

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**DOĞU KARADENİZ BÖLGESİNDEKİ KAFES İŞLETMELERİNDEN İZOLE
EDİLEN BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİK HASSASİYETLERİNİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevcan KANAL

OCAK 2017

TRABZON



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**DOĞU KARADENİZ BÖLGESİNDEKİ KAFES İŞLETMELERİNDEN İZOLE EDİLEN
BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİK HASSASİYETLERİNİN BELİRLENMESİ**

Sevcan KANAL

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce
“(BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ YÜKSEK MÜHENDİSLİĞİ)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 30 / 12 / 2016

Tezin Savunma Tarihi : 20 / 01 / 2017

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Erol ÇAPKIN

Trabzon 2017

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Bahçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalında
Sevcan KANAL Tarafından Hazırlanan**

**DOĞU KARADENİZ BÖLGESİNDEKİ KAFES İŞLETMELERİNDEN İZOLE EDİLEN
BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİK HASSASİYETLERİNİN BELİRLENMESİ**

başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 27 / 12 / 2016 gün ve 49 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 hazırlanmıştır ve Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM/HSGYDA/16/A11/P03/84) tarafından desteklenmiştir.

Su ürünleri yetiştiriciliği yeni alanların kullanıma açılmasıyla birlikte hızlı büyüyen bir sektördür. Yetiştiriciliği yapılan türlerin hastalıklardan korunmaları ve hastalık ortaya çıktığında kısa sürede teşhis ve tedavi edilmesi için aşırı ve kontrolsüz antibiyotikler kullanılmaktadır. Bunun sonucunda da sucul ortamın kirlenmesiyle beraber ortamdaki bakteriler de hızla direnç kazanmaktadır. Antibiyotik direnci, balık kayıplarının yanı sıra çevre kirliliği ve kalıntı problemlerinden dolayı insan sağlığını da yakından ilgilendirmektedir. Şimdiye kadar yapılan çalışmaların çoğu hastane kökenli bakterilerdeki antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesine yönelik olduğundan, hastalıklarla etkin mücadeleye yönelik yapılan çalışmaların oldukça önemli olması çalışmaya konu olmuştur.

Yüksek Lisans tez konusunun belirlenmesinde, çalışmaların yürütülmesinde ve sonuçların yorumlanmasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Erol ÇAPKIN ve Prof. Dr. İlhan ALTINOK'a teşekkür ederim. Örneklerin temin edilmesi ve laboratuvar çalışmalarındaki katkılarından dolayı Trabzon Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nde görev yapmakta olan Dr.Mustafa TÜRE'ye teşekkür ederim. Ayrıca bugüne kadar her konuda desteklerini gördüğüm aileme teşekkür ederim.

Sevcan KANAL
Trabzon 2017

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Doğu Karadeniz Bölgesindeki Kafes İşletmelerinden İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Hassasiyetlerinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Doç. Dr. Erol ÇAPKIN’ın sorumluluğumda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı /yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma süresince bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 20/01/2017

Sevcan KANAL

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Hastalık.....	2
1.3. Çevresel Kökenli Bakteriler	3
1.3.1. <i>Escherichia coli</i>	4
1.3.2. <i>Enterococcus spp.</i>	4
1.3.3. <i>Lactococcus garvieae</i>	5
1.4. Antibiyotik	5
1.5. Yetiştiricilikte Antibiyotik Kullanımı	6
1.6. Antibiyotiklerin Etki ve Direnç Mekanizması	7
1.7. Önceki Çalışmalar	9
1.8. Çalışmanın Amacı ve Gereçesi	11
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	13
2.1. Örnek Temini	13
2.2. Balık ve Sediment Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizi.....	13
2.3. <i>Escherichia coli</i> İdentifikasyonu.....	14
2.4. <i>Enterococcus spp.</i> İdentifikasyonu	15
2.5. Balıklardan Bakteri İzolasyonu ve İdentifikasyonları.....	16
2.6. İdentifikasyon Amacıyla Uygulanan Biyokimyasal ve Morfolojik Testler.....	17
2.6.1. Gram Boyama	17
2.6.2. Oksidaz Testi.....	17

2.6.3.	Katalaz Testi.....	17
2.6.4.	Bacdiect <i>E.coli</i> Testi	18
2.6.5.	Api Testleri.....	18
2.7.	Antimikrobiyal Hassasiyet Testi	19
2.8.	Minimum İnhibasyon Konsantrasyon (MİK) Testi.....	20
3.	BULGULAR	21
3.1.	İstasyonların Yüzey Suyu Sıcaklık Parametreleri.....	21
3.2.	İzole Edilen Bakteriler	21
3.3.	Antibiyogram Sonuçları	22
3.4.	Minimum İnhibasyon Konsantrasyon (MİK) Sonuçları	24
4.	TARTIŞMA	27
5.	SONUÇLAR	31
6.	ÖNERİLER	33
7.	KAYNAKLAR.....	34
	ÖZGEÇMİŞ	

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

DOĞU KARADENİZ BÖLGESİNDEKİ KAFES İŞLETMELERİNDEN İZOLE EDİLEN
BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİK HASSASİYETLERİNİN BELİRLENMESİ

Sevcan KANAL

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Erol ÇAPKIN
2017, 40 Sayfa

Bu tez çalışmasında, Kasım 2015 ve Haziran 2016 tarihlerinde Ordu (Perşembe) ve Trabzon (Yomra)'da bulunan deniz kafesleri ile Gümüşhane (Kürtün)'de bulunan tatlı su kafes işletmelerinden sediment ve balık örnekleme yapılmıştır. Her bir istasyondan iki farklı kafes seçilmiş ve kafeslerin 1 km uzağından sediment örnekleme yapılmıştır. Sediment ve balıklardan izole edilen bakterilerde antibiyotik direnci ve Minimum İnhibasyon Konsantrasyonu (MİK) araştırılmıştır. Sediment örneklerinden *Escherichia coli* (n:64) ve *Enterococcus spp.*(n:75) izole edilirken, balıklardan *Lactococcus garvieae* (n:24) izole edilmiştir. Antibiyogram test sonuçlarına göre; *Escherichia coli* tetrasiklin ve gentamisine karşı yüksek dirençlilik gösterirken, en etkili antibiyotik enrofloksasin ve florfenikol olduğu belirlenmiştir. *Enterococcus spp.* ise enrofloksasin ve tetrasikline karşı yüksek dirençli olurken, en etkili antibiyotik eritromisindir. Balıklardan izole edilen *L. garvieae* en yüksek direnci Trimethoprim+Sulfametoksazol ve gentamisine karşı gösterirken, en etkili antibiyotiklerin tetrasiklin, amoksisilin, enrofloksasin, florfenikol ve eritromisin olduğu belirlenmiştir. MİK testi sonuçlarına göre; *E. coli* izolatları vankomisin ve penisilin antibiyotiklerine karşı direnç gösterirken, *Enterococcus spp.* bakterilerinin ise enrofloksasin ve penisiline karşı dirençli oldukları belirlenmiştir. Balıklardan izole edilen *L. garvieae* ise Trimethoprim+Sulfametoksazol antibiyotiğine karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. Aşırı ve bilinçsiz antibiyotik kullanımının sucul ekosistemde bulunan bakterilerin antibiyotik dirençliliklerinde önemli artışlara neden olabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *E. coli*, *Enterococcus spp.*, *L. garvieae*, Antibiyotik direnci, Minimum İnhibasyon Konsantrasyonu (MİK)
Master Degree Thesis

SUMMARY

DETERMINATION OF ANTIBIOTICS SENSITIVITY OF ISOLATED FROM CAGE MANAGEMENTS IN EASTERN BLACKSEA REGION

Sevcan KANAL

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Fisheries Technology Engineering Graduate Program
Consultant: Ass. Prof. Dr. Erol ÇAPKIN
2017, 40 Pages

In this thesis, fish and sediment samples were taken from the sea cages in Ordu (Perşembe) and Trabzon (Yomra) and freshwater cage in Gümüşhane (Kürtün) on November 2015 and June 2016. Two cages were selected in each station and sediment sampled 1 kilometer away from the cages. Antibiotics resistance and Minimum Inhibition Concentration (MIC) of the bacteria that isolated from fish and sediment were evaluated. While *Escherichia coli* (n: 64) and *Enterococcus spp.* (n:75) were isolated from sediment samples, *Lactococcus garvieae* (n:24) was isolated from fish. According to antibiogram test results, *Escherichia coli* had significant resistant to tetracycline and gentamisin antibiotics and the most effective antibiotics were determined as enrofloksasin and florphenical. *Enterococcus spp.* were highly resistant to enrofloksasin and tetrasiklin, eritrominise was the most effective antibiotic. *L. garvieae* which were isolated from fish showed highest resistant to Trimethoprim+Sulphamethoxazol and gentamisin, meanwhile the most effective antibiotics were determined as tetrasiklin, amoksisilin, enrofloksasin, florfenikol and eritromisine. According to MIC test results, *E. coli* were highly resistant to vancomisin and penicillin. meanwhile *Enterococcus spp.* were resistant to enrofloksasin and penicillin. Lastly, *L. garvieae* that isolated from fish were resistant to Trimethoprim+Sulphamethoxazol. It has been determined that excessive and unnecessary use of antibiotics may cause significant increases in antibiotic resistance of bacteria in the aquatic ecosystem.

Key Words: *E. coli*, *Enterococcus spp.*, *L. garvieae*, antibiotic resistance, Minimum Inhibition Concentration (MIC)

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. <i>E. Coli</i> 'nin koliform ES agarda görüntüsü	14
Şekil 2. <i>Escherichia coli</i> 'nin saflaştırılmış görüntüsü	14
Şekil 3. <i>Enterococcus spp.</i> 'nin Bile Aesculin Azide Agar'da görüntüsü	15
Şekil 4. <i>Enterococcus spp.</i> 'nin saflaştırılmış görüntüsü	16
Şekil 5. Balık dokularından bakteriyolojik ekim yapılması	16
Şekil 6. UV altında Bactient <i>E. Coli</i> testi görüntüsü.....	18
Şekil 7. <i>Lactococcus garvieae</i> ve <i>Enterococcus spp.</i> 'ye uygulanan apı 1d 32 strep test kiti.....	18
Şekil 8. <i>Escherichia coli</i> 'ye uygulanan apı 20 E test kiti	19
Şekil 9. Antimikrobiyal hassasiyet test görüntüsü	19
Şekil 10. Minimum inhibitör Konsantrasyon (MİK) testi görüntüsü	20
Şekil 11. İzole edilen bakterilerin toplam direnç değerleri	24
Şekil 12. MİK testi sonucu bakterilerin toplam dirençlilik değerleri.....	26

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotikler	7
Tablo 2. Antibiyotik sınıfları,etki ve direnç mekanizmaları	8
Tablo 3. İşletmelerden alınan örneklere ilişkin bilgiler.....	13
Tablo 4. <i>Enterococcus spp.</i> ve <i>E. coli</i> 'nin İMVİC özellikleri.....	15
Tablo 5. İstasyonların yüzey suyu sıcaklık parametreleri	21
Tablo 6. Sediment ve balık örneklerinden izole edilen bakteriler.....	22
Tablo 7. Sediment ve balıklardan izole edilen bakterilerin disk difüzyon testine göre antibiyotik dirençlilikleri	23
Tablo 8. Bakterilerin MİK sonuçlarına göre antimikrobiyal dirençlilikleri.....	25

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Su kirliliği, sulara insan etkisi sonucu ortaya çıkan ve kullanımlarını kısıtlayan veya tamamen engelleyen dolayısıyla ekolojik dengeleri bozan kalite değişimidir (Kocataş, 1992; Türkman, 1993). Yerleşim yerlerindeki atık suların arıtılmadan yüzey sularıyla seyrelmeye ve doğal biyolojik arıtıma bırakılması neticesinde bu suların alıcı ortama karışması, sulara biyolojik kirlenmeye sebep olmaktadır (Koloren vd., 2011). Yerleşim alanlarındaki yoğun nüfus artışı, atıkların bilinçsizce alıcı ortama bırakılması, yetersiz ve eksik kanalizasyon sistemleri gibi sebeplerden dolayı biyolojik kirlenmeye günden güne artmaktadır (Çolakoğlu, 2007). Ayrıca yüksek oranda organik kirletici olan mezbahane, mandıra, şeker fabrikaları gibi gıda sanayileri atıklarının da bu tür kirlilik artışını önemli oranda etkilemektedir (Toroğlu vd., 2006).

Yüzey suları (dere, nehir, baraj, göl, gölet, çeşitli havuzlar) özellikle bakteriyolojik kontaminasyona çok açıktır. Tarımsal kullanım ve insan aktiviteleri kaynaklı atık su deşarjının artışı, suların mikrobiyolojik kalitesinde önemli değişiklikler meydana getirmektedir. Suların mikrobiyolojik kirlenmesine neden olan bakteriler, virüsler ve diğer hastalık yapıcı canlılar, genellikle hastalıklı veya portör olan hayvan ve insanların dışkılarından kaynaklanır (Berberoğlu, 2012). Ayrıca sular, toprakta veya bitkilerde bulunan diğer mikroorganizmalarla da kontamine olabilirler. Bu mikroorganizmalara patojen gözü ile bakılmaz ancak bazen fırsatçı enfeksiyonlara sebep olabilirler (Willke Topçu vd., 1996).

Bakteriler çevresel değişikliklere çok çabuk cevap verebildiklerinden, bu yetenekleri akuatik ekosistemde köklü değişikliklere yol açabilmektedir (Nogales vd., 2011). Bakterilerin bu özellikleri geliştirilen her yeni antibiyotiğe direnç geliştirebilmelerine de yol açmaktadır (Altuğ vd., 2005). Antibiyotiklerin insanlarda enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde ve çok sayıda insan kaynaklı olmayan tarım, hayvan yetiştiriciliği ve balık çiftlikleri gibi uygulamalarda kullanılması sonucu çevresel bakterilerde antibiyotik dirençliğin artışına neden olmaktadır.

Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılması dirençlilik gelişiminde etkin olup, nehirlerin denizlere döküldüğü alanlardan, derin deniz suyu ile sedimentinden dirençli bakterilerin su ve su ürünleri ile deniz araçları ile geniş alanlara yayılması dirençliliğin daha da gelişmesine ve bakteriler arasında yayılmasına neden olmuştur. Akuatik ekosistemde bakterilerin başlangıçta hassas oldukları bir antibiyotiğe dirençli hale gelmeleri, evsel atıkların doğal ortamlara ulaşması ile ilgilidir (Karayakar., 2006).

Çevrenin insan sağlığını tehdit eden direnç özelliklerinin potansiyel kaynakları olduğunun belirlenmesi bakteriyel hastalıklarla mücadele etmek için son derece önemlidir (Martinez, 2012). Antibiyotikler tüm dünyada bakteriyel hastalıkların tedavisinde en çok kullanılan ilaçlar arasında ilk sıralarda yer almaktadır ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde aşırı kullanılmaktadır (Hart, 1998).

İnsanların beslenmesi ve istihdamı açısından önemli bir sektör olan su ürünleri yetiştiriciliğinde, özellikle çevresel patojen bakterilerin neden olduğu hastalıklar önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu alanda yapılacak çalışmalar hem ekonomik kayıpları en aza indirmiş hem de üretimi yapılan türlerin korunmasında yeni ve etkili tekniklerin gelişmesini sağlayacaktır (Tekelioğlu, 2000).

1.2. Hastalık

Hastalık, bir grup canlı organizma tarafından meydana getirilen anormal etkilerin toplamı olup organizmanın normal karakterinden farklı ve biyolojik olarak dezavantaj oluşturabilecek özelliklere neden olan durumdur. Balıkların hastalanmasında rol oynayan çevresel faktörlerden biri veya birkaçının bozulması balıklarda strese neden olmakta ve vücutta alarm reaksiyonları başlamaktadır. Balıkların savunma sistemini etkileyen çevresel stres faktörleri doğal yoldan oluşanlar ve yapay olarak oluşanlar olmak üzere iki çeşittir. Doğal yoldan oluşan çevresel stres faktörleri; mevsim, sıcaklık, tuzluluk, populasyon gibi faktörlerdir. Yapay yoldan oluşan faktörler ise; kirletici maddeler, organik bileşikler, asit yağmurları olarak sayılabilir (Bly vd., 1977).

Hastalıkların ortaya çıkmasında etkenin virülansı ve miktarı da önemli bir faktördür. Balığın yaşadığı ortam olan su hemen hemen her türlü mikroorganizma içermektedir. Stresle beraber fakültatif patojenler epizootilerin patlak vermesine neden olmaktadır. Bir hastalığın bulaşıcı olması için gereken şartlar:

- Enfeksiyon etkeni
- Enfeksiyon etkenin belirli bir sayıda olması
- Enfeksiyonun oluşması için türünde önemi vardır
- Konakçının uygun olması ve duyarlı olması gerekiyor
- Çevre etkeni (stres)

Enfeksiyon etkeni vücuda;

- Ağız yoluyla giriş yapar, mide ve barsaklara yerleşir
- Solungaçlardan giriş yapar
- Deri yoluyla giriş yapar
- Mukoz membranlar yoluyla giriş yapar

Enfeksiyon dışında çevresel (beslenme, su kalitesindeki bozukluklar) ve toksik nedenler de balıkta hastalığa yol açabilir.

Balıklarda hastalık oluşmasını engellemek için;

- Patojenin bulaşması engellenmeli
- Çevre şartlarının optimizasyonu sağlanmalı
- Balığın hastalıklara direnci arttırılmalı
- Aşılama
- Kemoprofilaksi (Korkut vd., 2002)

Dünya çapında son yıllarda su ürünleri yetiştiriciliğinde, hızlı bir büyüme gerçekleşmektedir (Gudding vd., 1999). Bu hızlı büyüme sürecinde çevresel etkileşimlerle birlikte bakteriyel, viral, fungal ve paraziter hastalıklarda da artış meydana gelmektedir. Günümüzde hastalıklardan kaynaklanan kayıplar Avrupa'da ve dünyada üretilen balıkların kalitesine ve miktarına önemli ölçüde etkide bulunmaktadır (Hill, 2005).

1.3. Çevresel Kökenli Bakteriler

Yüzeysel sularda ve atıksularda bulunan organizmalar, bakteriler, mantarlar, protozoalar ve algler gibi omurgalı ve omurgasız canlılardan meydana gelir. Bunlardan bir kısmı patojen yani hastalık yapan mikroorganizmalardır (Muslu, 1994). Suda bulunan mikroorganizmalar; suda doğal olarak bulunan canlıların mikroorganizmaları, toprakta yaşayan mikroorganizmalar, insan ve hayvan bağırsak kaynaklı mikroorganizmalar olarak sıralanabilir (Tekinşen, 1976).

1.3.1. *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae ailesi içerisinde yer alan *E. coli*, Gram negatif, hareketli, fakültatif anaerob çubuklardır. Gelişme sıcaklıkları 3- 50°C (optimum 37- 41°C) arasındadır. Çoğaldıkları pH ise 4 ve 10 değerleri arasındadır (Uğur ve ark.Ü., 1999). *Escherichia coli* nutrient agar ve kanlı agarda, enterobakteriler için bazı selektif ve diferensiyel besiyerlerinde (Mac Conkey Agar, Eosine Methylene Agar vs.) 37 °C’de 24 saatte gözle görülebilir –S tipi koloniler meydana getirir. *E. coli*’nin bazı suşları kanlı agarda hemoliz oluşturur. *E. coli* laktozu ayrıştırdığı için Mac Conkey Agar’da pembe renkli koloniler, Eosine Methylene Blue Agar’da ise metalirefle görünümünde koloniler oluşturur. Nutrient Buyyon’da 24 saatte 37 °C’de bulanıklık yaparak ürer (Arda vd., 1999).

Herhangi bir örnekte *E.coli*’ye veya fekal koliform bakterilere rastlanması oraya doğrudan ya da dolaylı olarak dışkı bulaştığının göstergesi olabilmektedir ve bu durum *Salmonella*, *Shigella* gibi primer patojenlerin de o ortamda veya örnekte olabileceğine işaret edebilir.

E.coli fekal kontaminasyonun bir göstergesi olması yanında genetik yapısı en iyi bilinen canlı olma özelliğine de sahiptir. Suşlarının birçoğu zararsız olan bu bakterinin bazı patojenik tipleri, insan ve hayvanlarda, sonucu ölüme kadar giden ishaller, yara enfeksiyonlarına, menenjit, septisemi, arteriosklerosis, hemolitik üremik sendrom ve çeşitli immünolojik hastalıklara sebep olabilmektedir (Chaslus,1980).

1.3.2. *Enterococcus spp.*

Enterokoklar; tekli, ikili ya da kısa zincirler halinde bulunurlar ve 37 °C’de optimum gelişme gösterirler. Mikroskopik olarak streptokok türlerinden ayırt edilemezler. Gram pozitif, kokobasil şeklinde görülebilirler, bazı türlerde pseudo-katalaz görülse de genellikle katalaz negatiftirler. Alfa, beta veya gama hemoliz yeteneğindedirler. Düşük su aktivitesi, yüksek ısı gibi çevresel koşullara, bazı antiseptiklere karşı direnç gösterirler ve cansız yüzeylerde uzun süre yaşayabilirler (Ruoff vd., 1990; Çelik ve Alhan, 2008).

Enterokoklar, hayvanların sindirim atıklarında, toprakta, kirli suda hayvansal gıdalarda bulunabilen bakterilerdir. Bu bakteriler primer patojen olarak bilinmezler, fakat genellikle ikincil patojen olarak özellikle insan bağışıklığını tehlikeye atan bakteriler içinde tanımlanmaktadır. Ayrıca Enterokoklar, ciddi insan patojeni olan diğer bakteriler için düz

(yatay) transfer edilebilen antibiyotik direnç genlerinin rezervuarı olarak dikkate alınmaktadır (Larson vd., 2008). Deniz ve tatlı su örneklerinde enterokoklar en önemli bakteriyel indikatör olarak kabul edilirler (Öztürk, 2003).

1.3.3. *Lactococcus garvieae*

L. garvieae, dünyada ilk defa bir balık patojeni olarak sarkıyruk (*Seriola quinqueradiata*) balığından izole edilmiş (Ksuda vd., 1991) ve neden olduğu hastalık Lactococcosis veya Streptococcosis olarak adlandırılmıştır (Austin ve Austin 1999). Etken Türkiye’de ilk defa 2001 yılında Ege Bölgesi’ndeki bir Gökkuşığı alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*) işletmesinde yüksek mortalite (%80) ile izole edilmiştir (Diler vd., 2002). *L. garvieae*, Gram pozitif, hareketsiz, ovalimsi koklardır. Çiftler ya da kısa zincirler halinde görülebilirler. Kanlı agar üzerinde alfa-hemolitiklerdir. Oksidaz ve katalaz negatiflerdir sporsuz ve aside dirençli değildirler (Vendrell vd., 2007, Ringo ve Gatesoupe 1998).

L.garvieae hasta balıklarda, iştahsızlık, uyuşukluk, deride kararma ve düzensiz yüzme gibi genel hastalık bulguları hızlıca ortaya çıkar. Tipik dış bulgu çift ya da tek taraflı ekzoftalmus (göz fırlaması)’dur. Ağız ve göz çevresinde, yüzgeç kaidelerinde ve anal bölgede kanamalar görülür. Ayrıca karın bölgesinde şişlik ve anüste prolapsus sıklıkla gözlenir (Eldar ve Ghittino 1999; Muzquiz vd., 1999; Diler vd., 2002). Etken damar endotelinde lezyonlar oluşturur ve sonucunda iç organların yüzeyinde nokta ve yaygın tarzda kanamalara sebep olur. Ağız ve anüs çevresi doku ve yüzgeçleri en çok etkilenen kısımlardır (Muzquiz vd., 1999). Nekropside periton üzerinde asidik karakterli irinli ya da kanlı olabilen sıvı birikmiştir. Etkilenen organlar daha ziyade karaciğer, dalak, kalp, beyin ve sindirim kanalıdır (Diler vd., 2002).

1.4. Antibiyotik

Antibiyotikler, düşük miktarlarda mikroorganizmaları öldüren ya da üremelerini durduran bileşikler olup balıklarda görülen bakteriyel hastalıkların kontrolünde ve tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu ilaçlar yoğun yetiştiriciliğin yapıldığı alanlarda sadece tedavi amaçlı kullanılmayıp aynı zamanda koruyucu (profilaktik) ve

büyüme hızlandırmak amacıyla da kullanılmaktadır (Anderson vd., 2003). Etki tarzlarına ve etkiledikleri mikroorganizmalara göre çok sayıda antibiyotik bulunmaktadır. Mikroorganizmanın hücre duvarını bozmak, protein sentezini bozmak veya mikroorganizmanın ihtiyaç duyduğu maddeleri yok etmek antibiyotiklerin etki etme şekilleri arasındadır (Yalap ve Balcıoğlu, 2008).

1.5. Yetiştiricilikte Antibiyotik Kullanımı

Su ürünlerinde antibiyotikler, terapötik amaçlar ve profilaktik ajanlar olarak kullanılmaktadır (Tablo 1) (Serrano, 2005; Kümmerer, 2009). Hastalıkların koruma ve kontrolü ve aynı zamanda canlıların büyümesini desteklemek amacıyla antibiyotik kullanımında yoğun artış görülmektedir. Bu yoğun antibiyotik kullanımı, antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların gelişmesine, sucul çevreye ve insan sağlığına zararlı etkilerin oluşmasına neden olmaktadır (Barug vd., 2006).

Avrupa Hayvan Sağlığı Federasyonunun yaptığı bir çalışmada 1999 yılında hayvansal üretim için kullanılan antibiyotik miktarı 4.700 ton, insan tüketimi ise 8.500 ton olarak belirtilmiştir. Hayvansal üretimde kullanılan antibiyotiğin 3.900 tonu hastalıkların tedavisinde ve 786 tonu ise büyüme destekleyici olarak kullanılmıştır (Anonim, 2002).

Tablo 1. Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotikler (Subasinghe vd., 2000).

İlaç Grubu (Antibiyotikler)	İlaç İsmi	Uygulama Yolu
β -laktamlar	Ampisilin Amoksisilin	Ağız Yolu
Aminoglikozidler	Neomisin Kanamisin	Ağız Yolu Banyo
Tetrasiklinler	Tetrasiklin Oksitetrasiklin Doksisiklin	Ağız Yolu Banyo
Makrolidler	Eritromisin	Ağız Yolu Banyo
Fenikoller	Kloramfenikol	Ağız Yolu Banyo
Sülfonamidler	Sülfomerazine Sülfodimetoksin Trimethoprim Sülfodiazin	Ağız Yolu
Nitrofuraneler	Furazolidon Furaltadon Nifurpirinol	Ağız Yolu
Kinolonlar	Oxolinik Asit Flumequin	Ağız Yolu

Antibiyotik kullanımının zararlı etkileri, hastalıkların kontrol edilmesinde alternatif stratejiler geliştirilmesi gerekliliğini ortaya çıkartmıştır. Bu bağlamda son yıllarda yetiştiriciliği yapılan ürünlerin hastalıklara karşı direncini ve stres dayanımını arttırmak için fonksiyonel yem katkı maddelerinin geliştirilmesi ve kullanımı yaygınlaşmıştır (Dimitroglou vd., 2010).

1.6. Antibiyotiklerin Etki ve Direnç Mekanizması

Bütün bakterilerde yavaş gelişme, hızlı gelişme ve dinlenme dönemlerinden oluşan üç çoğalma devresi vardır. Antibiyotikler bakterilerin hızlı ve yavaş gelişme dönemlerinde etki gösterirler. Bu etkileşim bakterilerin öldürülmesi (bakterisid etki) veya bakterilerin gelişimi ve üremesinin durdurulması (bakteriostatik etki) şeklinde olur. Örneğin penisilinler, aminoglikozidler, sefalosporinler, vankomisin, florokinolonlar ve basitrasin

bakterisid etkiye, tetrasiklinler, makrolidler ve sülfonamidler bakteriyostatik etkiye sahiptirler (Başoğlu, A. 2000). Tablo 2’de antibiyotik mekanizmaları, yapmış oldukları sınıf ve direnç mekanizmaları gösterilmiştir (Terzi, 2013).

Antibiyotikler etki mekanizmalarına göre 5 grupta toplanmaktadır. Bunlar;

1. Hücre duvarı sentezini engelleyerek
2. Sitoplazmik zarın geçirgenliğini değiştirerek
3. Nükleik asit sentezini önleyerek
4. Ara metabolizmayı bozarak

5. Protein sentezini engelleyerek bakteri hücresi üzerinde etkilerini gösterirler (Dökmeci vd., 1992).

Tablo 2. Antibiyotik sınıfları, etki ve direnç mekanizmaları

Sınıf Madde	Antimikrobiyal	Etki Mekanizması	Direnç Mekanizması
Aminoglikozitler	Gentamisin Kanamisin Streptomisin	Protein Sentezinin Engellenmesi	Pompalama Enzimatik İnaktivasyon, Hedef Şaşırtma, Pompalama
Amfenikoller	Kloramfenikol	Protein Sentezinin Engellenmesi	Pompalama, Hedef Şaşırtma, Pompalama
Makrolitler	Klaritromisin, Eritromisin	Protein Sentezinin Engellenmesi Pompalama	Pompalama, Hedef Şaşırtma
Tetrasiklinler Doksisisiklin, Oksitetrasiklin	Tetrasiklin Engellenmesi	Protein Sentezinin Engellenmesi	Pompalama
Beta Laktamlar Sztreonam, Sefotaksim	Penisilin Engellenmesi	Hücre Duvarı Sentezinin Hedef Şaşırtma	Enzimatik İnaktivasyon
Glikopeptitler Bleomisin Kinolonlar	Vamkomisin Engellenmesi, Nalidiksit Asit, Ciprofloksasin Sulfametaksazol	Hücre Duvarı Sentezinin Modifikasyonu, Nükleik Asit Sentezi Yolunun Engellenmesi	Hücre Duvarı, Pompalama, Hedef Şaşırtma
Sulfonamidler	Sulfametaksazol	Folik Asit Sentezi Yolunun Engellenmesi	Alternatif Enzimler, Hedef Şaşırtma
Lipopeptitler	Daptomisin	Hücre Zarı Kutuplaşmasını Engelleme	Hücre Zarı Modifikasyonu, Mutasyonlar
Aminoasit	Polimiksin B	Hücre Zarı Geçirgenliği	Hücre Zarı

1.7. Önceki Çalışmalar

Balıkların bakteriyel hastalıklarının tedavisinde en yaygın yöntem, antibiyotik ve diğer bazı kimyasalların kullanılmasıdır. Yeme karıştırılarak balıklara verilen antibiyotiklerin tüketilmeyen kısmı, suda çözünür veya zemine çöker. Tüketilmeyen antibiyotiğin bir kısmı doğal ortamdaki balık ve kabuklular tarafından alınır ve vücutta birikerek yüksek konsantrasyonlara ulaşır. Kullanılan bu antibiyotikler besin zinciri yoluyla ya da su ekosistemi ile ortamda bulunan diğer canlılara olumsuz etki etmektedirler (Topal vd., 2015).

Boran vd. (2013) Karadeniz Bölgesinde yapmış oldukları çalışmalarında deniz kafeslerinde yetiştiriciliği yapılan istavrit balıklarından izole ettikleri bakterilerin yarısından fazlasının streptomisin, sulfametoksazol, gentamisin, sefalotin ve ampisilin antibiyotiklerine karşı direnç gösterdiğini ve florfenikol ve kloramfenikole karşı hassas olduklarını bildirmişlerdir.

Kav ve Erganiş (2008) yaptıkları çalışmada, Konya yöresindeki Gökkuşuğu alabalığı çiftliklerinden izole ettikleri *L. garvieae* suşlarının antibiyotiklere karşı göstermiş oldukları hassasiyetlerini tespit ederek hastalığa karşı en etkili antibiyotik tedavisini ortaya koymuşlardır. 2002 ve 2004 yılları arasında 6 çiftlikten örnekledikleri 180 hasta balıktan izole edilen suşlara disk difüzyon yöntemiyle antibiyogram testi uygulamışlardır. Tüm bakteri suşları, penisilin G, amoksisilin, ampisilin+sulbaktam, vankomisin, siprofloksasin, kloramfenikol, florfenikol, eritromisin, oksitetrasiklin, sefoperazon ve novobiosin antibiyotiklerine karşı duyarlı bulunmuşlardır. Penisilin G, ampisilin, amoksisilin ve eritromisin antibiyotiklerinin *L. garvieae* tedavisinde en uygun antibiyotikler olduğunu bildirmişlerdir.

Kawanishi vd. (2005) Japonya'da yaptıkları bir çalışmada, yoğun kültürü yapılan *Seriola* cinsine ait balıklardan izole ettikleri *L. garvieae* bakterisinin genetik çeşitliliğini ve mevcut antibakteriyel duyarlılığını araştırmışlardır. 170 suş için 14 farklı antibakteriyel ajanın minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) belirlenmiştir. Suşların yaklaşık yarısı eritromisin, linkomisin ve oksitetrasikline karşı dirençli olduklarını saptanmıştır. Çalışmada ayrıca *Seriola* cinsi balıklardan son 15 yılda yaygın olarak izole edilen *L. garvieae*'nin bu üç antibiyotiğe dirençli olduğu da tespit edilmiştir.

Türe ve Boran (2015) Türkiye genelindeki çiftliklerden gökkuşuğu alabalıklarından izole edilen *L. garvieae* ve *L. lactis* bakterilerini disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal

dirençliklerini incelemişler ve tüm izolatlar penisilin, ampisilin, florfenikol, amoksisilin, tetrasiklin ve trimetoprim+sülfametoksazole karşı yüksek dirençlilik gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Terzi (2013) Rize ve Trabzon illerinde bulunan bazı alabalık işletmelerinde su, sediment ve balıklardan izole edilen bakterilerde antibiyotik direnci ve direnç genlerinin varlığını araştırmıştır. Balıklardan izole edilen bakterilerde en yüksek direnç sulfametaksazol, imipenem ve aztreonema karşı bulunduğunu tespit etmiştir.

Vural vd. (2010), İzmit körfezinde yaptıkları çalışmada izole ettikleri *E.coli* suşlarının antibiyotiklere dirençliliklerini araştırmışlardır. En yüksek direnç sulbaktam/ampisilin, penisilin, Trimethoprim+Sulphametoxazole, tetrasiklin, gentamisin antibiyotiklerine karşı olduğunu tespit etmişlerdir.

Matyar vd. (2008) İskenderun Körfezi'nden deniz suyu, sediment ve karideslerden toplam 31 farklı Gr (-) bakteri izole etmişlerdir. Bu bakterilerin 16 farklı antibiyotiğe karşı direnç oranlarını disk difüzyon yöntemiyle test etmişlerdir. En yüksek direnç %93,2 ile ampisilin antibiyotiğine karşı bulunurken, %90,2 ile streptomisin ve %81,3 ile cefazolin antibiyotikleri takip etmiştir. Bakterilerin yarısından çoğuda 7 ve daha fazla antibiyotiğe daha karşı dirençli olduğunu bildirilmiştir.

Elliott ve Facklam (1996) yaptıkları bir çalışmada *L. garvieae*, *L. lactis* ve diğer *Lactococcus* türlerinin antibiyotik duyarlılıklarını ve MİK değerlerini araştırmışlardır. *L. garvieae* klindamisine dirençli ve MİK değeri yüksek bulunmuştur.

Kubilay vd. (2005) Türkiye'de yaptıkları bir çalışmada, 9 farklı *L. garvieae* suşunun antibiyotik duyarlılıklarını incelemişlerdir. Antibiyotik duyarlılığının disk difüzyon ve E test tekniği ile ortaya koyulduğu çalışmada ayrıca E testi ile de eritromisin antibiyotiğine ait MİK değerleri incelenmiştir. Disk difüzyon ve E testine göre suşlar amoksisilin, ampisilin, enrofloksasin, vankomisin, tetrasiklin, eritromisin, nitrofurantoin, sefalotin, sefoperazon, kloramfenikol ve spektinomisin antibiyotiklerine duyarlı, kanamisin sefuroksim, linkomisin, penisilin, siprofloksasin, klindamisin, sulfametoksazol+trimetoprim, gentamisin, kolistin ve okzolinik asit antibiyotiklerine karşı ise dirençli bulduklarını kaydetmişlerdir. Ayrıca E testine göre, *L. garvieae* suşlarının eritromisine karşı duyarlı oldukları tespit edilip MİK değerleri 0,032-0,125 µg/mL olarak tespit edilmiştir.

Kryalikovya vd. (1984), Yugoslavya'da atık suların deşarj edildiği bir nehirden izole ettikleri *Enterobacteriaceae* üyelerinin gentamisin antibiyotiğine karşı dirençli olduğunu

tespit etmişlerdir. Bölgesel farklılıkların, mevsimsel değişimin ve basıncın antibiyotik dirençliliği üzerinde önemli ölçüde etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Matyar vd. (2009), İskenderun Körfezi balıklarından izole edilen bakterilerde antibiyotik ve ağır metal dirençliliklerinin belirlenmesi üzerine yaptıkları çalışmada, balıkların solungaçlarından izole edilen bakterilerin amfisilin (%66.7) ve sefazoline (%47.3) oranında yüksek direnç gösterirken hiçbir izolata imipenem ve ceftazidime karşı direnç göstermediklerini tespit etmişlerdir.

Diler vd. (2002) *L.garvieae* suşları için yaptıkları antibiyogram çalışmaları sonucunda penisillin, clindamycin, cefriaxon antibiyotiklerine dirençli eritromisin, tetrasiklin, ofloksasin, ampisilin ve kloramfenikol antibiyotiklerine duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Lima-Bittencourt vd. (2007), Tatlı sulardan izole ettikleri *Enterobacter* 'ler de çoklu antibiyotik direncinin biyotik ve abiyotik faktörlerle etkileşimine bağlı olarak değiştiğini, kurak mevsimde alınan örneklerin yağmurlu mevsimde alınan öneklere göre *Klebsiella* spp. izolatları ve direnç frekansının en yüksek olduğunu bildirmişlerdir. En az çoklu direnç gösteren tür *E.coli* olduğunu saptamışlardır.

Kiffer vd. (2006), Brezilya'da yapmış oldukları çalışmada 133 adet ESBL üreten *Klebsiella* spp. ve *E.coli* suşlarına karşı E test ve Disk difüzyon testi uygulayarak imipenem, meropenem ve ertapenemin bakterisidal etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda *Klebsiella* spp. izolatlarının ertapeneme %96.15 dirençli bulunup, imipenem ve meropeneme %100 hassas, *E.coli* izolatlarının ise bütün karbapenemlere %100 hassasiyet gösterdiğini bildirmişlerdir.

1.8. Çalışmanın Amacı ve Gerekçesi

Baraj gölleri ve denizlerde yeni alanların tahsis edilmesi ile birlikte balıkçılığın hızla gelişmesi ve işletme personelinin balık hastalıklarının tedavisi konusunda yeterli bilgi ve deneyime sahip olmamasından dolayı antibiyotik kullanımı giderek artmaktadır. Yapılan araştırmalarda, sucul patojenlerin birden fazla antibakteriyele karşı direnç sergiledikleri belirlenmiştir. Uygulanan ilaç tedavilerinden zaman zaman netice alınamaması ve şimdiye kadar yapılan çalışmaların çoğu hastane kökenli bakterilerdeki antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesine yönelik olduğundan, su ürünleri yetiştiriciliğinde hastalıklarla etkin mücadeleye yönelik yapılan çalışmalar oldukça önemlidir. Bu çalışmada, Doğu

Karadeniz Bölgesi'nde bulunan (Ordu, Trabzon, Gümüşhane (Kürtün)) deniz ve tatlı sularda bulunan ağ kafeslerinde yetiştiriciliği yapılmakta olan balıklardaki (Levrek, Gökkuşığı alabalığı) bakteriyel patojenlerin ve kafes sistemleriyle ilişkili sedimentlerde *E.coli* ve *Enterococcus spp.* bakterilerin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Balıklardan ve sedimentten izole edilen bakterilerin çeşitli antibiyotiklere karşı göstermiş oldukları hassasiyetleri ve MİK değerleri belirlenmiştir.



2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Örnek Temini

Sediment ve balık örneklemelemleri, Kasım 2015 ve Haziran 2016 tarihlerinde Ordu (Perşembe) ve Trabzon (Yomra)'da bulunan deniz kafesleri ile Gümüşhane (Kürtün)'de bulunan tatlı su kafeslerinde toplam 2 kez örnekleme yapılmıştır. Her bir istasyonda işletmeye ait iki ayrı kafes seçilmiş, seçilen ağ kafesin altından ve kontrol noktası olarak kafeslerden uzakta (kafeslerin akıntıya karşı yaklaşık 1 km uzağı) bir alandan sediment örneklemelemleri yapılmıştır. Sediment örneklemelemleri, halat yardımı ile indirilen ekman grap ile gerçekleştirilmiştir. İstasyonlardan (6 adet kafesten) bir defada toplam 50 balık örneklemelemleri (Tablo 3). Sediment ve balık örneklemleri steril koşullarda alınıp soğuk zincir ile Trabzon Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü laboratuvarına taşınmıştır.

Tablo 3. İşletmelerden alınan örneklemlere ilişkin bilgiler

İstasyonlar	Kıyıda Uzaklığı (m)	Kafe Derinliği (m)	Balık Türü	Örnekleme Balık Sayısı
Perşembe/Ordu	2000	47	Levrek	30
Kürtün/Gümüşhane	50	60	Gökkuşığı A.	60
Yomra/Trabzon	1500	38	Gökkuşığı A.	10

2.2. Balık ve Sediment Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizi

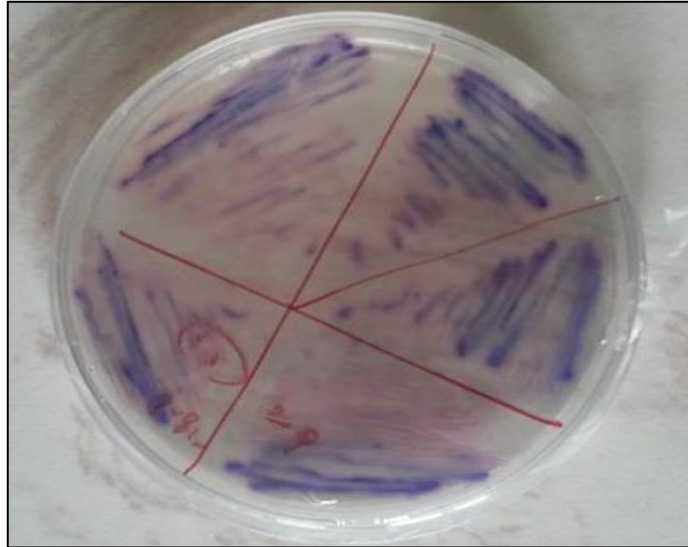
Alınan sediment ve balık örneklemlerinin dış yüzeyleri kontaminasyonu önlemek amacıyla ile %70'lik alkol ile dezenfekte edilmiştir. Aseptik koşullarda alınan 5 gr sediment, bakterilerin canlandırılması amacıyla ile 45 ml LB (Luria Bertani, Merck) Broth içerisinde 37°C'de 1 gece bekletilmiştir. Ardından 1 ml bakteri süspansiyonununun $10^1 - 10^5$ arasında seyreltme işlemi yapılarak, *E. coli* izolasyonu için Koliform ES Agar (CCA, Merck) ve *Enterococcus spp.* izolasyonu için Bile Aesculin Azide Agar (BEAA, Merck) besiyerlerine steril eküvyon yardımı ile yayılmış ve 37°C'de 24 saat inkubasyona bırakılmıştır (Byamukama vd., 2000; Wilberger vd., 2012; Farasat vd., 2012; Bağcıgil vd., 2015).

2.3. *Escherichia coli* İdentifikasyonu

Koliform ES (Enhanced Selectivity) Agar'da koyu mavi renkte üreyen koloniler steril öze yardımı ile alınarak aynı besi yerinde ve şartlarda saflaştırılarak 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 1-2). *E. coli* şüpheli saf koloniler Bactident (Merck) *E. coli* kiti ile test edilmiş ve sonrasında ultra viole ışık altında florasan ışımaya özelliği gösteren koloniler İMVİC (İndol, Metil red, Voges Prouskar ve Sitrat) testlerine tabi tutulmuştur (Tablo 4). Bactident *E.coli* testi ve Api 20E testi yapılarak kuvvetle ihtimal *E. coli* olduğuna karar verilen suşlar stoklanmıştır.



Şekil 1. *E. coli*'nin Koliform ES Agar'da görüntüsü



Şekil 2. *Escherichia coli*'nin saflaştırılmış görüntüsü

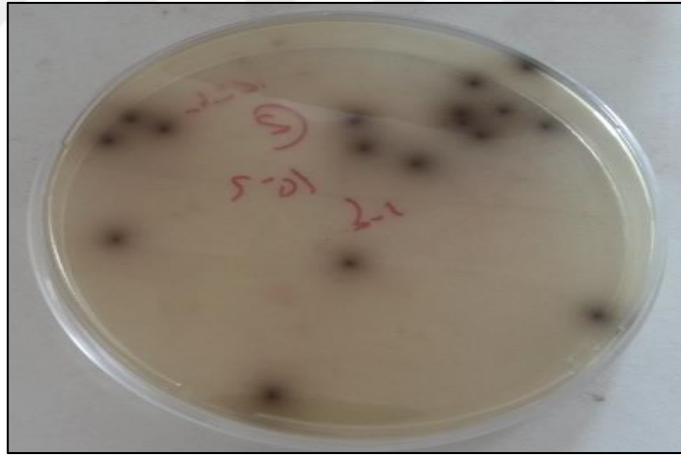
Tablo 4. *Enterococcus spp.* ve *E.coli*'nin İMVİC özellikleri

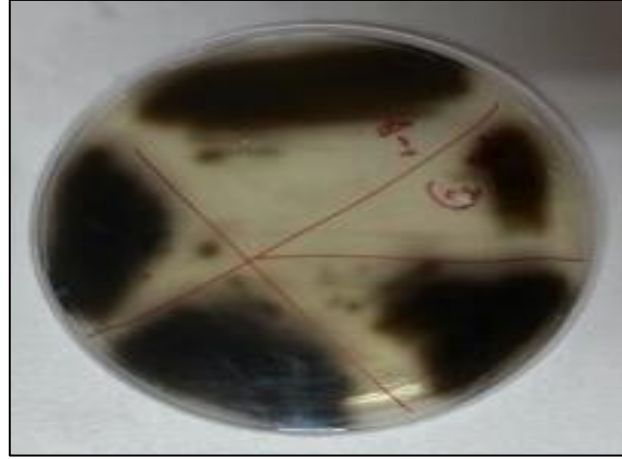
	I	MR	VP	C
<i>Escherichia coli</i>	+	+	-	-
<i>Enterococcus spp.</i>	-	+	+	-

I: İndol testi, MR:Metil Kırmızısı ,VP:Voges-Proskauer, C:Sitrat

2.4. *Enterococcus spp.* İdentifikasyonu

Bile Aesculin Azide Agar'da eskulin hidrolizine bağlı olarak koyu renkli zon oluşturarak üreyen koloniler aynı besi yerinde saflaştırılıp 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3-4). İnkübasyon sonrası Gram pozitif oksidaz ve katalaz negatif, %6.5 NaCl'de üreyen koloniler kuvvetli *Enterococcus spp.* şüphesiyle tür tayini yapmak üzere Api rapid ID 32 Strep testine tabi tutulmuşlardır (Bağcıgil vd. 2015). Bakteri suşları antimikrobiyal ve MIK testleri yapılmak için stoklanmıştır.

Şekil 3. *Enterococcus spp.*'nin Bile Aesculin Azide Agar'da görüntüsü



Şekil 4. *Enterococcus spp.*'nin saflaştırılmış görüntüsü

2.5. Balıklardan Bakteri İzolasyonu ve İdentifikasyonları

Laboratuara getirilen örneklerin öncelikle kontaminasyonu önlemek amacıyla dış yüzeyleri %70'lik alkol ile temizlendi. Daha sonra anüsten başlayarak baş kısmına kadar olan bölge steril bir makasla kesilerek iç organlar açığa çıkarıldı ve karaciğer, ön böbrek ve dalak dokularından %1 tuz eklenerek hazırlanan Tryptik Soy Agar (TSA, Merck)'a ekimleri yapılarak 20–25°C'de 2 gün inkubasyona bırakılmıştır (Şekil 5). İnkubasyon sonrası izole edilen bakteriler saflaştırılmak amacıyla aynı besi yerlerine ekilerek tekrar aynı şartlarda inkubasyona bırakılmıştır. Gram boyama, oksidaz, katalaz ve hareket gibi temel biyokimyasal özellikleri belirlenen bakteri suşları Api 20E ya da Api rapid ID 32 Strep testlerinden birine tabi tutularak tür tayini yapılmaya çalışılmıştır. Bakteri suşları ileri testler için stoklanmıştır.



Şekil. 5. Balık dokularından bakteriyolojik ekim yapılması

2.6. İdentifikasyon Amacıyla Uygulanan Biyokimyasal ve Morfolojik Testler

2.6.1. Gram Boyama

Sediment ve balıklardan izole edilen bakteriler lam üzerine fikse edildikten sonra kristal viyole çözeltisi damlatılıp 1 dakika bekletilip ve iyot-lügol çözeltisi ile yıkanarak kristal viyole uzaklaştırılmıştır. Preparata tekrar iyot-lügol çözeltisi damlatılarak 1-2 dakika bekletilip, distile su ile yıkanarak iyot-lügol çözeltisi uzaklaştırılmıştır. Preparatın üzerine %96'lık etil alkol damlatılıp 10-15 saniye beklenip, distile su ile yıkayıp, karşıt boya olarak bazik fuksin damlatılıp ve 20-30 saniye bekletilmiştir. Preparat distile su ile yıkanarak havada kendi halinde kurumaya bırakılmıştır. Preparata immersiyon yağı damlatılıp ve X100 büyütme objektifte incelenmiştir. Mikroskopik muayene sonucunda mor renkli gözlemlenen bakteriler gram pozitif, pembe-kırmızı renkli gözlemlenen bakteriler ise gram negatif olarak değerlendirilmiştir.

2.6.2. Oksidaz Testi

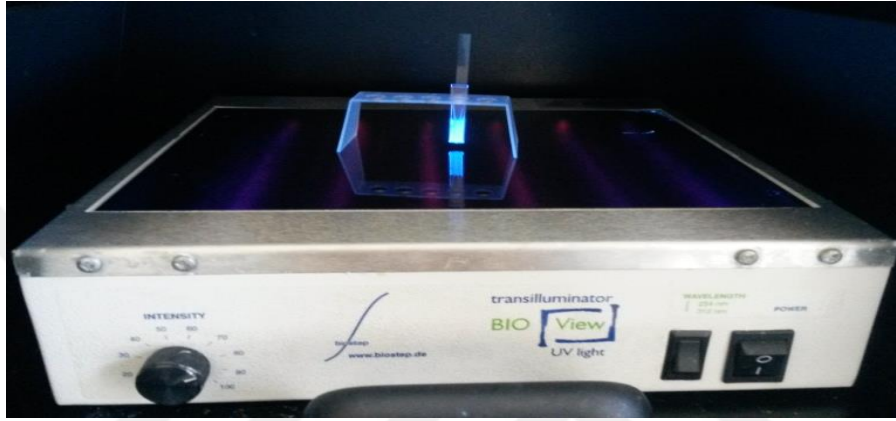
Hazır olarak hazırlanmış kitle yapılan oksidaz testinde (Microbiology Bactident Oxidase, Merck), kitin ucu saf suyla ıslatılıp bakteri yayıldıktan sonra renk değişimi gözlenmiştir. Filtre kâğıdının rengini koyu mavi-mor renge dönüştüren mikroorganizmalar 30-60 saniye içerisinde oksidaz etkinliğine sahip olarak belirlenmiştir.

2.6.3. Katalaz Testi

Bakterinin katalaz üretme yeteneği test edilmiştir. Katalaz hidrojen peroksidi parçalayan bir enzimdir. Bu deneyde bakteri kültürü üzerine %3'lük 1 mL Hidrojen Peroksit (H_2O_2) damlatılmıştır. Gaz çıkışını belirten kabarcık oluşumu gözlenen bakterilerin katalaz pozitif olduğu belirlenmiştir (Çotuk, 2003).

2.6.4. Bacdient E.coli testi

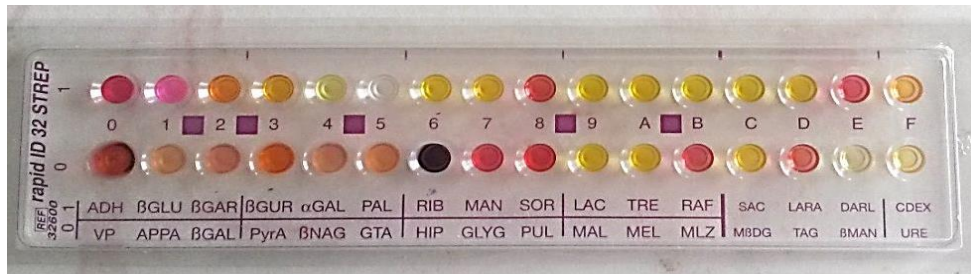
Tüpün içerisine 0.2 ml saf su ve koloni eklenip daha sonra hazır olarak bulunan test kiti hazırlanan süspansiyona daldırılıp 37 °C'de en fazla 2 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra UV altında gözlenmiştir. Florasan ışınım yayılması sonucunda *E.coli* olduğu belirlenmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. UV altında Bactient *E.coli* testi görüntüsü

2.6.5. Api Testleri

Elde edilen kültürlerin bazı biyokimyasal özelliklerini değerlendirmek amacıyla API 20 Strep ve Api rapid ID 32 Strep test kitleri kullanılmıştır (Şekil 7-8). API sistemindeki biyokimyasal testlere göre elde edilen pozitif ve negatif sonuçlar bilgisayar programında değerlendirilmiştir.



Şekil 7. *Lactococcus garvieae* ve *Enterococcus spp.*'ye uygulanan api id 32 strep test kiti

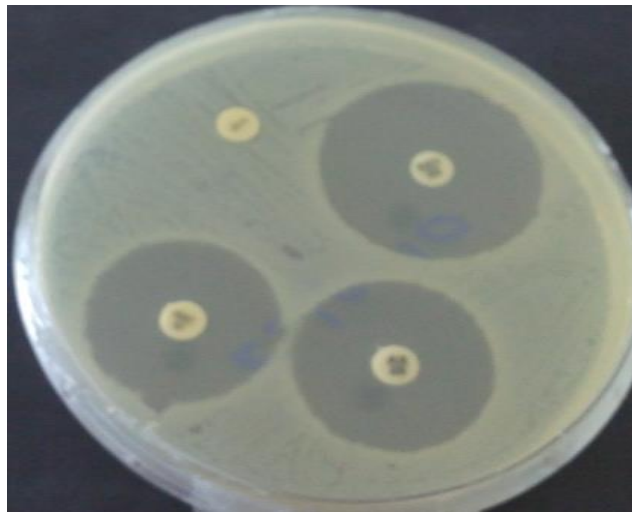


Şekil 8. *Escherichia coli*'ye uygulanan apı 20 E test kiti

2.7. Antimikrobiyal Hassiyet Testi

Sediment ve balıklardan elde edilen bakterilerin antimikrobiyal hassasiyet testleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2014) kitapçığında belirtilen standart disk difüzyon metodu ile yapılmıştır. Antimikrobiyal testlerde kullanılan antibiyotik diskleri: Amoksisilin klavulanik asit (10 μ g), Tetrasiklin (30 μ g), Eritromisin (15 μ g), Gentamisin (10 μ g), Sulfametaksazol/Trimetoprim (25 μ g), Florfenikol (30 μ g), Enrofloksasin (5 μ g) dir.

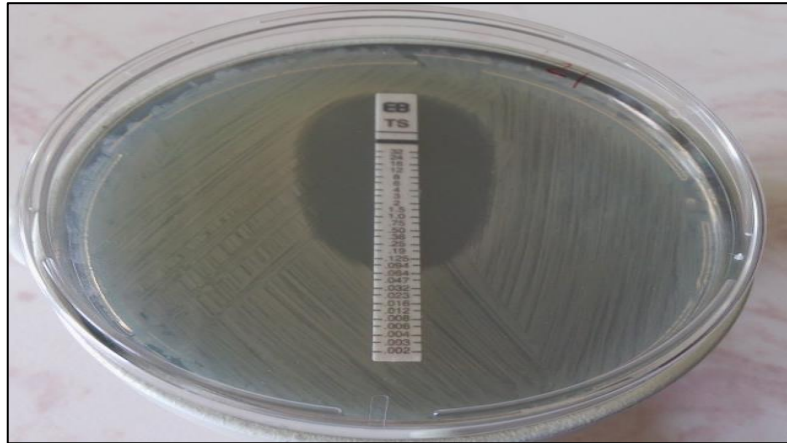
Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerine bakteri ekimi yapıp diskler yerleştirildikten sonra balık patojenleri 30 °C'de 48 saat sedimentten izole edilen bakteriler 37 °C'de 20 saat inkübasyona bırakılarak ve inkübasyondan sonra oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek bakterilerin bu antibiyotiklere karşı direnç ve hassasiyetleri CLSI (2014) kitapçığındaki kriterlere göre dirençli ve hassas olarak kaydedilmiştir (Şekil 9).



Şekil 9. Antimikrobiyal Hassasiyet Test Görüntüsü

2.8. Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MIK) Testi

Balık ve sedimentten izole edilen tüm bakterilerin, Tetrasiklin, Amoksisilin/klavulanik asit, Enrofloksasin, Florfenikol, Eritromisin, Trimethoprim+Sulphamethoxazol, Vankomisin ve Penisiline karşı duyarlılıklarını belirlemek amacı ile MIK düzeyleri belirlenmiştir. Bakteri suşlarının MIK değerlerini belirlemek için Epsilometer (E Test, Biotests, Bioanaliz, Türkiye) testinden yararlanılmıştır. Testin yapılışı ve sonuçların değerlendirilmesinde Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2014 kriterlerinden yararlanılmıştır. Kısaca, gece boyu 5ml LB brot içinde inkübe edilen bakteri suşları santrifüj edilerek (3000rpm/5dk) besi yerinden arındırılmış ve distile su ile 0.5 McFarland (Enbe) bulanıklığına eş olacak şekilde yoğunluğu ayarlanmıştır. Müller Hinton Agar (MHA, oxoid) yüzeyine 0.5 Mc Farland bakteri süspansiyonu eküvyonlu çubukla yayıldı ve üç ile beş dakika kuruduktan sonra petri kutularına bir adet strip konularak sedimentten elde edilen bakteriler 37 ° C’de 20 saat balıklardan izole edilen bakteriler 30 ° C’de 20 saat inkübe edildi. Bu sürenin sonunda elips şeklinde bir zon elde edildi (Şekil 10). Bu inhibisyon zonunun plastik stripi kestiği noktada okunan rakam antibiyotiğin MIK değeri olarak kaydedildi (Kubilay vd., 2005).



Şekil 10. Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MIK) Testi Görüntüsü

3. BULGULAR

3.1. İstasyonların Yüzey Suyu Sıcaklık Parametreleri

Araştırma kapsamında Kasım 2015 ve Haziran 2016 tarihlerinde örnekleme yapılan istasyonların (Yomra, Perşembe ve Kürtün) yüzey suyu sıcaklık parametreleri HACH 40QD markalı su kalitesi ölçüm cihazıyla ölçülmüştür (Tablo 5).

Tablo 5. İstasyonların yüzey suyu sıcaklık parametreleri

İstasyonlar	Örnekleme Mevsimi	Sıcaklık
Yomra	Sonbahar	15,2±0,2
Perşembe	Sonbahar	16,5±0,3
Kürtün	Sonbahar	15,0±0,4
Yomra	İlkbahar	14,5±0,2
Perşembe	İlkbahar	13,2±0,5
Kürtün	İlkbahar	14,1±0,4

3.2. İzole Edilen Bakteriler

Kürtün, Yomra ve Perşembe istasyonlarından alınan sediment ve balık örneklerinden izole edilen toplam bakteri sayısı 163'tür. Balık örneklerinde sadece *L.garvieae* (%14,72), sedimentte örneklerinde ise *Enterococcus spp.* (%46,01) *Escherichia coli* (%39,26) bakterileri izole edilmiştir (Tablo 6).

Tablo 6. Sediment ve balık örneklerinden izole edilen bakteriler

Bakteri Türleri	Bakteri Sayısı	%	Örnekleme Zamanı		Örnekleme Noktası		
			Kasım 2015	Haziran 2016	Kürtün Yomra Perşembe		
Sedimentten İzole edilen bakteriler							
<i>Escherichia coli</i>	64	39.26	35	29	23	23	18
<i>Enterococcus spp.</i>	75	46.01	45	30	32	22	21
Balık Bakterisi							
<i>L. garviae</i>	24	14.72	19	5	15	9	-
Toplam	163	100	99	84	70	54	39

3.3. Antibiyogram Sonuçları

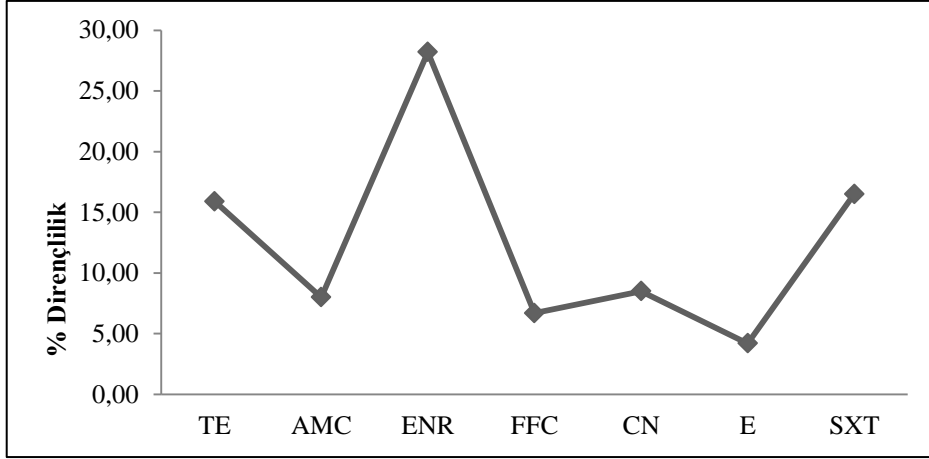
İşletmelerdeki balıklardan ve sedimentten izole edilen bakterilerin antibiyotiklere karşı gösterdikleri hassasiyet Tablo 7’de özetlenmiştir. Yapılan antibiyogram testi sonucunda bakterilerin en fazla dirençli olduğu antibiyotik enrofloksasin olarak belirlenirken bunu Trimethoprim+Sulfametoksazol ve tetrasiklin takip etmiştir. Bunun yanında eritromisin ise en etkili antibiyotik olarak tespit edilmiştir. Kafeslere uzak (açık) noktadan izole edilen *E.coli* (n:25) suşları sadece amoksisiline düşük oranda dirençli olurken, kullanılan diğer antibiyotiklere duyarlı olduğu belirlenmiştir. *Enterococcus spp.* (n:26)’da en yüksek direnç enrofloksasin ve amoksisilin/klavulonikasit’e karşı olup, florfenikol, gentamisin ve eritromisin antibiyotiklerine karşı da duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 7. Sediment ve balıklardan izole edilen bakterilerin disk difüzyon testine göre antibiyotik dirençlilikleri

Bakteri	Sayı (n)	TE	AMC	ENR	FFC	CN	E	SXT
	ve yüzde	30µg	10µg	5µg	30µg	10µg	15µg	25µg
<i>E. coli</i> ^a	N	9	-	1	1	6	5	5
n: 39	%	23.07	-	2.5	2.5	15.3	12.8	12.8
<i>E. coli</i> ^b	N	-	3	-	-	-	-	-
n: 25	%	-	12	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus</i> ^a	N	14	5	35	10	5	2	6
spp. n: 49	%	28,5	10,2	71.4	20.4	10,2	4.08	12.24
<i>Enterococcus</i> ^b	N	3	5	10	-	-	-	2
spp. n: 26	%	11.5	19,2	38.4	-	-	-	7,7
<i>L. garvieae</i> ¹	N	-	-	-	-	2	-	10
n: 15	%	-	-	-	-	13.3	-	66.6
<i>L. garvieae</i> ²	N	-	-	-	-	1	-	4
n: 9	%	-	-	-	-	11.1	-	44,4

TE(30µg): Tetrasiklin, AMC(10µg): Amoksisilin/klavulonikasıit, ENR(5µg): Enrofloksasin, FFC(30µg): Florfenikol, CN(10µg): Gentamisin, E(15µg): Eritromisin, SXT(25µg): Trimethoprim+Sulphamethoxazol,
ⁿ:Bakteri sayısı,
^a:Üretim yapılan kafeslerin altından izole edilen bakteriler, ^b:Kafeslere uzak (açıktan) noktadan izole edilen bakteriler,
¹:Tatlı su, ²:Deniz suyu

Çalışma süresince izole edilen bakterilerde toplam direnç değeri en fazla enrofloksasin (%28,2) antibiyotiğine karşı olurken, bunu Trimethoprim+Sulphamethoxazol (%16,5) ve tetrasiklin(%16) antibiyotikleri takip etmiştir. En düşük direnç ise eritromisin (%4,2) antibiyotiğine karşı bulunmuştur (Şekil 11).



Şekil 11. İzole edilen bakterilerin toplam direnç değerleri

3.4. Minimum İnhibasyon Konsantrasyon (MİK) Sonuçları

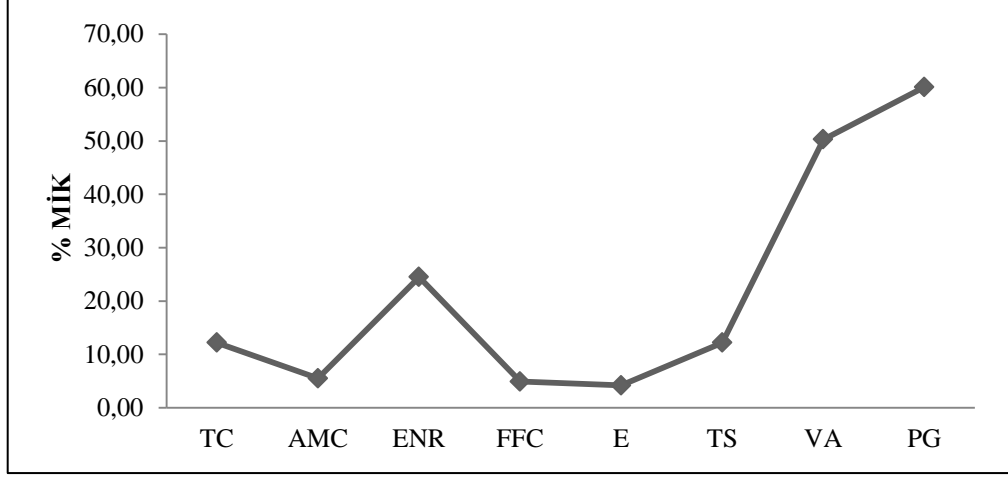
Sedimentten izole edilen *E. coli* (n:64), *Enterococcus spp.* (n:75) ile balıklardan izole edilen *L. garvieae* (n:24) bakterinin akuakültürde çoğunlukla kullanılan 8 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılıkları araştırılmıştır. *E. coli* suşlarının penisiline karşı tamamı, vankomisine ise tamamına yakını dirençli bulunmuştur (MIC \geq 256 $\mu\text{g/mL}$). Kafes altlarındaki sedimentten izole edilen *Enterococcus spp.* suşlarının %16,3'ü florfenikole dirençli bulunurken, diğer tüm sediment ve balık bakterileri florfenikole duyarlı bulunmuşlardır (MIC \leq 16 $\mu\text{g/mL}$). Ayrıca sedimentten izole edilen *Enterococcus spp.* suşları tüm antibakteriyellere karşı değişen oranlarda dirençli bulunmuşlardır. Tatlı su kaynağında bulunan balıklardan izole edilen *L. garvieae*, trimethoprim+sulfamethoksazole %46, penisilin ve vankomisine karşı %20'si dirençli iken test edilen diğer tüm antibakteriyellere karşı duyarlı bulunmuşlardır (Tablo 8).

Tablo 8. Bakterilerin MIK sonuçlarına göre antimikrobiyal dirençlilikleri

Bakteri	Sayı (n)	TC	AMC	ENR	FFC	E	TS	VA	PG
	Yüzde (%)								
<i>E. coli</i> ^a	n	6	-	-	-	3	3	39	39
n: 39	%	15,4	-	-	-	7,7	7,7	100	100
<i>E. coli</i> ^b	n	-	-	-	-	-	-	23	25
n: 25	%	-	-	-	-	-	-	92	100
<i>Enterococcus</i> ^a	n	12	4	32	8	4	4	13	25
spp. n: 49	%	24,5	8,2	65,3	16,3	8,2	8,2	26,5	51
<i>Enterococcus</i> ^b	n	2	5	8	-	-	2	-	5
spp. n: 26	%	7,7	19,2	37,8	-	-	7,7	-	19,2
<i>L. garvieae</i> ¹	n	-	-	-	-	-	7	3	3
n: 15	%	-	-	-	-	-	46,6	20	20
<i>L. garvieae</i> ²	n	-	-	-	-	-	4	-	-
n: 9	%	-	-	-	-	-	44,4	-	-

TC: Tetrasiklin (256-0.016), AMC: Amoksisilin/klavulonikasit (256-0.016), ENR: Enrofloksasin (256-0.016),
FFC: Florfenikol (256-0.016), E: Eritromisin (256-0.016), TS: Trimet+Sulfamet (32-0.002), VA: Vankomisin (256-0.016),
PG: Penisilin G (256-0.016),
ⁿ:Bakteri sayısı ,
^a:Üretim yapılan kafeslerin altından izole edilen bakteriler,
^b:Kafeslere uzak (açıktan) noktadan izole edilen bakteriler,
¹:Tatlı su ,²:Deniz suyu

MIK test sonuçlarına göre izole edilen bakterilerin en fazla penisilin(%60,1) antibiyotiğine karşı dirençli olduğu tespit edilirken, bunu vankomisin(%50,3) ve enrofloksasin(%24,5) antibiyotikleri takip etmiştir. En düşük direnç ise eritromisin (%4,2) antibiyotiğine karşı bulunmuştur (Şekil 12).



Şekil 12. MIK testi sonucu bakterilerin toplam dirençlilik değerleri



4. TARTIŞMA

Bu çalışmada Doğu Karadeniz Bölgesinde (Ordu, Trabzon, Gümüşhane) deniz ve tatlı sularda yetiştiriciliği yapılmakta olan balıklardan *L.garvieae* ile sediment örneklerinde *E.coli* ve *Enterococcus spp.* bakteriler tespit edilmiştir. Sedimentten izole edilen 139 bakteri (64 *E.coli*,75 *Enterococcus spp.*) ve balıklardan izole edilen 24 bakterinin (*L.garvieae*) akuakültürde çoğunlukla kullanılan antibiyotiklere karşı duyarlılıkları araştırılmıştır.

Su ürünleri yetiştiriciliği, veterinerlik ve tıp alanında tedavi amacı ile kullanılan antibiyotiklerin giderek yaygınlaşması ve antibiyotik dirençliliği taşıyan bakteriler ile önemli miktarda antibiyotigin kanalizasyon suları aracılığı ile çevreye boşaltılması, antibiyotik dirençliliğinin yayılmasında önemli role sahiptir. Özellikle su ürünleri yetiştiriciliğinde bilinçsiz rastgele antibiyotik kullanımı bakterilerde antibiyotiklere direnç gelişimini yaygınlaştırmaktadır (Sorensen vd., 1998).

Ülkemizde su ürünleri yetiştiriciliğinde son yıllarda en fazla izole edilen patojen bakterilerden biri olan *L.garvieae* ilk olarak 2002 yılında Ege Bölgesi'ndeki alabalık işletmelerinden izole edilmiş ve Lactococcosis hastalığına neden olduğu bildirilmiştir (Diler vd., 2002). Sonraki yıllarda Konya ve çevresi (Kav ve Erganis, 2007), Akdeniz Bölgesi (Özer vd., 2008; Tanrikul ve Gültepe, 2011), Ege Bölgesinde (Altun vd., 2005; Avcı vd., 2010) ve Karadeniz Bölgesi (Türe ve Savaş, 2010)'ndeki alabalık işletmelerinde yüksek mortalite ile ekonomik kayıplara neden olduğu bildirilmiştir. Çalışmada da tatlı ve deniz suyu balıklarında sadece *L.garvieae* (n:24) izole edilmiş olup başka bir patojene rastlanmamıştır.

Dünyada ve ülkemizde *L.garvieae*, *Y.ruckeri*, *A.salmonicida*, *F.psychrophilum* ve *V.anguillarum* gibi balık patojenlerinin antibiyotik duyarlılıklarının ve direnç genlerinin tespiti üzerine çalışmalar yapılmıştır.

Bazı araştırmalarda, bakteriler eritromisine karşı dirençli oldukları tespit edilirken (Sutcliffe vd., 1996; Kayış 2009; Boran vd., 2013), diğerlerinde ise aynı tür bakterilerin bu antibiyotiğe duyarlı oldukları tespit edilmiştir (Kubilay vd., 2005; Kav vd., Erganiş 2008; Raissy ve Ansari 2011;Durmaz vd., 2012). Bu sonuçlardan anlaşılacağı üzere; bir bakteri türünün antibakteriyel direnci sabit olmayıp suşların izole edildikleri alanlar, bu alanların bakteri ve antibakteriyel açıdan kirliliği, bakteri izolasyonunun yapıldığı zaman gibi

kriterlere göre değişmektedir. Araştırmamızda kafeslerin bulunduğu alanlardan alınan sediment örneklerinden izole edilen bakterilerin, kafeslerin etki dışında olan bölgeden izole edilen bakterilerden daha dirençli çıkması bunu doğrular niteliktedir.

Kubilay vd., (2005) *L. garvieae*'nın disk difüzyon yöntemine göre amoksisilin, enrofloksasin, vankomisin, tetrasiklin, eritromisin ve kloramfenikol antibiyotiklerine duyarlı, penisilin, sulfametoksazol+trimetoprim ve gentamisin antibiyotiklerine karşı ise dirençli bulunmuşlardır. Ayrıca aynı çalışmada, E testi ile *L. garvieae* suşlarının eritromisine karşı duyarlı olduklarını da tespit edilmiştir. Diler vd. (2002) *L.garvieae* suşları için yaptıkları antibiyogram çalışmaları sonucunda penisilin antibiyotiğine dirençli eritromisin, tetrasiklin ve kloramfenikol antibiyotiklerine duyarlı olduğunu saptamışlardır. Bu araştırmada işletmelerden izole edilen *L.garvieae* bakterilerin disk difüzyon testinde antibiyotiklere karşı durumları tetrasiklin, amoksisilin/klavulanik asit, enrofloksasin, florfenikol ve eritromisine karşı duyarlı, gentamisin ve sulfametoksazol+trimetoprim antibiyotiklerine dirençli olduğu kaydedilmiştir. Ayrıca E testine göre, *L.garvieae* suşlarının sadece Trimet+Sulfamet'e dirençli olurken eritromisine duyarlı oldukları belirlenmiştir. Kubilay vd., (2005) ve Diler ve ark., (2002) yapmış olduğu çalışma sonucuyla bu çalışmada kullanılan antibiyotiklerin, direnç özelliklerinin benzerlik gösterdiği görülmüştür. *L.garvieae* Tetrasiklin, eritromisin, florfenikol, enrofloksasin ve amoksisilin/klavulanik asit antibiyotiklerine karşı duyarlı olmasından dolayı bu antibiyotikler tedavi amacıyla kullanılabilir.

Koliform bakteriler insan ve hayvanlarda normal bağırsak florasının bir parçası olduklarından ve sürekli antibiyotiklere maruz kaldıklarından farklı antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilmektedirler. Ayrıca, bu tip bakteriler hem su hem de sediment ortamlarında bulunabildiklerinden dolayı kolay direnç kazanma yeteneğine de sahiptirler. Bu bakteriler direnç geni taşıdıklarından dolayı potansiyel bir tehdit olarak karşımıza çıkmaktadır (Danishta vd., 2010). Yapılan bu çalışmada çiftliklerden alınan sedimentlerden elde edilen *E.coli* bakterilerinin çeşitli antibiyotiklere karşı direnç ve MİK seviyeleri belirlenmiştir.

Vural vd., (2010), İzmit körfezinde yaptıkları çalışmada *E.coli* suşlarının antibiyotiklere dirençliliklerini araştırmışlardır. En yüksek direnç sulbaktam/ampisilin, penisilin, Trimetoprim+Sulfametoksazol, tetrasiklin, gentamisin antibiyotiklerine karşı olduğunu tespit etmişlerdir. Diğer bir çalışmada, Adıyaman'ın Gölbaşı Gölü'den izole edilen *E.coli* izolatları 12 farklı antibiyotiğe karşı test edilmiş (Meropenem, Amoxicillin,

Penicillin, Nitrofrantoin, Cefazolin, Cefoxitin, Ceftriaxone, Gentamicin, Tetracycline, Streptomycin, Chloramphenicol, Ofloxacin) ve bakterilerin hiç birisi 12 antibiyotigin hepsine birden duyarli olmadiklarini bildirmislerdir (Toroglu ve Toroglu, 2009). Bu calismada da izole edilen *E.coli* suşlarının disk difüzyon yöntemiyle kullanılan antibiyotiklerin hepsine birden duyarli olmadığı ve en yüksek dirençlilik tetrasiklin ve gentamisin antibiyotiklerine karşı oldu tespit edilmiştir.

Terzi (2013) Rize ve Trabzon illerinde bulunan bazı alabalık işletmelerinde su, sediment ve balıklardan izole edilen bakterilerde antibiyotik direnci ve direnç genlerinin varlığını araştırmıştır. Balıklardan izole edilen bakterilerde en yüksek direnç sulfametaksazol, imipenem ve aztreonema karşı bulunduğunu rapor etmiştir. Su ve sedimentten izole edilen koliform bakterilerde en yüksek direnç sulfametaksazol antibiyotigine karşı iken bunu ampicilin ve imipenem takip ettiğini bildirilmiştir. Bu calismada Terzi (2013)' ün sonuçlarının aksine, sedimentten elde edilen bakterilerde (*E. coli*, *Enterococcus*) en yüksek direnç enrofloksasin ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı olduğu belirlenirken, balıklardan izole edilen bakterilerde ise Trimethoprim+Sulphamethoxazol antibiyotigine karşı yüksek dirençli oldukları belirlenmiştir. Antibiyotiklerin farklı dirençlilik göstermesi bölgesel farklılık ve mevsimsel değişikliklerden dolayı olduğu düşünülmektedir.

Enterokoklar, insan ve hayvanlarda normal bağırsak florada bulunan bakterilerdir ve hayvanlardan elde edilen besin ürünlerinde olduğu gibi insan ve hayvan kaynaklı fekal materyaller tarafından (kanalizasyon ve hayvan gübresi gibi) kontamine olmuş çevrelerde de yaygındırlar (Franz vd., 1999). Enterokokların izole edilmeleri ve kültüre edilmelerinin oldukça kolay olmasının yanında suyun fekal kontaminasyonunun indikatörü olarak kullanılabilirler (Clausen vd., 1977; Anonymous, 1998). Enterokoklarda direnç gelişiminde en önemli faktörlerden birisi hayvan gıdalarında katkı maddesi olarak antibiyotiklerin kullanımının yaygınlaşmasıdır. Hayvansal gıda, dışkı kontaminasyonu ile çevrede su ve toprakta enterokokların yayılması ile insana dirençli bakteriler bulaşabilmektedir (Gilmore, 2002). Calismada sedimentten izole edilen 75 tane *enterococcus spp.* bakterisinin disk difüzyon ve E test yöntemleriyle antibiyotik ve MİK değerleri tespit edilmiştir.

E testi, MİK değerinin belirlenmesi gereken durumlarda ve özellikle güç üreyen mikroorganizmaların duyarlılık testlerinde kullanılan bir yöntemdir. E test ile elde edilen sonuçlar tüm standart antimikrobiyal duyarlılık testleri ile saptanan sonuçlara göre son derece doğru ve güvenilirdir (Baker vd., 1991). Esen vd., (2001) disk difüzyon yöntemiyle,

Gökahmetoğlu vd., (1999); E Test yöntemiyle, Moaddab vd., (1999) agar dilüsyon yöntemiyle, Yüce vd., (1999); mikrodilüsyon yöntemiyle, Akıncı vd., (1999); agar tarama yöntemiyle, Karaca vd., (2001) E Test yöntemiyle, izole ettikleri *enterokoklar* da vankomisin direncini araştırmış ve direnç bulamamışlardır. Bu çalışmada ise 75 *enterococcus spp.* suşundan %26,5 E test yöntemiyle vankomisine dirençli bulunmuştur. Dombradi vd., (2010) alışmalarında bazı suşlarda otomatize sistemde yanlış pozitif sonuçlar elde edilebileceği, dolayısıyla sonuçların E testi gibi MIK değerlerini tam olarak belirleyen testlerle değerlendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Araştırmada kullanılan disk difüzyon yöntemi ve E test arasında direnç farklılıkları tespit edilmiştir.

Matyar vd., (2010) Akdenizden izole ettikleri 158 adet *Enterococcus faecalis* bakterilerinin 15 farklı antibiyotiğe karşı dirençliliği sırasıyla agar difüzyon ve agar dilüsyon yöntemleriyle araştırmışlardır. En yüksek antibiyotik dirençliliği gentamisine (%98,7) karşı bulunurken, en az dirençlilik ise vankomisine (%3,2) karşı bulunmuştur. Savaşan vd. (2008) balık kökenli *Enterococcus faecalis* suşlarının antibiyotik dirençlilikleri üzerine yapmış oldukları çalışmada izolatların eritromisin (%3,8), tetrasiklin (%3,8), gentamisin (%92,3), penisilin (%11,5) ve vankomisine (%3,8) dirençli olduklarını bulmuşlardır. Bu çalışmada da en yüksek dirençlilik disk difüzyon yöntemiyle enrofloksasin (%60) ve ardından tetrasikline (%22,6) karşı bulunmuştur. E test yöntemiyle en yüksek antibiyotik dirençliliği penisilin (%40) ve vankomisin (%26,5) olarak bulunmuştur. Enterokoklarda gittikçe artan vankomisin dirençliliği sebebiyle antimikrobiyal tedavi başarısız olmakta ve bu da enfeksiyonlardaki yüksek ölüm oranlarının başlıca nedenlerinden birisi olarak gösterilmektedir (Malathum K., Murray B.E., 1999).

5. SONUÇLAR

Doğu Karadeniz bölgesinde Ordu Trabzon ve Gümüşhane illerinde bulunan ağ kafeslerinden, Kasım 2015 ve Haziran 2016 tarihlerinde sediment ve balık örneklemeleri yapılmıştır. Örneklemelerde; Ordu (Perşembe), Trabzon (Yomra) ve Gümüşhane (Kürtün)'de bulunan iki deniz ve bir de tatlı su kafes işletmesi kullanılmıştır. Her bir istasyonda iki ayrı kafes seçilmiş, seçilen ağ kafesin altından ve kafeslerden 1 km uzağından sediment örnekleme yapılmıştır.

İşletmelerden alınan sediment ve balık örneklerinden izole edilen bakterilerin tür teşhisleri yapılmıştır. Ağ kafeslerinin bulunduğu alanlardaki sedimentten *E.coli* (n:64) ve *enterococcus spp.* (n: 75) izole edilmiştir. Deniz ve tatlı sudan alınan balık örneklerinde sadece *L. garvieae* (n:24) izole edilmiştir.

Yapılan örneklemelerde izole edilen bakterilerin 7 farklı antibiyotiğe (tetrasiklin, amoksisilin/ klavulanik asit, enrofloksasin, florfenikol, gentamisin, eritromisin, trimetoprim+sulfametoksazol) karşı direnç seviyelerinin belirlenmesi amacıyla antibiyogram testleri uygulanmıştır. Kafeslerin bulunduğu alandan izole edilen *E.coli* suşlarında en yüksek direnç tetrasiklin (%23,07) antibiyotiğine karşı iken bunu gentamisin (%15,3) takip etmiştir. Kafeslerden uzakta izole edilen *E. coli* suşlarında en yüksek direnç amoksisilin/klavulanik asit (%15) olarak bulunmuştur.

Kafeslerin bulunduğu alandan izole edilen *Enterococcus spp.* suşlarında ise en yüksek direnç enrofloksasin (%71,4) antibiyotiğine karşı bulunmuştur. Kafeslerin açığındaki istasyonlardan izole edilen *Enterococcus spp.* suşlarında en yüksek direnç tetrasiklin (%28,5)'e karşı bulunmuştur. Tatlı su ve deniz suyu balıklarından izole edilen *L. garvieae* suşlarında en yüksek direnç trimetoprim+sulphamethoxazol antibiyotiğine karşı olduğu tespit edilmiştir. En etkili antibiyotik, *E.coli*'de enrofloksasin ve florfenikol, *enterococcus spp.*'de eritromisin ve *L. garvieae*'da ise tetrasiklin, amoksisilin/klavulanik asit, enrofloksasin, florfenikol ve eritromisin olarak belirlenmiştir.

Antibiyogram test sonrası izole edilen suşlar E test yöntemiyle 8 farklı antibiyotiğe karşı MIK seviyeleri tespit edilmiştir (tetrasiklin, amoksisilin/klavulanik asit, enrofloksasin, florfenikol, eritromisin, trimet+sulfamet, vankomisin, penisilin). MIK sonuçlarına göre kafeslerin bulunduğu alanlarda sedimentten izole edilen *E. coli* suşlarının tamamı vankomisin ve penisiline dirençli oldukları tespit edilmiştir. Sedimentten izole

edilen *enterococcus spp.* suşlarının enrofloksasine karşı yüksek dirençlilik (%66,6) gösterdiği belirlenmiştir. Tatlı su ve deniz suyunda bulunan balıklardan izole edilen *L. garvieae* suşlarında ise en yüksek direnç Trimet+Sulfamet antibiyotiğine karşı olduğu belirlenmiştir.



6. ÖNERİLER

Antibiyotik kullanımı tüm dünyada toplum sağlığını tehdit eder hale gelmiş olup Türkiye'de de çok daha riskli boyutlara ulaşmıştır. Bu nedenle ülkemizde antibiyotik kullanımını azaltıp gerekli önemlerin alınması oldukça önemlidir. Su ürünleri yetiştiriciliği yapan işletmelerdeki canlıların bağışıklık sistemini kuvvetlendirmek ve gelişimini hızlandırmak için mevcut aşı, bakteriyofajlar, bakteriosin ya da probiyotik kullanılabilir. Gelişmiş su ürünleri sektörüne sahip ülkelerde antibiyotiklerin kullanımına ilişkin mevzuatlar oluşturmuş ve uygulanmaktadır. Ülkemizde de antibiyotik kullanımına ilişkin daha geniş kapsamlı mevzuatlar çıkartılıp uygulanmalıdır. Benzer çalışmalar yapılarak mevcut durum ortaya çıkartılıp kullanıcılara ve yöneticilere önerilerde bulunulmalıdır. Antibiyotiklerin birey için değil, toplum için olduğu gerçeği unutulmamalıdır. Sonuç olarak gereksiz ve aşırı antibiyotik kullanımının önüne geçilmeli ve başka alternatif yollara yönelinmelidir.

6. KAYNAKLAR

- Akıncı E, Balık İ, ve Tekeli E. 1999 Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Türlerinin Antimikrobiyal Duyarlılığının Belirlenmesi, Flora, 4, 1, 40-45
- Altuğ, G., Yardımcı H. C. ve İçöz, I. O., 2005. Haliç Yüzey Sularında *Enterobacteriaceae* Üyelerinin Bazı Beta-Laktam Antibiyotiklerine Dirençlilik Frekansı Türk Sucul Yaşam Dergisi 3, 4, 258-264.
- Altun, S., Diler, Ö., Başak, K., ve Işıklı, B, 2005. Histopatoloji of streptococcosis in rainbow trout, Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 25, 3, 131-135.
- Anderson, A.D., Nelson.J.M., Rossiter, J. and Angulo, F.J., 2003. Public Health Consequences of Use of Antimicrobial Agent in Food in Animals in the United States. Mic. Drug Res. 9, 373-379
- Anonim, Safer rules for feed additives-prohibition of antibiotics as grown promoters Confirmed 2002_DN:IP/02/1720. <http://europa.ae.int/rapid/start/cgi/20.09.2016>
- Anonymous, 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Works Association, Water Environment Federation, Washington, DC.
- Arda, B, Yamazhan, T, Ulusoy, T ve Özinel, M.A., 1999. Yoğun Bakım Ünitelerinden İzole Edilen *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter* Türlerinin Antibiyotik Duyarlılığındaki Değişim.Hastane İnfeksiyon Derg 2001; 5, 1, 49-53.
- Austin, B. and Austin, D.A., 1999. Bacterial Fish Pathogens, Diseases of Farmed and Wild Fish, Third Edition, Chichester, UK: Springer-Praxis.
- Avcı, H., Aydoğan, A., Tanrikul, T.T. and Birincioglu, S.S., 2010. Pathological and microbiological investigations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) naturally infected with *Lactococcus garvieae*. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 16; 313-318.
- Bağcigil A.F., İkiz S., Ak S. ve Özgür N.Y., 2015. "Isolation of Vancomycin Resistant Enterococci From Animal Faeces, Detection of Antimicrobial Resistance Profiles and Vancomycin Resistant Genes", Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 21, 1, 87-94.
- Baker, CN., Stocker, S.A ve Culver D.H.,1991 Thornsberry C: Comparison of the E test to agar dilution, broth microdilution and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria, J Clin Microbiol 29, 533.

- Barug, D., Jong, J., Kies A. K. and Verstegen. M. W.A. 2006. Antimicrobial growth promoters. Where do we go from here?. Wageningen Academic Publishers. 422 .
- Başoğlu, A. 2000. Veteriner İç Hastalıklarında Genel Tedavi. Selçuk Üniv. Basımevi, Konya, 109-160.
- Berberoğlu, U, 2012Su Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları El Kitabı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ankara.
- Bly ,J.E., Quiniou, S.M., Clem, L.W., 1977. Environmental effects on fish immune mechanisms, Developments Biological Standartization, 90, 33-43
- 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.
- Byamukama, D., Kansime, F., Mach, R.L.ve Farnleitner, A.H., 2000. Determination of *Escherichia coli* contamination with chromocult coliform agar showed a high level of discrimination efficiency for differing fecal pollution levels in tropical waters of Kampala, Uganda. Appl. Environ, Microbiol, 66, 864–868.
- Chaslus, E., Lafont, JP.ve Guillot, JF., 1980. Inc Groups Among Plasmids Harbored by *Escherichia coli* of Avian Origin. Ann Microbiol Paris; s 203-6. Cooke, M. D., 1976. Antibiotic Resistance Among Coliform and Fecal Coliform Bacteria Isolated from Sewage, Seawater and Marina Shell Fish, Antimicrob. Agent and Chemother. 9, 879–944.
- Clausen, E.M., Green, B.L. ve Litsky, W., 1977. Fecal streptococci: indicators of pollution. In: Hoadley, W. (Ed.), Bacterial Indicators/ Health Hazards Associated with Water. Standard STS 635. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, 247– 264.
- CLSI. 2014. Performance Standards for Antimicrobial Sus-ceptibility Testing. Twenty-fourth Informational Supp-lement M100-S24, Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Çelik, Ü. ve Alhan, E. 2008. Pediatrik enfeksiyonlarda zorlu patojen: enterokoklar – derleme. Çocuk Enfeksiyonları Dergisi, 2,58-66
- Çolakoğlu, F., 2007. Rize Şehir Sahilinde Deniz Suyundan İzole Edilen Enterik Bakterilerde Antibiyotik Direncinin Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Çotuk, A., 2003. Genel Mikrobiyoloji Laboratuvar Yöntemleri. Nobel Tıp Kitapevleri, Nobel Matbaacılık, İstanbul, 138s.
- Danishta,I., Ismet, M., Sonatun, D. ve Jaufeerally-Fakim, Y., 2010. Antibiotic Resistance of *Escherichia Coli* Isolates from Environmental and Waste Water Samples in Mauritius, Advances in Environmental Biology, 4, 1, 1-9.

- Diler, O., Altun, S., Adiloglu, A.K., Kubilay, A. and Işıklı, B., 2002. First Occurrence of Streptococcosis Affecting Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. Bulletin European Association of Fish Pathologists, 22, 1, 21–25.
- Dimitroglou, A., Merrifield, D.L., Spring, P., Sweetman, J., Moate, R. ve Davies, S.J. 2010. Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture, 300, 182-188.
- Dombradi, Z.,Bihari, Z.,Horvath, K. ve Szabo, J., 2010.Comprasion Of The Vitek2 System With The E-Test Fort He Determination Of Glycopeptide 74 Susceptibility Of VanA And VanC Positive Enterococci. Acta Microbiol Immunol Hung. 57, 3, 63-157
- Dökmeci, İ., Akçasu, A., Banoğlu, N., Berkarda, Ş., ve ark. 1992. Farmakoloji. İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar., Nobel Tıp Kitabevleri..705-785.
- 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.
- Eldar, A. and Ghittino, C., 1999. *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): similar but different diseases. Diseases Aquatic Organism, 36, 227–231.
- Elliot, J.A. and Facklam, R.R., 1996. Antimicrobial Susceptibilities of *Lactococcus lactis* and *Lactococcus garvieae* and a Proposed Method to Discriminate between Them. Journal of Clinical Microbiology, 34, 5, 1296–1298.
- Esen Ş, Sunbul M, Barut Ş, Eroğlu C, Sanic A, ve Leblebicioğlu H., 2001 “Glikopeptid, Beta Laktam ve Aminoglikozit Grubu Antibiyotiklerin Enterokoklara İnvitro Etkinliği”. Ankem Derg; 15, 1, 59-63.
- Farasat, T., Bilal, Z., and Yunus, F.N. 2012 Isolation and biochemical identification of *Escherichia coli* from wastewater effluents of food and beverage industry. Journal of Cell and Molecular Biology, 10, 1, 1-13.
- Franz, C.M., Halzapfel, W.H.ve Stiles, M.E., 1999. Enterococci at the crossroads of food safety? International Journal of Food Microbiology 47, 1-24.
- Gilmore, M.S., Clewell, D.B., Courvalin, P.M., Dunny, G.M., Murray, B.E. ve Rice, L.B. 2002 The Enterococci –Pathogenesis, Molecular Biology and Antibiotic Resistance, ASM Pres Washington 72.
- Gokahmetoğlu, S, Sumerkan, B, Eşel, D. ve Karagoz S, 1999. Kulturlerinden İzole edilen Enterokok Suşlarının Vankomisin ve Yüksek Duzey Aminoglikozit Dirençlerinin Araştırılması”. Ankem Derg; 13, 1, 57-62.

- Gudding, R., Lillehaug, A. ve Evensen, Q., 1999. Recent development in fish vaccinology. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 72, 203-212.
- Hart, C.A. ve Kariuki, S., 1998 Antimicrobial Resistance in Developing Countries, B.M.J., 317, 647-650.
- Hill, B.J. 2005. The need for effective disease control in international aquaculture. *Development in Biological Standardization*, 121, 3-12.
- Karaca, YK., Pullukcu, H.D., Aydemir, S.A., Tunger, A.T., Ozkan, F.O. ve Ozinel, MA, 2001. "Antibiotic Susceptibility and Beta Lactamase Activity of Enterococci Isolates". *Clin. Microbiol. And Infect*, 7, 1, 1-394.
- Karayakar, F. ve Ay, Ö., 2006. Mersin Balıkçı Barınaklarından Yakalanan *Sparus aurata* (Linnaeus 1758)'dan İzole Edilen *Enterobacteriaceae* Grubu Bakterilerin Bazı III.Kuşak Sefalosporinlere Karşı Plasmid Kökenli Dirençliliğin Saptanması. *Çev-Kor Ekoloji Dergisi*, 15, 59, 32-36.
- Kay, K. and Erganiş, O., 2008. Antibiotic Susceptibility of *Lactococcus garvieae* in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Farms. *Bulletin Veterinary Institute in Pulawy*, 52, 223-226.
- Kay, K. ve Erganiş, O., 2007. Konya Bölgesinde Bulunan Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Çiftliklerinden *L. garvieae* İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Fenotipik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Veteriner Bilimler Dergisi*, 23, 3, 7-17.
- Kawanishi, A., Kojima, A., Ishihara, K., Esaki, H., Kijima, M. ve Takahashi T., 2005. Drug resistance and pulsed-field gel electrophoresis patterns of *Lactococcus garvieae* isolates from cultured *Seriola* (yellowtail, amberjack and kingfish) in Japan. *Letter Applied Microbiology*, 40, 322-328.
- Kayış, S., Capkin, E., Balta, F. and Altinok, I., 2009. Bacteria in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the southern Black Sea Region of Turkey - A survey. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 61, 339-344.
- Kiffer, C. R.V., Kutı, J. L., Eagye, K. J., Mendes, C., and Nicolau, D. P., 2006. Pharmacodynamic profiling of imipenem, meropenem and ertapenem against clinical isolates of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. from Brazil. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 28, 340-344.
- Kocataş, A., 1992. *Ekoloji ve Çevre Biyolojisi*, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 564.
- Koloren, Z., Taş, B. ve Kaya, D., 2011. Gaga Gölü (Ordu, Türkiye)'nün Mikrobiyolojik Kirlilik Seviyesinin Belirlenmesi, *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 1, 3, 74-85.
- Korkut,A., Hoşsu, B.ve Gültepe, N., 2002. Balıklarda beslenmeye bağlı hastalıklar, *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, izmir 19, 3-4, 555-564.

- Kryalikovya, K., Krycmery, V., Krycmery, V. Jr., 1984. Transferable Resistance To Gentamicin And Other Antibiotics in *Enterobacteriaceae* Isolates from Municipal Wastewater. Jour. Hyg.Epidemiol. Immunol., 28, 161-166.
- 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, 1, 39-48.
- Kusuda, K., Kawai, K., Salati, F., Banner, C.R. and Fryer, J.L., 1991. *Enterococcus seriolicida* sp. nov., a Fish Pathogen. Int. J. Syst. Bacteriol., 41, 406–409.
- Kümmerer, K. 2009 Antibiotics in the aquatic environment- A Review Part I, Chemosphere 75, 417-434.
- Larson, Z., Subramanyam, B., Zurek, L. ve Herrman, T.,2008. Diversity and antibiotic resistance of enterococci associated with stored-product insects collected from feed mills. Journal of Products Research, 44, 198-203.
- Lima-Bittencourt, C. I., Cursino L., Gonçalves-Dornelas, H., Pontes, D. S., Nardi, R. M. D., Callisto, M., Chartone-Souza, E., and Nascimento, A. M. A., 2007. Multiple antimicrobial resistance in *Enterobacteriaceae* isolates from pristine freshwater. Genetics and Molecular Research, FUNPEC-RP www.funpecrp.com.br, 6, 3, 510-521.
- Malathum K. ve Murray B.E., 1999. Vancomycin-resistant enterococci: recent advances in genetics, epidemiology and therapeutic options. *Drug Resistance Updates*, 2, 224–243.
- 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.
- Matyar, F., Dinçer, S., 2010. Doğu Akdenizden İzole Edilen *Enterococcus faecalis* Bakterilerinin Antibiyotik ve Ağır Metal Dirençliliklerinin Araştırılması. *SDU Journal of Science (E-Journal)*, 5, 2, 172-178.
- Matyar, F., Dinçer, S., Kaya, A., Akkan, T. ve Eraslan, B., 2009. İskenderun Körfezi Balıklarından İzole Edilen Bakterilerde Antibiyotik ve Ağır Metal Dirençliliklerinin Araştırılması. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi* 2, 2, 1–5.
- Matyar, F., Kaya, A. ve Dinçer, S., 2008. Antibacterial Agents and Heavy Metal Resistance in Gram-negative Bacteria Isolated from Seawater, Shrimp and Sediment in Iskenderun Bay, Turkey, *Science of the Total Environment*, 407, 279-285.
- Moaddab SR, ve Toreci K.1999. Enterokok Suşlarında Antibiyotik Direnci. *Ankem Derg*; 13, 2, 104.

- Muzquiz, J.L., Royo, F.M., Ortega, C., Blas, I., Ruiz, I. and Alonso, J.L., 1999. Pathogenicity of streptococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): dependence of age of diseased fish. Bulletin European Association of Fish Pathologists, 19, 114–119.
- Nogales, B., Lanfranconi, M.P., Pina-Villalonga, J.M. ve Bosch, R., 2011. Anthropogenic Perturbations in Marine Microbial Communities, FEMS Microbiology Reviews, 35, 275-298.
- Özer, S., Bulduklu, S. ve Dönmez, E., 2008. Streptococcosis occurrence at rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) cultivated in province Mersin-Turkey, Journal of Fisheries Sciences, 2, 272-283.
- Öztürk, M., 2003. İstanbul'da Dolum sonrası Kaynak Sularının Mikrobiyolojik İncelenmesi. Doktora Tezi. İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü. İstanbul.
- Raissy, M. and Ansari, M., 2011. Antibiotic susceptibility of *Lactococcus garvieae* isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran fish farms. African Journal of Biotechnology, 10, 8, 1473-1476.
- Ringo E, 1998 Gatesoupe FJ. Lactic acid bacteria in fish: a review. Aquacult. 160, 177–203.
- Ruoff, KL., Maza, L. ve Murtagh, M.S., 1990. Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. J. clin. microbiol, 28, 435-7.
- Savaşan S., Kaya O. Kırkan Ş. ve Çiftçi, A., 2008. Balık kökenli *Enterococcus faecalis* Suşlarının Antibiyotik Dirençlilikleri. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 55, 107-110.
- Serrano, P.H., 2005 Responsible Use of Antibiotics in Aquaculture. Fisheries Technical Paper 469, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome.
- Sorensen-Halling, B. S., Nors Nielsen, P., Lanzky, F., Ingerslev, H.C., and Jergensen, E. 1998. Occurens fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-a review, Chemospher, 36, 357-393.
- Subasinghe, R. P, Barg, U. ve Tacon, A, 2000. Chemicals in asian aquaculture: need, usage, issues and challanges. In: Use of chemicals in aquaculture asia. Ed: JR Arthur, CR Lavilla-Pitogo, RP Subasinghe, 1-5.
- Sutcliffe, J., Grebe, T., Kamradt, A.T. and Wondrack, L., 1996. Detection of erythromycin-resistant determinants by PCR. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 40, 11, 2562.
- Tanrıkul, T.T. and Gültepe, N., 2011. Mix infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walborn) *Lactococcus garvieae* and *Vibrio anguillarum* O1. Journal of Animal and Veterinary Advances, 10, 1019-1023.
- Tekelioğlu, N., 2000. İç Su Balıkları Yetiştiriciliği. Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Yayınları.

- Tekinşen, C., O., 1976. Suyun Bakteriyolojik Muayenesi. Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Yayınları, 10-11.
- Terzi, E., 2013. Alabalık İşletmelerinden İzole Edilen Bakterilerde Antibiyotik Direnç Genlerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, KTU, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Topal, M., Uslu Şenel, G., Arslan Topal, E.I. ve Öbek, E., 2015. Antibiyotikler ve Kullanım Alanları. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 31, 3, 121-127.
- Toroglu, E. ve Toroglu, S., 2009. Microbial Pollution of Water in Golbasi Lake in Adiyaman, Turkey, Journal of Environmental Biology, 30, 1, 33-38.
- Toroğlu, E., Toroğlu, S. ve Alaeddinoğlu, F. 2006. Aksu Çayı'nda (Kahramanmaraş) Akarsu Kirliliği. *Coğrafi Bilimler Dergisi*, 4, 1, 93-103.
- Türe, M. and Boran, H. 2015. Phenotypic and Genotypic Antimicrobial Resistance of *Lactococcus* sp. Strains Isolated From Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Bull. Vet. Inst. Pulawy, 59, 37-42. DOI:10.1515/bvip-2015-0006.
- Türe, M. ve Savaş, H., 2010. Kardeniz Bölgesinde gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Lactococcosis (*Lactococcus garvieae*), Yunus Araştırma Bülteni, 3, 19-20.
- Türkman, A., 1993. Çevremiz ve Biz. DEÜ, Çevre Müh. Böl., İzmir, 151.
- Uğur, M., Nazlı, B. ve Bostan, K., 1999. Besin Hijyeni. İstanbul. İ.Ü. Veteriner Fakültesi Masaüstü Yayıncılık Ünitesi. 61- 65, 82-311.
- Vendrell, D, Balcazar, JL, Zarzuela, IR, Blas, I, Girones, O, ve Muzquiz, JL., 2007. Safety and efficacy of an inactivated vaccine against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Prevent. Vet. Med. 80, 222-229.
- Vural, H.C. ve Akçin, A. 2011 İzmit Körfezinden İzole Edilen Escherichia coli'lerde R Plazmidlerine Bağlı "Bulaşıcı Tipte Antibiyotik Direnç Özelliğinin Belirlenmesi", Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.17 (Suppl A), 23-30.
- Wilberger, M.S, Anthony, K.E, Rose, S, McClain, M. ve Bermudez LE. 2012. Beta-lactam antibiotic resistance among *Enterobacter* spp. isolated from infection in animals. Adv Microbiol, 2:129-137.
- Willke, A, Topçu, Söyletir, G. ve Doğanay, 1996 M. İnfeksiyon Hastalıkları (Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul).
- Yalap, K.S. ve Balcıoğlu, I.A., 2008 Oksitetrasiklinin İleri Oksidasyon İle Arıtımına Su Bileşenlerinin Etkisi, İTÜ Dergisi Su Kirlenme Kontrolü, 18, 51-60.
- Yuce, A, Ozkutuk, A, Gulay, Z. ve Yuluğ N.1999. "Enterokoklarda Aminoglikozit ve Vankomisin Direncinin Araştırılması. Ankem Derg; 13, 2, 105.

ÖZGEÇMİŞ

Sevcan KANAL, İstanbul'da doğdu. İlköğretim ve liseyi burada tamamladı. 2005 yılında Trakya Üniversitesi Keşan Meslek Yüksek okulunu kazandı ve 2007'de mezun oldu. 2009 yılında dikey geçiş ile Karadeniz Teknik Üniversitesi Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliğini kazandı ve 2012 yılında mezun oldu. İngilizce bilmektedir.

