

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ALABALIK İŞLETMELERİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERDE
ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Su Ürünleri Yük. Müh. Ertuğrul TERZİ

**EKİM 2013
TRABZON**

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ALABALIK İŞLETMELERİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERDE
ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN BELİRLENMESİ

Su Ürünleri Yük. Müh. Ertuğrul TERZİ

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"DOKTOR (BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ)"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 30.09.2013
Tezin Savunma Tarihi : 23.10.2013

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Erol ÇAPKIN

Trabzon 2013

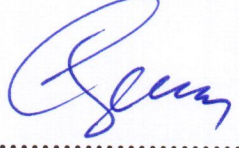
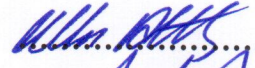

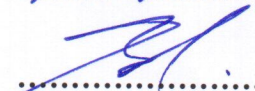
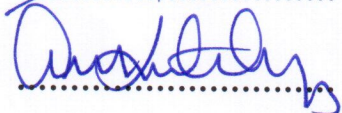
Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Ana Bilim Dalında
Ertuğrul TERZİ Tarafından Hazırlanan

ALABALIK İŞLETMELERİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERDE
ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN BELİRLENMESİ

Başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 01 / 10 / 2013 gün ve 1525 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda

DOKTORA TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan	: Prof. Dr. Ercüment GENÇ	
Üye	: Prof. Dr. İlhan ALTINOK	
Üye	: Doç. Dr. Erol ÇAPKIN	
Üye	: Doç. Dr. Nadir BAŞÇINAR	
Üye	: Yrd. Doç. Dr. C. Kurtuluş BURUK	

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Doktora Tezi olarak hazırlanmış ve K.T.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje No: 2010.117.001.3) tarafından desteklenmiştir.

Sucul ortamlarda meydana gelen mikrobiyolojik kirlilik, bu ortamlarda önemli problemlere neden olmaktadır. Ayrıca tıbbi, veterinerlik ve balık yetiştiriciliği gibi alanlarda aşırı ve kontrolsüz kullanılan antibiyotiklerin oluşturduğu kirlenme, ortamdaki bakterilerin direnç kazanmalarını hızlandırmaktadır. Bakterilerde direncin meydana gelmesi tedavide başarısızlıklara yol açmaktadır. Ayrıca canlılarda hastalık yapmayan bakterilerde bulunan antibiyotik direnç genlerinin patojen bakterilere aktarılması da bu problemleri daha büyük hale getirmektedir. Ülkemizde sediment ve suyu kapsayan sucul ortam ile bu ortamlarda bulunan balıklardaki bakterilerin antibiyotik direnç seviyeleri ile dirence sebep olan antibiyotik direnç genleriyle ilgili çalışmaya rastlanmadığından bu durumun ortaya konulması, bu çalışmaya konu olmuştur.

Doktora tez konusunun belirlenmesinde, çalışmaların yürütülmesinde ve sonuçların yorumlanmasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Erol ÇAPKIN ve Prof. Dr. İlhan ALTINOK'a, katkılarından dolayı; tez izleme komitesindeki değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Celal Kurtuluş BURUK'a teşekkür ederim.

Arazi çalışmalarındaki yardımlarından dolayı başta Doç. Dr. Şevki KAYIŞ olmak üzere Yrd. Doç. Dr. Halis BORAN'a, laboratuvar çalışmalarındaki katkılarından dolayı Arş. Gör. Rafet Çağrı ÖZTÜRK'e, gerek yazım aşamasında gerekse doktora eğitimim boyunca her türlü tavsiyelerini aldığım Yrd. Doç. Dr. Serkan KORAL ve Uzm. Yusuf CEYLAN'a, istatistiksel analiz aşamasında değerli katkılarından dolayı Arş. Gör. Kenan GEDİK'e, sekans analizi sonuçlarının değerlendirilmesindeki katkılarından dolayı Arş. Gör. Gökhan KALAYCI'ya, gen transferi deneylerinde alıcı suşu sağlayan Doç. Dr. Cemal SANDALLI'ya, RTEÜ Su Ürünleri Fakültesi ve KTÜ Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi akademik ve idari personeline teşekkür ederim. Ayrıca bugüne kadar her konuda desteklerini gördüğüm sevgili ailem, eşim ve oğluma teşekkür ederim.

Ertuğrul TERZİ

Trabzon 2013

TEZ BEYANNAMESİ

Doktora Tezi olarak sunduğum “Alabalık İşletmelerinden İzole Edilen Bakterilerde Antibiyotik Direnç Genlerinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Doç. Dr. Erol ÇAPKIN'nın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda 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. 30/09/2013



Ertuğrul TERZİ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Yetiştiricilikte Antibiyotik Kullanımı	2
1.3. Antimikrobiyal Maddeler ve Direnç	4
1.4. Bakterilerde Antibiyotik Direncinin Gelişimi	9
1.5. Antibiyotik Direncinin Yayılmasında Kirliliğin Rolü.....	10
1.6. Antibiyotik Direnç Genleri.....	14
1.7. Çevresel Antibiyotik Direnç Genleri (ADG) Tipleri	15
1.7.1. Tetrasiklin Dirençli ADG	15
1.7.2. Aminoglikozit Dirençli ADG	16
1.7.3. Makrolit-Linkosamit-Streptogramin, Kloramfenikol ve Vankomisin Dirençli ADG	16
1.7.4. Sulfonamid Dirençli ADG.....	17
1.7.5. Beta-Laktam Dirençli ADG	17
1.8. Önceki Çalışmalar	17
1.9. Çalışmanın Amacı ve Gerekçesi	28
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	31
2.1. Örnek Temini	31
2.2. Su Kalite Parametrelerinin Belirlenmesi	31
2.3. Örneklerin İşlenmesi	32
2.4. İzole Edilen Bakterilerin Morfolojik Karakterlerinin Belirlenmesi	33
2.5. Antimikrobiyal Hassasiyet Testi	35
2.6. Çoğul Antibiyotik Direnç (MAR) İndeksi	35
2.7. PCR için DNA İzolasyonu	35

2.8.	Plazmit DNA İzolasyonu.....	36
2.9.	Antibiyotik Direnç Genlerinin PCR ile Tespiti.....	36
2.10.	Gen Transferi (Konjugasyon).....	40
2.11.	DNA Dizi Analizi.....	40
2.12.	İstatistiksel Analizler.....	40
3.	BULGULAR.....	41
3.1.	Su Kalite Parametleri.....	41
3.2.	Koliform Bakterilere Ait Bulgular.....	45
3.3.	Su, Sediment ve Balıklardan İzole Edilen Bakteriler.....	46
3.4.	Antibiyotik Dirençliliği.....	49
3.5.	Çoğul Antibiyotik Direnç (MAR) İndeksi.....	52
3.6.	Antibiyotik Direnç Genlerinin Dağılımı.....	54
3.7.	Plazmit Varlığı.....	57
3.8.	Konjugasyon.....	58
3.9.	DNA Dizi Analizi Sonuçları.....	59
4.	TARTIŞMA.....	60
5.	SONUÇLAR.....	72
6.	ÖNERİLER.....	74
7.	KAYNAKLAR.....	75
8.	EKLER.....	96
	ÖZGEÇMİŞ	

Doktora Tezi

ÖZET

ALABALIK İŞLETMELERİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERDE ANTİBİYOTİK
DİRENÇ GENLERİNİN BELİRLENMESİ

Ertuğrul TERZİ

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Erol ÇAPKIN
2013, 95 Sayfa 8 Ek Sayfa

Bu çalışmada, Rize ve Trabzon illerinde bulunan 7 farklı alabalık işletmesinde balıkların yanında giriş ve çıkış suları fiziko-kimyasal ve bakteriyolojik açıdan incelenmiştir. Su, sediment ve balıklardan izole edilen bakterilerde antibiyotik direnci ve direnç genlerinin varlığı araştırılmıştır. İşletmelerin su ve sediment örneklerinden başta *Escherichia coli* olmak üzere 9 farklı bakteri türü (n:159) izole edilirken, balıklardan 12 farklı bakteri türü (n:24) izole edilmiştir. Antibiyogram testi sonuçlarına göre koliform bakterilerde en yüksek direnç sulfametaksazol ve ampisilin antibiyotiklerine karşı tespit edilirken balıklardan izole edilen bakterilerin ise sulfametaksazol, imipenem ve aztreonama karşı dirençli oldukları belirlenmiştir. En etkili antibiyotikler rifampisin, kloramfenikol ve tetrasiklidir. Çalışmada izole edilen bakteri türlerinin çoğu için Çoğul Antibiyotik Direnç İndeksi değeri kritik seviyenin üzerinde hesaplanmıştır. Bakterilerde en sık görülen antibiyotik direnç geni *ampC* olmuştur ve bunu koliform bakterilerde *tetA*, *sul2*, *bla_{CTX-M1}* ve *bla_{TEM-OT12}* direnç genleri takip etmiştir. Bakterilerin %70,8'inin en az bir tane direnç genine sahip oldukları belirlenirken, %66,6'sının da iki veya daha fazla direnç genine sahip oldukları belirlenmiştir. Plazmit bulunduran bakterilerin %36,54'ünün aktarılabılır plazmite sahip oldukları belirlenmiş ve plazmitlerle aktarılabilen direnç genleri *ampC*, *bla_{CTX-M1}*, *tetA*, *sul2*, *bla_{TEM-OT12}* ve *bla_{TEM-OT34}* olarak tespit edilmiştir. Sucul ortamın, bakterilerin antibiyotik direncinin gelişmesi ve direnç genlerinin yayılmasında önemli rol oynayabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Su kirliliği, Antibiyotik, Direnç genleri, Plazmit, Sucul ortam

PhD. Thesis

SUMMARY

DETERMINATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES IN THE BACTERIA
ISOLATED FROM TROUT FARMS

Ertuğrul TERZİ

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Fisheries Technology Engineering Graduate Program
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Erol ÇAPKIN
2013, 95 Pages 8 Appendix

In this study, the quality of influent and effluent of 7 trout farms located in Rize and Trabzon was determined in terms of physico-chemical and bacteriological structure. Antibiotic resistance and the presence of resistance gene were investigated in the bacteria isolated from water, sediment and fish. While 9 bacterial species (n:159) particularly *Escherichia coli* were isolated from the water and sediment samples, 12 species (n:24) were isolated from fish. According to the antibiogram test results, while the highest resistance to sulfamethoxazole and ampicillin was determined in coliform bacteria, sulfamethoxazole, imipenem and aztreonam were in bacteria in fish. The most effective antibiotics were rifampicin, chloramphenicol and tetracycline. Multiple Antibiotic Resistance Index values were calculated above the critical line for almost all of the bacteria isolated in this study. The most common antibiotic resistance gene in the bacteria was *ampC* and followed by *tetA*, *sul2*, *bla_{CTX-M1}* and *bla_{TEM-OT12}* resistance genes in the coliform bacteria. It was determined that while 70,8% of the bacteria had at least one resistance gene, 66,6% of the bacteria had two or more resistance genes. It was determined that 36,54% of the bacteria having plasmid had transferable plasmid and plasmid mediated transferable resistance genes were determined as *ampC*, *bla_{CTX-M1}*, *tetA*, *sul2*, *bla_{TEM-OT12}* and *bla_{TEM-OT34}*. It was determined that the aquatic environment could play an important role in the development of antibiotic resistance and the dissemination of the resistance genes of the bacteria.

Key Words: Water pollution, Antibiotic, Resistance genes, Plasmid, Aquatic environment

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Antibiyotiklerin sucul çevreye karışma yolları.....	5
Şekil 2. Sucul çevre, dirençli bakteri ve kirlilik arasındaki ilişki	13
Şekil 3. Su ve sediment örneklerinden izole edilen bakterilerin tür teşhisinde kullanılan şablon	34
Şekil 4. Alabalık işletmelerinin su, sediment ve balıklarından izole edilen bakterilerin örnekleme dönemlerine göre dağılımı	49
Şekil 5. Sediment ve su örneklerinden izole edilen bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç yüzdeleri ve dirençli bakteri sayıları	51
Şekil 6. Alabalık işletmelerindeki balıklardan izole edilen bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç yüzdeleri ve dirençli bakteri sayıları	52
Şekil 7. Alabalık işletmelerinin sediment ve sularından izole edilen bakterilerin MAR indeksleri.....	53
Şekil 8. Alabalık işletmelerindeki balıklardan izole edilen bakterilerin MAR indeksleri.....	53

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotikler.....	3
Tablo 2. Antibiyotik sınıfları, etki ve direnç mekanizmaları.....	7
Tablo 3. Antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesinde uygulanan PCR protokolü	37
Tablo 4. Antibiyotik direnç genleri ve integronların belirlenmesinde kullanılan primerler	38
Tablo 5. Alabalık işletmelerinin giriş ve çıkış sularının fizikokimyasal su kalite değerleri	42
Tablo 6. Alabalık işletmelerinin giriş ve çıkışlarındaki sediment ve su örneklerinin toplam ve fekal koliform sayıları.....	46
Tablo 7. Alabalık işletmelerinin giriş ve çıkışlarındaki sediment ve su örneklerinden izole edilen bakteri türlerinin dağılımı	47
Tablo 8. İşletmelerdeki su ve sediment örneklerinden izole edilen türlerin sayısı ve bulunma yüzdeleri	47
Tablo 9. İşletmelerdeki balıklardan izole edilen bakterilerin sayısı, bulunma yüzdeleri ve örnekleme dönemine ait sayıları	48
Tablo 10. Alabalık işletmelerinden izole edilen bakterilerin antibiyotik dirençlilikleri... 50	50
Tablo 11. Alabalık işletmelerinin su ve sedimentlerinden izole edilen bakteri türlerinde belirlenen antibiyotik direnç genleri	55
Tablo 12. Alabalık işletmelerindeki balıklardan izole edilen bakteri türlerinde belirlenen antibiyotik direnç genleri.....	56
Tablo 13. Alabalık işletmelerinden izole edilen bakterilerde istasyonlara göre direnç geni bulundurma durumları	57
Tablo 14. Alabalık işletmelerinden izole edilen bakterilerin plazmit profilleri.....	58
Tablo 15. Plazmit içeren bakterilerden plazmitini aktarabilen verici türler	58
Tablo 16. Transkonjugant bakterilerde PCR ile tespit edilen direnç genleri	59

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Suyun kalitesinin ve doğal dengesinin bozulması su kirliliği olarak kabul edilmektedir. Suyun potansiyel kullanımını ise suyun kalitesi belirlemektedir. Sularda bulunan bazı canlı organizmalar biyolojik kirliliğe sebep olmaktadır. Sulardaki biyolojik kirlilik; patojen bakteriler, mantarlar, patojen protozoalar, indikatör organizmalar ve koliform bakterilerin var olup olmamasıyla anlaşılabilir. Kirlenmiş sular sağlığa zararlı maddeler ve hastalık yapan patojen bakteriler gibi bir çok kirleticiyi barındırmaktadır (Akman vd., 2004). Kanalizasyon suları ile kirlenen sularda bakteri ve virüs oranı artmaktadır. Sularda bulunan bakteri ve virüsler; tifo, dizanteri, hepatit, kolera gibi bulaşıcı hastalıkların yayılımına sebep olmaktadır. Bu hastalık etkenleri su kaynaklarına karıştığında salgınlar ortaya çıkabilmektedir (Güler ve Çobanoğlu, 1994).

Su, dünya üzerinde yüksek seviyede antropojenik etkilere maruz kalmaktadır (Halpern vd., 2008). Şehirleşme, endüstriyel ve tarımsal faaliyetler sonucu gübreler, organik bileşikler, ağır metaller ve tüm atık su kaynakları gerekli arıtma yapılmaksızın alıcı ortamlara karışmaktadır ve bu durum ötrofikasyon, hipoksia, toksisite, biyobirikim ve patojen bakterilerin gelişmesine neden olabilmektedir (Nogales vd., 2011).

Çevre kirliliği, mikrobiyal çevreyi birçok şekilde etkilemektedir. Ekosistem dinamikleri ile beraber kirleticilerin kaynağı ve miktarı mikroorganizmaların antropojenik etkilere karşı göstermiş olduğu tepkiyi değiştirmektedir (Cardoso vd., 2012). Mikroorganizma toplulukları; ekosistem modellemesinde, tür kompozisyonunda ve tür bolluğunda etkili rol oynamaktadırlar (Nogales vd., 2011; Viera vd., 2008). Kirlilik ile potansiyel patojenik bakteriler canlıların sağlığı açısından olumsuz bir etkiye sahiptir (Nogales vd., 2011). Su kolonunda bulunan yüksek miktardaki organik yük besin elementi artışına sebep olmaktadır. Bu durum *Shigella sp.*, *Salmonella enterica* ve *Vibrio cholerae* gibi çeşitli heterotrof fırsatçı patojenlerin gelişimini hızlandırmaktadır.

Sucul ortamlardaki su kalitelerindeki olumsuzluklar balık sağlığı açısından önem arz etmektedir. Bu olumsuzluklar balıkların strese sebep olmaktadır. Örneğin sudaki çözülmüş oksijenin yetersiz olduğu durumlarda balıklarda uyuşukluk, su girişinde toplanma, su yüzeyine ani fırlamalar ve toplu balık ölümleri meydana gelmektedir Su sıcaklığı,

balıklarda üreme ve beslenme gibi fizyolojik durumlarda etkin rol oynamasının yanında azotlu bileşiklerin toksik etkilerini arttırdığı bildirilmiştir. Sudaki çözünmüş gazlar, pH, askıda katı madde miktarları gibi faktörler de balık sağlığını etkileyen önemli çevresel kriterlerdendir (Lasee, 1995; Plumb, 1999).

1.2. Yetiştiricilikte Antibiyotik Kullanımı

Dünyada hızla artan insan nüfusuna besin olacak yeterli gıdayı (et, yumurta ve süt ürünleri) korumak için hayvancılıkta dünya çapında çok büyük miktarlarda ilaçlar kullanılmaktadır (Rassow ve Schaper, 1996). Hayvanlarda kullanılan antimikrobiyallerle ilgili veri toplama işinde güvenilir bir program geliştirilememesinden dolayı Avrupa Tıp Örgütü (European Medicines Agency EMA) ve Avrupa Antimikrobiyal Tüketim Gözetleme (European Surveillance of Antimicrobial Consumption ESVAC) programları bu veri toplama ve analiz etme işlerini yürütmektedir. Ayrıca Avrupa Birliği ülkelerinden yapılan satışları da yıllık olarak rapor etmektedirler (URL-1, 2013). 2007 yılında, 10 Avrupa ülkesinde veterinerlikte terapötik olarak kullanılan antimikrobiyal ilaçların dozu 18-118 mg/kg canlı ağırlık arasında değişiklik göstermiştir (Grave vd., 2010).

Yetiştiriciliği yapılan bazı hayvan türlerinde antimikrobiyaller tedavi dışında büyütme faktörü ve hastalıktan korunma amaçlı olarak da kullanılmaktadır (Anthony vd., 2001; Casewell vd., 2003). Hayvan çiftliklerinde kullanılan tüm antibiyotiklerin yaklaşık olarak %70'i terapötik olmayan amaçlarda kullanılmaktadır (Roe ve Pillai, 2003). Kullanılan bu 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.

Tablo 1. Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotikler (Van Dongen vd., 2008).

Antibiyotik	Grup	Veriliş Yolu
Amoksisillin	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

Büyütme faktörü olarak Apiramisin, Tilosin ve Virginiamisin kullanımları 1998'den beri yasaktır. Avrupa Birliği ülkelerinde hayvan yemlerinde büyütme faktörü olarak kullanılan diğer tüm maddelerin kullanımı da 01 Ocak 2006'dan itibaren yasaklanmıştır (URL-2, 2013). Danimarka'da yapılan araştırmaların verileri büyütme faktörü kullanılmadan da büyük ölçeklerde üretim yapılabildiğini göstermiştir (Hammerum vd., 2007). Amerika Birleşik Devletleri'nde hayvan yetiştiriciliğinde bu tip büyüme hızlandırıcıların kullanılmasının yasaklanması üzerine tartışılmaktadır (URL-3, 2013). Bu yasaklamalara rağmen dünyanın bazı bölgelerinde tıbbi olarak önemli antibiyotikler halen rutin bir şekilde hem su ürünleri yetiştiriciliğinde hem de diğer alanlarda bakteriyel hastalıkların önlenmesi için profilaksik amaçlı hayvan yemlerine katılmaktadır (Smith vd., 2009; Ndi ve Barton, 2012). Stres hayvanlarda bağışıklık sisteminin işlevini düşürdüğünden dolayı antimikrobiyaller özellikle hayvanların yoğun yetiştiriciliğinde kullanışlı olarak görülmektedir (Halverson, 2000). Antimikrobiyallerin tedavi dışı amaçlı

kullanımları hayvanların bu maddelere uzun süre düşük seviyelerde maruz kalmalarına sebep olmaktadır. Bu da dirençli bakteri popülasyonlarının artmasına sebep olmaktadır (Alexander vd., 2011).

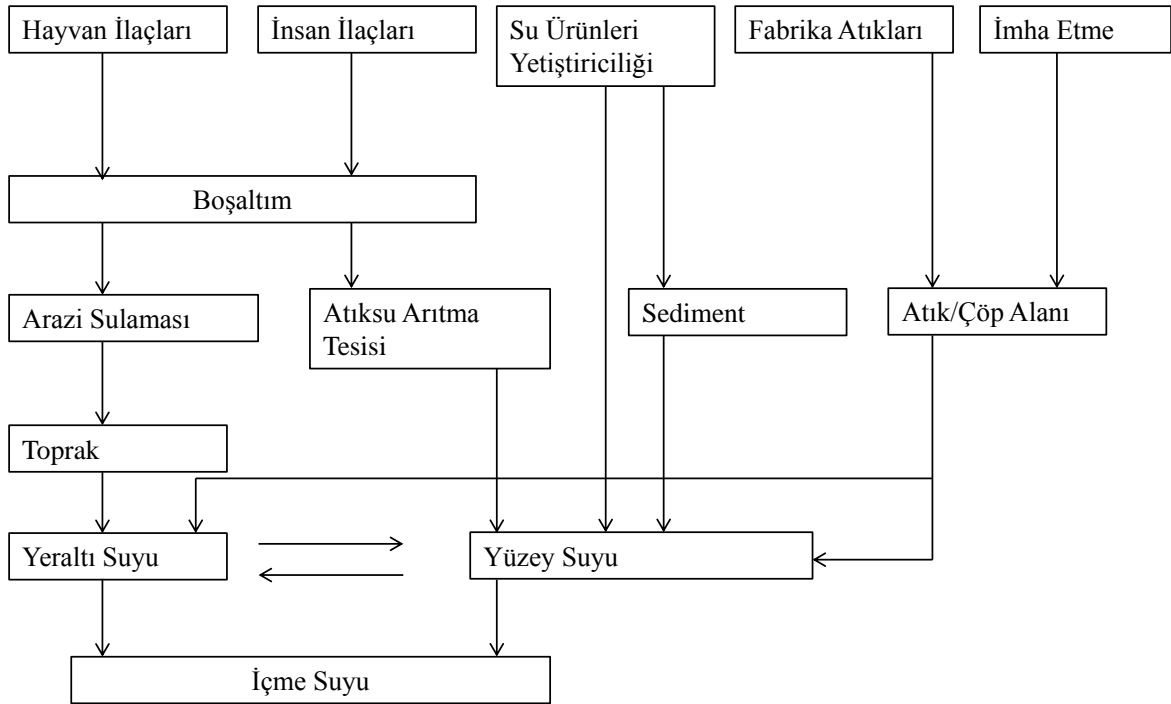
1.3. Antimikrobiyal Maddeler ve Direnç

Antimikrobiyal maddeler özellikle antibiyotikler penisilin gibi bakteri gelişimini engelleme (inhibe etme) yeteneğine sahip olan serbest yaşayan organizmalardan üretilen maddelerin keşfi ile üretilmeye başlanmıştır (Wright, 2007). Antibiyotikler düşük konsantrasyonlarda dahi mikroorganizmaları öldüren veya üremelerini engelleyen maddelerdir. Antimikrobiyal kelimesi hem mikroorganizmalar tarafından üretilen antibiyotikleri hem de sentezlenmiş bileşikler olan kemoterapotikleri kapsamaktadır. Antibiyotikler genellikle toprakta bulunan mikroorganizmalar tarafından üretilmektedir. Antibiyotik üreten bakteriler (*Bacillus* ve *Streptomyces*) ve mantarlar (*Penicillium*, *Cephalosporium*, ve *Micromonospora*) bakteriyel hastalıklarının tedavisinde ve bu hastalıkların kontrolünde kullanılmaktadırlar (Russel ve Chopra, 1996). 1920'lerde penisilin keşfinden beri birçok antimikrobiyal madde geliştirilmiştir ve bu maddeler hastalıkların tedavisinde önemli rol oynamaktadır.

Canlılarda kullanılan antibiyotikler dünya üzerinde çok büyük miktarlarda üretilip tüketilmektedir. Örneğin, Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) her sene 22.000 ton'dan daha fazla antibiyotik üretilirken (Levy, 1998) Almanya'da bu miktar 2.000 ton civarındadır (Hirsch vd., 1998). Hayvanlarda kullanılan antibiyotiklerin mekanizmaları farklılık göstermektedir. ABD'deki farmasotikle ilgili Veterinerlik Farmasotik Bilgi Monografi'na (USP, 2003) göre amoksisilin ve ampisilin hiçbir değişikliğe uğramadan vücuttan atılmaktadır. Sulfonamidler N-asetilasyon, glukorunizasyon ve hidroksilasyon ile metabolize olmaktadır. Tetrasiklinlerin ise her hangi bir şekilde metabolize olup olmadıkları bilinmemekle birlikte hayvanların dışkılarında bulunduğu belirtilmektedir.

İnsani tüketim ve boşaltımdan sonra antibiyotikler ve antibiyotik kalıntıları alıcı ortamlara karışmaktadırlar. Suni gübre olarak toplama tanklarında saklanan hayvan atıklarındaki antibiyotik kalıntıları toprağa ve daha sonra alıcı sulara karışmaktadır. Ayrıca bu kalıntılar yağışlarla birlikte yüzey sularına karışmaktadır. Hayvan üretim çiftliklerine yakın yerlerdeki yüzey ve yer altı sularının 10 µg/l ye kadar antibiyotiklerle kontamine olduğu belirtilmiştir (Campagnolo vd., 2002). Bu sistem su ürünleri yetiştiricilik

çiftliklerinde ise havuz diplerindeki sedimentlerde birikmekte ve bu sedimentlerdeki antibiyotiklerin hem yapısı bozulmakta (Lai vd., 1995) hem de yavaşça alıcı sulara karışmaktadır (Smith ve Samuelsen, 1996). Balık kuluçkahanelerinde kullanılan sularda oksitetrasiklin ve sulfadimetoksinin sırasıyla 0,17-10 µg/l ve 0,20-1,2 µg/l düzeylerinde bulunabildiği bildirilmiştir (Thurman vd., 2002). Ayrıca, antibiyotiklerin üretim faaliyetleri esnasında dahi çevre sularına karışabildiği yönünde iddialar vardır (Hirsch vd., 1999). Antibiyotiklerin sucul çevreye karışmasında olası yollar Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Antibiyotiklerin sucul çevreye karışma yolları (Ye, 2005).

Antibiyotikler temel kimyasal yapılarına göre birkaç gruba ayrılmaktadır. Bu gruplar etki mekanizmaları, antimikrobiyal spektrum ve direnç mekanizmaları bakımından birbirlerinden farklıdırlar. Antibiyotikler ayrıca metabolik mekanizmaları ve protein sentezi gibi mikrobiyolojik işlemlerine göre de farklı sınıflara ayrılmaktadır (Levy ve Marshall, 2004; Tenover, 2006; Tablo 2). Bunun sonucunda da antibiyotikler ya bakterileri öldürme ya da çoğalmalarını engelleme şeklinde etki gösterirler.

Antibiyotikler inhibe edici özelliklerinin keşfedilmesinden beri bakteriyel hastalıkların tedavisinde tüm dünyada yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalara göre günümüzde kullanılan yaklaşık 250 adet farklı antibiyotik vardır

(Kümmeer, 2009). Bu ilaçlar sentetik veya doğal özelliktedirler ve bakterileri öldürme veya bakterilerin gelişimini durdurma özelliğine sahiptirler. Buna rağmen, antibiyotik terapisine bağlı tedavilerin etkinliği antibiyotik dirençli bakterilerin yayılımından dolayı zamanla azalmaktadır (Andersson ve Levin, 1999).

Antibiyotik kullanımından kaynaklanan seçici baskı özelliği duyarlı organizmaları öldürürken dirençlilerin direncini, sayısını ve oranını daha da arttırmaktadır. Bakteriler kalıtsal olarak antibiyotiklere karşı toleranslı olabilirler ya da dışarıdan kendilerine direnç genleri edinebilirler. Bakteriler arasında yoğun gen alışverişi, fırsatçı patojenlerin direnç mekanizması edinmesinde ve dirençli olduğu çevrede meydana gelmektedir (Hernandes Coutinho vd., 2013).

Bakteriler arasında antibiyotik direncinin yayılışı bilim adamlarının antibiyotik dirençli bakterileri ve antibiyotik direnç genleri ile çalışma yapmalarına sebep olmuştur (Pruden vd., 2006; Wright, 2010). Bu durum diğer kirleticilere oranla çevrede var olma, yayılma ve çoğalma gibi özelliklerinden dolayı daha özel bir öneme sahiptirler (Pruden vd., 2006). İnsan nüfusu sucul çevreye bağımlı olduğu için bu ortamlarda antibiyotik dirençli bakteriler ve antibiyotik direnç genlerinin yayılması insan sağlığı açısından ciddi tehditler oluşturmaktadır (Jalal vd., 2012). Bu bağlamda antibiyotik direnci sadece tıbbi sorun olarak değil aynı zamanda ekolojik bir sorun olarak da karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle bu tür araştırmalarda dirençli organizmaların gelişimi ve ekolojisinin de bilinmesi gerekmektedir (Martínez, 2012).

Antibiyotikler geniş bir şekilde kullanılmalarına rağmen antibiyotiklerin etkinlikleri zamanla azalmaktadır (WHO, 2000). Bunun sebebi antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin yayılması ve bu yayılan bakterilerin antibiyotiklerin toksik konsantrasyonlarında bile devamlı çoğalma yeteneğine sahip olmalarıdır. Antibiyotik dirençli bakteriler milyonlarca canlıların 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).

Tablo 2. Antibiyotik sınıfları, etki ve 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	Penisilin, Sztreonam, Sefotaksim	Hücre Duvarı Sentezinin Engellenmesi	Enzimatik İnaktivasyon, Hedef Şaşırtma	Walsh, 2000; Ahmed, 2012
Glikopeptitler	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, Mutasyonlar	Tenover, 2006; Fischer vd., 2011; Palmer vd., 2011
Aminoasit Türevleri	Polimiksin B	Hücre Zarı Geçirgenliği Bozma	Hücre Zarı Modifikasyonu	Moore ve Hancock, 1986; Tenover, 2006; Fu vd., 2011

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 25.000 olarak kayıtlara geçmiştir (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). Bu bakterilerin sebep olduğu hastalıkların tedavileri için daha fazla laboratuvar araştırmaları ve bol miktarda ve pahalı ilaçlar gerekmektedir. Bu durum gelişmekte olan ülkeler için çok masraflı olmaktadır (McGowan, 2006).

Bakterilerdeki direnç mekanizmaları antibiyotik aktivitesini engelleyici özellikte proteinler kullanılarak enzim aktivasyonunun bozulması, hedef bölgedeki mutasyonlar, sitoplazmadan antibiyotikleri atma yeteneğine sahip olan iç zar proteinleri (dışa pompalama, efflux pump) dir. Asıl direnç hedef bölgenin olmayışı ya da hücre duvarı veya hücre zarını geçebilecek antibiyotik yetersizliğinden dolayı meydana gelmektedir (Allen vd., 2010; Wright, 2010).

Farmosotik endüstrisi sıkı kurallar ile çalışmasına rağmen bazı drenajlardan kaçınmak mümkün olmamaktadır. Bu atıklar sucul ortama atık su boşaltım tesislerinden direkt olarak karışmaktadır. Madikal endüstrisinde ise hastanelerde, evlerde ve yetiştiricilik işletmelerinde kullanılan ilaçlar sonunda çevreye bazı form ve konsantrasyonlarda karışmaktadır. Burada dikkat edilmesi gereken husus su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan antimikrobiyal maddelerin yemlerde bulunan maddelerle direkt olarak suya karışması ve devamında da sediment ve sucul ortama karışmasıdır.

Dirençli bakteriler kirlenmiş ve kirlenmemiş tatlı su ortamlarında çeşitli seviyelerde rapor edilmiştir. Ayrıca dirençli bakterilerin kirlenmiş ortamlarda kirlenmemiş ortamlara oranla daha fazla bulunduğu rapor edilirken (Baya vd., 1986; Guardabassi vd., 1998) bu durumun tersi de bildirilmiştir (Jones, 1986; Miranda ve Castillo, 1998). Miranda ve Castillo (1998) Şili'de disk difüzyon yöntemi kullanarak tatlı sulardaki bakterilerde yapmış oldukları araştırmada motil *Aeromonas* spp.'nin çeşitli antimikrobiyal maddelere direncini belirlemişlerdir. En yüksek sayıdaki tetrasiklin dirençli *Aeromonas* spp.'ye az kirlenmiş sularda (%14,3) rastlanırken, orta kirlenmiş sularda %10 tetrasiklin dirençli ve aşırı kirlenmiş sularda ise %8,9 oranında dirence rastlandığını rapor etmişlerdir. Aşırı kirli sulara kıyasla orta kirlenmiş sularda bu duruma aynı şekilde eritromisin için de rastlanmıştır (Miranda ve Castillo, 1998).

Antimikrobiyal maddelerin üretimden kaldırıldığı zaman antimikrobiyal direncin olup olmayacağı konusunda direnç plazmiti taşımanın enerji gerektirdiği ve bunun sonucunda da bakteri ortamda antibiyotik bulunmadığında enerjisini korumak için bu plazmidi kayıp edebileceği belirtilmektedir (Bruun, 2001). Griffiths vd. (1990) ortamdaki olumsuzluklara rağmen bakterilerin direnç plazmitlerini taşımaya devam ettiklerini ve uzun süre besinsiz kaldığında antibiyotik direncini serbest bırakacağını bildirmişlerdir. Bakterilerde antimikrobiyal maddelerin etkilerini kaldırmak için gerekli olan enzimlerin besinsizlik esnasında ya yok olduğunu ya da aktifliğini kaybettiğini ifade ederek tekrar besinli ortama geldiklerinde direncin geri şekillendiğini bildirmişlerdir.

1.4. Bakterilerde Antibiyotik Direncinin Gelişimi

Bakteriler diğer canlılara kıyasla daha kısa hayat döngüsüne sahiptirler. Bu özellik bakterilerin yeni ortamlara uyum sağlamalarına ve bu ortamlarda hızla çoğalmalarına sebep olmaktadır. Ayrıca, ilk önce hassas olan bakteriler mutasyonla veya direnç genleri edinerek dirençli hale gelebilmektedirler. Ortamda antibiyotik bulunduğu mikrobiyal popülasyonlar arasında direnç özelliklerinin yayılması çok hızlı olmaktadır (Zhang vd., 2011). Bakteriye gelişimde bu karakteristik özellikler çoğul dirençli hastalık yapan bakteri suşlarının hızlı gelişimine katkıda bulunmaktadır (Jalal vd., 2012). Bu yüzden, yeni bir antibiyotik geliştirilip kullanıma başlandığında bu antibiyotiğin doğal dirençli mikroorganizmalarla karşı karşıya gelmesi uzun sürmemektedir (D'Costa vd., 2006; 2011).

Direncin yayılması insan nüfusunun ve buna bağlı olarak antibiyotik kullanımının artışı ile hızlanmaktadır. Bu antibiyotikler ne kadar fazla tüketilirse, bakteri topluluğuna etkisi o kadar fazla olmaktadır. Bunun sonucunda, direnç mutasyonları gelişmeye başlayıp bakteriler arasında bu direncin devamlı artışı söz konusu olmaktadır. Bu seçici baskı durumu hastaneler ve balık çiftlikleri gibi ortamlardaki bakteriler antibiyotiklere maruz kaldıklarında oluşmaktadır.

Çok hücreli organizmalar antibiyotik etkisine maruz kaldıklarında yaşadıkları toplulukta büyük değişiklikler meydana gelmektedir. Bu süreçte mikrobiyal çeşitlilik sayısında azalma meydana gelmektedir (Dethlefsen vd., 2008). Sonuç olarak, az miktarda organizmaya sahip olan taksonlar elemine edilebilmektedir (Jernberg vd., 2007). Buna rağmen, toplam bakteri miktarındaki direncin zamanla çeşitlenmesi de meydana gelmektedir (Dethlefsen vd., 2008). Diğer bir sonuç ise antibiyotiklere maruz kalan ve

miktarı fazla olan antibiyotik dirençli bakterilerin sayılarının artmasıdır (Jernberg vd., 2007).

1.5. Antibiyotik Direncinin Yayılmasında Kirliliğin Rolü

Su kaynaklarına yetiştiricilik yapılan işletmeler, diğer tarımsal ve antropojenik faaliyetlerde antibiyotiklerin aşırı ve düzensiz kullanımları sonucu antibiyotiğe dirençli bakteriler (Al-Jebouri, 1985; Col ve O'Connor, 1987; Du Pont ve Steele, 1987) ve antibiyotikler (Halling-Sørensen vd., 1998) çeşitli miktarlarda karışmaktadırlar. Antimikrobiyal maddeler bu çevrelerde yaşayan bakteri popülasyonları üzerinde seçici bir baskı oluşturmaktadır. Bakteriler bu baskıdan kendilerini korumak için çevrelerinden yeni antibiyotik direnç genlerini ve virulans faktörlerini kazanmak zorunda kalmaktadırlar. Plazmit ve konjugatif transpozon gibi hareketli genetik elemanlar yakın ve akraba bakteri türleri arasında kolayca paylaşılmaktadır (Davidson, 1999).

Çevre bakterilerin insan ve hayvan orjinli ve yatay olarak gen transferi yapan bakterilerle etkileşim içinde olduğu gen değişim bölgelerindedir. Fırsatçı patojenler genelde büyük ve genetik materyalini paylaşabilen çok yönlü genomlara sahiptirler. Bu özellik bu patojenlerin çevrede daha fazla miktarlarda koloni oluşturmalarını sağlamaktadır. Sonuç olarak, dirençli bakteri ile kirlenen sucul ekosistemler sağlık açısından tehlikeli olabilmektedir (Baquero vd., 2008).

Bakterilerin yeni bir ortama adapte olmaları ve yeni seçici baskılara cevap verebilme yetenekleri yatay transfer ile açıklanabilir. Yatay transfer mutasyonla uyum sağlamaktan daha hızlı meydana gelmektedir (Lawrence, 1997). Örneğin antibiyotik direnç genlerinin yayılması çevrede bulunan bu antibiyotiklerin miktarlarındaki artıştan dolayı oluşan seçici baskıdan dolayı bakteriler arasında yatay gen transferleri meydana gelmektedir (Salyers ve Shoemaker, 1996). Benzer şekilde patojenite adaları denilen hastalık havuzları da *Salmonella typhimurium*, *Yersinia pestis*, *Dichelobacter nodosis*, *Helicobacter pilori* ve *Escherichia coli* gibi bakterilerin daha önceleri edinmiş oldukları virülens genlerini taşıyan büyük DNA parçalarıdır (Hacker vd., 1997).

E. coli suşları arasındaki gen rekombinasyonu tanımlandığı 1946 yılından itibaren (Lederberg ve Tatum, 1946), DNA'nın transferi, alımı ve entegrasyonu detaylı olarak araştırılmaktadır. Bakterilerdeki gen transferinin 3 farklı mekanizma ile meydana geldiği belirlenmiştir. Bunlar; transformasyon, transdüksiyon ve konjugasyondur.

Transformasyon, çift sarmal DNA parçalarının kompetent bakteri hücre tarafından alınması işlemidir. Yeni DNA bakteriyel kromozomun içine yerleşip ve sonrasında alıcı hücre ile kendisini yenileyebilir. Transdüksiyon ise enfeksiyon aşamasında verici DNA gen aktarıcı bakteriyofaja girdiğinde ve alıcı hücreye enjekte edildiğinde transdüksiyon olmaktadır. Konjugasyon vericideki plazmitin alıcıya aktarılması ile meydana gelir. DNA transfer yöntemleri bakteriyel moleküler genetiği anlamamıza katkı sağlamakta ve genetik mühendisliği teknolojisinin gelişiminde önemli faktör olarak karşımıza çıkmaktadır.

DNA'nın transferi Gram negatif bakterilerde seks pilileri ile olmaktadır. Bu transfer Gram pozitif bakterilerde direkt temas ile meydana gelmektedir. Konjugatif plazmitler konjugasyon için gerekli olan tüm özellikleri kodlayan transfer operonlarını (*tra*) taşımaktadırlar.

Direnç genlerinin yayılması transpozon ve integron gibi diğer genetik elemanlarla da kolaylaşmaktadır (Hall ve Collis, 1995). Transpozonlar tek bir bakterinin plazmidinde ve kromozomunda bir yerden bir yere yer değiştirebilen genetik elemanlardır. En basit transpozonlar kendi yer değişikliği için gerekli olan genetik bilgiyi içeren insersiyon sekanslardır (Mahillon vd., 1999). Büyük olanlar (kompozit transpozonlar) farklı genleri içerebilir ve konjugatif olabilirler. Bu yüzden bakteriler arasında yatay olarak transfer olurlar ve antimikrobiyal dirence katkı sağlarlar.

İntegronlar ise plazmit ve kromozomlarda yer değiştirme kabiliyetine sahip değillerdir. Fakat bir veya daha fazla direnç genini içeren gen kasetlerini barındırırlar. İntegronlar yeni edinilmiş yabancı bir gen kasetini bakteriyel kromozom veya plazmid DNA'ya bütünleştirebilir. İntegronlarda kırktan fazla antibiyotik direnç geni varlığı tespit edilmiştir (Hall ve Collis, 1995; Rowe-Magnus vd., 2001).

Gen değişimine her bir mekanizmanın katkısı ve sucul çevrede yayılması halen bir sorun olarak görülmektedir. Transformasyon olayı doğal çevrede ekzonükleazların bozunmalarından dolayı zor bulduklarından daha az meydana gelmektedir. Buna rağmen DNA halka formunda uzun süre bozulmadan kalabilir ve kompetan hücreler tarafından alınabilmektedir (Miller, 1998). Ayrıca, sucul çevreden izole edilen çoğu bakteri doğal olarak kompetandır. Çevredeki gen transferinin bir diğer mekanizması olan transdüksiyon transformasyondan daha avantajlıdır. Çünkü DNA bakteriyofaj içerisinde korunmaktadır. Ayrıca, tatlı ve deniz sularındaki bakteriyofajlar 10^{11} adet/ml konsantrasyonlarına kadar ulaşabilmektedir (Miller, 1998).

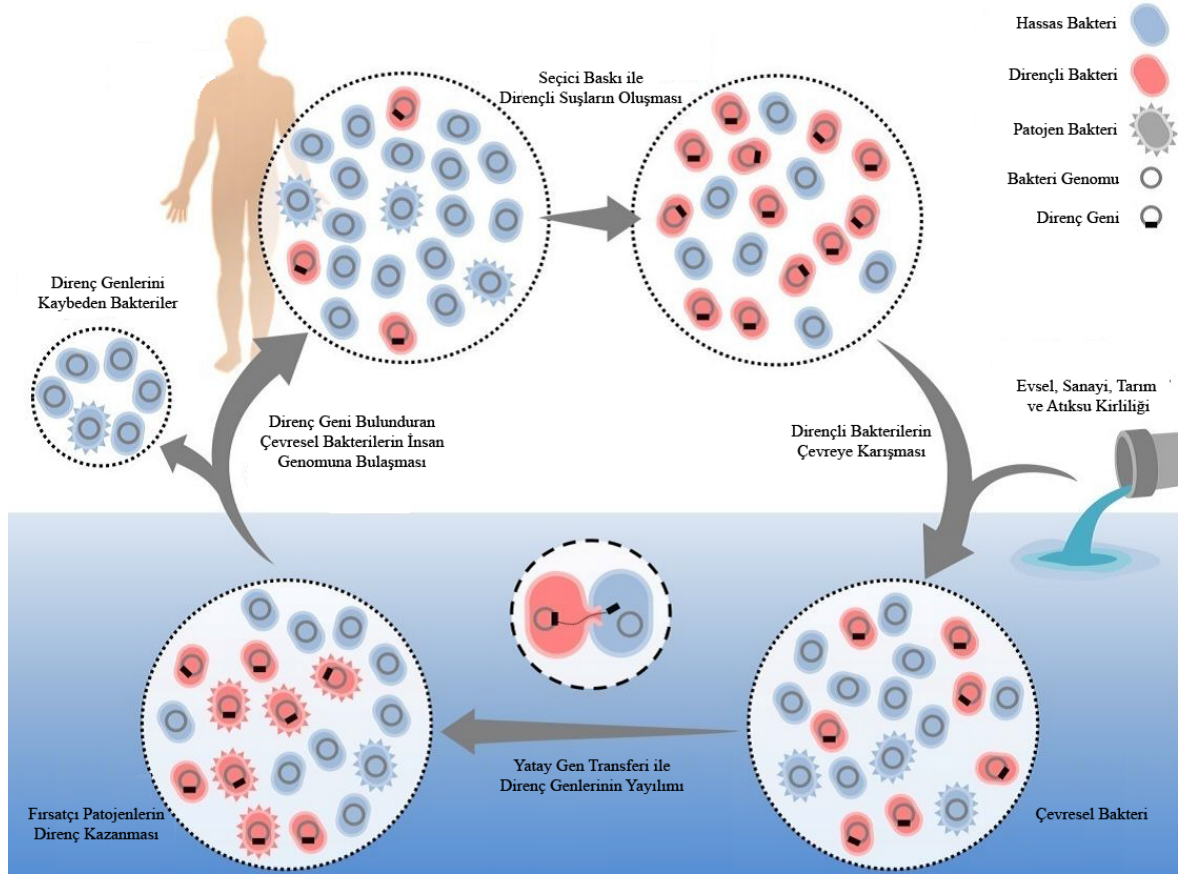
Çevredeki bakterilerde antibiyotik direnç genlerin yayılmasında konjugasyonun rolü önemli boyutlardadır. Gen verici DNA'nın bozulması ve tanımlanmasına imkan veren restriksiyon ve modifikasyon sistemleri ve aynı hücredeki iki plazmit arasında rekabet gibi hücre içi bariyerler transferi korumada rol almaktadırlar (Trevors vd., 1987). Bakteriler arasındaki plazmit aktarımı nehir suları (Bruun vd., 2003), göl suları (O'Morchoe vd., 1988), atık su çıkışları (Altherr ve Kasweck, 1982), deniz suyu (Dahlberg vd., 1998), deniz sedimenti (Sandaa vd., 1992) ve toprakta (Pukall vd., 1996) gerçekleşmektedir.

Gen transferi çevresel ve patojen bakteriler arasında meydana gelmektedir. Hatta filogenetik olarak ayrı olan Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler arasında bile olabilmektedir (Courvalin, 1994). Bakterinin kromozomunda antibiyotik direnç geni kodlanmamış olduğu zaman bunu mobil genetik elemanlarla (plazmit, transpozon veya integron) transfer edebilmektedir (Sommer ve Dantas, 2011). Bunun sonucunda, antibiyotik direnci çevredeki bakterilerde bu genetik elemanlardan birisinin edinilmesi sonucunda bakteri direnç kazanabilmektedir (Martínez, 2009; Şekil 2). Ayrıca, fajlar da direncin yayılmasında önemli rol oynamaktadırlar. Bu virüsler sucul ekosistemde bol miktarlarda bulunmaktadır ve hem kirlenmiş sucul habitatlarda hem de el değmemiş bölgelerde antibiyotik direnç genlerini taşıdıkları bildirilmiştir (Colomer-Lluch vd., 2011).

Dirençli bakterilerin yayılması ve sayılarının artmasında kirliliğin rolü tamamıyla anlaşılabilmiş değildir. Bununla beraber, yapılan çalışmalar kirliliğin sucul çevredeki antibiyotik dirençli bakterilerin yayılımını arttırmaktadır (Şekil 2). Bu ortamlarda karasal kaynaklardan boşaltılan atık sular dirençli bakteri çeşitliliğini etkilemektedir (Vignesh vd., 2012). Ayrıca bu etkiler kirlenmiş habitatlardaki antibiyotik direnç genlerinin bolluğunun artmasıyla su kaynaklarının antibiyotik direnç geni bakımından bir havuz olmasına neden olmaktadır (Tacão vd., 2012). Yapılan klinik çalışmalarda belirtildiği gibi hastanelerde dirençli bakteriler bol miktarda ve sayıları da devamlı olarak artmaktadır. Bu yüzden hastane atıklarının hem direnç geni (Schwartz vd., 2003) hem de dirençli bakteri bakımından zengin olduğu bildirilmiştir (Santoro vd., 2012).

Çiftçiler çiftliklerde yetiştirdikleri hayvanlarda büyümeyi hızlandırmak, hastalık öncesi profilaktik hem de hastalık sonrası terapötik amaçlı olarak yüksek dozlarda antibiyotik kullanmaktadırlar. Bu maddelere maruz bırakılan hayvanlar diğer bir taraftan dirençli bakterilerle yüz yüze gelmektedirler (Pruden vd., 2006). Çok hücreli canlılar bünyelerinde bulunan mikroorganizmaları çevresindekilerle değiştirmek zorunda

kalmaktadır. Bundan dolayı, insanlar ve hayvanlar da antibiyotik dirençli bakterilerin yayılmasında etkin rol oynamaktadırlar (Allen vd., 2010).



Şekil 2. Sucul çevre, dirençli bakteri ve kirlilik arasındaki ilişki (Hernandes Coutinho vd., 2013).

Antibiyotik direnci ağır metal direnç geni taşıyan aynı mobil genetik elemanlarda kodlanmıştır. Bu genler ağır metallerin var olduğu durumlarda seçilmişlerdir. Onlarla birlikte antibiyotik direnç genleri de seçilmişlerdir. Bu durum antibiyotikler tarafından seçici baskı olmadığı durumlarda bile olabilmektedir. Metaller çevrede uzun süre kaldıklarından dolayı antibiyotik direnç genlerinin seleksiyonunda etkin rol oynamaktadırlar (Martínez vd., 2009). Ayrıca, su ve rüzgar gibi doğal güçler de genomlarında antibiyotik direnç geni bulunan mikroorganizmaları farklı bölgelere götürerek o bölgelere bulaşmalarına neden olmaktadır.

1.6. Antibiyotik Direnç Genleri

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 bölgeler bile direnç havuzlarının olduğu bildirilmektedir (Martínez, 2009; Bhullar vd., 2012).

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 bulundurabilir (Wright, 2007).

Direnç genleri çok yüksek konsantrasyonlardaki antibiyotiklere karşı hassas ama genellikle çoğul dirençli olan çevresel bakterilerde oldukça fazladır ve yayılma özelliğine sahiptirler (Bhullar vd., 2012). *E. coli*'nin tüm genomu yaklaşık 600 protein kodlamaktadır. Bu proteinler küçük moleküllerin dışarı atılmasında görev yapmaktadır. Bu küçük moleküller toksik bileşenlerin atılmasıyla ilişkilidir.

Antibiyotikler sucul çevrede bakterilerin üremesini engelleyen konsantrasyonlara kadar ulaşmakta ve fotoliz, termoliz ve enzim aktivitesinin bozulması gibi çeşitli mekanizmalara maruz kalmaktadır. Bu yüzden, çevredeki antibiyotiklerin varlığı mikrobiyal topluluk oluşturan bakterilerde öldürücü etkilere sebep olmaktadır. Antibiyotikler bakterilerin üremesini engelleyen konsantrasyonlardan daha düşük seviyelerde olduğu zaman bu toplulukların transkripsiyon yapmasını engellemektedir (Yim vd., 2006; Goh vd., 2002). Dirençli bakteriler çoğalma ve direnç genlerini yayma özelliğine sahiptirler (Kruse ve Sörum, 1994). Bu yüzden antibiyotiklerin oluşturduğu çevre kirliliğinin yerine bu organizmaların yayılması direncin yayılmasına sebep olan en önemli faktördür.

Araştırmalarda, antibiyotik dirençli bakteriler ve onların direnç genleri belirlenmesine rağmen hangi bakterinin ne kadar direnç yaydığı hakkında bilgiler sınırlıdır.

Ayrıca, yeni direnç mekanizmaları hakkında da yeteri kadar araştırma bulunmamaktadır. Direnç özelliklerinin yayılması ile ilgili araştırmaları açığa çıkarmak için daha kapsamlı stratejilerin geliştirilmesi için bu alanlarda ilerlenmesi bildirilmektedir (Allen vd., 2010; Bush vd., 2011).

1.7. Çevresel Antibiyotik Direnç Genleri (ADG) Tipleri

Canlılarda kullanılan antibiyotikler sucul ortamlarda yüzlerce antibiyotik direnç genlerinin oluşmasına sebep olmuştur. Farklı antibiyotik sınıfları için farklı direnç genlerinin varlığı yapılan çalışmalarla bildirilmektedir.

1.7.1. Tetrasiklin Dirençli ADG

Tetrasiklin dirençli bakteriler ortama tetrasiklinin girmesiyle ortaya çıkmaya başlamıştır (Dancer vd., 1997). En az 38 farklı tetrasiklin direnç geni (*tet*) ve 3 farklı oksitetrasiklin direnç geninin (*otr*) varlığı rapor edilmiştir (Roberts, 2005; Thompson vd., 2007). Bu *tet* genlerin 23 tanesi efluks proteinlerini (aktif pompa mekanizması), 11 tanesi ribozomal koruma proteinlerini (hedef modifikasyon mekanizması), 4 tanesi enzim aktifliğini bozucu mekanizmalar içermektedirler (Levy vd., 1999; Roberts, 2005). Bunlar arasında sucul ortamdaki bakteriyel izolatlarda 22'den fazla *tet* veya *otr* genleri bulunmuştur. Çoğu çevresel *tet* geni antibiyotikleri bakteri hücrelerinin dışına pompalayan geçiş proteinlerini kodlar ve ribozomların görevlerini normal olarak yapması için hücreler arası konsantrasyonu düşük tutar (Roberts, 2005). *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD* ve *tetE* genleri genellikle atık su işleme fabrikalarının çamurları da dahil çeşitli çevrelerde (Guillaume vd., 2000), balık üretim çiftliklerinde (Balta vd., 2010), yüzey sularında (Poppe vd., 2006) ve deniz kafeslerinde yetiştiricilik yapılan balıklarda (Boran vd., 2013) görülmektedir. Son zamanlarda, *tetM*, *tetO*, *tetS*, *tetQ* ve *tetW* genlerini içeren tetrasiklin direnç genleri atık su işleme sistemlerinin mikrobiyal bileşiklerinde, hastane veya hayvan üretim çiftliklerinin atık sularında (Kim vd., 2007; Nonaka vd., 2007) ve doğal su kaynaklarında belirlenmiştir (Mackie vd., 2006).

Çoğu *tet* geni kromozomlarda tamamlanmamış transpozonlarda veya mobil olmayan plazmitlerde bulunmaktadır (Roberts, 2005). Fakat efluks enzimleri (*tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetE*,

tetH, *tetY*, *tetZ* ve *tet33*) ve ribozomal koruma proteinleri (*tetM* ve *tetO*) kodlayan bazı genler hala geniş konakçı aralığındadır ve Gr (-) ve Gr (+) türler içeren bir kaç çevresel türde bulunmaktadır. *tetE*'nin balık çiftliği havuz sularından izole edilen *Aeromonas* spp.'nin yatay transfer edilebilir büyük plazmitlerinde yerleştiği ve bu genin *E. coli*'ye türler arası transfer edilebilme yeteneğine sahip olduğu tespit edildiği bildirilmiştir (Agersø ve Petersen, 2007). Ayrıca *tetA*, *tetD* ve *tetM* genleri çevresel mikroorganizmalardan tetrasiklin ADG'nin sebep olduğu potansiyel çevresel zararları belirleyen insan, domuz ve tavuktan izole edilen *E. coli*'ye oksitetrasiklin direnç plazmiti tarafından yatay olarak transfer edilebildiği bildirilmiştir (Akinbowale vd., 2007a)

1.7.2. Aminoglikozit Dirençli ADG

Aminoglikozit direncinin en büyük mekanizması tetrasiklin direnç mekanizmasından farklı olarak bu tip antibiyotiklerin bakteriler tarafından enzimatik modifikasyonla direkt olarak aktifliğinin bozulmasıyla meydana gelmektedir (Shakil vd., 2008). Aminoglikozit direnci ile ilgili yapılan çalışmalarda 50'den fazla modifikasyon enziminin tespit edildiği bildirilmektedir (Ramón-García vd., 2006). Bu enzimler asetiltransferaz (*aac-aadA*), fosfotransferaz (*aph*) ve nükleotidiltransferaz (*ant*)'dır. Farklı aminoglikozit modifiye edici enzimler farklı bakteri türlerinden de tespit edildiği rapor edilmiştir (Filipova vd., 2006; Chandrakanth vd., 2008).

1.7.3. Makrolit-Linkosamit-Streptogramin, Kloramfenikol ve Vankomisin Dirençli ADG

Yapı olarak birbirleriyle ilişkili olmamalarına rağmen makrolit, linkosamit ve streptogramin mikrobiyal direnç için anlık olarak sık sık araştırılmaktadır. Çünkü bazı makrolid direnç genleri (*erm*, *cmlA*) bu bileşiklerin 2 veya 3 üne karşı dirençlidirler (Roberts vd., 1999). Toplam olarak 60'tan fazla farklı gen bir veya daha fazla makrolit-linkosamit-streptogramin antibiyotiklerine karşı direnç sergilediği rapor edilmiştir (Roberts, 2008). *Erm* genleri bir konakçıdan diğerine kolaylıkla transfer olabilir. Çünkü bu genler genellikle plazmit (Liu vd., 2007) ve transposonlar (Okitsu vd., 2005) gibi mobil elementlerle ilişkilidirler ve bu mobil elementlere gereksinim duymaktadırlar.

1.7.4. Sulfonamid Dirençli ADG

Sulfonamidler klinik kullanımda ilk olarak geliştirilen büyük ölçekli antibiyotikler olup dihidropteroat sentezini (DHPS) hedef almaktadırlar. Bakterilerde sulfonamid antibiyotiklerine karşı direnç DHPS (*sul*) genlerinin korunmuş bölgelerine yerleşmiş mutasyonlar tarafından olmaktadır (Sköld, 2001). Çevresel bakterilerle ilgili yapılan araştırmalarda bakterilerde genellikle *sul1*, *sul2* ve *sul3* genlerinin daha fazla bulunduğu bildirilmektedir (Phuong Hoa vd., 2008; Boran vd., 2013).

1.7.5. Beta-Laktam Dirençli ADG

Beta-laktamlar çoğu hastalığın tedavisinde geniş bir şekilde kullanılmaktadır (Livermore, 1996). Beta-laktam direncinin mekanizması antibiyotiklerin hedef enzimlere giremeyişi, hedef enzimlerin modifikasyonu ve beta-laktamaz enzimlerinin antibiyotiğin aktifliğini bozmasıyla olmaktadır (Walsh, 2000; Li vd., 2007). Gr(-) bakterilerde ilk direnç mekanizması enzimatik aktivasyonun bozulmasıyla olmaktadır. 400'den fazla β -laktamaz enzimi ve *bla* olarak kodlanan yüzlerce ADG tanımlanmıştır (Mendez vd., 1980).

1.8. Önceki Çalışmalar

Nehir, göl ve deniz gibi suların kalitelerindeki düşüklük bakteri çeşitliliği açısından çok önemlidir. Bu ortamlardaki kirlilik oranının artması o suların bulunduğu çevreyi de olumsuz etkilemektedir. Sucul ortamlardaki kirlenmeler, 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 alanlardada 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 büyümetedir.

Obiri-Danso ve Jones (1999) İngiltere'nin kuzeyinde bulunan Lune Nehri'nde iki yıl boyunca fekal indikatör bakteri sayılarını araştırmışlar ve bu sayıların mevsimsel bir değişiklik göstermediğini ayrıca yağışlı ve yağışsız mevsimlerde dahi önemli farklılık bulunmadığını bildirmişlerdir. Durgun yerlerdeki sedimentteki fekal bakteri yükünün hızlı su akışının olduğu yerlere göre daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca yerleşim yerlerine yakın olan yerlerde fekal koliform bakterilerin sayılarının daha fazla olduğunu da tespit etmişlerdir.

Ürdün Nehri'nde yapılan bir çalışmada (Hadas vd., 2000) fekal koliform bakterilerin dağılımı araştırılmış ve nehir suyu ve sediment örneklerinde fekal koliform miktarı 481 kob/100ml ve 2800 kob/100ml olarak belirlenmiştir. Su örneklerindeki bakteri sayısının sediment örneklerinden daha az olmasının sebebini bakterilerin küçük partiküllere yapışarak sedimentte birikmesi şeklinde olduğunu bildirmişlerdir.

Karagul vd. (2005) Düzce'de Büyük Melen Çayı havzasında yürütmüş oldukları çalışmada havzadaki derelerin (Küçük Melen, Asarsuyu, Uğursuyu, Büyük Melen ve Aksu) bazı su kalite parametrelerinin mevsimsel değişimi araştırılmıştır. Araştırmacılar biyokimyasal oksijen ihtiyacı, fekal koliform ve toplam koliform miktarlarında hem mevsimsel olarak hem de dereler arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Sevim (2005) Trabzon'daki derelerden almış olduğu su örneklerinde fekal koliform miktarını belirlemiştir. Toplam 120 dere suyu örneğinin 119 tanesinde toplam koliform miktarını 1100 EMS/100 ml'den fazla ve sadece bir örnekte 240 EMS/100ml olarak belirlemiştir. Alınan su numunelerinden *Enterobacteriaceae* üyesi toplam 184 suş izole etmiştir. İzole edilen bakterileri 12 farklı antibiyotiğe karşı test etmiş ve hepsinin en az bir antibiyotiğe karşı direnç gösterdiğini tespit etmiştir. Bakterilerin en fazla ampisiline (%73) karşı direnç gösterdiğini ve bunu sırasıyla streptomisin (%52), neomisin (%48) ve gentamisin (%43) takip ettiğini saptamıştır. Dere sularındaki kirlenmenin yüksek olduğunu ve suşların %68'inde çoğul antibiyotik direnci olduğunu rapor etmiştir.

Altuğ vd. (2006) Sapanca Gölü'nde göl suyunun bakteriyolojik kirlilik seviyesini belirlemek için yapmış oldukları çalışmada Sapanca Gölü'nün batı tarafında en yüksek toplam koliform miktarı 24×10^3 EMS/100 ml olduğunu ve bu kısma kanalizasyon suyunun karıştığını belirlemişlerdir. Sapanca Gölü'nde yürütülen bir başka çalışmada (Yardımcı, 2009) gölün bakteriyolojik kirlilik düzeyi ve *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerde antibiyotik dirençliliği araştırılmış ve göl suyunda toplam ve fekal koliform miktarının

24×10^3 seviyelerinde olduğu tespit edilmiştir. *Enterobacteriaceae* üyesi toplam 146 bakteri izole edilmiş ve izole edilen bakterilerde en yüksek direncin %67,2 oranında ampisiline karşı olduğu ve bunu da %63,01 ile cefuroksimin takip ettiği bildirilmiştir.

Toroglu ve Toroglu (2009) Adıyaman'daki Gölbaşı Gölü'nün mikrobiyal kirliliğini ve izole ettikleri *E. coli* izolatlarındaki antibiyotik direncini araştırdıkları çalışmada toplam aerobik bakteri sayısını 20×10^3 kob/ml olarak belirlemişler ve fekal koliform miktarının da 1100 EMS/100 ml'den daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. İzole edilen 13 adet *E.coli* izolatları 12 farklı antibiyotiğe karşı test edilmiş ve bakterilerin hiç birisi 12 antibiyotiğin hepsine birden duyarlı olmadıklarını bildirmişlerdir. Tüm bakteriler penisiline karşı dirençli iken bakterilerin dirençli oldukları antibiyotik sayıları 2-5 arasında değişiklik gösterdiğini belirlemişlerdir.

Hacıoglu ve Dulger (2009) Çanakkale'deki Biga Nehri'nin fizikokimyasal ve mikrobiyolojik yönünden kalitesini araştırdıkları çalışmada su sıcaklığı ve çözülmüş oksijeni sırasıyla $15,5 \pm 0,2$ °C ve $8,33 \pm 0,25$ mg/l olarak belirlerken, biyokimyasal oksijen ihtiyacı (BOİ₅) ve pH değerleri de sırasıyla $136,6 \pm 2,51$ mg/l ve $7,5 \pm 0,04$ olarak tespit edilmiştir. Dere suyundaki toplam koliform ve fekal koliform bakteri düzeyleri 39.381 ± 7.952 ve 42.500 ± 7072 EMS/100 ml olarak hesaplanmıştır. Dere suyunun kalitesi 1, 2 ve 3. istasyonlarda biyokimyasal oksijen ihtiyacı ve fekal koliform açısından 4. sınıf su kalitesine sahip olduğu, toplam koliform bakteri açısından 3. sınıf su kalitesine sahip olduğu bildirilmiştir. Bundan dolayı dere suyunun hastalıkları taşıması bakımından büyük risk oluşturduğunu da rapor etmişlerdir.

Çanakkale'deki Sarıçay Deresi'nde yapılan bir araştırmada (Hacıoglu ve Dulger, 2010) dere suyunun fizikokimyasal ve mikrobiyolojik parametreleri yönünden kalitesi araştırılmıştır. Dere suyunun ortalama su sıcaklığı ve çözülmüş oksijeni sırasıyla $17,7 \pm 0,2$ °C ve $7,17 \pm 0,65$ mg/l olarak ölçülmüştür. Biyokimyasal oksijen ihtiyacı (BOİ₅), ve pH değerleri de sırasıyla $170,4 \pm 50,3$ mg/l ve $7,7 \pm 0,03$ olarak tespit edilmiştir. Bu fizikokimyasal parametrelerin yanında mikrobiyolojik parametrelerden toplam koliform ve fekal koliform miktarları da sırasıyla 46461 ± 10311 ve 33103 ± 5863 EMS/100ml olarak belirlenmiştir.

Sakarya Nehri'nin Karadeniz'e döküldüğü yer olan Karasu alanında yapılan bir çalışmada (Çiftçi vd., 2011) en yüksek toplam koliform değeri 28×10^{12} CFU/100 ml ve en yüksek fekal koliform değeri ise 14×10^{12} CFU/100 ml olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu alanda indikatör bakteri düzeylerinin ulusal ve uluslararası limit

değerlerinin üzerinde olduğunu ve bu durumun Karadeniz'in bakteriyel kirliliğini etkilediğini bildirmişlerdir.

Kacar (2011) Ege Denizi'ne dökülen nehirlerde (Meriç, Bakırçay, Gediz, Büyük Menderes ve Küçük Menderes) fekal kirlenmeyi araştırdığı çalışmada minimum fekal indikatör bakteri sayısını ilk bahar ve sonbaharda 5×10^1 kob / 100 ml olarak tespit etmiştir. En yüksek fekal koliform miktarını kış ayında Küçük Menderes Nehri'nde belirlediğini bildirmiştir ($1,3 \times 10^6$ CFU/ 100 ml). Araştırmacı aynı zamanda fekal indikatör bakteri ile fiziko-kimyasal su kalite parametleri (su sıcaklığı ve pH) arasında önemli bir ilişkinin olmadığı rapor edilmiştir.

Cooke (1976) atık sular ile kontamine olmuş deniz suyundan ve kabuklulardan izole ettikleri koliform ve fekal koliform bakterilerde yüksek oranda çoğul antibiyotik direncinin varlığını bildirmişlerdir.

Kelch ve Lee (1978) körfez ve nehirlerde yapmış oldukları çalışmada izole ettikleri Gr (-) bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç ve hassasiyetleri araştırmışlardır. Körfezden izole ettikleri bakterilerin nehirlerden izole edilenlere oranla antibiyotiklere karşı daha dirençli olduklarını tespit etmişlerdir.

Sanders ve Sanders (1979), *Enterobacter cloacae* ve *Citrobacter freundii* benzeri bakterilere kromozomal beta- laktamazların geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı direnç geliştirdiklerini tespit etmişlerdir. Bell vd. (1980), Kanada'daki Red Nehri'nde yapmış oldukları çalışmada izole ettikleri koliform bakterilerin 12 farklı antibiyotiğe karşı dirençli olduğunu *Salmonella* suşlarının ise %18'nin en az bir veya daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli olduklarını rapor etmişlerdir.

Armstrong vd. (1981) Oregon'da 7 farklı bölgeden örnekledikleri içme sularında çoğul antibiyotik dirençli 392 adet bakteri suşu izole etmişler ve kirlenmeye neden olan bu bakterilerde sulfonamid, streptomisin, kanamisin, kloramfenikol ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı dirençlilikleri araştırmışlardır. İzole edilen bakteriler arasında 121 adet Gram (+) ve 271 adet Gram (-) bulunmaktadır. Bakteri suşlarının %33,9'u bir veya birden fazla antibiyotiğe karşı dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çoğul antibiyotik dirençli bakterilerin %61,1'i iki antibiyotiğe, %23,4'ü üç antibiyotiğe, %12,7'si dört antibiyotiğe ve %2,9'u da beş antibiyotiğe karşı dirençli bulunmuştur.

Jones vd. (1986) İngiltere'deki nehirlerden izole ettikleri bakterilerde direnç seviyelerinin belirlemişlerdir. En yüksek çoğul ve tekil dirence kontrol istasyonu olarak düşündükleri uzak dağlık bölgelerdeki göllerde rastlamışlardır. Bu direnç seviyeleri atıksu

arıtma tesisinin sularını alan bir gölde daha düşüktür ve en düşük dirence atıksu arıtma tesisinin direkt boşaldığı yerde rastlamışlardır.

McPhearson vd. (1991) yapmış oldukları çalışmada oksitetrasiklin uygulanan bir çiftlikteki havuzlardan ve yayın balıklarından izole ettikleri bakterilerde oksitetrasiklin direncinin arttığını bildirmişlerdir.

Schlotfeldt vd. (1992) dirençli ve duyarlı bakterilerin dağılımında mevsimsel etki hakkında bilgi rapor etmişler ve ayrıca 1986-1990 yılları arasında balık sağlığı alanında dirençli bakterilerin sayılarında genel bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Bu azalmanın da ilaç reçetelerindeki kısıtlamalardan meydana gelebileceğini bildirmişlerdir.

Spanggaard vd. (1993) Danimarkada üç farklı balık çiftliği ve bir kirlilik bulunmayan akarsuda yapmış oldukları çalışmada 296 adet bakteri suşu (202 suş çiftliklerden ve 94 suş akarsudan) izole etmişler. Bakteriler arasında çiftliklerden izole edilen bakterilerin %15'i ve akarsudan izole edilen bakterilerin %6'sı oksitetrasikline direnç göstermiştir. Bu oranlar oksolinik asit dirençliliği için balık çiftliklerindeki ve akarsudaki bakterilerde sırasıyla %27 ve %16 olarak tespit edilmiştir. Her iki antibiyotiğe karşı direnç çiftliklerden izole edilen bakterilerde %6 iken dereden izole edilen bakterilerde %4 oranında olduğu tespit edilmiştir.

DePaola vd. (1995) oksitetrasiklin ile tedavi esnasında ve sonrasında yayın balıkları ve sulardan izole ettikleri bakterilerde direnç seviyelerinde bir artış olduğunu ve bu direnç seviyesi %20'lerin altından %40'lara çıktığını rapor etmişlerdir.

Arvanitidou vd.'nin (1997) Yunanistan'da yürüttükleri bir çalışmada yüzey sularında 79 adet *Salmonella* suşu izole edilmiş, bu suşların 20 farklı antibiyotiğe karşı dirençlilikleri incelenmiştir. İzole edilen suşların 19 (%24,1) tanesinin bir ya da daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli oldukları rapor edilmiştir. Bakteriler arasında en fazla direnç streptomisin antibiyotiğine karşı olmuştur. Tüm suşların amoksisilin klavunolat, sefuroksim, siproflaksasin, amikasin ve apramisine karşı hassas oldukları belirlenmiştir. Dirençli suşların 5 (%6,3)'ü alıcı *E. coli* suşuna direnç genlerini transfer ettiği bildirilmiştir. Transfer edilebilen direnç, ampisilin, ticarsilin, gentamisin, tobramisin, spektinomisin, kanamisin, tetrasiklin ve kloramfenikol olarak saptanmıştır. Bunun yanında streptomisin direncinin transfer edilemediğini bildirmişlerdir.

Sucul *Acinobacter* spp.'nin kloramfenikole karşı direnci %50 olarak belirlenirken, %27 oranında amoksisillin, %26 oksitetrasiklin, %26 sulfametaksazol ve %7 gentamisin dirençli izolatlar tespit edilmiştir (Guardabassi vd., 1999). Başka bir çalışmada ise

Acinobacter spp. nin oksolinik asite karşı direncinde atık sularda ve balık çiftliklerinde artış olduğu saptanmıştır (Guardabassi vd., 2000).

Goni-Urriza vd. (2000) İspanya'da bir nehirde yapmış oldukları çalışmada, su örneklerinden izole ettikleri *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerin %24,3'ünde tetrasiklin direnci ve *Aeromonas spp.*'lerde ise bu direnci %27,5 olarak tespit etmişlerdir.

Schmidt vd. (2000) Danimarka'dan sucul ortamdan izole ettikleri 313 *Aeromonas spp.* suşundan %69'unun oksitetrasiklin dirençli olduğunu rapor etmişlerdir. Kültür edilebilir bakterilerdeki ortalama görünme sıklığını %4,8 oksitetrasiklin dirençli olarak bulmuşlar ve minimum inhibisyon konsantrasyonunu ise 10 µg OTC/ml olarak belirlemişlerdir.

Schmidt vd. (2001) Danimarka'daki balık çiftliklerinden izole ettikleri motil *Aeromonas* bakterilerinde tetrasiklin direnç genleri ve integronların varlığını araştırdıkları çalışmada 313 suş izole etmişlerdir. Bakterilerin %37'si tetrasiklin ve trimetoprim-sulfametoksazol antibiyotiklerine karşı direnç göstermiştir. Trimetoprim-sulfametoksazol dirençli 141 izolattan 135 tanesinin *Class 1* integron taşıdığını belirlemişlerdir. 216 oksitetrasiklin dirençli izolat arasında sadece 66 tanesinde *tet* genleri tespit edilmiştir. Bunlar arasında *tetA* (19), *tetD* (6) ve *tetE* (39) genleri bulunmaktayken 3 izolatin ise 2 *tet* genini (AD, AE, DE) bulundurduğunu bildirmişlerdir.

Diab vd.'nin (2002) yaptıkları çalışmada 10 farklı *Enterobacteriaceae* üyesi, bir *Pseudomonas auroginosa* suşu, bir *Aeromonas hydrophila* suşu ve bir *Acinetobacter calcoaceticus* suşunu Mısır'da içme sularından izole etmişler ve bu suşların plazmitle kodlanan transfer edilebilen antibiyotik dirençlerini araştırmışlardır. Sadece sekiz suşun plazmit taşıdığını ve bunlardan birinin (*Aeromonas hydrophila*) 1,375-21,226 kb arasındaki büyüklüklerde üç farklı plazmit içerdiğini tespit etmişlerdir. *Escherichia*, *Enterobacter* (2 suşu), *Pseudomonas* ve *Salmonella* suşlarının ise yalnızca bir plazmit içerdiğini rapor etmişlerdir.

Ash vd.'nin (2002) Amerika'da yürüttükleri çalışmada 16 nehrin 22 farklı bölgesinden alınan örneklerde izole ettikleri bakterilerin antibiyotik direnç profilleri test edilmiştir. En yaygın dirençli bakterilerin *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* ve *Serratia* cinslerine ait olduğunu tespit etmişlerdir. Bakteriler arasında en az bir veya daha fazla antibiyotiğe dirençli olan bakterin %40'ından daha fazlasının en az bir plazmit taşıdığını belirtmişler ve bu plazmitli bakterilerin %70'inde antibiyotik direnç genlerinin varlığı rapor edilmiştir.

Brinas vd. (2002) yaptıkları çalışmada hayvansal gıdalardan, insan dışkılarından 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 izolatın 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. Diğer 17 *E. coli* suşu bu üç enzim yönünden negatif sonuç gösterdiği tespit edilmiştir.

Toroglu vd. (2005) Aksu Nehri'nden izole ettikleri *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerin çoğul antibiyotik dirençli olduklarını rapor etmişlerdir. Çelik Sevim (2005) yapmış olduğu çalışmada Rize ili ve ilçelerindeki içme sularından izole ettiği toplam 117 *E. coli* suşlarının antibiyotik direncini 11 farklı antibiyotiğe karşı test etmiştir. Suşların %61,5'ini çoğul antibiyotik dirençli olarak bildirmiş ve en yüksek direncin %48,7 ile sulbaktam-ampisiline karşı olduğunu ve bunu %47 ile ampisilin ve %30,7 ile seftazidimin takip ettiğini bildirmiştir. Bakterilerin en fazla hassas olduğu antibiyotiği ise kloramfenikol olarak belirlemiştir. Ampisilin dirençli 55 suş arasında sadece 7 tanesinde *bla*_{TEM} genini tespit etmiştir.

Altuğ vd. (2007) farklı sucul ortamlardan (Ölüdeniz Lagünü, Marmara Denizi, Haliç ve İstanbul Boğazı) izole ettikleri *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerin beta laktam antibiyotiklerine karşı yüksek oranda dirençli olduklarını ve en yüksek dirençliliğin %48 ile ceftazidim antibiyotiğine karşı olduğunu bildirmişlerdir.

Kimiran-Erdem vd. (2007) deniz suyu örneklerinden izole ettikleri enterokok bakterilerde bakterilerin antibiyotiklere karşı göstermiş olduğu direnci araştırmışlar ve test edilen antibiyotiklerden vankomisine karşı bakterilerin hepsinin duyarlılık gösterdiğini tespit etmişlerdir. 100 bakteri izolatu arasından bakterilerin hemen hemen hepsi nalidiksik asit, streptomisin ve kanamisine karşı dirençlilik sergilemiştir.

Ozturk vd. (2007) sazan balığı (*Cyprinus carpio*) yetiştiricilik işletmelerindeki balıkların deri, böbrek, beyin ve karaciğerlerinden 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.

Ozgumus vd. (2007) Türkiye'nin sahil kesimlerindeki musluk ve kaynak sularından izole ettikleri *E. coli* suşlarında antibiyotik direncini ve direnci sağlayan antibiyotik direnç

genlerini araştırmışlardır. Çalışmada toplam 170 adet antibiyotik dirençli *E. coli* izole edilmiş ve tüm suşların en az bir veya daha fazla antibiyotik dirençli olduğu bildirilmiştir. Suşların yaklaşık %42'si çoğul antibiyotik dirençli ve bunların da 3 (%2,5) tanesi *Class I* integron taşıdığı tespit edilmiştir. Araştırmacıların yapmış oldukları konjugasyon deneylerinde ampisilin ve tetrasiklin dirençlerinin aktarılabilir olduğunu belirlemişlerdir. Tetrasiklin dirençli *E. coli* suşları arasında en fazla direnç genine %15 oranla *tetA* direnç genine rastlandığını rapor 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), *Pseudomonad* (%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.

Matyar vd.'nin (2008) yaptığı çalışmada İskenderun Körfezi'nde yapmış oldukları çalışmada deniz suyu, sediment ve karideslerden toplam 31 farklı (236 suş) Gr (-) bakteri izole etmişlerdir. Bu bakterilerin 16 farklı antibiyotiğe karşı direnç seviyeleri disk difüzyon yöntemiyle test edilmiş ve en fazla direnç %93,2 ile ampisilin antibiyotiğine karşı olmuştur. Bunu %90,2 ile streptomisin ve %81,3 ile cefazolin takip etmiştir. Bakterilerin %56,8'i 7 ve daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli olduğu bildirilmiştir.

Phuong Hoa vd.'nin (2008) Kuzey Vietnam'daki atık su ve karidesler ile yapmış oldukları çalışmada sulfonamid dirençli bakterilerde *sul1*, *sul2* ve *sul3* genlerini belirlemişlerdir. Çalışmada izole ettikleri bakterilerde en fazla *sul1* genini belirlemişlerdir. *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 plazmit bakımından bakteriler arasında gen aktarımı için uygun bir ortam olabileceğini rapor etmişlerdir.

Olaniran vd. (2009) Güney Afrika'nın Durban kentinde yapmış oldukları çalışmada iki nehirden izole edilen *E. coli* izolatlarında test edilen antibiyotiklere karşı %71-97 oranında direnç olduğunu bildirmişlerdir.

Çardak (2009) İstanbul Boğazı'nda yürütmüş olduğu çalışmada deniz suyundan izole edilen *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerden en fazla *E. coli* (%28) izole edildiğini ve bunu da %19 ile *Enterobacter* spp., %16 ile *Klebsiella* spp., %14 ile *Serratia* spp. ve %7 ile de *Citrobacter* spp.'nin takip ettiğini rapor etmiştir. Ayrıca izole edilen bakterilerde beta laktam türevi antibiyotiklere karşı dirençlilik testleri uygulanmış ve yüksek oranda antibiyotiklere dirençlilik (%71 Cefrazidim, %69 Ampisilin, %65 Cefuroksim, %27 Amoksosilin %25 Cefotaksim) tespit edilmiştir.

Gul-Seker ve Mater (2009) İzmit Körfezi ve Karadeniz ve Marmara Denizleri'nin boğaz girişlerinden izole ettikleri bakterilerde antibiyotik direncinin kloramfenikol ve ampisiline karşı yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.

Ozgumus vd. (2009) Türkiye'nin Kuzey kesimindeki 10 dereden izole ettikleri koliform bakterilerde *Class 1*, *Class 2* integron ve plazmit tarafından sağlanan antibiyotik dirençlerini araştırmışlardır. Söz konusu çalışmada 183 izolat antibiyogram testine tabi tutulmuş ve bakterilerin ampisilin, streptomisin, trimetoprim, tetrasiklin ve kloramfenikol antibiyotiklerine direnç oranları sırasıyla %58, %51,9, %24, %28,4 ve %12,5 olarak belirlenmiştir. 12 suшта 2,6-147 kb arasında değişen büyüklükte plazmit tespit edilmiştir. Diğer bir taraftan ampisilin, tetrasiklin, streptomisin, ve nalidiksik asite dirençlerin aktarılabılır olduğunu ifade etmişlerdir. 14 suşun *Class 1* integron ve 5 suşun da *Class 2* integron ihtiva ettiğini tespit etmişlerdir.

Durmaz ve Turk (2009) alabalık çiftliklerinden ve su örneklerinden izole ettikleri motil *Aeromonas* izolatlarında bakterilerin siprofloksasin ve enrofloksasin antibiyotiklerine karşı %96 oranında, amikasine %92,3 oranında; oksolinik asit, flumekuın, 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.

Sandalli vd. (2010) Kuzeydoğu Karadeniz Bölgesindeki derelerden izole ettikleri *Enterobacteriaceae* üyesi tetrasiklin dirençli bakterilerde *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD* ve *tetE* genlerinin varlığını araştırmışlar ve 52 tetrasiklin dirençli bakterinin 8 tanesinde *tetA*, 10 tanesinde *tetB* ve 1 suшта hem *tetA* hem *tetB* genini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar *tetC*,

tetD ve tetE genlerinin tespit edemediklerini belirtip dere sularının antibiyotik direnç genleri bakımından bir rezervuar olabileceğini bildirmişlerdir.

Çin'in güneyinde bulunan Pearl Nehri'nden izole edilen *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerle ilgili yapılan bir araştırmada (Tao vd., 2010) 7 farklı antibiyotiğe karşı bakterilerin hassasiyetleri test edilmiş ve en fazla direncin ampisilin ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı olduğunu rapor edilmiştir. Ayrıca yine aynı çalışmada bakterilerde tetrasiklin antibiyotiğine direnci sağlayan 4 farklı direnç geni tespit edilmiştir. Bunların arasında en fazla *tetA* (%43) ve *tetB* (%40)'ye rastlanmıştır. Bunun yanında bakterilerde 7 farklı antibiyotiğin hepsine dirençli olan bakteriler de tespit edilmiştir.

Matyar vd. (2010) İskenderun Körfezi'nde yapmış oldukları çalışmada *Aeromonas* spp. ve *Pseudomonas* spp. suşlarının 15 farklı antibiyotiğe karşı direnç seviyelerini ölçmüşler. Çalışmada *Aeromonas* izolatlarında %66,6'lık direnç cefazolin ve trimetoprim-sulfamethoksazol antibiyotiklerine karşı olmuştur. *Pseudomonas* izolatlarında ise bu durum %86,2 ile nitrofurantoine, %84,8 ile cefazoline ve %71,7 ile cefuroksime karşı olduğunu bildirmişlerdir.

Su vd. (2011) Çin'in güneyindeki balık çiftliklerinden izole ettikleri *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerde antibiyotik direnci, tetrasiklin, sulfonamid ve *Class 1* integron genlerinin varlığını araştırmışlardır. Araştırmacılar çalışmalarındaki antibiyogram testi sonuçlarında bakteri izolatlarının %80'inin ampisiline, %52'sinin tetrasikline ve %50'sinin trimetoprim 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.

Sivri vd. (2012) Küçükçekmece Lagünü'nde (İstanbul) yaptıkları çalışmada fekal bakteri yoğunluğunu ve izole ettikleri enterik bakterilerde antibiyotik direncini araştırmışlardır. Çalışmada 232 adet Gr(-) bakteri izole etmişler ve bakterilerde en yüksek %76,29 oranında ampisilin antibiyotiğine direnç olduğunu bildirirken en hassas olarak da amikasin (%93,56) olduğunu bildirmişlerdir. İzole edilen toplam 232 bakterinin 20 (%8,6) tanesinin *Class 1* ve/veya *Class 2* integron taşıdığını tespit edilmiştir.

Türkiye'nin Doğu Akdeniz sahillerinde yapılan çalışmada (Matyar, 2012) 255 adet Gr (-) bakteri izole edilmiş (*Citrobacter koseri* (%9), *E. coli* (%8,2), *Pantoea agglomerans* (%8,2)) ve bakterilerin %74'ü ampisilin, %70'i streptomisin ve %43,2'si ise cefazolin

antibiyotiklerine karşı direnç gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca çalışmada MAR indeksinin 0,2-0,75 arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Jiang vd. (2012) Çin'deki yetiştiriciliği yapılan balıklardan izole ettikleri *E. coli* izolatlarında plazmit 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 *qnrB* (33), *qnrS* (21) ve *qnrD* (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 *tetA(A)* ve *tetA(G)* genleri, amoksisiline ait *bla_{TEM}* geni, streptomisine ait *strA* ve *strB* genleri, kloramfenikole ait *catI* geni ve eritromisine ait *mefA* 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.

Durmaz vd. (2012) Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi'nde gökkuşağı 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 belirlemişlerdir.

Ozaktas 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 plazmit bulunamamıştır.

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.

Akkan vd. (2013) İskenderun Organize Sanayi Bölgesi'nden örnekledikleri deniz suyundan izole ettikleri Gr(-) bakteriler ile ilgili yapmış oldukları çalışmada 18 farklı antibiyotik test edilmiş ve bakterilerin %94,4 ile en yüksek eritromisin antibiyotiğine direnç gösterdiğini ve bunu %72,7 ampisilin, %68,3 streptomisin, %64,6 cefazolin ve %57,1 ile karboksipenemin takip ettiğini tespit etmişlerdir.

Aktan vd. (2013) Kızılırmak Nehri'nde yapmış oldukları çalışmada kurşun metaline dirençli *E. faecalis* suşlarının amikasin, aztreonam ve gentamisin gibi antibiyotiklere de dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca suşlarda 1.58, 3.06, 22.76 ve 28,95 kb boyutlarında plazmit olduğu da bildirilirken kurşuna direnci sağlayan genin plazmitlerde değil de kromozomal DNA'da bulunduğunu saptamışlardır.

Korun vd. (2013) Ege Bölgesi sahil kesimlerinde yetiştiriciliği yapılan levrek balıklarından izole ettikleri *Vibrio alginolyticus* suşlarının antimikrobiyal direnci ve plazmit 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 plazmit taşıdıklarını rapor etmişlerdir.

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 *tetB* genlerinin olduğu rapor edilmiştir.

1.9. Çalışmanın Amacı ve Gerekçesi

Canlılarda görülen bakteriyel hastalıkların kontrolünde ve tedavisinde antibiyotikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde ve hayvancılıkta kullanılan antibiyotik miktarı ile insanlarda kullanılan antibiyotik miktarı yaklaşık aynı olduğu bildirilmektedir (Walton, 1992), Antibiyotik direnç genlerinin bakteriler tarafından dikey ve yatay yollarla aktarılması veya paylaşılması (Aoki, 1997) sonucunda antibiyotiklere dirençli bakteri sayısı gittikçe artmakta ve bakteriyel hastalıkların antibiyotikle tedavisi ve kontrolü zorlaşmaktadır (Saitanu vd., 1994).

Düşük dozda kullanılan antibiyotikler, sucul ortamda bulunan bakterilerin birden çok antibiyotiğe karşı direnç kazanmasını kolaylaştırmaktadır (DePaola vd., 1995; Schmidt vd., 2000). Ayrıca antibiyotikler yeme karıştırılarak verildiğinden aşırı yemleme tatlı su sistemlerindeki havuzların tabanında önemli miktarda antibiyotik birikimine neden olmaktadır (Björklund, 1990; Coyne, 1994). Balık havuzlarının sadece hasat zamanında boşaltılması ve temizlenmesiyle antibiyotiklerin havuzlarda birikimi artmaktadır. Bu tür antibiyotik yığılması bakteriler üzerinde seçici baskı oluşturarak kullanılan antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin çoğalmasını sağlamaktadır (Peterson vd., 2003). Düzensiz ve kontrolsüz antibiyotik kullanan balık çiftlikleri, genetik olarak antibiyotiğe dayanıklı bakterilerin kaynağı olduğundan, balıkların yetiştirilmesinde ve işlenmesinde görev alan kişiler açısından sağlık riski taşımaktadır (Wegener vd., 1999; Willis, 2000). Balıklarda ya da yetiştiricilik havuzlarında bulunan bakterilerin bu işle uğraşan insanlara geçtiği belirlenmiştir (Blake, 1979). Bakteriler tarafından antibiyotiklere karşı geliştirilen dirençlilik genlerinin çoğunun plazmitler üzerinde bulunduğu tespit edilmiştir (Ash vd., 2002). Bu bakterilerde oluşan R-plazmitlerin, antibiyotiğe karşı hassas ve patojenik olmayan bakterilere transfer edilmesi (Alcaide ve Garay, 1984; McKeon vd., 1995) sonucu bu bakterilerin antibiyotiklere karşı dayanıklılık kazandıkları saptanmıştır (Kruse ve Sörum, 1994). Bakterilerde, antibiyotiğe direnç genleri yatay gen transferiyle yayılmaktadır (Du vd., 2005). Çalışmalar çeşitli ortamlardaki enfeksiyon etkeni *Enterobacteriaceae* üyesi türlerde (Van Loon vd., 2004), non-fermantatif Gram negatif aerob bakterilerde (Turton vd., 2005; Fonseca vd., 2005) ve genişlemiş-spektrumlu β -laktamaz üreten enterobakterilerde (Machado vd., 2005; Sompolinsky vd., 2005) sıklıkla ortaya çıktığını ve çoğul antibiyotik direncinden sorumlu olduklarını göstermiştir.

Çevrenin insan sağlığını tehdit eden direnç özelliklerinin potansiyel kaynakları olduğunun belirlenmesi bakteriyel hastalıklarla mücadele etmek için son derece önemlidir (Martínez, 2012). Bu riskleri arttıran kirleticilerin belirlenmesinin de ayrı bir önemi vardır. Bakterilerin antibiyotiklere karşı sergilemiş oldukları direnç o ortam hakkında antibiyotiklere maruz kalma açısından bilgi verebilmektedir. Şimdiye kadar yapılan çalışmaların çoğu hastane kökenli bakterilerdeki antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesi ve yayılımlarının araştırılmasına yönelik olsa da balık çiftlikleri gibi sucul çevre ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Karadeniz Bölgesi'ndeki Rize ve Trabzon illerinde bulunan bazı alabalık çiftliklerinde kullanılan sulardaki olası kirleticilerin belirlenmesi ve bu ortamlardaki bakteriyel kirliliğin araştırılması, çiftliklerdeki balıklarda hastalık yapıcı

bakteriler ve örnekleme zamanına göre ortaya çıkma olasılıkları araştırılması amaçlanmıştır. Bunun yanında hem çiftliklerin su ve sedimentlerinden izole edilen bakterilerin hem de balıklardan izole edilen bakterilerin antibiyotiklere karşı göstermiş oldukları hassasiyet/direnç seviyelerinin belirlenmesi ve bu direnci oluşturan direnç genlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. İşletmelerde kullanılan antibiyotiklerin bakterilerin çoğul antibiyotik dirençli olup olmamalarına etkisi, bakterilerin plazmit profillerinin çıkartılması ve plazmitler aracılığıyla direnç genlerinin alıcı suşa aktarılabilir olup olmadıklarının da belirlenmesi bu çalışmaya konu olmuştur.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Örnek Temini

Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki Rize ve Trabzon illerinde bulunan 39° 53'- 40° 37' doğu meridyenleri ile 40° 40'-41° 01' kuzey enlemleri arasında yer alan tatlı suda yetiştiricilik yapılan 7 farklı gökkuşağı alabalığı işletmesinden (iki tane araştırma ünitesi) Haziran 2010- Nisan 2011 tarihleri arasında bir yıl süreyle her iki ayda bir örnekleme gerçekleştirilmiştir. İşletmeler 4 tanesi Trabzon sınırlar içerisinde, 3 tanesi ise Rize sınırları içerisinde olacak şekilde seçilmiş olup işletmelerin kullanmış oldukları suların farklı derelerden almalarına dikkat edilmiştir.

Araştırma süresince işletmelerin giriş ve çıkışlarındaki su örnekleri toplam ve fekal koliform analizleri için 100 ml'lik koyu renki steril cam şişelere alınırken fiziko-kimyasal su analizler için ise 1 litrelik plastik polietilen şişelere alınmıştır. Çözünmüş Oksijen tayini için koyu renkli su örnekleme şişesine 250 ml su örnekleri alınmıştır. Sediment örnekleri de steril spatül yardımıyla steril cam şişelere alınmıştır. İşletmelerdeki değişik boy gruplarındaki balıklardan da hastalık yapıcı bakterileri teşhis etmek için her çiftlikten 3-5 adet balık örneği alınmış ve soğuk ortamda laboratuara taşınmıştır.

2.2. Su Kalite Parametrelerinin Belirlenmesi

İşletmelerdeki suların bazı fizikokimyasal kalite parametrelerini belirlemek için, yerinde ölçülmesi gereken parametreler (Su Sıcaklığı, pH ve Toplam Çözünmüş Madde (TDS)) Hach Lange marka HQ40D model çok parametrelilik su kalitesi ölçüm cihazı (Düsseldorf, Almanya) ile ölçülmüştür. Askıda Katı Madde (AKM), Nitrit, Nitrat, Amonyum ve Fosfat analizleri için 1 litrelik plastik polietilen örnekleme şişelerinde su örnekleri alınarak soğuk ortamda laboratuara taşınmıştır.

Askıda Katı Madde analizi için filtre kağıdı etüvde yaklaşık yarım saat 105°C'de kurutulmuş ve ardından 20 dakika desikatörde soğuyuncaya kadar beklenmiştir. Kurutulmuş olan filtre kağıdı kuru bir pens yardımıyla dikkatlice alınarak hassas terazide tartılmıştır (İlk Tartım). Daha sonra aynı pens ile süzme sistemine yerleştirdikten sonra

mezür yardımıyla ölçülen su numunesi (V, L) süzme sisteminden geçirilmiştir. Daha sonra filtre kağıdı temiz pens ile etüve koyulmuş ve yine aynı sıcaklıkta 60 dakika kurutulmuştur. Soğuduktan sonra hassas terazide tartılmıştır (Son Tartım). Numunenin askıda katı madde miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{AKM (mg/l)} = (\text{Son Tartım} - \text{İlk Tartım}) \times 1000 / \text{Süzülen Hacim}$$

Nitrit, nitrat, amonyum ve fosfat analizleri için standart metotlarda belirtildiği üzere spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır (APHA, 1998). Analizlerin hepsi için kör örnek olarak safsu kullanılmış ve yine standart çözeltiler hazırlanarak nitrit için 543 nm, nitrat için 220 nm, amonyum için 640 nm ve fosfat için 880 nm dalga boylarında kör örneğe karşı standart çözeltilerin absorbans değerleri okunmuştur. Bu absorbans değerleri kullanılarak elde edilen denklemden örneklerin içermiş oldukları besin tuzlarının konsantrasyonları hesaplanmıştır.

Çözünmüş Oksijen tayini Winkler'e (1888) göre yapılmıştır. Koyu renkli cam şişelere alınan 250 ml su örneklerinin üzerine 2'şer ml mangan sülfat çözeltisi, 2'şer ml alkali iyodür azid çözeltisi ve 2'şer ml sülfürik asit çözeltisi eklendikten sonra 100'er ml alıp 2-3 damla nişasta indikatörü damlattıktan sonra 0,025 N Sodyum Tiyosülfat ile titrasyonları yapılmıştır ve aşağıdaki formül kullanarak su örneklerinin çözünmüş oksijen değerleri hesaplanmıştır.

$$\text{Çözünmüş Oksijen (mg/l)} = (\text{S} \times \text{N} \times \text{F} \times 8000) / \text{Alınan Hacim (ml)}$$

S: Sodyum Tiyosülfat sarfiyatı

N: Sodyum Tiyosülfat Normalitesi

F: Faktör

Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı ise yine çözünmüş oksijen tayinindeki şişelere alınan diğer su örneklerinin 5 gün boyunca 20-25 °C'de karanlık ortamda inkübasyona bırakılması sonucunda ölçülen çözünmüş oksijenin ilk çözünmüş oksijen miktarlarından çıkartılması sonucu mg/l cinsinden hesaplanmıştır (APHA, 1998).

2.3. Örneklerin İşlenmesi

Steril şişelere alınan su ve sediment örneklerinde fekal ve toplam koliform bakteri sayıları çoklu-tüp fermentasyon yöntemi kullanılarak sayılmıştır (APHA, 1998; Pepper ve Gerba, 2004). Toplam koliform için Lauryl Sülfat Triptoz (LST) laktoz broth ile hazırlanan üçlü tüp serilerine protokole uygun olarak gerçekleştirilen ekimler neticesinde tüplerdeki

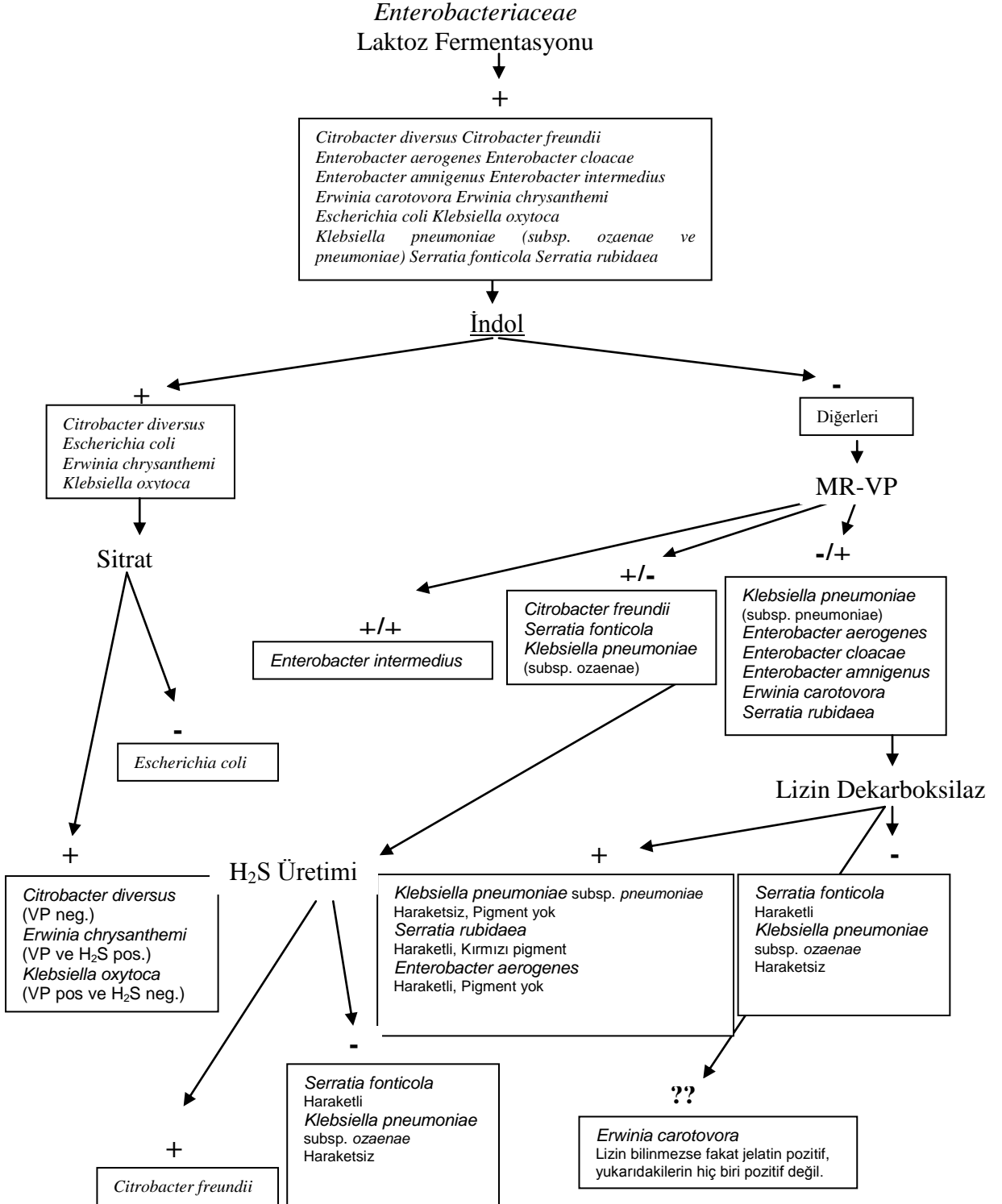
gaz oluşturanların sayısı kaydedilerek En Muhtemel Sayı (EMS) (Ek Tablo 1) tablosunda 100 ml'deki sayıları belirlenmiştir ve devamında gaz oluşturan tüplerden Eozin-Metilen Blue (EMB) agar besiyerlerine ekimler yapılarak koliform bakterilerin varlığı doğrulanmıştır. Fekal koliform bakteri tespiti için de EC Broth besiyerine de aynı şekilde ekimler yapılarak su ve sediment örneklerindeki fekal koliform sayıları belirlenmiştir (APHA, 1998). Elde edilen koliform bakterilerde içerisinde %15 gliserol bulunan sıvı besiyerinde -70°C'de saklanmıştır.

Su ve sedimentteki bakterilere ek olarak işletmelerden temin edilen balık örneklerinin karaciğer, böbrek, dalak, solungaç ve derilerinden uygun besi yerlerine (Nutrient agar (NA), Tryptic Soy Agar (TSA), Cytophaga Agar, Hsu-Shott Agar) ekimler yapılarak inkübasyona bırakılmıştır. Balıklardan izole edilen bakteriler uygun sıcaklıkta inkübasyona tabi tutulduktan sonra saf olmayan koloniler saflaştırılmıştır. Saf koloniler API 20E ve API 20NE (Biomerieux, Marcy l'Etoile, Fransa) testlerinin yanısıra aşağıdaki biyokimyasal testlerle tanımlanmıştır. Bu testler; Gram boyama, sitokrom oksidaz, oksidasyon/fermentasyon, katalaz, lösin aminopeptidaz, β -galaktosidaz, β -glukosidaz, β -mannosidaz, dihidrolaz, lizin dekarboksilaz, ornitin dekarboksilaz, sitrat kullanımı, H₂S üretimi, üreaz, indol üretimi, voges proskauer, jelatinaz, glukoz fermentasyonu, mannitol, inositol, sorbitol, ramnoz, amigdalin, melibioz, laktoz, metil kırmızısı ve arabinoz fermentasyon testleri şeklindedir (Frerichs, 1984; Krieg ve Holt, 1984; Lennette vd., 1985; Holt vd., 1994; Austin ve Austin, 2007). Bütün izolatlar içerisinde %15 gliserol bulunan sıvı besi yerinde -70°C'de saklanmıştır.

2.4. İzole Edilen Bakterilerin Morfolojik Karakterlerinin Belirlenmesi

İzole edilen bakteriler katı besiyerinde üretildikten sonra koloniler renk ve şekil olarak incelenmiştir. Bunun için koliform bakteriler için EMB Agar besiyerinde merkezleri koyu renkli koloniler alınarak çoğaltılmış ve tür teşhisi için laktoz, indol, metil kırmızısı, VP, H₂S, Sitrat, Lizin, Glikoz Motility Deep (GMD) ve jelatin testleri gerçekleştirilmiş ve Holt vd.'nin (1994) belirttiği şablonun yanısıra API 20E ve API 20NE kitleri kullanılarak türler isimlendirilmiştir (Şekil 3). 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. Bakterilerin morfolojik özelliklerinin

belirlenmesi amacıyla gram boyama yapılmıştır. İzolatların hareketli olup olmadıklarının belirlenmesi amacıyla GMD besi yeri ve ayrıca lam üzerinde mikroskopta inceleme gerçekleştirilmiştir (Cappuccino ve Sherman, 1992; Lasee, 1995).



Şekil 3. Su ve sediment örneklerinden izole edilen bakterilerin tür teşhisinde kullanılan şablon (Holt vd., 1994).

2.5. Antimikrobiyal Hassasiyet Testi

İzole edilen tüm bakterilerin ve elde edilen transkonjugant bakterilerin antimikrobiyal hassasiyet testleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2011) kitapçığında belirtilen standart disk difüzyon metodu ile yapılmıştır. Antimikrobiyal testlerde kullanılan antibiyotik diskleri: Ampisilin (AMP-25µg), Aztreonam (ATM-30µg), İmipenem (İMP-10µg), Ceftriakson (CRO-30µg), Kanamisin (K-30µg), Gentamisin (CN-10µg), Tetrasiklin (TE-30µg), Oksitetrasiklin (T-30µg), Sulfametaksazol (SMZ-100µg), Kloramfenikol (C-30µg), Sulfametaksazol/Trimetoprim (SXT-25µg) ve Rifampisin (RA-30µg)'dir. Diskler Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerine yerleştirildikten sonra plaklar 25 ya da 35°C'de 18-36 saat inkübasyona bırakılarak ve inkübasyondan sonra inhibisyon zon çapları ölçülerek bakterilerin bu antibiyotiklere karşı direnç ve hassasiyetleri CLSI (2011) kitapçığındaki kriterlere göre dirençli ve hassas olarak kaydedilmiştir.

2.6. Çoğul 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: İzolatın dirençli olduğu antibiyotik sayısını B ise, izolatın test edildiği toplam antibiyotik sayısını ifade etmektedir. Bu MAR indeksi sediment, su ya da balıktan izole edilen her bir tür grubuna uygulanırken $MAR = A/(B \times C)$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Bu formülde A: örneklerden izole edilen tüm izolatların toplam antibiyotik direnç puanı, B: test edilen antibiyotiklerin sayısı, C ise örneklerden izole edilen izolatların sayısını ifade etmektedir. Eğer 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 antibiyotik ya çok azdır ya da hiç bulunmamıştır (Krumperman, 1983).

2.7. PCR için DNA İzolasyonu

Brain Heart Infusion (BHI) Broth veya LB Broth besiyerinde üretilen bakteriler 3000 x 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 dk kaynatıldıktan sonra soğumaya bırakılmış ve tekrardan 17000 x g'de 5 dk santrifüj edilerek çöktürülmüştür. PCR işlemlerinde örneğe ait kalıp DNA üst kısımdan kullanılmıştır (Boran vd., 2013).

2.8. Plazmit DNA İzolasyonu

Bakterilerinden plazmit DNA izolasyonu QIAGEN plazmit izolasyon kiti (QIAGEN Inc., Chatsworth) kullanılarak yapılmıştır. Kısaca, Luria Bertani (LB) veya BHI Broth besiyerlerinde gece kültürü yapılan bakteriler ilk önce 1,5 ml lik ependorf tüplerine alındıktan sonra 5000 x g de 3 dk süreyle santrifüj edilerek çöktürülmüştür. Üst kısım atıldıktan sonra bakteri peletinin üzerine Plazmit 1 çözeltisinden 125 µl eklenmiş ve pipet ucuyla yavaşça karıştırılmıştır. Ardından üzerine yine 125 µl Plazmit 2 çözeltisinden eklenerek tüpün ağzı kapatılıp 3-4 kez ters-düz edilmiştir. Daha sonra 175 µl Plazmit 3 çözeltisinden eklenerek hemen tüplerin ağzı kapatılıp 3-4 kez ters-düz edilmiştir. Tüpler santrifüje yerleştirilerek 18000 x g'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Üst kısım yeni 1,5 ml'lik tüpe alınmıştır. Alınan kısmın yaklaşık %10'u kadar Sodyum Asetat çözeltisi (3 M, pH:5,2-asetik asit ile ayarlanmıştır) ve 900-950 µl soğuk isoprapanol eklenmiştir. 10 dk buzda bekletildikten sonra 21000 x g hızda 30 dk santrifüj edilmiştir. Üst kısım dipte bulunan pelete zarar verilmeden boşaltılmış ve mikrobiyolojik kabin içerisinde tüplerin kapakları açık halde içerisindeki alkolün uçması için beklenmiştir. Daha sonra üzerlerine 50 µl elution buffer eklenip hafifçe çalkalanarak çözülmeye bırakılmıştır. Elde edilen plazmit elektroforez işlemine kadar -20°C'de saklanmıştır. Daha sonra %1 lik agaroz jelde yürütülmüş ve Lambda DNA *Hind*III Marker (Fermentas) kullanarak plazmitlerin büyüklükleri belirlenmiştir.

2.9. Antibiyotik Direnç Genlerinin PCR ile Tespiti

İzole edilen bakteri suşlarıyla birlikte konjugasyon deneyleri sonucunda elde edilen transkonjugant bakterilerdeki antibiyotik direnç genlerinin (tetrasiklin - *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*; sulfonamid - *sul1*, *sul2*, *sul3*; beta laktam - *ampC*, *bla_{TEM}*, *bla_{PSE}*, *bla_{CTX-M}*; aminoglikozit - *aadA*; kloramfenikol - *cmlA*; *Class 1* ve *Class 2* integron) varlığı Tablo

4'te gösterilen primerler kullanılarak PCR ile belirlenmiştir. PCR işlemlerinde ekstrakt edilen genomik DNA kalıp DNA olarak kullanılmıştır. PCR karışımları (buz içerisinde) 25 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. Tüpler PCR işlemi için Thermal Cycler'a konmadan önce karışımın homojen hale gelmesi için karıştırıcılı santrifüjde ilk önce karıştırılmış ardından santrifüjlenerek tüpün dibinde biriktirilmiştir.

Örneklerin antibiyotik genlerinin belirlenmesinde Thermo Hybaid Thermal Cycler (Thermo Electron Inc., Waltham, USA) cihazı kullanılmıştır. PCR işleminde örnek DNA'sı içermeyen reaktif negatif kontrol kullanılmıştır. PCR işleminden sonra, örnekler etidiyum bromit (1mg/100µL) ile 0,5 x TAE tampon sisteminde %1'lik agaroz jel üzerinde 100 V şiddetinde 1 saat yürütülmüştür. Jel görüntüleri jel görüntüleme sistemi (KODAK Gel Logic 200) kullanılarak kayıt edilmiştir. Standart PCR için uygulanan protokol Tablo 3'te primerlerin tutunma sıcaklıkları ise Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesinde uygulanan PCR protokolü

PCR Basamakları	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Birinci denaturasyon	94	5 dk	1
Denaturasyon	94	30 sn	30
Tutunma (Annealing)	Tablo 4	45 sn	
Uzama (Extension)	72	45 sn	
Son Uzama	72	10 dk	1

Tablo 4. Antibiyotik direnç genleri ve integronların belirlenmesinde kullanılan primerler

Primer Adı	Sekans (5' - 3')	Hedef Gen- Bölge	PCR Ürünü Boyutu (bp)	Tutunma Sıcaklığı (°C)	Kaynaklar
Tet A FW	GCTACATCCTGCTTGCCTTC	<i>tetA</i>	210	55	Ng vd., 2001
Tet A RV	CATAGATCGCCGTGAAGAGG				
Tet B FW	TTGGTTAGGGGCAAGTTTTG	<i>tetB</i>	659	54	Ng vd., 2001
Tet B RV	GTAATGGGCCAATAACACCG				
Tet C FW	CTTGAGAGCCTTCAACCCAG	<i>tetC</i>	418	55	Ng vd., 2001
Tet C RV	ATGGTCGTCATCTACCTGCC				
Tet D FW	AAACCATTACGGCATTCTGC	<i>tetD</i>	787	54	Ng vd., 2001
Tet D RV	GACCGGATACACCATCCATC				
Sul1 FW	CGGCGTGGGCTACCTGAACG	<i>sul1</i>	433	59	Kern vd., 2002
Sul1 RV	GCCGATCGCGTGAAGTTCCG				
Sul2 FW	GCGCTCAAGGCAGATGGCATT	<i>sul2</i>	293	59	Kern vd., 2002
Sul2 RV	GCGTTTGATACCGGCACCCGT				
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>bla</i> _{TEM-OT12}	465	54	Arlet ve Philippon, 1991
TEM OT-2 RV	TAATTGTTGCCGGGAAGCTA				
TEM OT-3 FW	ATGAGTATTCAACATTTCCG	<i>bla</i> _{TEM-OT34}	859	45	Olesen vd., 2004
TEM OT-4 RV	CAATGCTTAATCAGTGAGG				
PSE1 FW	CGCTTCCCGTTAACAAGTAC	<i>bla</i> _{PSE}	465	50	Zühlsdorf ve Wiedemann, 1992
PSE1 RV	CTGGTTCATTTTCAGATAGCG				

Tablo 4'ün devamı

CmlA FW	TGTCATTTACGGCATACTCG	<i>cmlA</i>	455	52	Sáenz vd., 2004
CmlA RV	ATCAGGCATCCCATTCCCAT				
AadA FW	TGATTTGCTGGTTACGGTGAC	<i>aadA</i>	284	52	Van vd., 2008
AadA RV	CGCTATGTTCTCTTGCTTTTG				
CTX-M-1 FW	GGTTAAAAAATCACTGCGTC	<i>bla_{CTX-M1}</i>	863	49	Saladin vd., 2002
CTX-M-1 RV	TTGGTGACGATTTTAGCCGC				
5'-CS	GGCATCCAAGCAGCAAG	<i>Class 1</i>	değişken	50	Lévesque vd., 1995
3'-CS	AAGCAGACTTGACCTGA				
hep51	GATGCCATCGCAAGTACGAG	<i>Class 2</i>	değişken	55	White vd., 2001
Hep74	CGGGATCCCGGACGGATGCACGATTTGTA				

2.10. Gen Transferi (Konjugasyon)

İşletmelerde yetiştirilen balıklardan, çiftliklerin giriş ve çıkışlarındaki su ve sediment örneklerinden izole edilen bakterilerin antibiyotik direnç genlerinin aktarılıp aktarılmadığını belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen konjugasyon deneyinde Rice vd.'nin (1990) broth mating yöntemi modifiye edilmiştir. Kısaca, izole edilen bakteriler verici olarak kullanılırken alıcı olarak *Escherichia coli*'nin K-12 J53-2 (Rifampisin dirençli) suşu kullanılmıştır (Ozgumus vd., 2007). 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 150 µg/ml rifampisin ve verici bakterinin dirençli alıcı bakterinin duyarlı olduğu antibiyotik konsantrasyonunu içeren (10, 20, 40 µg/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 -70 °C'de %15 gliserollü ortamda stoklanmıştır.

2.11. 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.

2.12. İstatistiksel Analizler

İşletmelerin giriş ve çıkış kısımlarından alınan suların fiziko-kimyasal parametreleri ile fekal ve toplam koliform bakteri sayılarının ilişkilerini belirlemek amacıyla Pearson korelasyon testi de uygulanmıştır. Belirtilen testler için istatistiksel önem derecesi %5 ($p < 0,05$) olarak belirlenmiştir (Miller ve Miller, 2005). İstatistiksel testler SigmaPlot 12 (Systat Software Inc., Chicago, ABD) paket programı kullanılarak yapılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Su Kalite Parametleri

Alabalık işletmelerinin giriş ve çıkış sularında ölçülen su sıcaklığı değerleri istasyonlar arası farklılık göstermiştir. Tüm istasyonların giriş ve çıkış suları Ağustos ayında en yüksek seviyelerde ölçülürken, sonbahar aylarında düşmeye devam ettiği kış aylarında en düşük seviyelere indiği belirlenmiştir. pH değerleri de istasyonlar arası değişiklik göstermiştir. En düşük pH değeri 6,95, en yüksek pH değeri ise 8,62 olarak ölçülmüştür. Çözünmüş oksijen seviyelerinin işletmelerin giriş sularında daha fazla çıkış sularında ise daha az olduğu belirlenmiştir. Çözünmüş oksijen seviyelerinin kışın suların soğuk olduğu dönemlerde daha yüksek seyrettiği fakat su sıcaklığının artış göstermesiyle birlikte düştüğü belirlenmiştir. Biyokimyasal oksijen ihtiyacı (BOİ₅) işletmelerin giriş sularındaki değerleri çıkış sularındakinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir. En düşük BOİ₅ değeri 0,4 mg/l ile Ekim ayındaki örneklemede 4. işletmenin giriş suyunda hesaplanırken, en yüksek değer ise 7,2 mg/l ile Ağustos ayı örneklemede 3. işletmenin çıkış suyunda hesaplanmıştır. Askıda Katı Madde (AKM) değerleri işletmelerin çıkış sularında giriş sularına oranla daha fazla bulunmuş ve genel olarak işletmelere gelen sular 25 mg/l değerinin altında hesaplanmıştır. İşletmelerin giriş sularındaki nitrit azotu konsantrasyonları çıkış sularındakilerden daha az bulunurken en yüksek nitrit azotu konsantrasyonu 278,44 µg/l değerle Haziran ayında 6. istasyonun çıkış suyunda hesaplanmıştır. Nitrit azotu ile yanında ölçülen bir diğer parametre olan nitrat azotu en yüksek nitrat azotu konsantrasyonu Ağustos ayındaki örneklemede 6. istasyonun çıkış suyunda 12,43 mg/l olarak hesaplanırken, en düşük konsantrasyon ise 0,26 mg/l ile Haziran ayındaki örneklemede 1. istasyonun giriş suyunda hesaplanmıştır. Azotlu bileşiklerden bir diğeri olan amonyum azotu konsantrasyonları işletmelerin giriş ve çıkış sularında en yüksek yaz aylarında rastlanırken, en düşük konsantrasyonlara kış aylarında rastlanmıştır. Forforlu bileşiklerden olan fosfatın ise yine istasyonların giriş sularındaki konsantrasyonları çıkış sularındaki konsantrasyonlara göre daha az olduğu belirlenmiştir. Alabalık işletmelerinin giriş ve çıkış sularında bir yıl boyunca ölçülen veya hesaplanan fizikokimyasal parametrelerin sonuçları Tablo 5'te gösterilmiştir. Ayrıca bu parametrelerin her birinin birbirleri ile ilişkileri de Ek Tablo 2-8'de gösterilmiştir.

Tablo 5. Alabalık işletmelerinin giriş ve çıkış sularının fizikokimyasal su kalite değerleri

Parametreler	1. İST		2. İST		3. İST		4. İST		5. İST		6. İST		7. İST	
	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış
Haziran														
Su Sıcaklığı (°C)	10,5	10,8	12,6	12,9	14,9	15,0	15,5	15,8	18,3	18,5	18,3	18,4	17,4	18,3
pH	7,54	7,72	7,80	7,81	7,43	7,61	7,50	7,67	8,31	7,82	8,40	7,80	7,83	8,30
Çöz. Oks. (mg/l)	12,3	12,1	12,1	11,5	12,1	11,8	10,5	9,9	10,6	10,3	10,5	10,1	10,1	9,6
AKM (mg/l)	5,7	13,0	0,9	8,9	79,2	99,0	57,0	74,0	13,2	24,5	10,7	23,4	11,8	22,7
TDS (mg/l)	22,3	22,8	42,1	43,3	29,7	30,5	39,2	40,2	36,0	36,5	90,0	92,4	67,7	70,5
BOİ ₅ (mg/l)	1,0	1,3	0,9	2,2	4,6	5,1	4,7	5,6	1,7	2,0	3,4	4,0	1,9	2,2
NO ₂ -N (µg/l)	2,06	46,00	0,41	12,51	10,52	117,75	3,28	3,83	24,40	28,30	199,48	278,44	13,22	13,10
NO ₃ -N(mg/l)	0,26	0,81	0,74	1,03	2,00	8,34	1,49	1,58	1,03	1,04	6,33	7,26	3,00	5,71
NH ₄ -N (µg/l)	7,50	31,00	8,70	142,00	5,63	120,67	2,60	26,33	82,00	128,33	43,67	134,33	41,17	44,83
PO ₄ -P (µg/l)	1,05	1,50	2,12	4,39	3,25	8,33	8,33	16,53	12,57	14,63	155,13	182,13	57,67	85,17
Ağustos														
Su Sıcaklığı (°C)	18,5	18,9	19,8	20,2	21,1	21,6	22,3	22,6	20,7	20,8	21,2	21,5	20,3	20,8
pH	8,21	7,58	8,62	8,59	7,60	7,48	7,86	7,63	8,20	7,67	7,59	7,52	7,19	7,18
Çöz. Oks. (mg/l)	10,7	10,1	10,3	9,7	9,8	9,3	9,7	9,3	9,3	8,9	9,3	8,5	9,3	9,3
AKM (mg/l)	0,3	7,4	8,3	16,6	47,0	50,7	13,3	15,3	15,0	37,6	8,1	9,1	13,1	14,9
TDS (mg/l)	82,9	85,3	68,7	47,4	28,4	26,1	34,1	38,5	30,8	27,5	80,6	73,5	61,6	59,2
BOİ ₅ (mg/l)	2,1	2,3	1,9	3,3	6,2	7,2	6,3	6,5	2,8	3,0	3,1	4,1	3,3	3,4
NO ₂ -N (µg/l)	1,08	3,33	2,08	9,43	0,15	0,54	0,18	0,32	0,25	0,84	1,00	2,10	1,26	1,56
NO ₃ -N(mg/l)	0,32	0,74	0,78	2,17	1,75	3,43	3,06	7,46	5,56	5,92	11,19	12,43	9,98	11,84
NH ₄ -N (µg/l)	304,57	359,00	246,40	387,67	145,26	298,15	29,13	261,22	177,91	397,39	179,46	309,08	61,65	177,18
PO ₄ -P (µg/l)	7,13	34,16	5,29	9,93	8,31	16,26	14,64	20,15	15,75	20,85	35,04	55,70	26,05	31,86

Tablo 5'in devamı

	1. İST		2. İST		3. İST		4. İST		5. İST		6. İST		7. İST	
	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış
Ekim														
Su Sıcaklığı (°C)	11,8	12,1	13,7	14,6	16,4	16,7	17,0	17,1	13,5	13,6	14,6	14,7	15,3	15,4
pH	7,82	7,75	8,30	7,70	7,47	6,95	7,54	7,59	7,50	7,55	7,76	7,64	7,60	7,53
Çöz. Oks. (mg/l)	12,0	11,3	12,1	11,3	11,7	10,1	10,7	8,7	12,2	11,1	11,7	11,1	12,2	11,3
AKM (mg/l)	4,7	10,5	5,9	20,9	2,6	85,1	3,1	16,1	15,0	37,6	8,1	9,2	13,1	14,5
TDS (mg/l)	72,0	78,2	64,0	42,7	28,4	21,3	31,3	33,3	21,3	24,6	76,8	72,0	56,9	54,5
BOİ ₅ (mg/l)	2,2	2,3	2,1	2,6	2,5	3,3	0,4	1,4	2,6	2,7	2,1	4,2	3,0	3,2
NO ₂ -N (µg/l)	1,72	1,80	2,21	2,61	1,58	2,60	1,36	6,01	1,35	5,77	11,26	14,09	2,96	3,60
NO ₃ -N(mg/l)	0,63	0,64	0,78	1,52	1,19	1,27	1,02	1,03	2,27	2,40	6,76	7,01	4,40	4,85
NH ₄ -N (µg/l)	221,56	236,40	0,28	0,44	99,16	188,33	0,24	0,45	0,55	0,88	15,50	22,67	23,33	34,33
PO ₄ -P (µg/l)	0,66	1,85	0,87	1,62	0,73	3,76	1,28	2,30	2,20	4,13	9,35	9,90	6,30	8,91
Aralık														
Su Sıcaklığı (°C)	6,8	7,3	7,7	10,1	9,9	10,3	11,2	11,5	8,6	8,7	10,1	11,4	11,7	11,9
pH	8,33	8,18	8,37	7,86	7,82	7,36	7,70	7,72	7,60	7,65	7,70	7,75	7,70	7,68
Çöz. Oks. (mg/l)	13,3	12,2	12,3	11,3	13,5	11,1	12,3	12,1	12,9	12,1	12,9	11,7	11,5	10,5
AKM (mg/l)	0,9	3,5	2,0	5,2	58,7	281,5	3,1	5,5	16,1	17,1	3,0	3,1	2,4	8,1
TDS (mg/l)	78,2	83,9	68,7	45,0	31,3	23,7	33,6	35,2	23,6	27,0	79,6	75,8	59,2	57,3
BOİ ₅ (mg/l)	2,9	3,3	3,6	4,1	3,1	4,5	3,6	5,5	1,8	3,0	2,1	4,2	2,6	2,8
NO ₂ -N (µg/l)	0,84	2,08	1,63	3,24	1,94	3,36	0,92	1,34	10,41	11,93	47,26	53,52	6,54	8,13
NO ₃ -N(mg/l)	0,73	0,95	0,54	0,76	1,72	1,85	1,46	1,56	1,42	1,58	5,72	5,75	4,15	4,24
NH ₄ -N (µg/l)	10,32	17,97	1,37	48,70	13,17	75,92	4,01	6,45	12,31	13,50	20,65	46,40	8,63	19,85
PO ₄ -P (µg/l)	0,61	1,48	0,12	0,32	2,42	2,87	0,48	0,69	0,39	1,83	7,04	6,78	4,64	9,31

Tablo 5'in devamı

	1. İST		2. İST		3. İST		4. İST		5. İST		6. İST		7. İST	
	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış	Giriş	Çıkış
Şubat														
Su Sıcaklığı (°C)	5,2	6,5	6,5	7,7	6,2	5,9	7,6	8,3	7,2	7,4	9,8	10,1	11	11,1
pH	7,83	7,51	8,50	8,60	7,85	7,50	7,75	7,75	7,65	7,81	8,01	8,10	7,86	7,43
Çöz. Oks. (mg/l)	12,5	9,7	12,1	11,5	12,3	11,7	12,3	11,7	12,4	12,2	11,5	11,1	11,3	10,5
AKM (mg/l)	12,7	92,7	14,2	75,8	20,5	23,6	0,6	7,9	8,1	8,5	1,3	7,5	4,2	6,0
TDS (mg/l)	81,3	79,1	75,6	45,5	23,3	23,5	40,4	44,2	26,6	28,9	81,4	82,0	61,6	59,8
BOİ ₅ (mg/l)	1,3	1,6	1,5	2,0	1,5	1,6	1,4	1,5	1,4	1,6	2,1	2,5	1,3	1,5
NO ₂ -N (µg/l)	4,75	6,45	1,47	2,20	0,57	1,42	0,46	1,36	2,52	4,76	17,59	18,46	3,08	4,34
NO ₃ -N(mg/l)	1,84	2,36	1,74	2,12	0,59	1,58	0,39	0,98	0,97	1,11	4,96	5,11	2,79	4,33
NH ₄ -N (µg/l)	64,60	69,60	5,77	126,02	44,13	46,63	23,56	58,32	22,05	32,01	63,00	69,50	43,53	113,02
PO ₄ -P (µg/l)	2,31	8,65	0,76	1,65	1,45	2,26	0,98	9,47	9,70	126,13	15,89	235,22	2,31	204,23
Nisan														
Su Sıcaklığı (°C)	9,9	10,6	12,2	13,6	15	15,7	14,2	15,8	10,1	10,8	12,2	12,3	14	14,5
pH	7,69	7,48	7,89	7,53	7,37	7,06	7,55	7,68	7,80	7,82	7,75	7,80	7,70	7,75
Çöz. Oks. (mg/l)	10,5	10,3	9,8	9,5	9,5	9,2	9,7	9,5	11,5	11,3	11,5	11,1	9,8	9,5
AKM (mg/l)	8,1	9,1	12,3	15,2	11,2	11,9	15,4	18,2	7,1	8,1	12,4	14,1	4,5	6,1
TDS (mg/l)	29,5	32,0	34,8	36,9	25,8	26,5	37,2	39,2	25,0	26,0	82,0	84,0	169,0	166,0
BOİ ₅ (mg/l)	2,0	2,2	2,3	2,5	1,5	1,6	1,5	1,6	1,5	1,6	2,0	2,1	3,0	3,4
NO ₂ -N (µg/l)	5,30	5,80	1,28	2,09	0,59	0,92	0,79	0,99	2,05	2,83	15,50	16,43	15,18	16,95
NO ₃ -N(mg/l)	2,06	2,24	1,97	2,12	0,65	0,91	0,44	0,96	1,05	1,19	4,91	5,02	2,59	3,15
NH ₄ -N (µg/l)	70,72	74,50	7,60	122,00	51,67	53,83	26,60	60,62	26,00	30,90	68,90	72,93	45,72	85,57
PO ₄ -P (µg/l)	3,18	4,50	0,90	1,22	1,88	2,64	1,18	10,76	10,73	184,67	26,00	302,77	2,35	182,33

3.2. Koliform Bakterilere Ait Bulgular

Alabalık işletmelerinin giriş ve çıkışlarındaki sediment ve sulardaki toplam koliform ve fekal koliform kirliliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan analizlerde, işletmelerin girişlerindeki sediment veya sulardaki miktarların çıkışlardakinden daha az oldukları tespit edilmiştir. İşletmelerdeki örnekleme zamanlarına göre istasyonların giriş ve çıkışlarındaki sediment ve su örneklerinin toplam koliform ve fekal koliform seviyeleri EMS/100 ml olarak Tablo 6'da gösterilmiştir. Belirlenen en yüksek toplam koliform miktarı 1380 EMS/100 ml iken, en yüksek fekal koliform miktarı 1100 EMS/100 ml olarak hesaplanmıştır.

Tablo 6. Alabalık işletmelerinin giriş ve çıkışlarındaki sediment ve su örneklerinin toplam ve fekal koliform sayıları

İstasyon	Toplam Koliform Sayısı (EMS/100ml)						Fekal Koliform Sayısı (EMS/100ml)					
	H	A	E	Ar	Ş	N	H	A	E	Ar	Ş	N
1. İST WG	460	240	240	43	240	460	<3	3	9,4	<3	11	93
1. İST WÇ	1100	460	460	93	460	1100	43	6,1	16	3,6	210	240
1. İST SG	1100	1100	1100	23	240	210	23	6,1	15	<3	9,1	93
1. İST SÇ	1380	1380	1100	43	460	1100	75	9,4	16	23	36	460
2. İST WG	210	44	240	460	460	21	3,6	11	43	23	150	3,6
2. İST WÇ	460	460	460	1100	1100	43	9,1	14	93	93	210	3,6
2. İST SG	240	460	460	460	1100	9	14	3	93	9,1	210	9,1
2. İST SÇ	460	1100	1100	1100	1380	240	43	6,2	240	150	460	75
3. İST WG	460	460	240	460	460	460	9,1	6,1	9,1	240	9,1	3,6
3. İST WÇ	1100	1100	1100	1100	460	1100	23	6,2	460	460	15	9,1
3. İST SG	460	460	460	1100	460	460	43	16	9,1	93	36	3,6
3. İST SÇ	1380	1100	1100	1380	1100	1100	93	19	1100	240	44	460
4. İST WG	240	36	150	43	460	15	93	<3	15	15	9,3	7,3
4. İST WÇ	460	44	240	75	1100	15	150	<3	23	23	24	9,1
4. İST SG	460	53	460	460	460	29	150	3	93	240	460	21
4. İST SÇ	1100	460	1100	1100	1100	240	210	9,4	240	460	1100	28
5. İST WG	460	460	460	93	93	150	150	44	290	43	9,2	15
5. İST WÇ	1100	1100	1100	460	150	210	210	53	1100	240	15	39
5. İST SG	1100	1100	460	460	93	240	460	460	75	43	29	43
5. İST SÇ	1380	1380	1100	1100	240	460	1100	1100	460	460	43	75
6. İST WG	290	290	240	93	150	240	53	240	460	43	24	20
6. İST WÇ	1100	1100	460	240	240	460	240	460	1100	93	44	120
6. İST SG	1100	1100	460	460	150	460	460	460	44	240	460	240
6. İST SÇ	1380	1380	1100	1100	240	1100	1100	1100	1100	460	1100	460
7. İST WG	1100	1100	240	93	150	460	28	240	44	43	24	13
7. İST WÇ	1380	1380	460	460	460	1100	44	460	460	240	75	20
7. İST SG	1100	1100	460	1100	1100	1100	460	460	53	460	29	460
7. İST SÇ	1380	1380	1100	1380	1380	1380	1100	1100	1100	1100	240	460

H: Haziran, A: Ağustos, E: Ekim, Ar: Aralık, S: Şubat, N: Nisan, WG: Giriş Suyu, WÇ: Çıkış Suyu, SG: Giriş Sedimenti, SÇ: Çıkış Sedimenti

3.3. Su, Sediment ve Balıklardan İzole Edilen Bakteriler

Alabalık işletmelerinin giriş ve çıkışlarındaki sediment ve su örneklerinden yapılan örneklemelerin sonucunda çoklu tüp serilerindeki durham tüplerinde gaz oluşturan bakterilerin katı besiyerlerinde oluşturdukları farklı koloniler kullanılarak tür tayinleri yapılmıştır. Koloniler saflaştırılıp biyokimyasal testler uygulanmış ve bu testlerin

sonucunda bakterilerin tanımlaması yapılmıştır. İzole edilen bakteri türlerinin izolat sayıları, izole edildiği yer ve izole edildiği dönemlere ait bilgiler Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7. Alabalık işletmelerinin giriş ve çıkışlarındaki sediment ve su örneklerinden izole edilen bakteri türlerinin dağılımı

Bakteri	İzole Edilen Yer				Örnekleme Zamanı					
	WG	WÇ	SG	SÇ	H	A	E	Ar	Ş	N
<i>E. coli</i>	29	28	30	22	8	12	20	29	20	20
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i>	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae</i>	-	2	-	1	1	-	-	1	1	-
<i>Citrobacter diversus</i>	1	2	5	6	2	1	2	3	4	2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	4	3	3	2	1	3	1	2	1	4
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	5	3	3	1	9	-	-	1	2
<i>Serratia fonticola</i>	1	2	2	-	1	2	2	-	-	-
<i>Erwinia carotovora</i>	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-

H: Haziran, A: Ağustos, E: Ekim, Ar: Aralık, S: Şubat, N: Nisan, WG: Giriş Suyu, WÇ: Çıkış Suyu, SG: Giriş Sedimenti, SÇ: Çıkış Sedimenti

Su ve sediment örneklemelelerinden toplam 9 farklı bakteri türü izole edilmiştir. İzole edilen bakteri gruplarından en fazla *E.coli* izole edilirken, bunu *Citrobacter diversus*, *Enterobacter cloacae* ve *Klebsiella oxytoca* takip etmiştir. *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae*, *Erwinia carotovora* ve *Enterobacter aerogenes* türleri sadece birer kez izole edilen türler olmuştur. Su ve sedimentten izole edilen bakterilerin sayıları ve bulunma yüzdeleri Tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablo 8. İşletmelerdeki su ve sediment örneklerinden izole edilen türlerin sayısı ve bulunma yüzdeleri

Bakteri	Suş Sayısı	%
<i>E. coli</i>	109	68,55
<i>Citrobacter diversus</i>	14	8,81
<i>Enterobacter cloacae</i>	13	8,18
<i>Klebsiella oxytoca</i>	12	7,55
<i>Serratia fonticola</i>	5	3,14
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae</i>	3	1,89
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i>	1	0,63
<i>Erwinia carotovora</i>	1	0,63
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	0,63

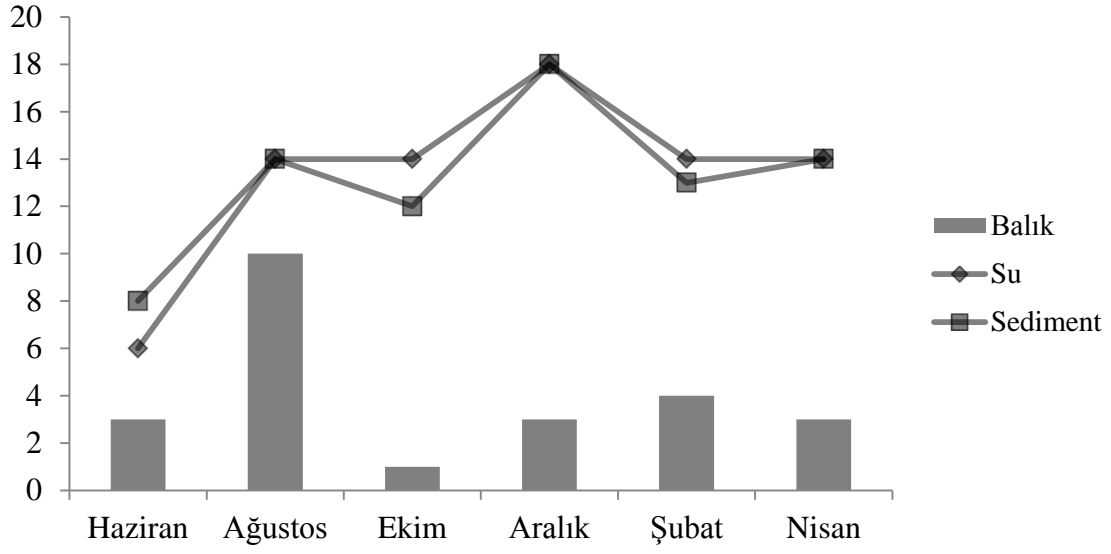
Araştırma süresince, işletmelerdeki balıklardan toplam 12 farklı bakteri türü izole edilmiştir. Bakterilerden 1 tanesi cins seviyesinde diğerleri ise tür bazında tanımlanmıştır. İzole edilen bakteriler arasında en fazla *A. hydrophila*'ya rastlanırken bunu *E. sakazaki* ve *Pseudomonas luteola* takip etmiştir. 4. işletme araştırma ünitesi olduğundan dolayı bu işletmede zaman zaman deniz suyu da kullanılmaktadır ve halofilik bir bakteri olan *Photobacterium damsela damsela* izolatu bu işletmeden izole edilmiştir. İzole edilen bakterilerin sayıları, bulunma yüzdeleri ve hangi örnekleme döneminde izole edildikleri ayrıntılı olarak Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9. İşletmelerdeki balıklardan izole edilen bakterilerin sayısı, bulunma yüzdeleri ve örnekleme dönemine ait sayıları

İzole Edilen Bakteri	Örnek Sayısı	%	Örnekleme Zamanı					
			H	A	E	Ar	Ş	N
<i>Aeromonas hydrophila</i>	6	25,00	2	2	-	-	-	2
<i>Enterobacter sakazakii</i>	4	16,67	-	2	-	-	2	-
<i>Pseudomonas luteola</i>	3	12,50	-	2	-	1	-	-
<i>Erterobacter spp.</i>	2	8,33	-	1	-	-	-	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	8,33	-	1	-	-	1	-
<i>Yersinia ruckerii</i>	1	4,17	-	-	1	-	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	1	4,17	-	1	-	-	-	-
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	1	4,17	-	-	-	1	-	-
<i>Photobacterium damsela damsela</i>	1	4,17	-	-	-	1	-	-
<i>Escherichia vulneris</i>	1	4,17	-	-	-	-	1	-
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	4,17	1	-	-	-	-	-
<i>Aeromonas caviae</i>	1	4,17	-	1	-	-	-	-

H: Haziran, A: Ağustos, E: Ekim, Ar: Aralık, S: Şubat, N: Nisan

Çalışma kapsamında balık, sediment ve su örneklerinden izole edilen bakteri sayılarının örnekleme dönemlerine ait dağılımları incelendiğinde, balıklardan Ağustos ayında en fazla bakteri izole edilirken en az Ekim ayında izole edilmiştir. Diğer bir taraftan izole edilen toplam bakteri sayıları su ve sediment örneklerinde en fazla Aralık, en az ise Haziran ayında tespit edilmiştir. İzole edilen türlerin örnekleme dönemlerindeki sayıca dağılımları Şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4. Alabalık işletmelerinin su, sediment ve balıklarından izole edilen bakterilerin örnekleme dönemlerine göre dağılımı

3.4. Antibiyotik Dirençliliği

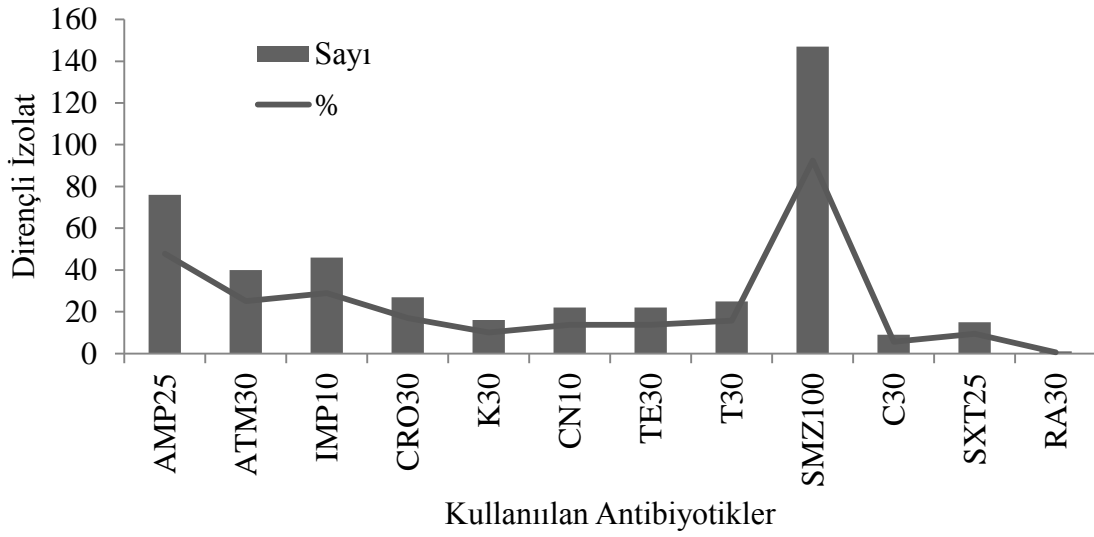
Alabalık işletmelerinden izole edilen bakterilerin antibiyotiklere karşı göstermiş oldukları direnç ve hassasiyetler her bir bakteri türü için ayrı ayrı belirlenmiş ve Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. Alabalık işletmelerinden izole edilen bakterilerin antibiyotik dirençlilikleri

	Bakteri	Örnek Sayısı	Kullanılan Antibiyotikler											
			AMP 25	ATM 30	IMP 10	CRO 30	K 30	CN 10	TE 30	T 30	SMZ 100	C 30	SXT 25	RA 30
Su ve Sedimentten İzole Edilenler	<i>E. coli</i>	109	32	23	29	17	11	14	16	17	100	5	12	-
	<i>Citrobacter diversus</i>	14	11	5	3	4	3	2	2	4	12	3	3	-
	<i>Enterobacter cloacae</i>	13	13	5	5	1	-	2	-	-	13	1	-	-
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	12	10	2	3	1	1	3	3	3	12	-	-	-
	<i>Serratia fonticola</i>	5	5	2	3	1	-	-	-	-	5	-	-	-
	<i>K. pneumoniae ozaenae</i>	3	2	1	1	1	-	-	-	-	2	-	-	-
	<i>K. pneumoniae pneumoniae</i>	1	1	1	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	<i>Erwinia carotovora</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	1
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	1	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-
Balıktan İzole Edilenler	<i>Aeromonas hydrophila</i>	6	5	6	5	2	3	3	1	4	6	1	5	4
	<i>Enterobacter sakazakii</i>	4	2	4	4	4	4	2	-	-	4	-	4	4
	<i>Pseudomonas luteola</i>	3	3	3	3	3	2	1	1	1	3	2	3	3
	<i>Erterobacter spp.</i>	2	-	2	2	2	1	1	-	-	2	-	2	2
	<i>Enterobacter cloacae</i>	2	2	2	2	2	2	1	-	-	2	-	1	2
	<i>Yersinia ruckerii</i>	1	-	1	1	1	-	-	-	-	1	-	1	-
	<i>Citrobacter freundii</i>	1	1	1	1	-	1	-	-	-	1	1	1	1
	<i>P. oryzihabitans</i>	1	1	-	1	1	-	-	-	-	1	-	1	1
	<i>Ph. damsela damsela</i>	1	1	1	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1
	<i>Escherichia vulneris</i>	1	1	1	1	1	-	-	-	-	1	-	-	1
	<i>Burkholderia cepacia</i>	1	1	1	1	1	1	-	-	-	1	1	1	1
<i>Aeromonas caviae</i>	1	1	1	1	1	-	-	-	-	1	-	-	1	

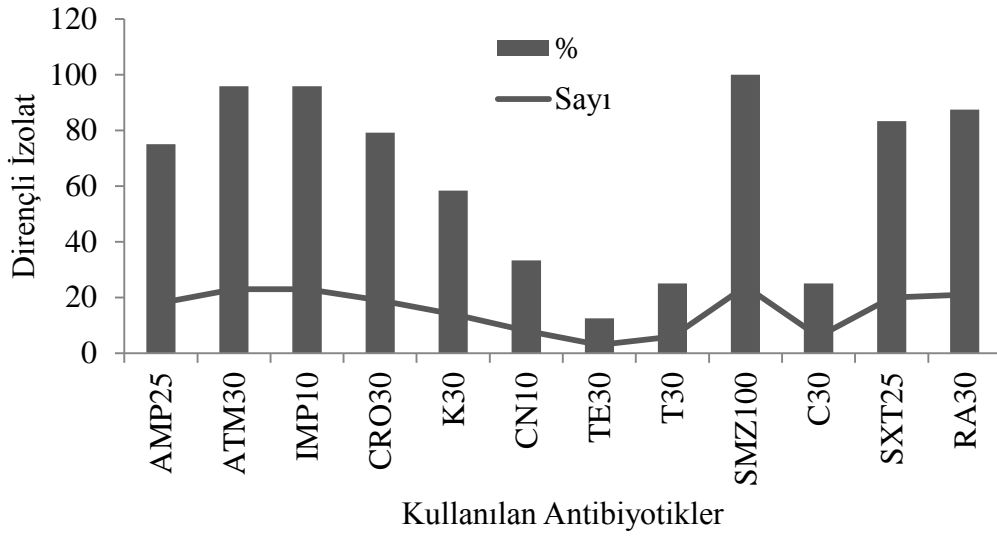
AMP25: Ampisilin, ATM30: Aztreonam, IMP10: İmipenem, CRO: Ceftriakson, K30: Kanamisin, CN10: Gentamisin, TE30: Tetrasiklin, T30: Oksitetrasiklin, SMZ100: Sulfamethoksazol, C30: Kloramfenikol, SXT25: Trim/Sul, RA30: Rifampisin

Sediment ve sulardan izole edilen bakterilere uygulanan antibiyogram testinin neticesinde her bir antibiyotiğe karşı dirençli bakterilerin sayısı ve direnç seviyesinin yüzdesi Şekil 5'te gösterilmiştir. Bakterilerin en fazla dirençli oldukları antibiyotik sulfametaksazol (%92,45) olarak belirlenirken bunu ampisilin (%47,79) ve imipenem (%28,93) takip etmiştir. Bunun yanında rifampisin (%0,63) ise en etkili antibiyotik olarak tespit edilmiştir.



Şekil 5. Sediment ve su örneklerinden izole edilen bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç yüzdeleri ve dirençli bakteri sayıları (n:159)

Çiftliklerdeki balıklardan izole edilen bakterilerin antibiyotiklere karşı gösterdikleri dirençlilik ve direnç yüzdesi Şekil 6'da gösterilmiştir. Yapılan antibiyogram testi neticesinde bakterilerin hepsinin dirençli olduğu antibiyotik sulfametaksazol olarak belirlenirken, imipenem ve aztreonam antibiyotikleri (%95) ikinci sırada gelmektedir. En etkili antibiyotikler ise sırasıyla tetrasiklin (%12,5), oksitetrasiklin (%25) ve kloramfenikol (%25) olarak belirlenmiştir.

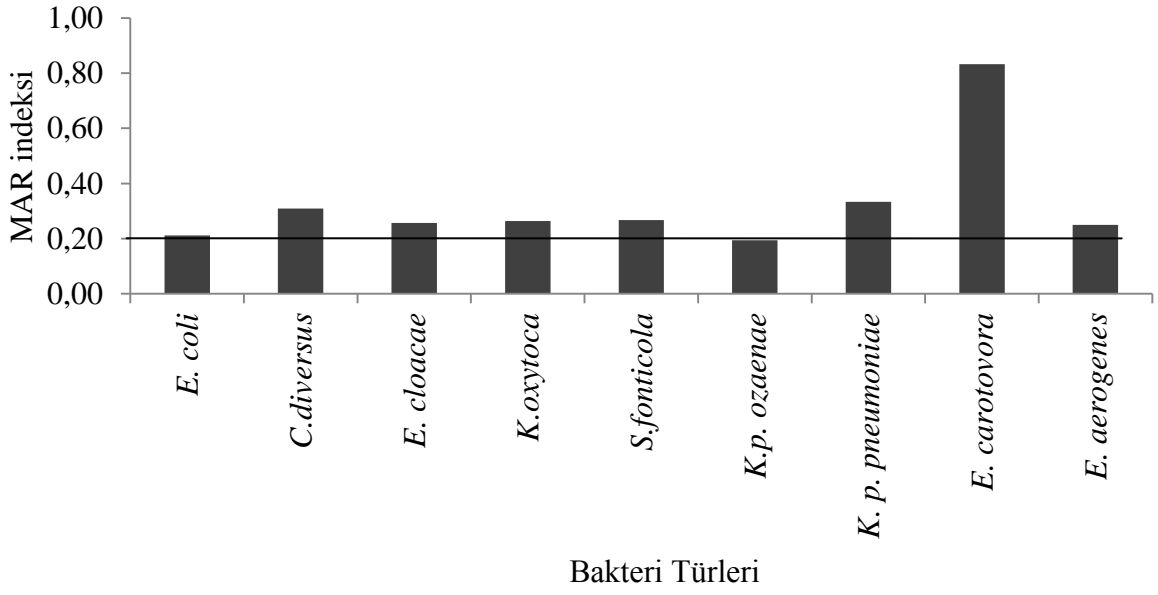


Şekil 6. Alabalık işletmelerindeki balıklardan izole edilen bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç yüzdeleri ve dirençli bakteri sayıları (n:24)

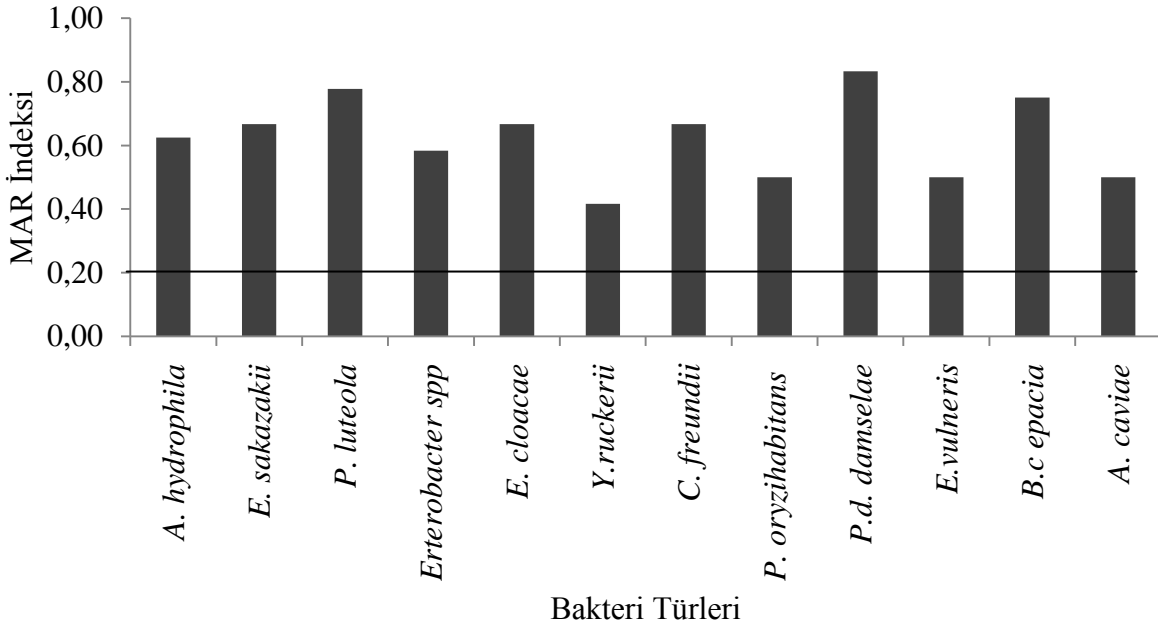
3.5. Çoğul Antibiyotik Direnç (MAR) İndeksi

Çoğul antibiyotik direnç (MAR) indeksi su ve sedimentten izole edilen tüm bakteri türlerinden sadece *E. carotovora* türü (n:1) test edilen 12 antibiyotikten 10 tanesine direnç gösterdiğinden dolayı en yüksek (0,83) değerdedir. En düşük MAR değerine ise *Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae* türü sahiptir (0,19). Türler için MAR değerleri Şekil 7’de gösterilmiştir. MAR indeksi değerlerine göre sadece *Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae* izolatları 0,2 kritik değerinin altında kalırken diğer türlerin hepsinin MAR indeksi değeri bu değerden daha fazla hesaplanmıştır.

Alabalık işletmelerindeki balıklardan izole edilen izolatlarda türler için MAR indeksi su ve sedimentten izole edilen bakteri türlerinin MAR indeksi değerlerinden daha fazla çıkmıştır. Balıklardan izole edilen bakterilerde en yüksek değer 4. işletmeden izole edilen *Photobacterium damsela damsela* izolatında 0,83 olarak hesaplanırken en düşük değer ise *Y. ruckerii*’de 0,42 olarak hesaplanmıştır. Balıklardan izole edilen bakteri türlerine ait hesaplanan MAR indeksi değerleri Şekil 8’de gösterilmektedir.



Şekil 7. Alabalık işletmelerinin sediment ve sularından izole edilen bakterilerin MAR indeksleri



Şekil 8. Alabalık işletmelerindeki balıklardan izole edilen bakterilerin MAR indeksleri

3.6. Antibiyotik Direnç Genlerinin Dağılımı

Alabalık işletmelerinin su ve sedimentleri ile çiftliklerdeki balıklardan izole edilen bakterilerde 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 genlerinin varlığı moleküler yöntemlerle araştırılmıştır. Türlerle ait direnç geni bulundurma durumu Tablo 11’de gösterilmiştir. Araştırma neticesinde su ve sedimentten izole edilen bakterilerde %37,74’lük oranla *ampC* geni en fazla rastlanan direnç geni olmuştur. *ampC* geninden sonra bakterilerde ikinci olarak en fazla rastlanan gen *tetA* (%18,87) genidir. Sulfanomid grubundan aranılan genler arasında %18,24 oranla en fazla *sul2* geni belirlenmiştir. Beta laktam grubunda ise *ampC* geninden sonra en fazla rastlanan genler *bla_{CTX-M1}* (%16,98) ve *bla_{TEM-OT12}* (%14,47) olmuştur. Kloramfenikol direnç geni (*cmlA*) su ve sedimentten izole edilen bakterilerin sadece %5,03’ünde bulunurken *Class1* integron %2,52’sinde tespit edilebilmiştir. Tüm bakterilerde *Class2* integron genine hiç rastlanmamıştır. Su ve sediment örneklerinden izole edilen 159 izolattan 109 tanesi (%68,55) en az bir tane antibiyotik direnç genine sahipken iki veya daha fazla direnç genine sahip olanların sayısı 67 (%42,1) tanedir. Sadece *Erwinia carotovora* suşunda taranan antibiyotik direnç genlerinden hiçbir tanesine rastlanmamıştır. İşletmelerdeki balıklardan izole edilen bakterilerden de antibiyotik direnç genleri araştırılmış ve sonuçları Tablo 12’de gösterilmiştir. Yapılan tarama neticesinde balıklardan izole edilen bakterilerin en az bir tanesi taranan genlerden en az bir tane taşıırken (*sul3* hariç) toplam bakterilerin %45,83’ünün *ampC* direnç genini buldukları tespit edilmiştir. Bu genden sonra en fazla rastlanan genler ise %33,3 oranlarında *cmlA* ve *bla_{TEM-OT12}* direnç genleri olmuştur. Ayrıca tür bazında incelendiğinde *P. luteola* ve *E. sakazakii*’nin 2’şer suşunda, *E. cloacae*’nin ve *A. hydrophila*’nın birer suşunda hiçbir antibiyotik direnç genine rastlanmazken *A. caviae*’de sadece *ampC* direnç geni tespit edilmiştir. Balıklardan izole edilen 24 bakteriden 17 tanesinin (%70,83) en az bir tane direnç genine sahip oldukları ve 16 tanesinin de (%66,67) iki veya daha fazla direnç genine sahip oldukları belirlenmiştir.

Tablo 11. Alabalık işletmelerinin su ve sedimentlerinden izole edilen bakteri türlerinde belirlenen 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>cml</i>	<i>bla</i> _{TEM-}	<i>bla</i> _{TEM-}	<i>bla</i>	<i>aad</i>	<i>bla</i>	<i>Class1</i>	<i>Class2</i>
			<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>C</i>	<i>A</i>	OT12	OT34	PSE	<i>A</i>	CTX-M1		
<i>E. coli</i>	109	68,55	16	15	4	15	3	20	5	49	-	11	6	-	-	23	-	-
<i>Citrobacter diversus</i>	14	8,81	4	2	1	1	-	4	-	5	1	2	1	-	1	2	1	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	13	8,18	2	-	-	6	2	-	-	1	5	6	1	2	2	-	2	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	12	7,55	7	-	-	1	-	4	-	1	1	3	2	-	1	1	1	-
<i>Serratia fonticola</i>	5	3,14	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K.pneumoniae ozaenae</i>	3	1,89	1	-	-	1	-	1	-	2	-	-	-	-	-	1	-	-
<i>K.pneumoniae pneumoniae</i>	1	0,63	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Erwinia carotovora</i>	1	0,63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	0,63	-	-	-	-	1	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-
Toplam	159	100	30	18	5	24	6	29	5	60	8	23	10	2	4	27	4	-

Tablo 12. Alabalık işletmelerindeki balıklardan izole edilen bakteri türlerinde belirlenen antibiyotik direnç genleri

Bakteri	N	%	Antibiyotik Direnç Genleri										İntegron					
			<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>cml</i> A	<i>bla</i> _{TEM-} OT12	<i>bla</i> _{TEM-} OT34	<i>bla</i> PSE	<i>aad</i> A	<i>bla</i> CTX-M1	Class1	Class2
<i>A. hydrophila</i>	6	25	1	3	1	-	2	2	-	1	1	2	1	2	3	1	2	1
<i>Enterobacter sakazakii</i>	4	16,6	-	-	-	2	2	-	-	2	2	-	-	-	-	2	-	1
<i>Pseudomonas luteola</i>	3	12,5	-	1	-	-	-	1	-	1	1	1	1	-	-	-	-	-
<i>Erterobacter spp.</i>	2	8,33	-	-	-	1	-	-	-	1	1	1	-	1	-	-	1	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	8,33	-	-	-	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-	1	-	1
<i>Yersinia ruckerii</i>	1	4,17	-	-	-	1	1	-	-	1	1	1	-	1	-	-	1	-
<i>Citrobacter freundii</i>	1	4,17	-	1	-	-	-	1	-	1	-	1	1	1	-	1	1	-
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	1	4,17	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
<i>Ph. damsela damsela</i>	1	4,17	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia vulneris</i>	1	4,17	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	4,17	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	-	-	1	1	-
<i>Aeromonas caviae</i>	1	4,17	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam	24	100	1	5	1	6	6	5	0	11	8	8	5	5	3	6	6	3

Alabalık işletmelerinden izole edilen bakterilerde antibiyotik direnç genlerinin taranması neticesinde bakterilerin direnç geni bulundurmalarının istasyonlara göre dağılımları Tablo 13'te gösterilmiştir. 2. işletmede amfenikol grubu antibiyotik direnç geni olan *cmlA* haricinde işletmelerin hepsinin tetrasiklin, sulfonamid, beta laktam, aminoglikozit ve amfenikol gruplarına ait direnç genlerinden en az birer tanesi tespit edilmiştir.

Tablo 13. Alabalık işletmelerinden izole edilen bakterilerde istasyonlara göre direnç geni bulundurma durumları

	<i>Antibiyotik Direnç Genleri</i>													
	<i>tet</i> <i>A</i>	<i>tet</i> <i>B</i>	<i>tet</i> <i>C</i>	<i>tet</i> <i>D</i>	<i>sul</i> <i>I</i>	<i>sul</i> <i>2</i>	<i>sul</i> <i>3</i>	<i>amp</i> <i>C</i>	<i>cml</i> <i>A</i>	<i>bla</i>		<i>aad</i> <i>A</i>	<i>bla</i> <i>CTX-M1</i>	
										TEM- OT12	TEM- OT34			
1. İST.	6	3	2	7	4	6	0	13	3	3	0	0	1	7
2. İST.	2	0	0	2	1	2	0	6	0	2	0	0	2	1
3. İST.	7	5	0	8	3	6	1	9	4	5	1	3	4	4
4. İST.	1	7	0	1	1	8	0	9	2	7	8	2	3	1
5. İST.	4	2	0	3	1	3	3	8	3	3	1	0	5	4
6. İST.	6	5	3	6	2	2	1	13	2	6	3	1	3	8
7. İST.	5	1	1	3	0	7	0	13	2	5	2	1	3	8

3.7. Plazmit Varlığı

Çalışma kapsamında su ve sediment örneklerinden izole edilen toplam 159 bakteri ve balıklardan izole edilen toplam 24 adet bakterinin plazmit içerip içermedikleri araştırılmıştır. Bu amaçla yapılan plazmit izolasyonu sonucunda su ve seimentten izole edilen bakterilerin 49 (%30,81) tanesinde ve balıklardan izole edilen bakterilerin ise sadece 3 tanesinde (%12,5) plazmit tespit edilmiştir. İzole edilen bakterilerden plazmit tespit edilenlerin bakteri türüne göre sayısı ve yüzdeleri Tablo 14'te gösterilmiştir. Tespit edilen plazmitlerin molekül büyüklüklerinin 2-10 kb arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Tablo 14. Alabalık işletmelerinden izole edilen bakterilerin plazmit profilleri

	Bakteri	Toplam Bakteri	Plazmit Tespit Edilen Suş Sayısı	Plazmit (%)
Su ve Sedimentten İzole Edilen Bakteriler	<i>E. coli</i>	109	38	34,86
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	12	5	41,67
	<i>Citrobacter diversus</i>	14	3	21,43
	<i>Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae</i>	3	1	33,33
	<i>Enterobacter cloacae</i>	13	1	7,69
	<i>Serratia fonticola</i>	5	1	20,00
	Balıklardan İzole Edilen Bakteriler	<i>Aeromonas hydrophila</i>	6	2
<i>Enterobacter sakazakii</i>		4	1	25,00

3.8. Konjugasyon

Çalışmada izole edilen bakterilerin plazmit profilleri belirlendikten sonra alıcı suş olarak kullanılan *E. coli* K12 J53-2 suşu ile verici olarak plazmit içeren bakterilerle yapılan konjugasyon (gen aktarımı) deneylerinde plazmit içeren türler (Tablo 14) ve bu türlerdeki alıcı suşa plazmitini aktarabilen verici bakteri sayısı Tablo 15'te gösterilmiştir. Bu durumda plazmit içeren *E.coli* türlerinin %36,8'i alıcı suşa plazmitlerini transfer etme yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir. 12 adet *Klebsiella oxytoca* izolatlarının ise 5 tanesinde plazmit belirlenmiştir ve bunların %75'inin aktarıldığı tespit edilirken, *C. diversus*'un 3 suşundan 1 tanesinin plazmit aktarabildiği tespit edilmiştir. Alabalık işletmelerindeki balıklardan izole edilen türlerden sadece *E. sakazakii*'nin plazmitini transfer edebildiği belirlenmiştir.

Tablo 15. Plazmit içeren bakterilerden plazmitini aktarabilen verici türler

Bakteri	Plazmit İçeren Bakteri Sayısı	Plazmit Aktarabilen Verici Bakteri Sayısı
<i>E.coli</i>	38	14
<i>K. oxytoca</i>	5	3
<i>C. diversus</i>	3	1
<i>E. sakazakii</i>	1	1

Gen transferi deneylerinden sonra elde edilen transkonjugant bakterilerde verici suşun bulundurduğu antibiyotik direnç genlerinin varlığı araştırılmış ve transfer edilebilir bazı antibiyotik direnç genleri belirlenmiştir (Tablo 16). Transfer edilebilir direnç genleri arasında en sık *ampC* genine rastlanırken bunu sırasıyla *bla*_{CTX-M1} ve *tetA* genleri takip etmiştir. *sul2*, *bla*_{TEM-OT12} ve *bla*_{TEM-OT34} genleri ise sadece T2 kodlu transkonjugant bakteride belirlenirken bu bakterinin 4 adet antibiyotik direnç geni edildiği tespit edilmiştir.

Tablo 16. Transkonjugant bakterilerde PCR ile tespit edilen direnç genleri

Kod	Verici Suş	Transkonjugantlarda Tespit Edilen Direnç Genleri					
		<i>tetA</i>	<i>sul2</i>	<i>ampC</i>	<i>bla</i> TEM-OT12	<i>bla</i> TEM-OT34	<i>bla</i> CTX-M1
T2	<i>E. coli</i>	-	+	+	+	+	-
T7	<i>E. coli</i>	-	-	+	-	-	+
T10	<i>E. coli</i>	-	-	+	-	-	+
T16	<i>E. coli</i>	-	-	+	-	-	+
T77	<i>E. coli</i>	+	-	+	-	-	-
T84	<i>E. coli</i>	-	-	+	-	-	-
T86	<i>E. coli</i>	-	-	+	-	-	-
T87	<i>E. coli</i>	-	-	+	-	-	-
T95	<i>E. coli</i>	-	-	+	-	-	-
T96	<i>E. coli</i>	-	-	+	-	-	+
T103	<i>K. oxytoca</i>	+	-	-	-	-	-
TE14	<i>E. sakazakii</i>	-	-	+	-	-	+

3.9. DNA Dizi Analizi Sonuçları

Sucul ortamdan izole edilen ve konjugasyon işlemlerinden sonra elde edilen transkonjugant bazı bakterilerin taşımış oldukları antibiyotik direnç genlerinin dizi analizleri ile veritabanındaki sekanslar ile karşılaştırılmış ve sekansı yapılan gen bölgeleri için %90-99 arasında benzerlik bulunmuştur.

4. TARTIŞMA

Bu çalışma Haziran 2010-Nisan 2011 tarihleri arasında Rize ve Trabzon illerindeki bazı alabalık işletmelerinin giriş ve çıkışlarındaki su ve sedimentler ile yetiştiriciliği yapılan balıklardan iki aylık periyotlarla örnekleme gerçekleştirelmıştır. Su kalite parametrelerinden sıcaklığın işletmeler arasında farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Su sıcaklığı işletmelerin giriş suları ile çıkış suları arasında da önemli farklılıklar göstermiştir. Su sıcaklığı örnekleme yapılan işletmelerin hepsinde alabalık yetiştiriciliği açısından uygun değerlerdedir. İşletmelerin su sıcaklık değerlerinin tüm örnekleme dönemi boyunca 25 °C 'den düşük olması Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliği'ne (YSKYY) göre sıcaklık parametresi yönünden her işletmenin I. sınıf su kalitesine sahip olduğu anlamına gelmektedir (YSKYY, 2012).

Avrupa Birliği Komisyonunun balık sağlığının korunması için gerekli su kalitesi standartları direktifinde (EC Direktifi), çözünmüş oksijen değerinin alabalıkların bulunduğu sularda 6 mg/l'den düşük olmaması gerektiği bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada işletmelerin hepsinde ve tüm örnekleme dönemlerinde suların çözünmüş oksijen seviyeleri çıkış sularında dahi EC direktiflerinde verilen çözünmüş oksijen değerlerine göre uygundur (URL-5, 2006). Ayrıca YSKYY kıtaçi yüzeysel su kaynakları kalite sınıflarına göre tüm işletmelerin çözünmüş oksijen değerleri açısından I. sınıf su kalitesine sahip olduğu belirlenmiştir (YSKYY, 2012).

EC direktiflerine göre alabalıklar için amonyum değerinin 1 mg/l'den daha düşük olması gerektiği bildirilmektedir (URL-5, 2006). Bu çalışmada işletmelerin giriş sularının amonyum değerleri incelendiğinde işletmelerin hiç birisinin amonyum konsantrasyonlarının sınır değerini aştığı görülmemiştir. İşletmelerin giriş sularındaki amonyum değerlerinin çıkış sularından daha az olması işletmelerdeki balıkların dışkılarından ve işletmede aşırı yemleme sonucu yemlerin tatlı su sistemlerinin dip kısımlarında birikerek orada parçalanmalarından amonyumun açığa çıkmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, Ağustos örneklemesindeki amonyum değerlerinin diğer örnekleme dönemlerindeki değerlerden fazla olması ise yaz aylarında dere sularının debilerinin düşmesi neticesinde ortamda bulunan konsantrasyonun artışından kaynaklandığı söylenebilir. İşletmelerde kullanılan suların amonyum değerleri kıtaçi yüzeysel su kaynaklarının kalite sınıflarına göre incelendiğinde ise 1. Sınıf su kalitesinde

amonyum değerinin 0,2 mg/l sınır değerinden küçük olması gerektiği bildirilmektedir. İşletmelerin giriş suları 1. işletmenin Ağustos ve Ekim, 2. İşletmenin Ağustos ayındaki amonyum değerleri hariç diğer tüm işletmelerde ve dönemlerde amonyum açısından 1. Sınıf su kalite değerline sahiptirler (YSKYY, 2012).

EC Direktiflerine göre pH değerinin sularda alabalıklar için 6-9 arasında olması gerektiği bildirilmiştir (URL-5, 2006). Bu çalışmada işletme sularının pH değerlerinin hiç birisi bu sınır değerlerinin dışına çıkmamıştır. YSKYY Kıtaıi Yüzeysel Su Kaynakları Kalite Kriterleri'ne göre ise I. ve II. sınıf su kalitesi değerleri arasındadır (YSKYY, 2012).

Nitrit (NO₂) konsantrasyonları alabalıklar için 0,01 mg/l değerine eşit veya bu değerden düşük olması gerektiği bildirilmiştir (URL-5, 2006). YSKYY Kıtaıi Yüzeysel Su Kaynakları Kalite Kriterlerine göre nitrit değeri açısından işletmelerin 1, 2 ve 3. Sınıf su kalitesinde sulara sahip oldukları söylenebilir. Nitrat değeri açısından ise işletmelerin çoğunluğu 1. Sınıf su kalitesine sahip iken bazı işletmeler ise özellikle Ağustos ayında 2. Sınıf su kalitesine sahip oldukları görülmüştür (YSKYY, 2012). İşletmelerin su kaliteleri askıda katı madde açısından değerlendirildiğinde işletme sularının 25 mg/l değerini genelde aşmamakla beraber 3. İstasyonda bu değeri bazı dönemlerde aşmıştır. Ayrıca bazı işletmelerin kış aylarında askıda katı madde miktarlarında artışlar olduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun örnekleme öncesi bölgede yağışın olması ve dere ışlah alışmalalarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Gedik vd.'nin (2009) Karadeniz Bölgesinin en büyük akarsularından olan Fırtına Deresinde yapmış oldukları çalışmada dere suyunun fizikokimyasal parametreler açısından özellikle alabalık yetiştiriciliği için uygun olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada ölçülen fizikokimyasal parametreler açısından işletme sularının alabalık yetiştiriciliği açısından söz konusu çalışma ile benzerlik göstermektedir. Özellikle işletmelerin çıkış sularındaki değerlerin farklılık göstermeleri işletmelerdeki balık yoğunluğuna ve kullanılan yemlerin hem sindirildikten sonra dışkı yoluyla hem de fazla yemin dibe okerek birikmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sucul ortamlardaki bakteriyolojik kirlenmeler, yerleşim alanlarındaki yoğun nüfus artışı, atıkların bilinçsizce alıcı ortama bırakılması, yetersiz ve eksik kanalizasyon sistemleri gibi birçok etkenden dolayı günden güne artmaktadır (olakoğlu, 2007). Yerleşim yerlerindeki atık suların arıtılmadan yüzey sularıyla seyrelmeye ve doğal biyolojik arıtıma bırakılması neticesinde bu suların alıcı ortama karışması sularda biyolojik kirlenmeye sebep olmaktadır (Koloren vd., 2011). Sularda biyolojik kirliliğin bir göstergesi olan koliform bakteriler insanların ve hayvanların bağırsaklarında bulunmakta

ve dışkı yoluyla alıcı ortama ulaşmaktadır (Alemdar vd., 2009). Koliform bakteriler bağırsak sisteminde bulduklarından ve çeşitli seviyelerde antibiyotiklere maruz kalmalarından dolayı çeşitli antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilmektedirler. Bu bakteriler direnç geni taşıdıklarından dolayı potansiyel bir tehdit olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu tip bakteriler hem su hem de sediment ortamlarından bulunabildiklerinden dolayı kolay direnç kazanma yeteneğine sahiptirler. Antibiyotik direnci dünyada her ortamda görülen ve hastalıkların tedavisinde genel bir sağlık problemidir (Danishta vd., 2010). Koliform bakteriler ise bu tedavilerde kullanılan antibiyotiklere karşı artan bir şekilde direnç geliştirmektedirler. Yapılan bu çalışmada alabalık işletmelerinden izole edilen koliform bakterilerin sayıları araştırılarak bu bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç seviyeleri ortaya çıkartılmıştır.

Kaçar (2011) yapmış olduğu çalışmada Ege Denizi'ne dökülen bazı akarsularda koliform bakteri kirliliğini araştırmış ve bahar mevsimlerinde bakteri sayısını 5×10^6 kob/100 ml olarak saymıştır. En fazla koliform sayısının $1,3 \times 10^6$ kob/100 ml olduğunu bildirmiştir. Ayrıca Hacıoğlu ve Dulger (2010) Çanakkale'de Sarıçay Deresi'nde yapmış oldukları çalışmada dere suyunun toplam koliform ve fekal koliform sayılarının 46461 ve 33103 EMS/100 ml olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacıların Çanakkale Biga Nehri'nde yapmış oldukları çalışmada (Hacıoğlu ve Dulger, 2009) toplam ve fekal koliform sayılarını sırasıyla 39381 ve 42500 EMS/100 ml olarak bildirip dere suyunun 4. Sınıf su kalitesine sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada en düşük toplam koliform sayısı 9, en yüksek toplam koliform sayısı ise 1380 EMS/100 ml olarak hesaplanmıştır. Dolayısıyla bu çalışmadaki işletmelere su sağlayan derelerdeki sular mikrobiyolojik sayı bakımından daha az kirlidir denilebilir. YSKYY Kıtaiçi Yüzeysel Su Kaynakları Kalite Kriterlerine göre, bu çalışmada araştırılan derelerin suları bakteriyolojik açıdan genel olarak 2. Sınıf su kalitesine sahiptir. İşletmelerin giriş kısımlarındaki su ve sediment örneklerindeki koliform bakteri sayılarının çıkış kısımlarındakinden daha az tespit edilmesi işletmelerdeki balıkların dışkılarından kaynaklanan bir kirlenmenin söz konusu olabileceğini göstermektedir.

Hadas vd. (2000) Ürdün Nehri'nin su ve sedimentinde fekal koliform bakterilerin miktarını araştırmışlardır. Çalışmada, sudaki fekal koliform bakterinin sayısı 481 CFU/100 ml olarak, sedimentte ise 2800 CFU/100 ml olarak bildirmişlerdir. Ayrıca Adıyaman'daki Gölbaşı Gölünde yapılan çalışmada (Toroglu ve Toroglu, 2009) gölün fekal koliform miktarının 100 EMS/100 ml değerinden daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu

çalışmada, işletmelerdeki su ve sedimentteki fekal koliform sayıları <3 - 1100 EMS/100 ml arasında değişiklik göstermiştir. Aynı zamanda işletmelerin giriş kısımlarının fekal koliform miktarı çıkış kısımlarından daha az olmakla beraber genellikle aynı işletmenin sedimentindeki bakteri sayısı sudaki bakteri sayısından fazla hesaplanmıştır. Bu durumun bakterilerin sedimentte bulunan küçük partiküllere yapışarak birikmesinden ve sedimentte daha fazla besin elementi bulunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Trabzon'da yapılan bir çalışmada (Sevim, 2005) derelerin fekal koliform kirliliğini araştırılmış ve derelerin suların sadece bir örnekte 240 EMS/100 ml olduğu bildirilmiş ve diğer tüm örneklerin 1100 EMS/100 ml değerinden yüksek olduğu bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada ise hiçbir dere suyunda ve hiçbir örnekleme döneminde 1100 EMS/100 ml fekal koliform seviyesinden daha fazla bulunmamıştır. Bunun sebebi derelerin ve örnekleme zamanlarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Obiri-Danso ve Jones'in (1999) İngiltere'deki Lune Nehri'nin fekal koliform bakterilerini araştırmışlar ve bakteri sayılarının mevsimsel olarak değişmediğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada fekal koliform bakımından mevsimlere göre bir artış ya da azalış olmaması bakımından söz konusu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Enterik bakterilerin sucul ortamda fazla bulunması bu ortamlara mikrobiyolojik kirliliğin meydana geldiğini göstermektedir. Bu bakterilerin kaynakları evsel, endüstriyel ve hayvansal atıklardır (Matyar vd., 2008; Torogu vd., 2005). Akbulut'un (2012) İstanbul'un güneybatı sahilinde yapmış olduğu çalışmada koliform bakterilerden en fazla *E. coli* (%49,3) izole edilirken bunu sırasıyla *Enterococcus faecalis* (%38,9), *Proteus mirabilis* (%9,6) ve *K. pneumoniae* (%2,2) takip ettiğini bildirmiştir. Başka bir çalışmada (Sivri ve Şeker, 2010) ise yine İstanbul'da en yaygın bulunan bakteri türünün *E. coli* (%36,7) olduğu bildirilmiştir. Toroglu vd. (2005) ise Aksu Nehri'nde yapmış oldukları çalışmada izole edilen bakterilerin %67,2 sini *E.coli*'nin oluşturduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise işletmelerin su ve sedimentlerinden izole edilen bakteri türleri *E.coli*, *C. diversus*, *E. cloacae*, *K. oxytoca*, *S. fonticola*, *K. pneumoniae subsp. ozaenae*, *K. pneumoniae subsp. pneumoniae*, *E. carotovora* ve *E. aerogenes*'tir. Bu bakterilerden *E. coli* %68,55 oranında en fazla izole edilen tür olmuştur. Bunu sırasıyla *C. diversus* (%8,81), *E. cloacae* (%8,18), *K. oxytoca* (%7,55), *S. fonticola* (%3,14) ve *K. pneumoniae subsp. ozaenae* (%1,89) takip ederken %0,63 oranlarda en az izole edilen türler *K. pneumoniae subsp. pneumoniae*, *E. carotovora* ve *E. aerogenes* olmuştur. Dolayısıyla yukarıda bahsi geçen çalışmalarla uyum gösterdiği görülmektedir. Ayrıca, Kayış (2009)

Rize ve Trabzon illerindeki bazı alabalık işletmelerindeki balıklardan izole ettiği bakteriler arasında *A. hydrophila*'nın sıklıkla bulunduğunu ve en çok izole edilen bakterinin yaz aylarında izole edildiğini bildirmiştir. Bu çalışmadaki balıklardan izole edilen türlerde de *A. hydrophila* %25'lik oranla ilk sırada yer alırken su sıcaklığının en yüksek olduğu Ağustos örneklemede en fazla tür izole edilmiştir. Alabalık işletmelerinden izole edilen bakteri türleri arasında halofilik bir bakteri olan *Photobacterium damsela damsela* izole edilmiştir. Bu bakteriyi 4. nolu istasyon olan araştırma ünitesinde izole edildiği dönemde deniz suyu kullanılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Literatürde deniz sularından, lagün, göl, deniz, dere, nehir ve içme sularından izole edilen bakterilerin antibiyotiklere karşı göstermiş oldukları direnç veya hassasiyetler ile ilgili birçok çalışma mevcuttur (Altuğ vd., 2007; Yardımcı, 2009; Toroglu vd., 2005; Su vd., 2011; Shah vd., 2012). Bu çalışmalar incelendiğinde bakterilerin izole edildikleri yer, zaman ve test edilen antibiyotiklerin ve konsantrasyonlarındaki farklılıklardan dolayı bakteriler arasında direnç farklılıkları gözlemlenmektedir. Bunun yanında yapılan çalışmalarda bakterilerin çoğunlukla birden fazla antibiyotiğe dirençli olduklarından bahsedilmektedir (Sivri vd., 2012; Matyar, 2012). Tao vd. (2010) Çin'de bir nehirden izole ettikleri *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerde bakterilerin en fazla ampisilin ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı dirençli olduklarını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada Rize ve Trabzon'daki bazı derelerden izole edilen bakterilerde bakterilerin ampisilin, streptomisin, trimetoprim ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı direnci sırasıyla %58, %51,9, %24 ve %28,4 olduğu bildirilmiştir (Ozgumus vd., 2009). Trabzon'daki derelerden izole edilen fekal koliform bakterilerde bakterilerin hepsinin en az bir antibiyotiğe dirençli olduğu ve bakterilerin en fazla ampisilin antibiyotiğine (%73) karşı direnç sergilediği tespit edilmiştir (Sevim, 2005). Ayrıca dere sularının aşırı kirli olduğu ve izole edilen bakterilerin %68'inde çoğul direnç gözlemlendiği bildirilmiştir. İskenderun körfezinde yürütülen bir başka çalışmada ise bakterilerin %93,2'sinin ampisilin antibiyotiğine karşı dirençli olduğu bildirilmiştir. Yürütülen bu çalışmada ise *Enterobacteriaceae* üyesi olan koliform bakterilerde en fazla direncin sulfametaksazol ve ampisilin antibiyotiklerine karşı olduğu belirlenmiştir. Toroglu vd. (2005) Aksu Nehri'nde yapmış oldukları çalışmada, *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerin çoğul antibiyotik dirençli olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise koliform bakterilerin %50'sinden fazlasının çoğul antibiyotik dirençli oldukları tespit edilmiştir. Çelik Sevim (2005) Rize'deki içme sularından izole ettikleri *E. coli* izolatlarında suşların %61,5'inin çoğul dirençli olduklarını ve en yüksek direncin

%48,7 ile sulbaktam-ampisiline karşı olduğunu ve bunu da %47 ile ampisilinin takip ettiğini bildirmiştir. Çalışmada bakterilerin en hassas olduğu antibiyotik kloramfenikol olarak rapor edilmiştir. Yürütülen bu çalışmada izole edilen *E.coli* izolatlarının %91,74'ünün sulfametaksazol antibiyotigine, %29,35 oranında ampisiline, %26,6 oranında imipeneme dirençli oldukları belirlenmiştir. İzole edilen *E. coli* izolatlarının hiçbir tanesi rifampisin antibiyotigine karşı dirençli bulunmazken kloramfenikole karşı direnç sadece %4,58 olarak tespit edilmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada su ve sediment örneklerinden izole edilen bakterilerden *E. cloacae* ve *S. fonticola* izolatlarının hepsinin sulfametaksazol ve ampisilin antibiyotiklerine karşı dirençli oldukları tespit edilmiştir. Bu çalışmada işletmelerin izole edilen bakterilerin antibiyotiklere karşı durumları hem Karadeniz Bölgesi'nde yapılan çalışmalarla hem de diğer bölgelerde yapılan çalışmalarla benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

İşletmelerin su ve sediment örneklerinden izole edilen bakterilerin yanında işletmelerdeki balıklarda bulunan bakterilerin de antibiyotiklere karşı direnç seviyeleri de bu çalışmada araştırılmıştır. Ampisilin, eritromisin, gentamisin, kanamisin, neomisin, oksolinik asit ve streptomisin Avrupa ve Türkiye'de yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerdir (Costello vd., 2001). Balık çiftliklerinde bu antibiyotikler yaygın olarak kullanılmalarına rağmen, bakterilerin bu antibiyotiklere karşı direnci %67 oranında olduğu bildirilmiştir (Kayış, 2009). Diğer taraftan su ürünleri yetistirciliğinde son yıllarda kullanımı yaygınlaşan amfenikol grubu antibiyotiklere karşı oldukça düşük bir direnç söz konusu olduğu bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada, balıklardan izole edilen bakterilerin hepsinin sulfametaksazol antibiyotigine karşı dirençli olduğu belirlenmiş olup bunu %95'lik oranla imipenem ve aztreonam takip etmiştir. Kloramfenikol direnci ise Kayış'ın (2009) belirttiği gibi düşük seviyelerdedir ve kloramfenikole karşı direnç %25 olarak belirlenmiştir. Türkiyede 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 en etkili antibiyotiklerin oksitetrasiklin ve enrofloksasin olduğunu bildirmişlerdir. Bunun yanında başka bir çalışmada gökkuşağı alabalığı işletmelerinden ve işletmelerdeki su örneklerinden izole edilen motil *Aeromonas* bakterilerinin oksitetrasiklin, streptomisin ve karbenisiline karşı dirençli oldukları bildirilmiştir (Durmaz ve Turk, 2009). Ayrıca sazan balıklarından izole edilen *A.*

hydrophila suşlarında bakterilerin ampisilin antibiyotiğine karşı dirençli oldukları bildirilmiştir (Ozturk vd., 2007). Kayış (2009) ise Doğu Karadeniz Bölgesinde yapmış olduğu çalışmada *A. hydrophila* suşlarının oksolinik asit ve streptomisin dışında kalan antibiyotiklere belli oranlarda direnç söz konusu olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada balıklardan izole edilen 6 adet *A. hydrophila* suşunun hepsi aztreonam ve sulfametaksazola karşı dirençli iken 5 suş da ampisiline karşı dirençli bulunmuştur. *A. hydrophila* suşlarına karşı en etkili antibiyotik kloramfenikol ve tetrasiklin olarak tespit edilmiştir. Suşların farklı antibiyotiklere farklı seviyelerde direnç sergilemesi bakterilerin izole edildiği yerlerin farklılığı ve zaman bakımından ayrı zamanlarda izole edildiklerinden dolayı olduğu düşünülmektedir. Sanders ve Sanders (1979), *E. cloacae* ve *C. freundii* benzeri bakterilere kromozomal beta-laktamazların geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı direnç geliştirdiklerini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada izole edilen *E. cloacae* ve *C. freundii* suşlarında da beta laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç tespit edilmesi dolayısıyla söz konusu çalışma ile uyum halinde olduğu belirlenmiştir.

Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan balıklarda hastalık oluşturan bakteriyel patojenler ile ilgili çalışmalarda *Yersinia ruckeri*, *Enterococcus seriolicida*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophyla*, *Aeromonas* spp., *L. garvieae*, *V. anguillarum* ve *Photobacterium damsela damsela* gibi balık patojenlerinin tetrasiklin, eritromisin, oksitetrasiklin, streptomisin ve ampisilin gibi antibiyotiklere karşı direnç oluşumu rapor edilmiştir (Kırkan vd., 2006; Aksit ve Kum, 2008; Kayış, 2009; Boran vd., 2013). Gerçekleştirilen bu çalışmada, bakteriler tarafından antibiyotiklere karşı oluşan direnç seviyelerinin florfenikol, oksitetrasiklin, tetrasiklin, kloramfenikol ve gentamisin dışındaki test edilen bütün antibiyotiklerde %50'den yüksek olması, ülkemizde bakteriyel hastalıkların tedavisinde gelecekte sorunlar yaşanacağını göstermektedir. Bu nedenle bakteriyel hastalıkların önlenmesinin gerekliliği, hijyen şartlarının sağlanması, balık veya yumurta nakillerinde dikkat edilmesi ve tedavi edici yeni ajanların kullanımına ağırlık verilmelidir.

Çoğul antibiyotik direnç (MAR) indeksi Krumperman (1983) tarafından geliştirilmiş bir kriter olup, sucul çevrenin ya da balıkların antibiyotiklere maruz kalmaları neticesinde ortamdaki bakterilerin direnç geliştirmelerini ifade eder ve indeksin 0,2'den yüksek olması ortamdaki bakterilerin aşırı bir kirliliğe maruz kaldığını gösterir. Yapılan birçok çalışmada MAR indeksi 0,2'den yüksek değerlerde bulunmuştur. Matyar (2012) Doğu Akdeniz sahillerinde yapmış oldukları çalışmada bu değer 0,2-0,75 arasında değiştiğini bildirirken, Su vd. (2011) Çin'in güneyindeki balık çiftliklerinden izole ettikleri

Enterobacteriaceae üyesi bakterilerde bu değeri 0,56 olarak bildirmişlerdir. Ayrıca, yayın balığı yetiştirilen 3 işletmeden izole edilen bakterilerde de MAR indeksi değerinin 0,36-0,62 arasında olduğu bildirilmiştir (Sarter vd., 2007). Yapılan bu çalışmada ise alabalık işletmelerinin su ve sedimentlerinden izole edilen koliform bakterilerde MAR indeksi değeri 0,19-0,83 arasında değişiklik gösterirken balıklardan izole edilen bakterilerde ise bu değer 0,42-0,83 arasında olduğu belirlenmiştir. Bu değerler incelendiğinde, MAR değerlerinin ne kadar yüksek olduğu görülmektedir. Sadece *Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae* izolatları için MAR değeri kritik değer olan 0,2'den düşük hesaplanmıştır. *Erwinia carotovora* ve *Photobacterium damsela damsela* için MAR indeksi değerleri 0,83 ile en yüksek seviyede hesaplanmıştır. Balıklardan izole edilen bakterilerden olan *Y. ruckerii* için en düşük MAR değeri olan 0,42 değeri yine de 0,2 olan eşik değer üzerinde hesaplanmıştır. Bu durum bu bakterilerin izole edildiği ortamların insani ve hayvansal yönden bir kirliliğe maruz kaldığının bir göstergesi olarak düşünülmektedir. Ayrıca balıklardan izole edilen bakterilerde MAR değerlerinin çok yüksek olması işletmelerde kullanılan farklı antibiyotiklerin etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Antibiyotiklerin dünya çapında bakteriyel hastalıklarla mücadele etmek için kullanıldığı bilinmektedir. Bu maddeler tedavi etme amaçlarının yanında antibiyotik dirençli bakterilerin ve doğal olarak antibiyotik direnç genlerinin yayılmalarına da sebep olmaktadır. Fakat antibiyotik dirençli bakteriler ve bunlara direnci sağlayan direnç genlerinin yayılmasında çevredeki bakterilerin önemi tam anlamıyla bilinmemektedir. Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç seviyelerinin klasik yöntemlerle belirlendiği bu çalışmada, moleküler genetik testler kullanılarak bakterilerin antibiyotik direnç genleri de belirlenmiştir. Literatürdeki son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde 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). Tetrasiklin direnç genlerinden çalışılan genlerin *tetA-E* arasında yoğunluk gösterdiği belirlenmiştir. Kuzeydoğu Karadeniz Bölgesi'ndeki derelerden izole edilen bakterilerde *tetA-E* genlerinin varlığı araştırılmış ve bakterilerin 8 tanesinde *tetA* ve 10 tanesinde de *tetB* geninin bulunduğu bildirilmiştir (Sandalli vd., 2010). Araştırmacılar aynı zamanda bir bakterinin hem *tetA* hem de *tetB* genini bulundurduğunu rapor etmişlerdir. Yine başka bir çalışmada, nehirlerden izole edilen bakterilerde tetrasikline karşı direnci sağlayan direnç genlerinden 4 farklı gen tespit edilmiş ve bunların arasında en fazla *tetA* ve *tetB* genine rastlandığı bildirilmiştir (Tao vd., 2007). Karadeniz Bölgesi'nde yapılan bir

çalışmada da musluk ve kaynak sularından izole edilen bakterilerde *tetA* geninin varlığı bildirilmiştir (Ozgumus vd., 2007). Bu çalışmada ise 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. İzole edilen bakterilerin %34'ü en az bir tane *tet* genine sahipken %8,8'i de birden fazla *tet* genine sahiptir. İşletmelerdeki su ve sedimentten izole edilen bakterilerin *tet* genleri bakımından bir rezervuar olabileceği düşünülmektedir. Balık çiftliklerinden izole edilen bakterilerde tetrasiklin direnç genlerinin varlığı Gram (-) bakterilerde Japonya, Kore, ABD ve Türkiye gibi ülkelerde (Furushita vd., 2003; Miranda vd., 2003; Kim vd., 2004; Nonaka vd., 2007; Balta vd., 2009, Boran vd., 2013) bildirilmiştir. Avustralya'daki su ürünleri yetiştiriciliği ortamında (Akinbowale., 2007a) ve Danimarka'daki balık çiftliklerinden izole edilen *Aeromonas* spp. izolatlarında da tetrasiklin direnç genlerinin varlığı rapor edilmiştir (Schmidt vd., 2001). Su ürünleri üretimi yapan işletmelerdeki balıklardan izole edilen bakterilerde taranan *tet* genleri ile yapılan çalışmalarda *Aeromonas* spp. türlerinde *tetA-E* genlerinin varlığı bildirilmiştir (Agersø vd., 2007). Doğu ve Batı Karadeniz bölgelerindeki balık çiftliklerinden izole edilen 44 adet *Y. ruckerii* suşlarının 16 tanesinin *tetA* ve 2 tanesinin de *tetB* direnç genleri taşıdığı bildirilmiştir (Balta vd., 2009). Bu çalışmada ise balıklardan izole edilen bakterilerde *tetA-D* genlerinden hepsine rastlanırken en fazla rastlanan genler *tetD* (%25) ve *tetB* (%20,8) olmuştur. *tetA* ve *tetC* genleri %4,2 oranında tespit edilmiştir. Balık çiftliklerindeki bakterilerde tetrasiklin direnç genlerinin belirlenmesi direnç genlerinin insanlara bulaşması bakımından bu alanların potansiyel risk kaynağı olabileceği düşünülmektedir.

Sulfanomid grubu antibiyotikler klinik kullanımda ilk geliştirilen antibiyotiklerden olup dihidropteroat sentezini (DHPS) hedef alan antibiyotiklerdir (Sköld, 2001). Çevresel bakterilerde 4 tip *sul* (*sul1*, *sul2*, *sul3* ve *sulA*) geni bulunmaktadır. *sul1* ve *sul2* genleri sığır çiftliklerinin sedimentlerindeki fekal orjinli bakterilerden (Srinivasan vd., 2005), su ürünleri yetiştirilen işletmelerin sediment ve sularındaki bakterilerden (Akinbowale vd., 2007b; Agersø ve Petersen, 2007) ve kirlenmemiş nehir ve deniz sularından izole edilen bakterilerden (Lin ve Biyela, 2005; Hu vd., 2008; Mohapatra vd., 2008) tespit edilmiştir. *sul* genlerinin yayılabildiği ve deniz suyu, nehir suyu ve atık sulardaki bakteriler arasında yatay olarak aktarılabildiği bildirilmektedir (Zhang vd., 2009). Kuzey Vietnam'da yapılan bir çalışmada (Phuong Hoa vd., 2008) atıksu ve karides örneklerinden izole edilen

bakterilerde en fazla *sul1* genine rastlanmıştır. *sul1* geninden sonra en fazla *sul2* genini tespit edilmiş ve en az *sul3* genini tespit edildiği bildirilmiştir. İzole edilen bakterilerin yalnızca %2'sinde 3 genin hepsinin tespit edildiği bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada ise işletmelerdeki 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. Sadece 2 adet *E.coli* izolatında *sul2* ve *sul3* genlerinin ikisi tespit edilmiştir. İşletmelerdeki balıklardan izole edilen bakterilerde ise en çok *sul1* (%25) ve *sul2* (%20,8) genlerine rastlanırken *sul3* genine hiç rastlanmamıştır. *A. hydrophila* suşlarından bir tanesi hem *sul1* hem de *sul2* genini taşıdığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre bakterilerde sulfonamid genlerinin bu kadar fazla tespit edilmesi bakterilerin sulfonamid antibiyotiklerine aşırı maruz kaldığını veya diğer bakterilerden direnci sağlayan genleri edinmiş olabileceği kanısına varılmıştır. Ayrıca bu bakterilerin buldukları ortamlarda bu genlerin yayılması açısından risk oluşabileceğinden de söz edilebilir.

Betalaktamlar ise geniş spektrumlu antibiyotikler olup canlılarda yoğun bir şekilde kullanılan antibiyotikler arasındadır. Bu yoğun kullanmanın sonucu olarak özellikle bilinçsiz antibiyotik kullanımı ve bu antibiyotiklerin atık olarak alıcı ortamlara ulaşması sebebiyle beta laktam antibiyotiklerine karşı dirençli bakterilerin hızla arttığı bilinmektedir. Ampisiline karşı direnç Gr (-) bakterilerde ilk olarak beta laktamazlar aracılığıyla meydana gelmektedir. Fakat TEM, SHV, PSE, OXA ve CTX-M tip beta laktamazlar da gram negatif bakterilerde direnç sağlayan genler arasındadır (Ishida vd., 2010). Bu genler arasında 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) genlerinin tespit edildiği bildirilmiştir. 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. Yapılan çalışmalar ile çalışmamızda elde edilen bulgular kıyaslandığında bu çalışmadaki su ve sediment örneklerinden izole edilen bakterilerde betalaktam 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 edilmiştir. Balıklardan izole edilen bakterilerde ise bu durum biraz daha farklıdır. Yine *ampC* geni en

fazla tespit edilen gen arasında olup bakterilerin %45,8'inden tespit edilmiştir. Bunu takiben en fazla rastlanılan genler *bla*_{TEM-OT12} (%33,3) ve *bla*_{CTX-M1} (%25) olmuştur. *bla*_{TEM-OT34} ve *bla*_{PSE}'nin ise rastlanma yüzdeleri %20,8'dir. Bu sonuçlar literatürdeki verilerle uyum halinde olup balık çiftliklerinin ve onun çevresindeki sucul ortamların direnç genlerinin yayılması ve bulaşması bakımından risk faktörü olarak karşımıza çıkabileceği kanısına varılmıştır. Hem işletmelerdeki balıklardan izole edilen bakterilerde hem de koliform bakterilerde *ampC* geninin en yüksek olarak tespit edilmesi sucul ortamlara hastanelerde, evlerde ve işletmelerde kullanılan antibiyotiklerin bulaşmaları ile bakterilerin direnç geni geliştirdiklerinin veya kazandıklarının bir göstergesi olabileceği söylenebilir.

Amfenikol grubu antibiyotiklerin su ürünlerinde kullanımı son yıllarda yaygınlaştığı bildirilmektedir (Kayış, 2009). Bu çalışmada bakterilerin kloramfenikol antibiyotiğine karşı sergilemiş oldukları direncin düşük olduğu tespit edilirken su ve sedimentten izole edilen bakterilerde *cmlA* geni sadece %5,03 oranında belirlenmiştir. Balıklardan izole edilen bakterilerde bu oran %33,33 olarak belirlenmiştir. Özellikle kloramfenikol ve florfenikol antibiyotiklerine karşı direncin daha henüz fazla gelişmemiş olmasından dolayı bu çalışmada diğer genlere oranla *cmlA* geni yüksek oranlarda tespit edilememiştir. Bu durum da bakterilerin henüz bu antibiyotiklere karşı direnç geliştiremedikleri anlamına geldiği düşünülmektedir.

İşletmelerden izole edilen bakterilerde antibiyotik direnç genlerinin istasyonlara göre dağılımlarında sadece 2. işletmeden izole edilen bakterilerde *cmlA* direnç geni tespit edilememiştir. Diğer tüm antibiyotik gruplarına ait direnç genlerinin en az birer tanesine tüm istasyonlardaki bakterilerde rastlanmıştır. Bu durum alabalık işletmelerinin sucul çevresinin ve işletmelerdeki balıkların antibiyotiklere maruz kalmasının bir göstergesi olup bu direnç genlerini diğer bakterilere de aktarılmasında önemli olabileceği kanısına varılmıştır.

Plazmitler bakterilerde kromozomal DNA'dan bağımsız replike olabilen ve bünyesinde antibiyotik ve ağır metal gibi direnç genlerini taşıyan ekstrakromozomal DNA parçalarıdır. Bu plazmitler antibiyotik ve ağır metal gibi genlerin bakteriler arasında taşınmasına ve bakterilerin plazmitler aracılığı ile antibiyotiklere direnç kazanmalarına sebep olmaktadır. Ozgumus vd. (2009) derelerden izole ettikleri bakterilerde 2,6-147 kb arasında değişen büyüklükte plazmitlerin varlığını bildirmişler ve bu plazmitler 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 bir *A. hydrophila* suşunun 1,375-21,226 kb arasındaki büyüklüklerde 3 plazmit içerdiği bildirilmiştir. Ayrıca diğer suşlarda birer tane plazmitin olduğu rapor edilmiştir. Literatürdeki çalışmalarda izole edilen bakterilerin hepsinin olmasa da belli kısmının değişik boyutlarda ve adetlerde plazmit içerdikleri bildirilmektedir (Ash vd., 2002; Aktan vd., 2013; Korun vd., 2013). Yapılan bu çalışmada ise su ve sedimetten izole edilen koliform bakterilerin %30,8'inin plazmit taşıdığı tespit edilirken, balıklardan izole edilen bakterilerde ise bu oran %12,5 olara tespit edilmiştir. Tür bazında incelendiğinde ise 109 *E.coli* izolatının 38 tanesinde plazmit tespit edilmiş ve 6 adet *A. hydrophila* suşunun ise 2 tanesinde plazmit belirlenmiştir. Plazmitlerin büyüklükleri 2-10 kb arasında değişiklik göstermiştir. Plazmit tespit edilen bakterilerden 38 adet *E. coli* suşundan 14 tanesinin konjugasyon deneyleri sonucunda plazmitlerini alıcı suş olan *E. coli* K12 J53-2 aktarabildikleri tespit edilirken 5 adet *K. oxytoca* suşunun ise 3 tanesinin aktarılabilirdiği belirlenmiştir. Diğer taraftan 3 *C. diversus* suşunun 1 tanesi ile 1 adet *E. sakazaki* plazmitlerini aktarabilmişlerdir. Aktarılabilen genler arasında birinci sırayı *ampC* geninin aldığı belirlenirken bunu *bla_{CTX-M1}* takip etmiştir. Bu çalışmada izole edilen bakterilerdeki plazmitlerin varlığı bakterilerin diğer bakterilerden plazmit edindikleri anlamına geldiği düşünülmektedir. Aynı zamanda *E. coli* gibi insan sağlığında önemli bir yere sahip olan bakteri türlerinde plazmitlerin varlığı plazmitlerin bakteriye direnç kazandırma özelliğinden dolayı bakteriyel hastalıkların antibiyotiklerle tedavilerinin zorlaşacağı anlamına gelebilir. Ayrıca bakteriler arasında gen alışverişi hem sucul ortamlarda hem de özellikle balık yetiştiriciliği gibi üretim çiftliklerinde dirençli bakterilerin artmasına ve antibiyotik tüketiminin artarak daha masraflı bir üretim söz konusu olabileceği düşünülmektedir.

5. SONUÇLAR

Doğu Karadeniz Bölgesinde Rize ve Trabzon illerindeki 7 farklı alabalık işletmesinin giriş ve çıkış sularının fiziksel, kimyasal ve bakteriyolojik kalitelerinin belirlenmesine ek olarak bu kısımlardaki su ve sediment örneklerinden ve işletmelerdeki balıklardan izole edilen bakterilerde antibiyotik direnci ve direnç genlerinin varlığı araştırılmıştır.

İşletmelerin su kalitesi açısından genel olarak 1. ve 2. Sınıf kalitede sulara sahip olduğu belirlenmiştir. Çoğu örnekleme döneminde işletmelerdeki giriş ve çıkış suları açısından su kalite parametrelerindeki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. İşletmelerin bazılarında yeterince hijyen ortamlarının sağlanmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca bazı işletmelerdeki balıkların ön büyütme dönemlerini tamamladıktan sonra baraj gölleri ve denizlerdeki kafes sistemlerine nakledildikleri belirlenmiştir. Bunun sonucu olarak da özellikle patojen bakterilerin ve antibiyotik dirençli bakterilerin farklı yerlere taşınabileceği belirlenmiştir.

İşletmelerden alınan su, sediment ve balık örnekleri laboratuvara getirildikten sonra izolasyon işlemlerine başlanmıştır ve izole edilen bakterilerin tür teşhisleri yapılmıştır. Su ve sedimentten izole edilen *Enterobacteriaceae* üyesi koliform bakterilerden 9 farklı bakteri türü olmak üzere toplam 159 izolat izole edilmiştir. Balıklardan ise 12 farklı bakteri türü izole edilmiştir. Koliform bakterilerden en fazla izole edilen türler *E.coli* olarak belirlenirken balıklardan izole edilenler arasında *A. hydrophila* ilk sırayı almıştır.

Yapılan örnekleme işlemlerinde izole edilen bakterilerin 12 farklı antibiyotiğe karşı direnç seviyelerinin belirlenmesi amacıyla antibiyogram testleri uygulanmış, koliform bakterilerde en yüksek direnç sulfametaksazol (%92,45) antibiyotiğine karşı iken bunu ampicilin (%47,79) ve imipenem (%28,93) takip etmiştir. Ayrıca balıklardan izole edilen bakterilerde ise en yüksek direnç yine sulfametaksazol olarak belirlenirken bunu %95'lik dirençle imipenem ve aztreonam antibiyotikleri takip etmiştir. Koliform bakterilerde en etkili antibiyotik rifampisin ve kloramfenikol olarak belirlenirken, balıklardan izole edilen bakterilerde ise tetrasiklin ve kloramfenikol en etkili antibiyotiklerdendir. Genel olarak bakterilerin gentamisin, kanamisin ve ceftriakson gibi antibiyotiklere karşı da dirençli oldukları belirlenmiştir. Bakterilerde çoğul antibiyotik direnç (MAR) indeksi *Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae* hariç diğer türlerin hepsinde 0,2 eşik değerinin üzerinde hesaplanmıştır.

İzole edilen bakterilerde antibiyotik direnç genlerinin varlığı araştırılmıştır. Koliform bakterilerin %37,74'ünün *ampC* direnç geni taşıdıkları tespit edilmiş ve bunu *tetA*, *sul2*, *bla_{CTX-M1}* ve *bla_{TEM-OT12}* direnç genleri takip etmiştir. Balıklardan izole edilen bakterilerin ise %45,83'ünün *ampC* direnç genini taşıdıkları tespit edilirken bunu *cmlA* ve *bla_{TEM-OT12}* takip etmiştir. Bakterilerin %70,8'inin en az bir tane direnç genine sahip oldukları ve %66,6'sıda iki veya ikiden fazla direnç genine sahip oldukları belirlenmiştir.

Bakterilerin plazmit bulundurup bulundurmamaları araştırılmış ve plazmit bulunduran suşların %36,54'ünün plazmitlerini alıcı suşa aktarabildiği tespit edilmiştir. Transfer edilebilir direnç genleri *ampC*, *bla_{CTX-M1}*, *tetA*, *sul2*, *bla_{TEM-OT12}* ve *bla_{TEM-OT34}* olarak belirlenmiştir. Sucul ortamın antibiyotik direnç geni bakımından bir rezervuar olabileceği ve dirençli bakterilerin direnç genlerini patojen bakterilere aktarmaları sebebiyle bakteriyel hastalıklarla mücadele gittikçe zorlaşacağı sonucuna ulaşılmıştır.

6. ÖNERİLER

Başta gıda olarak kullanılan ürünlerde olmak üzere zirai alanlarda antibiyotik kullanımını azaltmak son derece önemlidir. Çevre ya da gıdalardan antibiyotik direnç genlerinin alıcı ortamlara girişi sınırlandırılmazsa antibiyotik direnç problemleri çözülemeyecektir. Başta kültür balıkçılığı olmak üzere yetiştiricilik yapan işletmelerdeki canlıların bağışıklık sistemini kuvvetlendirmek ve gelişimini hızlandırmak için mevcut aşuların kullanımı, hijyen, probiyotik kullanımı gibi durumlar düşünülmelidir. Canlılar için türe özel antibiyotiklerin geliştirilmesine destek verilmeli ve lisanslı ilaçlar piyasaya sürülmelidir. Bilinçsizce ve aşırı antibiyotik kullanımının önüne geçilip özellikle hastane ve evlerde kullanılmayan antibiyotikler çevreye atılmamalıdır. Bu antibiyotikler alıcı ortamlara ulaştığında bu ortamlardaki bakteri populasyonlarının direnç kazanmasına sebep olmaktadır. Son zamanlarda antibiyotik dirençli patojenlerle savaşmak için yeni ajanların kesintisiz kullanımının sağlanmasına yönelik stratejiler geliştirilmelidir. Yeni antibiyotik geliştirme görevi açık bir şekilde ürkütücü görünmesine rağmen, özellikle Gr (-) bakteriler açısından yenilikçi metotlar ve ilkeler için araştırmalar devam etmelidir. Sonuç olarak doktorlar, çiftçiler, halk, siyasetçiler ve araştırmacılar gibi farklı alanlarda çalışan insanların antibiyotik direncinin yönetiminde çok çaba harcamaları gerekmektedir. Antibiyotik direnci hakkında insanların eğitilmeleri en önemli stratejilerden biri olmalıdır. Eczacılar, mikrobiyologlar, epidemiyoloji ve bulaşıcı hastalık uzmanları halkı bu konuda bilinçlendirmelidirler. Çiftçiler için acil olarak antibiyotik kullanım kuralları yapılmalıdır. Antibiyotiklere alternatif olarak aşı, bakteriosin, antimikrobiyal peptit ve bakteriyofajlar kullanılmalıdır. Ayrıca çiftçiler işletmelerinde hijyen kurallarına dikkat etmelidirler. Havuzların temizlenmesi ve dezenfeksiyonu son derece önemlidir. Ayrıca su ürünleri yetiştiricilik işletmeleri arasında balık veya yavru nakilleri yapılırken bu canlıların hastalıktan ari olması gerekmektedir. Araştırmacılar hastanelerde, hayvanlarda ve çevredeki antibiyotik direnci ve direnç genleri ile ilgili çalışmalarını arttırmalıdır. Direnç genlerinin belirlenmesinde yeni, etkili ve hızlı moleküler teknikler geliştirilmelidir. Sonuç olarak toplumun her kesimi antibiyotiklerin etkinliğinin farkında olup burada üzerlerine düşen görevleri yerine getirdikleri takdirde antibiyotik direncinin en aza indirilmesi hususunda başarı elde edilebilir.

7. KAYNAKLAR

- Agersø, Y. ve Petersen, A., 2007. The Tetracycline Resistance Determinant *Tet 39* and the Sulphonamide Resistance Gene *SulIII* are Common among Resistant *Acinetobacter* spp. Isolated from Integrated Fish Farms in Thailand, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 59, 23-27.
- Agersø, Y., Bruun, M.S., Dalsgaard, I. ve Larsen, J.L., 2007. The Tetracycline Resistance Gene *tet(E)* is Frequently Occurring and Present on Large Horizontally Transferrable Plasmids in *Aeromonas* spp. from Fish Farms, Aquaculture, 266, 47-52.
- 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.
- Akbulut, V., 2012. İstanbul Güneybatı Sahili'nden İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarında Antibiyotik Direnç Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- 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.
- Akkan, T., Kaya, A. ve Dinçer, S., 2013. Antibiotic Levels and Heavy Metal Resistance in Gram-Negative Bacteria Isolated from Seawater, Iskenderun Organized Industrial Zone, Journal of Applied Biological Sciences, 7,1, 10-14.
- Akman, Y., Ketenoğlu, O., Evren, H., Kurt. ve L., Düzenli, S., 2004. Çevre Kirliliği, Çevre Biyolojisi, Palme Yayıncılık, Ankara, 299 s.
- 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.

- Alcaide, E. ve Garay, E., 1984. R-Plasmid Transfer in *Salmonella* spp. Isolated from Waste Water and Sewage Contaminated Surface Waters, Applied and Environmental Microbiology, 48, 435-438.
- Alemdar, S., Kahrama, T., Ağaoğlu, S. ve Alişarlı, M., 2009. Bitlis İli İçme Sularının Bazı Mikrobiyolojik ve Fizikokimyasal Özellikleri, Ekoloji ve Çevre Koruma, 19,73, 29-38.
- 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, Journal of Applied Bacteriology, 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.
- Altherr, M.R. ve Kasweck, K.L., 1982. In Situ Studies with Membrane Diffusion Chambers of Antibiotic Resistance Transfer in *Escherichia coli*, Applied and Environmental Microbiology, 44, 838-843.
- Altuğ, G., Çardak, M. ve Çiftçi P.S., 2007. Frequency Of Heavy Metals And Beta-Lactam Antibiotic Resistance of Enterobacteriaceae Members Isolated from Different Aquatic Environments, 38th CIESM, İstanbul, Türkiye, April, Conference Proceedings, 341 s.
- Altuğ, G., Yardimci, C.H., Okgerman, H. ve Tarkan, A.S., 2006. Levels of Bacterial Metabolic Activity, Indicator (Coliform, *Escherichia coli*) and Pathogen Bacteria (*Salmonella* spp.) in the Surface Water of Sapanca Lake, Turkey, Journal of the Black Sea/Mediterranean Environment, 12, 67-77.
- 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.
- Anthony, F., Acar, J., Franklin, A., Gupta, R., Nicholls, T., Tamura, Y., Thompson, S., Threlfall, E.J., Vose, D., Van Vuuren, M. ve White, D.G., 2001. Antimicrobial Resistance: Responsible and Prudent Use of Antimicrobial Agents in Veterinary Medicine, Scientific and Technical Review, 20,3, 829-839.

- Aoki, T., 1997. Resistance Plasmids and the Risk of Transfer, In: Furunculosis: Multidisciplinary Fish Disease Research, Academic Press, London, 433-440.
- A.P.H.A., 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, American Public Health Association, Washington, DC, USA, 1325 s.
- 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.
- Armstrong, J.L., Shigeno, D.S., Calomiris, J.J. ve Seidler, R.J., 1981. Antibiotic Resistant Bacteria in Drinking Water, Applied and Environmental Microbiology, 42,2, 277-283.
- Arvanitidou, M., Papa, A., Constantinidis, T.C., Danielides, V. ve Katsouyannopoulos, V., 1997. The Occurrence of *Listeria* spp. and *Salmonella* spp. in Surface Waters, Microbiological Research, 152,4, 395-397.
- 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.
- Baya, A.M., Brayton, P.R., Brown, V.L., Grimes, D.J., Russek-Cohen, E. ve Colwell, R.R., 1986. Coincident Plasmids and Antimicrobial Resistance in Marine Bacteria Isolated from Polluted and Unpolluted Atlantic Ocean Samples, Applied and Environmental Microbiology, 51, 1285-1292.
- Bell, J.B., Macrae, W.R. ve Elliot, G.E., 1980. Incidence of R Factors in Coliform, Fecal Coliform, and *Solmonella* Populations of the Red River in Canada, Applied and Environmental Microbiology, 40, 486-491.
- 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. ve Bylund, G., 1990. Residues of Oxytetracycline in Wild Fish and Sediments from Fish Farms, Aquaculture, 86, 359-367.

- Blake, P.A., Merson, M.H., Weaver, R.E. ve Hollis, D.G., 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.
- Bruun, M.S., Schmidt, A.S., Dalsgaard, I. ve Larsen, J.L., 2003. Conjugal Transfer of Large Plasmids Conferring Oxytetracycline Resistance: Transfer between Environmental Aeromonads, Fish-Pathogenic Bacteria, and *Escherichia coli*, Journal of Aquatic Animal Health, 15,1, 69-79.
- Bush, K., Courvalin, P., Dantas, G., Davies, J. ve Eisenstein, B., 2011. Tackling Antibiotic Resistance, Nature Reviews Microbiology, 9,12, 894-896.
- Campagnolo, E.R., Johnson, K.R., Karpati, A., Rubin, C.S., Kolpin, D.W., Meyer, M.T., Esteban, J.E., Currier, R.W., Smith, K., Thu, K.M. ve McGeehin, M., 2002. Antimicrobial Residues in Animal Waste and Water Resources Proximal to Large-Scale Swine and Poultry Feeding Operations, Science of the Total Environment, 299, 89-95.
- Cappuccino, J.C. ve Sherman, N., 1992. Microbiology: A Laboratory Manual, Third Ed., Benjamin/Cummings Publishing Company, New York, 125-179.
- Cardoso, A.M., Coutinho, F.H., Silveira, C.B., Ignacio, B.L. ve Vieira, R.P., 2012. Metagenomics in Polluted Aquatic Environments, In: Water Pollution, InTech, China, 89-104.
- Casewell, M., Friis, C., Marco, E., McMullin, P. ve Phillips, I., 2003. The European Ban on Growth-Promoting Antibiotics and Emerging Consequences for Human and Animal Health, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 52, 159-161.
- Chandrakanth, R.K, Raju, S. ve Patil, S.A., 2008. Aminoglycoside resistance Mechanisms in Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates, Current Microbiology, 56, 558-562.

- CLSI, 2011. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twenty-First Informational Supplement, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA, 172 s.
- Col, N.F. ve O'Connor, R.W., 1987. Estimating Worldwide Current Antibiotic Usage: Report of Task Force 1, Reviews of Infectious Diseases, 9, 232-243.
- Colomer-Lluch, M., Jofre, J. ve Muniesa, M., 2011. Antibiotic Resistance Genes in the Bacteriophage DNA Fraction of Environmental Samples, Public Library of Science One, 6,3, e17549.
- Cooke, M.D., 1976. Antibiotic Resistance among Coliform and Fecal Coliform Bacteria Isolated from Sewage, Seawater and Marine Shell Fish, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 9, 879-944.
- Costello, M.J., Grant, A., Davies, I.M., Cecchini, S., Papoutsoglou, S., Quigley, D. ve Saroglia, M., 2001. The Control of Chemicals Used in Aquaculture in Europe, Journal of Applied Ichthyology, 17,4, 173-180.
- Courvalin, P., 1994. Transfer of Antibiotic Resistance Genes between Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 38,7, 1447-1451.
- Coyne, R., Hiney, M., O'Connor, B., Kerry, J., Cazabon, D. ve Smith, P., 1994. Concentration and Persistence of Oxytetracycline in Sediments under a Marine Salmon Farm, Aquaculture, 123, 31-42.
- Çardak, M., 2009. İstanbul Boğazı'ndan İzole Edilen Enterobacteriaceae Üyelerinin Dağılımı ve Ağır Metal Dirençliğinin Araştırılması, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Çelik Sevim, E., 2005. Rize İli ve Çevresindeki İçme Sularından İzole Edilen Escherichia coli Suşlarında Aktarılabilir Direnç ve Tem-Tipi B- Laktamaz Genlerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Çiftçi, P.S., Çardak, M. ve Altuğ, G., 2011. The Levels of Indicator Bacteria Transported to the Black Sea by the Sakarya River (Karasu Region), Journal of the Black Sea/Mediterranean Environment, 17, 56-66.
- 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.
- 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.

- Dahlberg, C., Bergström, M. ve Hermansson, M., 1998. In Situ Detection of High Levels of Horizontal Plasmid Transfer in Marine Bacterial Communities, Applied and Environmental Microbiology, 64, 2670-2675.
- Dancer, S.J., Shears, P. ve Platt, D.J., 1997. Isolation and Characterization of Coliforms from Glacial Ice and Water in Canada's High Arctic, Journal of Applied Microbiology, 82, 597-609.
- 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.
- Davidson, J., 1999. Genetic Exchange between Bacteria in the Environment, Plasmid, 42, 73-91.
- DePaola, A., Peeler, J.T. ve 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.
- Dethlefsen, L., Huse, S., Sogin, M.L. ve Relman, D.A., 2008. The Pervasive Effects of an Antibiotic on the Human Gut Microbiota, as Revealed by Deep 16S rRNA Sequencing, Public Library of Science One Biology, 6,11, e280.
- 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.
- Du, X., Shen, Z., Wu, B., Xia, S. ve Shen, J., 2005. Characterization of Class 1 Integrons-Mediated Antibiotic Resistance among Calf Pathogenic *Escherichia coli*, FEMS Microbiology Letters, 245,2, 295-98.
- DuPont, H.L. ve Steele, J.H., 1987. Use of Antimicrobial Agents in Animal Feeds: Implications for Human Health, Reviews of Infectious Diseases, 9, 447-460.
- 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.
- Filipova, M., Bujdakova, H., Drahovska, H., Lisková, A. ve Hanzen, J., 2006. Occurrence of Aminoglycoside-Modifying-Enzyme Genes *aac(6')*-*aph(2'')*, *aph(3')*, *ant(4')* and *ant(6)* in Clinical Isolates of *Enterococcus faecalis* Resistant to High-Level of Gentamicin and Amikacin, Folia Microbiologica, 51, 57-61.

- 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.
- Fonseca, E., Vieira, V.V., Cipriano, R. ve Vicente, A.C.P., 2005. Class 1 Integrons in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Clinical Settings in Amazon Region, Brazil, FEMS Immunology and Medical Microbiology, 44, 303-309.
- Frerichs, G.N., 1984. Isolation and Identification of Fish Bacterial Pathogens, Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland, 74 s.
- 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.
- Furushita, M., Shiba, T., Maeda, T., Yahata, M., Kaneoka, A., Takahashi, Y., Torii, K., Hasegawa, T. ve Ohta, M., 2003. Similarity of Tetracycline Resistance Genes Isolated from Fish Farm Bacteria to those from Clinical Isolates, Applied and Environmental Microbiology, 69, 5336-5342.
- Gedik, K., Verep, B., Terzi, E. ve Fevzioglu, S., 2010. Determination of Water Quality of Firtina Stream (Rize) in terms of Physico-Chemical Structure, Ekoloji, 19, 76, 25-35.
- 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.
- Goni-Urriza M., Capdepuuy, M., Arpin, C., Raymond, N., Caumette, P. ve Quentin, C., 2000. Impact of Urban Effluent on Antibiotic Resistance of Riverine *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas* spp., Applied and Environmental Microbiology, 66, 125-132.
- Grave, K., Torren-Edo, J. ve McKay, D., 2010. Comparison of the Sales of Veterinary Antibacterial Agents between 10 European Countries, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 65, 2037-2040.
- 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.
- Guardabassi, L., Petersen, A., Olsen, J.E. ve Dalsgaard, A., 1998. Antibiotic Resistance in *Acinetobacter* spp. Isolated from Sewers Receiving Waste Effluent from a Hospital and a Pharmaceutical Plant, Applied and Environmental Microbiology, 64, 3499-3502.
- Guillaume, G., Verbrugge, D., Chasseur-Libotte, M.L., Moens, W. ve Collard, J., 2000. PCR Typing of Tetracycline Resistance Determinants (*tet A-E*) in *Salmonella enterica* Serotype Hadar and in the Microbial Community of Activated Sludges from Hospital and Urban Wastewater Treatment Facilities in Belgium, FEMS Microbiology Ecology, 32, 77-85.
- Gul-Seker, M. ve Mater, Y., 2009. Assessment of Metal and Antibiotic-Resistance in Marine Bacteria Isolated from İzmit Bay and Bosphorus Entrance of Marmara and Black Sea, Turkey, Fresenius Environmental Bulletin, 18,11A, 2195-2202.
- Güler, Ç. ve Çobanoğlu, Z., 1994. Su Kirliliği, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi, No:12, Ankara.
- Hacioglu, N. ve Dulger, B., 2009. Monthly Variation of Some Physico-Chemical and Microbiological Parameters in Biga Stream (Biga, Canakkale, Turkey), African Journal of Biotechnology, 8,9, 1929-1937.
- Hacioglu, N. ve Dulger., B., 2010. Monthly Variation of Some Physico-Chemical and Microbiological Parameters in Saricay Stream (Canakkale, Turkey), Fresenius Environmental Bulletin, 19,5A, 986-990.
- Hacker, J., Blum-Oehler, G., Muhldorfer, I. ve Tschape, H., 1997. Pathogenicity Islands of Virulent Bacteria: Structure, Function and Impact on Microbial Evolution, Molecular Microbiology, 23, 1089-1097.
- Hadas, O., Shteinman, B. ve Pinkas, R., 2000. Distribution of Fecal Coliforms in the Jordan River Mouth Originating from Anthropogenic Activities in the Watershed, Water Science & Technology, 42,1-2, 129-133.
- Hall, R.M. ve Collis, C.M., 1995. Mobile Gene Cassettes and Integrons: Capture and Spread of Genes by Site-Specific Recombination, Molecular Microbiology, 15, 593-600.
- Halling-Sørensen, B., Nors, N.S., Lanzky, P.F., Ingerslev, F., Holten Lützhøft, H.C. ve Jørgensen, S.E., 1998. Occurrence, Fate and Effects of Pharmaceutical Substances in the Environment, A review, Chemosphere, 36, 357-393.
- Halpern, B. S., Walbridge, S., Selkoe, K. A., Kappel, C. V. ve Micheli, F., 2008. A Global Map of Human Impact on Marine Ecosystems, Science, 319, 5865-948.

- Halverson, M., 2000. The Price We Pay for Corporate Hogs, Institute for Agriculture and Trade Policy, Minneapolis, USA, 154 s.
- Hammerum, A.M., Heuer, O.E., Emborg, H.D., Bagger-Skjot, L., Jensen, V.F., Rogues, A. M., Skov, R.L., Agero, Y., Brandt, C.T., Seyfarth, A.M., Muller, A., Hovgaard, K., Ajufo, J., Bager, F., Aarestrup, F.M., Frimodt-Moller, N., Wegener, H.C. ve Monnet, D.L., 2007. Danish Integrated Antimicrobial in Resistance Monitoring and Research Program, Emerging Infectious Diseases, 13, 1632-1639.
- Hancock, R.E., 1998. Resistance Mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and Other Nonfermentative Gram-Negative Bacteria, Clinical Infectious Diseases, 27, S93-S99.
- Hernandes Coutinho, F., Pinto, L.H., Vieira, R.P., Martins, O.B., Salloto, G.R.B., Santoro, D.O., Clementino, M.M. ve Cardoso, A.M., 2013. Antibiotic Resistance in Aquatic Environments of Rio de Janeiro, Brazil, in Perspectives in Water Pollution, InTech, China, 1-22.
- 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., Haberer, K. ve Kratz, K.L., 1999. Occurrence of Antibiotics in the Aquatic Environment, Science of the Total Environment, 225, 109-118.
- 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
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. ve Williams, S.T., 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, MD, 84 s.
- Hu, J.Y., Shi, J.C., Chang, H., Li, D., Yang, M. ve Kamagata, Y.C., 2008. Phenotyping and Genotyping of Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* Isolated from a Natural River Basin, Environmental Science & Technology, 42, 3415-3420.
- 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.

- Jernberg, C., Löfmark, S., Edlund, C. ve Jansson, J.K., 2007. Long-term Ecological Impacts of Antibiotic Administration on the Human Intestinal Microbiota, The ISME Journal, 1,1, 56-66.
- 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.
- Jones, J.G., Gardener, S., Simon, B.M. ve Pickup, R.W., 1986. Antibiotic Resistant Bacteria in Windermere and Two Remote Upland Tarns in the English Lake District, Journal of Applied Bacteriology, 60, 443-453.
- Kaçar, A., 2011. Analysis of Spatial and Temporal Variation in the Levels of Microbial Fecal Indicators in the Major Rivers Flowing into the Aegean Sea, Turkey, Ecological Indicators, 11,5, 1360-1365.
- Karagül, R., Samandar, A., Yılmaz, M., Altun, L. ve Gedikli, R., 2005. Evaluating the Seasonal Changes of Some Water Quality Parameters of the Büyük Melen River Basin (Düzce, Turkey), Journal of Environmental Biology, 26,2, 179-185.
- 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.
- Kelch, W.J. ve Lee, J.S., 1978. Antibiotic Resistance Patterns of Gram-Negative Bacteria Isolated from Environmental Sources, Applied and Environmental Microbiology, 36,3, 450-456.
- 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.
- Kim, S.R., Nonaka, L. ve Suzuki, S., 2004 Occurrence of Tetracycline Resistance Genes *tet(M)* and *tet(S)* in Bacteria from Marine Acquaculture Sites, FEMS Microbiology Letters, 237, 147-156.
- Kim, Y.H., Jun, L.J. ve Park, S.H., 2007. Prevalence of *Tet(B)* and *Tet(M)* Genes among Tetracycline Resistant *Vibrio* spp. in the Aquatic Environments of Korea. Diseases of Aquatic Organisms, 75, 209-216.

- Kimiran-Erdem, A., Arslan, E.O., Sanli Yurudu, N.O., Zeybek, Z., Dogruoz, N. ve Cotuk, A., 2007. Isolation and Identification of Enterococci from Seawater Samples: Assessment of their Resistance to Antibiotics and Heavy Metals, Environmental Monitoring and Assessment, 1,3, 219-228.
- 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.
- 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.
- Krieg, N.R. ve Holt, J.G., 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams and Wilkins, Baltimore, 964 s.
- 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, 46,1, 165-170.
- Kruse, H. ve Sorum, H., 1994. Transfer of Multiple Drug Resistance Plasmids between Bacteria of Diverse Origins in Natural Microenvironments, Applied and Environmental Microbiology, 60,11, 4015-4021.
- Kümmerer, K., 2009. Antibiotics in the Aquatic Environment-A review- Part I, Chemosphere, 75,4, 417-434.
- Lai, H.T., Liu, S.M. ve Chien, Y.H., 1995. Transformation of Chloramphenicol and Oxytetracycline in Aquaculture Pond Sediments, Journal of Environmental Science and Health Part A, 30, 1897-1923.
- Lasee, B.A., 1995. *Introduction to Fish Health Management*, U.S. Fish and Wildlife Service La Crosse Fish Health Center 555, Lester Avenue Onalaska, Wisconsin, 54650.
- Lawrence, J. G., 1997. Selfish Operons and Speciation by Gene Transfer, Trends Microbiology, 5, 355-359.
- Lederberg, J. ve Tatum, E. L., 1946. Gene Recombination in *Escherichia coli*, Nature, 158, 558-560.
- Lennette, E.I.L., Balows, A., Mausler, W.J. ve Shadomy, H.J., 1985. *Manual of Clinical Microbiology*, American Society for Microbiology, Washington, 655 s.
- 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., 1998. The Challenge of Antibiotic Resistance, Scientific American, 278, 32-39.

- Levy, S.B., McMurry, L.M. ve Barbosa, T.M., 1999. Nomenclature for New Tetracycline Resistance Determinants, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 43, 1523-1524.
- Levy, S.B. ve Marshall, B., 2004. Antibacterial Resistance Worldwide: Causes, Challenges and Responses, Nature Medicine Supply, 10, 122-129.
- Li, X.Z., Mehrotra, M. ve Ghimire, S., 2007. β -Lactam Resistance and β -lactamases in Bacteria of Animal Origin, Veterinary Microbiology, 121, 197-214.
- Lin, J. ve Biyela, P.T., 2005. Convergent Acquisition of Antibiotic Resistance Determinants amongst the *Enterobacteriaceae* sp. Isolates of the Mhlathuze River, KwaZulu-Natal (RSA), Water SA, 31, 257-260.
- Liu, Y.F., Wang, C.H. ve Janapatla, R.P., 2007. Presence of Plasmid pA15 Correlates with Prevalence of Constitutive MLSB Resistance in Group A Streptococcal Isolates at a University Hospital in Southern Taiwan, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 59, 1167-1170.
- Livermore, D.M., 1996. Are All Beta-Lactams Created Equal?, Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 101, 33-43.
- Machado, E., Canton, R., Baquero, F., Galan, J.C., Rollan, A., Peixe, L. ve Coque, T.M., 2005. Integron Content of Extended Spectrum β -lactamase Producing *Escherichia coli* Strains over 12 years in a Single Hospital in Madrid, Spain, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 49, 1823-1829.
- Mackie, R.I., Koike, S. ve Krapac, I., 2006. Tetracycline Residues and Tetracycline Resistance Genes in Groundwater Impacted by Swine Production Facilities, Animal Biotechnology, 17, 157-176.
- Mahillon, J., Léonard, C. ve Chandler, M., 1999. IS Elements as Constituents of Bacterial Genomes, Research in Microbiology, 150, 675-687.
- Martínez, J.L., 2008. Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Natural Environments, Science, 321, 365-367.
- Martínez, J.L., 2009. Environmental Pollution by Antibiotics and Antibiotic Resistance Determinants, Environmental Pollution, 157,11, 2893-2902.
- 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.
- Martínez, J.L., Farjado, A., Garmendia, L., Hernandez, A., Linares, J.F., Martínez-Solano, L. ve Sánchez, M.B., 2009. A Global View of Antibiotic Resistance, FEMS Microbiology Reviews, 33,1, 44-65.

- Matyar, F., 2012. Antibiotic and Heavy Metal Resistance in Bacteria Isolated from the Eastern Mediterranean Sea Coast, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 89, 551-556.
- Matyar, F., Akkan, T., Uçak, Y. ve Eraslan, B., 2010. *Aeromonas* and *Pseudomonas*: Antibiotic and Heavy Metal Resistance Species from Iskenderun Bay, Turkey (Northeast Mediterranean Sea), Environmental Monitoring and Assessment, 167, 309-320.
- 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.
- McGowan, J.E., 2006. Resistance in Nonfermenting Gram-Negative Bacteria: Multidrug Resistance to the Maximum, American Journal of Infection Control, 119,6, S29-S36.
- McKeon, D.M., Calabrese, J.P. ve Bissonnette, G.K., 1995. Antibiotic Resistant Gram Negative Bacteria in Rural Groundwater Supplies, Water Research, 29, 1902-1908.
- McPhearson, R.M., DePaola, A., Zywno, S.R., Motes, M.L. ve Guarino, A.M., 1991. Antibiotic Resistance in Gram-negative Bacteria from Cultured Catfish and Aquaculture Ponds, Aquaculture, 99, 203-211.
- Mendez, B., Tachibana, C. ve Levy, S.B., 1980. Heterogeneity of Tetracycline Resistance Determinants, Plasmid, 3, 99-108
- Miller, R.V., 1998. Bacterial Gene Swapping in Nature, Scientific American, 278, 46-51.
- Miller, J.N. ve Miller, J.C., 2005. Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, 4th Edition, Pearson/Prentice Hall, Harrow, UK, 288 s.
- Miro, E., Mirelis, B., Navarro, F., Rivera, R.A., Mesa, R.J., Roig, M.C., Gomez, L. ve Coll, P., 2005. Surveillance of Extended-Spectrum β -Lactamases from Clinical Samples and Faecal Carriers in Barcelona, Spain, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 56, 1152-1156.
- Miranda, C.D. ve Castillo, G., 1998. Resistance to Antibiotic and Heavy Metals of Motile *Aeromonas* from Chilean Freshwater, Science of the Total Environment, 224, 167-176.
- Miranda, C.D., Kehrenberg, C., Ulep, C., Schwarz, S. ve Roberts, M.C., 2003. Diversity of Tetracycline Resistance Genes in Bacteria from Chilean Salmon Farms, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 47, 883-888.
- Mohapatra, H., Mohapatra, S.S., Mantri, C.K., Colwell, R.R. ve Singh, D.V., 2008. *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139 Strains Isolated before 1992 from Varanasi, India are Multiple Drug Resistant, Contain *intSXT*, *dfr18* and *aadA5* Genes, Environmental Microbiology, 10, 866-873.

- 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.
- Ndi, O. ve Barton, M., 2012. Antibiotic Resistance in Animals - The Australian Perspective, in *Antimicrobial Resistance in the Environment*, Wiley-Blackwell, New Jersey, 265-290.
- 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.
- 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.
- Nonaka, L., Ikeno, K. ve Suzuki, S., 2007. Distribution of Tetracycline Resistance Gene, *Tet(M)*, in Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria Isolated from Sediment and Seawater at a Coastal Aquaculture Site in Japan, Environmental Microbiology, 22, 355-364.
- Obiri-Danso, K. ve Jones, K., 1999. Distribution and Seasonality of Microbial Indicators and Hermophilic *Campylobacters* in Two Freshwater Bathing Sites on the River Lune in Northwest England, Journal of Applied Microbiology, 87,6, 822-832.
- Okitsu, N., Kaieda, S. ve Yano, H., 2005. Characterization of *ermB* Gene Transposition by *Tn1545* and *Tn917* in Macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae* Isolates, Journal of Clinic Microbiology, 43, 168-173.
- Olaniran, A.O., Naicker, K. ve Pillay, B., 2009. Antibiotic Resistance Profiles of *Escherichia coli* Isolates from River Sources in Durban, South Africa, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 25, 1743-1749.
- 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.
- O'Morchoe, S.B., Ogunseitan, O., Sayler, G.S. ve Miller, R.V., 1988. Conjugal Transfer of R68.45 and FP5 between *Pseudomonas aeruginosa* Strains in a Freshwater Environment, Applied and Environmental Microbiology, 54, 1923-1929.
- 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, 46,19, 6382-6390.
- Ozgumus, O.B., Celik-Sevim, E., Alpay Karaoglu, S., Sandalli, C. ve Sevim, A., 2007. Molecular Characterization of Antibiotic Resistant *Escherichia coli* Strains Isolated from Tap and Spring Waters in a Coastal Region in Turkey, The Journal of Microbiology, 45,5, 379-387.

- Ozgunus, O.B., Sandalli, C., Sevim, A., Celik Sevim, E., 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.
- Palmer, K.L., Daniel, A., Hardy, C., Silverman, J. ve Gilmore, M. S., 2011. Genetic Basis for Daptomycin Resistance in Enterococci, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 55,7, 3345-356.
- Pepper, I.L. ve Gerba, C.P., 2004. Environmental Microbiology, A Laboratory Manual, Second Edition, Elsevier Academic Press, Burlington, USA, 209 s.
- 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.
- Plumb, J.A., 1999. Health Maintenance and Principal Microbial Diseases of Cultured Fishes, Iowa State University Press, Ames, IO, Oxford, 328 s.
- Poppe, C., Martin, L. ve Muckle, A., 2006. Characterization of Antimicrobial Resistance of *Salmonella* Newport Isolated from Animals, the Environment, and Animal Food Products in Canada, Canadian Journal of Veterinary Research, 70, 105-114.
- 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.
- Pukall, R., Tschäpe, H. ve Smalla, K., 1996. Monitoring the Spread of Broad Host and Narrow Host Range Plasmids in Soil Microcosms, FEMS Microbiology Ecology, 20, 53-66.
- Ramón-García, S., Otal, I. ve Martín, C., 2006. Novel Streptomycin Resistance Gene from *Mycobacterium fortuitum*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 50, 3920-3922.
- Rassow, D. ve Schaper, H., 1996. The Use of Feed Medications in Swine and Poultry Facilities in the Weser-Ems Region, Dtsch Tierarztl Wochenschr, 103, 244-249.
- 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.

- Roberts, M.C., Sutcliffe, J. ve Courvalin, P., 1999. Nomenclature for Macrolide and Macrolide-Lincosamide Streptogramin B Antibiotic Resistance Determinants, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 43, 2823-2830.
- Roberts, M.C., 2005. Update on Acquired Tetracycline Resistance Genes, FEMS Microbiology Letters, 245, 195-203.
- Roberts, M.C., 2008. Update on Macrolide-Lincosamide-Streptogramin, Ketolide, and Oxazolidinone Resistance Genes, FEMS Microbiology Letters, 282, 147-159.
- Roe, M.T. ve Pillai, S.D., 2003. Monitoring and Identifying Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria, Poultry Science, 82, 622-626.
- Rosser, S.J. ve Young H.K., 1999. Identification and Characterization of Class 1 Integrons in Bacteria from an Aquatic Environment, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 44, 11-18.
- Rowe-Magnus, D.A., Guerout, A.M., Ploncard, P., Dychinco, B., Davies, J. ve Mazel, D., 2001. The Evolutionary History of Chromosomal Super-Integrons Provides an Ancestry for Multiresistant Integrons, Proceedings of the National Academy of Sciences, 98, 652-657.
- Russel, A.D. ve Chopra, I., 1996. Understanding Antibacterial Action and Resistance, Ellis Horwood, London, UK, 292 s.
- 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.
- Salyers, A.A. ve Shoemaker, N.B., 1996. Resistance Gene Transfer in Anaerobes: New Insights, New problems, Clinical Infectious Diseases, 23, 36-43.
- Sandaa, R.A., Torsvik, V. ve Goksøyr, J., 1992. Transferable Drug Resistance in Bacteria from Fish-Farm Sediments, Canadian Journal of Microbiology, 38, 1061-1065.
- 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.
- Santoro, D.O., Romão C.M.C.A. ve Clementino, M.M., 2012. Decreased Aztreonam Susceptibility among *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Hospital Effluent Treatment System and Clinical Samples, International Journal of Environmental Health Research, 22,6, 560-570.
- 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.
- Schlotfeldt, H.J., Kleingeld, D.W. ve Böhm, K.H., 1992. Development of Bacterial Resistance Against Three Frequently Used Fish Antibiotics in the Field Practice of the Fish Health Service of Lower Saxony, In: Fish in Ecotoxicology and Exophysiology, Weinheim, New York, USA, 179-182.
- Schmidt, A.S., Bruun, M.S., Dalsgaard, I., Pedersen, K. ve 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.
- 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.
- 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.
- Sevim, A., 2005. Trabzon'daki Derelerin Fekal Koliform Kirliliği ve Koliform Bakterilerin Antibiyotik Direnç Profillerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- 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.
- Shakil, S., Khan, R., Zarrilli, R. ve Khan, A.U., 2008. Aminoglycosides Versus Bacteria-A Description of the Action, Resistance Mechanism, and Nosocomial Battleground, Journal of Biomedical Sciences, 15, 5-14.
- Sivri, N. ve Şeker, D.Z., 2010. Investigation of Enteric Bacteria of Surface Waters in the Southwestern Coast of Istanbul by means of GIS, Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 10,4, 505-511

- 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.
- Smith, P. R., Le Breton, A., Horsberg, T. E. ve Corsin, F., 2009. Guidelines for antimicrobial use in aquaculture, In Guide to Antimicrobial Use in Animals, Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK, 207-218.
- Smith, P. ve Samuelson, O.B., 1996. Estimates of the Significance of Out-Washing of Oxytetracycline from Sediments under Atlantic Salmon Sea-Cages, Aquaculture, 144, 17-26.
- Sommer, M.O.A. ve Dantas, G., 2011. Antibiotics and the Resistant Microbiome, Current Opinion in Microbiology, 14,5, 556-563.
- Sompolinsky, D., Nitzan, Y., Tetry, S., Wolk, M., Vulikh, I., Kern, M.B., Sandvang, D., Hershkovits, G. ve Katcoff, D.J., 2005. Integron-Mediated ESBL Resistance in Rare Serotypes of *Escherichia coli* Causing Infections in an Elderly Population of Israel, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 55, 119-122.
- 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., 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.
- Tacão, M., Correia, A. ve Henriques, I., 2012. Resistance to Broad-spectrum Antibiotics in Aquatic Systems: Anthropogenic Activities Modulate the Dissemination of *bla*_{CTX-M}-Like Genes, Applied and Environmental Microbiology, 78,12, 4134-4140.
- Tao, R., Ying, G.G., Su, H.C., Zhou, H.W. ve Sidhu, J.P.S., 2010. Detection of Antibiotic Resistance and Tetracycline Resistance Genes in *Enterobacteriaceae* Isolated from the Pearl Rivers in South China, Environmental Pollution, 158, 2101-2109.

- Tenover, F.C., 2006. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria, American Journal of Infection Control, 34,5, S3-S10.
- Thompson, S.A., Maani, E.V. ve Lindell, A.H., 2007. Novel Tetracycline Resistance Determinant Isolated from an Environmental Strain of *Serratia marcescens*, Applied and Environmental Microbiology, 73, 2199-2206.
- Thurman, E.M., Dietze, J.E. ve Scribner, E.A., 2002. Occurrence of Antibiotics in Water from Fish Hatcheries, U.S. Geological Survey Fact Sheet, 120-02, 4 s.
- Toroglu, E. ve Toroglu, S., 2009. Microbial Pollution of Water in Golbasi Lake in Adiyaman, Turkey, Journal of Environmental Biology, 30,1, 33-38.
- Toroglu, S., Dincer, S. ve Korkmaz, H., 2005. Antibiotic Resistance in Gram Negative Bacteria Isolated from Aksu River in Turkey, Annals of Microbiology, 55, 229-233.
- Trevors, J.T., Barkay, T. ve Bourquin, A.W., 1987. Gene Transfer among Bacteria in Soil and Aquatic Environments: A Review, Canadian Journal of Microbiology, 33, 191-198.
- Turton, J.F., Kaufmann, M.E., Glover, J., Coelho, J.M., Warner, M., Pike, R. ve Pitt, T.L., 2005. Detection and Typing of *Acinetobacter baumannii* Found in the United Kingdom, Journal of Clinical Microbiology, 43, 3074-3082.
- URL-1, www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000302.jsp, 16.09.2013.
- URL-2, http://europa.eu/rapid/press-release_IP-05-1687_en.htm?locale=en. 16.09.2013.
- URL-3, <http://www.govtrack.us/congress/bills/109/s742>. 16.09.2013.
- 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.
- U.S.P., 2003. USP Veterinary Pharmaceutical Information Monographs-Antibiotics, Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 26, 1-271.
- 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.
- Van Loon, H.J., Box, A.T.A., Verhoef, J. ve Fluit, A.C., 2004. Evaluation of Genetic Determinants Involved in β -lactam and Multiresistance in a Surgical ICU, International Journal of Antimicrobial Agents, 24, 130-134.

- Van, T.T.H., Chin, J., Chapman, T., Tran, L.T. ve Coloe, P.J., 2008. Safety of Raw Meat and Shellfish in Vietnam: An Analysis of *Escherichia coli* Isolations for Antibiotic Resistance and Virulence Genes, International Journal of Food Microbiology, 124, 217-223.
- Vieira, R.P., Gonzalez, A.M., Cardoso, A.M., Oliveira, D.N. ve Albano, R.M., 2008. Relationships between Bacterial Diversity and Environmental Variables in a Tropical Marine Environment, Rio de Janeiro, Environmental Microbiology, 10,1, 189-199.
- Vignesh, S., Muthukumar, K. ve Arthur, J.R., 2012. Antibiotic Resistant Pathogens Versus Human Impacts: A Study from Three Eco-Regions of the Chennai Coast, Southern India, Marine Pollution Bulletin, 64,4, 790-800.
- 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. ve Bager, F., 1999. Transfer of Antibiotic Resistant Bacteria from Animals to Man, Acta Veterinaria Scandinavica, 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.
- Winkler, L.W., 1888. Die Bestimmung des in Wasser Gelösten Sauerstoffes, Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, 21, 2843-2855.
- W.H.O., 2000. Annual Report on Infectious Disease: Overcoming Antimicrobial Resistance; World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- WHO, 2012. Fact sheet N: 194: Antimicrobial resistance. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/index.html>.
- 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.
- Yardımcı, C.H., 2009. Sapanca Gölü Bakteriyolojik Kirlilik Düzeyi ile *Enterobacteriaceae* Üyelerinde Beta-Laktam Antibiyotik Dirençlilik Frekansının Araştırılması, Doktora Tezi, İ.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- Y.S.K.Y.Y., 2012. Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliği, 20.11.2012 Tarih ve 28483 Sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- Yim, G., Wang, H.H. ve Davies, J., 2006. The Truth about Antibiotics, International Journal of Medical Microbiology, 296, 166-173.
- Ye, Z., 2005. Occurrence, Fate and Transformation of Antibiotics during Drinking Water Treatment, Doktora Tezi, University of North Carolina, Department of Environmental Sciences and Engineering, School of Public Health, Ann Arbor, Michigan.
- 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.
- Zhang, X.X., Zhang, T. ve Fang H.H., 2009. Antibiotic Resistance Genes in Water Environment, Applied Microbiology and Biotechnology, 82,3, 397-414.
- 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 Tablo 1. Koliform bakterilerin sayılarının belirlenmesinde kullanılan En Muhtemel Sayı (EMS) Tablosu

Pozitif Tüplerin Sayısı				Pozitif Tüplerin Sayısı			
10 ml	1 ml	0,1 ml	EMS/ 100 ml	10 ml	1 ml	0,1 ml	EMS/ 100 ml
0	0	0	<3	2	0	0	9,1
0	1	0	3	2	0	1	14
0	0	2	6	2	0	2	20
0	0	3	9	2	0	3	26
0	1	0	3	2	1	0	15
0	1	1	6,1	2	1	1	20
0	1	2	9,2	2	1	2	27
0	1	3	12	2	1	3	34
0	2	0	6,2	2	2	0	21
0	2	1	9,3	2	2	1	28
0	2	2	12	2	2	2	35
0	2	3	16	2	2	3	42
0	3	0	9,4	2	3	0	29
0	3	1	13	2	3	1	36
0	3	2	16	2	3	2	44
0	3	3	19	2	3	3	53
1	0	0	3,6	3	0	0	23
1	0	1	7,2	3	0	1	39
1	0	2	11	3	0	2	64
1	0	3	15	3	0	3	95
1	1	0	7,3	3	1	0	43
1	1	1	11	3	1	1	75
1	1	2	15	3	1	2	120
1	1	3	19	3	1	3	160
1	2	0	11	3	2	0	93
1	2	1	15	3	2	1	150
1	2	2	20	3	2	2	210
1	2	3	24	3	2	3	290
1	3	0	16	3	3	0	240
1	3	1	20	3	3	1	460
1	3	2	24	3	3	2	1100
1	3	3	29	3	3	3	>1100

Ek Tablo 2. 1. İstasyondaki su kalite parametrelerinin korelasyon analizi sonuçları

	NO ₃ -N	NH ₄ -N	PO ₄ -P	BOİ ₅	°C	pH	Ç.O.	AKM	TDS	NO ₂ -N	TK Su	FK Su	TK Sed	FK Sed
NO ₃ -N		-0,316	-0,033	-0,092	-0,553	-0,262	-0,231	0,762	-0,105	**0,923	0,303	0,612	-0,461	0,504
NH ₄ -N	-0,422		0,669	0,165	*0,825	-0,305	-0,558	-0,382	0,480	-0,314	0,540	-0,187	0,609	0,013
PO ₄ -P	-0,152	0,788		-0,032	0,731	0,306	-0,738	-0,234	0,232	0,005	0,641	-0,057	0,172	0,128
BOİ ₅	-0,285	0,090	0,014		0,047	0,795	0,129	-0,635	0,476	-0,445	0,146	-0,413	*0,812	-0,368
°C	-0,510	*0,881	0,792	-0,006		0,181	-0,658	-0,604	0,059	-0,445	0,165	-0,571	0,421	-0,390
pH	-0,542	-0,309	-0,369	0,704	-0,304		0,197	-0,656	0,771	-0,574	0,508	-0,160	0,804	-0,021
Ç.O.	-0,649	-0,398	-0,558	0,304	-0,220	*0,823		0,000	0,262	-0,347	-0,247	0,224	0,071	0,146
AKM	0,658	-0,220	-0,020	-0,489	-0,487	-0,417	-0,567		-0,228	*0,883	0,119	*0,815	-0,756	0,692
TDS	-0,198	0,473	0,405	0,554	0,102	0,303	-0,201	0,208		-0,355	0,773	0,335	0,707	0,486
NO ₂ -N	-0,196	-0,394	-0,269	-0,666	-0,058	-0,050	0,437	-0,063	-0,742		0,157	0,606	-0,717	0,490
TK Su	0,319	0,520	0,733	0,024	0,249	-0,401	-0,807	0,555	0,680	-0,590		0,548	0,316	0,704
FK Su	**0,975	-0,221	0,004	-0,338	-0,353	-0,678	-0,794	0,692	-0,114	-0,271	0,460		-0,402	**0,972
TK Sed	-0,137	0,471	0,423	0,649	0,119	0,295	-0,241	0,136	**0,984	*-0,833	0,686	-0,058		-0,257
FK Sed	0,661	-0,126	0,124	-0,431	-0,394	-0,443	-0,651	**0,987	0,286	-0,146	0,673	0,710	0,228	

İnce Yazı: Giriş, Kalın Yazı: Çıkış, * $p < 0,05$ ve ** $p < 0,01$

Ek Tablo 3. 2. İstasyondaki su kalite parametrelerinin korelasyon analizi sonuçları

	NO ₃ -N	NH ₄ -N	PO ₄ -P	BOİ ₅	°C	pH	Ç.O.	AKM	TDS	NO ₂ -N	TK Su	FK Su	TK Sed	FK Sed
NO ₃ -N		-0,236	-0,255	-0,222	-0,293	-0,193	-0,472	*0,873	-0,292	-0,156	0,158	0,621	0,309	0,612
NH ₄ -N	0,512		**0,95	-0,082	0,797	0,533	-0,517	0,103	0,268	0,402	-0,054	-0,297	-0,282	-0,246
PO ₄ -P	0,351	**0,92		-0,351	*0,863	0,308	-0,483	-0,001	0,078	0,170	0,179	-0,279	-0,256	-0,253
BOİ ₅	-0,411	0,099	0,086		-0,232	0,283	0,007	-0,162	0,241	0,459	-0,428	0,097	0,264	0,103
°C	0,304	0,662	0,803	0,239		0,094	-0,584	-0,097	-0,163	0,301	0,437	0,044	0,104	0,114
pH	0,457	0,647	0,559	-0,034	0,072		0,114	0,281	**0,93	0,773	*-0,842	-0,620	-0,705	-0,484
Ç.O.	-0,619	-0,616	-0,463	-0,176	-0,674	0,003		-0,482	0,460	-0,121	-0,490	-0,648	-0,561	-0,646
AKM	0,532	-0,016	-0,153	-0,570	-0,506	0,617	0,290		0,122	0,267	-0,160	0,343	-0,014	0,421
TDS	-0,113	0,426	0,507	0,314	0,100	0,795	0,332	0,233		0,631	** -0,94	-0,774	*-0,83	-0,654
NO ₂ -N	-0,224	0,567	0,721	-0,053	0,472	0,174	-0,026	-0,384	0,354		-0,523	-0,149	-0,216	0,051
TK Su	-0,207	-0,009	0,020	-0,131	0,267	-0,710	-0,355	-0,674	-0,682	0,408		0,651	0,706	0,574
FK Su	0,145	-0,275	-0,303	-0,341	0,114	-0,784	-0,424	-0,344	** -0,97	-0,154	0,790		**0,92	**0,97
TK Sed	-0,519	-0,536	-0,445	0,178	0,034	** -0,98	-0,073	-0,753	-0,723	-0,059	0,759	0,733		*0,86
FK Sed	0,335	-0,269	-0,315	-0,427	0,101	-0,673	-0,451	-0,154	** -0,95	-0,307	0,626	**0,97	0,590	

İnce Yazı: Giriş, Kalın Yazı: Çıkış, * $p < 0,05$ ve ** $p < 0,01$

Ek Tablo 4. 3. İstasyondaki su kalite parametrelerinin korelasyon analizi sonuçları

	NO ₃ -N	NH ₄ -N	PO ₄ -P	BOİ ₅	°C	pH	Ç.O.	AKM	TDS	NO ₂ -N	TK Su	FK Su	TK Sed	FK Sed
NO ₃ -N		-0,043	0,535	*0,839	0,430	-0,064	0,211	*0,840	*0,874	0,591	0,103	0,563	0,557	0,615
NH ₄ -N	-0,043		0,563	0,403	0,688	-0,150	-0,656	-0,417	-0,130	-0,567	-0,361	-0,484	-0,497	-0,239
PO ₄ -P	0,535	0,563		*0,881	0,644	-0,002	-0,508	0,449	0,246	-0,054	0,408	0,051	0,044	0,387
BOİ ₅	*0,839	0,403	0,881		0,685	-0,113	-0,238	0,655	0,561	0,313	0,182	0,372	0,363	0,580
°C	0,430	0,688	0,644	0,685		-0,667	-0,710	0,052	0,358	0,037	-0,234	0,114	0,093	0,431
pH	-0,064	-0,150	-0,002	-0,113	-0,667		0,592	0,126	-0,105	-0,348	0,288	-0,402	-0,383	-0,559
Ç.O.	0,211	-0,656	-0,508	-0,238	-0,710	0,592		0,320	0,310	0,319	-0,088	0,177	0,193	-0,208
AKM	*0,840	-0,417	0,449	0,655	0,052	0,126	0,320		0,623	0,703	0,556	0,696	0,699	0,709
TDS	*0,874	-0,130	0,246	0,561	0,358	-0,105	0,310	0,623		0,420	-0,104	0,331	0,323	0,367
NO ₂ -N	0,591	-0,567	-0,054	0,313	0,037	-0,348	0,319	0,703	0,420		0,121	**0,985	**0,985	*0,828
TK Su	0,103	-0,361	0,408	0,182	-0,234	0,288	-0,088	0,556	-0,104	0,121		0,191	0,200	0,362
FK Su	0,563	-0,484	0,051	0,372	0,114	-0,402	0,177	0,696	0,331	**0,985	0,191		**1,000	*0,892
TK Sed	0,557	-0,497	0,044	0,363	0,093	-0,383	0,193	0,699	0,323	**0,985	0,200	**1,000		*0,885
FK Sed	0,615	-0,239	0,387	0,580	0,431	-0,559	-0,208	0,709	0,367	*0,828	0,362	*0,892	*0,885	

İnce Yazı: Giriş, Kalın Yazı: Çıkış, * $p < 0,05$ ve ** $p < 0,01$

Ek Tablo 5. 4. İstasyondaki su kalite parametrelerinin korelasyon analizi sonuçları

	NO ₃ -N	NH ₄ -N	PO ₄ -P	BOİ ₅	°C	pH	Ç.O.	AKM	TDS	NO ₂ -N	TK Su	FK Su	TK Sed	FK Sed
NO ₃ -N		0,725	0,787	*0,835	0,827	0,773	-0,532	0,096	-0,198	-0,169	0,072	**0,934	0,350	-0,149
NH ₄ -N	**0,945		*0,893	0,706	0,594	*0,894	-0,650	0,146	0,329	-0,278	0,349	*0,884	0,310	0,240
PO ₄ -P	0,653	0,746		*0,833	0,780	*0,821	-0,734	0,494	0,386	0,087	0,155	*0,870	0,510	0,218
BOİ ₅	0,656	0,458	0,449		0,648	*0,827	-0,439	0,478	0,239	0,276	-0,095	0,732	0,220	-0,037
°C	0,738	0,655	0,549	0,418		0,437	*-0,85	0,378	-0,180	0,003	0,344	*0,815	0,811	0,269
pH	-0,349	-0,221	-0,130	-0,053	*-0,826		-0,315	0,101	0,332	-0,151	-0,059	*0,822	-0,031	-0,158
Ç.O.	-0,287	-0,279	-0,353	0,106	*-0,815	*0,912		-0,439	-0,075	0,042	-0,694	-0,663	*-0,915	-0,708
AKM	-0,086	-0,151	0,487	0,340	0,202	-0,171	-0,290		0,600	0,864	-0,093	0,049	0,498	0,418
TDS	-0,013	0,226	0,540	-0,102	-0,377	0,640	0,346	0,185		0,487	-0,180	-0,050	-0,074	0,262
NO ₂ -N	-0,443	-0,585	-0,364	-0,302	0,048	-0,561	-0,446	0,379	-0,475		-0,445	-0,336	0,112	0,091
TK Su	0,106	0,280	0,237	-0,272	0,425	-0,245	-0,496	-0,138	-0,035	-0,315		0,252	0,597	*0,824
FK Su	**0,975	**0,959	0,706	0,519	*0,821	-0,468	-0,465	-0,055	-0,003	-0,367	0,247		0,425	0,019
TK Sed	0,308	0,256	0,425	0,154	*0,857	*-0,837	** -0,92	0,476	-0,382	0,336	0,541	0,447		0,677
FK Sed	-0,191	-0,028	0,261	-0,287	0,276	-0,175	-0,485	0,282	0,073	-0,071	*0,876	-0,041	0,603	

İnce Yazı: Giriş, Kalın Yazı: Çıkış, * $p < 0,05$ ve ** $p < 0,01$

Ek Tablo 6. 5. İstasyondaki su kalite parametrelerinin korelasyon analizi sonuçları

	NO ₃ -N	NH ₄ -N	PO ₄ -P	BOİ ₅	°C	pH	Ç.O.	AKM	TDS	NO ₂ -N	TK Su	FK Su	TK Sed	FK Sed
NO ₃ -N		0,805	0,395	*0,877	0,690	0,368	-0,720	0,479	0,157	-0,416	0,629	0,505	0,639	0,640
NH ₄ -N	*0,870		0,784	0,550	*0,833	*0,828	** -0,95	0,263	0,689	0,035	0,146	0,055	0,488	0,467
PO ₄ -P	-0,364	-0,262		0,045	0,588	*0,824	*-0,847	-0,351	0,765	0,060	-0,458	-0,279	-0,131	-0,102
BOİ ₅	0,672	0,415	*-0,824		0,69	0,175	-0,518	0,739	-0,020	-0,295	0,802	*0,819	0,638	0,548
°C	0,662	0,808	-0,469	0,396		0,805	*-0,906	0,480	0,665	0,253	0,189	0,396	0,376	0,236
pH	-0,459	-0,025	0,669	*-0,119			*-0,878	0,096	**0,95	0,511	-0,297	-0,218	0,182	0,103
Ç.O.	-0,782	*-0,901	0,322	-0,38	** -0,97	0,092		-0,155	-0,721	-0,079	0,011	-0,123	-0,260	-0,219
AKM	0,714	0,538	-0,760	0,750	0,754	-0,717	-0,699		0,026	0,226	0,806	0,580	*0,828	0,664
TDS	-0,273	0,181	-0,188	-0,288	0,383	0,585	-0,235	-0,068		0,659	-0,432	-0,336	0,081	-0,031
NO ₂ -N	-0,463	-0,142	-0,406	-0,102	0,238	0,293	-0,017	-0,001	*0,865		-0,378	-0,343	0,035	-0,141
TK Su	0,613	0,309	*-0,842	**0,98	0,343	*-0,907	-0,309	0,779	-0,337	-0,108		0,686	0,786	0,749
FK Su	0,159	-0,155	-0,480	0,37	0,236	-0,732	-0,132	0,710	-0,288	-0,041	0,501		0,229	0,101
TK Sed	0,513	0,422	** -0,97	0,901	0,532	-0,652	-0,429	0,759	0,137	0,307	*0,885	0,339		**0,96
FK Sed	0,636	0,530	-0,765	**0,92	0,408	-0,575	-0,404	0,564	-0,069	0,035	*0,858	0,015	*0,891	

İnce Yazı: Giriş, Kalın Yazı: Çıkış, * $p < 0,05$ ve ** $p < 0,01$

Ek Tablo 7. 6. İstasyondaki su kalite parametrelerinin korelasyon analizi sonuçları

	NO ₃ -N	NH ₄ -N	PO ₄ -P	BOİ ₅	°C	pH	Ç.O.	AKM	TDS	NO ₂ -N	TK Su	FK Su	TK Sed	FK Sed
NO ₃ -N		0,795	0,050	0,612	*0,84	-0,383	-0,778	0,159	-0,124	-0,178	0,412	-0,008	0,625	0,195
NH ₄ -N	*0,905		-0,003	0,462	0,635	-0,352	*-0,824	0,159	0,023	-0,302	0,265	-0,534	0,372	0,502
PO ₄ -P	-0,447	-0,089		0,807	0,531	*0,834	-0,452	0,472	**0,94	**0,93	-0,771	-0,384	-0,193	-0,125
BOİ ₅	0,551	0,245	*-0,89		*0,86	0,457	-0,782	0,339	0,679	0,645	-0,307	-0,345	0,289	0,042
°C	*0,903	0,833	-0,290	0,564		0,072	*-0,898	0,542	0,325	0,275	-0,139	-0,13	0,258	0,011
pH	-0,741	-0,498	0,638	-0,661	-0,721		-0,097	0,119	*0,844	*0,874	-0,767	-0,314	-0,434	-0,407
Ç.O.	** -0,93	** -0,97	0,106	-0,299	*-0,91	0,541		-0,423	-0,355	-0,128	0,139	0,441	-0,122	-0,083
AKM	0,035	0,169	0,489	-0,061	0,439	0,025	-0,283		0,37	0,286	-0,662	-0,117	-0,448	0,058
TDS	-0,363	-0,067	0,725	-0,370	-0,021	0,519	0,062	0,811		*0,889	-0,794	-0,631	-0,251	0,082
NO ₂ -N	-0,059	0,027	0,150	0,282	0,310	0,117	-0,078	0,793	0,785		-0,721	-0,224	-0,144	-0,166
TK Su	0,536	0,431	-0,708	0,518	0,218	-0,473	-0,289	-0,696	-0,677	-0,389		0,360	0,737	0,187
FK Su	0,045	-0,382	-0,741	0,562	-0,030	-0,423	0,250	-0,383	-0,687	-0,291	0,163		0,128	-0,560
TK Sed	0,470	0,282	-0,753	0,776	0,317	-0,208	-0,276	-0,332	-0,367	0,125	0,644	0,328		0,413
FK Sed	0,254	0,053	-0,473	0,208	0,085	-0,721	-0,014	-0,485	-0,728	-0,615	0,485	0,458	-0,150	

İnce Yazı: Giriş, Kalın Yazı: Çıkış, * $p < 0,05$ ve ** $p < 0,01$

Ek Tablo 8. 7. İstasyondaki su kalite parametrelerinin korelasyon analizi sonuçları

	NO ₃ -N	NH ₄ -N	PO ₄ -P	BOİ ₅	°C	pH	Ç.O.	AKM	TDS	NO ₂ -N	TK Su	FK Su	TK Sed	FK Sed
NO ₃ -N		0,432	0,153	0,587	0,719	** -0,960	-0,404	0,533	-0,343	-0,603	0,688	-0,051	0,015	0,282
NH ₄ -N	0,717		0,325	0,050	0,597	-0,420	-0,788	0,378	0,258	-0,003	-0,087	-0,793	0,368	0,104
PO ₄ -P	-0,412	0,285		-0,187	0,661	-0,028	-0,481	0,588	-0,246	0,292	-0,195	-0,189	0,228	0,431
BOİ ₅	0,282	0,068	-0,477		0,492	-0,774	-0,243	0,326	0,273	-0,085	0,308	0,105	-0,307	-0,490
°C	0,799	0,442	-0,383	0,453		-0,720	-0,631	*0,857	-0,105	-0,075	0,081	-0,384	-0,049	0,070
pH	-0,469	-0,639	0,094	-0,224	0,014		0,415	-0,526	0,129	0,497	-0,589	0,094	0,094	-0,015
Ç.O.	-0,455	-0,555	-0,253	-0,227	-0,575	-0,152		-0,193	-0,442	-0,375	-0,078	0,354	-0,653	-0,183
AKM	0,437	-0,103	-0,466	0,026	0,751	0,475	-0,193		-0,347	-0,256	-0,155	-0,471	-0,480	-0,076
TDS	-0,389	0,050	0,566	0,379	-0,064	0,230	-0,465	-0,367		0,725	-0,419	-0,257	0,250	-0,618
NO ₂ -N	-0,572	-0,385	0,421	0,099	-0,114	0,754	-0,409	-0,033	0,794		-0,585	-0,021	0,342	-0,292
TK Su	0,459	0,427	-0,195	-0,134	-0,125	-0,613	-0,081	-0,338	-0,476	-0,583		0,568	0,300	0,551
FK Su	-0,311	* -0,84	-0,732	0,206	-0,196	0,268	0,648	0,210	-0,374	-0,058	-0,151		0,121	0,283
TK Sed	0,131	0,371	0,439	-0,264	-0,009	0,149	-0,750	-0,180	0,264	0,355	0,441	-0,586		0,605
FK Sed	0,496	-0,234	* -0,916	0,162	0,468	0,063	0,181	0,696	-0,750	-0,460	0,201	0,617	-0,311	

İnce Yazı: Giriş, Kalın Yazı: Çıkış, * $p < 0,05$ ve ** $p < 0,01$

ÖZGEÇMİŞ

Ertuğrul TERZİ, 1984 yılında Kastamonu'nun Tosya ilçesinde doğdu. İlköğrenim ve liseyi aynı ilçede tamamladı. 2002 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Rize Su Ürünleri Fakültesi'ni kazandı ve 2006 yılında bu fakülteden mezun oldu. 2007 yılında Rize Üniversitesi Su ürünleri Fakültesi'nde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladı. Yüksek Lisans eğitimine 2006 yılında Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda başladı ve 2009 yılında tamamladı. Aynı yıl KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya devam etmektedir. Evli ve bir çocuk babasıdır. İngilizce bilmektedir.