

**GİRESUN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**GİRESUN İLİ'NDE TÜKETİME SUNULAN BALIKLARDAN İZOLE EDİLEN**  
***ENTEROBACTERIACEAE* ÜYELERİNİN ANTİBİYOTİK VE AĞIR METAL**  
**DİRENÇLİLİK DÜZEYLERİ**

**NİSA SİPAHİ**

**2012**

Fen Bilimleri Enstitü Müdürünün Onayı

Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

-----  
Müdür

...../...../.....

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak Biyoloji Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İhsan AKYURT

-----  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumuzu ve Yüksek Lisans tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.

Yrd. Doç. Dr. Cengiz MUTLU

-----  
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İhsan AKYURT

Doç. Dr. Birol ERTUĞRAL

Yrd. Doç. Dr. Cengiz MUTLU

-----

-----

-----

## ÖZET

### GİRESUN İLİ'NDE TÜKETİME SUNULAN BALIKLARDAN İZOLE EDİLEN *ENTEROBACTERIACEAE* ÜYELERİNİN ANTİBİYOTİK VE AĞIR METAL DİRENÇLİLİK DÜZEYLERİ

SİPAHİ, Nisa

Giresun Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Cengiz MUTLU

Ağustos 2012, 45 sayfa

Bu tez çalışmasında Giresun İli'nde tüketime sunulan ve ticari değere sahip olan deniz balıklarından izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin antibiyotik ve ağır metal dirençlilik düzeyleri araştırılmıştır.

Merkez ilçedeki farklı balıkçı tezgahlarından toplanan örneklerden toplam 134 izolat elde edilmiş ve bu izolatların 6 farklı antibiyotik grubunu temsil eden 9 ticari antibiyotik ile 3 farklı ağır metale karşı dirençlilikleri belirlenmiştir.

İzolatların antibiyotik dirençlilikleri sırasıyla E (%85,07), CZ (%79,9), CTX (%78,36), CXA (%71,64), NA (%60,45), AM (%58,96), AK (%53,7), TE (%47,8) ve S (%17,91) olarak saptanmıştır. 12 izolatın tüm antibiyotiklere karşı dirençli, 11 izolatın ise hassas olduğu ortaya çıkartılmıştır. Tüm izolatların %88,05'inin ÇAD Değeri 0,2'den yüksek saptanmıştır. Ayrıca, izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin tamamı bakıra karşı dirençli iken, manganeze %99,9'u ve kurşuna %87,2'si dirençli bulunmuştur.

Sonuç olarak, Giresun İli'ndeki ticari balık satışı yapılan tezgahlarda gerekli hijyen ve sanitasyon sağlanamadığından yöre halkı için tehlike oluşturabileceği ortaya çıkarılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Giresun, Balık, *Enterobacteriaceae*, Deniz, Halk Sağlığı

## ABSTRACT

### ANTIBIOTIC AND HEAVY METAL RESISTANCE LEVELS OF *ENTEROBACTERIACEAE* ISOLATES FROM RETAIL FISHES IN GİRESUN

SİPAHİ, Nisa

University of Giresun

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, Master Thesis

Supervisor: Asist. Prof. Dr. Cengiz MUTLU

August 2012, 45 pages

In this study antibiotic and heavy metal resistance levels was investigated of isolated *Enterobacteriaceae* from retail fishes in Giresun.

Total of 134 bacteria was isolated from samples collected from different fish market in central town. Antibiotic resistance levels of isolates was determined respectively, E (85.07%), CZ (79.9%), CTX (78.36%), CXA (71.64%), NA (60.45%), AM (58.96%), AK (53.7%), TE (47.8%) and S (17.91%). It was found that 12 isolates resistant to all antibiotics, 11 isolates sensitive and 88,05% of all isolates MAR index values were higher than 0,2. In addition, all isolates of the *Enterobacteriaceae* were resistant to copper while manganese 99.9% and lead 87.2% were resistant.

It was concluded that retail fish markets in Giresun can cause public health problems due to the not provided necessary hygiene and sanitation.

**Key Words:** Giresun, Fish, *Enterobacteriaceae*, Sea, Public Health

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitiminin sırasında benden yardımlarını esirgemeyen ve her türlü desteği bana sağlayan değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Cengiz MUTLU'ya teşekkür ederim.

Tez çalıőmalarım boyunca benden yardımını esirgemeyen, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan maddi ve manevi destek sağlayan değerli hocam Arő. Gör. Tamer AKKAN'a teşekkür ederim.

Deneyimleriyle beni bilgilendiren Sayın Bölüm Başkanım Prof. Dr. İhsan AKYURT'a teşekkür ederim.

Okul hayatım boyunca bana maddi ve manevi destek olan çok değerli ablam Ayőegül SİPAHI'ye teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Her türlü desteği bana sunarak bu günlere gelmemi sağlayan ailemin çok değerli bireyleri babam Hami SİPAHI, annem Hatice SİPAHI ve kardeőim Aslı SİPAHI' ye ayrıca teşekkür ederim.

Okul hayatım boyunca varlığı ile bana destek olan, çalıőmalarım ile yakından alakadar olan çok değerli rahmetli dedem Hamdi SİPAHI'ye ayrıca teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
TABLolar DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Karadeniz.....	1
1.2. Balık ve Et Kalitesi.....	2
1.3. Balık Eti Kalitesini Bozan Etmenler.....	4
1.3.1. Kimyasal Etmenler.....	5
1.3.2. Mikrobiyolojik Etmenler.....	6
1.3.2.1. Parazitik Zoonozlar.....	7
1.3.2.2. Viral Zoonozlar.....	8
1.3.2.3. Fungal Zoonozlar.....	8
1.3.2.4. Bakteriyel Zoonozlar.....	8
1.4. <i>Enterobacteriaceae</i> .....	9
1.4.1. <i>Escherichia coli</i> .....	10
1.4.2. <i>Salmonella</i> .....	11
1.4.3. <i>Klebsiella</i> .....	11
1.4.4. <i>Shigella</i> .....	12

1.4.5. <i>Serratia</i> .....	12
1.4.6. <i>Yersinia</i> .....	13
1.4.7. <i>Proteus</i> .....	13
1.5. Antibiyotikler.....	13
1.6. Antibiyotik Dirençliliği.....	14
2. MATERYAL METOD.....	17
2.1. Materyal.....	17
2.1.1. Kullanılan Antibiyotikler.....	17
2.1.2. Kullanılan Besiyerleri.....	17
2.1.2.1. EMBAgar (EosinMethyleneBlueAgar).....	17
2.1.2.2. Nutrient Agar .....	18
2.1.2.3. PCA Agar .....	18
2.1.2.4. TSA (Tryptic Soy Agar) .....	18
2.1.2.5. İndol Sıvı Besiyeri.....	19
2.1.2.6. Nutrient Broth.....	19
2.1.2.7. Koser's Citrat Broth.....	20
2.1.2.8. EC Broth.....	20
2.1.2.9. Luria-Bertani (LB) Broth.....	21
2.1.2.10. Salmonella Rapid Test Elective Medium.....	21
2.1.2.11. 50X TAE (Tris, Asetik asit, EDTA) .....	21
2.1.2.12. Agaroz Jel (%1) .....	21
2.1.2.13. Örnek Yükleme Tamponu (Loading Buffer) .....	22
2.1.2.14. Yürütme Tamponu (Running Buffer) .....	22

2.1.2.15. Boyama Solüsyonu (Staining, Ethidium Bromür) .....	22
2.1.2.16. Boyayı Geri Alma solüsyonu (Destaining) .....	22
2.2. Metod.....	22
2.2.1. İzolasyon Tekniği.....	22
2.2.2. İdentifikasyon Yöntemi.....	23
2.2.2.1. İndol Testi.....	23
2.2.2.2. Metil Kırmızısı Testi.....	23
2.2.2.3. Voges Proskauer Testi.....	24
2.2.2.4. Sitrat Testi.....	24
2.2.3. Antibiyotik Dirençlilik Düzeylerinin Belirlenmesi.....	24
2.2.4. Çoklu Antibiyotik Dirençlilik Düzeylerinin Belirlenmesi.....	25
2.2.5. Ağır Metal Dirençlilik Düzeylerinin Belirlenmesi.....	25
2.2.6. Plazmid DNA İzolasyonu.....	25
2.2.7. Plazmid DNA'nın Agaroz Jel Elektroforezi.....	25
3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	26
3.1. Antibiyotik Dirençlilik Düzeyleri.....	26
3.2. Ağır Metal Dirençlilik Düzeyleri.....	30
3.3. Plazmid Varlığının Araştırılması.....	34
4. SONUÇ.....	36
KAYNAKLAR.....	37
ÖZGEÇMİŞ.....	45



## TABLolar DİZİNİ

### TABLO

1.1. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları.....	14
2.1. Antibiyogram Testlerinde Kullanılan Antibiyotikler .....	17
3.1. <i>Enterobacteriaceae</i> 'nin izolat sayısı.....	26
3.2. İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Dirençlilik Yüzdesi.....	27
3.3. <i>Enterobacteriaceae</i> İzolatlarının Direnç Gösterdikleri Antibiyotik Sayısı.....	27
3.4. İzolatların Kökenlerine Göre Antibiyotik Dirençlilik Yüzdesi.....	28
3.5. <i>E. coli</i> K12'nin Ağır Metal Dirençlilik Düzeyi.....	30
3.6. İzolatların Kökenlerine Göre Ağır Metal Dirençlilik Yüzdesi .....	33

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### ŞEKİL

3.1. Antibiyotik Dirençlilik Testi.....	26
3.2. Kurşun İçeren Besiyerinde Ağır Metal Dirençlilik Testi.....	31
3.3. İzolatlardaki Kurşun Dirençlilik Yüzdesi.....	31
3.4. İzolatlardaki Bakır Dirençlilik Yüzdesi.....	32
3.5. İzolatlardaki Manganez Dirençlilik Yüzdesi.....	32
3.6. Plazmid DNA'larının Agaroz Jel Elektroforez Sonuçları.....	35

## 1. GİRİŞ

İçinde yaşayan toplulukların yaşamı üzerinde belirgin etkilere sahip yerleşim yerleri, kendine has coğrafi nitelikleri, insanlığa geçim kaynağı oluşturma ve yaşam için kolaylık sağlama gibi özellikleri ile tercih sebebi olmaktadır.

Tarih boyunca medeniyetler genellikle su kaynaklarının yakınlarına kurulmuşlardır. Bunun sebebi; su ortamının, bütün su kaynaklarını içine almasıdır. Yağışlarla oluşan yüzey akışları değişik büyüklüklerdeki haliçler ve akarsular ile denizlere boşalmaktadır. İnsanlar, nüfus artışı ve beraberinde gelen geçim sıkıntısına çözüm olarak, kıyı kentlerde yerleşime yönelmektedir. Kıyı bölgeleri canlı türlerinin birçoğu için doğal ortam sunmakta olup, zengin flora ve faunaya sahip olma özelliği ile insanlık için pek çok doğal besin kaynağı oluşturmaktadır. Gıda, ulaşım ve benzeri alanlarda ekonomik değeri olan bu kaynağa sahip olmak ve kontrol etmek isteyen insanlar, bunun için çabalamakta ve bu bölgelere sahip olanlar, su kaynaklarından çeşitli su ürünleri avlama ve üretme yollarını aramaktadırlar. Doğadan elde edilen ürünleri ise çeşitli türevlerde işleyerek besin kaynağı olarak tüketmektedirler.

Artan nüfus, insanları kolay ve ucuz geçim yoluna itmekte ve bu hususta hayvancılık, tarım ve balıkçılık önem kazanmaktadır. Kıyısız alanlarda yaşamını sürdüren insanlar için özellikle balıkçılık yıllarca en önemli geçim kaynağı olmuş ve balık, en belirgin besin kaynağı haline gelmiştir.

### 1.1. Karadeniz

Karadeniz Türkiye'nin kuzeyinde doğu-batı doğrultusunda uzanan büyük bir iç denizdir. Bol yağış alması ve birçok akarsuyla beslenmesi ile aynı zamanda buharlaşmanın az olması nedeniyle tuzluluk oranı düşüktür. Bu oran binde 18 ila 22 arasında değişiklik gösterir; orta kesimlerde %1,8 iken, derinlere doğru bu oran %2,2'yi bulmaktadır. Karadeniz kıyılarının uzunluğu 1600 km civarındadır ve dağlar kıyıya paralel uzandığından fazla girintili çıkıntılı değildir.

Karadeniz'e dökülen beş büyük ırmak mevcuttur. Bunlar; Dinyeper, Dinyester, Don Irmağı ve Kuban Irmağı ile Fransa sınırına kadar uzanan ve bütün doğu ve orta Avrupa'yı kapsayan Tuna nehridir. Tuna nehri tek başına her yıl 203 km<sup>3</sup> tatlı suyu Karadeniz'e taşımaktadır. Bu miktar Kuzey Denizi'ne akan bütün tatlı sulardan daha fazladır. Türkiye' de ise pek çok akarsu ile belli başlı dört ırmak; Sakarya, Kızılırmak, Yeşilirmak ve Çoruh

Karadeniz’de son bulmaktadır. Dökülen Avrupa ve Asya akarsularıyla birlikte Karadeniz havzasının alanı denizin kendisinden 5 kat daha geniştir ve yaklaşık 2,2 milyon km<sup>2</sup>’dir.

Toprakları bütünüyle Karadeniz Bölgesi’nin Doğu Karadeniz Bölümünde yer alan Giresun İli’nin 6934 km<sup>2</sup>’lik bir yüzölçümü vardır. Doğusunda Trabzon ve Gümüşhane batısında Ordu güneyinde Sivas ve Erzincan güneybatısında yine Sivas illeriyle komşu olup kuzeyi Karadeniz ile kuşatılmıştır. Yüzey şekilleri bakımından engebeli bir görünüşe sahiptir ve yüzey şekillerinin çatısını Karadeniz kıyısı boyunca uzanan oldukça dar ve alçak düzlüklerden oluşan bir kıyı şeridi ile güneyde Kelkit Çayı Vadisi arasını kaplayan Giresun Dağları meydana getirir. Ülke nüfusunun binde 8,5’ini kapsayan ve 101 km uzunluğa sahip Giresun İli’nde 6 farklı noktadan Karadeniz’e akarsu deşarjı mevcuttur ve nüfus yoğunluğu kıyı şeridinde il ortalamasının üzerinde iken, bu oran, kıyı şeridinden iç kesimlere doğru gidildikçe belirgin bir şekilde il ortalamasının altına düşmektedir. Ekonomisi başta fındık olmak üzere tarıma ve balıkçılığa dayanmaktadır.

Giresun’un kıyı köylerinde önemli bir geçim kaynağı olan balıkçılık sadece il sınırları içinde değil tüm Karadeniz sahil şeridi boyunca oldukça yaygındır. Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre; Türkiye’nin toplam su ürünleri üretim miktarı 2008 yılında 646 310 ton ve 2009 yılında 622 962 ton olarak hesaplanmıştır. 2010 yılı verilerine göre de deniz ürünleri üretiminde ilk sırayı %58,75’lik oran ile Doğu Karadeniz Bölgesi almıştır. Deniz ürünlerinde ise ilk sıra avcılıkla avlanan balıklara aittir ve deniz balıkları içinde önemli türlerden olan hamsi balığı bir önceki yıla göre %11,88 oranında artarak 229 bin ton civarında avlanmıştır. 2011 yılında ise su ürünleri üretimi bir önceki yıla göre %7,73 artarak 703 bin ton olarak gerçekleşmiştir. Üretimin % 61,44’ü deniz balıklarından, %6,45’i diğer deniz ürünlerinden, %5,27’si iç su ürünlerinden ve %26,83’ü yetiştiricilikten elde edilmiştir. Avcılığı yapılan deniz ürünleri üretim miktarında da bir önceki yıla göre %7,18 oranında artış olup 477 bin ton civarında olarak gerçekleşmiştir. Deniz ürünleri üretimindeki sıralama %62,43’lük oran ile Doğu Karadeniz Bölgesi, % 15,49 ile Batı Karadeniz, %8,20 ile Marmara, %6,95 ile Ege ve % 6,93 ile Akdeniz Bölgeleri şeklinde olmuştur. Deniz balıkları içinde önemli olan türlerden hamsi balığı % 0,23 oranında azalarak 228 491 ton ve çaça balığı % 52,82 artarak 87 141 ton olarak üretilmiştir (1).

## **1.2. Balık ve Et Kalitesi**

İnsanlığın temel besin kaynaklarından biri olan balık eti yüksek protein, fosfor ve omega içeriği ile diğer et ürünlerine göre daha sağlıklı bulunması sebebiyle oldukça fazla

tüketilmektedir. Ayrıca tatlı su ve deniz balıkları içerdikleri aminoasitlerin kompozisyonu, vitaminler (A, D, B12) mineral ve iz elementler (K, Mg, P, Fe, Se, I, Fl) yönünden zengin olmasının yanı sıra yüksek biyolojik değere sahip olması (93-87) ve bağ dokunun bulunmaması nedeniyle kolay sindirilebilir olması özellikleriyle beslenme fizyolojisi yönünden büyük öneme sahiptir. Dünyada yılda ortalama olarak yetmiş beş milyon ton düzeyinde deniz ürünü avlanmakta ve bunların %70'i direkt insan gıdası olarak tüketilmekte olup, bunun büyük bir bölümünü balık ürünleri oluşturmaktadır (2).

Balıkların büyüklüğü ve yaşam koşulları oldukça değişkenlik göstermektedir. Bu farklı yaşam koşulları, çok sayıda balık türünün oluşmasını sağlamıştır (3). Türkiye'yi çevreleyen farklı karakterlere sahip dört ayrı deniz, balık türleri açısından büyük bir zenginliğe sahiptir. Karadeniz'de 247, Marmara'da 200, Ege Denizi'nde 300 ve Akdeniz'de 500 dolayında balık türü bulunduğu ifade edilmektedir (4). Her ne kadar bu toplam sayı içerisinde türü yok olma tehlikesinde olan balık türleri de yer almakta olsa da, Türkiye denizlerinin balık türü açısından oldukça zengin olduğu bilinmektedir.

Omurgalı hayvanların en büyük grubunu oluşturan balıkların %40'nı *Cyprinidae* familyası oluşturmaktadır. Bu familya pek çok tatlı su balığını içermektedir. Denizlerdeki farklı yaşam koşulları, farklı derinlikler, tuzluluk oranı gibi faktörler pek çok farklı balık türlerini barındırmaktadır. Genel olarak alıştığımız balık şekli fusiform adı verilen iğ şekli olmasına rağmen dil balığı (*Pleuronectes platessa*), deniz atı (*Hipocampus guttulatus*), büyük paçavra balığı (*Phyllopteryx eques*), zargana (*Belone belone*), deniz iğnesi (*Syngnatus acus*) gibi balıkların görünüşleri oldukça farklıdır. Tür bakımından çok fazla çeşitliliğe sahip denizleri barındırmasına rağmen Ülkemizde ekonomik değeri olan deniz ürünü türü sayısı 100 civarındadır. Denizlerimizde pelajik ve demersal balıklara ek olarak kabuklu, yumuşakçalar ve diğer türler de avlanmaktadır (5). Su ürünleri üretiminin %74'ü Karadeniz Bölgesinden sağlanmakta ve bununda büyük bölümünü ticari olarak tüketime sunulan balıklar oluşturmaktadır. Ülke genelinde en çok; kalkan (*Psetta maxima*), lüfer (*Pomatomus sp.*), hamsi (*Engraulis encrasicolus*), kefal (*Mugil cephalus*), mezgıt (*Merlangius sp.*), levrek (*Dicentrarchus labrax*), deniz alası (*Salmo trutta labrax*), istavrit (*Trachurus sp.*), palamut (*Sarda sarda*), barbunya (*Mullus barbatus*) tüketimi söz konusudur. Karadenizde tüketimi en fazla olan balık hamsi ve sonrasında istavrittir (1).

Türkiye, 8333 km uzunluğundaki sahil şeridinde toplam 46583 hektar kumsal alanıyla Avrupa'nın en fazla kumsalına sahip ülkesi olma sebebiyle balıkçılık için oldukça fazla kaynak sağlamaktadır. Su ürünleri potansiyeli açısından zengin olması, balıkçılık sektörünün ülkenin sosyo-ekonomik yapısında önemli bir rol oynamasına sebebiyet vermektedir. Balık

eti, balıkçılık yoluyla insanlar için geçim kaynağı oluşturmasının yanı sıra özellikle son yıllarda, daha kaliteli et olması, kolay sindirilmesi ve diyetik özelliği olması açısından besin olarak oldukça fazla tercih sebebi olmaktadır. Bununla birlikte balıkların kas dokuları diğer memeli hayvan kaslarından çok daha hızlı bozulduğu için çok kolay bozulabilen gıda kaynakları olarak da bilinmektedirler.

### **1.3. Balık Eti Kalitesini Bozan Etmenler**

Hızlı sanayileşme, nüfustaki hızlı artış ve kentleşme, yetersiz altyapı ve sanayi kuruluşlarında büyük oranda arıtma tesislerinin bulunmaması önemli bir çevre kirliliğine neden olmaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde evsel ve endüstriyel atıkların yeterince arıtılmadan nehir, göl ve deniz gibi alıcı ortamlara verilmesi ekolojik sistem için ciddi problemler oluşturmaktadır (6).

Balık eti, avlanmadan sonra tüketilinceye kadar geçen sürede mikroorganizmaların, enzimlerin ve dış etkenlerin etkisiyle bir seri kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik değişikliğe uğramaktadır. Bu nedenle tazeliğini ve kalitesini kaybetmektedir. Genel olarak temiz sulardan yeni avlanmış sağlıklı balıkların deri, solungaç ve bağırsakları yüksek oranda mikroorganizma içermesine karşın, kaslarında çok az sayıda mikroorganizma bulunur ve kasları steril kabul edilir. Ancak; balıklarda, avlandıktan sonra uygulanan işlemlere, bulunduğu sıcaklık derecesine ve süresine bağlı olarak solungaçlardan, deriden ve bağırsaklardan mikroorganizmalar kas dokusuna geçmekte ve sonuçta mikroorganizmaların etkisiyle balık etinin kalitesi bozulmaktadır. Balıklarda meydana gelen kimyasal bazı bileşikler; tat, koku, yapı ve renk gibi duyuşal niteliklerin değişmesine neden olmaktadır. Etin tazeliği ve kalitesi ile kimyasal olayların seyri arasında yakın bir ilişki vardır. Bu nedenle, ette oluşan kimyasal bileşiklerin miktarını ve çeşitlerini belirlemek suretiyle etin tazelik derecesini saptamak mümkün olabilmektedir.

İnsan nüfusuna paralel olarak artan gıda ihtiyacını karşılamak üzere gıda endüstrisindeki hızlı gelişmeler, tüketiciye çeşitli olanaklar sunarken, daha kaliteli, güvenli ve sağlıklı gıda üretiminin zorunluluğunu da beraberinde getirmektedir (6). Hayvansal kaynaklı gıdalar içinde yer alan balık eti, protein, vitamin ve mineral bakımından zengin, sindirimi kolay bir besin kaynağıdır. Bu özelliklerinin yanı sıra yapısal özellikleri bakımından yumuşak ve sulu olması, bağ dokusunun çok az olması (%2), pH sınırın 6,8-7,2 arasında olması, doymamış yağ asitleri bakımından zengin olması, iç organları çıkartılmadan piyasaya sunulması nedeniyle mikroorganizmaların üremesi ve gelişmesi için uygun bir ortam

oluşturmakta ve bunun sonucu olarak da yeterli hijyenik ve teknolojik koşullarda muhafaza edilmediği takdirde insan sağlığı açısından risk oluşturmaktadır (7). Aynı zamanda, su ortamına petrol sızıntısı ve endüstriyel atıklar gibi kimyasal atıkların bulaşması da balık etinin kalitesini bozmakta ve insan sağlığı açısından olumsuz bir etmen haline getirmektedir.

### **1.3.1. Kimyasal Etmenler**

Üretimin giderek yoğunlaşması, yem üretiminde ve korunmasında kimyasal maddelerin kullanılması, evsel ve sanayi atık deşarjları, denizlerde meydana gelen petrol kazaları gibi birçok nedene bağlı olarak sular kirlenmekte, böylece sucul ekosistem ile insan sağlığı açısından tehlikeler ortaya çıkmakta ve balık etinin kalitesini bozan kimyasal etmenler oluşmaktadır.

Kıyı deniz suları özellikle kanalizasyon atık sularıyla kirlenebilmekte ve beraberinde ciddi sağlık sorunları getirebilmektedir (8). Sanayileşme, tarımda yapay gübre ve pestisitlerin kullanımının artması, tarım ve sanayide kullanılan binlerce kimyasal madde, suların kirlenme durumunun ortaya çıkmasına neden olmaktadır (9).

Endüstriyel atıklar, jeokimyasal yapı ve maden çalışmaları sucul ortamlarda ağır metal kirliliğinin önemli kaynaklarını oluşturmaktadır (10). Suların kirlenmesiyle ortamda bulunan bakır, çinko, kurşun, mangan, civa gibi pek çok ağır metal sucul canlı ve balıklar için risk teşkil etmekle birlikte, özellikle balıkların solungaçlarında olmak üzere canlı dokusunda birikebilmektedir. Belirli evresel şartlar altında ağır metaller, toksik konsantrasyonlarda akümüle edilebilmekte ve ekolojik zararlara neden olabilmektedir (11).

**Bakır:** Su ortamında bulunan bakır, bünyede demir elementinin yerine geçerek bitkilerde büyümeı engellemektedir. Ayrıca küçük canlılar ve balıklar üzerine toksik etkilere neden olmaktadır.

**Kurşun:** Genel olarak yakıt kökenli bir kirlilik olan kurşun kirlenmelerine okyanuslarda dahi yüksek miktarlarda rastlanmıştır. Su ortamında bulunması, canlı bünyesinde birikim gösterebilen özelliğinden dolayı, besin zinciri üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır.

**Mangan:** elik dayanıklılığını arttıran bir alaşım elementidir. Günümüz modern gübrelerinin vazgeçilmez elementi olma sebebiyle kirliliği yaygındır.

**Demir:** Bakır, inko ve manganez gibi metaller esansiyel elementlerdendir ve biyolojik sistemlerde önemli rol oynarlar. Buna karşın civa, kurşun ve kadmiyum esansiyel

elementlerden değildir ve iz miktarlarda bile toksiktir. Bu esansiyel elementler aşırı olarak alındığında da toksik etki oluşturabilmektedir (10).

Kadmium: Elektrik, seramik, pil ve akü sanayisinde kullanılmaktadır. Endüstri ve sanayi atıklarının denizlere deşarjı sonucu kirlenmeler oluşmaktadır. Canlılar için oldukça toksik bir metaldir.

Çinko: Metal kaplama, boyama ve lastik endüstrilerinde yoğun miktarlarda kullanılır. Belirli konsantrasyonların üzerinde toksik etki yapmakta ve klorür formunda öldürücü etkilere neden olmaktadır.

Cıva: Pestisit üretiminde, klor ve sodyum elektrokimyasında kullanılmaktadır. Kullanım sonucu oluşan atık sular alıcı ortamlara deşarj edilebilmekte ve olumsuz etkilere neden olmaktadır. Cıva su ortamında bakteriler tarafından cıva metil formuna dönüştürülmekte ve bu form canlılar ve insanlar üzerinde öldürücü etkilere neden olmaktadır.

### **1.3.2. Mikrobiyolojik Etmenler**

Balık ve su ürünleri, günümüzde tüketilen proteinli yiyeceklerin önemli bir grubunu oluşturur. Yapılan denemeler protein dışında balık ve su ürünlerinde önemli miktarda vitamin ve mineral madde bulunduğunu ve bu ürünlerin beslenme değerinin yüksek olduğunu göstermiştir (12). Yüksek besin değerine sahip olan bu ürünler mikrobiyal bozulmaya karşı çok duyarlıdır (13).

Ürünü arttırmada ve hastalıklara karşı korumada kullanılan antibiyotik, antiparaziter, hormon, enzim, boya ve kimyasalların kullanılması, gerek denizel ortamlarda gerekse balık yapısında mikrobiyal değişime neden olmaktadır.

Arıtılmaksızın denizlere ve diğer sucul ortamlara verilen evsel, endüstriyel gibi atık sular, kolera gibi çeşitli hastalıklara neden olan mikropların su ortamında yayılmasına ortam hazırlamakta ve bunun sonucunda insan ve diğer canlıların sağlığını tehdit etmektedir (14). Atık suların herhangi bir arıtma işlemi uygulanmadan çevre sularına katılması, içerdikleri organik maddelerin mikroorganizmalarca parçalanması sonucu çevre sularında doğal yaşam koşullarının bozulmasına neden olmaktadır (15). İçerdikleri çeşitli toksik maddeler ve patojen mikroorganizmalar balık, balık dokusu ile insan sağlığı açısından önemli tehlike oluşturabilmektedir.

Canlı balığın florası, içinde yaşadığı suyun mikrobiyal içeriğine bağlı olarak değişmektedir (16). Doğal olarak balıkların yaşam alanı olan suda bulunan bakteriler, *Spirillum*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Archromobacter*, *Chromobacterium* türleri ile *Micrococcus*



ve *Sarcina*'nın bazı türleridir. Suda bulunması mümkün bağırsak kökenli mikroorganizmaların başlıcaları ise; *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Clostridium perfringens* ve *Salmonella*, *Vibrio comma* gibi muhtemel bağırsak patojenleridir (9). Bu mikroorganizmalar fekal kontaminasyon sonucu suda bulunurlar ve balık dokusunda bulunmaları veya içme sularına karışmaları durumunda büyük tehlike arz ederler.

Ayrıca ülkemiz balıkçılarının avcılık sonucu elde ettiği balıklar, Risk Analizi Kritik Kontrol Noktaları (HACCP, Hazard Analysis of Critical Control Point) şartlarını içeren balıkhanelerde karaya çıkartılıp sağlıklı koşullarda pazarlanmadığından, su ürünlerinin iç tüketimde halk sağlığı açısından gereken şartları sağladığı söylenememektedir (4). Bu durum, balıkların olumsuz saklama koşullarında muhafaza edildiğini ve halk sağlığı açısından olumsuzluk taşıdığını gözler önüne sermektedir.

Tarım alanlarının kanalizasyon suyu ile sulanması veya kanalizasyon sularının akarsu, göl ve denizlere boşaltılması ile kanalizasyon sularında bulunan hastalık yapıcı mikroorganizmaların toprağa, suya ve atmosfere geçerek bu ortamların mikrobiyolojik yönden kirlenmesine yol açması, kimyasal ve biyolojik kirleticiler tarafından kontaminasyonların artması, avlanan balıkların olumsuz saklama koşullarına maruz kalması ve bu sayede kontamine veya enfekte olmuş balıkların tüketimindeki artış, ayrıca insanlarda immün yetersizlik, enfeksiyöz hastalıklara karşı hassasiyetin artmasının önemli nedenlerindedir. Birçok enfeksiyon hastalığı hayvanlardan insanlara geçmekte ve bu tip hastalıklara zoonoz adı verilmektedir (17). Balıklardan insanlara geçen enfeksiyonlar da Ichtyozoonoz yani balık zoonozları olarak bilinmektedir. Bu hastalıkların oluşumunda çoğu zaman gıda maddeleri rol oynamakta ve bulaşma, en etkili yol olan ağız yoluyla gerçekleşmektedir.

İnsanları enfekte edebilen balık patojenleri, çoğu durumlarda küçük rahatsızlıklar oluşturmasına rağmen bazen çok ciddi hastalıklara da sebep olabilmektedir. Ancak bu konuda resmi istatistiklerin olmaması var olan risklerin çeşitleri ve tiplerinin yorumlanması için zor olmaktadır (17). Balık zoonozları etkenin türüne göre bakteriyel, parazitik, viral ve fungal zoonozlar olarak incelenmektedir.

### **1.3.2.1. Parazitik Zoonozlar**

Parazitler doğada geniş bir yayılım alanına sahiptir. Hemen hemen pek çok hayvan yaşamı boyunca zaman zaman parazitlere konak durumundadırlar. Balıkların bünyesinde

larval durumda bulunan çok sayıda parazit çiğ veya az pişmiş balık etinin tüketilmesiyle zoonotik özelliğe sahip olabilmektedirler.

Genellikle balık tüketimiyle son konak haline gelen insanlar bu parazitleri alır ve burada ergin forma ulaşan parazitler hastalık oluştururlar (18). Örneğin nematodlar, trematodlar ve sestodlar gibi parazitler, balıklarda deri kas ve çeşitli iç organların içerisinde bulunmakta ve insanlarda bulantı, kusma, karın ağrısı, gastrik ülser gibi hastalıklara ve ağır böbrek tahribatına neden olmaktadır.

### **1.3.2.2. Viral Zoonozlar**

Henüz insanların balık virüsleriyle enfekte olduğuna dair bir kayıt yoktur; fakat insanlar için patojen olan bazı virüslerin balıklarda olabileceği bilinmektedir (19). Söz konusu virüslerin, kirli suların deniz ortamına karıştığı yerlerde yakalanan balıklarda bulunduğu tespit edilmiştir (17).

### **1.3.2.3. Fungal Zoonozlar**

Fungal balık patojenleri ile ilgili olarak ise bugüne kadar insanlarda bir enfeksiyon bildirilmemiştir; ancak mantarların balıklarda patojen etkiye sahip olduğu literatürlere geçmiştir.

### **1.3.2.4. Bakteriyel Zoonozlar**

Balık zoonozlarına neden olan bakteriler daha çok gram negatif bakterilerdir. Gram pozitif bakterilerin sadece bir kısmı insanlarda hastalık oluşturuca etkiye sahiptir.

İnsanlarda enfeksiyona neden olan bakteriler, genellikle balıklarda enfeksiyona neden olmaz; ama bu bakteriler balığın bulunduğu ortamda bulunabilmekte, balık ve balıkçılık ürünleriyle taşınabilmektedirler (14). İnsana bulaşan bakteriyel balık zoonozları, kontamine balık dokularının ve kontamine suyun, derideki yırtık deri ile temas etmesi veya kontamine balıkların gıda olarak tüketilmesi sonucu oluşmaktadır (20). İnsanda bakteriyel balık zoonozları çoğunlukla belirtisiz gastroenterit, deri veya dokuların altında lokalize enfeksiyonlarla sonuçlanmaktadır (17).

Balıkların mikroflorası, balığın cinsi, yaşadığı su ortamı, mevsim ve gelişim dönemine göre farklılık gösterir. Örneğin, temiz sularda yeni yakalanmış balıklarda mikrobiyal kontaminasyon sınırlıdır. Bu durum yakalandığı ortamın kirlilik durumuna, sıcaklığına,

balığın yakalanma şekline ve avlanmadan sonra yapılan işlemlere bağlıdır. Soğuk sularda avlanan balıkların derisinde gram-negatif bakteriler, başlıca *Psychrobacter*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Shewanella* ve *Vibrio*, ılık sularda avlanan balıkların derisinde ise gram-pozitif bakteriler özellikle *Micrococcus*, *Corneform* ve *Bacillus* cinsleri hakim durumdadır (21). Tatlı su balıkları, tatlı sularda yaşayan bakterileri taşımaktadır (22). Bunlar deniz suyunda yaşayan birçok bakteriye ilaveten *Aeromonas*, *Lactobacillus*, *Brevibacterium*, *Alcaligenes* ve *Streptococcus*'a ait türleri içermektedir. Her iki kaynaktan bulunan balıkların sindirim sistemlerinde *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Clostridium* ve *Escherichia* cinslerine ait bakteriler bulunmaktadır (23).

Balıkların derisinde, solungaçlarında, bağırsak içeriğinde ve çevrede bulunan mikroorganizmalar primer kontaminasyonlara neden olurken; işleme, taşıma ve pazarlama aşamalarında ise sekonder kontaminasyonlar oluşabilmektedir (24). Bu mikroorganizmalar ise balıklarda bozulmalara, insanlarda zehirlenmelere ve hastalıklara neden olmaktadır.

Gıda kaynaklı hastalıklar nedeniyle her yıl Amerika Birleşik Devletleri'nde 76 milyon hastalık olgusunun meydana geldiği ve bunların 5 milyonunun ölümle sonuçlandığı bildirilmektedir. Gıda kaynaklı enfeksiyonların etiyojisine bakıldığında başta *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *E. coli O157*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* ve *Vibrio spp.* olmak üzere bakteriyel patojenlerin büyük (%75) rol oynadığı bildirilmiştir (7). *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Salmonella* gibi enterobakterler toplumda pek çok sistemi tutabilen ve ciddi hastalıklara neden olabilen infeksiyöz ajanlar olma sebebiyle insan sağlığı açısından oldukça tehlikeli türler arasında yer almaktadır.

#### **1.4. Enterobacteriaceae**

*Enterobacteriaceae* familyası gram negatif, fakültatif anaerop, çomak şekilli bakteriler olup, biyokimyasal ve antijen yapılarındaki farklılıklar nedeniyle çeşitli tür ve tiplere ayrılan, toplam 28 cinsi kapsamaktadır. Bu ailede; *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* gibi obligat patojen cinslerin yanı sıra çok sayıda *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Edwarsiella* gibi fırsatçı patojen cinsler de vardır.

Doğal olarak insanların ve hayvanların bağırsaklarında bulunan *Enterobacteriaceae* üyelerinin balık ve balık ürünleri üzerindeki türleri ise atık sulardan veya ürünlerin uygun olmayan koşullarda muhafaza edilmesi ve kirli eşyalar ile kontamine olması sonucu oluşmaktadır. Dolayısı ile bu organizmalar beslenme yolu ile potansiyel hastalık yapıcı etkiye sahip olarak, index organizmalar veya işletmelerdeki yetersiz hijyeni anlatması bakımından

indikatör organizmalar olarak isimlendirilmektedirler (25). Ayrıca uygun üreme ortamı buldukları zaman bakteriyemi, alt solunum yolu enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, endokardit, intra-abdominal enfeksiyonlar, septik artrit, osteomyelit ve göz enfeksiyonları dahil olmak üzere çeşitli enfeksiyonlar ile zehirlenmelere neden olmaktadır.

Besin zehirlenmesi etkeni olduğu bilinen cinsler içinde en önemlileri *Escherichia* ve *Salmonella* cinsleridir. Enteropatojenik *Escherichia coli* ve *Salmonella* birçok araştırmacı tarafından balık ve kabuklu organizmaların deniz türlerinden izole edilmiştir (26).

*Enterobacteriaceae* familyasının 37 °C 'de 48 saat içerisinde laktozdan asit ve gaz oluşturan, gram negatif, sporsuz, çubuk şeklinde olanları koliform bakteriler olarak adlandırılır. Buna göre; *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Entcloacae*, *Citrobacter freundii* ve *Klebsiella pneumoniae* koliform grup bakteriler içerisinde tanımlanır (27). Bu mikroorganizmaların su ortamında bulunması fekal kontaminasyonlar sonucu olur ve içme suları için büyük tehlike arz ederler. Tifo ve dizanteri gibi bulaşıcı hastalıklar, gerek hayvan gerekse insan artıklarıyla kontamine olan suların kullanılması ile ortaya çıkarlar. İçme suyu *Enterobacteriaceae* üyelerinin doğal yaşam ortamı değildir ve temiz suda çoğalmazlar. Koliform grubu bakteriler insan sağlığı ve su kirliliği varlığının göstergesi açısından önemlidir.

*Enterobacteriaceae* ailesinin *Salmonella* cinsi çoğu zaman kirli sularda yetiştirilen balıklardaki enfeksiyonun kaynağı olmakta ve bu bakterinin teşhisi, insanlarda ve hayvanlarda kan, dışkı ile üreden yapılan bakteriyolojik incelemelerle olabilmektedir (28). Diğer bir *Enterobacteriaceae* üyesi *Yersinia* deniz ürünlerinden balık, istiridye ve midyelerde tespit edilmiştir; ancak bu bakterinin sağlıklı insanlarda çok fazla hastalık yapıcı etkiye sahip olmadığı, fırsatçı patojen olduğu, yüksek miktarda vücuda girdiğinde etkili olduğu bildirilmektedir (17). Familya içerisinde yer alan *Edwardsiella*'nın sadece bir türü, *Edwardsiella tarda* insanda hastalığa neden olmaktadır. Bu tür aynı zamanda yayın balıklarında hastalık etkeni olup kuşlar, kurbağalar, balıklar ve diğer türlerin bağırsak mikroflorasında bulunmaktadır (29). Enfekte balık ve kontamine sular enfeksiyonun kaynağıdır.

#### **1.4.1. *Escherichia coli***

*Enterobacteriaceae* familyası içinde koliform olarak bilinen ve fekal koliform olarak tanımlanan bakterilerin büyük çoğunluğu *E.coli* olarak bilinmektedir. *E.coli*, normal bağırsak

florasına ait olup, biyolojik sınıflandırmada bağırsakta yaşayan bakterilerden oluşan enterik bakteriler ailesinde yer almaktadır. Bakteri çubuk şeklinde, boyutları 1-2 µm uzunluğunda ve çapı 0,1-0,5 µm arasında değişmektedir. Gram-negatif bir bakteri olduğundan endospor oluşturmaz. Memeli hayvanların bağırsaklarında büyümeye adapte olduğu için en iyi vücut sıcaklığında çoğalır (30).

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

*E.coli* fekal kontaminasyonun bir göstergesi olması yanında genetik yapısı en iyi bilinen canlı olma özelliğine de sahiptir. Suşlarının birçoğu zararsız olan bu bakterinin bazı patojenik tipleri, insan ve hayvanlarda, sonucu ölüme kadar giden ishaller, yara enfeksiyonlarına, menenjit, sepsis, arteriosklerosis, hemolitik üremik sendrom ve çeşitli immünolojik hastalıklara sebep olabilmektedir (31).

#### **1.4.2. *Salmonella***

Hareketli ve hidrojen sülfür üretebilen *Salmonella* türleri *Enterobacteriaceae* ailesi içinde yer alır ve tifo, paratifo ile gıda zehirlenmesine yol açabilen, çubuksu bakterilerdir. Gram-negatif bir bakteri olan *Salmonella*, klinik laboratuvarlarda genelde MacConkey agar, XLD agar, XLT agar, DCA agar veya Önöz agar ile izole edilir. Bağırsak enfeksiyonuna ve sıkça gıda kaynaklı hastalıklara neden olduğu bilinmektedir (32).

Sağlık açısından çok büyük önem taşıyan *Samonella tpyhi* türü ağız yoluyla alındığında etkili olmaktadır. Suda orta derecede dayanabilmektedir ve klora direnci çok düşüktür. Tifo; *Salmonella typhi*'nin sebep olduğu ateş, baş ağrısı, karın ağrısı, şuur bulanıklığı ile karakterize edilen, insanlara özgü, sistemik enfeksiyon hastalığıdır (33).

#### **1.4.3. *Klebsiella***

Gram negatif ve *Enterobacteriaceae* familyasının genel özelliklerini gösteren *Klebsiella* cinsi bakteriler, hareketsiz, sporsuz, genellikle kapsüllü çomaklılardır. Kısa, uçları yuvarlak, 1-2 mikrometre boy ve 0,5-0,8 mikrometre eninde hareketsiz, sporsuz bakterilerdir. Uç uca ikişer ikişer kısa zincirler halinde veya tek tek bulunurlar. Çevrelerinde polisakarit yapısında bir kapsül bulunur ve kapsül, normal şartlarda serumda görünmez, sadece hastalık evresinde görülebilir. Hemen hemen bütün şekerleri asit ve gaz halinde

parçalayabilmeleri özellikle nişastayı parçalayabilmeleri, diğer bağırsak bakterilerinden ayırt edilmeleri için en önemli özelliktir.

*Klebsiella pneumoniae* olarak adlandırılan ve hastane enfeksiyonlarının önemli bir ajanı olan *Klebsiella* türü, insan sağlığı açısından çok önemli olan nazokomiyal enfeksiyonlar, üst solunum yolu enfeksiyonları, ürener sistem enfeksiyonları ve yara enfeksiyonları oluşmasında rol alan fırsatçı patojenlerdir. Hatta nazokomiyal enfeksiyonlara yaygın olarak neden olan bakteriler sıralamasında *Escherichia coli*’den sonra ikinci sırada gelmektedir (34).

#### **1.4.4. Shigella**

Hareketsiz, gram negatif, fakültatif anaerob olan *Shigella*’ lar sporsuz ve çubuk şekilli bakterilerdir. İnsanların bağırsak sistemlerinde bulunurlar ve insanlar bu bakterilerin yegâne konakçısı olarak kabul edilir.

Özellikle sıcak ülkelerde gıdaların ve suların insan dışkısı ile kirlenmesi sonucunda ortaya çıkan kontaminasyon sonucu, kontamine olmuş gıda maddelerinde ve suda bulunurlar. İnsandan insana bulaştığı, gıdalarla da taşınabildiği ancak gıdaların bu bakterilerin çoğalmasına olanak tanımadığı, sadece vektör (taşıyıcı) olarak rol aldığı kesin olarak bilinmesi sebebiyle gıda kaynaklı enfeksiyonlara dâhil edilmezler. Gıda maddelerinde çok uzun süre canlılıklarını muhafaza edebilirler ve kısa süreli olarak düşük pH’lı ortamları tolere edebilirler. Oksidaz negatif özellik gösterirler. Kontamine gıdalarda en çok rastlanan türü *Shigella sonnei*’dir (35).

#### **1.4.5. Serratia**

*Serratia*’lar, *Enterobacteriaceae* ailesinde basil şekilli Gram negatif bakterilerdir. Bu familyanın diğer türlerinden; gastrointestinal yola daha az yerleşmesi, lipaz, jelatinaz ve DNase enzimlerinin olması ile ayrılırlar. Saprofitik bakteri olarak geniş yayılım gösteren türleri vardır ve özellikle nişastalı gıdalarla çok iyi büyüme göstermektedirler (36).

Son yirmi yılda hastane enfeksiyonlarının en belirgin nedeni haline gelmiştir. Solunum sistemi ve ürener sistemde yerleşmeye ve özellikle yoğun bakım ünitelerinde nozokomiyal enfeksiyonlar yapmaya eğilimli olduğu bildirilmiştir. Bakteriyemi, alt solunum yolları, cerrahi yaralar ve deri ve yumuşak dokularda enfeksiyonlara yol açmakta ve nozokomiyal enfeksiyonların %2’sinden sorumlu tutulmaktadır (37).

*S. marcescens*, *Serratia*' lar içinde önemli yeri olan patojen tür olmakla birlikte, bu cins içinde nadir olarak hastalık yaptığı bildirilen *S. plymuthica*, *S. liquefaciens*, *S. rubidaea* ve *S. odorifera* türleri de bulunmaktadır.

#### **1.4.6. Yersinia**

*Yersinia*, *Enterobacteriaceae* ailesine mensup bir gram negatif bakteri cinsidir. Bubonik vebanın enfeksiyöz ajanıdır. Aynı zamanda septisemik ve pnömonik veba türlerinin de etkenidir. Diğer *Enterobacteriaceae* cinslerinde olduğu gibi, fermentatif bir metabolizmaya sahiptir ve kokobasil şekillidir. En çok bilinen *Y. pestis* türü tarih boyunca birçok pandemilere sebep olmuştur (38).

#### **1.4.7. Proteus**

Kokobasil görünümünde, sporsuz ve kapsülsüz bakteriler olup *Enterobacteriaceae* familyasında yer alırlar. İnsanda neden oldukları idrar yolu enfeksiyonları uzun süreli ve persistan enfeksiyonlar olduğu için böbrek taşı oluşumuna neden olabilirler. Toprakta, suda ve dışkıyla kontamine materyallerde bulunurlar. *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri* gibi bilinen türleri vardır (39).

### **1.5. Antibiyotikler**

Mantar veya benzeri mikroorganizmalar tarafından oluşturulan, mikroorganizmaların ve başka canlıların gelişmesini durdurma veya öldürme gücü bulunan doğal ya da kimyevi maddelere antibiyotik denir (40).

Günümüzde en yaygın kullanılan ve beta-laktam halkası olarak adlandırılan Beta-laktam grubu antibiyotiklerdir ve ortak kimyasal molekülleri ile diğer antibiyotiklerden ayırt edilmektedirler. İlk olarak 1928 yılında besiyerine tesadüfen düşen *Penicillium notatum* türü mantarın çevresinde stafilokok türü bakterilerin üreyememesi nedeniyle dikkat çekmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu penisilin G geliştirilerek klinik kullanıma sunulmuş ve sonraki yıllarda geliştirilen yeni beta-laktam grubu antibiyotiklerin tümü, ortak molekül olan beta laktam halkasına bağlı aminoasitler üzerinde yapılan çeşitli modifikasyonlar sonucunda şekillendirilmiştir (41).

Antibiyotikler, mikroorganizmalara çeşitli mekanizmalarla etki etmektedirler. Örneğin yaygın kullanım alanına sahip penicillinler bakteri hücre duvarı sentezini inhibe ederek etki

göstermektedirler. Antibiyotiklerin etki mekanizmaları genel olarak 5 grupta toplanmaktadır (Tablo 1.1).

**Tablo 1.1. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları**

Bakteri hücre duvarı sentezini inhibe ederek	Stoplazma membran permeabilitesini bozarak	Bakteri ribozomlarında protein sentezini inhibe ederek	DNA ve RNA sentezini bozarak	İntermedier metabolizmayı bozarak
Penisilinler	Polimiksinler	Aminoglikozidler(30S)	Kinolonlar	Sülfonamidler
Basitrasin	Nistatin	Klindamisin (50S)	Aktinomisin	PAS
Sefolosporinler	Ketokonazol ve diğer	Kloramfenikol (50S)	Rifampisin	Sulfonlar
Vankomisin	imidazoller	Eritromisin (50S)	Daunorubisin	Etambutol
Monobaktamlar	Amfoterisin B	Tetrasiklinler (30S)	Mitomisin	İzoniazid
Sikloresin	Flukonazol ve diğer		Doksorubisin	Trimetoprim
Karbapenemler	triazoller			
Ristosetin	Gramisidin			

### 1.6. Antibiyotik Dirençliliği

Mikroorganizmaların yeryüzünün en eski canlıları olmalarının nedeni, değişen koşullara hızla uyum sağlayabilme yetenekleridir. Bakteriler çevresel değişikliklere çok çabuk cevap verebildiklerinden, bu yetenekleri akuatik ekosistemde köklü değişikliklere yol açabilmektedir. Bakterilerin bu özellikleri geliştirilen her yeni antibiyotiğe direnç geliştirebilmelerine de yol açmaktadır. “Mucize ilaç” olarak isimlendirilen antibiyotikler, kullanıma girmelerinden bu yana uzun bir süre geçmemesine rağmen bu ilaçlar ile ilgili gelişmeler hızla artmış, aynı zamanda kullanımları sırasında ve sonrasında ortaya çıkan önemli sorunlar da gündeme gelmiştir. Antibiyotiklere karşı gelişen bakteriyel direnç ise bu sorunların başında yer almaktadır (42).

Sudaki çözünürlükleri yüksek olan antibiyotikler, insan faaliyetlerini takiben kanalizasyon sistemleri yoluyla, çiftlik, mezbaha ve arazi yükseltme çalışmaları neticesinde sucül çevrelere karışmaktadır. Antibiyotik dirençli suşlar, sucül çevrelere veterinerlikte, hayvan gübrelerinde antimikrobiyal madde kullanımı ve artırılmamış kanalizasyon suları yoluyla bulaşmaktadır (43, 44, 45). Antibiyotik dirençliliğinin kökeni son yarım yüzyıl boyunca antibiyotiklerin insanlarda enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde ve çok sayıda insan kaynaklı olmayan tarım, hayvan yetiştiriciliği ve balık çiftlikleri gibi uygulamalarda



kullanılmasına dayanmaktadır. Enfeksiyon hastalıklarında yaygın bir şekilde kullanımı bir taraftan tedavide başarı sağlarken, diğer taraftan enfeksiyona neden olan bakterilerde, kullanılan antibiyotiklere karşı yüksek düzeyde ve hızlı bir şekilde dirençliliğin gelişimine neden olmuştur. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılması dirençlilik gelişiminde etkin olup, nehirlerin denizlere döküldüğü alanlardan, derin deniz suyu ile sedimentinden dirençli bakterilerin su ve su ürünleri ile deniz araçları ile geniş alanlara yayılması dirençliliğin daha da gelişmesine ve bakteriler arasında yayılmasına neden olmuştur. Akuatik ekosistemde bakterilerin başlangıçta hassas oldukları bir antibiyotiğe dirençli hale gelmeleri, evsel atıkların doğal ortamlara ulaşması ile ilgilidir (46). Atık sularda ve bunların dip sedimentlerinde yer alan bakteriler çok sayıda antibiyotiğe dirençlilik taşıyabilirler. Toprak, lağım suyu ve yüzey suları gibi farklı çevrelerdeki antibiyotik dirençliliği taşıyan bakterilerin varlığı ve son yıllardaki artışı insan sağlığını tehdit etmektedir. Aynı zamanda bakteriyel dirençliliğin gelişmesinin çevresel bir problem olduğu unutulmamalıdır. Günümüzde penisilin dirençli *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* ve *Pseudomonas* gibi gram negatif, metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*, vankomisin dirençli pnömokoklar, makrolid dirençli streptokoklar gibi gram pozitif bakteriler ve asite dirençli *Mycobacterium tuberculosis* gibi bakterilerin oluşması enfeksiyonların tedavisinde büyük güçlükler neden olmaktadır (42).

Bakterilerde meydana gelen hücre zarı geçirgenliğinin değişimi, metabolik yol ve enzimlerin değişim göstermesi veya antibiyotiklerin etki edecekleri molekülün kaybolması bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirme şekilleridir. Deniz veya göl ortamındaki bakterilerin antibiyotiklere direnç geliştirmeleri o ortamın insan kaynaklı kirletilmesinin bir göstergesidir. *Enterobacteriaceae* üyeleri insan kaynaklı atıklar yoluyla deniz ekosisteminde çoğalabilmekte ve özellikle *E.coli* en bilinen fekal indikatör bakteri olarak çalışmalara konu olmaktadır.

Bakterilerin bir kısmında dirençlilik gelişimi, plazmid olarak isimlendirilen ekstrakromozomal DNA yapıları ile belirlenir. Plazmidin yapısı bakteri kromozomundan farklıdır ve konjugasyon yolu ile dirençliliğin aktarılmasında görev yaptığı için R-plazmidi olarak adlandırılır (47). Özellikle evsel atıklar, R-plazmidi taşıyan ve çoğunluğu insan bağırsak florasından kaynaklanan bakteriler içermektedirler.

*Enterobacteriaceae* ailesinde en az 20 farklı bakteri cinsi vardır ve bunlar plazmid alıp verebilmektedirler. Domestik ve endüstriyel atık suların, yüzeysel sulara deşarj edilmesi, içme sularının plazmid taşıyan bakterilerle kontaminasyona uğraması neticesinde bu durum; bu tip antibiyotiğe dirençli mikroorganizmaların giderek artmasına neden olacak ve bu patojen

organizmaların insanlarda ve hayvanlarda enfeksiyona neden olmaları halinde de tedavide imkansızlığa neden olacaktır.

## 2. MATERYAL METOD

### 2.1. Materyal

Bu çalışmanın deneysel sürecinde aşağıda verilmiş olan materyaller kullanılmıştır.

#### 2.1.1. Kullanılan Antibiyotikler

Antibiyotik dirençlilik düzeylerinin belirlenmesinde kullanılan antibiyotik disklerinin tamamı BD (Becton Dickson, USA) marka olup isimleri ve içerdikleri antimikrobiyal madde miktarı Tablo 2.1’de belirtilmiştir.

**Tablo 2.1. Antibiyogram Testlerinde Kullanılan Antibiyotikler**

Kısaltma İsmi	Ticari İsmi	Grubu	Etki Mekanizması
AK 30 µg	Amikacin	Aminoglikozit	Protein sentezini inibe eder.
S 10 µg	Streptomycin		
E 15 µg	Erythromycin	Makrolid	Bakteri ribozomlarının 50S alt birimindeki 23S tRNA bağlanarak, aynı yere tRNA'nın bağlanmasını ve dolayısıyla peptid yan zincirin uzamasını önlerler.
AM 10 µg	Ampicilin	Aminopenisilin	Bakteri hücre duvar sentezini inhibe eder.
CZ 30 µg	Cefazolin	Sefalosporin 1	Bakteri hücre duvar sentezini inhibe eder.
CTX 30 µg	Cefotaxime	Sefalosporin 3	
CXA 30 µg	Cefuroxime	Sefalosporin 2	
NA 30 µg	Nalidixic Acid	Kinolin	DNA giraz (topoizomeraz II) enzimi inhibitörüdür.
TE 30 µg	Tetracycline	Tetrasiklin	30S alt birimine bağlanarak tRNA'nın bağlanmasını ve peptid zincirinin uzamasını önlerler.

#### 2.1.2. Kullanılan Besiyerleri

##### 2.1.2.1. EMB Agar (Eosin Methylene Blue Agar)

Bu besiyeri gram negatif *Enterobacteriaceae* üyesi olan enterik bakterilerin tespiti ve izolasyonu için kullanılmıştır. *E.coli* kolonileri EMB agarda metalik yeşil renk oluştururlar. Laktoz ve sükroz negatif bakteri kolonileri ise renksizdirler. Laktoz pozitif bakteri kolonileri siyah renktedir veya koyu renkli bir merkez ve saydam renksiz bir kenar yapısına sahiptirler (48).

<b>Bileşimi</b>	<b>g/L</b>
Pepton	10
Laktoz	10
Diptosyum Fosfat	2
Agar	15
Eosin Y	0,4
Metilen Blue	0,065

#### **2.1.2.2. Nutrient Agar**

İzole edilen bakterilerin stok kültür olarak saklanması için kullanılmıştır (27).

<b>Bileşimi</b>	<b>g/L</b>
Pepton	10
Et özütü	10
NaCl	5
Agar	15

#### **2.1.2.3. PCA Agar**

Balık numunelerinden bakteri izolasyonu sırasında kullanılmıştır (27).

<b>Bileşimi</b>	<b>g/L</b>
Pepton	5
Maya Özütü	2,5
D(+) Glikoz	1
Agar	12

#### **2.1.2.4. TSA (Tryptic Soy Agar)**

Ağır metal ve antibiyotik testlerinin uygulanmasında kullanılmıştır (27).

<b>Bileşimi</b>	<b>g/L</b>
Trypton	15
Bitki Özütü	5
NaCl	5
Agar	15

#### **2.1.2.5. İndol Sıvı Besiyeri**

İndol testinde kullanılmıştır.

##### **Besiyeri:**

3 gr trypton ve 1,5 gr NaCl 300 mL saf suda çözülmüştür (pH>7).

##### **İndol (Kovaks) ayracı:**

İzoamil veya İzobutil alkol	75 ml
p-dimetil aminobenzaldehit	5 g
Konsantre HCl	25 ml

#### **2.1.2.6. Nutrient Broth**

Metil Kırmızısı ve Voges Prouskauer testi için besiyeri olarak kullanılmıştır.

<b>Bileşimi</b>	<b>g/L</b>
Pepton	10
Et özütü	10
NaCl	5

##### **Metil Kırmızısı ayracı:**

Metil Red	0,1 g
95' lik Etil Alkol	300 ml
Distile su	200 ml

### **Voges Prouskauer ayracı:**

1- % 5 lik  $\alpha$  – naftol solüsyonu:

alfa naftol	5 g
absolü etil alkol (%95)	100 ml

2- %40 ‘ lık KOH:

KOH	40 g
Distile su	100 ml

### **2.1.2.7. Koser’s Citrat Broth**

Sitrat testi için kullanılmıştır (49).

<b>Bileşimi</b>	<b>g/L</b>
Sodyumamonyumhidrojenfosfat	1,5
Dipotasyumhidrojenfosfat	1,0
Magnezyumsülfatheptahidrat	0,2
Sodyumsitratdihidrat kristali	3,0

### **2.1.2.8. EC Broth**

*E.coli* ve *Klebsiella* gibi koliform organizmaların laktozu fermente ederek asit ve gaz oluşturma yeteneğine sahip oldukları bilindiğinden, bu yeteneklerine bakılarak tespiti için kullanılmıştır. Özellikle laktozdan oluşacak gazın belirlenmesi için de tüpün içerisinde bir adet durham tüpü bulundurulmuştur (50).

<b>Bileşimi</b>	<b>g/L</b>
Trypton	20
Laktoz	5
Safra tuzları karışımı	1,5
NaCl	5

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,5

#### 2.1.2.9. Luria-Bertani (LB) Broth

Antibiyotik dirençlilik testlerinin uygulanmasında, bakteri suşlarının zenginleştirilmesi amacıyla kullanılmıştır (48).

Bileşimi	g/L
Tryptone	10
NaCl	5
Maya	5

#### 2.1.2.10. Salmonella Rapid Test Elective Medium

*Salmonella* cinsi bakterilerin tespiti için kullanılmıştır.

Bileşimi	g/L
Tryptone	10
NaCl	5
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	9
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.5
Malaşit Yeşili	0,0025

Besiyerinden 6,1 gr alınarak 1,2 gr agar ile erlen içerisinde karıştırılmış, 100 ml saf suda çözülerek otoklavda 121 °C de ve 1,1 atm basınçla 15 dakika steril edilmiştir.

#### 2.1.2.11. 50X TAE (Tris, Asetik asit, EDTA)

48,4 g Tris, 11,42 mL asetik asit, 4,52 g EDTA 200 mL distile suda çözülmüş ve pH 8'e ayarlanmıştır (51).

#### 2.1.2.12. Agaroz Jel (%1)

Plazmid DNA'nın yürütülmesi için kullanılmıştır (51).

### **2.1.2.13. Örnek Yükleme Tamponu (Loading Buffer)**

%0,25 Brom fenol mavisi ve %10 gliserol ile hazırlanan stoktan uygun hacime distile su ilavesiyle hazırlanmıştır (51).

### **2.1.2.14. Yürütme Tamponu (Running Buffer)**

50X TAE'den 50 kat sulandırılarak hazırlanmıştır (51).

### **2.1.2.15. Boyama Solüsyonu (Staining, Ethidium Bromür)**

1 g EtBr 100 mL distile suda çözülerek hazırlanan stok çözeltilerden son hacim 10 mg/mL olacak şekilde hazırlanmıştır (51).

### **2.1.2.16. Boyayı Geri Alma solüsyonu (Destaining)**

Boyama sonrası EtBr'nin fazlası uygun hacimdeki 1 mM MgSO<sub>4</sub> ile gerçekleştirilmiştir (51).

## **2.2. Metod**

Giresun Merkez İlçedeki ticari olarak halkın tüketimine sunulan farklı balıkçı tezgahlarındaki hamsi (*Engraulis encrasicolus*, L. 1758), mezgıt (*Merlangius merlangus*, L. 1758) ve istavrit (*Trachurus trachurus*, L. 1758) örnekleri steril torbalara konulmuş ve tüm örnekler laboratuara soğuk zincir korunarak 4 saat içerisinde getirilmiştir (52). Tezgâhlardan alınan balık örneklerinden bakteri izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen bakterilerin stokları ve identifikasyonları yapılarak belirli ağır metallere ve tedavide yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı dirençlilik düzeyleri saptanmıştır. Ayrıca, antibiyotik ve ağır metal dirençlilikleri yüksek olan izolatlarda plazmid varlığı da araştırılmıştır.

### **2.2.1. İzolasyon Tekniği**

Her balık örneğinden 1 gr solungaç ve 1 gr barsak içeriği alınarak 9 ml steril saf suyla homojenize edilerek seri sulandırma ile PCA ve EMB besiyerine ekim yapılmış ve 24-72 saat 37 °C'de inkübe edilerek bakteri izolasyonu sağlanmıştır.



## 2.2.2. İdentifikasyon Yöntemi

Selektif besiyerlerinden faydalanılarak izole edilen tüm izolatlar fenotipik karakterlerine, Gr boyanmalarına, oksidaz ve katalaz reaksiyonlarına, hareket, OF glikoz ve jelatin eritme testlerine tabi tutulmuşlardır. Bu testler Cowan (1974) ve Lemos ve arkadaşları (1985) prosedürlerine göre gerçekleştirilmiştir (53, 54).

### 2.2.2.1. İndol Testi

Bazı bakteriler sahip oldukları triptofanaz enzimi aracılığı ile triptofan içeren zengin besiyeri içerisinde, triptofandan indol, skatol, indol asetik asit, pirüvik asit, amonyak gibi oksidasyon ürünleri oluştururlar. Oluşan ürünlerden benzilpropil olan indol bir aldehit olan paradimetilaminobenzaldehit ile birleşerek kırmızı renk oluşturur (49).

1,5 ml triptofan içeren ependorf tüplerine üreme olan numunelerden inoküle edilip optimum sıcaklıkta 72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında 0,2–0,6 ml kovaks ayracı ilave edilmiş ve üst kısımda kırmızı renk oluşturanlar pozitif sarı-kahverengi renk oluşturanlar negatif olarak değerlendirilmiştir.

### 2.2.2.2. Metil Kırmızısı Testi

Karbonhidrat fermantasyonu sonucu oluşan asit miktarını kantitatif olarak gösteren testtir. *Enterobacteriaceae* ailesinin üyeleri Embden – Meyerhof ara yolunu kullanarak glikozu pirüvik asite çevirirler. Pirüvik asit, formik asit, laktik asit ve asetik asite dönüşür. Bu yolu kullanarak pirüvik asiti meabolize eden mikroorganizmalar besiyerinin pH' sını 4,4 'ün altına düşürürler. Testin indikatörü metil kırmızısı olup pH < 5 te kırmızı, pH > 5,8 ' de sarı renk oluşturur (49).

Besiyeri tüplerine incelenecek olan bakteri kolonisinden inoküle edilip 35 °C' de 5 gün inkübe edilmiştir. Birçok kültür için genelde 48 saatlik bir inkübasyon süresi yeterlidir. Ancak 48 saatten daha az inkübe edilmez. 48 saat sonrası şüpheli görülen numuneler için inkübasyon 5 güne tamamlanır. İnkübasyon sonrası metil kırmızısı ayracından 5 damla damlatılmıştır. Ayraç eklendiğinde kırmızı renk oluşturan numuneler pozitif, sarı-portakal renk oluşturanlar ise negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

### 2.2.2.3. Voges Proskauer Testi

Glikozun fermantatif yıkımından oluşan esas ürünlerden olan pirüvik asit değişik bakterilerdeki enzim sistemine bağlı olarak birçok yolla metabolize edilir. Bu yollardan birinde asetoin ya da asetil-metil-karbinol oluşur. *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia* gibi mikroorganizmalar, glikoz metabolizmasından ana son ürünü olarak asetoin oluştururlar. O<sub>2</sub> ve %40 KOH varlığında asetoin diasetile çevrilir ve  $\alpha$ -naftol kırmızı rengin oluşumunda katalizör görevi görür (49).

Glikoz-peptonlu su kültüründen 1 ml örnek tüpe aktarılıp üzerine 0,5'er ml % 5'lik  $\alpha$ -naftol çözeltisinden, 50 ml %40'lık KOH damlatılmıştır. Kırmızı renk oluşumu gözlenenler pozitif, diğerleri negatif sonuç olarak kaydedilmiştir.

### 2.2.2.4. Sitrat Testi

Bazı mikroorganizmalar kreps siklusunda ana metabolit ve karbon kaynağı olarak görev yapan sitratı kullanma yeteneğine sahiptirler. Sitrat fermentasyonu için kullanılan besiyeri ayrıca inorganik amonyum tuzları da içerir. Tek karbon kaynağı olarak sitratı kullanma yeteneğinde olan mikroorganizmalar nitrojen kaynağı olarak ta amonyum tuzlarını kullanırlar ve böylece pH 7,6' ının üzerine çıkararak alkali bir ortam oluşur. İndikatör olan brom timol mavisi daha yoğun bir maviliğe dönüştürür. Bu karakterisitk özellik *Enterobacteriaceae* ve diğer gram negatif basillerin identifikasyonunda kullanılır (49).

Koser's citrat broth: besiyeri tüplerine platin aşı iğnesi kullanılarak hafifçe inoküle edilip 35 °C' de 72–96 saat inkübe edilmiştir. Üreme olan tüpler pozitif, üreme olmayan tüpler negatif olarak kaydedilmiştir.

### 2.2.3. Antibiyotik Dirençlilik Düzeylerinin Belirlenmesi

Hassasiyet testleri agar disk difüzyon testi uygulanarak yapılmıştır (56). 6 farklı sınıfı temsil eden 9 farklı antibiyotik diski Tryptic Soy Agar kullanılarak denenmiştir. Bu antibiyotikler; amfisilin (AM, 10 $\mu$ g), tetrasiklin (TE, 30  $\mu$ g), sefazolin (CZ, 30 $\mu$ g), sefuroksim (CXA, 30  $\mu$ g), amikasin (AK, 30 $\mu$ g), eritromisin (E, 15 $\mu$ g), sefotaksim (CTX, 30 $\mu$ g), streptomisin (S, 10 $\mu$ g), nalidiksik asit (NA, 30 $\mu$ g) olmuştur.

Antibiyotik disklerinin etkisini doğrulamak için referans bakteri olarak NCCLS'nin (1997) önerdiği *E.coli* ATCC 25922 kullanılmıştır (55).

#### **2.2.4. Çoklu Antibiyotik Dirençlilik Düzeylerinin Belirlenmesi**

Çoklu Antibiyotik Dirençlilik (ÇAD) indeks değerleri (a/b; a, izolata dirençli olduğu antibiyotik sayısını temsil etmekte b ise izolata karşı denenen antibiyotik sayısını temsil etmektedir) her izolat için hesaplanmıştır. Eğer izolat insan ya da hayvan kaynaklı antibiyotiklere yoğun miktarda maruz kalmış ise, o zaman 0,2 den daha yüksek bir ÇAD indeks değeri ortaya çıkmaktadır. Eğer antibiyotik çok nadir kullanılmışsa ya da hiç kullanılmamışsa ÇAD indeks değeri 0,2 den küçük ya da 0,2 ye eşit olarak gözlemlenmektedir (57).

#### **2.2.5. Ağır Metal Dirençlilik Düzeylerinin Belirlenmesi**

Her bakteri izolatu için 12,5 µg/ml den 3200 µg/ml'ye kadar değişen konsantrasyonlarda  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ , ve  $Pb^{2+}$  ağır metallerini ihtiva eden Tryptic Soy Agar kullanılarak minimal inhibisyon konsantrasyonları (MİK) belirlenmiştir. Kullanılan üç farklı ağır metal tuzu şu formüllere sahiptir;  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ,  $Pb(NO_3)_2$  ve  $MnCl_2 \cdot 2H_2O$  (Merck). İzolatların MİK değerleri referans olarak kullanılan *Escherichia coli K-12*'nin MİK değeri baz alınarak hesaplanmıştır (58).

#### **2.2.6. Plazmid DNA İzolasyonu**

Antibiyotik ve ağır metal dirençlilik testlerinde yüksek düzeyde dirençlilik gösteren bakteri suşlarının plazmid izolasyonu yapılarak profilleri belirlenmiştir. Plazmid izolasyonu Birnboim ve Doly (1979)'de belirtilen prosedürlere göre gerçekleştirilmiştir (59).

#### **2.2.7. Plazmid DNA'nın Agaroz Jel Elektroforezi**

%1'lik hazırlanan agaroz jel solüsyonu, yaklaşık 45-50°C'ye soğutulduktan sonra 1µl EtBr ilave edilip karıştırılarak tarağın yerleştirildiği jel kabına dökülmüştür. Polimerize olan jelden tarak çıkarıldıktan sonra 7 µl plazmid DNA örnekleri 5 µl yükleme tamponu ile karıştırılmış ve mikropipet yardımı ile slotlara uygulanmıştır. Plazmid DNA'larının moleküler ağırlıklarını (bp) hesaplamak amacıyla bir slota 5 µl marker DNA (Vivantes, NM046) yüklenmiştir. Aparata jelin yüzeyini kaplayacak şekilde yürütme tamponu 1X TAE ilave edilmiş ve 30-60 V/cm voltaj uygulanmıştır. Boyanın fazlası 1 mM  $MgSO_4$  ile 2 saat muamele edilerek geri alınmıştır. DNA bantları jel görüntüleme cihazı ile görüntülenmiş ve moleküler büyüklükleri hesaplanmıştır.

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Çalışmada üç farklı balık türünün solungaç ve bağırsaklarından toplam 134 *Enterobacteriaceae* üyesi izole edilerek, ağır metal ve antibiyotik dirençlilik düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca, dirençlilik düzeyi yüksek olan izolatlarda plazmid varlığı da araştırılmıştır.

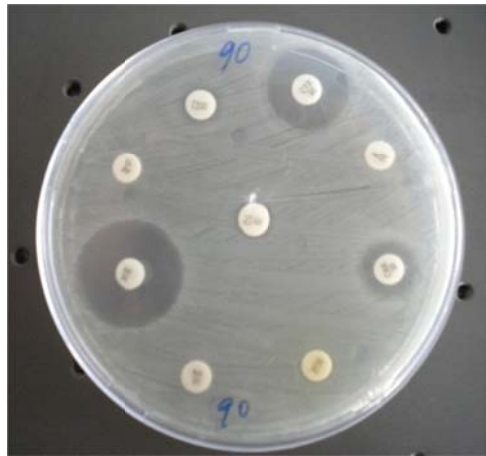
Çalışmada izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin izolat sayısı Tablo 3.1.'de verilmiştir.

**Tablo 3.1. *Enterobacteriaceae*'nin izolat sayısı**

Balık türü	Solungaç	İnce bağırsak
<i>Engraulis encrasicolus</i>	28	10
<i>Trachurus trachurus</i>	36	17
<i>Merlangius merlangus</i>	28	15

#### 3.1. Antibiyotik Dirençlilik Düzeyleri

3 farklı balık türünden izole edilen *Enterobacteriaceae* izolatlarından %78,3'ünün sefotaksime, %85'inin eritromisine, %79,9'unun sefazoline, %71,6'sının seforoksime ve %60,4'ünün nalidiksik asite yüksek oranda dirençli olduğu saptanmıştır. İzolatların antibiyotiklere olan direnç yüzdeleri ile toplam dirençli bakteri sayısı Tablo 3.2'de ve antibiyotik dirençlilik testi Şekil 3.1'de verilmiştir.



**Şekil 3.1. Antibiyotik Dirençlilik Testi**

**Tablo 3.2. İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Dirençlilik Yüzdesi**

Antibiyotikler	Dirençli İzolat Sayısı	Dirençlilik Oranı
Amikacin (AK)	72	%53,7
Erythromicin (E)	114	%85,07
Ampicilin (AM)	79	%58,96
Cefazolin (CZ)	107	%79,9
Cefotaxime (CTX)	105	%78,36
Cefuroxime (CXA)	96	%71,64
Streptomycin (S)	24	%17,91
Nalidixic Acid (NA)	81	%60,45
Tetracycline (TE)	64	%47,8

*Enterobacteriaceae* üyelerinin dirençli oldukları antibiyotik sayısı ile bu antibiyotiklere direnç gösteren izolat sayısı Tablo 3.3.'de verilmiştir.

**Tablo 3.3. *Enterobacteriaceae* İzolatlarının Direnç Gösterdikleri Antibiyotik Sayısı**

Antibiyotik Sayısı	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dirençli Bakteri Sayısı	11	2	4	8	8	17	24	28	20	12

Tüm izolatların %88,05'inin ÇAD değeri referans değere eşit ya da yüksek olarak belirlenmiştir.

Ayrıca, izolatlar kendi içlerinden değerlendirildiğinde en düşük dirençlilik streptomisine karşı belirlenmiştir. Tablo 3.4' de görüldüğü gibi bu oran hamside solungaç kökenlilerde %39,2 iken barsak kökenlilerde %22,2, istavrit ve mezgitte ise yine sırasıyla %11,11 ve %12,5 ile %10,7 ve %6,6 olarak saptanmıştır. Ayrıca, en yüksek dirençlilik hamsi ve istavritte eritromisine karşı belirlenmiş iken mezgitte hem eritromisin hem de sefazolinde görülmüştür. Tüm izolatlarda dirençlilik düzeyi en yüksek olan izolat hamsi solungacından izole edilmişken en düşük izolatın ise izolasyonu mezgit barsağından gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.4).

**Tablo 3.4. İzolatların Kökenlerine Göre Antibiyotik Dirençlilik Yüzdeleri**

ANTİBİYOTİKLER	ÖRNEK TÜR					
	Hamsi ( <i>E.encrasicolus</i> )		İstavrit ( <i>T.trachuurs</i> )		Mezgit( <i>M.merlangus</i> )	
	DİRENÇ ORANI (%)					
	Solungaç	Barsak	Solungaç	Barsak	Solungaç	Barsak
<b>AK</b>	75	66,6	38,8	25	57,1	60
<b>AM</b>	67,8	55,5	55,5	50	50	73,3
<b>CTX</b>	92,8	77,7	80,5	62,5	71,4	73,3
<b>E</b>	96,4	88,8	77,7	87,5	78,5	86,6
<b>CZ</b>	85,7	77,7	72,2	81,2	78,5	86,6
<b>CXA</b>	78,5	55,5	69,4	62,5	75	73,3
<b>TE</b>	53,5	44,4	66,6	31,2	35,7	26,6
<b>NA</b>	78,5	66,6	55,5	43,7	53,5	60
<b>S</b>	39,2	22,2	11,11	12,5	10,7	6,6

Matyar ve arkadaşlarının (2009) İskenderun Körfezi'ndeki bazı balık türlerinden izole ettikleri gram negatif bakterilerin antibiyotik dirençlilik sonuçları incelendiğinde tüm izolatların amfisiline %66,7, sefuroksime %6,5 direnç gösterdiği, IPM' ye karşı dirençliliğin ise solungaçtan izole edilen bakterilerde belirlenemediği, bağırsak izolatlarında ise dirençlilik oranının %5,3 olduğu rapor edilmiştir. Yine aynı çalışmada solungaçlardan izole edilen bakterilerin %12,9'u TE' ye karşı dirençli iken, bağırsak izolatlarında bu oran %5,3 olarak, CZ dirençliliği ise solungaç izolatlarında %47,3 iken bağırsak izolatlarında %36 olarak belirtilmiştir (60). Bizim çalışmamızdaki izolatların %47,8'inin TE'ye karşı ve %79,9'unun CZ' ye karşı dirençli olduğu ortaya konmuştur. Yine aynı çalışmada streptomisine karşı %35,7 oranında direnç saptanmışken, bu çalışmadaki sonuç %17,91 olarak rapor edilmiştir.

Marisol ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmaya göre (2000), nehir sularından izole edilen *Enterobacteriaceae* (110) ve *Aeromonas* (118) izolatlarının antibiyotik hassasiyet testi sonuçlarında *Aeromonas*'ların %72'den fazlasının, *Enterobacteriaceae*ların ise %20'sinin nalidiksik asite dirençli olduğunu ortaya koymuşlardır. En yaygın görülen diğer dirençlilik oranları ise *Enterobacteriaceae* 'larda tetrasiklin (%24) ve  $\beta$ -laktam (%20,5), *Aeromonas*'larda ise tetrasiklin (%27,5) olarak belirlenmiştir (61).

Mudryk ve arkadaşlarının (2010) Baltık Denizi'nin güney kıyılarında yapmış oldukları çalışma sonuçları ele alındığında deniz suyundan elde ettikleri 49 izolatın 19'unun test edilen tüm antibiyotiklere karşı hassas olduğu, geriye kalan 30 izolatında en az 1 antibiyotiğe karşı dirençli olduğunu rapor edilmiştir. Ayrıca dirençli bulunan 30 izolatın antibiyotik dirençlilik düzeyleri incelendiğinde AM %12, C %8,3, CIP %4,2, E %6,3 ve CXM %8,3 olarak belirtilmiştir (62). Ayrıca, Lee ve arkadaşlarının (2009) Malezya'da yapmış oldukları

çalışmada tatlı su kaynağından izole etikleri bakterilerin antibiyotik dirençlilik düzeylerini sırasıyla TE %78,4, E %53,8, NA %57 ve AM %65,4 olarak ortaya koymuşlardır (63).

Ayrıca çalışmamızda, çoklu antibiyotik dirençlilik (ÇAD) değeri referans değer olan 0,2'den yüksek çok sayıda izolat belirlenmiştir. Tüm izolatlarımızın %88,05'inin ÇAD değeri referans değerden daha yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla söz konusu akuatik alandaki mikroorganizmaların yoğun antibiyotik kullanılan canlı gruplarının (insan ya da hayvan) atıklarıyla kontamine olduğunu söyleyebilmekteyiz.

Farklı balıkçı tezgahlarında satılan yüksek ticari değere sahip üç farklı balık türünden izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin antibiyotik ve ağır metal dirençlilik profillerinin yüksek seviyede çıkması, avcılık ile elde edilen balıkların uygun steril ortam koşullarında muhafaza edilmediğinin ve deniz su ile sedimentinin bakteriyolojik kirlilik düzeyinin yüksek olduğunun göstergesi olarak açıklanabilir. Çünkü ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerin farklı nitelikteki evsel ve endüstriyel atıkları doğrudan veya dolaylı yollar ile bir şekilde sucul kütlelerde sonlanmaktadır. Özellikle kıyısız şeritte yerleşke gösteren illerimizin atık suları, denizel ortamlara deşarj edilmektedir. Dolayısıyla niteliği değişken olan kirleticilerin sucul ekosistemlere geçişi ve birikimi söz konusudur. Denizlerin ve deniz kıyılarının hassas ekosistemler olduğunu, korunması gerektiğini gösteren pek çok çalışmanın mevcut olduğu bilinmektedir (64).

Bunun gibi *Enterobacteriaceae* üyelerinin geniş yayılım göstermesi, su ortamı ile balık ve çeşitli deniz ürünleri dokularında bulunmaları halk sağlığını tehdit etmektedir. Çünkü kirli sular veya kontamine olmuş balıklar patojen kaynaklı enfeksiyonlara ve toksikasyonlara neden olmaktadır. İngiltere'de balık ve deniz kabuklularının tüketilmesine bağlı olarak 1981 yılında 141 ve 1982 yılında 451 hastalık vakasının şekillendiği bildirilmiştir. Donmuş karides tüketen 16 kişinin *Salmonella* enfeksiyonu geçirdiği, uskumru, konserve sardalya, tuna balığı ve diğer balıkları tüketen 51 kişinin scambrotoksin zehirlenmesi geçirdiği, midye ve istiridye tüketen 7 kişinin Hepatit A enfeksiyonuna yakalandığı rapor edilmiştir (65).

Özellikle hastane atıklarında yaygınca bulunan antibiyotiklerin enfeksiyon hastalıklarında kullanımı bir taraftan tedavide başarı sağlarken diğer bir taraftan enfeksiyona neden olan bakterilerde kullanılan antibiyotiklere karşı yüksek düzeyde ve hızlı bir şekilde dirençliliğin gelişimine neden olduğu bilinmektedir. Antibiyotiklere karşı dirençliliği olan bakteriler besinlerle tüketiciye bulaştığı zaman ciddi enfeksiyonlara ve tedavi sorunlarına sebebiyet vermektedir. Çalışmada izole edilen toplam bakterilerin, kullanılan 9 antibiyotik türünden 7'sine %50 nin, 5'ine %60'ın üzerinde olan bir dirençlilik oranına sahip olması bakteriler arasında dirençlilik plazmidinin aktarıldığının göstergesi olabilir. Bilindiği gibi son

yıllarda su ortamında bakterilerin direnç durumlarını araştırmak için *Tilapia mossambica* (Peters 1852) ve *Clarias batrachus* (L. 1758) gibi tatlı su ve *Mullus barbatus* (L. 1758), *Liza ramad* (Risso 1826) gibi deniz türleri ile yapılan çalışmalarda geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin izolasyonunu takiben, dirençliliğın bakteriler arasındaki transferi ile ilgili çok sayıda araştırma mevcuttur ve yapılan çalışmalarda bakteriler arasında atık sularda plazmid transferinin gerçekteşebileceğı gösterilmiştir (46, 64, 66, 67). Plazmid transferinin gerçekteşmesi ile bakteriler arasında antibiyotiklere olan dirençliliğın yaygınlaşarak oldukça mühim tedavi sorunlarına neden olması ise kaçınılmazdır.

### 3.2. Ağır Metal Dirençlilik Düzeyleri

İzole edilen bakterilerin ağır metal dirençlilik düzeylerinin belirlenmesinde *E. Coli K12* referans suş olarak kullanılmıştır ve sahip olduğu minimum inhibisyon katsayısı değerleri Tablo 3.5’de verilmiştir.

**Tablo 3.5. *E. coli K12*’nin Ağır Metal Dirençlilik Düzeyi**

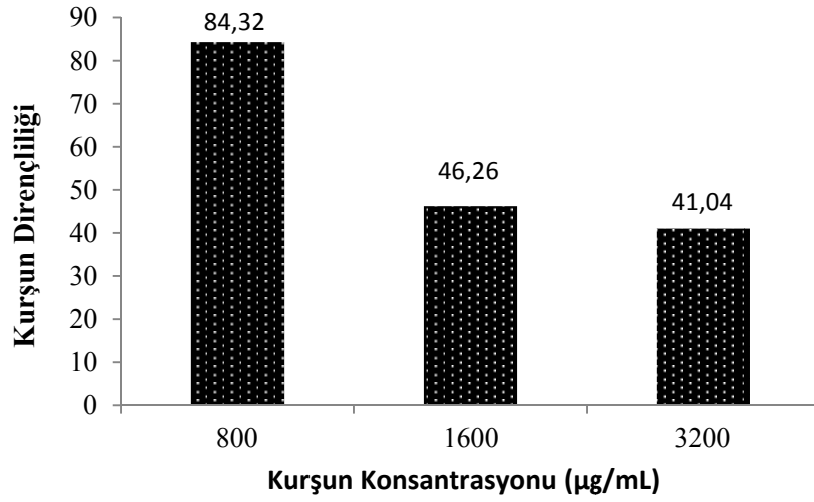
Ağır Metal İsmi	MİK Değeri
Bakır	200 µg/mL
Manganez	1600 µg/mL
Kurşun	1600 µg/mL

İzole edilen bakterilerin kurşuna karşı göstermiş oldukları dirençlilik düzeyleri incelendiğinde toplam bakterilerin %84,3’ünün 800 µg/mL’ye, %46,2’sinin 1600 µg/mL’ye, %41’inin 3200 µg/mL’ye dirençli olduğu belirlenmiştir. Kurşun dirençlilik testi Şekil 3.2’de ve dirençlilik yüzdeleri Şekil 3.3’de gösterilmiştir.



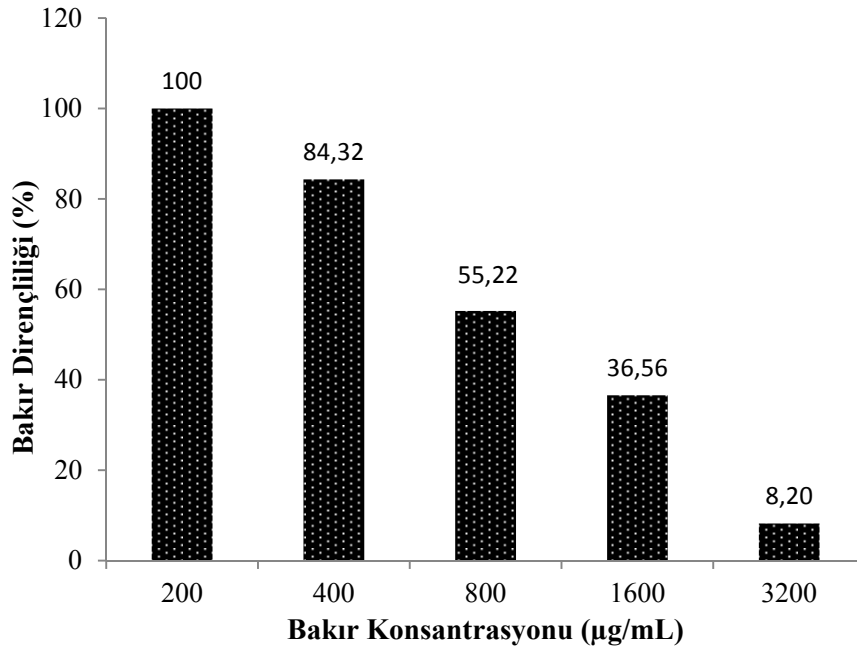


**Şekil 3.2. Kurşun İçeren Besiyerinde Ağır Metal Dirençlilik Testi**



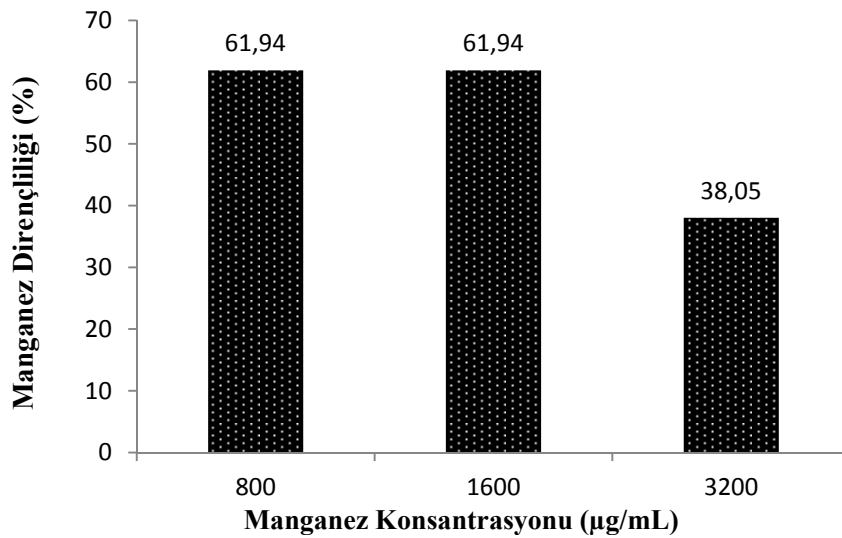
**Şekil 3.3. İzolatlardaki Kurşun Dirençlilik Yüzdesi**

İzole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin bakıra karşı gösterdiği dirençlilik oranları incelendiğinde; %84,3'ünün 400 µg/mL'ye, %55,2'sinin 800 µg/mL'ye, %36,5'inin 1600 µg/mL'ye ve %8,2'sinin 3200 µg/mL'ye dirençli olduğu sonucuna varılmıştır. İzolatların bakır dirençlilik yüzdesi Şekil 3.4'de gösterilmiştir.



**Şekil 3.4. İzolatlardaki Bakır Dirençlilik Yüzdesi**

İzolatların manganeze karşı göstermiş olduğu dirençlilik düzeyleri incelendiğinde; %61,9'unun 1600 µg/mL'ye, %38'inin 3200 µg/mL'ye karşı dirençli olduğu görülmüştür. Bakterilerin manganeze karşı göstermiş olduğu toplam dirençlilik yüzdesi Şekil 3.5'de gösterilmiştir.



**Şekil 3.5. İzolatlardaki Manganez Dirençlilik Yüzdesi**

İzole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin tamamı bakıra karşı dirençli iken, manganeeze % 99,9'u ve kurşuna % 87,2'si dirençli bulunmuştur. Solungaç kökenli izolatların %100'ü bakıra, %90,4'ü manganeeze ve %83,3'ü ise kurşuna karşı dirençli saptanmıştır. Bu oran barsak kökenli izolatlarda bakıra %100, manganeeze %85,1 ve kurşuna karşı %55 olarak belirlenmiştir. Ağır metal dirençliliği en düşük olan izolatlar barsak kökenli mezgitten izole edilmiştir. Ayrıca, çalışmada izole edilen tüm izolatlarda bakıra karşı %100 dirençlilik görülmüştür. Tür olarak istavritten izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinde en yüksek ağır metal dirençliliğiyle karşılaşılmıştır.

**Tablo 3.6. İzolatların Kökenlerine Göre Ağır Metal Dirençlilik Yüzdesi**

AĞIR METALLER	ÖRNEK TÜR					
	Hamsi ( <i>E.encrasicolus</i> )		İstavrit( <i>T.trachurus</i> )		Mezgit( <i>M.merlangus</i> )	
	DİRENÇ ORANI (%)					
	Solungaç	Barsak	Solungaç	Barsak	Solungaç	Barsak
<b>Bakır (Cu)</b>	100	100	100	100	100	100
<b>Manganeez (Mn)</b>	100	88,8	100	100	71,4	66,6
<b>Kurşun (Pb)</b>	50	44,4	100	87,5	100	33,3

Matyar ve ark., (2009) ağır metallere karşı toleranslılığı denenen solungaç bakterilerinin %60,2'si kadmiyuma, %50,5'i bakıra, %8,6'sı manganeeze, %6,5'i kroma ve %6,5'i kurşuna karşı toleranslı olarak tespit edilmişken, barsak bakterilerinin %52'si kadmiyuma, %45,3'ü bakıra, %10,7'si kroma, %3'ü kurşuna ve %5,3'ü manganeeze karşı toleranslı olarak tespit edildiği belirtilmiştir (68).

Chandy (1998) deniz suyundan izole ettiği bakteriler üzerine 16 farklı ağır metalin etkisini araştırmış ve toksisite sırasını şu şekilde tespit etmiştir; Hg>Ag>As=Cd=Cr=Co=Cu=Fe=Pb>Mo=Sb>Ni=V=Zn>Mn>Sr (69). Akinbowale ve ark., (2007) 7 farklı ağır metalin *Oncorhynchus mykiss*'ten izole ettikleri bakteriler üzerine etkisini araştırmış ve ağır metallerin etki sırasını şu şekilde bulmuştur; Cu = Pb >Mn >Cr > Zn >Co >Cd (58).

Akkan (2009) İskenderun Körfezi deniz suyundan 3 farklı bölgeden izole ettiği 356 gram negatif bakteriden kadmiyum ve bakıra karşı %100 direnç gösterdiğini belirtmekle birlikte, manganeeze 1. bölgede %90,7, ikinci bölgede %96,9, üçüncü bölgede %100, kurşuna birinci bölgede %67,7, ikinci bölgede %100 ve üçüncü bölgede ise %97,96 oranından direnç olduğunu rapor etmiştir. Sonuç olarak İskenderun Körfezi deniz suyunun yoğun miktarda

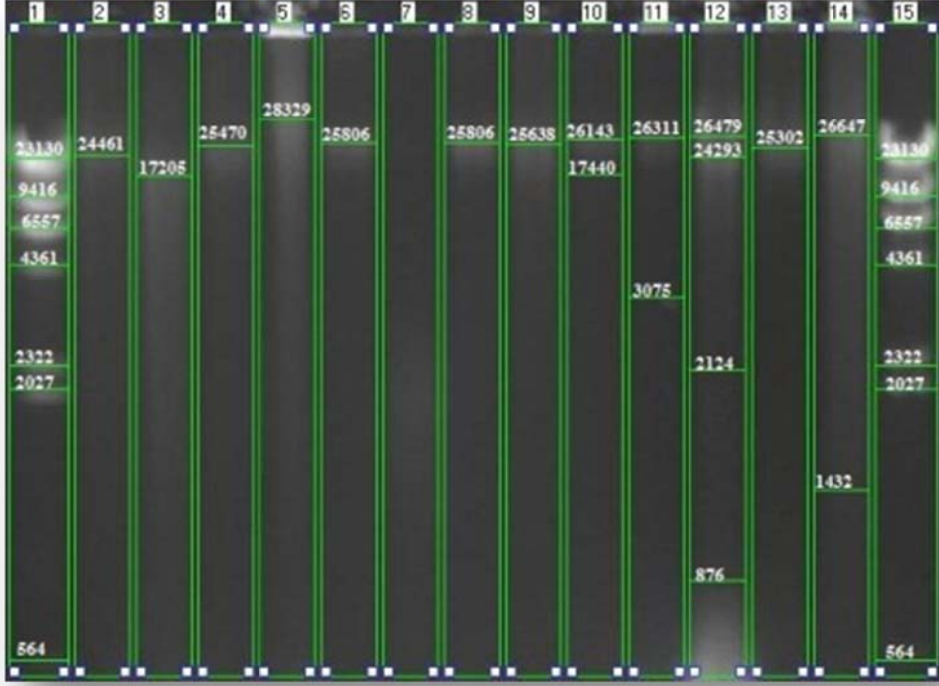
endüstriyel atığa maruz kaldığını ve bunun sucul ortamdaki canlılar ile yöre halkı için tehlike arz ettiği bildirilmiştir (14).

Bakterilerde ağır metallere karşı tolerans görülmesi izole edildiği çevrenin bu metallere kirlendiğinin göstergesidir (70). Özellikle endüstriyel aktiviteler, madencilik ve kültür balıkçılığı doğal ekosistemin değişmesinde en etkili faktörler arasında sayılabilir. Bu olumsuz faktörler bakteriler üzerine selektif bir baskı oluşturmaktadır (71). Ağır metallerin su ortamında bulunması canlı bünyesinde birikim gösterebilen özelliğinden dolayı, besin zinciri üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu ve halk sağlığını doğrudan ilgilendirdiği belirtilmektedir (72).

### **3.3. Plazmid Varlığının Araştırılması**

İzolatlardan antibiyotik ve ağır metal dirençlilik değerleri yüksek olan suşların plazmidleri izole edilmiş ve plazmid DNA'ları agaroz jel elektroforez ile analiz edilmiştir. İzolatların plazmid büyüklükleri marker DNA'ya (Vivantes, NM046) göre belirlenmiştir. Markerdeki DNA bantlarının büyüklükleri 23130, 9614, 6557, 4361, 2322, 2027, 564 bp'dir.

Şekil 3.6'da görüldüğü üzere; istavritten izole edilen bakterilerden yalnızca bir tanesinde 2 plazmid DNA bandı (26143, 1744bp) görülmüşken diğerlerinde 1 bant (24461, 17205, 25470, 28329,25638bp) belirlenmiştir. Hamsi bağırsak kökenli 1 izolatta 2 DNA bandı saptanmışken (26311, 3075bp), diğerler hamsi solungaç kökenli izolatlarda yalnızca 1 tanesinde band belirlenememiştir. Mezgit izolatlarından bağırsak kökenli olanlarda sırasıyla 4 ve 2 plazmid DNA bandına (26479-876 ve 26647-1432bp), solungaç kökenli izolatta ise 1 DNA bandına rastlanılmıştır (Tablo 3.6).



**Şekil 3.6. Plazmid DNA'larının Agaroz Jel Elektroforez Sonuçları**

Şüpheli 13 izolatın 12 tanesinde plazmid DNA varlığı belirlenmişken antibiyotik ve ağır metal dirençliliğinin birbirleriyle ilişkili olabileceği ortaya konmuştur.

Antibiyotik dirençliliğini taşıyan konjugatif plazmidler insan ve hayvan sağlığını giderek artan düzeyde ilgilendirmektedir (73). Ayrıca çoğu çalışmanın konjugatif antibiyotik dirençlilik geni taşıyan plazmidlerin doğada yaygın olarak bulunduğu belirtilmekle beraber, böylesi plazmidlerin deniz ekosisteminde de bulunduğu da gösterilmekle birlikte, bakteriler arası plazmid aktarımıyla bu antibiyotiklere karşı dirençlilik düzeylerinin artabileceği vurgulanmıştır (14).

#### 4. SONUÇ

Giresun İli'nde tüketime sunulan ve ticari değere sahip olan deniz balıklarından izole edilen 134 *Enterobacteriaceae* üyesinin 6 farklı antibiyotik grubunu temsil eden 9 ticari antibiyotik ile 3 farklı ağır metale karşı dirençlilikleri saptanmıştır.

İzole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin tamamının bakıra karşı dirençli olması ile manganeze % 99,9'u ve kurşuna % 87,2'sinin direnç göstermesi Karadeniz'de tüketimdeki önemli balıkların bugünü ve geleceği için iyi bir sonuç oluşturmamaktadır.

Bakterilerin antibiyotik dirençlilik düzeyleri incelendiğinde ise ağır metal dirençliliği gibi referans değerlerin oldukça üzerinde olduğu görülmektedir. İzolatların sağaltımda yaygınca kullanılan antibiyotiklere karşı olan direnç düzeyleri sırasıyla E (%85,07), CZ (%79,9), CTX (%78,36), CXA (%71,64), NA (%60,45), AM (%58,96), AK (%53,7), TE (%47,8) ve S (%17,91) olarak bulunmuştur. Ayrıca tüm izolatların % 88,05'inin ÇAD Değeri 0,2'den yüksek olması Giresun İli'ndeki ticari balık satışı yapılan tezgahlarda gerekli hijyen ve sanitasyonun sağlanmadığından yöre halkı için tehlike oluşturabileceğini göstermektedir.

Elde edilen veriler, Giresun İli'nde farklı nitelikteki evsel ve endüstriyel atıkların doğrudan veya dolaylı yollar ile denizel ortamlara deşarj edildiğini göstermektedir. Sucul ekosistemde insanların en önemli besin kaynağını oluşturan balıkların florasındaki bakterilerin antibiyotik dirençlilik düzeylerinin yüksek çıkması giderek artan bilinçsiz antibiyotik tüketiminin bir sonucu olduğu söylenebilir. Özellikle dirençlilik profili yüksek olan izolatların taşıdığı tespit edilen plazmidlerinin sucul ortamda diğer bakterilere yayılması antibiyotik ve ağır metal dirençliliği yüksek bakteri türlerinin sucul ortamda gelişmesine neden olabilecek tehlikeye sahiptir.

Sonuç olarak, Giresun İl merkezinde tüketime sunulan balıkların halk sağlığı açısından riskli olduğu ve ticari satış yapılan tezgahların düzenli olarak yetkili merciler tarafından kontrol edilmesi gerektiği kanısına varıldı. Ayrıca, deniz ortamına evsel ve endüstriyel kökenli atık deşarjının devam etmesi durumunda sucul ortamdaki canlılar hatta ticari değeri yüksek olan balık türlerinin popülasyonlarında bile azalışların olabileceği öngörüldü.

## KAYNAKLAR

1. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). *Su Ürünleri İstatistiği*, [www.tuik.gov.tr](http://www.tuik.gov.tr) web adresinden 15 Ağustos 2012 tarihinde edinilmiştir.
2. Cenet, O., 2007. Alabalık Fletolarında Farklı Yöntemlerle *Listeria monocytogenes*'in Arastırması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi* 18(2):41-44.
3. Karakaş, H.H., Türkoğlu, H., 2005. Su Ürünlerinin Dünyada ve Türkiye'deki Durumu. *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 9(3):21-28.
4. Hoşsucu, H., Kınacıgil, T., Kara, A., Tosunoğlu, Z., Akyol, O., Ünal, V., Özekinci, U., 2001. Türkiye Balıkçılık Sektörü ve 2000'li Yıllarda Beklenen Gelişmeler. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi* cilt:18, sayı: (3-4): 593 – 601.
5. Çelikkale, M.S., 1991. Ormaniçi Su Ürünleri, Karedeniz Teknik Üniversitesi Sürmene Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Yüksekokulu Yayınları No:157 Trabzon.
6. Türk, N., Yabancı, M. Balık, Balıkçılık Ürünleri ve İnsan Sağlığı. I. Türkiye Zoonotik Hastalıkları Sempozyumu, 14-15 Kasım 2006, 151-161, Ankara.
7. Terzi, G., 2006. Ankara İli'ndeki Bazı Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Çiftliklerine Ait Su, Yem ve Balıkların Mikrobiyolojik Yönden İncelenmesi. *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi* 32(1), 37-46.
8. Barua, D., 1992. History of cholera. New York: Plenum Publishing.1-35.
9. Balcı, R.S., 2007. Seyhan Baraj Gölünün Bakteriyolojik Kirlilik Düzeyinin Belirlenmesi ve *Enterobacteriaceae* Üyelerinde Antibiyotik Dirençliliği. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
10. Perçin, M., Olgunoğlu, P., Polat, S., 2007. İskenderun Körfezi'nde Dağılım Gösteren İki Makroalg Türünde [*Cystoseira corniculata* (Phaeophyta), *Laurencia papillosa* (Rhodophyta)] Ağır Metallerin Mevsimsel Değişimi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi* cilt: 24, sayı: (1-2): 25–30.

11. Türkmen, A., Türkmen, M., Tepe, Y., Akyurt., İ., 2005. Heavy metals in three commercially valuable fish species from İskenderun Bay, northern east Mediterranean Sea, Turkey. *Food Chemistry.*, 91: 167-172.
12. Gorga, C., Ronsivalli, L. J. 1988. *Quality Assurance of Seafood.* van Nostrand Reinhold Company, NewYork.
13. Liston, J. 1990. Microbial hazards of seafood consumption. *Food Technology.* 44(12): 56, 58-62.
14. Akkan, T., 2009. İskenderun Körfezi'ndeki Gr (-) Bakterilerin Antibiyotik ve Ağır Metal Dirençlilik Düzeyleri ve Plazmid Profillerinin Saptanması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
15. Gil, I.A., Louis, V.R., Rivera, I.N.G., Lipp, E., Huq, A., Lanata, C.F., Taylor, D.N., Cohen, E.R.C., Choopun, N., Sack, R.B., and Colwell, R.R., 2004. Occurrence and Distribution of *Vibrio Cholerae* in the Coastal Environment of Peru. *Environmental Microbiology.* 6, 699-706.
16. Çaklı, Ş., Kışla, D., 2003. Su Ürünlerinde Mikrobiyal Kökenli Bozulmalar ve Önleme Yöntemleri. *Ege Üniversitesi Su Ürünler Dergisi* cilt:20, sayı: (1-2): 239 – 245.
17. Kubilay, A., Arık, F., 2002. Balık Zoonozları. *Türk Mikrobiyal Cemiyeti Dergisi* 32:167-173.
18. Wooten, R., 1989. The parasitology of teleosts. In: *fish Pathology.* Second Edition, Bailliere Tindal, London.
19. İnal, T., 1992. Besin Hijyeni, Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü, Final Ofset, İstanbul.
20. Auistin B., Auistin D.A., 1999. Bacterial Fish Pathogens Disease of Farmed and Wild Fish. 457.
21. Sikorski, Z.E., Lolakowska, A., Pan, B.S., 1990. The Nutritive Composition of the Major Groups of Marine Food Organisms. In: *Resources Nutritional Composition and Preservation,* Sikorski, Z.E. (Ed.). CRC Press-Inc., Boca Raton, Florida, pp: 30-52.



22. Frazier, W.C., Westhoff, D.C. 1988. Food Microbiology. 4 th edition. McGraw-Hill Book Company Inc, Singapore.
23. Kaya, S., Sesli Çetin, E., Arıkan, S., Tetik, S., Kesbiç, H., Sulhattin Yapar, S., 2007. Tavuklardan İzole Edilen *E.coli*, *Klebsiella* ve Enterokoklarda Antibiyotik Duyarlılık Durumları. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 14(2)/ 24-27.
24. Vural, A., Erkan, M.E., 2006. Diyarbakır Kenti'ndeki Dicle Nehri Balıklarında Mikrobiyolojik Kalite Parametreleri. *Dicle Tıp Dergisi* cilt:33, sayı:3, (153-156).
25. Mossel D.A.A., 1982. Marker (Index and Indicator) Organismsin Food and Drinking Water. Samentics, Ecology, Taxonomyand Enumeration. *Antonie v. Leeuwenhoek* 48: 609.
26. Cox N. L. J., van Schothorst, M., 1988. The Use and Misuse of Quantitative Determination of *Enterobacteriaceae* in Food Microbiology. *J. App. Bact.(Supp)* 237.
27. Halkman, K.A., 2005. Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları (Editör, Halkman). *Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. s. 261-281.
28. Babu S.P., 2000. Ichthyozoonoses, Reviews Fish Disease and Infections Transmissible to Man, Including Some Unfamiliar and Recently Recognized Fish-borne Maladies. *Fish Farmer* 14: 14.
29. Nemetz, T.G, Shotts, E.B.Jr., 1993. Zoonotic Disease Chapter 17. "Stroskopfmle(Ed): Fish Medicine" p.214,W.B. Saunders Company. Philadelphia, London.
30. Nataro, J. P., Kaper, J. B., 1998. Clinical Microbiology Reviews, American Society for Microbiology 11:142-201.
31. Chaslus, E., Lafont, JP., Guillot, JF., 1980. Inc Groups Among Plasmids Harbored by *Escherichia coli* of Avian Origin. *Ann Microbiol Paris*; s 203-6.
32. Gianella, R. A., 1996. "*Salmonella*", Baron S et al (eds.) *Baron's Medical Microbiology*, 4th ed.

33. Tindall, B. J., Grimont, P. A. D., Garrity, G. M., Euzéby, J. P., 2005. Nomenclature and Taxonomy of the Genus *Salmonella*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 55: 521–524.
34. Alada, M. O., Durak, Y., 2007. Üriner Sistem Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Klebsiella pneumoniae*'ların Bazı Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi*, cilt:2, sayı:4.
35. Üzen, F., 2008. Karadeniz Bölgesi'nde Üretilen Bazı Balıkların Bakteriyel ve Kimyasal Yönden İncelenmesi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon.
36. Bozkurt, H., Güdücüoğlu, H., Bayram, Y., Gülmez, S., Kutluay, N., Bozkurt, E. N., Berктаş, M., 2005. Klinik Örneklerden Üretilen *Serratia* Cinsi Bakterilerin Çeşitli İnfeksiyonlardaki Rolü ve Antimikrobilyallere Duyarlılıkları. *Van Tıp Dergisi* cilt: 12, sayı: 3.
37. Hejazi, A., Falkiner, F. R., 1997. The Pathological Society of Great Britain and Ireland *Serratia marcescens*. *J. Med. Microbiol.* - Vol. 46, 903-912 0 1997.
38. Dorland, B., 1994. *Dorland's Illustrated Medical Dictionary* 29. Edt. H.I.E/Saunders.
39. Bozkurt, H., Güdücüoğlu, H., Kurtoğlu, M., Korkoca, H., Çiftçi, İ. H., Aygöl, K., Berктаş, M., 2005. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Proteus vulgaris* Suşlarının Antimikrobiyal Ajanlara Duyarlılıkları. *Van Tıp Dergisi* 12 (2):145-148.
40. Öner, M. 1992. *Genel Mikrobiyoloji*. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No: 94, İzmir, 231-245s.
41. Öncül, O., 2002. Antibiyotikler 1.İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyumu, 31: 23-28.
42. Altuğ, G., Yardımcı, H. C., İçöz, I. O., 2005. Haliç Yüzey Sularında *Enterobacteriaceae* Üyelerinin Bazı Beta-Laktam Antibiyotiklerine Dirençlilik Frekansı. *Türk Sucul Yaşam Dergisi* 3: 4, 258-264.

43. Teuber, M., 2001. Veterinary Use and Antibiotic Resistance. *Curr Opin Microbiol* 4:493– 9.
44. Messi, P., Guerrieri, E., Bondi, M., 2005. Antibiotic Resistance and Antibacterial Activity in Heterotrophic Bacteria of Mineral Water Origin. *Science of the Total Environment* 346: 213–219.
45. Reinthaler, F.F., Posch, J., Feierl, G., Wüst, G., Haas, D., Ruckebauer, G., Mascher, F., Marth, E., 2003. Antibiotic Resistance of *E.coli* in Sewage and Sludge. *Water Research* 37 1685–1690.
46. Karayakar, F., Ay, Ö., 2006. Mersin Balıkçı Barınaklarından Yakalanan *Sparus aurata* (Linnaeus 1758)'dan İzole Edilen *Enterobacteriaceae* Grubu Bakterilerin Bazı III. Kuşak Sefalosporinlere Karşı Plasmid Kökenli Dirençliliğin Saptanması. *Çev-Kor Ekoloji Dergisi* 15, 59, 32-36.
47. Karayakar, F., Ay, Ö., Cicik B., 2004. Mersin Kıyı Şeridinden Alınan Su Örneklerinden İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Bazı Antibiyotiklere Karşı Plasmid Kökenli Dirençliliğin Saptanması. *Çev-Kor Ekoloji Dergisi* 13, 52, 28-32.
48. Anonymous., 1978. *Mikrobiyologisches Handbuch*, E.Merck,Darmstad.
49. Akın, L., 2004. Gıda ve Su Kaynaklı Enfeksiyon Hastalıklarının Epidemiyolojisi. Gıda ve Su Kaynaklı Enfeksiyon Etkenlerinin Laboratuvar Tanısı ve Standardizasyon Workshop Eğitim Programı, Ankara.
50. Tekinşen, C.O., 1976. Suyun Bakteriyolojik Muayenesi. Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Yayınları, s.10–11.
51. Maniatis, T., Fritsch, E.F., Sambrook, J., 1982. *Molecular Cloning A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, New York 545.
52. Apha., 1992. *Microbial Examination. in Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 18th ed. Greenberg AE, Clesceri LS, Eaton AD, Editors. pp.9.1-9.147. American Public Health Association Washington DC.
53. Cowan, S.T., 1974. *Cowan and stell's manual for the identification of medical bacteria*, 2nd ed. Cambridge University Pres. 238 pp.

54. Lemos, M.L., Toranzo, A.E., Barja, J.L., 1985. Antibiotic Activity of Epiphytic Bacteria Isolated From Intertidal Seaweeds. *Microb. Ecol.*, 11: 149-163.
55. NCCLS, 1997. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved Standards M2-A6. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, 6th edn., NCCLS., Wayne, Pennsylvania.
56. Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., Turck, M., 1966. Antibiotic Susceptibility Testing By a Standardized Single Disk Method. *Am J Clin Path* 45: 493–496.
57. Krumperman, P.H., 1985. Multiple Antibiotic Resistance Indexing of *Escherichia coli* to Identify High-Risk Sources of Fecal Contamination of Foods. *App Environ Microbiol* 46: 165–170.
58. Akinbowale, O.L., Peng, H., Grant, P., Barton, M.D., 2007. Antibiotic and Heavy Metal Resistance in Motile Aeromonads and Pseudomonads From Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Australia. *Int J Antimicrob Ag* 30: 177–182.
59. Birnboim, H.C., Doly, J., 1979. A Rapid Alkaline Extraction Procedure for Screening Recombinant Plasmid DNA. *Nucleic Acids Research* 7:1513-1523.
60. Matyar, F., Akkan, T., Uçak, Y., Eraslan, B., 2009. *Aeromonas* and *Pseudomonas* Antibiotic and Heavy Metal Resistance Species From Iskenderun Bay, Turkey (Northeast Mediterranean Sea), *Environ Monit Assess*, DOI 10.1007/S10661-009-1051-1.
61. Marisol, G.U., Capdepu, M., Arpin, C., Raymond, N., Caumette, P., Quentin, C., 2000. Impact of an Urban Effluent on Antibiotic Resistance of Riverine *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas spp.* *Appl. Environ. Microbiol.* January 2000 vol. 66 no. 1 125-132.
62. Mudryk, Z., Perlinski, P., Skórczewski, P., 2010. Detection of antibiotic resistant bacteria inhabiting the sand of non-recreational marine beach, *Marine Pollution Bulletin* 60,207–214.
63. Lee, S.W., Najiah, M., Wendy, W.A., and M. Nadirah, 2009. Multiple Antibiotic Resistance and Heavy Metal Resistance Profile of Bacteria Isolated From Giant Freshwater Prawn Hatchery. *Microbiology Fundamentals And Applications*. Macmillian Publishing Company, New York. s. 871.

64. Mach, P.A., Grimes, D.J., 1982. R Plasmid Transfer in a Wastewater Treatment Plant. *Appl Environ Microbiol.* 44:1395–1403.
65. Anonymous, 1983. Illness associated with fish and shellfish in England and Galler, 2. *Br Med J.*, 287:127-128.
66. Radu S., Ahmad N., Ling F.H., Reezal A., 2003. Prevalence and Resistance to Antibiotics for Aeromonas Species From Retail Fish In Malaysia. *International Journal of Food Microbiology*, 81: 261-266.
67. Matyar, F., Dinçer, S., Kaya, A., Çolak Ö., 2004. Prevalence and Resistance to Antibiotics in Gram Negative Bacteria Isolated From Retail Fish in Turkey. *Annals of Microbiology* 54, 2, 151-160.
68. Matyar, F., Eraslan, B., Akkan, Kaya, A., Dinçer, S., 2009. Antibiotic and Heavy Metal Resistance of Bacteria Isolated From Fish of Iskenderun Bay. *Research Journal of Biology Sciences* 2(2),1-5.
69. Chandy, JP., 1998. Heavy Metal Tolerance in Chromogenic and Non-Chromogenic Marine Bacteria From Arabian Gulf. *Environmental Monitoring and Assessment*, 59:321–330.
70. Aiking H, Stinamn A, Van-Ganderen C, Van-Heerikhuizen H, Vant-Riet J., 1984. Inorganic phosphate accumulation and cadmium detoxification in *Klebsiella aerogenes* NCTC 418 growing in continuous culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 47:374–377.
71. Alanso A, Sanchez P, Martinez JL., 2001. Environmental selection of antibiotic resistance genes. *Environmental Microbiology* 3:1–9.
72. Akman, Y., Ketenöğlü, O., Evren, H., Kurt, L., Düzenli, S., 2000. Çevre Kirliliği. *Çevre Biyolojisi*, I. Basım, Palme Yayıncılık. Ankara, 218s.
73. Sandaa, R.A., Torsvik, V.L., Goksøyr, J., 1992. Transferable Drug Resistance in Bacteria From Fishfarm Sediments. *Can J Micro-biol* 38: 1061±1065.
74. Bell, J. B., Macrae, W. R., Elliot, G. E., 1980. Incidence of R Factors in Coliform, Fecal Coliform, and *Solmonella* Populations of The Red River in Canada. *Appl. Env. Microbio.*, 40: 486-491.

75. Çalangu, S., 1994. Sefalosporinler. *Klinik Uygulamalarda Antibiyotikler ve Diğer Antimikrobiyal İlaçlar*. Güneş Kitabevi Limitet Şirketi. Ankara, s.103–122.

76. Erdem, M.E., Koray, S., Kayış, Ş., Çebi, H., Keskin, İ., 2010. Trabzon İli'nde Avlanan Hamsi Balıklarında (*Engraulis encrasicolus*) Toplam Mezofil Bakteri ve Bazı Patojen Mikroorganizmaların Bulaşma Kaynaklarının Araştırılması. I. Ulusal Hamsi Çalıştayı: Sürdürülebilir Balıkçılık, 17-18 Haziran 2010.

77. Erol, İ., 2007. *Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi*. Pozitif Maatbacılık, Ankara.

78. Gonzalez, C.J., Lopez-Diaz, T.M., Garcia Lopez, M.I., Prieto, M., Otero, A., 1999. Bacterial Microflora Of Wild Brown Trout (*Salmo trutta*), Wild Pike (*Esox lucius*) and Aquacultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Food Prot.*, 62(11):1270-1277.

79. Güler, Ç., ve Çobanoğlu, Z., 1996, Sağlık Açısından Çöp, Tıbbi Dökümantasyon Merkezi Toplum Sağlığı Dizisi No: 14, Ankara.

80. Kayaalp, O. 1981. Kemoterapikler. *Tıbbi Farmakoloji* İkinci Baskı, Nüve Matbaası, Ankara, 509s.

81. Özaktaş, T., 2007. Multiple Antibiotic Resistance of Dwelling Bacterial Populations in Freshwater Fish. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.

82. Özşahin, A. D., Dığrak, M., Kıran, Ö. E., 2005. *Escherichia coli*'nin Beta-Laktam Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç Kazanmasının Araştırılması. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi* 8(2)-2005.

83. Tunail, N. 2000. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları* 2. Baskı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını s.44

## ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında İstanbul'da doğdu. İlköğrenimini Halil Bedii Yönetken İlköğretim okulunda tamamladı. Lise öğrenimini 2005 yılında Bakırköy Lisesi'nde tamamladı. 2006 yılında Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdi. 2009 yılında Erasmus Öğrenci Değişim Programından yararlanarak Portekiz, Porto Üniversitesinde, bir yarıyıl öğrenim gördü. Haziran 2010 yılında Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden bölüm 2.'si olarak mezun oldu. Aynı yıl Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında eğitim almaya hak kazandı. Yüksek lisans eğitimi sırasında Hollanda Wageningen Üniversitesinde kısa süre burslu olarak eğitim aldı. Ağustos 2012 yılında Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Programından mezun oldu. İyi derecede İngilizce bilmektedir.