçı suşlarından izole edilen bakteriyofajların litik spektrumu incelendiğinde, test edilen 66 Aeromonas suşu üzerinde en geniş spektrum 26 Aeromonas suşu ile K₃₇ ve Mky₃₇ bakteriyofajlarında, en düşük spektrum ise 17 aeromonas suşu ile Mk₃₇ bakteriyofajında saptandı. A. schubertii 16, 35, 37 ve Scmk suşları izole edilen tüm A. schubertii bakteriyofajları tarafından, A. schubertii CsAt suşu ise sadece 3 A. schubertii bakteriyofajı ile lize edildi. A. schubertii bakteriyofajlarının çalışmada kullanılan diğer Aeromonas türleri üzerine etkisi incelendiğinde; en yüksek düzeyde 8 A. hydrophila suşunun 5'inde, 9 sobria suşunun 4'ünde, 12 A. caviae suşunun 5'inde ve 28 A. jandaei suşunun 11'inde lizis saptandı.

A. jandaei bakteriyofajlarının litik spektrumu Tablo 3.8.'de gösterilmiştir. A. jandaei konakçı suşlarından izole edilen bakteriyofajların litik spektrumu incelendiğinde, test edilen 66 Aeromonas suşu üzerinde en geniş spektrum 29 Aeromonas suşu ile P₂₂, K₂₂ ve Mk₃₂₂ bakteriyofajlarında en düşük spektrum ise 26 aeromonas suşu ile At₂₂ bakteriyofajında saptandı. Çalışmada kullanılan 28 A. jandaei suşunun 8'i, izole edilen A. jandaei bakteriyofajlarının tümü tarafından lize edilirken, 10 suş bakteriyofajların hiçbirisi ile lize olmadı. A. jandaei Mk₃₂₂ bakteriyofajı toplam 17 A. jandaei suşunu lize ederken At₂₂ bakteriyofajı 12 suşu lize ettiği saptandı. A. jandaei bakteriyofajlarının çalışmada kullanılan diğer Aeromonas türleri üzerine etkisi incelendiğinde, en yüksek düzeyde litik etki 5 A. hydrophila suşunda 3 bakteriyofaj ile, 4 A. sobria suşunda 2 bakteriyofaj ile, 3 A. caviae suşunda 1 bakteriyofaj ile ve 6 A. schubertii suşunda 2 bakteriyofaj ile belirlendi.

Tablo 3.7. *A. schubertii* konakçılarında izole edilen bakteriyofajlarının litik spektrumu

Bakteri suşu		Bakteriyofaj							Toplam
		P ₃₇	K ₃₇	At ₃₇	Mky ₃₇	Mk ₃₇	Mks ₃₇	G ₃₅	
A.hyd. n=8	10	+	+	+	+	-	-	-	4
	57	-	-	-	-	+	-	+	2
	1210	+	-	+	+	-	-	-	3
	Hk1	-	+	+	-	-	+	+	4
	Hmks	-	+	-	-	+	+	+	4
	hkvö	-	+	-	+	-	-	-	2
	Hkan	-	+	+	-	-	-	+	3
	Hp	+	-	-	-	-	-	-	1
Toplam		3	5	4	3	2	2	4	
A.sob. n=9	11	-	-	-	-	-	-	-	0
	17	-	+	-	-	-	-	-	1
	18	-	-	-	+	-	-	+	2
	21	-	-	+	+	-	+	+	4
	28	+	+	+	-	-	+	-	4
	34	-	-	+	+	-	+	-	3
	52	-	-	-	-	-	-	-	0
	smk	-	+	-	-	-	+	+	3
Toplam		1	3	3	4	0	4	3	
A.cav. n=12	4	-	-	+	+	-	-	-	2
	6	-	-	-	+	-	-	-	1
	9	-	-	-	-	-	-	-	0
	32	+	-	+	+	-	-	-	3
	43	+	-	+	+	-	+	+	5
	49	-	-	-	-	-	-	-	0
	50	-	-	-	-	-	-	-	0
	51	-	-	-	-	-	-	-	0
	55	-	-	-	-	-	-	-	0
	58	-	-	-	-	-	-	-	0
	59	-	-	-	-	-	-	-	0
Toplam		2	1	3	5	0	1	1	
A.jan. n=28	1	-	+	+	+	-	+	+	5
	2	-	-	-	-	-	-	-	0
	3	-	-	+	-	-	-	-	1
	5	+	+	+	-	+	+	-	5
	7	-	+	-	+	-	-	+	3
	8	-	-	+	+	-	-	+	3
	13	-	-	-	+	-	-	+	2
	15	-	-	-	-	-	-	-	0
	20	-	+	-	-	-	-	-	0
	22	-	+	-	+	+	+	+	5
	23	+	-	-	-	+	+	-	3
	24	-	-	-	-	-	-	-	0
	26	-	-	-	-	-	-	-	0
	29	+	+	+	-	+	+	+	6
	30	-	-	-	-	-	-	-	0
	31	+	-	-	-	+	-	-	2
	33	-	-	+	-	+	+	-	3
	38	-	-	-	-	-	-	-	0
	44	-	+	-	-	+	-	-	2
	45	+	+	+	+	+	+	+	7
	46	-	-	-	-	-	-	-	0
	47	+	+	-	-	+	+	-	4
	54	-	-	-	-	-	-	-	0
	56	-	-	-	-	-	-	-	0
	60	-	-	-	-	-	-	-	0
	JK	-	+	+	-	-	+	+	4
	Jp1	+	+	-	+	-	-	-	3
	Jp2	-	-	-	-	-	-	-	0
Toplam		7	11	8	7	9	9	8	
A.sch. n=9	12	+	-	+	-	-	+	+	4
	16	+	+	+	+	+	+	+	7
	35	+	+	+	+	+	+	+	7
	36	-	-	-	+	+	-	+	3
	37	+	+	+	+	+	+	+	7
	sck	-	+	+	+	-	+	+	5
	scAt	-	+	+	-	-	-	+	3
	semk	+	+	+	+	+	+	+	7
Toplam		6	6	7	7	6	7	9	
Toplam (%)		19 (28,8)	26 (39,4)	25 (37,9)	26 (39,4)	17 (25,8)	23 (34,8)	25 (37,9)	

A. hyd. = *A. hydrophila* A. sob. = *A. sobria* A. cav. = *A. caviae* A. sch. = *A. schubertii* A. jan. = *A. jandaei*

Tablo 3.8. A. jandaei konakçılarında izole edilen bakteriyofajlarının litik spektrumu

Bakteri suşu	Bakteriyofaj				
	P ₂₂	K ₂₂	At ₂₂	MK ₃₂₂	Toplam
A.hyd. n=8	10	+	+	+	4
	57	-	-	+	1
	1210	+	+	+	4
	Hkl	-	+	+	3
	Hmks	-	+	+	3
	hkvö	+	-	-	1
	Hkan	-	+	-	2
	Hp	+	-	-	1
Toplam	4	5	5	5	
A.sob n=9	11	-	-	-	0
	17	-	+	-	1
	18	-	-	-	0
	21	-	-	+	1
	28	-	+	+	3
	34	-	+	+	2
	52	-	+	-	1
	smk	-	+	-	1
Toplam	0	4	4	2	0
A.cav n=12	4	+	-	-	1
	6	+	-	-	1
	9	-	-	-	0
	32	-	-	-	0
	43	+	-	+	2
	49	-	-	-	0
	50	-	-	-	0
	51	-	-	-	0
	55	-	-	-	0
	58	-	-	-	0
	59	-	-	-	0
	CD	-	+	+	2
Toplam	3	1	1	1	
A.jan. n=28	1	+	+	+	4
	2	-	-	-	0
	3	+	+	+	4
	5	+	+	+	4
	7	+	+	+	4
	8	+	+	+	4
	13	+	+	+	3
	15	-	-	-	0
	20	-	-	+	1
	22	+	+	+	4
	23	+	-	+	3
	24	-	-	-	0
	26	-	-	-	0
	29	+	+	+	4
	30	+	-	+	2
	31	+	+	+	3
	33	+	+	+	3
	38	-	-	-	0
	44	+	-	+	3
	45	+	+	+	4
	46	-	-	-	0
	47	+	-	+	3
	54	-	-	-	0
	56	-	-	-	0
	60	-	-	-	0
	JK	-	+	+	3
	Jp1	+	+	-	2
	Jp2	-	-	-	0
Toplam	16	13	12	17	
A.sch. n=9	12	+	-	+	2
	16	+	+	+	3
	35	+	+	+	3
	36	-	-	-	0
	37	+	+	+	4
	sck	-	+	-	2
	scAt	-	+	-	2
	scmk	+	+	+	3
Toplam	6	6	4	4	1
Toplam (%)	29 (43.9)	29 (43.9)	26 (39.4)	29 (43.9)	

A. hyd. = A. hydrophila A. sob. = A. sobria A. cav. = A. caviae A. sch. = A. schubertii A. jan. = A. jandaei

Genel olarak, en geniş litik etki gösteren bakteriyofaj, 36 *Aeromonas* suşu ile *A. hydrophila* Mk3₁₀ bakteriyofajında, en düşük litik etki ise 6 *Aeromonas* suşu ile *A. sobria* At1₂₈ bakteriyofajında saptandı. *Aeromonas* bakteriyofajlarının kendi türleri içindeki litik spektrumu en düşük *A. sobria* (%55.6, 9 suştan 5'inde) ve *A. jandaei*'de (%60.7, 28 suştan 17'sinde) saptanırken, en yüksek *A. hydrophila*'da (%100) saptandı. *A. jandaei* 45 suşu, çalışmada izole edilen tüm bakteriyofajlar tarafından lize edildiği saptandı. Çalışmada kullanılan *A. caviae* 9, 50, 55, 59 ve *A. jandaei* 2, 24, 26, 38, 46, 54, 56, 60, ve Jp2 suşları izole edilen bakteriyofajların hiçbirisi tarafından lize edilemedi (Tablo. 3.5, 3.6, 3.7, 3.8).

3.4. Rutin Testi Dilusyon sonuçları:

Çalışmada elde edilen bakteriyofajların RTD'lerini saptamak amacıyla bakteriyofajlar kendi konakçılarında aktive edilerek 2 katlı (log₂) sulandırıldı. Çalışmada izole edilen bakteriyofajların RTD'leri Tablo 3.9'da verilmiştir. En yüksek bakteriyofaj titres (1/128), sığır barsağından izole edilen *A. hydrophila*'ya ait Mk3₁₀ bakteriyofajında saptandı. *A. hydrophila*, *A. schubertii* ve *A. jandaei*'ye ait bakteriyofajların çoğunun RTD'leri 1/64 olurken, *A. sobria*'ya ait bakteriyofajların RTD'leri 1/32 olarak tespit edildi.

Tablo 3.9. Rutin Testi Dilusyonu sonuçları

A. hydrophila fajlar		A. sobria fajlar		A. schubertii fajlar		A. jandaei fajlar	
Faj	RTD	Faj	RTD	Faj	RTD	Faj	RTD
P ₁₀	1/64	P ₂₈	1/32	P ₃₇	1/32	P ₂₂	1/64
K ₁₀	1/32	P2 ₂₈	1/32	K ₃₇	1/64	K ₂₂	1/32
At ₁₀	1/64	At ₂₈	1/32	At ₃₇	1/64	At ₂₂	1/64
Mk3 ₁₀	1/128	G ₁₈	1/32	G ₃₅	1/64	Mk3 ₂₂	1/64
Mky ₁₀	1/64	Mky ₂₈	1/64	Mky ₃₇	1/64		
K2 ₁₀	1/64	Mk4 ₂₈	1/32	Mks1 ₃₇	1/32		
Atk ₁₀	1/64	Mk3 ₂₈	1/32	Mks2 ₃₇	1/64		
At1 ₁₀	1/64	K ₂₈	1/64				
K1 ₁₀	1/32	At1 ₂₈	1/32				
At2 ₁₀	1/64						

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, hareketli *Aeromonas* bakteriyofajlarının hayvansal ve çevresel kaynaklardan izolasyonu, izole edilen bakteriyofajların litik spektrumlarının belirlenmesi ve bakteriyofajların hareketli *Aeromonas* türlerinin identifikasyonunda kullanılabilirliği araştırıldı. Konu ile ilgili daha önce az sayıda çalışmanın yapılmış olması ve elde edilen sonuçların değişkenlik göstermesi konunun daha detaylı araştırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Çalışmada hayvansal ve çevresel kaynaklardan alınan toplam 90 materyal incelendi. Bu materyallerden 30 (%33,3) bakteriyofaj izolasyonu yapıldı. En yüksek oranda izolasyon atık su örneklerinden (%100, 3 örnekten 5 adet bakteriyofaj izole edildi) elde edilirken, süs kuşlarından alınan barsak içeriği ve doğal su örneklerinden bakteriyofaj izole edilemedi. İncelenen 39 tavuk barsak içeriğinden 16 (%41), 16 koyun barsak içeriğinden 4 (%25) ve 10 sığır barsak içeriğinden 2 (%20) adet bakteriyofaj izolasyonu yapıldı. Arıtmadan önce alınan 6 karkas yıkama suyu örneğinde 3 adet bakteriyofaj saptanırken, arıtma sonrasındaki karkas yıkama suyu örneklerinde bakteriyofaj saptanamadı. Hareketli *Aeromonas* türlerine ait bakteriyofajların hayvansal ve çevresel kaynaklardan izolasyonu ile ilgili detaylı bir çalışma yapılmamıştır. Konu ile ilgili literatür olmadığından elde edilen bulgular tartışılamamıştır.

Bu çalışmada bakteriyofaj izolasyonunda kullanılan konakçı suşlara göre izole edilen bakteriyofajlar konakçı tür isimlerine göre değerlendirilmiştir. İzole edilen 30 bakteriyofajın 10'u (%33,3) *A. hydrophila*, 9'u (%30) *A. sobria*, 7'si (%23,3) *A. schubertii* ve 4'ü (%13,3) *A. jandaei* suşlarında üretildi. İncelenen örneklerden *A. caviae* konakçı suşlarında herhangi bir bakteriyofaj izole edilemedi. Tavuk barsak içeriklerinden yapılan izolasyon çalışmalarında elde edilen hareketli *Aeromonas* suşlarına ait 16 bakteriyofajın 7'si (%43,6) *A. hydrophila*'da, 4'ü (%25) *A. sobria*'da, 3'ü (%18,8) *A. schubertii*'de ve 2'si (%12,5) *A. jandaei*'de üretildi. Atık sularından izole edilen 5 adet bakteriyofajın 2'si *A. hydrophila*'da, 1'i *A. sobria*'da, 1'i *A. schubertii*'de ve 1'i

A. jandaei'de izole edildi. Karkas yıkama suyundan izole edilen 3 bakteriyofajın 1'i A. hydrophila'da, 1'i A. sobria'da ve 1'i A. schubertii'de üretildi. Koyun ve sığır barsaklarından izole edilen toplam 6 bakteriyofajın 1'i (%16,7) A. hydrophila'da, 2'si (%33,3) A. sobria'da, 2'si (%33,3) A. schubertii'de ve 1'i (%16,7) A. jandaei'de izole edildi. Konu ile ilgili çalışmalar incelendiğinde, hareketli Aeromonas bakteriyofajlarının izolasyonunda materyal olarak balık, atık su ve nehir suları kullanılmıştır (Chow ve Rouf, 1983; Merino ve ark., 1990; Flint, 1996). Bu nedenle özellikle hayvansal kaynaklı materyallerden barsak içerikleri ve karkas yıkama suyu örneklerinden elde edilen izolasyon oranları ve bakteriyofajların türlere dağılımı ile ilgili bulguları tartışmak mümkün olmamıştır. Chow ve Rouf (1983), atık sulardan 2 adet A. hydrophila'ya ait bakteriyofajı izole ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar izole ettikleri bakteriyofajların morfolojilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada atık su örneklerinden yüksek oranda (%100) izolasyon yapılmıştır. Bu bulgu, hareketli Aeromonas türlerinin atık sularda yüksek oranda bulunmasının yanı sıra bu türlere ait bakteriyofajların da yüksek düzeylerde bulunabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada incelenen doğal sulardan ise bakteriyofaj izolasyonu yapılamamıştır. Bu bulgu doğal su örneklerinin hareketli Aeromonas türleri ile kontaminasyon düzeyinin düşük olması ile açıklanabilir. Elde edilen bu sonuç, karkas yıkama sularından elde edilen bulgular tarafından da desteklenmektedir. İncelenen 6 adet arıtmadan önceki karkas yıkama suyundan 3 adet bakteriyofaj izolasyonu yapılırken arıtmadan sonra alınan su örneklerinde bakteriyofaj izolasyonu yapılamamıştır. Ancak, doğal sularda hareketli Aeromonas türlerinin bulunması nedeniyle bakteriyofaj izolasyonu yapılacak örneğin fazla miktarda alınması ve izolasyonda zenginleştirme yöntemlerinin kullanılması önem kazanmaktadır.

Çalışmada izole edilen A. hydrophila bakteriyofajlarının litik spektrumu incelendiğinde, test edilen 66 Aeromonas suşu üzerinde en geniş spektrum 36 Aeromonas suşu ile Mk3₁₀ bakteriyofajında en düşük spektrum ise 21 Aeromonas suşu ile K2₁₀ bakteriyofajında saptandı. İzole edilen A. hydrophila bakteriyofajlarının tümünün, A. hydrophila 10 ve Her 1210 suşlarını lize ettiği

saptandı. Ayrıca *A. sobria* 28, *A. jandaei* 45 ve *A. schubertii* 35 suşları tüm *A. hydrophila* bakteriyofajı tarafından lize edilirken, *A. caviae* 43 suşu ise 9 *A. hydrophila* bakteriyofajı tarafından lize edildi. Diğer türlere ait bakteriyofajların konakçı spektrumu incelendiğinde, en geniş konakçı spektrumuna sahip bakteriyofajlar, *A. sobria* K₂₈, *A. schubertii* K₃₇, Mky₃₇ ve *A. jandaei* P₂₂, K₂₂ ve Mk3₂₂ bakteriyofajlarında belirlendi. Bu bakteriyofajlardan *A. sobria* K₂₈ bakteriyofajı test edilen 66 suşun 17'sini, *A. schubertii* K₃₇, Mky₃₇ bakteriyofajları 26'sını ve *A. jandaei* P₂₂, K₂₂ ve Mk3₂₂ bakteriyofajları 29'unu lize ettiği saptandı. Bu sonuçlara göre en geniş litik spektrumun *A. hydrophila* bakteriyofajlarında olurken en dar spektrumun *A. sobria* bakteriyofajlarında olduğu saptandı. Hareketli *Aeromonas* bakteriyofajlarının litik spektrumunun belirleyen çalışmalar oldukça sınırlıdır. Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada, Chow ve Rouf (1983) inceledikleri 22 hareketli *Aeromonas* suşundan 13'ünün Aeh1 ve 2'sinin Aeh2 bakteriyofajı tarafından lize edildiğini bulmuştur. Ackermann ve ark. (1985) Aeh1 ve Aeh2 bakteriyofajların litik spektrumunun oldukça geniş olduğunu bildirmiştir. Erdem (1995) ise Aeh1 bakteriyofajının 53 *A. hydrophila* suşundan 11'ini, Aeh2 bakteriyofajının ise 53 *A. hydrophila* suşunun 5'ini lize ettiğini bildirmiştir. Aynı araştırmacı, izole ettiği *A. sobria* ve *A. caviae* suşlarının Aeh1 ve Aeh2 bakteriyofajlarıyla lize olmadığını da saptamıştır. Bu çalışmada izole edilen bakteriyofajların litik spektrumlarının oldukça değişken olması, diğer araştırmacıların bulguları ile benzerlik göstermektedir. Diğer çalışmalarda litik spektrumu araştırılan Aeh1 ve Aeh2 bakteriyofajlarının her araştırmada farklı düzeylerde hareketli *Aeromonas* suşlarını lize etmesi, hareketli *Aeromonas* bakteriyofajlarının litik spektrumlarının bölgesel suşlara bağlı olarak değişken olmasıyla açıklanabilir.

Bu çalışmada üretildiği konakçı dikkate alınmaksızın izole edilen bakteriyofajların litik spektrumları incelendiğinde, Mk3₁₀ bakteriyofajı 66 suşun 36'sını (%54,5) ve At1₂₈ bakteriyofajı 66 suştan 6'sını (%9,1) lize etmiştir. İzole edilen diğer bakteriyofajların lize ettiği bakteri suş sayısı bu oranlar içinde kalmıştır. En geniş litik spektruma sahip olan Mk3₁₀ bakteriyofajı, test edilen 8 *A. hydrophila* suşundan 7'sini (%87,5), 9 *A. sobria*

suşunun 4'ünü (%44,4), 12 *A. caviae* suşunun 4'ünü (%33,3), 28 *A. jandaei* suşunun 15'ini (%53,6) ve 9 *A. schubertii* suşunun 6'sını (%66,7) lize etti. En dar litik spektruma sahip olan At1₂₈ bakteriyofajının ise, 9 *A. sobria* suşunun 1'ini (%11,1), 12 *A. caviae* suşunun 3'ünü (%25), 28 *A. jandaei* suşunun 2'sini (%7,1) ve 9 *A. schubertii* suşunun 6'sını (%66,7) lize ettiği, *A. hydrophila* suşlarının ise hiçbirini lize etmediği saptandı. Bu sonuçlar, hareketli *Aeromonas* bakteriyofajlarının bazılarının tür düzeyinde yüksek litik spektruma sahip olabileceğini ve bazı bakteriyofajların ise tür düzeyinde hiçbir suşu lize edemediğini göstermektedir. Bu nedenle izole edilen ve tür düzeyinde litik spektrumu değişken olan bakteriyofajların, farklı kaynaklardan izole edilen çok sayıda suşlarla denenmesi ve standardize edilmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Hareketli *Aeromonas* türlerine ait bakteriyofajların standardizasyonu için yeterince çalışma bulunmamaktadır. Bu konunun oldukça yeni olması, hareketli *Aeromonas* türlerinin bakteriyofajların kullanılması ile oluşturulabilecek olası bir identifikasyon şeması için büyük bir eksiklik oluşturmaktadır.

Bu çalışmada elde edilen ilginç bir bulgu, *A. jandaei* 45 suşunun izole edilen tüm bakteriyofajlar tarafından lize edilmesi idi. Bu suşun hareketli *Aeromonas* bakteriyofajlarının izolasyonu amacıyla konakçı bakteri olarak kullanılabilirliğinin yapılacak yeni çalışmalarla desteklenmesine gerek vardır. Elde edilecek sonuçlara göre, yeni izole edilecek tüm hareketli *Aeromonas* bakteriyofajlar tarafından veya çoğunluğu tarafından bu suşun lize edilmesi *Aeromonas* bakteriyofajlarının izolasyonunu kolaylaştıracaktır.

Bu çalışmada *A. caviae*'nin konakçı olarak kullanıldığı kültürlerden bakteriyofaj izolasyonu yapılamadı. Konakçı olarak kullanılan *A. caviae* suşlarından biri, izole edilen hiçbir bakteriyofajla lize edilemezken, diğer *A. caviae* suşları farklı türlere ait çeşitli bakteriyofajlarla lize edildi. Elde edilen bu bulgulara göre, bakteriyofaj izolasyonunda konakçı bakteri olarak kullanılacak *A. caviae* suşlarının seçimi önem kazanmaktadır.

Bakteriyofajların litik spekturumunu belirleyen en önemli faktör bakteriyofajların konakçılarına bağlandığı reseptörler olmaktadır. Hareketli *Aeromonas* bakteriyofajlarının konakçılarına bağlanmada farklı reseptörleri

kullandıkları araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Merino ve ark. 1990b; Flint, 1996). Bu reseptörler arasında, LPS ve flagellanın önemi ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle litik spektrumunu belirlemek amacıyla yapılacak çalışmalarda konak bakterilerin LPS ve flagella yapılarında moleküler düzeyde incelenmesi yarar sağlayacaktır. Bu çalışmada litik spektrumunun bakteriyofajlar arasında çok değişken bulunması moleküler düzeyde reseptör analizlerinin yapılması gerektiğini ortaya koymuştur.

Çalışmada hareketli *Aeromonas* bakteriyofajlarının izolasyonu amacıyla zenginleştirme metodu kullanılmıştır. Bu metod Flint (1996) tarafından bildirilmiştir. Bu metodun dışında hareketli *Aeromonas* bakteriyofajlarının izolasyonunda Chow ve Rouf (1983) farklı bir metod uygulamıştır. Bu metotta zenginleştirme ortamı olarak yarı-katı agar kullanılmış ve zenginleştirme 6 kez yapılmıştır. Ayrıca izolasyon materyali süzülmeden direkt olarak konakçı bakteri kültürüne ilave edilmiştir. Bu çalışmada sadece Flint (1996)'ın bildirdiği metod kullanıldığından dolayı metodlar arasında herhangi bir karşılaştırma yapılamamıştır. Ayrıca bakteriyofajların litik spektrumunun belirlenmesinde inkubasyon ısısının önemli bir faktör olduğu bildirilmiştir (Chow ve Rouf, 1983). Bu çalışmada, tüm işlemlerin 37°C'de yapılmasından dolayı farklı ısı derecelerinin litik spektrumunu nasıl etkilediğine ilişkin sonuçlar elde edilememiştir.

Bu çalışmada izole edilen bakteriyofajların RTD'leri arasında farklılıklar saptandı. En yüksek bakteriyofaj titresi (1/128), sığır barsağından izole edilen *A. hydrophila*'ya ait Mk3₁₀ bakteriyofajında saptandı. *A. hydrophila*, *A. schubertii* ve *A. jandaei*'ye ait bakteriyofajların çoğunun RTD'leri 1/64 olurken, *A. sobria*'ya ait bakteriyofajların RTD'leri 1/32 olarak tespit edildi. Bakteriyofajların RTD'lerinin farklı bulunması, testin gerçekleştirilme aşamasında oldukça önemlidir. Bu nedenle bakteriyofajların litik spektrumunu belirlemek amacıyla yapılacak olan çalışmalardan önce RTD'lerinin saptanması ve testlerin daha sonra gerçekleştirilmesi testlerin güvenilirliği açısından yararlı bir işlemdir. Çalışmada genel olarak *A. sobria* bakteriyofajlarının diğer türlere ait olanlara göre daha düşük olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada incelenen toplam 90 adet materyalin 15'inden (%16,7) hareketli *Aeromonas* türleri izole edildi. İzole edilen suşların 5'i (%33,3) *A. hydrophila*, 4'ü (%26,7) *A. schubertii*, 3'ü (%20) *A. jandaei*, 2'si (%13,3) *A. sobria* ve 1'i (%6,7) *A. caviae* olarak ayrıldı. En yüksek oranda izolasyon atık sulardan (%100), en düşük izolasyon ise barsak içeriğinden (%10,8) gerçekleştirildi. Çalışmada elde edilen izolasyon oranları, diğer araştırmacıların (Majeed ve ark. 1989; Akan, 1993; Erdem, 1995; Khuram ve ark., 1997) buldukları oranlarla benzerlik göstermektedir. Bu bulgular tezin amacı ile direkt ilgili olmadığından dolayı detaylı bir şekilde tartışılmamıştır.



5. SONUÇ

Bugüne kadar hareketli *Aeromonas* türlerine ait bakteriyofajlarla ilgili az sayıda çalışma yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalar, farklı kaynaklardan izole edilen bazı bakteriyofajların morfolojilerini belirlemeye yönelik çalışma niteliğindedir. Yapılan bu çalışmayla birlikte, konu ile ilgili temel bilgiler sağlanmıştır. Yapılacak daha ileri çalışmalar, hareketli *Aeromonas* bakteriyofajları ile ilgili daha detaylı bilgilerin sağlanmasına neden olacaktır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde sunulmuştur.

- Hareketli *Aeromonas* bakteriyofajlarının hayvansal ve çevresel kaynaklarda bulunabildiği ve en yüksek düzeyde bakteriyofajın atık sulara olduğu,
- İzole edilen bakteriyofajların değişik litik spektruma sahip olduğu,
- İzolasyon amacıyla kullanılacak konakçı bakterinin seçiminin oldukça önemli olduğu ve bu suşların LPS ve flagella yapılarının ayrıntılı bir şekilde incelenmesi gerektiği,
- *A. jandaei* 45 suşunun bakteriyofaj izolasyonunda konakçı suş olarak kullanılabileceği,
- *A. sobria* bakteriyofajlarının düşük litik spektruma ve düşük RTD'ye sahip olduğu,
- Hareketli *Aeromonas* türlerinin izolasyon oranlarının literatürle uyumlu olduğu,
- Hareketli *Aeromonas*ların identifikasyonunda bakteriyofajların kullanılması için daha detaylı araştırmalara gerek duyulduğu sonucuna varılmıştır.

ÖZET

Hayvansal ve Çevresel Kaynaklardan Hareketli Aeromonas Bakteriyofajlarının İzolasyonu

Bu çalışmada, değişik hayvanlara (kanatlı, koyun, sığır) ait barsak içeriklerinden ve sulardan (karkas yıkama suyu, atık su, doğal su) hareketli Aeromonas türlerine ait bakteriyofajların izole edilmesi, izole edilen bakteriyofajların litik spektrumlarının değerlendirilmesi ve bakteriyofajların hareketli Aeromonasların identifikasyonunda kullanılabilirliğinin ortaya konulması amaçlandı.

Çalışmada 70'i barsak içeriği ve 20'si su olmak üzere toplam 90 adet materyal kullanıldı. Bu materyallerin 8'i barsak içeriği ve 7'si su olmak üzere 15 adedinde (%16.7) hareketli Aeromonas türleri izole edildi. İzole edilen suşların 5'i (%33.3) *A. hydrophila*, 4'ü (%26.7) *A. schubertii*, 3'ü (%20) *A. jandaei*, 2'si (%13.3) *A. sobria* ve 1'i (%6.7) *A. caviae* olarak identifiye edildi. Çalışmada barsak içeriklerinden 22 adet (%31.4), su örneklerinden ise 8 adet (%40) olmak üzere toplam 30 adet hareketli Aeromonas türlerine ait bakteriyofaj izole edildi. En yüksek bakteriyofaj izolasyon oranı (%100) atık su örneklerinden elde edilirken, sığır kuşlarından alınan barsak içeriği ve doğal su örneklerinden bakteriyofaj izole edilemedi.

İzole edilen bakteriyofajların litik spektrumları, 15 adedi çalışmada izole edilen, 51 adedi ise Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan olmak üzere toplam 66 adet hareketli Aeromonas türleri kullanılarak belirlendi. En geniş litik spektrum sığır barsak içeriğinden izole edilen ve çalışmada kullanılan Aeromonaslar'ın 36'sını lize eden *A. hydrophila* bakteriyofajında gözlenirken, en düşük litik spektrum ise tavuk barsak içeriğinden izole edilen ve çalışmada kullanılan Aeromonas suşunun 6'sını lize eden *A. sobria* bakteriyofajında gözlemlendi.

Çalışmada izole edilen bakteriyofajların RTD'lerini saptamak amacıyla bakteriyofaj filtratları Ringer solüsyonunda iki katlı sulandırıldı ve her dilüsyondaki bakteriyofajların kendi konakçılarındaki litik etkileri incelendi. En yüksek bakteriyofaj titresi (1/128) sığır barsak içeriğinden izole edilen *A. hydrophila* bakteriyofajında saptanırken, en düşük bakteriyofaj titresi (1/32) *A. sobria* bakteriyofajında tespit edildi.

Bu çalışmada hareketli Aeromonas türlerine ait bakteriyofajların başta atık suları olmak üzere, değişik hayvansal ve çevresel kaynaklarda bulunduğu ve bu bakteriyofajların litik spektrumları ile RTD oranları değişkenlik gösterdiği belirlendi. Bu bakteriyofajların hareketli Aeromonasların identifikasyonunda kullanılması için daha detaylı araştırmalara gereksinim duyulmaktadır.

Anahtar Sözcükler: *Aeromonas* spp., bakteriyofaj, hareketli aeromonas, hayvansal, litik spektrum

SUMMARY

Isolation of Motile Aeromonad Bacteriophages from Animal and Environmental Sources

This research was undertaken to isolate and evaluate the lytic spectrum of motile Aeromonad bacteriophages from animal gut contents and environmental water samples to determine whether the isolated bacteriophages can be used to identify and differentiate motile Aeromonas strains in routine laboratory.

Gut contents (n=70) of different animal (birds, sheep and cattle) origins and environmental waters (n=20) (carcas processing, natural and sewage) were used as samples in this study. 15 (16.7%) motile Aeromonas strains [5 (33.3%) *A. hydrophila*, 4 (26.7%) *A. schubertii*, 3 (20%) *A. jandaei*, 2 (13.3%) *A. sobria* and 1 (6.7%) *A. caviae*] were recovered from the 90 samples. 22 (31.43%) motile aeromonad bacteriophages were recovered from the gut contents and 8 (40%) bacteriophages were isolated from the environmental water samples. The highest isolation ratio (100%) occurred in the sewage water samples while aeromonad bacteriophages could not be isolated from the gut contents of five pet birds and the five natural water samples.

The lytic spectrums of the bacteriophages were determined by incorporating bacteriophage filtrates into nutrient agar overlays seeded with the respective aeromonas strains. 51 motile aeromonas strains from the cultural collection and 15 strains isolated in this study were used to determine the host range of the bacteriophages. Aeromonas hydrophila bacteriophage recovered from cattle gut content sample showed a great lytic spectrum by infecting 35 motile aeromonas strains tested whereas *A. sobria* bacteriophage isolated from chicken gut content sample could form plaques only on 6 motile aeromonas strains.

In order to evaluate their routine test dilutions (RTD) the bacteriophage filtrates were serially diluted in semi-strength Ringer's solution and the confluent lytic effect of each bacteriophage dilution on individual host strains was observed. The highest bacteriophage titre (confluent lysis formed at 1/128 dilution) was observed on *A. hydrophila* bacteriophage isolated from cattle gut and the lowest titre (1/32) was observed on most *A. sobria* bacteriophages.

From the results it was concluded that motile aeromonad bacteriophages are found in different animal and environmental (especially in sewage water) sources and that these bacteriophages show variations in their lytic spectrums and RTDs. However further studies are required to validate the use of bacteriophages in identifying motile Aeromonas strains.

Key Words: Aeromonas spp., animal, bacteriophage, lytic spectrum, motile aeromonads.

KAYNAKLAR

- ACKERMANN, H.W., DAUGUET, C., PATERSON, W.D., POPOFF, M., ROUF, M.A., VIEU, J.F. (1985). *Aeromonas bacteriophages: Reexamination and classification*. *Ann. Inst. Pasteur. Virol.*, 136: 175 - 199.
- ACKERMANN, H.W., REYNAUD, A., GAYERIE, M.C. (1994). PID, a new member of the PI bacteriophage Group. *Can. J. Microbiol.*, 40: 63-67.
- ADAMS, C. A., AUSTIN, B., MEADEN, P. G., McINTOSH, D. (1998). Molecular characterization of plasmid mediated oxtetracycline resistance in *Aeromonas salmonicida*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64:4194-4201.
- AGARWAL, R.K., KAPOOR, K.N., KALICHARAN, (1998). Histopathological evaluation as an aid in differentiating toxins of *Aeromonas* sp. *Indian J. Vet. Pathol.*, 22: 29-32.
- AKAN, M. (1993). Hayvanlardan ve çevresel kaynaklardan izole edilen hareketli *Aeromonas* türlerinin biyokimyasal, toksijenik, enzimatik ve yüzey özellikleri. A.Ü. Sağ. Bil. Enst. Doktora tezi. Ankara.
- ALLEN, D.A., AUSTIN, B., COLWELL, R.R. (1983a). *Aeromonas media*, a new species isolated from river water. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 33: 599-604.
- ALLEN, D.A., AUSTIN, B., COLWELL, R.R. (1983b). Numerical taxonomy of bacterial isolates associated with freshwater fishery. *J. Gen. Microbiol.*, 129: 2043-2062.
- ALONSO, J.M., REY, J.M., HERMOSO DE MENDOZA, J., HERMOSO DE MENDOZA, J.M. (1996) *Aeromonas hydrophila*: An unusual cause of pneumonia in goats. *Med. Vet. Spain.*, 13: 439-441.
- ANDREWES, C.H., ELFORD, W. J. (1932). The "killing" of bacteria by bacteriophage.. *Br. Exper Path.* 13:13. In: DOUGHERTY, J.M., LAMBART, A.J. (1950). The filtrable viruses. *Textbook of Bacteriology*. 2nd ed. St Louis. The C.V. Mosby Comp. p.: 396-417.
- ARDA, M. (1997). Temel Mikrobiyoloji. 1. baskı Medisan. Böl.: V. Ankara.
- ARKWRIGHT, J.A. (1912). An epidemic disease affecting salmon and trout in England during the summer of 1911. *J. Hyg., Cambridge.*, 12:391-413. In: Austin, B., Austin, D.A. (1987). *Bacterial Fish Pathogens*. Ellis Horwood, Chichester., p.: 11-195.
- AUSTIN, B. (1992). Recovery of atypical isolate of *Aeromonas salmonicida* which grow, at 37 °C from ulcerated non-salmonids in England. *J. Fish Dis.*, 16: 165-168.
- AUSTIN, B., LEE, J.V. (1992). *Aeromonadaceae* and *Vibrionaceae*. In: *Identification Methods in Applied and Environmental Microbiology*. Ed: JONES, R.G., SKINNER F.A. London Blackwell Sciences. p.: 163-182.
- AUSTIN, D.A., McINTOSH, D., AUSTIN, B. (1989). Taxonomy of fish associated *Aeromonas* spp. with the description of *Aeromonas salmonicida* subsp. *smithia* subsp. nov. *Syst. Appl. Microbiol.*, 11: 277-290.
- BARAN, İ., TİMUR, M., AYDIN, N., İSTANBULLUOĞLU, E., AYDINTUĞ, M.K. (1980). Çifteler-Sakaryabaşı balık üretim ve araştırma istasyonunda, alabalıklarda (*Salmo gairdneri irideus*) görülen bakteriyel hemorajik septisemi hastalığı üzerinde incelemeler. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, XXVII: 467-473.

- BARNHART, H.M., PANCORBO, O.C., DREESEN, D.W., SHOTTS, E.B. (1989). Recovery of *Aeromonas hydrophila* from carcasses and processing water in broiler processing operation. *J. Food Protect.*, 52: 646 - 649.
- BARROW, P., LOVELL, M., BERCHIERI, A. (1998). Use of lytic bacteriophage for control of *Escherichia coli* septicaemia and meningitis in chickens and calves. *Clin. Diag. Lab. Immunol.*, 5: 294-297.
- BAYER, M.E. (1968). Sights of attachment of bacteriophages to *Escherichia coli*. *J. Cell. Biol.* 39: 9a.
- BELDING, D.L. (1927). Fish disease epidemics. *Transct. Am. Fish. Soc.*, 57:217-221. In: Austin, B., Austin, D.A. (1987). Bacterial Fish Pathogens. Ellis Horwood, Chichester., p.: 11-195.
- BEPNHEIMER, A.W., AVIGAD, L.S. (1974). Partial characterization of aerolysin, a lytic exotoxin from *Aeromonas hydrophila*. *Infect. Immun.*, 9: 1016-1021.
- BİLGEHAN, H. (1995). Klinik Mikrobiyolojik Tanı., 2. Baskı, Fakülteler Kitabevi, İzmir., s.: 460 - 461.
- BIRGE, E.A. (1994). Bacterial and Bacteriophage Genetics. 3rd ed. Springer. Verlag N.Y. Inc.
- BLAIR, J.E., WILLIAMS, R.E.O. (1961). Phage typing of *Staphylococcus*. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 24: 771-784.
- BORDET, J. (1923). Microbic transmissible autolysis. *Br. M. J.* 1:175. In: DOUGHERTY, J.M., LAMBART, A.J. (1950). The filtrable viruses. Textbook of Bacteriology. 2nd ed. St Louis. The C.V. Mosby omp. p.: 396-417.
- BORRELL, N., FIGUERAS, M.J., GUARRO, J. (1998). Phenotypic identification of *Aeromonas* genospecies from clinical and environmental sources. *Infection and immunity. Can. J. Microbiol.*, 44:103-106.
- BOUVET, P.J.M. (1991). Typing of *Acinetobacter*. In: Taxonomy, clinical importance, molecular biology, physiology, industrial relevance. The Biology of Acinetobacter. Ed: TOWNER, K.J., BERGOGNE-BEREZIN, E., FEWSON, C.A. Plenum Press, New York, p.: 37-51.
- BRADLEY, D.E. (1965). The isolation and morphology of some new bacteriophages specific for *Bacillus* and *Acetobacter* species. *J. Gen. Microbiol.*, 41: 233-241.
- BRADLEY, D.E. (1967). Ultrastructure of bacteriophages and bacteriocins. *Bacteriol. Rev.*, 31: 230-314.
- BURKE, V., ROBINSON, J., AND GRACEY, M., PETERSON, D. AND PARTRIDGE, K. (1984). Isolation of *Aeromonas hydrophila* from metropolitan water supply: Seasonal correlation with clinical isolates. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48: 361-366.
- CAMPBELL-RENTON, M.L. (1941). Experiments on drying and on freezing bacteriophage.. *J. Path Bact.* 53:371. In: DOUGHERTY, J.M., LAMBART, A.J. (1950): The filtrable viruses. Textbook of Bacteriology. 2nd ed. St Louis. The C.V. Mosby Comp. p.: 396-417.
- CARNAHAN, A.M., BEHRAM, S., JOSEPH, S.W. (1991a). Aerokey; A flexible key for identifying clinical *Aeromonas* species. *J. Clin. Microbiol.*, 29: 2843 - 2849.
- CARNAHAN, A.M., CHAKRABORTY, T., FANNING, G.R., VERMA, D., ALI, A., JANDA,

- M.J., JOSEPH, S.W. (1991b). *Aeromonas trota* sp. nov., An ampicillin-susceptible species Isolated from clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 29:1206-1210.
- CARNAHAN, A.M., FANNING, G.R., JOSEPH, S.W.(1991c).*Aeromonas jandaei* (formerly genospecies DNA group 9 *A. sobria*), a new sucrose negative species isolated from clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 29: 560-564.
- CARNAHAN, A.M., MARII, M.A., FANNING, G.R., PASS, M.A., JOSEPH, S.W. (1989). Characterization of *Aeromonas schubertii* strains recently isolated from traumatic wound infections. *J. Clin. Microbiol.*, 27:1826-1830.
- CHOW, M.S., ROUF, M.A. (1983).Isolation and partial characterisation of two *Aeromonas hydrophila* bacteriophages. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45: 1670 - 1767.
- CHUANG, Y.C., CHIOU, S.F., SU, J.H., WU, M.C. CHANG, M.C. (1997). Molecular analysis and expression of the extracellular lipase of *Aeromonas hydrophila* MCC-2. *Microbiol.*, 143: 803 - 812.
- COLON, A.E, COLE, R.M., LEONARD, C.G. (1970).Transduction of group A Streptococci by ultraviolet-irradiated bacteriophages. *Can. J. Microbiol.*, 16: 201-202.
- COLWELL, R.R., MACDONELL, M.T., DE LEY, J. (1986). Proposal to recognize the family Aeromonadaceae fam. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 36: 473-477.
- CORBEL, M.J. (1979). Isolation and properties of a phage lytic for non-smooth *Brucella* organisms. *J. Biol. Standardization.*, 7: 349-360.
- DEL CORRAL, F., SHOTTS, E.B., BROWN, J. (1990). Adherence, haemagglutination and cell surface characteristics of motile *Aeromonads* virulent for fish. *J. Fish Dis.*, 13: 255-268.
- D-HERELLE, F. (1917). Sur un microbe invisible antagoniste des Bacilles dysentériques. *Compt.Rend. Acad. d. Sc.* 101:373. In: DOUGHERTY, J.M., LAMBART, A.J. (1950). The filtrable viruses. Textbook of Bacteriology. 2nd ed. St Louis. The C.V. Mosby Comp. p.: 396-417.
- DIKER, K.S., AKAY, Ö., BURGU, A. (1984). A characterisation of *Aeromonas sobria* isolated from diseased carps (*Cyprinus carpio*). *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 31: 508 - 516.
- DONLON, J., MCGETTIGAN, S., O'BRIEN, P., O'CARRA, P. (1983). Reappraisal of the nature of the pigment produced by *Aeromonas salmonicida*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 19: 285-290.
- DONTA, S.T., HADDOW, A.D. (1978). Cytotoxic activity of *Aeromonas hydrophila*. *Infect. Immun.*, 21: 989-993.
- DOUGHERTY, J.M., LAMBART, A.J. (1950). The filtrable viruses. Textbook of Bacteriology. 2nd ed St Louis. The C.V. Mosby Comp. p.: 396-417.
- DUFF, D.C.B., STEWART, B. (1933). Studies on furunculosis of fish in British Columbia. *Contributions of Canadian biology and fisheries*, 8, No. 8, Series A., 35:103. In: Austin, B., Austin, D.A. (1987). Bacterial Fish Pathogens. Ellis Horwood, Chichester., p.: 11-195.
- EDDY, B.P. (1960). Cephalotrichous, fermentative Gram-negative bacteria: The genus *Aeromonas*. *J. Appl. Bacteriol.*, 23: 216-248.
- EDDY, B.P. (1962).Further studies on *Aeromonas* I. Additional strains and supplementary

biochemical Tests. *J. Appl. Bacteriol.*, 25: 137-146.

ERDEM, B. (1995). Tavuklardan hareketli *Aeromonas*'ların izolasyon ve identifikasyonları ile faj duyarlılıkları, toksijenite ve patojenite testleri. A.Ü. Sağ. Bil. Enst. Doktora Tezi. Ankara.

ERER, H. (1983). Pathological findings in experimental *Aeromonas* infection (Bacterial haemorrhagic septicaemia) in carp (*Cyprinus carpio* L.). *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 30: 674-690.

EURELL, T.E., LEWIS, D.H., GRUMBLES, L.C. (1978). Comparison of selected diagnostic tests for detection of Motile *Aeromonas* septicaemia in fish. *Am. J. Vet. Res.*, 39: 1384-1386.

EUZEBY, J.P. (1993). Bacterial nomenclature: Changes of veterinary interest During 1992. *Rev. Med. Vet.*, 144: 13-38.

FISH, F.F. (1937). Furunculosis in wild trout. *Copeia*, 37:40. In: Austin, B., Austin, D.A. (1987). Bacterial Fish Pathogens. Ellis Horwood, Chichester., p.: 11-195.

FLINT, K.P. (1996). A method for the enumeration of *Aeromonas* bacteriophage in aquatic environments. *Lett. Appl. Microbiol.*, 22: 244 - 248.

FREIJ, B.J. (1987). Extraintestinal *Aeromonas* infections of humans. *Experientia*, 43: 359-360.

FROBISHER, M. (1948). Fundamentals of Bacteriology. W.B. Saunders Comp. USA. p.: 744 - 751.

FRYER, J.L., HEDRICK, R.P., PARK, J.W., HAH, Y.C. (1988). Isolation of *Aeromonas salmonicida* from Masu Salmon in the republic of Korea. *J. Wildlife Dis.*, 24: 364-365.

GARCIA, M.E., DOMENCH, A., DOMINGUES, L., RAMIRO, F., FERNANDEZ-GARAYIZABAL, J. (1992). *Aeromonas hydrophila* conjunctivitis in a pet parrot (*Amazona versicolor*). *Avian Dis.*, 36: 1110-1111.

GAVRIEL, A.A., LANDRE, J.P.B., LAMB, A.J. (1998). Incidence of mesophilic *Aeromonas* within a public drinking water supply in North-east Scotland. *J. Appl. Microbiol.*, 84: 383-386.

GERLACH, H., BITZER, K. (1971). Dtsch. Tierärztl. Wochenschr., 78:593-608. In: SHANE, S.M., HARRINGTON, K.S., MONTROSE, M.S., ROEBUCK, R.G (1984). The Occurrence of *Aeromonas hydrophila* in Avian Diagnostic Submissions. *Avian Dis.*, 28: 804-807.

GLÜNDER, G. (1988). Occurrence of *Aeromonas hydrophila* in birds. *J. Vet. Med. Bull.*, 35: 331-337.

GRACEY, M., BURKE, V., ROBINSON, J. (1982). *Aeromonas* associated gastroenteritis. *Lancet*, 2: 1304 - 1306.

GRAY, S.J. (1987). *Aeromonas hydrophila* in livestock: Incidence, biochemical characteristics and antibiotic susceptibility. *J. Hyg.*, 92: 365 - 375.

GRAY, S.J., STICKLER, D.J. (1989). Some observations on the faecal carriage of mesophilic *Aeromonas* species in cows and pigs. *Epidemiol. Infect.*, 103: 523-537.

GRAY, S.J., STICKLER, D.J., BRYANT, T.N. (1990). The incidence of virulence factors in

- mesophilic *Aeromonads* species isolated from farm animals and their environment. *Epidemiol. Infect.*, 105: 277-294.
- GÜRSOY, T.K. (1993). Ankara'daki askeri birliklerin su kaynaklarında *Aeromonas*ların bulunuşu. A.Ü. Sağ. Bil. Enst. Yük. Lisans Tezi. Ankara.
- HABURCHAK, D.R. (1996). *Aeromonas hydrophila*: An underappreciated danger to fishermen. *Infect Med.*, 13: 893-896.
- HAVELAAR, A.H., DURING, M., VERSTEEGH, J.F.M. (1987). Ampicilin dextrine agar; Medium for the enumeration of *Aeromonas* species in water by membrane filtration. *J. Appl. Bacteriol.*, 62: 279 - 287.
- HEDGES, R.W., SMITH, P., BRAZIL, G. (1985). Resistance plasmids of *Aeromonads*. *J. Gen. Microbiol.*, 131: 2091-2095.
- HILL, K.R., CAZELTZ, F.H., MOODY, L.N. (1954). Indian Med. J. 3:9; In: Von GRAVENTIZ A.; (1987): Research on *Aeromonas* and *Plesiomonas*. *Experientia*. 43: 342-374.
- JANDA, J.M., BRENDEN, R. (1987). Importance of *Aeromonas sobria* in *Aeromonas* bacteremia. *J. Infect. Dis.*, 155: 589-591.
- JANDA, J.M., DUFFEY, P.S. (1988). Mesophilic *Aeromonads* in human disease. Current taxonomy, laboratory identification and infectious disease spectrum. *Rev. Infect. Dis.*, 10: 980-997.
- JAWETZ, E., MELNICK, J.L., ADELBURG, E.A., BROOKS, G.F., BUTEL, J.S., ORNSTON, L.N. (1989). *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* and *Campylobacters*. Medical Microbiology. 18th ed. p.: 220-224.
- JINDAL, N., GARG, S.R., KUMAR, A. (1993). Comparison of *Aeromonas* spp. isolated from human, livestock and poultry faeces. *Isr. J. Vet. Med.*, 48: 80-83.
- JORGA, M.T., MISHIOKA, S.D., deOLIVIERA, R.B., RIBEIRO, L.A., SILVEIRA, P.V.P. (1998). *A. hydrophila* soft tissue infection as a complication of snake bite: Report of three cases. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 92: 213-216.
- KABESHIMA, T. (1920). Sur un ferment d'immunité bacteriolysant du mecanisma d'immunité infectieuse intestinale. De la Nature du dit "Microbe filtrant bacteriophage" de d'Herelle. C.R. Soc. Biol. 83:219. In: DOUGHERTY, J.M., LAMBART, A.J.; (1950): The filtrable viruses. Textbook of Bacteriology. 2nd ed. St Louis. The C.V. Mosby Comp. p.: 396-417.
- KADA, T. (1968). High frequency mutations, drug sensitivity and λ -lysogenization in *E. coli* K12 *Ann. Rep. Nat. Inst. Genet. Jap.*, 19; 83.
- KAMPFER, P. ALTWEGG, M. (1992). Numerical classification and identification of *Aeromonas* genospecies. *J. Appl. Bacteriol.*, 72: 341-351.
- KAPER, J.P., SEIDLER, R.J., LOCKMAN, H., COLWELL, R.R. (1979). A medium for presumptive identification of *Aeromonas hydrophila* and *Enterobacteriaceae*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 38: 1023-1026.
- KAZNOWSKI, A. (1998). Identification of *Aeromonas* strains of different origin to the genomic species level. *J. Appl. Microbiol.*, 84: 423-427.
- KHALIL, A.H., MANSOUR, E.H. (1997). Toxicity of crude extracellular products of *Aeromonas hydrophila* in tilapia (*Tilapia nilotica*). *Lett. Appl. Microbiol.*, 25: 269-273.

- KHURANA, R., KUMAR, A. (1997). Prevalence of motile *Aeromonads* in foods of animal origin. *J Food Sci. Technol.*, 34: 228-229.
- KNOCH, S. (1989). The suitability of four media for enumerating *Aeromonas* spp. from environmental samples. *Lett. Appl. Microbiol.*, 9: 67-69.
- LAEMMLI, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227: 680-685.
- LEBLANE, D., MITTAL, K.R., OLIVIER, G., LALLIER, R. (1981). Serogrouping of motile *Aeromonas* species isolated from healthy and moribund fish. *Appl. Environ. Microbiol.*, 42: 56-60.
- LOWBURY, E.J.L. (1970). Phage treatment of severe burns. *Br. Med. J.*, 2: 36.
- LYSCOV, V.N., MOSHKOVSKY, Y. (1969). DNA cryolysis. *Biochem. Biophys. Acta.*, 190: 101-110.
- MACINNES, J.I., TRUST, T.J., CROSA, J.H. (1979). Deoxyribonucleic acid relationships among members of the genus *Aeromonas*. *Can. J. Microbiol.*, 25: 579-586.
- MAHAJAN, S.K., SHAKYA, S., JOSHI, R.K., GUPTA, N., CHAUHAN, H.V.S. (1998). Studies of etiopathology of fin rot disease in fry stage of *Labeo rohita*. *Int. J. Anim. Sci.*, 13: 15-116.
- MAHONY, D.E. (1968). A temperate bacteriophage of *Clostridium perfringens*. *Can. J. Microbiol.*, 14: 1085-1093.
- MAJEED, K.N., EGAN, A.F., MACRAE, I.C. (1989). Incidence of *Aeromonas* in samples from an abattoir processing lambs. *J. Appl. Bacteriol.*, 67: 597-604.
- MARTINEZ - MURCIA, A.J., ESTAVE, C., GARAY, E., COLLINS, M.D. (1992). *Aeromonas allosaccharophila* sp. nov., a new mesophilic member of the genus *Aeromonas*. *FEMS. Microbiol. Lett.*, 91: 199-206.
- MCCARTHY, D.H., ROBERTS, R.J. (1980). Furunculosis-The present state of our knowledge. In: Advances in Aquatic Microbiology. Ed: DROOP, M.A., JANNASCH, H.W. London. Academic Press. p.: 293-341.
- MEE - MARQUET, N., LOESSNER, M., AUDURIER, A. (1997). Evaluation of seven experimental phages for inclusion in the international phage set for the epidemiological typing of *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63: 3374-3377.
- MEITERT, T., MEITERT, E. (1978). Usefulness, applications and limitations of epidemiological typing methods to elucidate nosocomial infections and the spread of communicable diseases. In: Methods in Microbiology. vol. 10 Ed: BERGAN, T., NORRIS, J.R. Academic Press, London, p.: 1-37.
- MERINO, S., CAMPRUBIS, S., TOMAS, J.M. (1990). Isolation and characterisation of bacteriophage PM2 from *Aeromonas hydrophila*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 68: 239 - 244.
- MERINO, S., CAMPRUBIS, S., TOMAS, J.M. (1990). Identification of the cell surface receptor for bacteriophage 18 from *Aeromonas hydrophila*. *Res. Microbiol.*, 141: 173 - 180.
- MONFORT, P., BALEUX, B. (1990). Dynamics of *A. hydrophila*, *A. sobria* and *A. caviae* in a sewage treatment pond. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56: 1999-2006.

- MORO, E.M.P., WEISS, R.D.N., FRIEDRICH, R.S.C., VARGAS, A.C.D.E., WEISS, L.H.N., NUNES, M.P. (1999). A. hydrophila isolated from cases of bovine seminal vesiculitis in South Brazil. *J. Vet. Diag. Invest.*, 11: 189-191.
- MURRAY, R.G.E., DOOLEY, J.S.G., WHIPPEY, P.W., TRUST, T.J. (1988). A structure of an S-layer on a pathogenic strain of *Aeromonas hydrophila*. *J. Bacteriol.*, 170: 2625-2630.
- NEEDHAM, J.R., KIRKWOOD, J.K., COOPER, G.E. (1979). A survey of aerobic bacteria in droppings of captive birds of prey. *Res. Vet. Sci.*, 27: 125-126.
- NORTHROP, J.H. (1939). Increase in bacteriophage and gelatinase concentration in cultures of *Bacillus megatherium*, *J. Gen. Physiol.* 23:59. In: Dougherty, J.M., Lambart, A.J. (1950). The filtrable viruses. *Textbook of bacteriology*. 2nd ed. St Louis. The C.V. Mosby Comp. p.: 396-417.
- NZEAKO, B.C. (1991). Variation in *Aeromonas hydrophila* surface structures. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathologists.*, 11: 176-179.
- OCHOLI, R.A., KALEJAIYE, O. (1990). *Aeromonas hydrophila* as cause of haemorrhagic septicaemia in a ground-hornbill (*Bucovus abyssinicus*). *Avian Dis.*, 34: 495-496.
- ÖZCAN, Ş., ÖZTÜRKERİ, H., KOCABEYOĞLU, Ö., ERDEMOĞLU, A. (1998). *Aeromonas* türlerinin deniz, kuyu ve içme suları ile su ürünlerinden izolasyon sıklığı. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 28: 11-14.
- PANIGRAHY, B., MATHAWSON, J.J., HALL, F.C., GRUMBLES, L.C. (1981). Unusual disease condition in pet and aviary birds. *J. A. V.M.A.*, 178: 394-395.
- PANIGUA, C., RIVERO, O., ANGUITA, G., NAHARO, G. (1990). Pathogenist factors and virulence for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) of motile *Aeromonas* spp. isolated from a River. *J. Clin. Microbiol.*, 28: 350-355.
- PATERSON, W.D. (1974). Biochemical and serological differentiation of several pigment-producing *Aeromonads*. *J. Fish. Res. Board Can.*, 31: 1259-1261.
- PATERSON, W.D., DOUGLAS, R.J., GRINYER, I., MCDERMOTT, L.A. (1969). Isolation and preliminary characterization of some *Aeromonas salmonicida* bacteriophages. *J. Fish. Res. Board Canada.*, 26: 629-632. In: ACKERMANN, H.W., DAUGUET, C., PATERSON, W.D., POPOFF, M., ROUF, M.A., VIEU, J.F. (1985). *Aeromonas* bacteriophages: Reexamination and classification. *Ann. Inst. Pasteur. Virol.*, 136: 175 - 199.
- PIERCE, R.L., DALEY, C.A., GATES, C.E., WOHLGEMUTH, K. (1973). *Aeromonas hydrophila* septicaemia in a Dog. *J.A.V.M.A.*, 162: 469.
- PLEHN, M. (1909). Die furunculose-epidemie der salmoniden in suddeutschland. Zentralblatt für bakteriologie, parasitenkunde, infektionskrankheiten und hygiene, Originale, Abteilung I L11:468. In: Austin, B., Austin, D.A. (1987). *Bacterial Fish Pathogens*. Ellis Horwood, Chichester., p.: 11-195.
- PLEHN, M. (1911). Die furunculose der salmonide. Zentralblatt für bakteriologie, parasitenkunde, infektionskrankheiten und hygiene, Originale, Abteilung I 60:609-624. In: Austin, B., Austin, D.A. (1987). *Bacterial Fish Pathogens*. Ellis Horwood, Chichester., p.: 11-195.
- POPOFF, M. (1971). Etude sur les *Aeromonas salmonicida*-II caracterisation des

- bacteriophages actifs sur les *Aeromonas salmonicida* et lystypie. *Ann. Rech. Vet.* 2: 33-45. In: ACKERMANN, H.W., DAUGUET, C., PATERSON, W.D., POPOFF, M., ROUF, M.A., VIEU, J.F. (1985). *Aeromonas* bacteriophages: Reexamination and classification. *Ann. Inst. Pasteur. Virol.*, 136: 175 - 199.
- POPOFF, M. (1984) Genus III. *Aeromonas* Kluyver and van Niel 1936, 398 AD; In: Bergy's manual of sytematic bacteriology Vol 1. Ed: KRIEG, N.R., HOLT, J.G. Baltimore, Williams & Wilkins. p.: 545-548.
- PRIMROSE, S.B., DAY, M. (1977). Rapid concentrations of bacteriophages from aquatic habitats. *J. Appl. Bacteriol.*, 42: 417 - 421.
- ROBERTS, S.D. (1980). A method of reducing the carrier state of *Aeromonas salmonicida* in juvenile pacific Salmon. MS thesis, Univ. Idaho, USA.
- ROSS, A.D. (1962). Isolation of a pigment-producing strain of *Aeromonas liquefaciens* from silver salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Bacteriol.*, 84:590-591. In: Austin, B., Austin, D.A. (1987). Bacterial Fish Pathogens. Ellis Horwood, Chichester., p.: 11-195.
- RUBIRES, X., MERINO, S., AGUILAR, A., NOGUERAS, M.M., TOMAS, J.M. (1998). Isolation of three different bacteriophage from mesophilic *Aeromonas* sp. that use different types of monopolar flagella as their primary receptor. *FEMS. Microbiol.Lett.*, 16: 53-60.
- SANDIFORD, B.R. (1970). Phage Treatment of Severe Burns. *Br. Med. J.*, 2: 541.
- SAYEED, S., SAUNDERS, J.R., EDWARDS, C., CORKILL, J.E. HART, C.A. (1996). Expression of *Aeromonas caviae* bla genes in *Escherichia coli*. *J. Antimicrobiol. Chemother.*, 38: 435-441.
- SCHUBERTI, R.H.W. (1967). The Taxonomy and Nomenclature of the Genus *Aeromonas* KLUYVER and van NIEL 1936. Part I. Suggestions on the Taxonomy and Nomenclature of the Aerogenic *Aeromonas* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 17: 23-37.
- SCHUBERTI, R.H.W. (1974). Genus II. *Aeromonas* KLUYVER and van NIEL 1936.398. In: Ed: BUCHANAN, R.E., GIBBONS, N.E. Bergy's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed. Baltimore, Williams & Wilkins. p.: 345-348.
- SHAW, D.H., HODDER, H.J. (1978). Lipopolisaccharide of the motile *Aeromonas*; Core oligosaccharide analysis as an aid to taxonomic classification. *Can. J. Microbiol.*, 24: 864-868.
- SHOTTS, E.B., RIMLER, R. (1973). Medium for the isolation of *Aeromonas hydrophila*. *Appl. Microbiol.*, 26: 550-553.
- SNIESZKO, S.F. (1957). Genus IV. *Aeromonas* KLUYVER van NIEL 1936. In: Bergy's Manual of Determinative Bacteriology Ed: BREED, R.S., MURRAY, E.G.D., SMITH, N.R. Baltimore, Williams & Wilkins. p.: 189-193.
- SON, R., RUSUL, G., SAHILAH, A.M., ZAINURI, A., RAHA, A.R., SALMAH, I. (1997). Antibiotic resistance and plasmid profile of *Aeromonas hydrophila* isolates from cultured fish, telapia (*Telapia moddambica*). *Lett. Appl. Microbiol.*, 24: 479-482.
- STEVENSON, L.H. (1978). A case for bacterial dormancy in aquatic systems. *Microbiol. Ecol.*, 4:127-133.
- STEWART, F.S., BESWICK, T.S.L. (1980). Bacteriophages and bacteriocines. *Bacteriology*,

- Virology and Immunity for Students of Medicine. 10th ed. ELBS. Baillière Tindall. P.: 461-473.
- SUGITA, H., TANAKA, K., YOSHINAMI, M., DEGUCHI, Y. (1995). Distribution of *Aeromonas* species in intestinal tracts of river fish. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61: 4128-4130.
- TAYAR, M., ÇETİN, C., ŞEN, A., EYİGÖR, A. (1994). Bursa et ve balık kurumunda kesilen koyun ve keçilerin hareketli *Aeromonas*lar yönünden incelenmesi. *Türk. Hij. Den. Biyol. Derg.*, 51: 97-103.
- TOKUNAGA, T., MIZUGUCHI, Y., IKEDA, J. (1968). Persistent infection of *Escherichia coli* k12 cavalli with male-specific bacteriophage Ms2. *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, 21: 169.
- TORANZO, A.E., SANTOS, Y., NIETO, T.P., BARJA, J.L. (1986). Evaluation of different assay systems for identification of environmental *Aeromonas* strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51: 652-656.
- Towner, K.J., Cockayne, A. (1993). Phage typing: Conventional biological methods for microbial identification and typing. *Molecular Methods for Microbial Typing*. 1st ed. Chapman & Hall. London. p.: 5-6.
- TRAVIS, L.B., WASHINGTON, J.A. (1986). The clinical significance of stool isolates of *Aeromonas*. *Am. J. Clin. Pathol.*, 85: 330 - 336.
- TRUST, T.J., KHOURI, A.G., AUSTEN, R.A., ASHBURNER, L.D. (1980). First isolation in Australia of atypical *Aeromonas salmonicida*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 9: 39-42.
- TURNBILL, P.C.B., LEE, J.V., MILIOTIS, M.D., VAN DE WALLE, S., KOORNHOF, H.J., JEFFERY, L., BRYANT, T.N. (1984). Enterotoxin production in relation to taxonomic grouping and source of isolation of *Aeromonas* species. *J. Clin. Microbiol.*, 19: 175 - 180.
- TWORT, F.W. (1915). An investigation on the nature of ultra- microspic viruses. *Lancet*. 3:1241. In: DOUGHERTY, J.M., LAMBART, A.J. (1950). The filtrable viruses. *Textbook of Bacteriology*. 2nd ed. St Louis. The C.V. Mosby Comp. p.: 396-417.
- VON GRAVENITZ, A. (1987). Research on *Aeromonas* and *Plesiomonas*. *Experientia*. 43: 347-374.
- WATANABA, I., SAKURAI, T., FURUSE, K., HARIGAI, H. (1968). Persistent infection and lysogenic-like state of the male specific bacteriophages δA and $Q\beta$. *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, 21: 170.
- WEST, G. (1988). Black's Veterinary Dictionary. 16th ed. A and C Black. London.
- WHITE, P.B. (1937). Lysogenic strains of *V. cholerae* and the influence of lysozyme on cholera phage activity. *J. Path. & Bact.* 44:276. In: DOUGHERTY, J.M., LAMBART, A.J. (1950): The filtrable viruses. *Textbook of Bacteriology*. 2nd ed. St Louis. The C.V. Mosby Comp. p.: 396-417.
- WIEBE, W.J., LISTON, J. (1968). Isolation and characterization of a marine bacteriophage. *Marine Biol.*, 1: 244-249. In: ACKERMANN, H.W., DAUGUET, C., PATERSON, W.D., POPOFF, M., ROUF, M.A., VIEU, J.F. (1985): *Aeromonas* bacteriophages: Reexamination and classification. *Ann. Inst. Pasteur. Virol.*, 136: 175 - 199.
- WILLIAMSON, I.J.F. (1929). A study of bacterial infection in fish and certain lower

- invertebrates. *Board Scot.*, 11: 3. In: Austin, B., Austin, D.A. (1987). Bacterial Fish Pathogens. Ellis Horwood, Chichester., p.: 11-195.
- WILSON, G.S., MILES, A.H. (1964). *Pseudomonas* and *Aeromonas*. Principles of Bacteriology and Immunity. Baltimore. The Williams & Wilkins Company. p.: 636-647.
- WOHLGEMUTH, I.J., PIERCE, R., KIRKBRIDE, C.A. (1972). Bovine abortion associated with *Aeromonas hydrophila*. *J.A.V.M.A.*, 60: 1001 - 1002.
- YOUNG, R.Y. (1992). Bacteriophage lysis: Mechanism and regulation. *Microbiol. Rev.*, 56: 430-481.

