

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ

**BALIKLARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENİ
PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Balıkçılık Teknolojisi Mühendisi Saliha ÖZDEMİR

**ŞUBAT 2015
TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ

**BALIKLARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENİ
PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ**

Balıkçılık Teknolojisi Mühendisi Saliha ÖZDEMİR

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ YÜKSEK MÜHENDİSİ"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 02.03.2015
Tezin Savunma Tarihi : 18.02.2015**

Tez Danışmanı : Prof. Dr. İlhan ALTINOK

Trabzon 2015

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalında
Saliha ÖZDEMİR Tarafından Hazırlanan

**BALIKLARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENİ
PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ**

başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 27/01/2015 gün ve 1587 sayılı kararıyla
oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan :Prof. Dr. İlhan ALTINOK

Üye :Doç. Dr. Erol ÇAPKIN

Üye :Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul TERZİ

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmış ve 113Y330 nolu Hızlı Destek Projesi (1002) olarak Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir.

Bakteriyel balık hastalıkları kültür ortamında en sık rastlanan sorunların başında gelmektedir. Çözüm yolu olarak seçilen antibiyotiğin aşırı ve bilinçsiz kullanılması ortamda bulunan bakterilerin direnç kazanmasına zemin hazırlamaktadır. Bu bağlamda çalışmanın amacı Doğu Karadeniz Bölgesi'nde Rize ve Trabzon illerinde zamanla oluşan antibiyotik direnç seviyeleri ve antibiyotik direnç genlerinin yayılışının geçmişi ve geleceği hakkında bilgi vermektir.

Tez konusunun belirlenmesinde, çalışma sırasında teorik ve pratik bilgilerini esirgemeyerek çalışmaya yön veren danışman hocam sayın Prof. Dr. İlhan ALTINOK ve çalışmanın deney aşamasında ve tez yazımına yaptığı yardımlarla katkı sağlayan değerli hocam Doç. Dr. Erol ÇAPKIN' a yardım ve sabırlarından dolayı sonsuz teşekkür ederim. Çalışmanın çeşitli safhalarında yardımlarını ve bilgi birikimlerini esirgemeyen Arş. Gör. Rafet Çağrı ÖZTÜRK'e ve Arş. Gör. Gökhan KALAYCI'ya teşekkür ederim. Manevi desteği ile hep yanımda olan nişanlım Gencer YAPRAK' a ve ailesine, tüm hayatım boyunca hiçbir karşılık beklemeden hep yanımda olan anneme teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Saliha ÖZDEMİR

Trabzon 2015

TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Balıklardan İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Direnç Geni Profillerinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. İlhan Altınok’un sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

02/03/2015

Saliha ÖZDEMİR

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET.....	VIII
SUMMARY	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XII
SEMBOLLER DİZİNİ.....	XIII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Yetiştiricilikte Antibiyotik Kullanımı	2
1.3. Antimikrobiyal Maddeler ve Direnç Mekanizmaları.....	4
1.4. Bakterilerde Antibiyotik Direncinin Gelişimi	7
1.5. Antibiyotik Direnç Genleri	8
1.6. Literatür Çalışması	10
1.7. Çalışmanın Amacı ve Gerekçesi.....	14
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	16
2.1. Bakteri Materyali ve Temini.....	16
2.2. Bakterilerin Tür Teşhisi	17
2.3. Antibiyogram Testi	17
2.4. Çoğul Antibiyotik Direnç (MAR) İndeksi.....	19
2.5. DNA İzolasyonu.....	19
2.6. Plazmid İzolasyonu.....	19

2.7.	Antibiyotik Direnç Genlerinin Tespiti	20
2.8.	Gen Transferi (Konjugasyon).....	23
2.9.	DNA Dizi Analizi.....	23
2.10.	İstatistiksel Analizler	23
3.	BULGULAR.....	24
3.1.	Antibiyotik Dirençliliği	24
3.2.	Çoğul Antibiyotik Direnç (MAR) İndeksi	25
3.3.	Antibiyotik Direnç Genlerinin Dağılımı.....	26
3.4.	Plazmid Varlığı	29
3.5.	Konjugasyon.....	30
3.6.	DNA Dizi Analiz Sonuçları	31
4.	TARTIŞMA.....	33
5.	SONUÇLAR.....	40
6.	ÖNERİLER	42
7.	KAYNAKLAR.....	43
8.	EKLER.....	52
	ÖZGEÇMİŞ	

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

BALIKLARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENİ
PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ

Saliha ÖZDEMİR

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman : Prof. Dr. İlhan Altınok
2015, 52 Sayfa, 2 Sayfa Ek.

Bu araştırmada, Doğu Karadeniz Bölgesi'nde 2004-2014 yılları arasında bliklardan izole edilen bakterilerde ki (n:133) antibiyotik direnci ve antibiyotik direnç genlerinin varlığı araştırılmıştır. Antibiyogram testi sonuçlarına göre bakterilerde en yüksek direnç Sefalotin (%70), Eritromisin (%68), Amoksisilin (%63), Ampisilin (%62), Ticarsilin (%56), Sulphamethoksazole (%51) ve Aztreonem (%51) antibiyotiklerine karşı olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada izole edilen bakteri türlerinin %24.06'sında Çoğul Antibiyotik Direnç (MAR) İndeksi değeri kritik seviyenin üzerinde hesaplanmıştır. *C. indologenes* (0,96), *B. cepacia* (0,89), *E. Cloacae* (0,82), *V. anguillarum* (0,79), *Y. ruckeri* (0,75) ve *P. fluorescens* (0,72) en yüksek MAR indeksi değerine sahip olan bakterilerden olarak bulunmuştur. Bakterilerde araştırılan direnç genleri arasında en sık rastlanan antibiyotik direnç genleri *ampC* (%36) ve *sull* (%24) olarak tespit edilmiştir. Bakteriler arasında Class 1 integron gen kasetinin varlığı ise %51 olarak bulunmuştur. Antibiyotik direnç genlerinin bakteriler arasında aktarılmasında görev alan plazmid varlığı ve üzerinde taşıdığı antibiyotik direnç genleri araştırılmıştır. Bakterilerin %35'inin plazmid taşıdığı tespit edilmiştir. Plazmidler ile aktarılabilen antibiyotik direnç genleri sırasıyla *tet B*, *tet D* ve *amp C* olarak bulunmuştur. Bakterilerilerdeki antibiyotik direnç genini içeren integron gen kasetlerinin varlığı ve hareketliliği direnç genlerinin yayılmasında önemli rol oynayabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler : Antibiyogram, Antibiyotik direnci, Antibiyotik direnç geni, MAR, Plazmid

Master Thesis

SUMMARY

DETERMINATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES PROFILE OF THE
BACTERIA ISOLATED FROM FISH

Saliha ÖZDEMİR

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Fisheries Technology Engineering Graduate Program
Supervisor: Prof. Dr. İlhan ALTINOK
2015, 52 Pages, 2 Appendix.

In this study, the presence of antibiotic resistance genes of bacteria isolated from rainbow trout fish farms located in the eastern Black Sea region were investigated. According to the antibiogram results, bacteria had the highest resistance to Cephalotin (70%), Erythromycin (68%), Amoxicillin (63%), Ampicillin, (62%), Ticarcillin (56%), Sulphamethoxazole (51%) and Aztreonem (51%). It was determined that 24.06% of the isolated bacteria had Multiple Antibiotic Resistance Index values which were calculated above the critical limit of 0.2. The highest MAR index value was obtained from *C. indologenes* (0,96), *B. cepacia* (0,89), *E. Cloacae* (0,82), *V. anguillarum* (0,79), *Y. ruckeri* (0,75), *P. fluorescens* (0,72). The most common antibiotic resistance genes in the bacteria were *ampC* (36%) and *sulI* (24%). Approximately 51% of the bacteria had Class 1 integron gene cassette. The presence of the plasmid and plasmid mediated transferable resistance genes between bacteria and antibiotic resistance genes were investigated. It was determined that 35% of the bacteria had plasmid. Plasmid mediate transferable resistance genes were *tet B*, *tet D* and *amp C*. The presence and activity of the gene cassette containing the antibiotic resistance gene in bacteria may play an important role in the spread of resistance genes.

Key Words : Antibiogram, Antibiotic resistance, Antibiotic resistance gene, MAR, Plasmid

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.	25-30 saat inkübasyon sonucu elde edilen antibiyogram plağı.....18
Şekil 2.	Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç yüzdeleri ve dirençli bakteri sayıları.....24
Şekil 3.	Çalışılan bakterilerin MAR indeksleri.....25

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotikler	3
Tablo 2. Bakteriyostatik ve Bakterisid Antibiyotikler.....	5
Tablo 3. Antibiyotik sınıfları, etki ve direnç mekanizmaları.....	6
Tablo 4. Çalışmada kullanılan bakteri türleri ve sayıları.....	16
Tablo 5. Antibiyogram testi için kullanılan antibiyotikler	18
Tablo 6. Antibiyotik direnç genleri ve integron gen kasetlerinin belirlenmesinde kullanılan primerler.....	21
Tablo 8. Bakteri türlerinde tespit antibiyotik direnç genleri.....	27
Tablo 9. Bakterilerin plazmit profilleri	29
Tablo 10. Plazmid içeren bakterilerden plazmidini aktarabilen verici türler	30
Tablo 11. Konjugant bakterilerde belirlenen direnç genleri ve integron Class 1 ve Class 2 integron gen kasetleri.....	32

SEMBOLLER DİZİNİ

ADG	: Antibiyotik Direnç Gen
API 20E	: Application Programming Interface
API 20NE	: Application Programming Interface
BHI	: Brain Heart Infision
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
GSP	: Pseudomonas Aeromonas Seçici Agar
MAR	: Multiple Antibiotic Resistance (Çoğul antibiyotik direnç)
n	: Suş Sayısı
RNA	: Ribonükleik Asit
TSA	: Triptik Soy Agar

1.GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

İnsanlarda kullanılan antibiyotik miktarı ile yetiştiricilik sektöründe kullanılan antibiyotik miktarı kıyaslandığında iki grup arasında pek bir fark olmadığı görülmektedir (Walton, 1992). Bu durum hayvancılık da kullanılan antibiyotik miktarını büyüklüğünü göz önüne sermektedir. Yoğun antibiyotik kullanımı patojen ve çevresel bakteriler içinde kullanılan antibiyotiğe karşı direnç gelişimine neden olmaktadır. Bakteriler arasında dikey ve yatay yollarla gerçekleşen gen paylaşımı (Aoki, 1997) sonucunda, antibiyotik dirençli bakterilerin sayısı ve direnç oranı gün geçtikçe arttırmakla birlikte bakteriyel balık hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin etkinlik oranı azalmaktadır (Saitanu vd., 1994).

Antibiyotiklerin düşük dozda uzun süre ya da kısa süreli yüksek dozda uygulanması sonucunda, sucul ortamda bulunan diğer patojen yada çevresel bakterilerin çoğul direnç kazanımını da kolaylaştırmaktadır (De Paula vd., 1995; Schmidt vd., 2000). Direnç kazanımının bir diğer yolu da yeme karıştırılarak verilen antibiyotiklerin, aşırı yemleme sonucunda biriken yem kalıntılarındaki antibiyotiklerin etkisiyle ortaya çıkmasıdır (Björklund, 1990; Coyne, 1994). Bu şekilde oluşan antibiyotik birikimi bakteriler üzerinde seçici baskı oluşturarak dirençli bakterilerin sayısının artmasına neden olmaktadır (Peterson vd., 2003). Bilinçsiz bir şekilde kullanılan antibiyotikler, balık çiftliklerinin genetik olarak antibiyotiğe dayanıklı bakteri kaynağı oluşturmasının yanı sıra, çiftlikte çalışan personellerin açısından da sağlık riski oluşturmaktadır (AAM 1999; Wegener vd., 1999; Willis, 2000). Yapılan araştırmalarda, havuz ve kafeslerde bulunan bakterilerin kolaylıkla bu iş ile uğraşan insanlara geçtiği belirlenmiştir (Blake, 1979). Bütün bu riskler göz önüne alındığında su ürünleri kökenli bakterilerin antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç araştırılmalı ve oluşan direncin diğer bakterilere aktarılıp aktarılmadığı, eğer aktarım gerçekleşiyorsa bu olayın nasıl meydana geldiği oldukça önemlidir.

Ekosistem birbiri ile ilişkili olduğu için tıp, veterinerlik ve zirai alanlarda antibakteriyal kimyasalların bilinçsiz ve aşırı kullanımı sonucu oluşan antibiyotiğe dirençli bakteriler (Al-Jebouri, 1985; Col ve O'Connor, 1987; DuPont ve Steele, 1987) ve antibiyotik kalıntıları (Halling-Sørensen vd., 1998) diğer ortamlara taşınmaktadır. Yeni bir ortama taşınan antimikrobiyal maddeler bu ortamda yaşayan bakteri popülasyonları üzerinde seçici bir baskı

oluşturmaktadır. Bakteriler oluşan bu baskıya karşı kendilerine savunma mekanizması olarak yeni antibiyotik direnç genleri geliştirerek kendilerini koruma altına alırlar. Plazmid gibi hareketli genetik elemanlar aracılığıyla da antibiyotik direnç genleri birbiriyle ilişkili olan bakteri türleri arasında kolayca paylaşılmaktadır (Davidson, 1999).

Dünya genelinde balıklarda görülen bakteriyel hastalıkları kontrol etmek amacıyla farklı antibiyotikler suya ya da yeme karıştırılarak kullanılmaktadır. Balık yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotiklere karşı bakterilerin bir veya birden çok antibiyotiğe aynı zamanda direnç kazanma sıklığı balık çiftliklerinde ve çiftlikleri çevreleyen sucul ortamda görülmektedir. Ayrıca, kullanılan antibiyotiklerin fazlalık ve kalıntıları çevredeki sediment de birikmektedir. Bu tür birikimler bakteriler üzerinde seçici etki yaparak sadece ortamdaki antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin çoğalmasını sağlamaktadır. Antibiyotiğe direnç geninin sucul ortamda bulunan diğer bakteri türlerine yayılma riski vardır. Ayrıca, antibiyotiğe dirençlilik geni insan ve hayvan patojenleri arasında geçiş yapabilmektedir.

1.2. Yetiştiricilikte Antibiyotik Kullanımı

Günümüzde gelişen teknoloji, artan talep ve azalan doğal kaynaklar balık yetiştiriciliğinde kimyasal kullanımını zorunlu hale getirmiştir. Bilinçli toplumlarda kullanılan kimyasalların zararlarından daha sıklıkla söz edilmekte, hatta birçok gelişmiş ülkede çeşitli kimyasallara kısmi ya da tamamen yasaklamalar getirilmektedir. Kültür ortamında ise antibiyotiklerin asıl kullanım amacı muhtemel hastalıklara karşı önlem ve karşılaşılan enfeksiyonların tedavisi amacı ile kullanılmaktadır.

Antibiyotikler kullanım alanları dışında da büyütme faktörü ve hastalıktan korunmak gibi farklı amaçlar için de kullanılmaktadır. Antimikrobiyallerin tedavi dışı amaçlı kullanımları hayvanların bu maddelere uzun süre düşük seviyelerde maruz kalmalarına sebep olmaktadır. Bunun sonucu olarak dirençli bakteri popülasyonlarının artışına sebep olmaktadır (Alexander vd., 2011). Yetiştiricilikte sektöründe kullanılan antibiyotiklerin bazıları dar spektrumlu bazıları ise geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Dünya su ürünleri sektöründe kullanılan antibiyotikler genellikle geniş spektrumlu olup bunların bazıları Tablo 1’de gösterilmiştir (Van Dongen vd.,2008).

Tablo 1. Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotikler

Antibiyotik	Grup	Veriliş Yolu
Amoksisilin	Aminopenisilin	Yem
Ampisilin	Aminopenisilin	Yem
Kloramfenikol	Amfenikol	Yem/Su/Enjeksiyon
Florfenikol	Amfenikol	Yem
Eritromisin	Makrolit	Yem/Su/Enjeksiyon
Streptomisin	Aminoglikozit	Su
Neomisin	Aminoglikozit	Su
Furazolidon	Nitrofuran	Yem /Su
Nitrofurantoin	Nitrofuran	Yem
Oksolinik Asit	Kinolon	Yem
Enrofloksasin	Florokinolon	Yem /Su
Flumekuin	Florokinolon	Yem
Oksitetrasiklin	Tetrasiklin	Yem/Su/Enjeksiyon
Klortetrasiklin	Tetrasiklin	Yem/Su/Enjeksiyon
Tetrasiklin	Tetrasiklin	Yem/Su/Enjeksiyon
Sulfonamid	Sulfonamid	Yem

Antibiyotikler aynı zamanda çevresel değişimlerin, aşılamanın ve diğer yönetim uygulamalarının yol açtığı stres etkilerini ortadan kaldırmak ve büyümeyi arttırmak içinde hayvanların yemlerine ve sularına katılmaktadır (Choi ve Ryu, 1987; Dafwang vd., 1987). Kullanılan bu antibiyotikler zamanla balık bünyesinde birikerek yüksek konsantrasyonlara ulaşır ve insan tüketimi için kabul edilebilir sınırları aşabilir. Antibiyotiklerin aşırı kullanımı standart antimikrobiyal uygulamalara karşı dirençli patojenlerin gelişimine de zemin hazırlar. Dirençli patojenlerin gelişimi son zamanlarda tüm dünyayı tehdit eder hale gelmiştir. Bunun sonucu olarak, özellikle su ürünleri sektörünün ülke ekonomisindeki yerinin yüksek olduğu ülkelerde, antibiyotiklerin kullanımına ilişkin mevzuatlar oluşturulmuş ve uygulanmaktadır.

Ülkemiz üreticilerinin de yüksek verim elde etmek ve büyütme faktörü olarak kullandıkları antibiyotikler için belirlenen yasal düzenlemelere uyup uymadıkları tam olarak denetlenememektedir. Bu bağlamda, entansif üretim içinde kullanılan teknikler çoğu zaman hayvan haklarını ve sağlığını, dolayısıyla da insan sağlığını ikinci plana atmaktadır (Duru, 2004).

Çiftlik hayvanlarında aşırı ve bilinçsiz antimikrobiyal kullanımın insan sağlığı ile bağlantılı üç temel risk oluştururlar. Bunlardan ilki antibiyotiklere dirençli gıda kökenli

enfeksiyonlar; ikincisi geçmişte gıdalarla ilişkisi belirlenmemiş çoğul antibiyotik dirençli bakterilerin gelişmesi; üçüncüsü ise direnç genlerinin yayılmasıdır.

Yetiştiricilik de antibiyotiklerin bilinçli kullanımı son derece önemlidir. Antibiyotik kullanımı geniş bir çerçevede ele alınmalı ve hayvan ıslahı, refahı, hijyen, besleme ve aşılama sistemlerinden ayrı olarak düşünülmemelidir. Antibiyotik gereksinimini azaltmak için hastalıklar sürekli kontrol edilmeli ve antibiyotik kullanımının yanı sıra bütüncül yaklaşımlarda bulunulmalıdır. Antibiyotik kullanımında dozuna, kullanım süresine ve seçilen antimikrobiyal ajana dikkat edilmediğinde dirençli mikroorganizma suşlarının oluşumu, gıdalarda ilaç kalıntıları, bağışıklık sisteminin olumsuz yönde etkilenmesi ve endotoksik şok meydana gelir.

1.3. Antimikrobiyal Maddeler ve Direnç Mekanizmaları

Antibiyotik terimi bakteri, mantar, aktinomisetler gibi mikroorganizmalar tarafından sentezlenen veya sentetik olarak hazırlanan, son derece düşük yoğunluklarda bile, bakterinin gelişmesini engelleyen veya onları öldüren maddeler olarak tanımlanır. Antimikrobiyal maddeler penisilin keşfi ile üreilmeye başlanmış (Wright, 2007) ve halen günümüzde bakteriyel patojen mikroorganizmalara karşı kullanılan en etkin kimyasallardan birisidir. Doğal, yarı sentetik veya sentetik antibiyotiklerin kimyasal yapılarında değişiklikler yapılarak etkinlikleri ve etki alanları arttırılarak gelişen direnç sorunu ile mücadele edilmektedir (URL-5, 2013).

Dünya çapında üretilen antibiyotik miktarları incelendiğinde büyük miktarlar ortaya çıkmaktadır. Örneğin, ABD’de her sene 22.000 tondan daha fazla antibiyotik üretilirken (Levy, 1999), Almanya’da bu miktar 2.000 ton civarındadır (Hirsch vd., 1998). Ülkemiz de yıllar bazında bakıldığında 2003-2006 yılları ilaç tüketiminde ilk sıralarda antibiyotikler yer almaktadır (Karabay ve Hoşoğlu, 2008). Yapılan sınırlamalara rağmen halen en çok tüketilen ilaç grubu antibiyotiklerdir. Tedavi amacı dışında da büyük miktarlarda kullanılan antibiyotikler sadece Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’nde üretilen antibiyotiklerin (15-25 bin ton) yaklaşık %70’i tedavi dışı amaçla kullanılmaktadır (Factsheet, 2004). Antibiyotikleri daha yakından incelediğimizde farklı gruplar karşımıza çıkmaktadır. Antibiyotikleri temel kimyasal yapılarına, metabolik mekanizma ve protein sentezi gibi mikrobiyolojik işlemlerine göre farklı sınıflara ayırabiliriz. (Levy ve Marshall, 2004; Tenover,

2006). Bir diğ er sınıflandırma ise antibiyotikler, Tablo 2’de gösterildiğ i gibi iki gruba ayrılmaktadır. Bakteri hücrelerinin üremesini engelleyen antibiyotikler bakteriyostatik, bakteri hücrelerini yok eden antibiyotikler bakterisid etki gösterirler.

Tablo 2. Bakteriyostatik ve Bakterisid Antibiyotikler

Bakteriyostatik Antibiyotikler	Bakterisid Antibiyotikler
Tetrasiklinler	Pensilinler
Makrolitler	Sefalosporinler
Sulfonamidler	Monobaktamlar
Amfenikoller	Karbapenemler
Linkozamidler	
Metronidazol	Beta-laktamaz inhibitörleri
Mikonazol	

Antibiyotiklerin bakterilerin çoğalmalarını engellenmesinin keşfinin ardından bakteriyel hastalıkların tedavisinde tüm dünyada yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Kümmeer, 2009). Son yıllarda yapılan araştırmalara göre birbirinden farklı birçok antibiyotik kullanılmaktadır. Antibiyotiklerin etkinliklerine rağmen antibiyotik direnç genlerinin artmasından ve dirençli bakterilerin yayılımından dolayı antibiyotiklerin etkileri zamanla azalmaktadır (Andersson ve Levin, 1999).

Antibiyotiklerin yaygın bir şekilde kullanımından dolayı oluşan seçici baskı özel, duyarlı organizmalara etki ederken dirençlilerin direncini, sayısını arttırmaktadır. Bakteriler kalıtsal olarak antibiyotiklere karşı toleranslı olabilirler ya da dışarıdan kendilerine direnç genleri elde edinebilirler. Bakteriler arasında oluşan yoğun gen alışverişinden dolayı , fırsatçı patojenlerin direnç mekanizmasını kazanır.Bakteriler arasında antibiyotik direncinin yayılışı bilim insanlarının antibiyotik dirençli bakterileri ve antibiyotik direnç genleri ile çalışma yapmalarına sebep olmuştur (Pruden vd., 2006; Wright, 2010). İnsan nüfusu sucul çevreye bağımlı olduğ u için bu ortamlarda antibiyotik dirençli bakteriler ve antibiyotik dirençli genlerin yayılması insan sağlığı açısından ciddi tehditler oluşturmaktadır (Jalal vd., 2012). Bu bağlamda antibiyotik direnci tıbbi sorun olarak değil aynı zamanda ekolojik sorun olarak da karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle bu tür araştırmalarda dirençli organizmaların gelişimini ve ekolojisinin de bilinmesi gerekmektedir (Martínez, 2012).

Antibiyotiklerin bakteri hücrelerini etkilerken farklı etki mekanizmaları gösterirler. Pensilin, vankomisin ve novobiosinin gibi antibiyotikler bakterilerin hücre duvarı sentezini durdururlar. Sulfonamid; trimetoprim ve kotrimoksazol DNA ve RNA'nın gelişimi için gerekli olan folik asit sentezini durdurur. Hücrelerin bölünmesini ve çoğalması için gerek duyulan DNA'nın işlevini durduran; nalidiksik asit; oflaksasin; metronidazol; rifampisin; enroflaksisin insan ve hayvanlardan çok bakterileri etkiler (Tablo 3).

Tablo 3. Antibiyotiklerin bakterilerde oluşturduğu direnç mekanizmaları

Sınıf	Antimikrobiyal Madde	Etki Mekanizması	Direnç Mekanizması	Kaynaklar
Aminoglikozitler	Gentamisin, Kanamisin, Streptomisin	Protein Sentezinin Engellenmesi	Pompalama, Enzimatik İnaktivasyon, Hedef Şaşırtma	Sköld, 2000; Fischer vd., 2011; Ahmed, 2012
Amfenikoller	Kloramfenikol	Protein Sentezinin Engellenmesi	Pompalama	Hancock, 1998; Tenover, 2006
Makrolitler	Klaritromisin, Eritromisin	Protein Sentezinin Engellenmesi	Pompalama, Hedef Şaşırtma	Walsh, 2000; Tenover, 2006
Tetrasiklinler	Tetrasiklin, Doksisiklin, Oksitetrasiklin	Protein Sentezinin Engellenmesi	Pompalama	Walsh, 2000; Ahmed, 2012
Beta-Laktamlar	Pensilin, Sztreonam, Sefotaksim	Hücre Duvarı Sentezinin Engellenmesi	Enzimatik İnaktivasyon, Hedef Şaşırtma	Walsh, 2000; Ahmed, 2012
Glikopeptidler	Vankomisin, Bleomisin	Hücre Duvarı Sentezinin Engellenmesi	Hücre Duvarı Modifikasyonu, Pompalama	Walsh, 2000; Ahmed, 2012
Kinolonlar	Nalidiksik Asit, Ciprofloksasin	Nükleik Asit Sentezinin Engellenmesi	Pompalama, Hedef Şaşırtma	Walsh, 2000; Ahmed, 2012
Sulfonamidler	Sulfametaksazol	Folik Asit Sentezi Yolunun Engellenmesi	Alternatif Enzimler, Hedef Şaşırtma	Sköld, 2000; Tenover, 2006
Lipopeptitler	Daptomisin	Hücre Zarı Kutuplaşmasını Engelleme	Hücre Zarı Modifikasyonu, Mytasyonlar	Tenover, 2006; Fischer vd., 2011; Palmer vd., 2011
Aminoasit Türevleri	Polimiksin B	Hücre Zarı Geçirgenliğini Bozma	Hücre Zarı Modifikasyonu	Moore ve Hancock, 1986; Tenover, 2006; Fu vd., 2011

Yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerin etkinlikleri zamanla azaldığı bildirilmektedir (WHO, 2000). Antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin yayılması ve bu yayılan bakterilerin antibiyotiklerin toksik konsantrasyonlarında bile devamlı çoğalma yeteneğine sahip olması etkinliğin azalmasının en önemli nedenlerdendir. Antibiyotik dirençli bakteriler milyonlarca

canlının sağlığını tehdit ettiğinden, küresel bir sağlık problemi haline gelmiştir (Levy ve Marshall, 2004). Bu problem şuan var olan tüm antibiyotik sınıfları için geçerli olmasından dolayı problemin önemi oldukça büyüktür (D'Costa vd., 2006). Ayrıca, önceden bazı bakteriyel hastalıkların tedavi edilebildiği (tifo) ya da kontrol altına alındığı (tüberküloz) düşünülürken dirençli suşların ortaya çıkmasıyla bu durum yeniden tehlike haline gelmeye başlamıştır (WHO, 2000; Pruden vd., 2006).

Bakteriler birden fazla antibiyotiğe de direnç kazanabilirler. En az iki farklı antibiyotiğe dirençli olan bakteriler çoğul dirençli olarak bilinmektedir. Sadece 2007 yılında Avrupa da çoğul antibiyotik dirençli bakterilerin oluşturduğu 400.000 bulaşıcı hastalık vakası meydana gelmiştir. Bu vakalardaki ölüm sayısı 250.000 olarak kayıtlara geçirilmiştir (URL-4, 2013). Çoğul antibiyotik dirençli patojen bakteriler ile mücadele edilirken kullanılan antibiyotiklere karşı daha fazla direnç kazanmalarından dolayı bu patojenlerin hastalık yapma ve öldürme kabiliyetleri giderek artmaktadır (WHO, 2012).

Çoğul antibiyotik dirençli plazmidlerin evolüsyonu genellikle antibiyotik direnç determinantlarının bölgeye özel entegrasyonu ile meydana gelmektedir. Bu rekombinasyon, integron denilen farklı bir DNA ailesi tarafından oluşturulmaktadır. İntegronlar antibiyotik direnç determinantlarını kodlayan, belirli gen kasetlerini entegre etme veya taşıma yeteneğine sahip genetik yapılardır. Plazmidler veya transpozonlar tarafından taşındıklarından dolayı güçlü bir antibiyotik seçici baskısı, antibiyotik direnç determinantlarının taşınmasına ve yayılımına neden olmaktadır (Davies, 1994).

1.4.Bakterilerde Antibiyotik Direncinin Gelişimi

Bakteri tek hücreli mikroorganizma grubudur. Prokaryot hücre yapıları ve boyutları ile diğer mikroorganizmalardan ayrılırlar. Bakteriler ortalama 0.5-2 µm boyutlarındadırlar. Bu boyutlar ise tür ve cinslerine göre farklılık göstermektedir. Spiral, rod ve coccus olmak üzere üç temel hücre morfolojisi vardır. Gram pozitif ve negatif şeklinde kendilerine özgü boyama karakterleri vardır. Hücre duvarlarında mikotikasitin varlığına yokluğuna göre gram pozitifler asit fast olarak adlandırılabilirler (Plump ve Hanson, 2011).

Bakteriler kısa hayat döngüsüne sahiptirler. Bu özeliğinden dolayı bakterilerin yeni ortamlara uyum sağlamalarına ve bu ortamlarda hızla çoğalmalarına sebep olmaktadır. olumsuz şartlarda ilk önce hassas olan bakteriler mutasyonla veya direnç genleri edinerek

dirençli hale gelebilmektedirler. Direnç genleri bakteriler arasında hızlı bir şekilde yayılmaktadır (Zhang vd., 2011). Bu yüzden, yeni bir antibiyotik geliştirilip kullanıma başlandığında bu antibiyotiğin doğal dirençli mikroorganizmalarla karşı karşıya gelmesi uzun sürmemektedir (D'Costa vd., 2006; 2011).

Bakteriler direnç mekanizmasını üç yolla kazanırlar. İlki bir bakteri türünün tüm hücrelerinde görülen dirençtir. Örneğin *Pseudomonas aeruginosa* türünün penisiline, gram negatifin vanakomisin'e, elektron transport sistemi bulunmayan anaeroplarda aminoglikozid direnci buna örnek gösterilebilir. İkinci direnç mekanizması ise uzun yıllar kullanılan antibiyotik sonucu dirençli türlerin ortaya çıkmasını ifade eden primer dirençtir. Üçüncü direnç mekanizması ise sekonder diye adlandırılan kazanılmış direnç mekanizmasıdır. Bu mekanizma ise belirli tedaviler sırasında seleksiyon veya spontan mutasyonlarla bakterinin eskiden duyarlı olduğu bir antibiyotiğe dirençli hale gelmesi şeklinde çalışır. Kromozomal, plazmid bu mekanizmaya aracı olabilir.

Bakteriler antibiyotiklere karşı kendilerini korumak zorunda olmadıkları durumlarda enerjilerini korumak için plazmidini kaybedeceği belirtilmiştir. (Bruun, 2001). Griffiths vd. (1990) ise ortam şartlarında ki olumsuzluklara rağmen bakterilerin direnç plazmidlerini taşımaya devam ettiklerini ancak uzun süre besin eksikliğinde antibiyotik direncinin serbest bırakılacağını belirtmişlerdir. Bakterilerde antimikrobiyal maddelerin etkilerini kaldırmak için gerekli olan enzimlerin besin eksikliğinde ya yok olduğu ya da aktifliğini kaybettiği belirlenmiştir. Fakat bakterinin besinli ortama dönmesi ile direncin geri şekilleneceği bildirilmiştir. Kliniksel enterokok izoleleri antibiyotiklerin çoğuna karşı direnç kazandıklarından, bunların sebep oldukları enfeksiyonların tedavileri de zorlaşmaktadır (Jones vd., 1986a). Enterokoklar transpozon ve dirençli plazmidlerini değişik bakterilere transfer etme yeteneğine sahip olduklarından, dirençli bakterilerin gen deposu durumundadırlar (Jones vd., 1986b).

1.5. Antibiyotik Direnç Genleri

Antibiyotik direnç genleri detoksifikasyon, salgılama ve işaret gönderme gibi yollarla dirençle alakalı olmayan fizyolojik fonksiyonların genetik durumlarından meydana gelmektedir (Baquero vd., 2008; Martínez, 2008). Hedef proteinleri kodlayan bu genler gerçek antibiyotik direnci olarak gelişmiştir. Bu yüzden tüm bakteri genomları antibiyotik direnç genleri bulundurulabilir (Wright, 2007). Bu yüzden ki antibiyotik direnci sadece

patojen bakterilerle sınırlı kalmamaktadır. Bu direnç çevresel bakteriler arasında da geniş bir şekilde yayılmaktadır. Doğal ekosistemler serbest yaşayan mikroorganizmalar arasında bulunan geniş genetik farklılıklardan dolayı direnç mekanizmalarının popüler noktalarıdır. Mikrobiyal antibiyotik direnci ile ilgili gen toplulukları rezistom olarak adlandırılmaktadır. Bu kavram hem gerçek direnç belirteçlerini hem de mutasyonla değişen ilk genleri içermektedir (Levy ve Marshall, 2004). Karasal ve sucul bakteriler yer altı suları ve Antartik suları gibi el değmemiş bölgelerde bile direnç havuzlarının olduğu bildirilmektedir (Martínez, 2008; Bhullar vd., 2012).

Çevrede bulunan antibiyotiklerin bakterilere etki ederek bakterilerin çeşitli mekanizmalarının bozulmasına neden olmaktadır. Bu bozulmalar bakterilerde öldürücü etkilere sebep olmaktadır. Antibiyotik konsantrasyonu düşük seviyelerde olsa bile bakterinin transkripsiyon yapması engellenmektedir (Yim vd., 2006; Goh vd., 2002.). Dirençli bakteriler çoğalma ve direnç genlerini yayma özelliğine sahiptirler (Kruse ve Sørum, 1994). Bu yüzden antibiyotiklerin oluşturduğu çevre kirliliğinin yerine bu organizmaların yayılması direncin yayılmasına sebep olan en önemli faktördür.

Günümüze kadar yapılan araştırmalar incelendiğinde bakterinin hangi direnç genini taşıdığı bilinmesine rağmen hangi bakterinin ne kadar direnç yaydığı bilgisi sınırlıdır. Diğer yandan oluşan yeni direnç mekanizmaları hakkında da yeteri kadar araştırma bulunmamaktadır. Oluşan bu soruları cevaba ulaştırmak için daha detaylı çalışmalar yapılmalıdır (Allen vd., 2010; Bush vd., 2011).

Bütün ekosistem birbiri ile etkileşim içinde olduğu için canlılarda kullanılan antibiyotikler sucul ortamlarda yüzlerce antibiyotik direnç genlerinin oluşmasına sebep olmuştur. Farklı antibiyotik sınıfları için farklı direnç genlerinin varlığı yapılan çalışmalarla bildirilmektedir. Bunlardan bazıları; Beta – Laktam Dirençli, Sulfonamid Dirençli, Makrolit-Linkosamit-Streptogramin, Kloramfenikol ve Vankomisin Dirençli, Tetrasiklin Dirençli, Aminoglikozit Dirençli (ADG)'dir.

1.6. Literatür Çalışması

Yerleşim alanlarındaki yoğun nüfus artışı, atıkların bilinçsizce alıcı ortamlara bırakılması ve arıtım işlemlerinin yetersiz oluşu ya da hiç olmayışı gibi etkenlerden dolayı sucul ortamlarda devamlı kirlenmeler meydana gelmektedir. Aynı zamanda zirai alanlarda da bilinçsizce ve kontrolsüz olarak kullanılan antibiyotikler alıcı ortamlara karıştıklarında burada bulunan bakterilerde direnç gelişimini hızlandırmaktadır. Günümüzde yapılan araştırmalar sucul ortamlarda özellikle balık çiftliklerinde bilinçsiz ve yanlış kullanılan antibiyotiklerden dolayı sucul ekosistemlerde antibiyotik dirençli bakterilerin arttığını göstermektedir (Kümmerer, 2009). Dirençli bakterilerin direnç genlerini diğer bakterilere (patojen ve patojen olmayan) aktardığında sorunun boyutu daha da büyümektedir.

Bakteriyel balık hastalıklarının teşhisine olanak sağlayan metotların artması ile beraber tedavi alternatifleri de artmaktadır. Su ürünleri sektöründe kullanımı 1940'lı yıllara dayanan antibiyotiklere 1985'li yıllarda yenileri eklenmiş sülfadiazin, oksitetrasiklin, kloramfenikol, kanamisin, oksalidik asit ve flumequin gibi antibiyotikler bakteriyel balık hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır (Austin ve Austin, 2007).

Sanders ve Sanders (1979), *Enterobacter cloacae* ve *Citrobacter freundii* benzeri bakterilere kromozomal beta- laktamazların geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı direnç geliştirdiklerini tespit etmişlerdir. Danimarka'da yapılan bir araştırmada 3 farklı balık çiftliği ve kirlilik bulunmayan akarsudan izole edilen 296 adet bakteri suşu (202 suş çiftliklerden ve 94 suş akarsudan) incelenmiştir. İki grup bakterinin oksitetrasikline karşı geliştirdiği direnç araştırılmıştır. Oksolinik asit dirençliliği incelendiğinde balık çiftliklerinde ki ve akarsudaki bakterilerde sırasıyla %27 ve %16 olarak tespit edilmiştir. Bakterilerin iki antibiyotiğe karşı geliştirdikleri direnç karşılaştırıldığında ise çiftliklerden izole edilen bakterilerde %6 iken dereden izole edilen bakterilerde %4 oranında olduğu tespit edilmiştir (Spanggaard vd.1993)

Yayın balıklarından izole edilen ve sularda bulunan bakterilerde yapılan çalışmada ise oksitetrasiklin ile tedavi sırasında ve sonrasında oluşan direnç durumu incelenmiştir. Tedavi sırasında ve sonrasında yayın balıkları ve sulardan izole edilen bakterilerin direnç seviyelerinde bir artış olduğu ve bu direnç seviyesinin %20'lerin altından %40'lara çıktığı rapor edilmiştir (DePaola vd.,1995). Oksitetrasiklinle ilgili bir diğer çalışma ise Schmidt vd. (2000) yapmış olduğu çalışmadır. Danimarka'nın sucul ortamdan izole edilen 313 *Aeromonas* türlerinden %69'sının oksitetrasikline karşı dirençli olduğu rapor edilmiştir. Kültür edilebilir bakterilerdeki ortalama görünme sıklığını %4,8 oksitetrasiklin dirençli olarak bulmuşlardır.

Danimarka’da yapılan diğ er bir çalışmada ise balık çiftliklerinden izole edilen motil *Aeromonas* bakterilerinin tetrasiklin direnç genleri ve integronların varlığı araştırılmıştır. İzole edilen 313 suşun %37’si tetrasiklin ve trimetoprim-sulfametoksazol antibiyotiklerine karşı direnç göstermiştir. İzolatların trimetoprim-sulfametoksazole karşı dirençli 141 izolattan 135 tanesinin de *Class I* integron gen kaseti taşıdığını belirlemişlerdir. Bakterilerin 216 tanesi oksitetrasikline karşı dirençli iken izolatların arasında sadece 66 tanesinde *tet* genleri taşıdığı tespit edilmiştir. Bunlar arasında *tetA* (19), *tetD* (6) ve *tetE* (39) genleri bulunmaktayken 3 izolattın ise 2 *tet* genini (AD, AE, DE) bulundurduğunu bildirmişlerdir.

Guardabassivd.’nin(1999) sucul *Acinobacter* spp.’nin kloramfenikole karşı geliştirmiş olduğu direnç %50 oranında belirlenirken amoksisilline karşı %27 oranında, oksitetrasikline, sulfametaksazol karşı %26 oranında ve %7 oranında gentamisine karşı direnç gösterdiği tespit edilmişler. Farklı bir çalışmada ise atık sularda ve balık çiftliklerinden izole edilen *Acinobacter* türlerinin oksolinikasite karşı direncinde artış olduğu saptanmıştır (Guardabassi vd., 2000).

Brinas vd. (2002) yaptıkları çalışmada hayvansal gıdalardan ve sağlıklı hayvanlardan izole ettikleri 124 adet ampisilin dirençli *E. coli* suşlarında TEM, SHV ve OXA tipi β -laktamaz genleri PCR yöntemiyle araştırmışlardır. PCR sonuçlarında 103 izolattın TEM yönünden pozitif fakat SHV ve OXA yönünden negatif olduğu ve 3 *E.coli* suşu OXA reaksiyonu ve 1 suşun da SHV reaksiyonu yönünden pozitif olduğu belirlenmiştir. Diğ er 17 *E. coli* suşu bu üç enzim yönünden negatif sonuç gösterdiği tespit edilmiştir.

Ozturk vd. (2007) sazan balığı (*Cyprinus carpio*) yetiştiricilik işletmelerindeki balıkların deri, böbrek, beyin ve karaciğ erlerinden izole ettikleri *Aeromonas hydrophila* izolatlarının antibiyotik hassasiyetlerini belirlemişler ve bakterilerin danofloksasin, enrofloksasin, gentamisin, siprofloksasin, neomisin ve trimetoprim-sulfametoksazol antibiyotiklerine karşı hassas ve ampisilin, oksitetrasiklin, ve streptomisine karşı dirençli olduklarını tespit etmişlerdir.

Sarter vd. (2007) kültürü yapılan yayın balıklarından izole ettikleri Gr(-) bakterilerin antibiyotik dirençlerini belirlemek için yaptıkları çalışmada 92 adet bakteri izole etmişler ve bakterilerin oksitetrasiklin, kloramfenikol, trimetoprim-sulfametoksazol, nitrofurantion, nalidiksik asit ve ampisilin antibiyotiklerine karşı hassasiyetlerini belirlemişlerdir. İzole edilen bakteriler *Enterobacteriaceae* (%49,1), *Pseudomonas* (%35,2), ve *Vibrionaceae* (%17,8) üyesi olduğu belirlenmiştir. Bakterilerin %17,8’i ampisilin, oksitetrasiklin, trimetoprim-sulfametoksazol, nalidiksik asite dirençli iken %15,1 oranında oksitetrasiklin,

trimetoprim-sulfametoksazol, nalidiksik asite dirençli olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu çalışmada 3 çiftlikten izole edilen bakterilerdeki MAR indeksi değerinin 0,36-0,62 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Phuong Hoavd.'nin (2008) Kuzey Vietnam'daki atık su ve karidesler ile yapmış oldukları çalışmada sulfonamid dirençli bakterilerde *sul1*, *sul2* ve *sul3* genlerini belirlemiştir. Çalışmada izole ettikleri bakterilerde en fazla *sul1* genini belirlemiştir. *sul1* genini *sul2* geni ve ardından *sul3* geni takip etmiştir. Bakterilerin yalnızca %2'sinde üç genin hepsi belirlenmiştir. Araştırmacılar bu atık su ve karides havuzlarının hem *sul* genleri bakımından hem de plazmid bakımından bakteriler arasında gen aktarımı için uygun bir ortam olabileceğini rapor etmişlerdir.

Durmaz ve Turk (2009) alabalık çiftliklerinden ve su örneklerinden izole ettikleri motil *Aeromonas* izolatlarında bakterilerin siprofloksasin ve enrofloksasin antibiyotiklerine karşı %96 oranında, amikasin %92,3 oranında; oksolinik asit, flumequin, imipenem, mezlosilin, piperasilin ve sefotaksime %76,9-84,6 oranında hassas olduklarını ama oksitetrasiklin, streptomisin ve karbenisilin antibiyotiklerine karşı yüksek seviyelerde dirençli olduklarını tespit etmişlerdir.

Balta vd. (2010) Doğu ve Batı Karadeniz Bölgesinde yapmış oldukları çalışmada balık üretim çiftliklerinden izole ettikleri 44 oksitetrasiklin dirençli *Yersinia ruckerii* suşlarından 16 tanesinin *tet A* ve 2 tanesinin de *tet B* direnç geni taşıdıklarını tespit etmişlerdir. Bir diğer çalışma ise Durmaz vd. (2012) Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi'nde gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan işletmelerdeki balıklardan izole ettikleri *Flavobacterium psychrophilum* izolatlarında antibiyotik duyarlılıklarını araştırmışlardır. Çalışmada bakterilerin neomisin, amoksisilin, ampisilin, eritromisin ve kanamisin antibiyotiklerine karşı dirençli oldukları vurgulanırken oksitetrasiklin ve enrofloksasine duyarlı olduklarını belirlemiştir.

Boran vd. (2013) Karadeniz Bölgesinde deniz kafeslerinde yetiştiriciliği yapılan istavrit balıklarından izole ettikleri bakterilerin yarısından fazlasının streptomisin, sulfametoksazol, gentamisin, sefalotin ve ampisilin antibiyotiklerine karşı direnç gösterdiğini ve florfenikol ve kloramfenikol antibiyotiklerine karşı hassas olduklarını bildirmişlerdir. Bakterilerde direnç sağlayan genler arasında en fazla *bla_{TEM}* ve *tet B* genlerinin olduğu rapor edilmiştir.

Su vd. (2011) Çin'in güneyindeki balık çiftliklerinden izole ettikleri *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerde antibiyotik direnci, tetrasiklin, sulfonamid ve *Class I* integron gen kaseti varlığını araştırmışlardır. Araştırmacılar çalışmalarındaki antibiyogram testi sonuçlarında

bakteri izolatlarının %80'inin ampisiline, %52'sinin tetrasikline ve %50'sinin trimetoprime dirençli olduğunu bildirirken 203 izolatın %98,5'inin bir veya daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli olduklarını rapor etmişlerdir. Çalışmada, MAR indeksi 0,56 olarak belirlenmiştir. İzolatların %50'sinden fazlasında *tetA*, *tetC* ve *sul2* genleri tespit edilmiştir. Aynı araştırmada 170 (%83,7) izolatta *int1* geninin varlığı saptanmıştır.

Jiang vd. (2012) Çin'deki yetiştiriciliği yapılan balıklardan izole ettikleri *E. coli* izolatları plazmid kaynaklı kinolon direnç genleri ve beta-laktamazların karakterizasyonunu araştırdıkları çalışmada toplam 218 adet *E. coli* izole etmişlerdir. İzole edilen bakterilerdeki duyarlılık test edilen antibiyotiklerden sadece ampisilin ve siprofloksasine karşı olmuştur. Ayrıca 59 suşta kinolon direnç genleri belirlenmiş ve bunlar arasında en çok rastlanan direnç genleri *qnr B* (33), *qnr S* (21) ve *qnr D* (5) olarak rapor edilmiştir.

Shah vd. (2012) Tanzanya ve Pakistan'da yaptıkları çalışmada balık çiftliklerindeki su, sediment ve balıklardan izole ettikleri bakterilerdeki antibiyotik direnç genlerini araştırmışlardır. Söz konusu çalışmada tetrasikline ait *tet A(A)* ve *tet A(G)* genleri, amoksisiline ait *bla_{TEM}* geni, streptomisine ait *str A* ve *str B* genleri, kloramfenikole ait *cat1* geni ve eritromisine ait *mef A* geni belirlenmiştir. Ayrıca gen kasetleri ile ilgili *int1* geni de bulunmuştur. Bakterilerdeki çoğul antibiyotik direnç (MAR) indeksi değerinin 0,2-1 arasında değişiklik gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Boyacioglu ve Akar (2012), gökkuşağı alabalıklarından izole ettikleri patojen bir bakteri olan 20 adet *Flavobacterium psychrophilum* izolatlarında antibiyotik duyarlılığının en fazla oksitetrasiklin, enrofloksasin, siprofloksasin ve florfenikolde olduğunu tespit etmişlerdir. Altun vd. (2013) gökkuşağı alabalıklarından izole ettikleri 15 adet *Yersinia ruckerii* izolatlarının antibiyotiklere karşı hassasiyetlerini belirlemişlerdir. Bakterilerin florfenikol, eritromisin, oksitetrasiklin, trimetoprim-sulfametoksazol antibiyotiklerine karşı dirençli olduklarını belirlemişlerdir. Özaktas vd. (2012) tatlı su balığı olan *Alburnus alburnus* balığının yüzeyinden 12 cins bakteri izole etmiştir. Bakterilerin yaklaşık %95'i ampisiline, %93'ü kloramfenikole ve %88'i ise kanamisin ve streptomisin antibiyotiklerine karşı direnç göstermiştir fakat bu bakterilerin hiç birisinde plazmid bulunamamıştır.

Korun vd. (2013) Ege Bölgesi sahil kesimlerinde yetiştiriciliği yapılan levrek balıklarından izole ettikleri *Vibrio alginolyticus* suşlarının antimikrobiyal direnci ve plazmid profillerini araştırmışlardır. İzole ettikleri 15 suş kanamisin antibiyotiğine karşı hassas iken ampisilin, basitrasin ve streptomisin antibiyotiklerine karşı dirençli olduklarını bildirmişlerdir. Bakterilerin 68-126 kb büyüklüklerinde 2-3 tane plazmid taşıdıklarını rapor etmişlerdir.

Balıklarda *Streptococcus* cinsi etkenlerden kaynaklanan infeksiyonlara karşı eskiden beri antibiyotikler kullanılmaktadır. Ancak bu kimyasalların gelişi güzel kullanımı antibiyotiklere olan direnci arttırmıştır (Robinson vd., 1996; Katao vd., 1982). Ravelo vd. (2001), farklı coğrafik orijinli *L. garvieae* suşları ile antibiyogram testi çalışmaları gerçekleştirmiştir. Suşların tümünün enrofloksasin ve nitrofurantoin karşı duyarlı olduğunu oksolinik asit ve sulfametoksazol-trimetoprim karşı ise dirençli olduğu bildirirken eritromisin, kloramfenikol, oksitetrasiklin ve ampisiline karşı ise sonuçların orijine göre değişken olduğunu bildirmiştir. Türkiye’de bu konuda ilk çalışma Kubilay vd. (2005) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada, 9 farklı *L. garvieae* suşunun disk difüzyon tekniği antimikrobiyal duyarlılıklarını incelemişler aynı zamanda E testi ile eritromisin antibiyotiğinin minimal inhibitör konsantrasyon değerlerini incelemişlerdir.

1.7. Çalışmanın Amacı ve Gerekeçesi

Canlılarda görülen bakteriyel hastalıkların kontrolünde ve tedavisinde antibiyotikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde ise kültür balıkçılığında kullanılan antibiyotiklerin kontrol altında tutulmamasından dolayı, çiftlik sahipleri antibiyotikleri kolaylıkla elde edebilmektedir. Kültür balıkçılığında görülen hastalıkların sebebi ise araştırılmadan, hastalık etkeni tam olarak teşhis edilmeden ve antibiyogram testi yapılmadan gelişi güzel antibiyotik kullanımı sonucu patojenik ve patojenik olmayan bakterilerin kullanılan antibiyotiklere karşı direnç oluşumu artmaktadır. Diğer yandan kullanılan antibiyotiklerin fazlalık ve kalıntıları çevredeki sedimentte birikmektedir. Bu tür birikimler bakteriler üzerinde seçici etki yaparak sadece ortamdaki antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin çoğalmasını sağlamaktadır. Antibiyotik direnç geninin sucul ortamda bulunan diğer bakteri türlerine yayılma riski vardır. Ayrıca, antibiyotiğe dirençlilik geni insan ve hayvan patojenleri arasında geçiş yapabilmektedir. Dolayısıyla antibiyotik dirençli genlerin varlığını ve hareketliliğini belirlemek oldukça önemlidir. Türkiye’de şu ana kadar balık çiftliklerinde kullanılan antibiyotiklerin bakterilere etkileri, direnç oluşturan patojen bakterilerin listesi ve hangi patojenik bakterinin hangi antibiyotiğe karşı direnç kazandığı ile ilgili çalışmalar yetersizdir.

Bu çalışmada Doğu Karadeniz bölümünde bulunan Rize ve Trabzon illerinde ki alabalık çiftliklerinden on yıl boyunca izole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları, ihtiva ettikleri direnç genleri ve aktarılan plazmidler de hangi gen bölgesini taşıdıkları belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, çalışmada elde edilecek sonuçlar Doğu Karadeniz Bölgesi’nde

antibiyotik dirençlilik profilinin ne olduğu, direnç gösterilen antibiyotik ve gruplarına karşı nasıl bir önlem alınması gerektiği konusunda katkı sağlayacaktır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Bakteri Materyali ve Temini

Çalışmada kullanılan bakteriler 2004-2014 yılları arasında Doğu Karadeniz Bölgesi'nde bulunan tatlı ve tuzlu sularda yaşayan balıklardan çeşitli zamanlarda izole edilen bakterilerden oluşmaktadır. Tablo 4.'de listesi verilen bakteriler izole edildikten sonra -80°C'de stoklanmıştır.

Tablo 4. Çalışmada kullanılan bakteri türleri ve sayıları

Bakteri türleri	n	Bakteri türleri	n
<i>Aeromonas salmonicida</i>	1	<i>Pseudomonas caryophyllii</i>	1
<i>Aeromonas caviae</i>	9	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	8
<i>Aeromonas hydrophila</i>	15	<i>Pseudomonas luteola</i>	5
<i>Aeromonas schubertii</i>	1	<i>Pseudomonas putida</i>	2
<i>Aeromonas sorbia</i>	4	<i>Pseudomonas solanacearum</i>	1
<i>Aeromonas veronii</i>	1	<i>Pseudomonas spp</i>	1
<i>Burkholderia spp</i>	1	<i>Rahnella aquatilis</i>	1
<i>Burkholderia cepacia</i>	7	<i>Serratia entomophila</i>	1
<i>Cedecea davisae</i>	1	<i>Serratia liquefaciens</i>	3
<i>Cedecea lapegei</i>	1	<i>Serratia odorifera</i>	1
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	3	<i>Shigella spp</i>	1
<i>Citrobacter freundii</i>	1	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1
<i>Chromobacterium spp</i>	1	<i>Vibrio anguillarum</i>	6
<i>Enterobacter asburiae</i>	1	<i>Vibrio fluvialis</i>	4
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	<i>Vibrio mimicus</i>	3
<i>Escherichia vulneris</i>	1	<i>Vibrio ordalli</i>	1
<i>Morganella morganii</i>	1	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	2
<i>Pantoea spp</i>	2	<i>Vibrio vulnificus</i>	2
<i>Photobacterium damsela</i>	1	<i>Yersinia pestis</i>	2
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1	<i>Yersinia rohdei</i>	2
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	1	<i>Yersinia ruckeri</i>	26
<i>Pseudomonas diminuta</i>	1		

2.2. Bakterilerin Tür Teşhisi

2004-2014 yılları arasında izole edilen bakterilere tür teşhisi amacıyla analizler yapılmıştır. Bunun için türü belli olmayan bakteriler Triptik Soy Agar (TSA)'da çoğaltıldıktan sonra bakteriler koloni, renk ve şekillerine göre incelenerek saflıkları belirlenmiştir. Saf olmayan bakterilere saflaştırma işlemi uygulanarak stoklanmıştır. Saf olarak çoğaltılan bakterilere Gram boyama yapıldıktan sonra oksidaz testi yapılmıştır. Oksidaz testinin sonuçlarına göre biyokimyasal testlere yön verilmiştir. Oksidaz negatiflere API 20E, pozitiflere ise API 20NE (Biomerieux, Marcy l'Etoile, Fransa) panel test sistemleri uygulanmıştır. Ayrıca türlerin tanımlanmasında *Aeromonas* ve *Pseudomonas* için Pseudomonas-Aeromonas seçici (GSP) agar besi yeri kullanılmıştır. GSP agarda sarı renk oluşturan koloniler *Aeromonas* spp. ve mor renk oluşturan koloniler ise *Pseudomonas* spp. olarak kabul edilmiştir. GSP 'de hava kabarcığı oluşturduğunda ise *Aeromonas hydrophila* olarak kabul edilmiştir. Diğer yardımcı testler ise Xylose ve methylred testidir. Xylose testi *Yersinia ruckeri* ve *H. alvei* için ayırt edici olarak kullanılmıştır. Xylose'un sarı renk oluşturması bakterinin *H. alvei* olduğunu, renk değiştirmemesi ise bakterinin *Yersinia ruckeri* olduğunu göstermiştir.

2.3. Antibiyogram Testi

Stoktan alınan tüm bakterilerin antimikrobiyal hassasiyet testleri disk difüzyon metodu ile yapılmıştır (CLSI, 2013). Bu amaçla, saf olarak çoğaltılan stok kültürden tek koloni halinde alınan bakteriler içerisinde steril saf su bulunan 1000 µl'lik epondolf tüpüne konulmuştur. Hazırlanan bakteri süspansiyonu Müller Hinton Agar üzerine iyice yayılmıştır. Daha sonra agar yüzeyine çeşitli konsantrasyonlarda antibiyotik emdirilmiş diskler steril pens yardımı yerleştirilerek 30°C'de 25-30 saat inkubasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu elde edilen zonlar aşağıda Şekil 1.'de gösterilmiştir.



Şekil 1. 25-30 saat inkübasyon sonucu elde edilen antibiyogram

Oluşan zonların çapları ölçülerek kayıt edilmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde CLSI (2013) kitapçığındaki sınır değerler kullanılmıştır. Aynı kitapçığa göre Tablo 5.'te verilen maksimum zon çaplarının altındaki değerler ise bakterilerin kullanılan antibiyotiğe karşı dirençli olduğu kabul edilmiştir.

Tablo 5. Antibiyogram testi için kullanılan antibiyotikler

Antibiyotik Adı	Sembol	Zon çapı (≤)	Antibiyotik Adı	Sembol	Zon çapı(≤)
Florfenikol	FFC30	12	Nalidiksic Asit	NA30	13
Oksalik Asit	OA2	13	Rifampisin	RA30	12
Enrofloxosin	ENR5	14	Cefotoksime	CTX30	22
Ticarsilin	TIC 75	14	Sulphamethoksazole	SMZ100	10
Netilmisin	NET 30	12	Aztreonem	ATM30	17
Trimethoprim	W5	10	Cephalothin	KF30	14
Amikosin	AK30	14	Imipeneu	IMP10	19
Ofloksasin	OFX 5	13	Chloramfenikol	C30	12
Gentemisin	CN10	12	Ceftriaksone	CRO30	14
Kanamisin	K30	13	Eritromisin	E15	17
Tigesiklin	TGC 15	11	Oksitetrasiklin	T30	11
Piperasilin	PRL100	17	Cotrimoksazole	SXT25	10
Ampisilin	AM10	13	Tetrasiklin	TE 30	11
Streptomisin	S10	11	Amoksisillin	AX 25	17
Neomicin	N5	12			

2.4. oğul Antibiyotik Direnç (MAR) İndeksi

Tüm izolatlar için çoğul antibiyotik direnç (MAR) indeksi değerleri hesaplanmıştır (Krumperman, 1983). Tek bir izolat için MAR indeksi hesaplanırken $MAR=A/B$ formülünden yararlanılmıştır. A: İzolatların dirençli olduğu antibiyotik sayısını B ise, izolatların test edildiği toplam antibiyotik sayısını ifade etmektedir. MAR indeks değeri 0,2'den büyük olması örneklerin izole edildiği ortamın insani veya hayvansal bir kirliliğe maruz kaldığını ve yüksek risk içerdiğini göstermektedir. Eğer bu değer 0,2'den küçük veya 0,2'ye eşitse bu ortamlarda antibiyotikler risk içermemektedir (Krumperman, 1983).

2.5.DNA İzolasyonu

Brain Heart Infision (BHI) Broth besiyerinde üretilen bakteriler çökertme işlemi için 3000x g'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra üst kısım tüpten atılmıştır. Daha sonra üzerine 0,5 ml steril saf su (RNase ve DNase içermeyen) eklenerek homojen hale getirilmiştir. Ardından 10 dakika 100°C'de kaynatılmış ve soğumaya bırakılmıştır. Örnekler soğutma işleminden sonra 17000 x g'de 5 dakika santrifüj edilerek öktürölmüştür. Örneklere ait kalıp DNA üst kısımda bulunan sıvı kısımdan kullanılmıştır (Boran vd., 2013).

2.6. Plazmid DNA İzolasyonu

Bakterilerin plazmid DNA izolasyonu OMEGA plazmid izolasyon kiti (E.Z.N.A) kullanılarak yapılmıştır. Özetle BHI Broth besi yerinde gece költürü yapılan bakterilerden 1,5 ml'lik epondorf tüplerine alındıktan sonra 5000 x g'de 2 dk süreyle santrifüj işlemi uygulanarak öktürölmüştür. Daha sonra üretici firmanın açıkladığı şekilde plazmidizolasyonu yapılmıştır. Elde edilen plazmid elektroforez işlemine kadar -20°C'de saklanmıştır. Daha sonra %1'lik agaroz jelde yürütölmüş ve plazmidlerin büyüklükleri belirlenmiştir.

2.7. Antibiyotik Direnç Genlerinin Tespiti

DNA izolasyonu ve plazmid izolasyonu sonucunda elde edilen örneklerin antibiyotik direnç genleri (tetrasiklin - *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*; sulfonamid - *sul1*, *sul2*, *sul3*; beta laktam - *ampC*, *blaTEM*, *blaPSE*, *blaCTX-M*; aminoglikozit - *aadA*; kloramfenikol - *cmIA*; Class 1 ve Class 2 integron gen kaseti) varlığı Tablo 6.'da gösterilen primerler kullanılarak PZR ile belirlenmiştir. PZR işlemlerinde ekstrakt edilen genomik DNA lar kalıp DNA olarak kullanılmıştır. PZR karışımları (buz içerisinde) 20 µl'lik hacimlerde hazırlanmış olup içerisine 100 ng kalıp DNA, 12,5 µl 2X Master Mix PCR karışımı (Qiagen Master PCR Kit, Qiagen Molecular Biochemicals), 100 ng her bir primer ve steril saf su koyulmuştur.

Örneklerin antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesinde Thermo Hybaid ThermalCycler (ThermoElectronInc., Waltham, USA) cihazı kullanılmıştır. PCR işleminde örnek DNA'sı içermeyen reaktif negatif kontrol ve içerisinde kontrol edilen primeri koyulan pozitif kontrol kullanılmıştır. Reaksiyon toplamda 30 döngüde tamamlanmış olup döngüler 94°C'de 30 saniye denaturasyon, 48-59°C'de 30 saniye tutunma ve 68°C'de 45 saniye uzama şeklinde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon ilk döngüye başlamadan önce 94°C'de 2 dakika ve son döngüden sonrada 68°C de 5 dakika bekletilmiştir. Elde edilen ürünler RedSafe Solution ile 0,5 x TAE tampon sisteminde %1'lik agaroz jel üzerinde 100 V'da 1 saat yürütülmüştür. Jel görüntüleri ise jel görüntüleme sistemi (KODAK Gel Logic 200) kullanılarak kayıt edilmiştir.

Tablo 6. Antibiyotik direnç genleri ve integron gen kasetlerinin belirlenmesinde kullanılan primerler

Primer Adı	Sekans (5'-3')	Hedef Gen- Bölge	PCR Ürünü Boyutu (bp)	Tutunma Sıcaklığı (°C)	Kaynaklar
Tet A FW	GCTACATCCTGCTTGCCTTC	<i>tet A</i>	210	55	Ng vd., 2001
Tet A RV	CATAGATCGCCGTGAAGAGG				
Tet B FW	TTGGTTAGGGGCAAGTTTTG	<i>tet B</i>	659	54	Ng vd., 2003
Tet B RV	GTAATGGGCCAATAACACCG				
Tet C FW	CTTGAGAGCCTTCAACCCAG	<i>tet C</i>	418	55	Ng vd., 2005
Tet C RV	ATGGTCGTCATCTACCTGCC				
Tet D FW	AAACCATTACGGCATTCTGC	<i>tet D</i>	787	54	Ng vd., 2007
Tet D RV	AAACCATTACGGCATTCTGC				
Sul1 FW	CGGCGTGGGCTACCTGAACG	<i>Sul 1</i>	433	59	Kerm vd., 2002
Sul1 RV	GCCGATCGCGTGAAGTTCCG				
Sul2 FW	GCGCTCAAGGCAGATGGCATT	<i>Sul 2</i>	293	59	Kerm vd., 2004
Sul2 RV	GCGTTTGATAACCGCACCCGT				
Sul3 FW	TCAAAGCAAATGATATGAGC	<i>Sul3</i>	787	48	Heuer ve Smalla, 2007
Sul3 RV	TTTCAAGGCATCTGATAAAGAC				
AmpC FW	TTCTATCAAMACTGGCARCC	<i>ampC</i>	550	48	Schwartz vd., 2003
AmpC RV	CCYTTTTATGTACCCAYGA				
TEM OT-1 FW	TTGGGTGCACGAGTGGGTTA	<i>blaTEM-OT12</i>	465	54	Arlet ve Philippon, 1991
TEM OT-2 RV	TAATTGTTGCCGGAAGCTA				
TEM OT-3 FW	ATGAGTATTCAACATTTCCG	<i>blaTEM-OT34</i>	859	45	Olesen vd., 2004
TEM OT-4 RV	CAATGCTTAATCAGTGAGG				

Tablo 6.'nin devamı

PSE1 FW	CGCTTCCCGTTAACAAGTAC	<i>blaPSE</i>	465	50	Zühlsdorf ve Wiedemann, 1992
PSE1 RV	CTGGTTCATTTAGATAGCG				
Cml A FW	TGTCATTTACGGCATACTCG	cml A	455	52	Sáenz vd., 2004
CmlA RV	ATCAGGCATCCCATTCCCAT				
AadA FW	TGATTTGCTGGTTACGGTGAC	aad A	284	52	Van vd., 2008
AadA RV	CGCTATGTTCTCTTGCTTTTG				
CTX-M-1 FW	GGTTAAAAAATCACTGCGTC	blaCTX-M1	863	49	Saladin vd., 2002
CTX-M-1 RV	TTGGTGACGATTTTAGCCGC				
5'-CS	GGCATCCAAGCAGCAAG	Class 1	Değişken	50	Lévesque vd., 1995
3'-CS	AAGCAGACTTGACCTGA				
hep51	GATGCCATCGCAAGTACGAG	Class 2	Değişken	55	White vd., 2001
hep 74	CGGGATCCCGGACGGATGCACGATTTGTA				

2.8. Gen Transferi (Konjugasyon)

Stok kültürden saflaştırılıp elde edilen bakterilerin antibiyotik direnç genlerinin aktarılıp aktarılmadığını belirlemek amacıyla gerçekleştirilen konjugasyon deneyinde Rice vd.'nin (1990) broth mating yöntemi modifiye edilmiştir. Özetle, izole edilen bakteriler verici olarak kullanılırken alıcı olarak *Escherichia coli*'nin K-12 J53-2 (Rifampisin dirençli) suşu kullanılmıştır. Verici ve alıcı hücreler ayrı ayrı antibiyotik içermeyen 3ml LB Broth besiyerinde logaritmik fazda çoğaltıldıktan sonra eşit hacimde karıştırılarak bir gece inkübatörde 35°C'de 10-12 saat atmosferik ortamda üretilmiştir. Transkonjugantların seçimi için 250 µg/ml rifampisin ve verici bakterinin dirençli alıcı bakterinin duyarlı olduğu antibiyotik konsantrasyonunu içeren (50 ve 100µg/ml) LB agar besiyeri kullanılmıştır (Rice vd., 1990). Konjugasyon deneylerinde her bir suşun taşıdığı direnç genleri açısından direnç genlerinin aktarılabilirliği ayrı ayrı belirlenmiştir. Elde edilen *E. coli* transkonjugantları -80 °C'de %15 gliserollü ortamda stoklanmıştır.

2.9. DNA Dizi Analizi

Bakterilerde tespit edilen direnç genlerinin PCR ürünlerinin sekansı öncesinde bazı örneklere PCR primerleri kullanılarak istenilen gen bölgesi çoğaltılmıştır. Daha sonra Qiagen QIAquick Gel Extraction Kit kullanılarak saflaştırıldı. Saflaştırma sonrasında son ürün ile birlikte primerler Macrogen Europe'a (Hollanda) gönderilerek dizi analizleri yaptırılmıştır. Daha sonra "National Center for Biotechnology Information" veri tabanları kullanılarak sekanslar karşılaştırılmıştır.

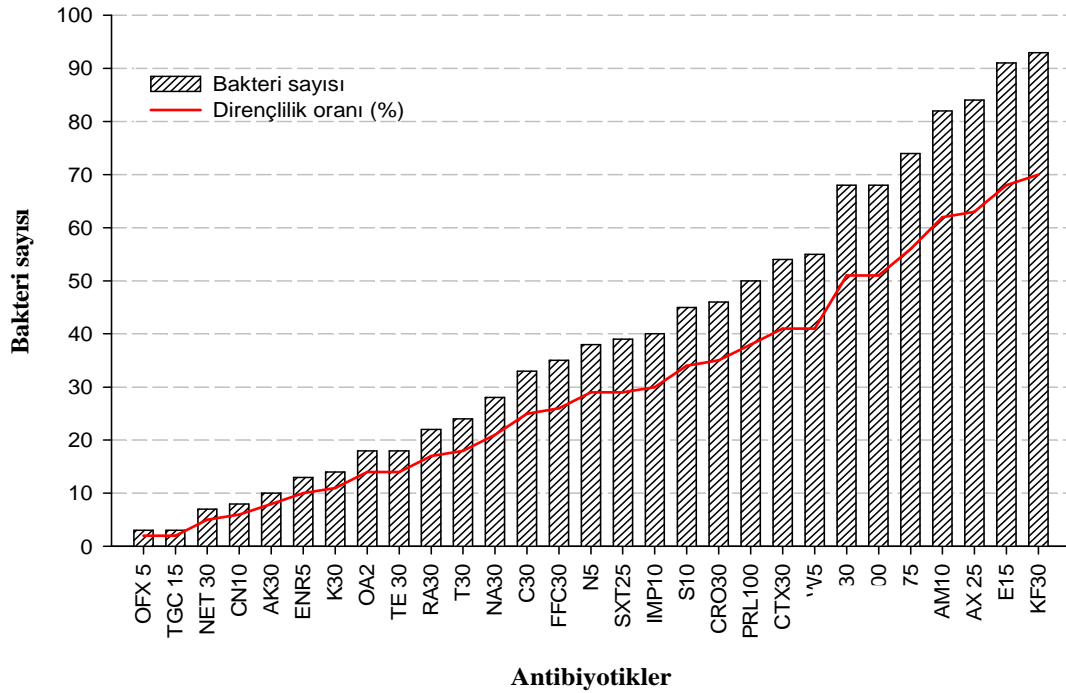
2.10. İstatistiksel Analizler

Çalışmada antibiyogram sonucunda elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve tablo haline getirilmesinde Office 2013 bilgisayar programı kullanılmıştır. Grafiklerin oluşturulmasında ise Sigma Plot11.0 paket programından yararlanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Antibiyotik Dirençliliği

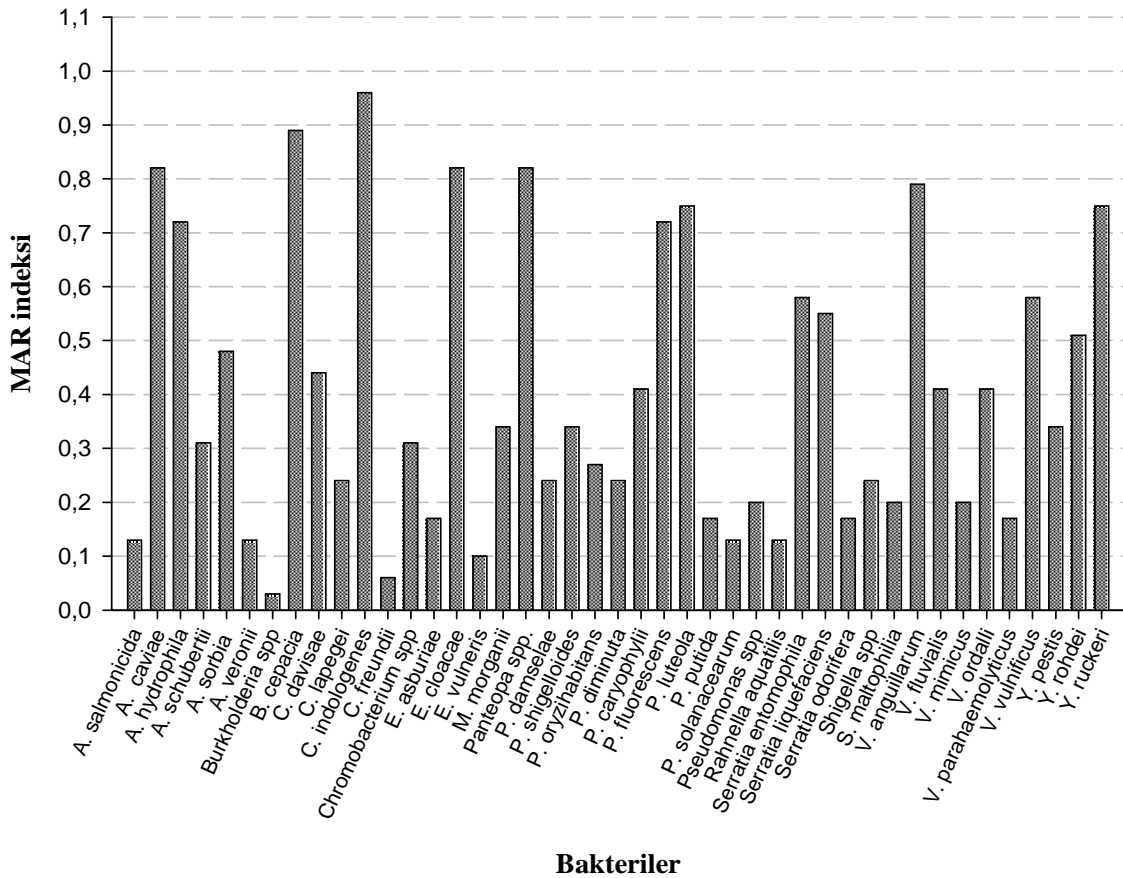
2004-2013 yılları arasına ait bakteri stoğu ve çalışma süresince izole edilen bakterilerin belirlenen antibiyotiklere karşı göstermiş oldukları direnç her bir bakteri türü için farklılık göstermektedir. Bakterilerin en hassas olduğu antibiyotik Ticarcilin (%100) ve Ofloxacin (%98) iken en dirençli olduğu antibiyotikler ise Eritromisin (%68) ve Cephalothin (%70) olarak sıralanabilir (Şekil 2). İzole edilen bakteriler antibiyogram disk testinde Ticarcilin (75 µg/disk), Ampisilin (10 µg/disk), Sulphamethoxazole (100 µg/disk), Aztreonem (30 µg/disk), Cephalothin (30 µg/disk), Eritromisin (15 µg/disk) ve Amoxycillin (25 µg/disk)'e karşı %50'den fazla direnç göstermişlerdir. Diğer taraftan bakterilerin hepsi Tigesikline (15 µg/disk) karşı tamamen hassas olup, Netilmisin (30 µg/disk), Amikosin (30 µg/disk), Ofloksasin (5 µg/disk) ve Gentamisin (10 µg/disk)'e karşı oluşan direnç ise %10'dan azdır (Tablo 7).



Şekil 2. Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç yüzdeleri ve dirençli bakteri sayıları

3.2. Çoğul Antibiyotik Direnç (MAR) İndeksi

Eldeki tüm bakteri türlerine 29 farklı antibiyotik uygulanarak MAR indeksi belirlenmiştir. Toplam 43 bakteri türünden 29'unun MAR indeksi 0,2 den yüksek bulunmuştur (Şekil 3). *Enterobacter asburiae* (n:1), *Aeromonas veroni* (n:1), *Aeromonas salmonisida* (n:1), *Pseudomonas putida* (n:2), *Pseudomonas solanacearum* (n:1), *Serratia odorifera* (n:1), *Vibrio parahaemolyticus* (n:2), *Citrobacter freundii* (n:1), *Escherichia vulhualis* (n:1), *Rahnella aquatilis* (n:1) türlerinin MAR indeksi bahsedilen sınır değerinin (0,2) altında hesaplanmıştır. En düşük MAR değerine *Burkholderia* spp (0,03) ve *Citrobacter freundii* (0,06) türleri sahiptir. Eldeki tüm bakteriler içerisinde *Chryseobacterium indologenes* 29 antibiyotikten 28 tanesine direnç gösterdiğinden dolayı en yüksek (0,96) MAR indeksi hesaplanmıştır.



Şekil 3. Çalışılan bakterilerin MAR indeksleri

3.3. Antibiyotik Direnç Genlerinin Dağılımı

Çalışılan bakterilerin tümüne tetrasiklin grubuna ait 4 gen (*tetA*, *tetB*, *tetC* ve *tetD*), sulfonamid grubuna ait 3 gen (*sul1*, *sul2* ve *sul3*), beta laktam grubuna ait 5 gen (*ampC*, *bla_{TEM-OT12}*, *bla_{TEM-OT34}*, *bla_{PSE}* ve *bla_{CTX-M1}*), amfenikol grubuna ait *cmlA* geni, aminoglikozit grubuna ait *aadA* geni ile birlikte Class 1 ve Class 2 integron gen kasetlerinin varlığı moleküler yöntemlerle araştırılmıştır. Tespit edilen gen bölgeleri tablo 3.2.'de gösterilmiştir. Çalışılan bakterilerde %51,12 gibi bir oranla Class 1 integron gen kaseti en fazla rastlanan direnç geni olmuştur. %36,84 'lük bir oranla *ampC* geni Class 2 integron gen kasetinden sonra çalışılan örneklerde en fazla rastlanan gen bölgesi olmuştur. *ampC* geninden sonra %24,06'lık bir oran ile ikinci olarak en fazla rastlanan gen bölgesi *sul1* gen bölgesi olmuştur.

Sulfonamid grubuna ait aranan genler arasında *sul2* gen bölgesi çalışılan bakterilerde bulunamamıştır. Beta laktam grubunda ise *ampC* gen bölgesinden sonra en fazla rastlanan genler sırasıyla *bla_{TEM-OT12}* (%11,27) , *bla_{PSE}* (%8,27), *bla_{CTX-M1}* (%5,26) ve gruba ait en az rastlanan gen bölgesi *bla_{TEM-OT34}* (%2,25) olmuştur. Amfenikol grubuna ait *cmlA* geni %6,76 oranında bulunurken Class2 integron gen kaseti örnekler de %16,54 oranında bulunmuştur.

Çalışılan 133 suştan sadece *Pseudomonas diminuta*, *Serratia entomophila*, *Aeromonas schubertii*, *Cedecea davisae*, *Cedecea lapagei* suşlarında bakılan antibiyotik genleri bulunamamıştır.

Tablo 8. Bakterilerde tespit edilen antibiyotik direnç genleri

Bakteri	n	%	Antibiyotik Direnç Genleri														İntegron	
			<i>tet</i>	<i>tet</i>	<i>tet</i>	<i>tet</i>	<i>sul</i>	<i>sul</i>	<i>sul</i>	<i>amp</i>	<i>blaTEM-</i>	<i>blaTEM-</i>	<i>bla</i>	<i>cml</i>	<i>aad</i>	<i>blaCTX-</i>	<i>CLASS</i>	<i>CLASS</i>
			A	B	C	D	1	2	3	C	OT12	OT 34	PSE	A	A	MI	1	2
<i>A. salmonicida</i>	1	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-
<i>A. caviae</i>	9	6,76	2	3	-	2	3	-	1	2	1	-	1	1	3	1	8	3
<i>A. hydrophila</i>	15	11,27	3	2	1	3	-	-	-	7	1	-	1	1	-	-	7	3
<i>A. schubertii</i>	1	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. sorbia</i>	4	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>A. veronii</i>	1	0,75	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Burkholderia</i> spp	1	0,75	-	-	-	-	1	-	1	1	1	1	-	-	-	1	-	-
<i>B. cepacia</i>	7	5,26	2	-	2	2	2	-	-	2	2	-	1	-	3	1	6	1
<i>C. davisae</i>	1	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. lapegei</i>	1	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Chromobacterium</i> spp	1	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>C. indologenes</i>	3	2,25	1	1	-	1	2	-	1	3	-	-	-	-	1	-	2	-
<i>C. freundii</i>	1	0,75	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-
<i>E. asburiae</i>	1	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>E. cloacae</i>	4	3	-	2	2	1	1	-	-	2	-	1	-	-	3	-	4	1
<i>E. vulneris</i>	1	0,75	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>M. morgani</i>	1	0,75	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pantoeasp</i>	2	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
<i>P. damsela</i>	1	0,75	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-
<i>P. shigelloides</i>	1	0,75	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
<i>P. caryophyllii</i>	1	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>P. diminuta</i>	1	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. fluorescens</i>	8	6,01	2	2	1	3	1	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	4
<i>P. luteola</i>	5	3,75	1	-	-	-	3	-	-	2	-	-	-	-	2	1	2	-

Tablo 8'in devamı

Bakteri	n	%	Antibiyotik Direnç Genleri														İntegron	
			<i>tet A</i>	<i>tet B</i>	<i>tet C</i>	<i>tet D</i>	<i>sul 1</i>	<i>sul 2</i>	<i>sul 3</i>	<i>amp C</i>	<i>blaTEM-OT12</i>	<i>blaTEM-OT 34</i>	<i>bla PSE</i>	<i>cml A</i>	<i>aad A</i>	<i>blaCTX-MI</i>	<i>CLASS 1</i>	<i>CLASS 2</i>
<i>P. oryzihabitans</i>	1	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-
<i>P. putida</i>	2	1,5	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-
<i>P. solanacearum</i>	1	0,75	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
<i>Pseudomonas spp</i>	1	0,75	1	-	1	-	1	-	-	-	-	-	1	1	-	-	1	-
<i>R. aquatilis</i>	1	0,75	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	1	1
<i>S. entomophila</i>	1	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. liquefaciens</i>	3	2,25	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-
<i>S. odorifera</i>	1	0,75	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Shigellaspp</i>	1	0,75	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-
<i>S. maltophilia</i>	1	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
<i>V. anguillarum</i>	6	4,51	-	5	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	-	7	-
<i>V. fluvialis</i>	4	3	1	1	2	1	2	-	2	3	1	-	-	-	1	-	3	-
<i>V. mimicus</i>	3	2,25	2	-	-	-	1	-	-	3	1	-	-	-	-	-	4	-
<i>V. ordalli</i>	1	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
<i>V.parahaemolyticus</i>	2	1,5	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	2	-
<i>V. vulnificus</i>	2	1,5	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	2	-
<i>Y.pestis</i>	2	1,5	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Y. rohdei</i>	2	1,5	-	1	-	-	-	-	-	1	1	-	-	1	1	-	4	1
<i>Y. ruckeri</i>	26	19,54	7	2	3	3	10	-	1	18	4	1	2	2	2	-	4	2
<i>Toplam</i>	133	100	24	25	13	20	32	-	5	49	15	3	11	9	18	6	68	22
		%	18,04	18,79	9,77	15,03	24	-	4,5	36,8	11,27	2,25	8,27	6,76	13,5	5,26	51,12	16,54

3.4. Plazmid Varlığı

Çalışma kapsamında stoktan elde edilen 133 bakterinin plazmid bulundurup bulundurmadıkları araştırılmıştır. Bu amaçla plazmid izolasyonu yapılmıştır. İzolasyon sonucu bakterilerin %27,06'sının plazmid bulundurduğu belirlenmiştir. Bakterilerde tespit edilen plazmidin bakteri türüne göre sayısı ve yüzdeleri Tablo 9'da verilmiştir. Plazmidlerin moleküler büyüklükleri 21,55-4,64kb arasında olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 9. Bakterilerin plazmidprofilleri

Bakteri	Toplam Bakteri	Plazmid Tespit Edilen Suş Sayısı	Plazmid %
<i>Aeromonas hydrophila</i>	15	3	20
<i>Plesimonas shigelloides</i>	1	1	100
<i>Yersinia ruckeri</i>	26	11	42,3
<i>Aeromonas caviae</i>	9	3	33,33
<i>Pseudomonas spp</i>	1	1	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	1	25
<i>Burkholderia cepacia</i>	7	2	28,57
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	3	1	33,33
<i>Vibrio fluvialis</i>	4	1	25
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	8	1	12,5
<i>Vibrio mimicus</i>	3	2	66,66
<i>Pseudomonas putida</i>	2	1	50
<i>Vibrio anguillarum</i>	6	2	33,33
<i>Serratia liquefaciens</i>	3	1	33,33
<i>Rahnella aquatilis</i>	1	1	100
<i>Pseudomonas oryzae</i>	1	1	100
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	2	1	50
<i>Serratia odorifera</i>	1	1	100
<i>Pseudomonas luteola</i>	5	1	20

3.5. Konjugasyon

Çalışmada plazmid profilleri belirlenen bakteriler verici, *E. coli* K12 J53-2 suşu ise alıcı suş olarak konjugasyon (gen aktarımı) deneylerinde kullanılmıştır. Alıcı suşa plazmidini aktarabilen verici bakteri ve sayıları Tablo 10’da gösterilmiştir.

Tablo 10. Plazmid içeren bakterilerden plazmidini aktarabilen verici türler

Bakteri	Plazmid İçeren Bakteri Sayısı	Plazmid Aktarabilen verici bakteri Sayısı
<i>Aeromonas hydrophila</i>	3	3
<i>Plesimonas shigelloides</i>	1	1
<i>Yersinia ruckerii</i>	11	8
<i>Aeromonas caviae</i>	3	3
<i>Pseudomonas spp</i>	1	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	2
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	1	1
<i>Vibrio fluvialis</i>	1	1
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	1
<i>Vibrio mimicus</i>	2	2
<i>Pseudomonas putida</i>	1	1
<i>Vibrio anguillarum</i>	2	2
<i>Serratia liquefaciens</i>	1	1
<i>Rahnella aquatilis</i>	1	-
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	1	1
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1	-
<i>Serratia odorifera</i>	1	1
<i>Pseudomonas luteola</i>	1	1

Konjugasyon deneyinden sonra elde edilen transkonjugant bakterilerde verici suşun bulundurduğu antibiyotik direnç genleri araştırılmış ve aktarılabilen bazı antibiyotik direnç genleri belirlenmiştir. Belirlenen genler Tablo 11’de gösterildiği gibi *sul 2*, *bla_{TEM-OT12}*, *bla_{TEM-OT34}*, *cmlaA*, *aadA*, *bla_{CTX-MI}* direnç gen bölgeleri ve Class 2 integron gen kaseti transkonjugant bakterilere plazmid aracılığı ile aktarılamamıştır. En yüksek oranda aktarılabilen direnç gen bölgesi ise %19,35 oran ile Class 1 integron gen kaseti bölgesi olarak tespit edilmiştir. Bu gen bölgesini takiben %12,9 ile *tetB*, ardından %9,67 oranı ile *tet D* ve *ampC* direnç gen bölgeleri gelmektedir.

3.6. DNA Dizi Analiz Sonuçları

Balıklardan izole edilen ve konjugasyon işlemlerinden sonra elde edilen transkonjugant bazı bakterilerin taşımış oldukları antibiyotik direnç genlerinin dizi analizleri ile veri tabanındaki sekanslar ile karşılaştırılmış ve sekansı yapılan gen bölgeleri için %90-100 arasında benzerlik bulunmuştur.

Tablo 11. Transonjugant bakterilerde belirlenen direnç genleri ve Class 1 ve Class 2 integron gen kasetleri

Bakteri	n	Antibiyotik Direnç Genleri														İntegron Kaseti			
		<i>tet</i> A	<i>tet</i> B	<i>tet</i> C	<i>tet</i> D	<i>sul</i> 1	<i>sul</i> 2	<i>sul</i> 3	<i>amp</i> C	<i>bla</i> _{TEM} OT12	<i>bla</i> _{TEM} OT34	<i>Bla</i> pse	<i>cml</i> A	<i>aad</i> A	<i>bla</i> CTX-M1	Class 1	Class 2		
<i>Aeromonas hydrophila</i>	3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Plesimonas shigelloides</i>	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Yersinia ruckerii</i>	8	1	1	1	-	1	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Aeromonas caviae</i>	3	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
<i>Pseudomonas spp</i>	1	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
<i>Chryseobacterium indolgenes</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
<i>Vibrio fluvialis</i>	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Vibrio mimicus</i>	2	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Pseudomonas putida</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Vibrio anguillarum</i>	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
<i>Serratia liquefaciens</i>	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	
<i>Rahnella aquatilis</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Toplam	31	2	4	2	3	2	0	1	3	0	0	1	0	0	0			6	0
Yüzde oranı (%)		6,45	12,9	6,45	9,67	6,45	-	3,22	9,67	-	-	3,22	-	-	-			19,35	-

4. TARTIŞMA

Antibiyotikler bakteriyel hastalıklarla mücadele etmek için kullanılmaktadır. Balıklarda görülen bakteriyel hastalıkları kontrol etmek amacıyla farklı antibiyotikler suya ya da yeme karıştırılarak kullanılmaktadır. Balık yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotiklere karşı bakterilerin bir veya birden çok antibiyotiğe aynı zamanda direnç kazanma sıklığı balık çiftliklerinde ve çiftlikleri çevreleyen sucul ortamda görülmektedir. Kullanılan antibiyotiklerin fazlalık ve kalıntıları çevredeki sedimentte birikmektedir. Bu tür birikimler bakteriler üzerinde seçici etki yaparak sadece ortamdaki antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin çoğalmasını sağlamaktadır. Antibiyotiğe direnç geninin sucul ortamda bulunan diğer bakteri türlerine yayılma riski vardır. Ayrıca, antibiyotiğe dirençlilik geni insan ve hayvan patojenleri arasında geçiş yapabilmektedir(Jalal vd., 2012).

Ülkemizde kültür balıkçılığında kullanılan antibiyotiklerin kontrol altında tutulamamasından dolayı, çiftlik sahipleri antibiyotikleri kolaylıkla elde edebilmektedir. Kültür balıkçılığında görülen hastalıkların sebebi araştırılmadan, hastalık etkeni tam olarak teşhis edilmeden ve antibiyogram testi yapılmadan gelişi güzel antibiyotik kullanımı patojenik ve patojenik olmayan bakterilerin kullanılan antibiyotiklere karşı direnç oluşumuna neden olmaktadır. Bunun sonucu olarak Türkiye’de şu ana kadar balık çiftliklerinde kullanılan antibiyotiklerin sucul mikrobiyal topluluğa etkileri veya insan ve hayvanlarda kullanılan antibiyotiklerin sucul mikroorganizmalar üzerine olan etkileri ve hangi patojenik bakterinin hangi antibiyotiğe karşı direnç kazandığı tam olarak bilinmemektedir. Yapılan bu çalışmada izole edilen bakteriler antibiyogram disk testinde Ticarsilin (75 µg/disk), Ampisilin (10 µg/disk), Sulphamethoksazole (100 µg/disk), Aztreonem (30 µg/disk), sefalothin (30 µg/disk), Eritromisin (15 µg/disk)ve Amoksisilin (25 µg/disk)’e karşı %50’den fazla direnç göstermişlerdir. Diğer taraftan bakterilerin hepsi Tigesikline (15 µg/disk) karşı tamamen hassas olup, Netilmisin (30 µg/disk), Amikosin (30 µg/disk), Ofloksasin (5 µg/disk) ve Gentamisin (10 µg/disk)’e karşı oluşan direnç ise %10’dan azdır. Dolayısıyla, acil durumlarda bakteriyel balık hastalıklarının antibiyotiklerle tedavisinde Tigesikline, Netilmisin, Amikosin, Ofloxacin veya Gentemisin antibiyotiği kullanılabilir. Ancak bu antibiyotikler daha önce gıda amaçlı kullanılan balıklarda denenmediği için bu antibiyotiklerin birikimi ile ilgili sorun olabilir. Bu tür sorunları aşmak için bu antibiyotikler balıklarda denenmelidir.

Türkiye de balıklardan izole edilen bakterilerin tür, zaman ve izole edildiği balık bakımından direnç seviyeleri ve çeşitlilikleri farklılık göstermektedir. Durmaz vd. (2012) Orta

ve Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki alabalık işletmelerinden izole ettikleri *F. psychrophilum* suşlarının neomisin, ampisilin, eritromisin ve kanamisin gibi antibiyotiklere dirençli olduğunu bildirirken, bakteriye karşı en etkili antibiyotiklerin oksitetrasiklin ve enrofloksasin olduğunu bildirmişlerdir. Bunun yanında başka bir çalışmada gökkuşuğu alabalığı işletmelerinden ve işletmelerdeki su örneklerinden izole edilen hareketli *Aeromonas* spp bakterilerin oksitetrasiklin, streptomisin ve karbenisiline karşı dirençli oldukları bildirilmiştir (Durmaz ve Turk, 2009). Ayrıca sazan balıklarından izole edilen *A. hydrophila* suşlarının ampisiline karşı dirençli oldukları bildirilmiştir (Ozturk vd., 2007). Bu çalışmada kullanılan 15 *A. hydrophila* suşunun 14 tanesinin(%93) ampisiline karşı direnç geliştirdiği tespit edilmiştir. Dolayısıyla Öztürk (2007)'nin yaptığı çalışma ile uyum halinde olduğu belirlenmiştir. Kayış (2009) ise Doğu Karadeniz Bölgesinde yapmış olduğu çalışmada *A. hydrophila* suşlarının oksolinik asit ve streptomisin dışında kalan antibiyotiklere karşı belli oranlarda direnç geliştirdiğini bildirmiştir. Yine aynı bölge de yapılan başka bir çalışmada ise izole edilen 6 adet *A. hydrophila* suşunun hepsi aztreonam ve sulfametaksazola karşı dirençli iken 5 suş ise ampisiline karşı dirençli bulunmuştur (Terzi, 2013). Bu çalışmada ise *A. hydrophila* suşunun hiçbirisi oksolonikasite karşı direnç göstermemiştir. *A. hydrophila* suşlarına karşı en etkili antibiyotik kloramfenikol ve tetrasiklin olarak tespit edilmiştir. Sanders ve Sanders (1979), *E. cloacae* ve *C. freundii* benzeri bakterilere kromozomal beta-laktamazların geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı direnç geliştirdiklerini bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada, Terzi (2013)'nin izole etmiş olduğu *E. cloacae* ve *C. freundii* suşlarının da beta laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç geliştirdiğinin tespit edilmesi dolayısıyla söz konusu çalışma ile uyum halinde olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada ise *Aeromonas* suşlarının Ticarsilin (%74), Ampisilin (%80), Sefalotin (%64), Eritromisin (%64), Amoksisilin (%87) karşı direnç gösterdiği belirlenmiştir. Durmaz ve Turk (2009)'ün belirttiğinin aksine bu çalışmada, bakterilerin oksitetrasiklin ve streptomisine karşı düşük oranda direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Fakat yapılan bu çalışmada, *A. hydrophila* suşlarının %40 (6/15)'nin streptomisine karşı direnç geliştirdiği tespit edilmiştir. Bu durum balık çiftliğinde ya da suyun temin edildiği alanda streptomisin kullanımından kaynaklanmış olabilir. Buna ilave olarak *A. hydrophila* suşunun %66'sının Sulfametaksazole ve %46'sının Aztreonama karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. Terzi'nin(2013) yapmış olduğu çalışmanın aksine *A. hydrophila* suşutetrasikline %6 oranında direnç göstermiştir. Suşların farklı antibiyotiklere farklı seviyelerde direnç sergilemesinin bakterilerin farklı yer ve zamanlarda izole edilmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Ülkemizde bakteriyel patojenler ile ilgili yapılan araştırmalarda, *Yersini aruckeri*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophyla*, *V. anguillarum* ve *Photobacterium damsela damsela* gibi balık patojenlerinin Tetrasiklin, Eritromisin, Oksitetrasiklin, Streptomisin ve Ampisilin karşı direnç oluşunu rapor edilmiştir (Kırkan vd., 2006; Aksit ve Kum, 2008; Kayış, 2009; Boran vd., 2013). Terzi (2013), bakterilerin kullanılan antibiyotiklere karşı oluşturdukları dirençliliği araştırdığı çalışmada, Florfenikol, Oksitetrasiklin, Tetrasiklin, Kloramfenikol ve Gentamisin dışındaki test edilen bütün antibiyotiklere karşı direnç oranının %50'nin üzerinde olduğunu tespit etmiştir. Bu çalışmada ise, bakterilerin Florfenikol, Oksitetrasiklin, Tetrasiklin, Kloramfenikol ve Gentamisine karşı oluşturulan direncin %50'den düşük olduğu belirlenmiştir. Çalışma bu yönü ile Terzi'nin çalışması ile örtüşmektedir.

Krumperman (1983) tarafından geliştirilen çoğul antibiyotik direnç (MAR) indeksi bakterilerin antibiyotiklere maruz kalmaları neticesinde geliştirdikleri birden fazla antibiyotik direncini ifade eder ve indeksin 0,2'den yüksek olması ortamdaki bakterilerin aşırı bir kirliliğe maruz kaldığıнын göstergesidir. Matyar'ın (2012) Doğu Akdeniz sahillerinde yapmış olduğu araştırmada, MAR değerinin 0,2-0,75 arasında bulunduğunu bildirirken, Çin'in güneyinde bulunan balık çiftliklerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerde tespit edilen MAR değeri 0,56 olarak tespit edilmiştir (Su vd.,2011).Yayın balıklarının yetiştiriciliği yapılan 3 farklı işletmeden izole edilen bakterilerde MAR değeri ise 0,36-0,62 arasında olduğu tespit edilmiştir (Sarter vd., 2007). Diğer bir çalışmada, Doğu Karadeniz Bölgesi'nde bulunan alabalık işletmelerinden izole edilen bakterilerde MAR değeri 0,42-0,83 arasında değişiklik göstermiş ve izole edilen bakterilerden sadece *Klebsiella pneumoniae subsp. Ozaenae* izolatları için MAR değeri kritik değer olan 0,2'nin altında hesaplanmıştır. En yüksek MAR değeri (0,83) *Erwinia carotovora* ve *Photobacterium damsela damsela türlerinde* belirlenmiştir (Terzi, 2013). Araştırmamızda, *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerde hesaplanan en düşük MAR değerleri *Enterobacter asburiae* (0,17), *Serratia odorifera* (0,17), *Citrobacter freundii* (0,06), *Escherichia vuhualis* (0,1) ve *Rahnella aquatilis* (0,13) olarak bulunmuştur. Çalışılan diğer bakterilerde hesaplanan MAR indeksi sınır değerinden çok dahayüksek bulunmuştur. Bu çalışmada incelenen tüm bakteriler göz önüne alındığında MAR indeks değeri 0,06-1,16 arasında değişiklik gösterdiği bulunmuştur. Araştırmamızda en yüksek MAR indeksi değerine sahip olan bakteriler ise *C. indologenes* (0,96), *B. cepacia* (0,89), *E. cloacae* (0,82), *V. Anguillarum* (0,79), *Y. ruckeri* (0,75), *P.*

fluorescens (0,72) olarak bulunmuştur. Bu durum bakterilerin izole edildiği ortamların insani ve hayvansal olarak kirletildiğinin kanıtı olmuştur.

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda bakterilerin antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesine yönelik çalışmaların yoğunluk kazandığı görülmektedir (Phuong Hoa vd., 2008; Balta vd., 2010; Sandalli vd., 2010; Sivri vd., 2012; Boran vd., 2013). Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yapılan çalışmada alabalık işletmelerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* üyesi olan koliform bakterilerden Tetrasiklin direnç genlerinden en fazla *tetA* (%18,87) geni tespit edilmiştir. İzole edilen 159 suşun 24 tanesinde *tetD*, 18 tanesinde *tetB* ve 5 tanesinde de *tetC* direnç genleri tespit edilmiştir (Terzi, 2013). Yetiştiriciliği yapılan balıklardan izole edilen *Aeromonas* türlerinde *tet A, B, C, D ve E* genlerinin varlığı bildirilmiştir (Agersø vd., 2007). Avustralya'daki su ürünleri yetiştiriciliği yapılan işletmeler (Akinbowale., 2007a) ile Danimarka'daki balık çiftliklerinden izole edilen *Aeromonas* türlerinde Tetrasiklin direnç genlerinin varlığı rapor edilmiştir (Schmidt vd., 2001). Yapılan bu çalışmada ise, *Aeromonas* izolatlarında (n:31) *tetA, tetB, tetD* direnç genlerine aynı oranda (%16) rastlanırken. *tetC* direnç genine ise sadece %3 oranında rastlanılmıştır. Doğu ve Batı Karadeniz bölgelerinde yapılan farklı bir çalışmada balık çiftliklerinden izole edilen 44 *Y. ruckeri* suşununun 16'sında *tetA* ve 2'sinde *tetB* direnç genleri taşındığı bildirilmiştir (Balta vd., 2009). Terzi (2013), yaptığı çalışmada ise balıklardan izole edilen bakterilerde *tetA-D* genlerinden hepsine rastlarken en fazla rastladığı genler *tetD* (%25) ve *tetB* (%20,8) olmuştur. *tetA* ve *tetC* genleri ise %4,2 oranında tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada ise bakterilerin *tetA, B, C, D ve E* genlerinin varlığı sırasıyla %18, %18,7, 9,7, ve %15,3 olarak bulunmuştur. Dolayısıyla daha önce yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında tespit edilen direnç genlerinin aynı olmasına rağmen bakterilerde bulunma oranının farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Bunun olası nedenleri ise bakteriyel suşlarının farklı olması ve bakterilerin farklı antibiyotiklere ya da plazmid verici bakterilere maruz kalmasından kaynaklanabilir.

Yapılan araştırmalar sonucunda bakterilerde 4 tip *sul* (*sul1, sul2, sul3 ve sulA*) geni saptanmıştır. Çiftliklerden izole edilen fekal bakterilerde (Srinivasan vd., 2005), su ürünleri yetiştirilen işletmelerin sediment ve sularından izole edilen bakterilerde (Akinbowale vd., 2007b; Agersø ve Petersen, 2007) *sul1* ve *sul2* genleri tespit edilmiştir., *sul* genlerinin bakteriler arasında yatay olarak aktarılabilir (Zhang vd., 2009). Kuzey Vietnam'da yapılan bir çalışmada atık su ve karides örneklerinden izole edilen bakterilerde en fazla *sul1* genine rastlanmıştır. *sul1* geninden sonra en fazla *sul2* genleri tespit edilmiş, en az ise *sul3* genini tespit edildiği bildirilmiştir (Hoa vd., 2008). İzole edilen bakterilerin yalnızca %2'sinde

sul3 genin hepsinin tespit edildiği bildirilmiştir. Trabzon ve Rize çevresinde Terzi'nin (2013) yapmış olduğu bir diğer çalışmada ise işletmelerde ki su ve sediment örneklerinden izole edilen bakterilerde en fazla *sul2* (%18,2) geni tespit edilmiş ve bunu %3,77 ve %3,14'lük oranlarla *sul1* ve *sul3* genleri takip etmiştir. İşletmelerdeki balıklardan izole edilen bakterilerde ise en çok *sul1* (%25) ve *sul2* (%20,8) genlerine rastlanırken *sul3* genine hiç rastlanmamıştır. Yapılan bu çalışmada ise sulfonamid grubuna ait 3 gen bölgesi (*sul1*, *sul2*, *sul3*)incelenmiş ve 133 bakteriden 32'sinde *sul1* (%24) direnç genine, 6 tanesinde (%4,5) *sul3* direnç genine rastlanırken, *sul2* direnç genine hiçbir bakteride rastlanmamıştır. Bu yönü ile Terzi'nin (2013) yapmış olduğu çalışma ile uyum sağlamamaktadır çünkü izole edilen bakteriler her iki çalışmada da aynı yerlerden fakat farklı zamanlarda izole edilmiştir.

Beta laktamlar geniş spektrumlu antibiyotiklerden olup canlılarda bakteriyel hastalıklara karşı yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bu nedenle beta laktam grubu antibiyotiklerine karşı dirençli bakterilerin sayısı hızla arttığı bilinmektedir. TEM, SHV, PSE, OXA ve CTX-M tip beta laktamazlar gram negatif bakterilerde bulunan direnç genleridir (Ishida vd., 2010). İspanya'daki hastanelerdeki hastalardan izole edilen fekal bakterilerde *bla*_{TEM-104} (Miro vd., 2005), Mısır'daki balık çiftliklerinden izole edilen Gr (-) bakterilerde *bla*_{CTX-M15}, *bla*_{TEM-1} ve *bla*_{TEM-104} (Ishida vd., 2010) genleri tespit edilmiştir. Ayrıca Brinas vd. (2002) yapmış oldukları çalışmada *E. coli* izolatlarının *bla*_{TEM} genleri bakımından pozitif SHV ve OXA yönünden negatif olduklarını belirtmişlerdir. Rize ili ve ilçelerinde yapılan çalışmada ise içme sularında izole edilen *E.coli* izolatlarında 55 suştan sadece 7 tanesinde *bla*_{TEM} genini tespit etmişlerdir. Boran vd. (2013) ise yetiştiriciliği yapılan istavrit balıklarından izole ettikleri bakterilerde *bla*_{TEM} genlerinin varlığını bildirmişlerdir. Rize ve Trabzon illerinde bulunan alabalık işletmelerinden izole edilen bakterilerle yapılmış olan çalışmada ise beta laktam direnci sağlayan genlerden en fazla *ampC* (%37,3) genine rastlanırken bunu *bla*_{CTX-M1} (%17), *bla*_{TEM-OT12} (%14,5), *bla*_{TEM-OT34} (%6,3) ve *bla*_{PSE} (%1,3)'nin takip ettiği tespit etmiştir. Aynı çalışmada balıklardan izole edilmiş olan bakterilerde ise bu durum biraz daha farklı olmuştur. *AmpC* geni %45,8 oranı ile bakterilerde yine en fazla tespit edilen gen olmuştur. Bunu takiben en fazla rastlanılan genler ise *bla*_{TEM-OT12} (%33,3) ve *bla*_{CTX-M1} (%25) olmuştur. *bla*_{TEM-OT34} ve *bla*_{PSE}'nin ise rastlanma yüzdeleri %20,8'dir (Terzi, 2013). Bu çalışmada ise çalışılan bakterilerin beta laktam direnci sağlayan genlerden en fazla *ampC* (%36,8) genine rastlanmıştır. Bu nokta da Terzi (2013)'ün yapmış olduğu çalışma ile uyum göstermektedir. Bakterilerde ki *bla*_{TEM} genleri incelendiğinde ise en fazla rastlanan direnç genleri sırasıyla *bla*_{TEM-OT 12} (%11,2), *bla*_{PSE} (8,2), *bla*_{CTX-M1} (%5,2), *bla*_{TEM-OT34} (%2,2) olmuştur. *bla*_{PSE} ve

*bla*_{TEM-OT34} direnç genleri Terzi'nin yapmış olduğu çalışma ile kıyaslandığında *bla*_{PSE} ve *bla*_{TEM-OT34} direnç geni bölgelerinin bulunma oranlarının farklılaştığı tespit edilmiştir. *bla*_{PSE} direnç geni bölgesinin görülme oranında ki artış bakterilerin beta laktam antibiyotiklerine aşırı maruz kaldığını veya diğer bakterilerden direnci sağlayan genleri edinmiş olabileceği kanısına varılmıştır.

Su ürünlerinde kullanımı yaygınlaşan bir diğer antibiyotik grubu ise amfenikollerdir (Kayış, 2009). Trabzon ve Rize ili çevresinde bulunan alabalık işletmelerinden izole edilen bakterilerin Kloramfenikol antibiyotiğine karşı sergilemiş oldukları direncin düşük olduğu tespit edilmiş olup su ve sedimentten izole edilen bakterilerde *cmlA* geni sadece %5,03 oranında belirlenmiştir. Balıklardan izole edilen bakterilerde bu oran %33,33 olarak belirlenmiştir (Terzi, 2013). Yapılan bu çalışma ise Terzi'nin yapmış olduğu çalışmayı destekler niteliktedir. Eldeki bakterilerde *cmlA* geni sadece %6,7 oranında direnç gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum bakteriler arasında Kloramfenikol ve Florfenikol antibiyotiklerine karşı direncin henüz fazla gelişmemiş olduğu söylenebilir.

Plazmidler, kromozal DNA'dan ayrı kendine ait DNA dizilimi olan ve bağımsız bir şekilde çoğalabilen parçalardır. Ayrıca içerisinde bulunduğu bakterinin antibiyotik ve ağır metallere karşı sahip olduğu direnç genlerini taşıyarak bakteriye seçici özelliği kazandırır. Plazmidlerin bir diğer görevi ise üzerinde taşıdıkları direnç genlerini birbirine aktarmasıdır. Ozgumus vd.'nin (2009) derelerden izole ettikleri bakterilerde 1,47-2,6kb arasında değişen büyüklükte plazmidlerin varlığını bildirmişler ve bu plazmidler aracılığıyla Ampisilin, Tetrasiklin, Streptomisin ve Nalidiksik Asitin bakteriler arasında aktarılabilir olduğunu rapor etmişlerdir. Diğer bir taraftan Diab vd.'nin (2002) çalışmasında izole edilen 13 izolattan 8 tanesinin plazmit içerdiği bildirilirken izole edilen izolatlardan *A. hydrophila* suşunun 1,375-21,226 kb arasındaki büyüklüklerde 3 plazmid içerdiği bildirilmiştir. Literatürdeki çalışmalarda izole edilen bakterilerin hepsinin olmasa da belli kısmının değişik boyutlarda ve adetlerde plazmid içerdikleri bildirilmektedir (Ash vd., 2002; Aktan vd., 2013; Korun vd., 2013). Terzi'nin alabalık işletmelerinde ki su ve sedimentten izole etmiş olduğu koliform bakterilerin %30,8'inin plazmid taşıdığı belirlenmiş, balıklardan izole edilen bakterilerde ise bu oran %12,5 olarak tespit edilmiştir. Tür bazında incelendiğinde ise 109 *E. coli* izolatının 38 tanesinde plazmid tespit edilmiş ve 6 adet *A. hydrophila* suşunun ise 2 tanesinde plazmid belirlenmiştir. Plazmid tespit edilen bakterilerden *E. coli* suşlarından 14 tanesinin konjugasyon deneyleri sonucunda plazmidlerini aktarabildikleri tespit edilirken, *K. oxytoca* suşlarından ise 3 tanesinin aktarılabilirdiği belirlenmiştir. Diğer taraftan *C. diversus* suşlarından

1 tanesi ile 1 adet *E. sakazaki* plazmidlerini aktarabildiği tespit edilmiştir. Aktarılabilen genler arasında birinci sırayı *ampC* geninin aldığı belirlenirken bunu *bla_{CTX-M1}* takip etmiştir. Bu çalışmada direnç geni taşıyan bakterilerin plazmid içerip içermediği incelenmiş olup, 133 bakterinin 36 tanesinde (%27,02) plazmid bulundurduğu belirlenmiştir Tür bazında incelediğimizde ise 15 adet *A. hydrophila* suşunun 3 tanesinde (%20) plazmid belirlenmiştir. 26 adet *Yersinia ruckeri* suşunun ise 11 tanesinden (%42) plazmid izole edilmiştir. Gen aktarımı deneyleri sonucunda 36 bakteriden 31 tanesi (%86) plazmidlerini alıcı suş olan *E. coli*'ye K12 J53-2 aktarabildiği tespit edilmiştir. Bakterilerden sadece *Rahnella aquatilis* ve *Vibrio parahaemolyticus* türünün plazmidini aktaramadığı tespit edilmiştir. Aktarılabilen genler arasında ilk sırada Class 1 integron gen kaseti (%19,35), ardından da sırasıyla *tetB* (%12,9), *tetD* ve *ampC* (%9,67) direnç gen bölgeleri gelmektedir. *Sul2*, *bla_{TEM-OT12}*, *bla_{TEM-OT34}*, *cmlA*, *aadA*, *bla_{CTX-M1}* direnç gen bölgeleri ve Class 2 integron gen kaseti transkonjugant bakterilere plazmid aracılığı ile aktarılamamıştır.

5. SONUÇLAR

Doğu Karadeniz Bölgesinde Rize ve Trabzon illerinde bulunan alabalık işletmelerinden 2004-2014 yılları arasında balıklardan izole edilen bakterilerin antibiyotik direnci ve antibiyotik direnç genlerinin varlığı araştırılmıştır. Ayrıca bakterinin plazmid taşıma durumu, bulundurduğu plazmidi ve araştırılan antibiyotik direnç gen bölgelerinin konjugasyon yöntemi ile alıcı suşa aktarıp aktaramadığı da incelenmiştir.

Çalışılan 133 bakteri örneğini 43 farklı tür oluşturmuştur. Bu türlerin çoğu *Enterobacteriaceae* ailesinin üyesidir. Örnekler içerisinde suşlarının fazlalığı ile ilk sırayı *Yersinia ruckeri* (n:26) ve bu türü takiben *Aeromonas hydrophila* (n:15), *Aeromonas caviae* (n:9), *Pseudomonas fluorescens* (n:8) en fazla çalışılan bakteri türleri olmuştur.

Yapılan çalışmada eldeki bakterilerin antibiyotik hassasiyetlerini belirlemek amacı ile 29 farklı antibiyotik kullanılarak bakterilere antibiyogram testi yapılmıştır. Bakterilerde tespit edilen en yüksek direnç Sefalotin (%70) antibiyotığıdır. Eritromisin (%68), Amoksisilin (%63) ve Ampisilin (% 62) bakterilerin yüksek oranda direnç gösterdiği diğer antibiyotiklerdir. Diğer yandan bakteriler Amikosin, Oflaksisin, Gentamisin ve Tigesisilin antibiyotik türlerine karşı % 10'un altında bir direnç göstermiştir. Bakterilerde oluşan çoğul antibiyotik direnç (MAR) indeksi incelendiğinde, çalışılan bakteri örneklerinin büyük çoğunluğu 0,2 olan sınır değerinin çok üzerinde hesaplanmıştır. Yalnızca *Escherichia vulneris* (0,1), *Rahnella aquatilis* (0,1), *Burkholderia spp.*(0,03), *Aeromonas salmonicida* (0,13), *Aeromonas veronii* (0,13), *Pseudomonas solanacearum* (0,13), *Enterobacter asburiae* (0,17), *Pseudomonas putida* (0,17), *Serratia odorifera* (0,17), *Vibrio parahaemolyticus* (0,17) bakteri türlerinin çoğul antibiyotik direnç (MAR) indeksi sınır değerinin altında hesaplanmıştır. Sadece *Pseudomonas spp*, *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Vibrio mimicus* çoğul antibiyotik direnç (MAR) indeksi sınır değerinde hesaplanmıştır. Bu çalışmada bakterilerin DNA'sında hangi antibiyotik direnç genini taşıdığı da incelenmiştir. Bakterilerin %51,12'sinin Class1 integron gen kaseti ve bu antibiyotik direnç gen bölgesini takiben bakterilerin %36,84'ü *ampC* antibiyotik direnç gen bölgesini bulundurduğu tespit edilmiştir. İncelenen gen bölgelerinden sadece *sul2* antibiyotik direnç geni bakterilerin hiçbirinde bulunamamıştır.

Bakterilerin plazmid taşıyıp taşımadıkları da bu çalışma çerçevesinde araştırılmıştır. 133 adet bakterinin 36 tanesinde (%27,7) plazmid tespit edilmiştir. Plazmid içeren bakterilerin

sadece 31 tanesi plazmidini alıcı suşa aktarabildiği saptanmıştır. Antibiyotik direnç gen bölgelerinin plazmid üzerinde taşındığı bilinmektedir, çalışmada incelenen bakterilerin %86,11'inin taşıdığı antibiyotik direnç gen bölgesini hastalık yapan bakterilere aktarabileceği sonucu da çıkarılmıştır. Bu durum ise bakteriyel hastalıklar ile girdiğimiz savaşın galibini gösterir niteliktedir.

6. ÖNERİLER

Hastalıkların tedavisinin yanısıra, ürünün gelişimi ve kalitesini arttırmak amacıyla bilinçsiz ve aşırı bir şekilde kullanılan antibiyotikler bakterilerde oluşan direnç mekanizmasının daha hızlı bir şekilde gelişmesine neden olur. Başlangıçta oluşan direnç sorununa karşı yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi çözüm olmuşsa da yıllar içerisinde yeni direnç şekilleri ortaya çıkmıştır. Antibiyotiklerin bilinçsiz ve aşırı kullanım sonucunda birçok bakterinin geliştirdiği ‘çoklu direnç’ daha karmaşık ve ciddi bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

Antimikrobiyal ajanlar düşünüldüğünde temel olarak yapılması gereken, devlet tarafından görevlendirilecek yetkili insanların halkı bilinçlendirmesidir. Gıda olarak tüketilen ürünlerde kullanılan antimikrobiyal ajanların kullanımını azaltmak son derece önemlidir. Bu nedenle su ürünleri yetiştiriciliği için antibiyotik kullanma kuralları geliştirilmelidir. Kullanım sonucu gıdalarda kalan antibiyotik miktarları yetkili kişilerce izlenmelidir. Kuralların ihlali karşısında caydırıcı cezalar uygulanmalıdır.

Hastalık yapıcı bakterilerle savaşmak için yeni stratejiler geliştirilmelidir. Antibiyotikler yaygın ve pratik olarak kullanılan çözüm yolu olmamalıdır. Bilim insanları, yetkililer ve antibiyotik kullanıcıları bir araya gelerek antimikrobiyallerin alternatifi olacak aşuların ve probiyotiklerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar yapmalıdırlar.

Su ürünleri yetiştiriciliği düşünüldüğünde işletmeler arası yavru veya balık transferleri yapılırken bu canlıların hastalık etmeni taşımadığına özen gösterilmelidir ve geldiği bölgenin hastalık geçmişi ve uygulanan antimikrobiyal ajanlar bilinmelidir. Antibiyotik kullanımında gereken önlem alınsa dahi ekosistemin birbiri ile ilişkisi düşünüldüğünde dirençli patojenlerin ya da antibiyotik kalıntıları yetiştiricilik yapılan ortama girebilir. Bu etkileşimden dolayı özellikle hastane ve evlerde kullanılmayan antibiyotikler çevreye atılmamalıdır.

Antibiyotik direnci sadece gıda sektörünün veya bir coğrafi bölgenin geçici sorunu olarak değil, hayatın her alanını ve tüm coğrafik bölgeleri etkileyecek olan büyük bir sağlık sorunu olarak düşünülmelidir. Tüm dünya ülkelerinin iş birliği ile bu sorun tartışılmalı ve antibiyotik kullanımının azaltılmasına yönelik ortak çalışmalar yapılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

- AAM (American Academy of Microbiology). 1999. Antimicrobial Resistance, an Ecological Perspective. American Society for Microbiology, Washington, D.C: USA.
- Agersø, Y. ve Petersen, A., 2007. The Tetracycline Resistance Determinant *Tet 39* and the Sulphonamide Resistance Gene *SulII* are Common among Resistant *Acinetobacter* spp. Isolated from Integrated Fish Farms in Thailand, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 59, 23-27
- Ahmed, M., 2012. Antibiotic Resistance: An Emerging Global Headache, In: Antibiotic Resistant Bacteria- A Continuous Challenge in the New Millennium, Rijeka, InTech, China, 3-14.
- Akinbowale, O.L., Peng, H. ve Barton, M.D., 2007a. Diversity of Tetracycline Resistance Genes in Bacteria from Aquaculture Sources in Australia, Journal of Applied Microbiology, 103, 2016-2025.
- Akinbowale, O.L., Peng, H. ve Barton, M.D., 2007b. Class 1 Integron Mediates Antibiotic Resistance in *Aeromonas* spp. from Rainbow Trout Farms in Australia, International Journal of Antimicrobial Agents, 29, 113.
- Aksit D. ve Kum, C., 2008. Gökkusağı Alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792)'nda Sık Görülen Patojen Mikroorganizmaların Tespiti ve Antibiyotik Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 19, 1-7.
- Aktan, Y., Tan, S. ve Içgen, B., 2013. Characterization of Lead-Resistant River Isolate *Enterococcus faecalis* and Assessment of its Multiple Metal and Antibiotic Resistance, Environmental Monitoring and Assessment, 185,6, 5285-5293.
- Alexander, T.W., Yanke, J.L., Reuter, T., Topp, E., Read, R.R., Selinger, B.L. ve McAllister, T.A., 2011. Longitudinal Characterization of Antimicrobial Resistance Genes in Feces Shed from Cattle Fed Different Subtherapeutic Antibiotics, BMC Microbiology, 11,1, 11-19.
- Al-Jebouri, M. M. A. 1985. Note on antibiotic resistance in the bacterial flora of raw sewage and sewage-polluted river Tigris in Mosul, Iraq. J. Appl. Bacteriol., 58: 400-405.
- Allen, H.K., Donato, J., Wang, H.H., Cloud-Hansen, K.A., Davies, J. ve Handelsman, J., 2010. Call of the Wild: Antibiotic Resistance Genes in Natural Environments, Nature Reviews Microbiology, 8,4, 251-259.
- Altun, S., Onuk, E.E., Ciftci, A., Duman, M. ve Buyukekiz, A.G., 2013. Determination of Phenotypic, Serotypic and Genetic Diversity and Antibiotyping of *Yersinia ruckeri* Isolated from Rainbow Trout, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 19,2, 225-232.

- Andersson, D.I. ve Levin, B.R., 1999. The Biological Cost of Antibiotic Resistance, Current Opinion in Microbiology, 2, 489-493.
- Aoki T, 1997. Resistance plasmids and the risk of transfer.. In: Bernoth EM, ed. Furunculosis: multidisciplinary fish disease research. London, Academic Press, 433-440.
- Arlet, G. ve Philippon, A., 1991. Construction by Polymerase Chain Reaction and Use of Intragenic DNA Probes for Three Main Types of Transferable β -Lactamases (TEM, SHV, CARB), FEMS Microbiology Letters, 82, 19-26.
- Ash, R.J., Mauck, B. ve Morgan, M., 2002. Antibiotic Resistance of Gram-Negative Bacteria in Rivers, United States, Emerging Infectious Diseases, 8,7, 713-716.
- Austin, B. ve Austin, D.A., 2007. Bacterial Fish Pathogens Diseases of Farmed and Wild Fish, Fourth Edition, Praxis Publishing, Chichester, UK, 553 s.
- Balta, F., Sandalli, C., Kayis, S. ve Ozgumus, O.B., 2010. Molecular Analysis of Antimicrobial Resistance in *Yersinia ruckeri* Strains Isolated from Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Grown in Commercial Fish Farms in Turkey, Bulletin-European Association of Fish Pathologists, 30, 211-219.
- Baquero, F., Martínez, J.L. ve Cantón, R., 2008. Antibiotic and Antibiotic Resistance in Water Environments, Current Opinion in Biotechnology, 19,3, 260-265.
- Bhullar, K., Waglechner, N., Pawlowski, A., Koteva, K., Banks, E.D., Johnston, M.D., Barton, H.A. ve Wright, G.D., 2012. Antibiotic Resistance is Prevalent in an Isolated Cave Microbiome, Public Library of Science One, 7,4, e34953.
- Björklund, H., Bondestam, J. and Bylund, G. 1990. Residues of oxytetracycline in wild fish and sediments from fish farms. Aquaculture, 86:359-367.
- Blake PA, Merson MH, Weaver RE, Hollis DG, 1979. Disease caused by a marine vibrio: clinical characteristics and epidemiology. New England Journal of Medicine, 300:1-5.
- Boran, H., Terzi, E., Altinok, I., Capkin, E. ve Bascinar, N., 2013. Bacterial Diseases of Cultured Mediterranean Horse Mackerel (*Trachurus mediterraneus*) in Sea Cages, Aquaculture, 396, 399, 8-13.
- Boyacioglu, M ve Akar, F., 2012. Isolation of *Flavobacterium psychrophilum* Causing Rainbow Trout Fry Syndrome and Determination of an Effective Antibacterial Treatment in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fry, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 18,2, 197-203
- Brinas, L., Zarazaga, M., Saenz, Y., Ruiz-Larrea, F. ve Torres, C., 2002. Betalactamases in Ampicillin-Resistant *Escherichia coli* Isolates from Foods, Humans, and Healthy Animals, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 46,10, 3156-3163.

- Bruun, M.S., 2001. Antimicrobial Resistance in Aquatic Environments- with Emphasis on the Fish Pathogen *Flavobacterium Psychrophilum* and Oxytetracycline Resistance, Doktora Tezi, The Royal Veterinary and Agricultural University, Department of Veterinary Microbiology, Danimarka.
- Bush, K., Courvalin, P., Dantas, G., Davies, J. ve Eisenstein, B., 2011. Tackling Antibiotic Resistance, *Nature Reviews Microbiology*, 9,12, 894-896..
- Choi, J. H. and Ryu, K.S., 1987. Responses of Broilers to Dietary Zinc Bacitracin at two different Planes of Nutrition. *Brit. Poult. Sci.*, 28, 113-118
- CLSI, 2013. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute
- Col, N.F., and O'Connor, R. W. 1987. Estimating worldwide current antibiotic usage: report of Task Force I. *Rev. Infect. Dis.*, 9, 232-243.
- Coyne, R., Hiney, M., O'Connor, B., Kerry, J., Cazabon, D. and Smith, P. 1994. Concentration and persistence of oxytetracycline in sediments under a marine salmon farm. *Aquaculture*, 123,31-42.
- D'Costa, V.M., King, C.E, Kalan, L., Morar, M. ve Sung, W.W.L., 2011. Antibiotic Resistance is Ancient, *Nature*, 477, 457-461.
- D'Costa, V.M., McGrann, K.M., Hughes, D.W. ve Wright, G.D., 2006. Sampling the Antibiotic Resistome, *Science*, 311, 374-377.
- Dafwang II., Cook M.E. ve Sunde ML., 1987. Interaction of Dietary Antibiotic Supplementation and Stocking Density on Broiler Chick Performance and Immune Response. *Brit. Poult. Sci.*, 28, 47-55.
- Davidson, J. 1999. Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasmid*, 42:73-91.
- Davies, J. 1994. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science*, 15, 375-82.
- DePaola, A., Peeler, J.T. and Rodrick, G.E. 1995. Effect of oxytetracycline-medicated feed on antibiotic resistance of gram-negative bacteria in catfish ponds. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 2335-2340.
- Diab, A.M. ve Selim, S.A., 2002. Plasmid-Encoded Transferable Antibiotic Resistance in Gram-Negative Bacteria, Isolated from Drinking Water in Ismailia City, *Pakistan Journal of Biological Science*, 5, 7, 774-779.
- DuPont, H. L., and Steele, J. H. 1987. Use of antimicrobial agents in animal feeds: implications for human health. *Rev. Infect. Dis.*, 9,447-60.

- Durmaz, Y. ve Türk, N., 2009. Alabalık İşletmelerinden Motil Aeromonasların İzolasyonu ve Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Saptanması, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 15,3, 357-361.
- Durmaz, Y., Onuk, E.E. ve Çiftçi, A., 2012. Investigation of the Presence and Antibiotic Susceptibilities of *Flavobacterium psychrophilum* in Rainbow Trout Farms (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) in the Middle and Eastern Black Sea Regions of Turkey, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 59, 141-146.
- Duru M. ve Şahin A., 2004. Türkiye’de Sağlıklı ve Güvenli Hayvansal Üretimin Gerekliği. Hayv. Üret., 45, 36-41.
- Factsheet (2004). Antibiotic Resistance and Animal Agriculture. Keep Antibiotic Working USA.1-4.
- Fischer, A., Yang, S., Bayer, A.S., Vaezzadeh, A.R. ve Herzig, S., 2011. Daptomycin Resistance Mechanisms in Clinically Derived *Staphylococcus aureus* Strains Assessed by a Combined Transcriptomics and Proteomics Approach, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 66,8, 1696-1711.
- Fu, W., Yang, F., Khang, X., Zhang, X. ve Li, Y., 2011. First Structure of the Polymyxin Resistance Proteins, Biochemical and Biophysical Research Communication, 361,4, 1033-1037.
- Goh, E., Yim, G., Tsui, W., McClure, J. ve Surette, M.G., 2002. Transcriptional Modulation of Bacterial Gene Expression by Subinhibitory Concentrations of Antibiotics, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States, 99,26, 17025-17030.
- Griffiths, R.P., Moyer, C.L., Caldwell, B.A., Ye, C. ve Morita, R.Y., 1990. Long-Term Starvation-Induced Loss of Antibiotic Resistance in Bacteria, Microbial Ecology, 19, 251-257.
- Guardabassi, L., Dalsgaard, A. ve Olsen, J.E., 1999. Phenotypic Characterization and Antibiotic Resistance of *Acinetobacter* spp. Isolated from Aquatic Sources, Journal of Applied Microbiology, 87, 659-667.
- Guardabassi, L., Dalsgaard, A., Raffatellu, M. ve Olsen, J.E., 2000. Increase in the Prevalence of Oxolinic Acid Resistant *Acinetobacter* spp. Observed in a Stream Receiving the Effluent from a Freshwater Trout Farm Following the Treatment with Oxolinic Acid-Medicated Feed, Aquaculture, 188, 205-218.
- Halling-Sørensen, B., Nors N. S., Lanzky, P. F., Ingerslev, F., Holten Lützhøft, H. C., and Jørgensen, S. E. 1998. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-A review. Chemosphere, 36, 357-93.
- Hancock, R.E., 1998. Resistance Mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and Other Nonfermentative Gram-Negative Bacteria, Clinical Infectious Diseases, 27, 93-99.

- Heuer, H. ve Smalla, K., 2007. Manure and Sulfadiazine Synergistically Increased Bacterial Antibiotic Resistance in Soil over at Least Two Months, Environmental Microbiology, 9,3, 657-666.
- Hirsch, R., Ternes, T.A., Haberer, K., Mehlich, A., Ballwanz, F. ve Kratz, K.L., 1998. Determination of Antibiotics in Different Water Compartments via Liquid Chromatography Electrospray Tandem Mass Spectrometry, Journal of Chromatography A, 815, 213-223
- Ishida, Y., Ahmed, A.M., Mahfouz, N.B., Kimura, T., El-Khodery, S.A., Moawad, A.A. ve Shimamoto, T., 2010. Molecular Analysis of Antimicrobial Resistance in Gram-Negative Bacteria Isolated from Fish Farms in Egypt, Journal of Veterinary Medical Science, 72,6, 727-734.
- Jalal, K.C.A., Akbar, John, B., Kamaruzzaman B.Y. ve Kathrisean, K., 2012. Antibiotic Resistant Bacteria from Coastal Environment- A Review, In: Antibiotic Resistant Bacteria- A Continuous Challenge in the New Millennium, Rijeka, InTech, China, 143-158.
- Jiang, H.X., Tang, D.A., Liu, Y.H., Zhang, X.H., Zeng, Z.L., Xu, L. ve Hawkey, P.M., 2012. Prevalence and Characteristics of Lactamase and Plasmid Mediated Quinolone Resistance Genes in *Escherichia coli* Isolated from Farmed Fish in China, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 67,10, 2350-2353.
- Jones, J.G., 1986. Antibiotic Resistance in Aquatic Bacteria, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 18, 149-154.
- Karabay O. ve Hoşoğlu S., 2008. Increased antimicrobial consumption following reimbursement reform in Turkey , J Antimicrob Chemother 61(5),1169-1171
- Katao, H. Erythromycin: The application to streptococcal infections in yellowtails. Fish Pathology, 17, 77-82.
- Kayış, Ş., 2009. Trabzon ve Rize İllerinde Bulunan Bazı Alabalık İşletmelerinde Görülen Bakteriyel Hastalıkların Tespiti ve Bazı Etkenlerinin Çoklu PCR ile Teşhisi, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Kern, M.B., Klemmensen, T., Frimodt-Møller, N. ve Espersen, F., 2002. Susceptibility of Danish *Escherichia coli* Strains Isolated from Urinary Tract Infections and Bacteraemia, and Distribution of sul Genes Conferring Sulphonamide Resistance, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 50, 513-516.
- Kırkan, S., Goksoy, E.O., Kaya, O. ve Tekbıyık, S., 2006. In-vitro Antimicrobial Susceptibility of Pathogenic Bacteria in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum), Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 30, 337-341.

- Korun, J., Ince, A.G. ve Karaca, M., 2013. Antibiotic Resistance and Plasmid Profile of *Vibrio alginolyticus* Strains Isolated from Cultured European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*, L.), Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 57,2, 173-177.
- Krumperman, P.H., 1983. Multiple Antibiotic Resistance Indexing of *Escherichia coli* to Identify High-Risk Sources of Fecal Contamination of Foods, Applied and Environmental Microbiology, 461, 165-170.
- Kruse, H. ve Sørum, H., 1994. Transfer of Multiple Drug Resistance Plasmids between Bacteria of Diverse Origins in Natural Microenvironments, Applied and Environmental Microbiology, 60,11, 4015-4021.
- Kubilay, A., Altun, S., Uluköy, G. ve Diler, Ö. 2005. Lactococcus garvieae suşlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi. S.D.Ü. Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 1, 39-48.
- Kümmerer, K., 2009. Antibiotics in the Aquatic Environment-A review- Part I, Chemosphere, 754, 417-434.
- Lévesque, C., Piche, L., Larose, C. ve Roy, P.H., 1995. PCR Mapping of Integrons Reveals Several Novel Combinations of Resistance Genes, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 39, 185-191.
- Levy, S.B. ve Marshall, B., 2004. Antibacterial Resistance Worldwide: Causes, Challenges and Responses, Nature Medicine Supply, 10, 122-129.
- Levy, S.B., McMurry, L.M. ve Barbosa, T.M., 1999. Nomenclature for New Tetracycline Resistance Determinants, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 43, 1523-1524.
- Martínez, J.L., 2008. Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Natural Environments, Science, 321, 365-367.
- Martínez, J.L., 2012. Natural Antibiotic Resistance and Contamination by Antibiotic Resistance Determinants: The Two Ages in the Evolution of Resistance to Antimicrobials, Frontiers in Microbiology, 3,1, 1-3.
- Moore, R.A. ve Hancock, R.E., 1986. Involvement of Outer Membrane of *Pseudomonas cepacia* in Aminoglycoside and Polymyxin Resistance, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 30,6, 923-926.
- Ng, L.K., Martin, I., Alfa, M. ve Mulvey, M., 2001. Multiplex PCR for the Detection of Tetracycline Resistant Genes, Molecular and Cellular Probes, 15,4, 209-215.
- Olesen, I., Hasman, H. ve Aarestrup, F.M., 2004. Prevalence of β -Lactamases among Ampicillin Resistant *Escherichia coli* and *Salmonella* Isolated from Food Animals in Denmark, Microbial Drug Resistance, 10, 334-340.

- Ozaktas, T., Taskin, B. ve Gozen, A.G., 2012. High Level Multiple Antibiotic Resistance among Fish Surface Associated Bacterial Populations in Non-Aquaculture Freshwater Environment, *Water Research*, 461,19, 6382-6390.
- Ozgumus, O.B., Sandalli, C., Sevim, A., Celik Sevim, E. ve Sivri, N., 2009. Class 1 and Class 2 Integrons and Plasmid-Mediated Antibiotic Resistance in Coliforms Isolated from Ten Rivers in Northern Turkey, *Journal of Microbiology*, 47,1, 19-27.
- Ozturk, D., Adanir, R. ve Turutoglu, H., 2007. Isolation and Antibiotic Susceptibility of *Aeromonas hydrophila* in a Carp (*Cyprinus carpio*) Hatchery Farm, *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 51,3, 361-364.
- Phuong Hoa, P.T., Nonaka, L., Hung Viet, P. ve Suzuki, S., 2008. Detection of the *Sul1*, *Sul2*, and *Sul3* Genes in Sulfonamide-Resistant Bacteria from Wastewater and Shrimp Ponds of North Vietnam, *Science of the Total Environment*, 405, 377-384.
- Plump, J.A., and Hanson, L.A., 2011. Health Maintenance and Principal Microbial Disease of Cultered Fishes. Third Edition, 273.
- Pruden, A., Pei, R., Storteboom, H. ve Carlson, K.H., 2006. Antibiotic Resistance Genes as Emerging Contaminants: Studies in Northern Colorado, *Environmental Science & Technology*, 40,23, 7745-7750.
- Ravelo, C., Magarinos, B., Romalde, J.I. ve Toranzo, A.E. 2001. Conventional versus miniaturized systems for the phenotypic characterization of *Lactococcus garvieae* strains. *Bulletin- European Association of Fish Pathologists*, 21, 136-144.
- Rice, L.B., Willey, S.H., Papanicolaou, G.A., Medeiros, A.A., Eliopoulos, G.M., Moellering, R.C. ve Jacoby, G.A., 1990. Outbreak of Ceftazidime Resistance Caused By Extended-Spectrum β -Lactamases at Massachusetts Chronic Care Facility, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 34, 2193-2199.
- Robinson, J.A. ve Meyer, F.P. 1996. Streptococcal fish pathogen. *Journal of Bacteriology*, 92, 512.
- Sáenz, Y., Briñas, L., Domínguez, E., Ruiz, J., Zarazaga, M., Vila, J. ve Torres, C., 2004. Mechanisms of Resistance in Multiple-Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* Strains of Human, Animal and Food Origin, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48, 3996-4001.
- Saitanu, A., Chongthaleong, M., Endo, T., Umeda, K., Takami, T. ve Aoki, T., 1994. Antimicrobial Susceptibilities and Detection of Transferable R-Plasmids from *Aeromonas hydrophila* in Thailand, *Asian Fisheries Sciences*, 7, 41-46.
- Saladin, M., Cao, V.T., Lambert, T., Donay, J.L., Herrmann, J.L., Ould-Hocine, Z., Verdet, C., Delisle, F., Philippon, A. ve Arlet, G., 2001. Diversity of *CTX-M* Beta-Lactamases and their Promoter Regions from *Enterobacteriaceae* Isolated in Three Parisian Hospitals, *FEMS Microbiology Letters*, 209, 161-168.

- Sandalli, C., Ozgumus, O.B. ve Sevim, A., 2010. Characterization of Tetracycline Resistance Genes in Tetracycline Resistant *Enterobacteriaceae* Obtained from a Coliform Collection, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 26,11, 2099-2103.
- Sanders, C. ve Sanders, W.E., 1979. Emergence of Resistance Cefamendole Possible Role in Cefoxitin Inducible Beta-Lactamases, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 15, 792-797.
- Sarter, S., Nguyen, H.N.K., Hung, L.T., Lazard, J. ve Montet, D., 2007. Antibiotic Resistance in Gram-negative Bacteria Isolated from Farmed Catfish, *Food Control*, 18,11, 1391-1396.
- Schmidt, A.S., Bruun, M.S., Dalsgaard, I. ve Larsen, J.L., 2001. Incidence, Distribution, and Spread of Tetracycline Resistance Determinants and Integron-Associated Antibiotic Resistance Genes among Motile Aeromonads from a Fish Farming Environment, *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 5675-5682.
- Schmidt, A.S., Bruun, M.S., Dalsgaard, I., Pedersen, K. and Larsen, J.L. 2000. Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms. *Applied and Environmental Microbiology*, 66:4908-4915.
- Schwartz, T., Kohnen, W., Jansen, B. ve Obst, U., 2003. Detection of Antibiotic-Resistant Bacteria and their Resistance Genes in Wastewater, Surface Water and Drinking Water Biofilms, *FEMS Microbiology Ecology*, 43,3, 325-335.
- Shah, S.Q.A., Colquhoun, D.J., Nikuli, H.L. ve Sørum, H., 2012. Prevalence of Antibiotic Resistance Genes in the Bacterial Flora of Integrated Fish Farming Environments of Pakistan and Tanzania, *Environmental Science & Technology*, 46,16, 8672-8679.
- Sivri, N., Sandalli, C., Ozgumus, OB., Colakoglu, F. ve Dogan, D., 2012. Antibiotic Resistance Profiles of Enteric Bacteria Isolated from Kucukcekmece Lagoon (Istanbul-Turkey), Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 12, 699-707.
- Sköld, O., 2000. Sulfonamide Resistance: Mechanisms and Trends, *Drug Resistance Updates*, 3, 155-160.
- Sköld, O., 2001, Resistance to Trimethoprim and Sulfonamides, *Veterinary Research*, 32, 261-273.
- Spanggaard, B., Jorgensen, F., Gram, L. ve Huss, H.H., 1993. Antibiotic Resistance in Bacteria Isolated from Three Freshwater Fish Farms and an Unpolluted Stream in Denmark, *Aquaculture*, 115, 195-207.
- Srinivasan, V., Nam, H.M., Nguyen, L.T., Tamilselvam, B., Murinda, S.E. ve Oliver, S.P., 2005. Prevalence of Antimicrobial Resistance Genes in *Listeria monocytogenes* Isolated from Dairy Farms, *Foodborne Pathogens and Disease*, 2, 201-211.

- Su, H.C., Ying, G.G., Tao, R., Zhang, R.Q., Fogarty, L.R. ve Kolpin, D.W., 2011. Occurrence of Antibiotic Resistance and Characterization of Resistance Genes and Integrons in *Enterobacteriaceae* Isolated from Integrated Fish Farms in South China, Journal of Environmental Monitoring, 13,11, 3229-3236.
- Tenover, F.C., 2006. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria, American Journal of Infection Control, 34,5, 3-10.
- Terzi, E., 2013. Alabalık İşletmelerinden İzole Edilen Bakterilerde Antibiyotik Direnç Genlerinin Belirlenmesi Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- URL-4, http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0909_TER_The_Bacteria_1_Challenge_Time_to_React.pdf. 16.09.2013.
- URL-5, <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:264:0020:0031:EN:pdf>. 16.09.2013.
- Van Dongen, M.B.M., Van Diemen, A.E.A.R., Staarman, I.K. ve Piera, T., 2008. Antibiotic Resistance in Bacteria from Farmed Fish and Shrimps, InnoTact Consulting B.V., Woudenberg, Netherlands, 53 s.
- W.H.O., 2000. Annual Report on Infectious Disease: Overcoming Antimicrobial Resistance; World Health Organization, Geneva, Switzerland
- W.H.O., 2012. Fact sheet N: 194: Antimicrobial resistance. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/index.html>.
- Walsh, C., 2000. Molecular Mechanisms that Confer Antibacterial Drug Resistance, *Nature*, 406, 775-781.
- Walton, J. R. 1992. Use of antibiotics in veterinary practice. Journal of Medical Microbiology, 36, 69-70.
- Wegener, H.C., Aarestrup, F.M., Gerner-Smidt, P. and Bager, F. 1999a. Transfer of antibiotic resistant bacteria from animals to man. *Acta Veterinaria Scandinavia*, Supplementum, 92,51-57.
- White, P.A., McIver, C.J. ve Rawlinson, W.D., 2001. Integrons and Gene Cassettes in the *Enterobacteriaceae*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45, 2658-2661.
- Willis, C. 2000. Antibiotics in the food chain: their impact on the consumer. *Reviews in Medical Microbiology*, 11, 153-160.
- Wright, G.D., 2007. The Antibiotic Resistome: The Nexus of Chemical Genetic Diversity, *Nature Reviews Microbiology*, 5,3, 175-186.
- Wright, G.D., 2010. Antibiotic Resistance in the Environment: A Link to the Clinic, *Current Opinion in Microbiology*, 13,5, 589-594.

- Yim, G., Wang, H.H. ve Davies, J., 2006. The Truth about Antibiotics, International Journal of Medical Microbiology, 296, 166-173.
- Zhang, Q., Lambert, G., Liao, D., Kim, H., Robin, K., Tung, C.K., Pourmand, N. ve Austin, R.H., 2011. Acceleration of Emergence of Bacterial Antibiotic Resistance in Connected Microenvironments. *Science*, 333, 1764-1767.
- Zühlsdorf, M.T. ve Wiedemann, B., 1992. *Tn21*-Specific Structures in Gram Negative Bacteria from Clinical Isolates, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 36, 1915-1921.

8. EKLER

EK 1

Ek Tablo 1. Bakteri türlerinde belirlenen antibiyotik dirençlilikleri

Bakteri	n	Kullanılan Antibiyotikler																												
		FFC30	OA2	ENR5	TIC 75	NET30	W5	AK30	OFX 5	CN10	K30	TGC 15	PRL100	AM10	S10	NA30	RA30	CTX30	SMZ100	ATM30	KF30	IMP10	C30	CRO30	E15	T30	SXT25	TE30	AX 25	N5
<i>A. caviae</i>	9	1	2	-	8	-	7	-	-	1	1	-	3	8	3	5	1	4	6	5	6	4	1	2	8	4	3	2	9	2
<i>A. hydrophila</i>	15	4	-	-	13	-	4	-	-	1	1	-	7	14	6	4	2	2	10	7	13	8	-	2	11	1	-	1	14	3
<i>A. salmonisidia</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. schubertii</i>	1	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	1	1
<i>A. sorbia</i>	4	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	2	2	1	1	1	-	2	1	-	1	-	-	1	-	-	-	3	1
<i>A. veronii</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
<i>B. cepacia</i>	7	5	1	7	-	-	6	1	-	1	1	-	4	7	6	1	2	4	5	6	7	3	7	5	5	4	4	3	7	4
<i>Burkholderia</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. davisae</i>	1	-	1	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	-	1	1	-	1	1	1	1	-	-	1	-	-	1	-	-	1
<i>C. freundii</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. indologenes</i>	3	2	2	2	3	2	3	2	2	2	2	-	3	2	3	2	-	2	1	3	3	1	1	3	3	2	2	3	3	3
<i>C.lapagei</i>	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
<i>Cromobakterium</i>	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	1	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	1
<i>E. asburiae</i>	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coacae</i>	4	2	1	1	2	-	3	1	1	1	3	-	3	4	4	1	-	3	4	3	3	1	2	3	2	-	2	-	4	2
<i>E. vuhualis</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>M. morgani</i>	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	1	1	1	-	1	-	-	1	1	-	-	-	1	-
<i>P. caryophyllii</i>	1	1	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	1	1	-	1	-	1	-	1	-	1	1
<i>P. damsella</i>	1	-	-	-	1	-	-	-	-	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-
<i>P. diminuta</i>	1	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	1	-	-	1	-
<i>P. fluorescens</i>	8	8	2	-	8	-	7	-	-	-	-	-	1	8	3	-	2	3	3	6	8	2	5	6	7	2	5	2	7	2
<i>P. luteola</i>	5	4	1	-	5	-	4	-	-	-	-	-	1	5	5	3	3	5	4	4	3	3	4	4	5	3	4	3	5	1
<i>P. oryzihabitans</i>	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1	1	1	-	-	-	1	-	1	-	-	-
<i>P. putida</i>	2	1	-	-	2	-	2	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. shigelloides</i>	1	-	1	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	1	1
<i>P. solanacearum</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Panteopa spp</i>	2	-	1	1	2	1	2	1	-	-	1	-	2	2	1	1	1	2	1	2	2	-	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>pseudomonas spp</i>	1	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
<i>R. aquatilis</i>	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	1

Ek Tablo 1'in devamı

Bakteri	n	Kullanılan Antibiyotikler																													
		FFC30	OA2	ENR5	TIC75	NET30	W5	AK30	OFX5	CN10	K30	TGC15	PRL100	AM10	S10	NA30	RA30	CTX30	SMZ100	ATM30	KF30	IMP10	C30	CRO30	E15	T30	SXT25	TE30	AX 25	N5	
<i>S. entomophila</i>	1	1	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	1	1	-	-	1	1	1	1	-	1	1	1	-	1	-	1	-	1	1
<i>S. liquefaciens</i>	3	-	1	-	1	-	-	1	-	-	-	-	1	2	2	-	2	2	2	-	3	1	-	-	2	1	1	-	2	1	
<i>S. maltophilia</i>	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	1	1	1	-	-	-	
<i>S. odorifera</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	
<i>Shigella sp.</i>	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	-	1	-	-	-	1	-	
<i>V. anguillarum</i>	6	1	1	1	6	1	3	-	-	-	-	-	3	4	-	-	1	1	2	1	3	2	1	3	4	1	5	1	3	2	
<i>V. fluvialis</i>	4	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	1	1	-	1	-	-	2	-	2	1	-	-	3	-	-	-	1	1	
<i>V. ordalli</i>	1	1	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	1	1	1	-	1	1	1	-	-	-	1	-	
<i>V. parahaemolyticus</i>	2	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	2	-	
<i>V. vulnificus</i>	2	1	1	-	2	1	1	-	-	-	-	-	2	1	1	-	-	1	1	2	1	-	1	2	-	-	2	1	1	-	
<i>V. mimicus</i>	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	1	-	1	-	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	
<i>Y. rohdei</i>	2	1	-	-	2	-	1	-	-	-	-	-	1	2	1	-	-	2	-	2	2	-	-	2	1	2	-	1	2	1	
<i>Y. ruckeri</i>	26	2	-	-	3	1	5	1	-	-	1	-	6	6	1	3	2	12	9	11	22	11	3	7	23	-	2	-	10	5	
<i>Y. pestis</i>	2	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	1	1	1	-	1	1	-	-	-	-	-	
Toplam	133	35	18	13	74	7	55	10	3	8	14	-	50	82	45	28	22	54	68	68	93	40	33	46	91	24	39	18	84	38	
Yüzde		26,3	13,5	9,7	55,6	5,2	41,4	7,5	2,2	6,01	10,5	-	37,5	61,6	33,8	21,05	16,5	40,6	51,1	51,1	69,9	30,07	24,8	34,5	68	18,4	29,3	13,5	63,1	29	

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Ankara ili Altındağ ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Ankara da tamamlayarak 2007 yılında Dikmen Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesinden mezun oldu. Yüksek öğrenimine 2008 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Bölümünde başladı. 2012 yılından itibaren aynı üniversitenin Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği anabilim dalında yüksek lisans eğitimine devam etmektedir. İyi derecede İngilizce bilmektedir.