



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ

MARMARA DENİZİ KAYNAKLI İSTAVRİT VE KARADESLERDE
BULUNAN AĞIR METAL DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
SUŞLARININ PREVALANSI

RÜVEYDA GÜNAYDIN

DANIŞMAN
PROF. DR. ALİ AYDIN

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI

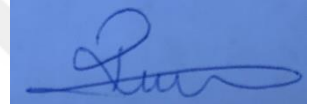
(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

RÜVEYDA GÜNAYDIN



İTHAF

Tez sürecim boyunca her zaman maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen annem Hatice GÜNAYDIN ve babam Eyüp Yüksel GÜNAYDIN' a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Çalışmama başladığım andan itibaren bana gerekli sabır ve zor zamanlarımda desteği ile nezaketini esirgemeyen, başta değerli hocam Prof. Dr. Ali AYDIN'a, yine tüm çalışmam boyunca tüm desteğini benden esirgemeyen değerli meslektaşım ve hocam Uzman Mert SUDAĞIDAN'a, çalışmamın gerçekleşmesi için gerekli numuneleri toplamada bana yardımcı olan Eren GÖZÜTOK'a itenlikleri ve anlayışları ile bana yol gösteren arkadaşım, yoldaşım olan Dr. Gülay Merve BAYRAKAL ve Dr. Ayşen ÇOBAN'a, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Göknur YETİMLER'e sonsuz teőkükür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 48979

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	Xİ
ABSTRACT.....	Xİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Deniz Ürünlerinin İnsan Beslenmesindeki Önemi	3
2.1.1. İstavrit ve Genel Özellikleri.....	6
2.1.2. Karides ve Genel Özellikleri.....	8
2.2. Marmara Denizi ve Ağır Metaller.....	9
2.2.1. Marmara Denizi	9
2.2.2. Ağır Metaller ve Canlılar Üzerine Etkileri	10
2.2.2.1. Kadmiyum.....	13
2.2.2.2. Bakır.....	14
2.2.2.3. Çinko	14
2.2.2.4. Civa	14
2.3. Staphylococların Tarihçesi.....	14
2.3.1. Staphylococların Mikroskopik Özellikleri.....	15
2.4. Sınıflandırma.....	15
2.4.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1. Örneklerin Alınması.....	17
3.2. Yöntem.....	19
3.2.1. <i>S.aureus</i> 'un Kültürel Yöntemler ile İzolasyon ve İdentifikasyonu.....	19
3.2.2. Mannitol Salt Agar'da (MSA) Gelişim.....	19

3.3. Morfolojik, Biyokimyasal ve Serolojik Tanımlama	19
3.3.1. Triptik Soy Agar'da Saflık Kontrolü	19
3.3.2. Gram Boyama	19
3.3.3. Katalaz Testi	20
3.3.4. DNaz Testi	20
3.4. İzole Edilen Suşların Moleküler Biyolojik Yöntemler ile Tanımlanması	21
3.4.1. Genomik DNA İzolasyonu.....	21
3.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile Tanımlama	21
3.4.2.1. <i>nuc</i> (Termonukleaz aktivitesinden sorumlu) Geni Tespiti.....	22
3.4.2.2. <i>coa</i> (koagulaz aktivitesinden sorumlu) Geni Tespiti	22
3.4.2.3. <i>spa</i> (protein A) Geni Tespiti	23
3.4.3. Ağır Metal Direnç Genlerinin Tespiti.....	24
3.5. Ağır Metal Geni Tespit Edilen Örneklerde İlgili Ağır Metal Düzeylerinin ICP-MS İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) Yöntemi ile Araştırılması	25
4. BULGULAR.....	26
4.1. İstavrit ve Karideslerden İzole Edilen <i>S.aureus</i> Sayıları	26
4.2. PCR Doğrulama Sonuçları.....	26
4.2.1. <i>nuc</i> , <i>coa</i> ve <i>spa</i> Genlerinde PCR Bulguları	26
4.2.2. Ağır Metal Direnç Genleri Bulguları	29
4.3. Ağır Metal Geni Tespit Edilen Örneklerde İlgili Ağır Metal Düzeylerinin ICP-MS İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) Yöntemi ile Analizi	32
5. TARTIŞMA	36
KAYNAKLAR	39
6. BAŞVURULAR	40
HAM VERİLER	40
FORMLAR	40
ETİK KURUL KARARI	40
PATENT HAKKI İZİNİ	40
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	40
ÖZGEÇMİŞ	40

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 3-1: Örneklerin Temin Edildiği Bölgeler	17
Tablo 3-2: 2014-2015 yılları arasında temin edilen numune listesi	18
Tablo 4-1 : Numunelerin PCR ve ICP-MS Sonuçları.....	27
Tablo 4-2: Numunelerin PCR ve ICP-MS Sonuçları.....	34
Tablo 4-3: Türk Gıda Kodeksine Verilerine Göre Seçili Su Ürünlerindeki Maksimum Ağır Metal Seviyeleri.....	35



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3-1: DNaz Pozitif Koloniler	20
Şekil 4-1: <i>MSA</i> 'da pozitif ve negatif <i>S.aureus</i> görüntüleri	26
Şekil 4-2: Örneklerin <i>nuc</i> (416 bp) Geni için Pozitif Agaroz Jel Görüntüsü	27
Şekil 4-3: Örneklerin <i>coa</i> (500-600 bp) Geni İçin Pozitif Agaroz Jel Görüntüsü	28
Şekil 4-4: Örneklerin <i>spa</i> (100-450 bp) Geni için Pozitif Agaroz Jel Görüntüsü	28
Şekil 4-5: Örneklerin <i>cadD</i> (460b p) Geni İçin Pozitif Agaroz Jel Görüntüsü	29
Şekil 4-6: Örneklerin <i>cadX</i> (213b p) Geni için Pozitif Agaroz Jel Görüntüsü	29
Şekil 4-7: Örneklerin <i>copA</i> (663 bp) Geni İçin Pozitif Jel Görüntüsü.....	30
Şekil 4-8: Örneklerin <i>mco</i> (699 bp) Geni İçin Pozitif Agaroz Jel Görüntüsü	30
Şekil 4-9: Örneklerin <i>merB</i> (652bp) Geni İçin Agaroz Jel Görüntüsü	31
Şekil 4-10: Örneklerin <i>merT</i> (387bp) Geni İçin Agaroz Jel Görüntüsü	31

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

°C: Degree Celcius

µg: Mikrogram

µL: Microlitre

0,1M Tris/HCl: 0,1 Molar Tris-Hydrochloride

0,1N HCL: 0,1 Normal Hydrogen Cloride

1×TAE: 0.04 Molar Tris-acetate, 0.001 Molar Etilen Diamin Tetra-Acetic

BHI : Brain Heart İnfision Broth

Cd : Kadmiyum

DNA: Deoksiribonükleik Asit

EC: European Council (Avrupa Konseyi)

FAO: Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)

H₂O₂: Hydrogen Peroxide (Hidrojen Peroksit)

ISO: International Organization for Standardization (Uluslararası Standartlar Teşkilatı)

ml: Mililitre

MRSA: Methicillin Resistant *Stapylococcus aureus*

MSA: Mannitol Salt Agar

PCR: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

Pb : Kurşun

pH: Power of Hydrogen

spp: subspecies

TSA: Tryptic Soy Agar

TSB: Tryptic Soy Broth

WHO: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

Zn: Çinko

ÖZET

Günaydın, R. (2019). Marmara Denizi Kaynaklı İstavrit ve Karideslerde Ağır Metal Dirençli *Staphylococcus aureus* Suşlarının Prevalansı. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Anahtar Kelimeler: *Staphylococcus aureus*, su ürünleri, ağır metal, PCR, Marmara

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 48979

Staphylococcus aureus insanlarda ve hayvanlarda çok sayıda enfeksiyona neden olabilen, ortam şartlarına oldukça dayanıklı ve çevresel kaynaklarda yaygın olarak bulunan bir mikroorganizmadır. Bu çalışmada, Marmara Denizi'nin üç farklı bölgesinden 2014-2015 yılları arasında avlanan toplam 300 adet istavrit (*Trachurus trachurus*) (n:119) balığı ve karidesden (*Parapenaeus longirostris*) (n:181) izole edilen *S. aureus* suşlarının prevalansı ve ağır metal direnç genleri varlığı tespiti amaçlanmıştır. Kültürel mikrobiyolojik yöntem ile elde edilen 50 adet *S. aureus* suşundan 34 (%11,3) adedi *S. aureus* suşu moleküler biyolojik yöntemlerle (PCR) doğrulanarak tanımlanmıştır. Elde edilen suşlarda ağır metal direnç genleri varlığı PCR ile tespit edilmiştir. Elde edilen PCR sonuçları doğrultusunda, 30 adet suşta *cadX* ve *cadD*, 1 adet suşta *merB*, 5 adet suşta *merT*, 4 adet suşta *copa* ve 7 adet suşta *mco* geni tespit edilmiştir. Moleküler biyolojik yöntemlerle yaptığımız doğrulama sonrasında, ağır metal geni tespit edilen suşlara ait balık örneklerinde ilgili ağır metal varlığını analitik olarak doğrulamak amacı ile ICP-MS cihazı ile ilgili numuneler analize alınmış ve çıkan sonuçların birbiri ile uyumlu olduğu bulunmuştur. Buna göre, Marmara Denizi'nin kısmen ağır metallerle kontamine olduğu ve bazı ağır metallerin denizde yaşayan istavrit ve karides gibi canlılarda akümüle olduğu, bu durumun ise halk sağlığı açısından sorun oluşturma potansiyelinin bulunduğu öngörülmektedir.

ABSTRACT

Gunaydin, R. (2019). The prevalence of Heavy Metal Resistant *Staphylococcus aureus* Strains in the Sea of Marmara Sea and Shrimps and Horse Mackerel. İstanbul University-Cerrahpasa, Institute of Graduate Studies, Food Hygiene and Technology Department. Master Thesis. İstanbul.

Key Words: *Staphylococcus aureus*, sea products, heavy metal, PCR, Marmara

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 48979

Staphylococcus aureus is a microorganism that can cause a large number of infections in humans and animals, is highly resistant to environmental conditions and is commonly found in environmental resources. The aim of this study was to determine the prevalence and the presence of heavy metal resistance genes of *S. aureus* strains isolated from 300 horse mackerel (*Trachurus trachurus*) (n:119) and shrimp (*Parapenaeus longirostris*) (n:181) from three different regions of Marmara Sea between 2014-2015. Of the 50 *S. aureus* strains obtained by cultural microbiological method, 34 (11.3%) *S. aureus* strains were identified by molecular biological methods (PCR). The presence of heavy metal resistance genes in the strains was determined by PCR. According to PCR results, cadX and cadD in 30 strains, merB in 1 strain, merT in 5 strains, copA in 4 strains, mco in 7 strains. After the confirmation of molecular biological methods, the samples were analyzed with ICP-MS device in order to analytically confirm the presence of heavy metal in fish samples of the strains with heavy metal gene and the results were found to be compatible with each other. Accordingly, it is predicted that the Marmara Sea is partially contaminated with heavy metals and that some heavy metals accumulate in marine organisms such as horse mackerel and shrimp, which has the potential to cause problems for public health.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Balık ve diğer su ürünleri, günümüzde tüketilen yüksek proteinli gıdaların önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Protein içeriği % 17-20 düzeyinde olan balık eti, artan dünya nüfusuna paralel olarak mevcut hayvansal protein açığının giderilmesinde önemli bir yere sahiptir. Balık eti, proteinin yanısıra önemli miktarda vitamin ve mineral madde içermesinden dolayı dikkate değer bir beslenme kaynağıdır. Bu doğrultuda, balık ve su ürünlerinin hammaddeden son ürüne kadar geçen aşamalarda deniz suyu, hammadde özellikleri, işleme, ambalajlama, depolama ile nakliye koşulları, belirli hijyen ve sanitasyon kurallarına bağlanmalı ve her aşamada söz konusu uygulamalar standartlaştırılmaktadır. Balıkların avlanmasından tüketime kadar geçen süreçte uygulanan işlemler ve muhafaza edildikleri ortam koşullarına bağlı olarak deri, solungaç ve bağırsaklardaki mikroorganizmalar kas dokusuna geçmektedir. Kolaylıkla kontamine olma potansiyeline sahip su ürünlerinin kas dokusunda, enfeksiyon ve toksikasyonlar meydana gelmektedir. Söz konusu toksikasyonlara neden olan mikroorganizmalar içerisinde, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) oldukça büyük önem taşımaktadır (Kayhan ve Beyatlı, 2006). Gıda kaynaklı *S. aureus* enfeksiyonları günümüzde oldukça sık görülen enfeksiyonlar arasında yer almaktadır (Kılıç ve Dönmez, 2008). Son yıllarda, artan çevre kirliliği insan sağlığını doğrudan ya da dolaylı olarak tehdit etmektedir. Marmara denizi, özellikle İstanbul halkının beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Ancak, Marmara denizinin endüstriyel, evsel vb. atıklarla hızla kirlenmesi hem balık popülasyonunu hem de mikrobiyal florayı geri dönüşü mümkün olamayacak biçimde etkilemektedir. Yapılan araştırmalar, İstanbul Boğazı'nın da evsel ve sanayi atıkları tarafından hızlı bir şekilde kirlendiğini ortaya koymaktadır (Kayhan ve Beyatlı, 2006). Kirlilik, tüm besin zincirleri boyunca ilerlemekle birlikte, insanlar dahil tüm canlılara zarar vermektedir. Civa, kurşun, kadmiyum, nikel bakır, çinko, krom ve arsenik gibi ağır metaller belli derişimlerin üzerinde, canlılar üzerinde toksik etki yapmaktadır (Kayhan ve ark., 2006). Yüksek konsantrasyonlarda bütün metaller hücre zarı hasarına yol açıp enzim spesifikliğini etkilemekte, hücresel fonksiyonları bozarak DNA'nın yapısını değiştirebilmektedir (Kılıç ve Dönmez, 2008). Mikroorganizmaların toksik, karsinojenik ve mutajenik etkili ağır metal iyonlarına tolerans gösterip ortamdan uzaklaştırması, ağır metallere direnç geliştirmeleri ile açıklanmaktadır. Ağır metallere dirençli mikroorganizmalar, ağır metalin hücre içinde veya dışında tutulması, iyonun hücre dışına aktif taşınması gibi

direnç mekanizmaları ile söz konusu metallerin toksik etkilerinden korunmaya ve canlılığını sürdürmeye çalışmaktadır (Kılıç ve Dönmez, 2008). Ağır metaller, mikrobesein olarak redoks tepkimelerinde, moleküllerin elektrostatik etkileşimlerini kararlı tutmak ve osmotik basıncı kontrol etmek için enzimlerin bileşenleri şeklinde kullanılmaktadır. Ağır metal derişimlerinin, kıyı bölgelerde ve kapalı denizlerde, açık denizlerden daha fazla olduğu ifade edilmektedir (Kayhan ve Beyatlı, 2006). Bu araştırmada, Marmara Denizi'nin çeşitli bölgelerinden (İstanbul, Bursa, Tekirdağ) elde edilen 119 istavrit ve 181 karides örneğini içeren toplam 300 adet su ürünü numunesinde kültürel yöntemle izole edilen ve moleküler biyolojik yöntemle doğrulanan *S. aureus* suşlarında, çeşitli ağır metallere karşı direnç genlerinin incelenmesi ve direnç geni tespit edilen suşların elde edildiği örneklerde enstrumental yöntemler kullanılarak ilgili ağır metallerinin tespitinin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Deniz Ürünlerinin İnsan Beslenmesindeki Önemi

Dünya nüfusunun güngeçtikçe artış göstermesi birçok problemi de beraberinde getirmektedir. İlk sırada ise beslenme problemi yer almaktadır. Artan nüfus nedeniyle ulaşılabilir besin kaynaklarının azalması, elde olan kaynakların ise bilinçsizce kullanımı ve üretim ile sürecinde yaşanan aksaklıklar insanoğlunu farklı besin kaynaklarını tüketmeye yöneltmiştir (Özkan ve ark., 2010). Ülkelerin büyük bir çoğunluğu deniz ürünlerini birincil besin kaynağı olarak kabul etmektedir (Anonim, 2008). Günümüzde insanlar, gündelik hayattaki beslenmelerine oldukça dikkat etmekte ve beslenme rutinlerinde sağlık açısından uygun olan gıdaları seçmeye özen göstermektedir. Sağlıklı beslenmeye özen gösteren insanlar kırmızı et alternatifi olarak protein ve kaliteli yağ içeren su ürünleri tercih etmektedir (Knauss, 1994). Bu gıdalar, özellikle doymamış yağ asitleri açısından zengin olan balıklar ve diğer su ürünleri olarak bilinmektedir (Kaya ve ark., 2004).

Sağlıklı ve dengeli beslenmek için en önemli ürünlerden biri hayvansal ürünler olup, insanın dengeli ve yeterli beslenebilmesi için günde 70 gr protein tüketmesi gerektiği bilinmektedir. Söz konusu olan 70 gr proteinin en az 47 gr'ının hayvansal gıda kaynaklı olması gerektiği özellikle ifade edilmektedir (Seçer ve Rad, 1993). Beslenme açısından çok önemli değere sahip olan balık eti hayvansal bir protein kaynağıdır. Sindirimi kolay, enerji değeri düşük, sağlıklı ve ucuz olması en önemlisi ise doymamış yağ asitleri bakımından zengin olması nedeniyle oldukça ideal bir besin olarak bilinmektedir (Özkan ve ark., 2006).

Balık etinin diğer hayvansal gıdalar ile karşılaştırıldığında besin değeri; mineral ve protein bakımından yüksek, yağ miktarı açısından düşüktür. Bu sebeple balık eti, diğer çiftlik hayvanları etinden çok daha avantajlı olarak bilinmektedir (Aras ve ark., 2000).

Eskimoların kendilerine has geleneksel olarak tükettikleri gıdalarının yağ oranları yüksek olmasına rağmen, astım, kalp rahatsızlıkları, romatizma ve diğer beslenme kaynaklı birçok hastalığa dirençli oldukları görülmüştür (Lau ve ark., 1993). Bu hastalık direncinin sebebinin doymuş yağ asiti içeren besinler (bitkisel yağlar ve karasal memeli yağları) tüketmek yerine doymamış yağ asitleri içeren balık eti ve diğer deniz ürünlerinin tüketilmesi olduğu bildirilmektedir (Kromhout ve ark., 1985). İnsanlar için gerekli olan vitaminlerin neredeyse tümünü ihtiva etmektedir (Love, 1982).

Suda çözünebilen B ve C vitaminlerinin balık ve diğer su ürünlerinde bulunma miktarı, karasal hayvanlarda bulunmama düzeyi ile neredeyse aynıdır. Yağda çözünebilen A, D, E ve K vitaminlerinin ise balık ve su ürünlerinde bulunma miktarları daha yüksektir (Pigott ve Tucker, 1990).

Yapılan klinik çalışmalar sonucunda, balık eti tüketen kişilerde kalp hastalıkları sebebi ile meydana gelen ölüm oranlarında önemli ölçüde azalma olduğu görülmüştür. Omega-3 yağ asitleri kalp kaslarını doğrudan etkileyerek kan akış hızını arttırmakta, damar hasarı olan bölgelerde iyileşmeler yapmakta, enfarktüsü, aritmi olasılığını ve şiddetini, kalp için tehlikeli olabilecek kimyasal ve hücrel işlemleri azaltmaktadır (Nettleton, 2000).

Çoklu doymamış yağ asitleri insan hayatı ve devamlılığı için oldukça önemlidir. Bu sebeple, temel yağ asitleri olarak adlandırılarak omega ω -3 ve ω -6 yağ asitleri olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. ω -3 keten tohumu, ceviz ve özellikle planktonlar ile yağlı balıklarda bol miktarda bulunmaktadır. ω -6 ise ana kaynağı olarak, yüksek oranda linoleik asit içeren soya fasulyesi ve mısır yağı bilinmektedir. Ceviz ve keten tohumu gibi bitkisel besinlerde alfa-linolenik asit, balık yağlarında ise Dekosahegzaenoik asit (DHA) ve Eikosapentaenoik asit (EPA) en önemli yağ asitleridir. DHA ve EPA mutlaka gıdalar vasıtasıyla dışarıdan alınması gerekmektedir. Sebebi ise bu yağ asitlerinin vücut tarafından sentezlenememeleridir. (Calabrese, 1999; Stoll, 1999).

Gıdalarda tüketilen yağların, doymamış yağlarca zengin olması büyük önem taşımaktadır. Günümüzde ω -3 serisi yağ asitlerinin vücutta, biyokimyasal ve fizyolojik aktivitelerde önemli görevler üstlendiği hemen hemen kesin olarak ortaya konmuştur. Yağ asitleri, insan vücudunda göz, beyin, testis ve plasentada toplanmaktadır. Ayrıca gözlerin, uygun şekilde çalışmasına ve beyinin fonksiyonlarını eksiksiz olarak yerine getirmesine yardımcı olmanın yanında, kandaki yağ konsantrasyonunu düzenlemektedir (Gordon ve Ratliff, 1992). Balık ve diğer deniz ürünlerinde bulunan iki baskın ω -3 yağ asidi EPA ve DHA'nın tedavi edici özelliği ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. ω -3 yağ asitlerinin faydalı olduğu ilk olarak Eskimolar üzerinde yapılan araştırmalar sonucu bulunmuştur. Söz konusu çalışmalarda, Grönland Eskimoları'nın tükettikleri yağlı balıklardan dolayı kalp krizi geçirme riskinin çok düşük olduğu gözlenmiş, bunun üzerine EPA ve DHA'nın faydaları üzerine yapılan çalışmalara daha çok ağırlık verilmiştir. Sonuçta, bu yağ asitlerinin kalp-damar hastalıkları, kalp krizi, migren ve türevleri gibi

baş ağrıları, depresyon, eklem romatizmaları, bazı alerji türleri, şeker hastalığı, yüksek kolesterol ve tansiyon, ile kanser gibi bir çok hastalıktan korunmada çok önemli etkisi olduğu tespit edilmiştir (Gorga, 1998). Damar sertliği ve damar tıkanıklığı; balık yağlarının kalp-damar hastalıklarından koruyucu etkisi, kan basıncı ile trigliserid düzeyini düşürücü etki yapması ve düşük yoğunlukta olan lipoprotein düzeyinin artırılmasından ileri geldiği öngörülmektedir. Ayrıca, balık yağlarının trombosit düzeyini azalttığı ve atardamardaki düz kas hücrelerinin büyümelerini önlediği ifade edilmektedir (Connor, 1995).

Balık yağlarının damar sertliğini önlemede ya da azaltmada etkili olduğu düşünülmektedir. Balık yağlarının ilavesi ile by-pass ameliyatlarından sonra damarların tekrar kapanması önlenmektedir. Bu bağlamda haftada en az bir sefer balık yemek ya da günde 0,5 g balık yağı tüketmek, kalp krizi geçiren hastaların hayatta kalma oranlarını %30 artırmaktadır. 3 hafta süre ile günde 8 g EPA ve DHA alacak kadar balık tüketen kişilerin kanında trigliserid ve kolesterolün azaldığı gözlenmiştir. ω -3 yağ asitleri damar sertliğini önlemekte, tansiyonu düşürmekte, kan akış hızını artırmakta ve böylece daralmış damarların beslendiği dokulara daha fazla oksijen gitmesini sağlamaktadır (Von Schacky, 2000).

Yapılan araştırmalarla balık yağlarının, bağışıklık sisteminde çeşitli ve olumlu etkilerinin bulunduğu ve hastalıklara karşı vücudun direnç kazanmasına yardımcı olduğu ortaya konmuştur. Yüksek düzeyde balık etinin tüketilmesi ile hücre duvarının sağlamlaştığı görülmüştür. Günde ortalama 120-180 gr düzeyinde balık tüketmek bu etkiyi artırmaktadır (Stone, 1996).

2.1.1. İstavrit ve Genel Özellikleri

Alem: Animalia

Filum: Chordata

Alt filum: Vertebrata

Üst sınıf: Gnathostomato (Pisces)

Sınıf: Actinopterygii

Takım: Perciformes

Alt takım: Percoidei

Aile: Carangidae

Cins: Trachurus

Tür: Trachurus trachurus

Trachurus cinsinin, geniş bir familya olan Carangidae'nin bir üyesi olup dünya çapında çok önemli yere sahip olan ticari türler içermektedir (Mater ve ark., 2002). Bunlardan en önemli ve yaygın olanı *Trachurus trachurus* (*T. trachurus*) (karagöz istavrit)'tur. İstavrit balığı, Türkiye denizlerinin önemli pelajik balıkları arasında yer almaktadır (Bayhan ve ark., 2005). Carangidae familyasından olan istavrit, Akdeniz, Karadeniz ve Marmara'da oldukça yaygın yayılım göstermektedir. İstavrit halkımız tarafından epey iyi tanınan ve tüketilen bir balıktır (Bayhan ve ark., 2005). Türün, 100-200 m arası, kumlu dip derinliklerde dağılım göstermesinin yanı sıra 1050 m derinlikte de görüldüğü kayıtlarda yer almaktadır (Lloris ve Moreno, 1995). Vücudu yan kısımlardan hafifçe basık ve uzun bir yapıya sahiptir. Sırtı mavimsi yeşil renkte, yan kısımlar ise gümüşü olup karın beyaz renktedir. Gözleri büyük ve yağlı bir göz kapağı mevcuttur. Büyük olan istavritlerin boyu en fazla 59 cm, küçük olan istavritlerin boyu ise en fazla 20 cm'dir (Atay, 1985). Uzun ömürlü bir tür olan istavrit "15+" yıl yaşam gösterebilmektedir (Campbell, 2005).

Denizlerimizde çok yaygın olarak bulunması, etlerinin genellikle lezzetli olması, özellikle avlanma düzeyinin yüksek olması ve avlanma süresinin uzunluğu sebebi ile *Trachurus* sp. ülkemizin balıkçılık ekonomisinde oldukça büyük bir yer kaplamaktadır (Akşiray, 1987). Çoğunlukla taze, tuzlanmış ve donmuş, yağ içinde fileto şeklinde kutulanmış ve bazen de tütsülenmiş olarak tüketime sunulmaktadır (Atay, 1985).

Marmara Denizi'nde, birçok çevresel olumsuz koşullara rağmen birçok balık cinsinin (10 taksonomik gruba ait 110 tür) yaşamına devam ettiği tespit edilmiştir (Zengin ve ark., 2004). Bu çeşitlilik, geçimini balıkçılık ile sağlayan aileler açısından ço büyük avantaj sağlamaktadır (Güngör ve ark., 2007). Diğer taraftan, Marmara Denizi konu dolayısı ile bazı özel şartlara sahiptir. Öncelikle büyük yüzey alanına sahip olması onu atmosferik çökelmelere karşı savunmasız bırakabilmektedir. Ancak, hava-su arasındaki bu etkileşimler kirli suların da temizlenmesine de yol açabilmektedir (Achman ve ark., 1993). Marmara Denizi su ürünleri (balık) üretiminde yalnızca istavrit %80'in üzerinde bir orana ulaşmıştır. Bunun yanı sıra, Marmara Denizi'nin tüm Türkiye su ürünleri üretimindeki katkısı da, % 22 düzeyinden % 6 düzeyine kadar düşmüştür (Artüz ve ark., 2007).

2.1.2. Karides ve Genel Özellikleri

Alem: Animalia

Filum: Arthropoda

Alt filum: Crustacea

Üst sınıf: Multicrustacea

Sınıf: Malacostraca

Alt sınıf: Eumalacostraca

Üst takım: Eucarida

Takım: Decapoda

Alt takım: Dendrobranchiata

Üst aile: Penaeoidea

Aile: Penaeidae

Cins: Parapenaeus

Tür: Parapenaeus longirostris

Crustacea sınıfının “Decapoda” takımından olan karides, ekonomik değeri yüksek bir kabuklu su ürünü olarak bilinmektedir. Karides, ülkemizde en önemli kabuklu (*Crustacea*) kaynaklarından biri olarak kabul edilmektedir (Şensurat, 2015). Karidesin vücut yapısı; birbirine birleşik bir baş-göğüs (sefalotoraks) ve halkaya benzer segment yapılarından oluşan karın (abdomen) bölgesi olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Abdomeni halkalar halinde kabuk sarmakta ve birbirinden kolayca ayrılabilir. Karidesin vücutu, toraks ve abdomen üzerinde uzamış şekildedir (Artüz, 2005). Karidesler iyi yüzebilmelerine rağmen, çoğunlukla deniz dibi zeminde yaşamlarını sürdürmektedir. Bu türün yakalandığı minimum derinlik 20 m ve maksimum derinlik 700 m olmasına rağmen, genel yaşam tercihi 150 ila 400 m’dir (Holthuis, 1980). Karidesler, avlanma ve üreme zamanları zeminden yukarı yüzerek daha üstteki su kütesine ulaşmaktadır (Kumlu, 1999). Tercih ettiği su sıcaklığı ise genelde 14-15 °C olarak bildirilmektedir (Artüz, 1967). Karides etinin kimyasal içeriğinin ortaya konulması üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır (Palomares ve ark., 1985). Karides etinin, proteince zengin ve bağ doku yönünden oldukça fakir olması, kolayca sindirilebilmesini

sağlamaktadır (Varlık ve ark., 2000). Bu türün en önemli sulama alanları arasında Kuzey Marmara Denizi'ndeki Tekirdağ, Silivri, Hoşköy, Şarköy, Mürefte ve Marmara Adaları yer almaktadır (Öztürk, 2009).

2.2. Marmara Denizi ve Ağır Metaller

2.2.1. Marmara Denizi

Tipik bir iç deniz karakterine sahip Marmara Denizinin tamamı Türkiye sınırları içerisinde yer almaktadır (Güngör ve ark., 2007). Boyutları 70 km x 250 km, yüzey alanı 11,500 m² ve en derin noktası 1390 metredir. Asya ve Avrupa kıtaları arasında bulunan konumundan ötürü ekonomik ve sosyal önemi büyüktür. Böylelikle Karadeniz ve Akdeniz arasında deniz bağlantısını ve iletişimini sağlayarak bölgenin oşinografik yapısında önemli rol oynamaktadır (Yılmaz, 2002).

Marmara Denizi havzası önemli sayıda sanayi bölgesi barındırmakta ve çoğunluğu herhangi bir arıtma yöntemi uygulamaksızın atık sularını bu iç denize ve ona ulaşan akarsularına deşarj etmektedir (Taşdemir, 2002). Sürekli artan nüfus, bölgede çevre kirliliğine neden olmaktadır. Bunun sonucunda Marmara Denizi'nde aşırı kirlilik problemi ön plana çıkmaktadır. İlave olarak, çok sayıda petrol taşıyan tanker nedeniyle ortaya çıkan yoğun deniz trafiği de kirliliğin yüksek düzeylere ulaşmasına neden olmaktadır (Güngör ve ark., 2007). Genel olarak denizlerde görülen bu tür kirliliklerin kaynağını doğrudan deşarj sonrası nehirlerle taşınma, zirai işlemler ve atıkları, kaçak atık boşaltımı, gemi taşımacılığı, petrol ve gaz üretimi ve biyolojik çökeltme oluşturmaktadır. (Lean ve ark., 1990).

İnsan sağlığı açısından oldukça zehirli olan kimyasallar, kolay bozunmadıkları gibi biyolojik olarak birikebilme potansiyeline sahiptir. Bu gibi kirleticilerin buldukları su ortamında kalış süresi ekosistem ve biyobirikimi doğru orantılı şekilde etkilemektedir. (Taşdemir ve ark., 2002). Akuatik canlılar, bu süreçten doğrudan veya dolaylı olarak etkilenmektedir. Toksik etkiler sonucu bu canlıların yumurtlamaları engellenmekte, üremeleri durmakta, çevresel faktörlere karşı duyarlılıkları artmakta ve ölümler meydana gelmektedir. Atıkların, su kalitesini öngörülemez şekilde olumsuz yönde deşitirmesi de akuatik organizmalarda büyük zararlara sebebiyet vermektedir (Atamanalp ve Yanık, 2003).

Ağır metaller sucul canlılarında moleküler ve hücresel düzeylerde yapısal işlev bozukluklarına ve DNA kırınım frekanslarında artışa neden olmaktadır (Kalay, 2004; Levesque, 2002; Giordano, 1989). Çevresel kaynaklı ağır metal kirliliğinin endüstri, tarımsal kullanım ve arıtma çamuru olmak üzere üç ana kaynağı mevcuttur. Endüstriyel faaliyetlerdeki artış, çevre kirliliği sorunlarını ve birçok ekosistemin toksik metal birikimi ile bozulmasını yoğunlaştırmıştır. Ağır metallerin diğer yaygın kaynakları arasında elektrokaplama, plastik üretimi, gübre üreten tesisler, madencilik ve metalürjik süreçlerden sonra kalan pigmentler ve atıklar sayılmaktadır (Zouboulis ve ark., 2004). Tüm bu veriler ile ilgili olarak, toksik ağır metal seviyesinin sucul ortamda arttığını gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (Kalay ve Yazkan, 2004). Endüstriyel gelişmeler, denizlerin ağır metaller ile kontamine olduğunu ve bu kirlenmenin besin zincirine de büyük ölçüde yansıdığını ortaya koymaktadır (Kayhan, 2006). Dünya genelinde deniz ürünlerinin birincil besin kaynağı olarak kabul edilmesi nedeni ile, ağır metallerin besin zinciri, tortu ve su yoluyla biyolojik birikimi insanların sağlık kaygısı haline gelmiştir (Anonim, 2008). Denizlerin kirlenmesi ile doğru orantılı olarak ağır metaller ile kontamine olmuş deniz ürünlerinin vücuda alınması insan sağlığı açısından tehlikeli sonuçlara neden olabilmektedir. Son yıllarda, İran'da gıda güvenliği kontrolü için Basra Körfezi'nden alınan karides ve balıklarda ağır metal içeriğini belirlemek amacı ile birçok araştırma gerçekleştirilmiştir. (Fakhri ve ark., 2018). Ülkemizde su ürünlerinde ağır metal bakımından kabul edilebilir en yüksek değerler, Kurşun (Pb için 1,0 mg/l, Hg için 0,5 mg/l ve kadmiyum (Cd için 0,1 mg/l olarak bildirilmektedir. (Anonim, 2004).

2.2.2. Ağır Metaller ve Canlılar Üzerine Etkileri

Doğa gereği canlı ve cansız varlıklar arasında “Ekolojik Denge” mevcuttur. Bu denge, direnç ve onarım sınırlarını aşmadığı sürece kendini korumaktadır. Kirleticilerin belirli sınırlar içerisinde kalarak canlıya etki etmesi sonucu bu denge bozulmadığı sürece problem yaşanmamaktadır. Ancak kirleticilerin miktarları elimine edilemeyecek seviyelere çıktığında ve onarım gücünü aştığında çevre dengesi bozulmaktadır (Bat, 2016).

Atom ağırlığı 40 üzeri olan ve elektron dağılımı benzerlik teşkil metalik elementlere veya yoğunlukları 5.0 g/cm^3 den fazla olan metallere “Ağır Metal” adı verilmektedir (Förstner ve Wittmann, 1983). Canlılar, enzimatik aktivitelerini sürdürmeleri için belli konsantrasyonlarda bazı ağır metallere gereksinim duymaktadır.

Doğal konsantrasyon düzeylerinin değişim göstererek arttığı durumlarda, örneğin civa, gümüş, kurşun, bakır ve kadmiyum ve gibi ağır metaller özellikle toksik etkiye sebep olmakta ve enzimlerin çalışma mekanizmasını inhibe etmektedir. Ağır metallerin büyük çoğunluğu, gerekli olsun veya olmasın canlı organizmalar için teddit oluşturan birer toksik ajan olarak kabul edilmektedir. Sulardaki anorganik açıdan kirlenmenin çok büyük bir kısmını ağır metaller oluşturmaktadır (Egemen, 2000).

Bazı metaller, canlılar için belli bir sınır içerisinde önemli olmamalarına rağmen, belirli bir konsantrasyon sonrası canlı bünyesinde birikip toksik etki meydana getirmektedir. Metaller, sularda serbest iyonlar, inorganik ve organik bileşikler ve partikül maddelere adsorbe olmuş şekilde bulunmaktadır (Egemen, 2000). Adsorbe olarak sedimente çöken ağır metallerin iyon ve bileşiklerinin çeşitli kimyasal ve fiziksel olaylar ile değişik yükseltgenme basamaklarına sahip iyonik formlara dönüşmesinin, organizma üzerinde toksik etki oluşturduğu ifade edilmiştir (Engel ve ark., 1981).

Atık sular, çok yüksek konsantrasyonda toksik ağır metal ve bileşiklerini içermektedir. Bu toksik ağır metaller arasında kurşun (Pb), krom (Cr), bakır (Cu), çinko (Zn), kobalt (Co), arsenik (Ar), kadmiyum (Cd) ve civa (Hg) yer almaktadır (Kırmızıgül, 2013). Sucul organizmalar içerisinde yer alan balıklar ve karidesler, toksik bileşikler açısından, suyun kirlenmesini değerlendirmek için iyi gösterge olarak bilinmektedir (Copat ve ark., 2013).

Sucul ekosistem canlıları, sedimentlerde birikmiş olan ağır metaller ile etkileşime girmektedir (Süren, 2004). Biyolojik birikim, biyobozunur olmayan, biyo-büyütme, uzun süre dayanma gibi özellikleri nedeniyle ağır metaller, sucul ortamların en büyük ana kirleticileri olarak kabul edilmektedir (Dadar ve ark., 2017). Ağır metallerin, balıklar tarafından sucul ortamdan alınması solungaçlar yolu ile olmaktadır. (De Conto, 1999). Ağır metaller suda ayrışma ve ayrıştırılmasının zorluğu nedeniyle organizma dokusunda yüksek oranda birikim göstermektedir. Emilimi sağlanamayan ağır metaller ise boşaltım yolu ile vücuttan atılmaktadır. Boşaltım yolu ile atılamayan toksik ağır metaller ise böbrek, kas, karaciğer ve değişik organ ve dokularda depolanmaktadır (Seker ve ark., 1998). Sucul canlıların organ ve dokularında biriken ağır metaller, etkide kaldığı süreye ve bulunduğu ortamdaki derişimine bağlı olarak artış göstermektedir (Lemaire ve ark., 1992).

Balıklar ile yapılan bir çalışmada Cu, Cd, Zn, Pb ve Hg gibi toksik etki eden ağır metallerin birikim oranının, balıkların yaşadığı yer, yaş ve beslenme koşullarına göre değişkenlik gösterdiği ifade edilmektedir (Stoker ve Seager, 1976). Bu metaller içerisinde özellikle kadmiyum, civa ve kurşun insanlar üzerinde olumsuz etki gösteren en önemli ağır metaller olarak bilinmektedir (Lars Järup, 2003).

Su ortamında yaygın olarak birikme gösteren Hg, Cd, ve Zn ekosistem ve yaşayan canlıları doğrudan etkilemektedir (Merian, 1991). Diğer taraftan, yapılan çalışmalarda balık dokularında önemli miktarda birikmiş Cd dahil ağır metaller olduğu bildirilmektedir (Türkmen ve ark., 2005; Rao ve Saxena, 1981).

Deniz bakterilerinin çoğunluğu ağır metalleri toplamakta, biriktirmekte ve dönüştürmektedir (Chan ve Dean, 1988).

Ağır metal dirençli bakteriler, dirençlilik genlerini diğer sucul organizmalardaki bakterilere transfer edebilmektedir. Bu durum insana da zarara verebilecek şekilde tüm besin zincirini etkilemektedir (Lee ve ark., 2009). 1999 yılında Guzzo, ağır metale karşı direnç mekanizmalarının geliştirilmesine yol açan etmeni; mikroorganizmaların bulunduğu çevrede, toksisiteye sebep olan metalin varlığı ve bu metalin organizma üzerinde yarattığı stres olarak rapor etmiştir.

Ağır metal kirliliği mikroorganizmaların hücre duvarı, nükleik asit, protein yapısı ve yaşamsal sistemleri üzerinde olumsuz etkilere neden olarak yaşam süreçlerini olumsuz yönde etkilemektedir. Ağır metal kirliliğine maruz kalan bölgelerde yaşayan mikroorganizmalar ölüm, biyoçeşitliliğin bozulması ve türün tamamen ortadan yok olma gibi tehditlerle karşı karşıya kalmaktadır. Ancak ağır metal kirliliği karşısında bazı mikroorganizmalar geliştirdikleri farklı sistemler ile bu metallerin olumsuz etkilerinden korunmaktadır. Ağır metal direnç genleri kromozom ya da plazmidler üzerinde bulunabilmektedir. Mikroorganizmalar ağır metallere karşı direnci temel hücre bileşenlerinde yaptıkları yapısal değişiklikler veya sentezledikleri yeni hücre bileşenleri ile sağlarlar. Yapılmış çalışmalarda ağır metal kirliliğine maruz kalmış ortamlarda dirençli farklı türlerin varlığı rapor edilmiştir (Filali ve ark., 2001).

Ağır metaller, enzimler ve kofaktörler içerisine dahil edilmektedir. Bunun sebebi ise, bakteriler için gerekli olan mikro besin elementleri olmalarıdır. Ancak enzimler ve DNA'ya bağlanma nedeniyle de yüksek konsantrasyonlarda toksiktir (Lopez-Maury ve ark., 2002). Ağır metaller genellikle, temel fonksiyonel grupları bloke ederek, temel metal

iyonlarını yer değiştirerek veya biyolojik moleküllerin yapısını değiştirerek mikroorganizmalar üzerinde inhibitör bir etki göstermektedir (Doelman ve ark., 1994). Ağır metaller ile kirletilmiş bir ortamlarda mikroorganizmalar yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmek için, bu toksik metal iyonlarına karşı direnç mekanizması geliştirmektedir (Nies ve Silver, 1995). Çoğu mikroorganizmanın, ağır metallerin toksik olan iyonlarına karşı direnç göstermesine neden olan spesifik genlere sahip olduğu bilinmektedir. Bu direnç genleri plasmidlerde veya kromozomlarda bulunmaktadır (Nies, 1999). Bu direnç mekanizmasının biyolojik olarak izlediği yolu (Bruins ve ark., 2000) ve (Nies ve Silver, 1995) şu şekilde açıklamışlardır; Hücre geçirgenlik engelleri ile metalin dışlanması, metalin hücre organizmasından uzak bir yere taşınması, proteinin bağlanması ile metalin hücre içi sekestrasyonu, hücre dışı sekestrasyon, metalin daha az toksik bir formda enzimatik detoksifikasyonu ve hücrenin metal duyarlılığında azalma. detoksifikasyon mekanizmaları, mikroorganizma tipine bağlı olarak değişebilmektedir. Sedimentte biriken ağır metallerin konsantrasyonu dipte bulunan sediment parçacıklarının oranına, parçacıkların boyutuna ve sedimentte organik maddelerin bulunup bulunmamasına göre değişiklik göstermektedir. Sediment ağır metaller için önemli bir birikim yeri olup, bu nedenle sucul ortamların metal kirliliğinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Salomans ve ark., 1987). Besin zincirindeki trofik düzeyleri ve yaşam ortamları farklı olan Birçok balık cinsi ile yapılan araştırmalar sonucunda, pelajik türlere göre bentik türlerin daha fazla metal kontaminasyonundan etkilendikleri tespit edilmiştir. Deniz zemininde süzme suretiyle beslenen kabuklu türlerinde de yüksek ağır metal seviyelerinin ölçülmesi sedimentteki metal içeriği ile ifade edilmektedir (Parson, 1999; Topçuoğlu, 2002). Mikroorganizmalar direnç geliştirerek ağır metaller ile yoğun kontamine olmuş ortamlarda yaşamaya adaptasyon göstermişlerdir (Yavuz ve Sarıgül, 2016). 1970 li yıllarda yapılan araştırmalar sonucu *Escherichia coli*, *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas aeruginosa* gibi bakterilerin ağır metal direnci olduğu tespit edilmiştir (Nakahara ve ark., 1977).

2.2.2.1. Kadmiyum

Cd canlılar için en toksik ağır metallerden biridir. Düşük konsantrasyonlarda bile canlılar için son derece zararlı etkilere olduğu belirtilmektedir. Cd'nin özellikle denizlerde sucul canlıların çeşitli organ ve dokularında birikerek toksik etkiler meydana getirdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Sağlamtimur ve ark., 2003).

Ağır metaller çevreye farklı kaynaklardan yayılmaktadır. Cd, doğada maden olarak bakır, kurşun ve çinko ile beraber bulunan bir elementtir. Cd kirliliğinin en önemli etkeni olarak, fosfat gübreleri gösterilmemtedir. Cd içeren ürünler, genelde geri dönüştürülebilir ürünlerdir. Bu özelliğe sahip olmasına rağmen, elimine edilemeyip aksine artış göstermektedirler. Bu artış ise etkisini toprak, su gibi alanlarda göstermektedir (Yavuz ve Sarıgül, 2016). Bu sebeple sebzeler, meyveler, tahıllar ve balıklar ile kontamine olarak vücuda girmektedir (Castro-Gonzales ve Mendez Armenta, 2008).

2.2.2.2. Bakır

Vücut için esansiyel olmasına rağmen fazla miktarlarda canlı organizmada birikmesi toksik etkilere sebep olmaktadır (Erdoğrul ve Ateş, 2006). Bakır (Cu) modern bir biyoelementtir (Kaim ve Rall, 1996). Cu'nun toksik etkisi, bakteri ve mantar hastalıklarının kontrolü için tarımda kullanılmaktadır (Cha ve Cooksey, 1991). Bu bağlamda, tarımsal atıkların bakterilerde bakır direncinin geliştirdiği düşünülmektedir.

2.2.2.3. Çinko

Çinko (Zn) endüstride çok kullanılan bir metaldir (Medeiros ve ark., 2012). Zn, metabolizmada birçok biyolojik role sahiptir. Fakat gıdalar ile olması gerekenden fazla vücuda ağır metal alınması durumunda Fe ve Cu gibi elementlerin emilmesine engel oluşturmaktadır (Shinn ve ark., 2009).

2.2.2.4. Civa

Civa (Hg); Antik Yunan da ise metalik civa cilt parlatici bir kozmetik olarak kullanılmıştır. Tıpta birçok hastalığın tedavisinde kullanılmış ve günümüzde amalgam olarak bilinen civa bileşiği diş dolgusu olarak kullanılmaya devam etmektedir. Günümüzde metalik Hg termometreler, barometreler ve kan basıncını ölçen cihazlarda kullanılmaktadır. Civaya en çok maruz kalan grup ise diş tedavisinden sorumlu personeldir. Hg'nin endüstriyel alanda bu kadar yaygın kullanılması, doğaya yayılmasına sebebiyet vermektedir (Yavuz ve Sarıgül, 2016).

2.3. Staphylococların Tarihçesi

Micrococcaceae familyasından olan *Staphylococcus* türleri Gram pozitif, fakültatif anaerob, spor oluşturmeyen, hareketsiz ve katalaz pozitif bakterilerdir (Nakazawa Y, Hosono A. 1992). İlk kez, Robert Koch tarafından 1878'de tanımlanan

Stafilokokları, Pasteur 1880’de sıvı besiyerinde üretmiştir (Cengiz, 1999). Sıkça Stafilokoklar olarak da bahsedilen *S.aureus* bakterisi, 1880’li yıllarda İskoç bir cerrah olan Alexander Ogston tarafından keşfedilmiştir (Orenstein A., 2011).

2.3.1. Staphylococların Mikroskopik Özellikleri

Stafilokoklar; 0,5 – 1,5 µm çapında, sporsuz, hareketsiz, yuvarlak, üzüm salkımı halinde kümelenen, ikişerli ya da tekli koklar olarak da görülebilen Gram pozitif mikroorganizmalardır. Etkeni olduğu enfeksiyonların klinik belirtilerine sebebiyet veren birçok hücre dışı enzim ve ekzotoksinlere sahiptir. *S. saccharolyticus* hariç, fakültatif anaerobtur ancak aerob üremeyi daha çok tercih etmektedir (Bilgehan, 2000).

2.4. Sınıflandırma

2.4.1. *Staphylococcus aureus*

Optimum 37 °C’de gelişmektedir. Yüzde 5 koyun kanı içeren Columbia Agar besiyerinde 24 saatte, porselen görünümüne sahip, düzgün yüzeyli, konveks ve genellikle sarı pigmentli koloniler oluştururlar. Kolonilerin etrafında, genel olarak karakteristik şekilde hemoliz zonları oluşturmaktadır (Kayser ve ark., 2002).

Genellikle protein ve nişasta içeriği yüksek gıdalarda gelişim gösteren *S. aureus*; özellikle et ve süt ürünleri, balık, patates, makarna ile bunlardan yapılan yiyeceklerde yaygın olarak görülmektedir. Hijyenik koşullarda üretilmeyen ve muhafaza edilmeyen, açıkta bekletilen yiyecekler özellikle stafilokokal zehirlenme açısından tehlike arz etmektedir (Yaygın, 1998).

Stafilokoklarda bulunan direnç plazmidlerinin bir kısmı, büyük plazmidlerdir. Bunlar, özellikle çeşitli ağır metal direnç genleri ve beta-laktamaz direnç geni içermektedir. Küçük olan plazmidler ise sadece bir antibiyotiğe gösterilen direnç geninden sorumludur. Örnek olarak; tetrasiklin direnç plazmidi verilebilir. Söz konusu direnç plazmidleri, stafilokoklar arasında bakteriyofaj konjugasyonu, bakteriyofajlar veya transdüksiyon ile aktarılmaktadır (Bilgehan, 2000).

Stafilokoklarda antijen özelliği gösteren çok fazla sayıda madde bulunmaktadır. Bunlardan bazılarının sınırlı da olsa pratikte pek çok önemi vardır. *S.aureus*’un hücre duvarı, 3 temel eleman taşımaktadır. Hücre duvarı peptidoglikan, teikoik asit ve protein-A (SpA)’dan oluşmuştur (Cengiz, 1999).

S. aureus'taki protein, Verwey tarafından, 1940'ta tanımlanmıştır. Protein A, *S. aureus* yüzeyinde peptidoglikana bağlı olarak yer almakta ve antijen-antikor ilişkisinden ziyade, belirli IgG sınıflarının Fc kısımlarına bağlanma özelliği bulunmaktadır. Bu madde, grup spesifik bir antijendir. Ayrıca kemotaktik, antifagositik ve anti-komplementer etki göstermektedir. Stafilocoklarda 3 tip SpA bulunmaktadır. Bunlar; hücre dışı, ortama salınan serbest ve hücreye bağlı SpA'dır. Üreme sırasında besiyeri ortamına salınan SpA, bakterinin fagositozunu önlemektedir. SpA'nın büyük kısmı, kovalan olarak peptidoglikan yapıya bağlanmıştır, bir kısmı ise hücre dışı ortama salınmaktadır (Cengiz, 1999; Bilgehan, 2000).

Normal erişkin kişilerde, belirli bir düzeye kadar, Stafilocok enfeksiyonu geçiren kişilerde ise daha yüksek seviyelerde anti-peptidoglikan antikorları oluşturmaktadır. Bunların etkisi, opsonizasyonla korumaktır. *S. aureus*'un kümeleştirici faktörü de antijenik bir özelliktir (Bilgehan, 2000).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Alınması

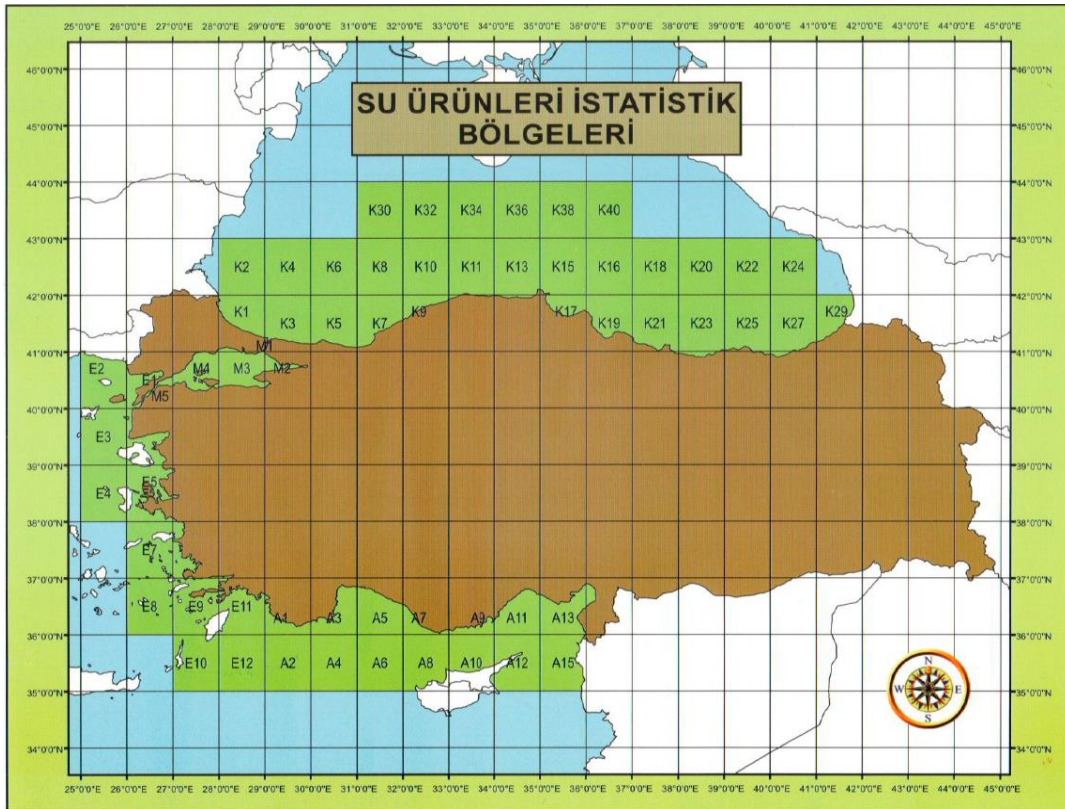
Marmara Bölgesi'nde avlanan veya çeşitli balıkçılardan temin edilen ve halka satışı yapılan taze ancak canlı olmayan toplam 119 adet istavrit ve 181 adet karides örneği (50-100 g) termobox içerisinde (+4 °C) laboratuvara getirilerek en kısa zamanda analize alınmıştır. Marmara denizinin çeşitli noktalarından temin edilen ve ağır metallerin bulunma olasılığının fazla olduğu zeminde yaşayan karides örnekleri ile Marmara denizinde sürekli yaşayan ve göçmen olmayan bir balık türü olan istavrit örnekleri seçilmiştir. Tez çalışmamız kapsamında Marmara bölgesindeki çeşitli illerden toplam 300 adet farklı balık ve karides (119 adet istavrit, 181 adet karides) örneğinde *S. aureus* prevalansı incelenmiştir.

Şehir ve İlçeleri	Numune Grubu ve Adedi		Şehir ve İlçeleri	Numune Grubu ve Adedi	
İSTANBUL	İSTAVRİT	KARİDES	İSTANBUL	İSTAVRİT	KARİDES
Adalar	37	32	Fatih	7	-
Ambarlı	14	-	Kartal	-	8
Avcılar	12	-	Maltepe	6	-
Bakırköy	-	3	Silivri	25	7
B.çekmece	3	15	Tuzla	-	14
TEKİRDAĞ	İSTAVRİT	KARİDES	BURSA	İSTAVRİT	KARİDES
Kumbağ	2	33	Gemlik	-	4
Merkez	13	25	YALOVA	İSTAVRİT	KARİDES
M.Ereğlisi	-	7	Merkez	-	33

Tablo 3-1: Örneklerin Temin Edildiği Bölgeler

2014					
EKİM		KASIM		ARALIK	
İstavrit	Karides	İstavrit	Karides	İstavrit	Karides
M-2 (0)	M-2 (5)	M-2 (3)	M-2 (3)	M-2 (0)	M-2 (3)
M-3 (3)	M-3 (0)	M-3 (19)	M-3 (6)	M-3 (3)	M-3 (12)
M-4 (2)	M-4 (3)	M-4 (0)	M-4 (7)	M-4 (0)	M-4 (0)
2015					
OCAK		ŞUBAT		MART	
M-2 (19)	M-2 (13)	M-2 (8)	M-2 (27)	M-2 (14)	M-2 (33)
		M-3 (23)	M-3 (11)	M-3 (0)	M-3 (0)

Tablo 3-2: 2014-2015 yılları arasında temin edilen numune listesi



Şekil 3-1: Su Ürünleri İstatistik Bölgeleri (BGSM, 2013)

3.2. Yöntem

3.2.1. *S.aureus*'un Kültürel Yöntemler ile İzolasyon ve İdentifikasyonu

Soğuk zincir kullanılarak laboratuvara getirilen balık ve karides örneklerinden 10 g tartılarak üzerine 90 ml (1/9 oranında) Brain Heart Infision Broth (Oxoid CM 038) eklenerek 37 °C'lik etüvde 18-24 saat inkübe edilmiştir.

3.2.2. Mannitol Salt Agar'da (MSA) Gelişim

Mikroorganizmaların sayımı için, Mannitol Salt Agar (MSA) besiyeri kullanılmıştır. Plaklar 37 °C'de 36-48 saat inkübe edildikten sonra oluşan koloniler sayılmıştır. *S. aureus* sayısını belirlemek amacıyla MSA besiyerinde oluşan parlak sarı haleli koloniler tahmini koagulaz-pozitif *Staphylococcus*, kırmızı ya da mor haleli koloniler ise koagulaz-negatif tipler olarak değerlendirilmiştir (Anonim, 1968). BHI brotta 18-24 saat inkübasyondan sonra izolasyonda kullanılan diğer bir besiyeri olan Mannitol Salt Agar'a (MSA, Oxoid CM 0085) 37 °C'de 24 saat inoküle edilmiştir. Besiyerindeki mannitol fermentasyonu sonucunda, pH değişerek fenol kırmızısı ayırıcın rengi kırmızıdan sarıya dönen koloniler şüpheli *S. aureus* suşları olarak değerlendirilmiştir. *S. aureus* kolonilerinin gelişiminin incelenmesi, şüpheli pozitif ya da yanlış pozitif suşların ilk aşamada eliminasyonuna olanak sağlamış ve bu işlem sonrasında şüpheli *S. aureus* suşlarının diğer biyokimyasal testler ile tanımlanması işlemine geçilmiştir.

3.3. Morfolojik, Biyokimyasal ve Serolojik Tanımlama

3.3.1. Triptik Soy Agar'da Sıfık Kontrolü

İzolasyonu yapılan şüpheli *S. aureus* suşları, tanımlama yapılmadan hemen önce Tryptic Soy Agar'a (Oxoid, CM 0131) geçilmiş 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Ardından inkübasyon sonrası gelişen saf *S. aureus* kolonileri biyokimyasal tanımlama işlemi amacıyla kullanılmıştır

3.3.2. Gram Boyama

Stafilokok olduğu düşünülen ve saflaştırılan bakteriler Hucker's Gram boyama tekniği ile boyanmıştır. Bu amaçla lam üzerinde %0,9 NaCl içerisinde çözündürülen bakteriler ateşte fikse edildikten sonra 1 dakika kristal viyole yıkamayı takiben 1 dakika iodine ve 15 saniye %95 etanol ile muamele edilmiştir. Kontur boyaması için 30 saniye safranin içerisinde bekletilmiştir. Mikroskop altında 100x objektifte bakterilerin renkleri

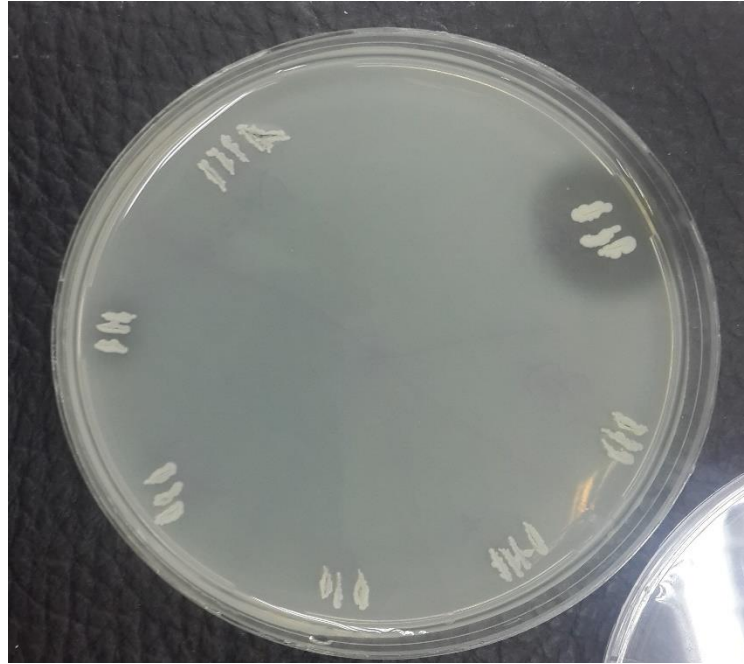
ve morfolojileri incelenmiştir. Stafilokoklar Gram pozitif (viyole renkte) ve kok morfolojisinde olduğu görülmüştür.

3.3.3. Katalaz Testi

TSA besiyerinde üretilen taze (18-24 saatlik) bakteri kültüründen alınmış birkaç koloni temiz bir lam üzerinde birkaç damla %3'lük H₂O₂ ile karıştırılmıştır. Gaz oluşumu (O₂ çıkışı) gözlenen stafilokok izolatları, katalaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Koneman 1983).

3.3.4. DNaz Testi

S. aureus suşları, DNaz enzimi üretmekte ve koloni etrafındaki DNA'yı yapısal birimleri olan nükleotidlerine parçalamaktadır. Bu amaçla öncelikle şüpheli koloniler DNaz agara (Oxoid CM 321) öze yardımıyla inoküle edilerek ve 37 °C'de, 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası petri yüzeyini kaplayacak biçimde, 1N HCl ilave edilerek DNA'nın HCl ile muamelesi sonrası presipitasyon varlığı incelenmiştir. Sonuç olarak DNA'nın mikroorganizmalar tarafından kullanılmayan bölgeleri mat, *S. aureus* tarafından bakteri DNaz enzimi sayesinde DNA'nın parçalandığı bölgelerde şeffaf zonlar gözlenerek bu sonucu veren koloniler (Şekil 3-1) DNaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Oxoid Manual, 2008).



Şekil 3-1: DNaz Pozitif Koloniler

3.4. İzole Edilen Suşların Moleküler Biyolojik Yöntemler ile Tanımlanması

S. aureus, glukoz, mannitol ve farklı yapıdaki şekerleri fermente edebilmektedir. Mannitol'ün sadece *S. aureus* tarafından parçalanıp ve koagülaz negatif stafilokoklar tarafından parçalanmaması ayırt edici bir özellik olarak görülmektedir (Baird-Parker, 1965).

Koagülaz üretimi, patojen *S. aureus* izolatlarının önemli bir kriteri olmakla birlikte kesin belirleyici bir faktör değildir. Çünkü, koagülaz negatif *S. aureus* izolatlarının da olduğu bildirilmektedir (Erol, 2007). Bu sebeple çalışmamızda genomik Dna izolasyonu yaparak PCR yöntemi ile gen doğrulama yapılmıştır.

3.4.1. Genomik DNA İzolasyonu

Stafilokoklardan genomik DNA izolasyonu daha önce belirtilen protokol kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Sudagidan ve ark., 2008). Bu amaçla 5 ml TSB içerisinde 37 °C'de 16 saat üretilen bakterilerden 200 ml alınarak santrifuj ile (10,000 x rpm 5 dakika) çöktürülür ve daha sonra 45 ml steril deiyonize su ile çözündürülüp 15 µl lizostafin (100 mg/ml, Sigma) eklenerek 37 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Bunu takiben 15 ml proteinaz K (100 mg/ml, Sigma) ve 150 ml 0.1 M Tris/HCl (pH 7.5) eklenerek 37 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Son olarak örnekler 5 dakika kaynatılarak ve PCR çalışmaları için -20 °C'de saklanmıştır.

3.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile Tanımlama

Biyokimyasal testler sonucunda stafilokok ve *S. aureus* olduğu düşünülen izolatlar daha sonra moleküler yöntemlerle tür düzeyinde tanımlanmıştır. Bu amaçla *S. aureus* suşlarının tanımlanmasında üç genin varlığı PCR yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Bu genler termonükleaz aktivitesinden sorumlu *nuc* geni, koagülaz aktivitesinden sorumlu *coa* geni ve *S. aureus* yüzey "protein A" üretiminden sorumlu *spa* genidir. Araştırmamızda *nuc* geni tespitine yönelik Sudağidan ve Aydın (2008) tarafından önerilen, *coa* geni tespitine yönelik (Hookey ve ark., 1998) tarafından önerilen ve *spa* geni için Aires-de-Sousa ve ark. (2006) tarafından önerilen primer dizileri kullanılmıştır.

3.4.2.1. *nuc* (Termonukleaz aktivitesinden sorumlu) Geni Tespiti

Ekstrasellular termostabil nükleaz enzimi, koagulaz pozitif stafilokokların % 98-100'ü tarafından üretilmektedir (Erol, 2007). Bu nedenle identifikasyonda söz konusu genin varlığının araştırılması önem taşımaktadır. Araştırmamızda *nuc* geni tespitine yönelik, Sudağıdan ve Aydın (2009) tarafından önerilen primer dizisi kullanılmıştır.

nuc geni primer dizileri:

Forward primer: 5'-GGCAATTGTTTCAATATTAC-3'

Revers primer: 5'-TTTTATTTGCATTTTCTACC-3'

Öncelikle 0,2'lik PCR tüplerine bakterilerin genomik DNA'ları yerleştirilmiş ve sonrasında hazırlanan master mix (her bir örnek için 5 µl (NH₄)₂SO₂ içeren 10x reaksiyon tamponu, 3 µl MgCl₂ (25mM), 30 µl dH₂O, 1 µl forward primer (10mM), 1 µl revers primer (10mM), 5 µl dNTP (2 mM her bir nükleotitten olacal şekilde), 1.5 U [(*Taq* DNA polimeraz) (Fermentas, E 0402)] solüsyonundan 45 µl içinde 5 µl genomik DNA bulunan PCR tüpüne yerleştirilmiştir. Total olarak 50 µl karışım içeren PCR tüpleri Thermal cycler'a yerleştirilmiş ve *nuc* genine ait aşağıda belirtilen protokol uygulanmıştır.

nuc PCR koşulları (amplikon büyüklüğü 416 bp):

Başlangıç denaturasyon	94°C	2 dakika	} 40 döngü
Denaturasyon	94°C	30 saniye	
Bağlanma	48°C	30 saniye	
Uzama	72°C	45 saniye	
Son uzama	72°C	7 dakika	

3.4.2.2. *coa* (koagulaz aktivitesinden sorumlu) Geni Tespiti

nuc geni tespit edilen tüm *S. aureus* izolatlarında *coa* ve *spa* genlerinin varlığı da araştırılmıştır. *S. aureus* izolatlarının büyük bölümünün koagulaz aktivitesi mevcuttur. *coa* geninin boyutları sabit olmayıp 500-650 bp arasında bandlar görülebilmektedir (Hookey ve ark., 1999). *coa* geni tespiti amacıyla aşağıda yer alan primerler ve protokol kullanılmıştır.

coa geni primer dizileri:

Forward primer: 5'-ATAGAGATGCTGGTACAGG-3'

Revers primer: 5'-GCTTCCGATTGTTTCGATGC-3'

coa PCR koşulları (band görülme aralığı 500-650 bp):

Başlangıç denaturasyon	94 °C, 45 saniye	}	40 döngü
Denaturasyon	94 °C, 20 saniye		
Bağlanma	57 °C, 15 saniye		
Uzama	72 °C, 15 saniye		
Son uzama	72 °C, 2 dakika		

3.4.2.3. *spa* (protein A) Geni Tespiti

S. aureus'un tiplendirilmesinde *spa* geninin varlığı önem taşımakta olup çalışmamızda tüm *S. aureus* izolatlarında protein A geni varlığı da incelenmiştir. *Spa* geninin boyutları sabit olmayıp 100-450 bp arasında bandlar görülebilmektedir (Aires-de-Sousa ve ark., 2006).

spa primer dizisi:

spa-1113f 5'-TAA AGA CGA TCC TTC GGT GAG C-3'

spa-1514r 5'-CAG CAG TAG TGC CGT TTG CTT-3'

spa PCR koşulları (band görülme aralığı 100-450 bp):

Başlangıç denaturasyon	80 °C, 5 dakika	}	35 döngü
Denaturasyon	94 °C, 45 saniye		
Bağlanma	60 °C, 45 saniye		
Uzama	72 °C, 90 saniye		
Son uzama	72 °C, 10 dakika		

3.4.3. Ağır Metal Direnç Genlerinin Tespiti

Balık ve karides örneklerinden izole edilen ve PCR yöntemi ile doğrulanan *S. aureus* suşlarında kadmiyum, bakır, civa, gibi ağır metallere direnç genlerinin varlığı Tablo 3-2 'de gösterilen primer dizileri kullanılarak PCR yöntemi ile araştırılmıştır.

Gen	Primer Dizisi	bp
cadD-fw2 cadD-rv	5-TGCTAGAGCAAAGACTAGGAAAGA-3 5-AGCCATAATCCAACGACCAA-3	460 bp
cadX-fw cadX-rv	5-TGCTTGTGATGTGATCTGTGT-3 5-TGATGTGAAGTTGAAGCAACAC-3	213 bp
copA-fw copA-rv	5-CATGCTTTAGGCTTGGCAAT-3 5-TCTTCTGGCATGAGTTGTGC-3	662 bp
mco-fw mco-rv	5-TCCCTCCCAAATACAGCTA-3 5-GTTCCGTGGATATGGAATGG-3	699 bp
MER-TF MER-TR	5-ATGTACCTTAACCAAAGAATA-3 5-TTATCTTGTCTCATGTTCCG-3	387 bp
MRA F MR2A2	5- ATGAAAAATATTTTCAGAATTCTC-3 5- ATTAAATGTTACAACAGGACC-3	698 bp
MRB F MRB R	5- ATGAAAAATATTTTCAGAATTCTC-3 5- ATTAAATGTTACAACAGGACC-3	652 bp
czrC-1 czrC-2	5- CTCGGGCCCCGATCATCCATACTG-3 5-GTCCCCGGGTCAATCGATTCGTTTCATT ATTTAG-3	2.8 kb
czrC-3 czrC-4	5-TAGCCACGATCATAGTCATG-3 5-ATCCTTGTTTTTCCTTAGTGA-3	665 bp

Tablo 3- 2: Ağır Metal Direnç Genlerinin Tespitinde Kullanılan Primer Dizileri

3.5. Ağır Metal Geni Tespit Edilen Örneklerde İlgili Ağır Metal Düzeylerinin ICP-MS İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) Yöntemi ile Araştırılması

Ağır metal direnç geni tespit edilen *S. aureus* suşlarının izole edildiği balık ve karides örneklerinde ilgili ağır metal düzeylerinin tespiti İstanbul Çevre Gıda Analiz Laboratuvarı'nda ICP MS 7700x Agilent (Seri No: JP10030221) cihazı kullanılarak yapılmıştır.

Son yıllarda teknolojinin gelişmesi sonucu, endüstri ve sanayi atıkları ile kentsel atıkların bulunduğu kanalizasyon sularının boşaltıldığı nehir ve göller kirlenmekte, sucul ortamda yaşayan canlı organizmaların hayatı tehdit edilmektedir. Sulardaki anorganik kirlenmenin en önemli kaynağını ağır metaller oluşturur. (Tümen ve ark., 1992). Gıdalar vücudumuz için gerekli temel ve toksik elementlerin alındığı birincil kaynaktır. Gıdalarda bulunan toksik elementler vücutta metabolize edilemediklerinden ve yumuşak dokularda biriktiklerinden, sağlık açısından ciddi risk oluşturabilmektedirler. Bu nedenle, bu elementlerin tükettiğimiz gıda maddelerindeki düzeyinin düzenli olarak kontrol edilmesinde yarar vardır. Günümüzde bu amaca yönelik olarak atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS), indüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektrometresi (ICP-AES), indüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) ve indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) kullanılmaktadır. ICP-MS'in bunlar içerisinde gerek düşük tespit sınırlarına inebilmesi gerekse de geniş bir dinamik aralıkta çalışma imkanı sunması nedeniyle kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (Nardi ve ark., 2009).

ICP-MS sistemi ile gıda örneklerindeki element derişimleri son derece kısa sürede, güvenilir ve hassas bir şekilde belirlenebilmektedir. Çok sayıda element için milyarda bir (ppb) ve daha düşük seviyelerden milyonda bir (ppm) seviyelerine kadar geniş bir aralıkta analiz mümkün olmaktadır.

4. BULGULAR

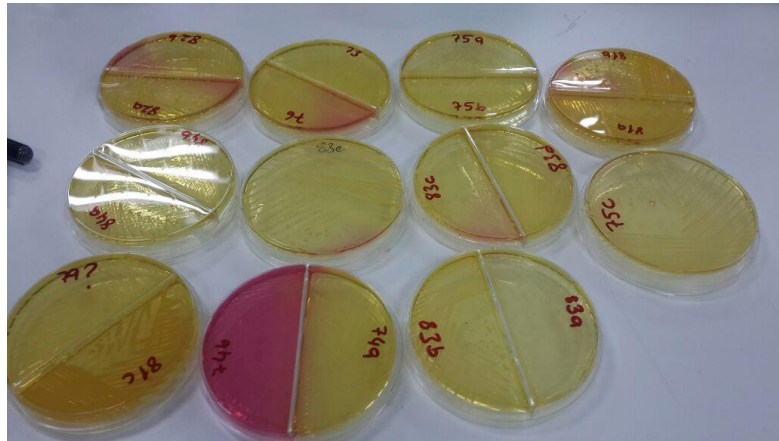
4.1. İstavrit ve Karideslerden İzole Edilen *S.aureus* Sayıları

Tez projemiz kapsamında 2014 ve 2015 yılları arasında Marmara Denizinin muhtelif bölgelerinden temin edilen 119 adet istavrit ve 181 adet karides örneği soğuk zincir korunarak laboratuvara ulaştırılmıştır. Toplam 300 adet numune kültürel yöntemler kullanılarak 50 adet *S. aureus* şüpheli suş izole edilmiştir. İzolatlar moleküler biyolojik yöntemler kullanılarak doğrulanmıştır. Moleküler biyolojik doğrulanma aşamasında PCR ile *nuc*, *coa* ve *spa* genlerinin varlığı araştırılmıştır. PCR ile belirtilen genlerin varlığı 50 adet suşun 34'ünde (16 istavrit, 18 karides) (% 66) doğrulanmıştır. Diğer 250 örnekte ise söz konusu bakteri izole edilememiştir. Buna göre laboratuvarında analiz edilen örneklerde *S.aureus* bulunma oranı % 11,3 (n:300) olarak tespit edilmiştir.

4.2. PCR Doğrulama Sonuçları

4.2.1. *nuc*, *coa* ve *spa* Genlerinde PCR Bulguları

MSA'da pozitif olarak tespit edilen *S.aureus* suşları (Şekil 4-1), biyokimyasal doğrulamalar neticesinde *nuc*, *coa* ve *spa* genlerinin tespiti için PCR'da görüntüleri alınmıştır. 300 örnekten izole edilen 50 suşun 34 adedinde (16 istavrit, 18 karides) *nuc*, *coa* ve *spa* genlerinin varlığı tespit edilmiştir. 34 adet *S.aureus* suşunun bölgelere göre dağılımı tablo 4-1'de verilmiştir.

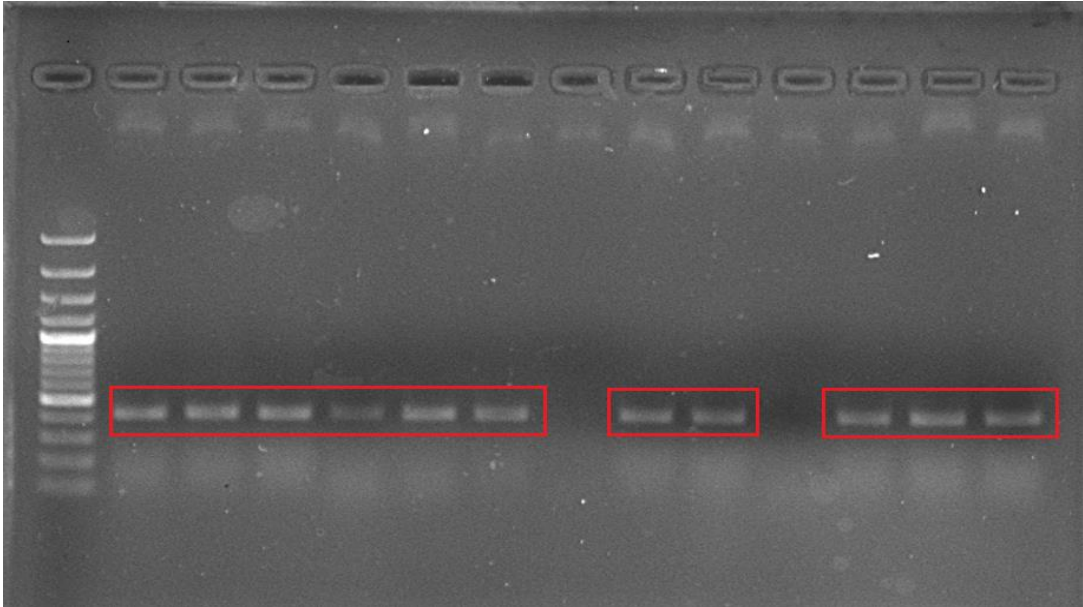


Şekil 4-1: MSA'da pozitif ve negatif *S.aureus* görüntüleri

Bölgeler	Numune Grubu ve Adedi		BÖLGELER	Numune Grubu ve Adedi	
	İSTAVRİT	KARİDES		İSTAVRİT	KARİDES
M2-M3-M4	İSTAVRİT	KARİDES	M2-M3-M4	İSTAVRİT	KARİDES
M2 (Adalar)	4	14	M3 (Fatih)	2	-
M4 (Silivri)	5	-	M2 (Maltepe)	5	1
M4 (Kumbağ)	-	1	M3 (B.çekmece)	-	2

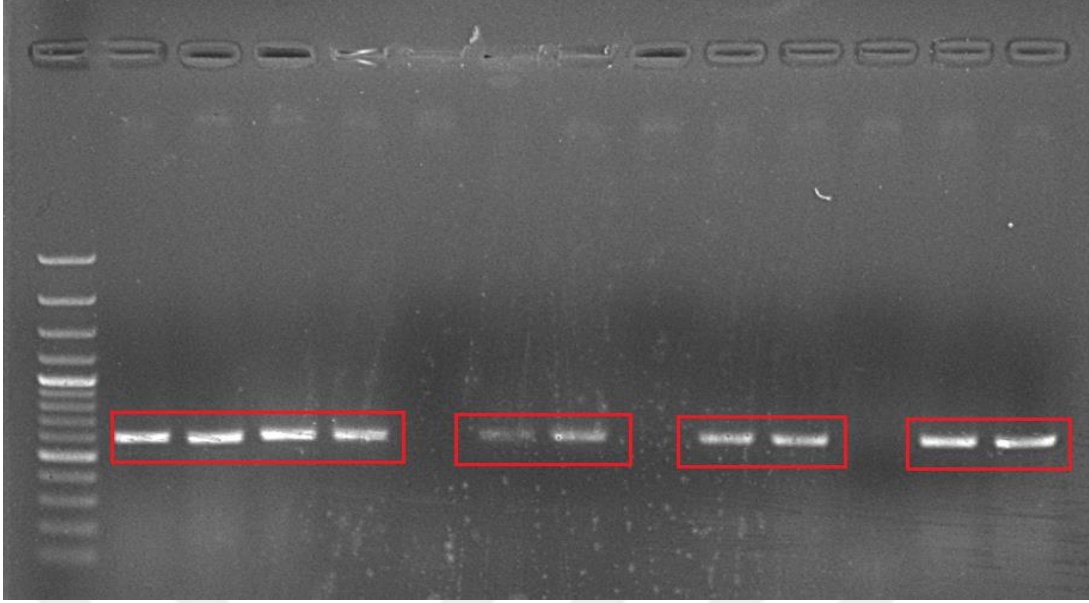
Tablo 4-1 : Numunelerin PCR ve ICP-MS Sonuçları

Tespit edilen *S.aureus* suşlarına ait genlerin PCR jel görüntüleri aşağıda gösterilmiştir.



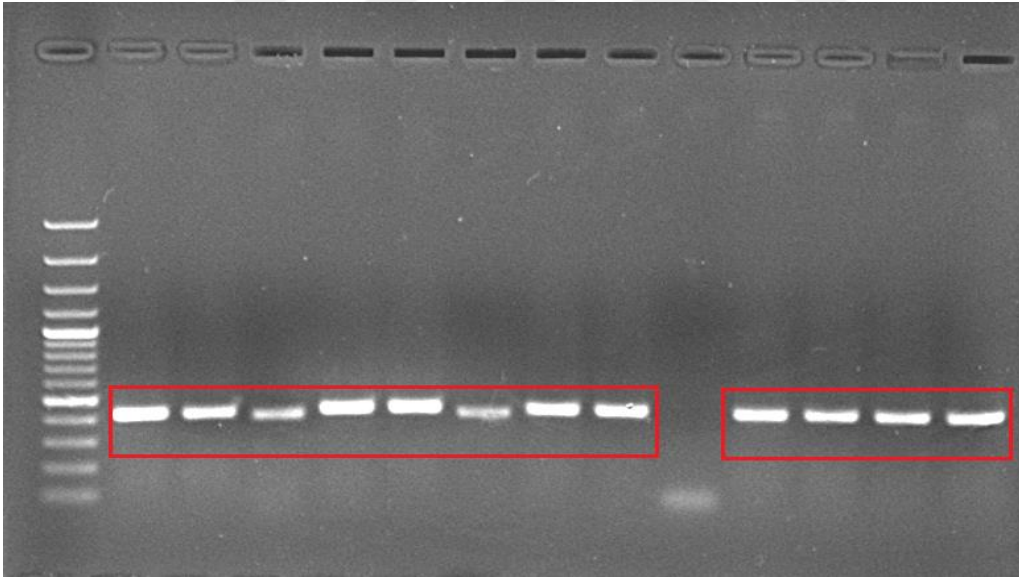
Şekil 4-2: Örneklerin nuc (416 bp) Geni için Pozitif Agaroz Jel Görüntüsü

Jel soldan itibaren; Sıra 1, DNA ladder; 2, nuc25; 3, nuc26; 4, nuc27; 5, nuc28; 6, nuc29; 7, nuc30; 9, nuc32; 10, nuc33; 12, nuc35; 13, nuc36; 14, nuc37.



Şekil 4-3: Örneklerin *coa* (500-600 bp) Geni İçin Pozitif Agoroj Jel Görüntüsü

Jel soldan itibaren; Sıra 1, DNA ladder; 2, *coa25*; 3, *coa26*; 4, *coa27*; 5, *coa28*; 7, *coa30*; 9, *coa31*; 11, *coa33*; 12, *coa34*; 13, *coa36*; 14, *coa37*.

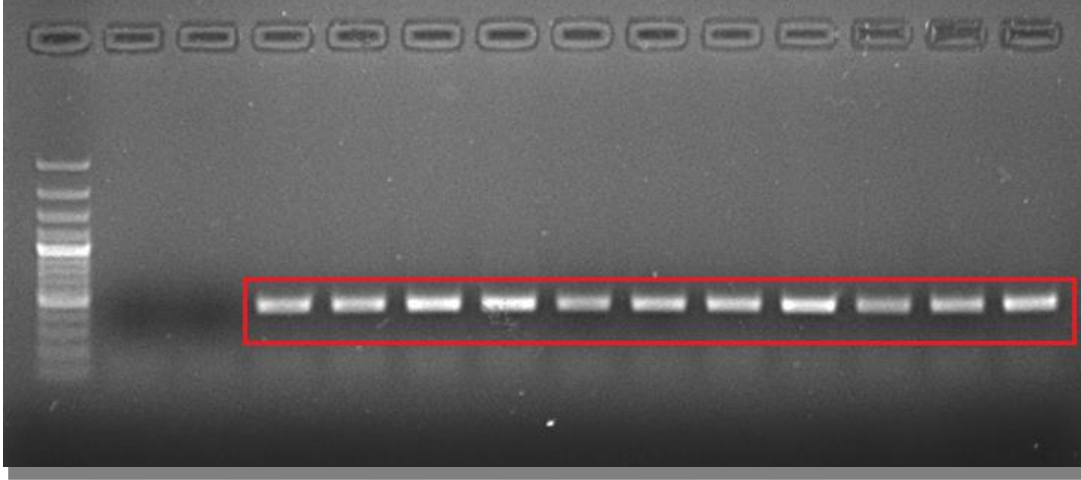


Şekil 4-4: Örneklerin *spa* (100-450 bp) Geni için Pozitif Agaroj Jel Görüntüsü

Jel soldan itibaren; Sıra 1, DNA ladder; 2, *spa26*; 3, *spa27*; 4, *spa28*; 5, *spa29*; 6, *spa30*; 7, *nuc31*; 8, *spa32*; 9, *coa33*; 11, *coa34*; 12, *coa35*; 13, *coa36*; 14, *coa37*.

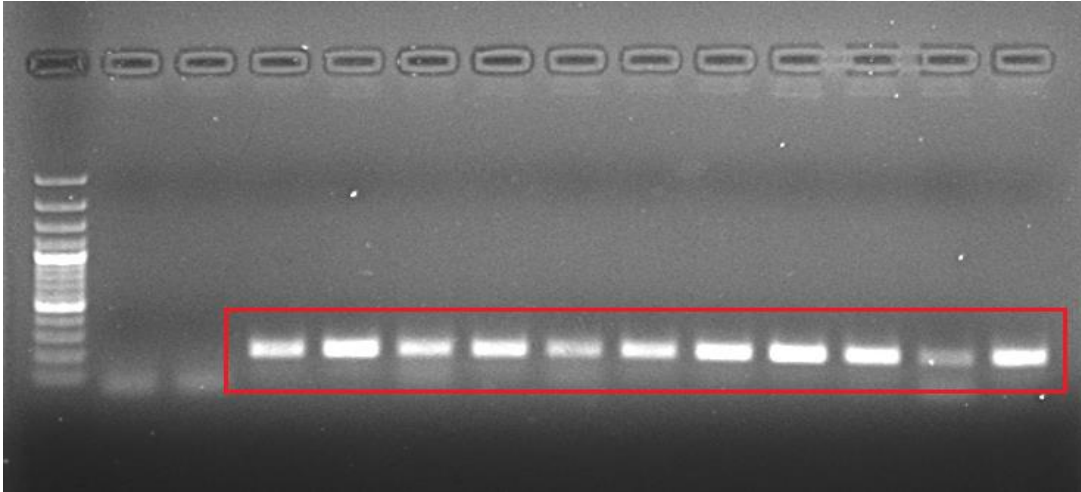
4.2.2. Ağır Metal Direnç Genleri Bulguları

Tespit edilen *S.aureus* suşlarına ait genlerin PCR agaroz jel görüntüleri aşağıda gösterilmiştir.



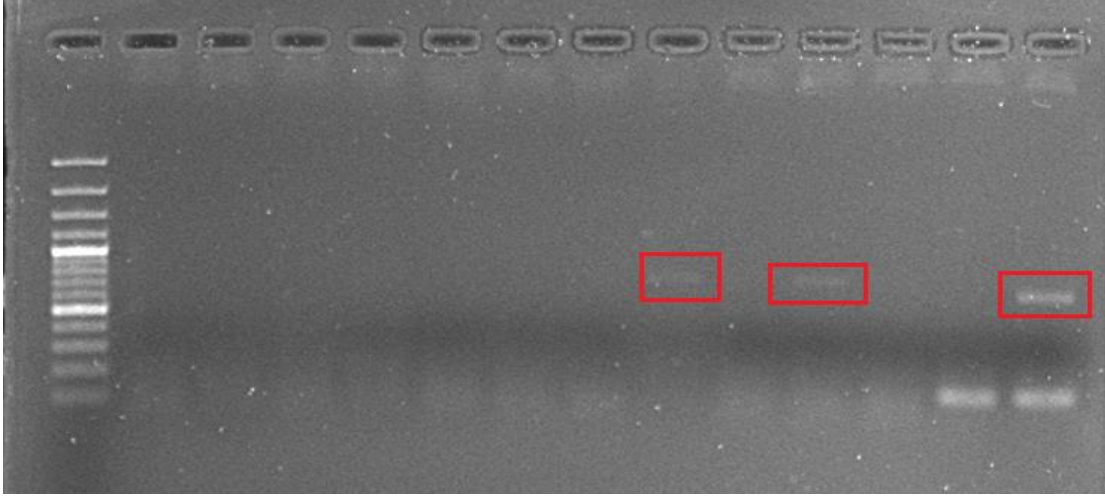
Şekil 4-5: Örneklerin *cadD* (460b p) Geni İçin Pozitif Agaroz Jel Görüntüsü

Jel soldan itibaren; Sıra 1, DNA ladder; 4, *cadD24*; 5, *cadD25*; 6, *cadD26*; 7, *cadD27*; 8, *cadD29*; 9, *cadD30*; 10, *cadD32*; 11, *cadD33*; 12, *cadD35*; 13, *cadD36*; 14, *cadD37*.



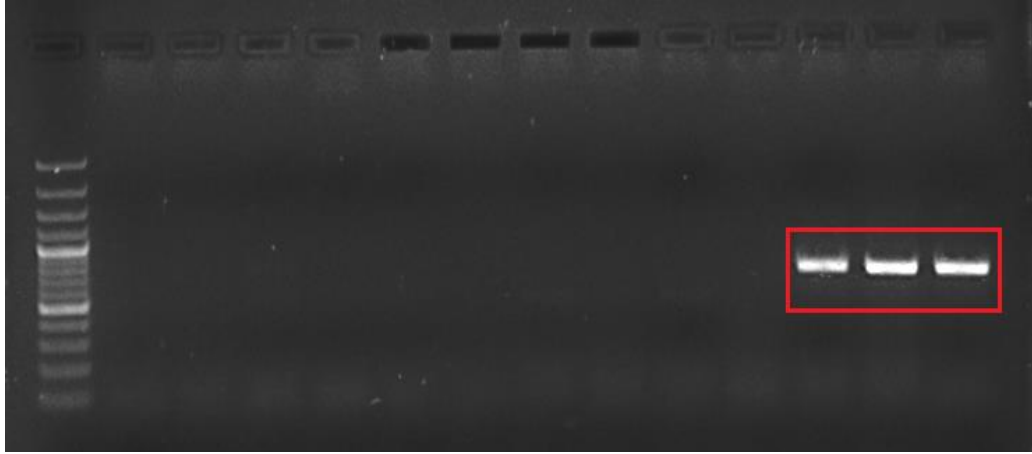
Şekil 4-6: Örneklerin *cadX* (213b p) Geni için Pozitif Agaroz Jel Görüntüsü

Jel soldan itibaren; Sıra 1, DNA ladder; 4, *cadX24*; 5, *cadX25*; 6, *cadX26*; 7, *cadX27*; 8, *cadX29*; 9, *cadX30*; 10, *cadX32*; 11, *cadX33*; 12, *cadX35*; 13, *cadX36*; 14, *cadX37*.



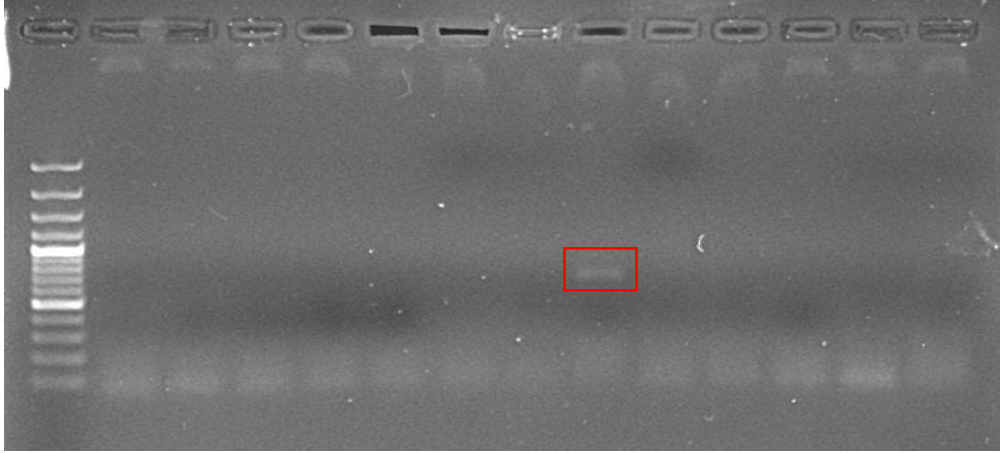
Şekil 4-7: Örneklerin *copA* (663 bp) Geni İçin Pozitif Jel Görüntüsü

Jel soldan itibaren; Sıra 1, DNA ladder; 9, *copA14*; 11, *copA16*; 14, *copA19*.



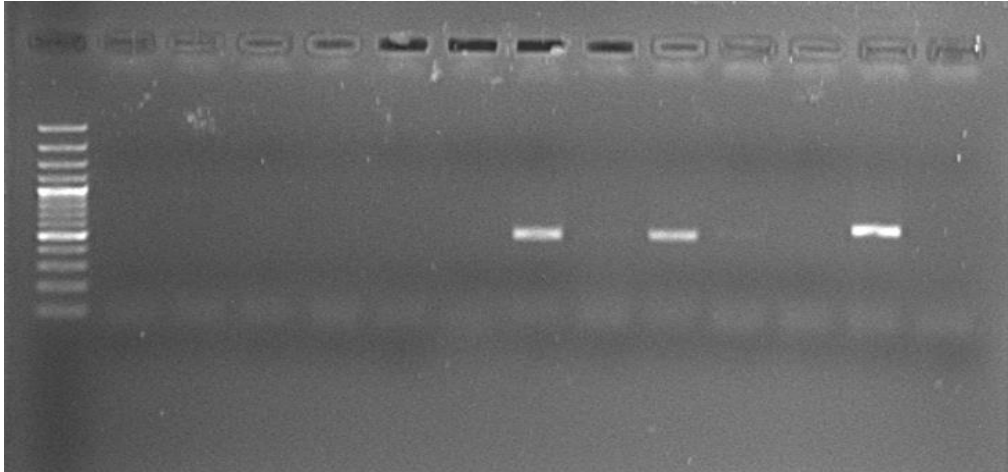
Şekil 4-8: Örneklerin *mco* (699 bp) Geni İçin Pozitif Agaroz Jel Görüntüsü

Jel soldan itibaren; Sıra 1, DNA ladder; 12, *mco18*; 13, *mco19*; 14, *mco21*.



Şekil 4-9: Örneklerin *merB* (652bp) Geni İçin Agaroz Jel Görüntüsü

Jel soldan itibaren; Sıra 1, DNA ladder; 9, *merB10*.



Şekil 4-10: Örneklerin *merT* (387bp) Geni İçin Agaroz Jel Görüntüsü

Jel soldan itibaren; Sıra 1, DNA ladder; 8, *merT9*; 10, *merT11*; 13, *merT13*.

4.3. Ağır Metal Geni Tespit Edilen Örneklerde İlgili Ağır Metal Düzeylerinin ICP-MS İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) Yöntemi ile Analizi

Analizler EN 15763:2009 (Foodstuffs - Determination of trace elements - Determination of arsenic, cadmium, mercury and lead in foodstuffs by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after pressure digestion) ve AOAC 999.10- Lead, Cadmium, Zinc, Copper and Iron in Foods 2008 methoduna göre İstanbul Çevre Analiz ve Gıda Laboratuvarı'nda kullanılan ICP-MS cihazı kullanılarak yapılmıştır. Analizlere başlanmadan önce uygun çalışma parametreleri seçilmiş ve daha önceden hazırlanmış kalibrasyon standardına göre cihaz kalibre edilmiştir.

Analizi yapılan numunelerdeki ağır metal konsantrasyonları cihaza hesaplatılmış ve sonuçlar cihazdan mg/kg şeklinde hesaplanmış olarak cihaz çıktısı şeklinde alınmıştır. Analiz sonuçları Tablo 4-1' deki gibidir. Türk Gıda Kodeksi'ne göre seçili su ürünlerinde bulunan ağır metallerin maksimum limit değerleri ise Tablo 4-2'de verilmiştir.

Numune No	Temin Edildiği Bölge	Örnek Cinsi	Tespit Edilen Genler	Tespit Ağır Metal Direnç Genleri	ICP-MS Sonuçları (mg/kg)
3 – 33c	M3	Istavrit	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd: <0,015
4 – 34c	M3	Istavrit	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd: 0,02
9 – 84a	M2	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd: <0,05
10 – 85a	M2	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd: 0,015
12 – 97b	M2	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd: <0,015
13 – 99a	M2	Istavrit	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd: 0,015, Hg: <0,05, Zn: 13,4, Cu: 1,01
14 – 99b	M2	Istavrit	nuc, coa, spa,	cadX, cadD, copA,	Cd: 0,015, Hg: <0,05, Zn: 13,4, Cu: 1,01
15 – 100a	M2	Istavrit	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd: <0,015, Zn: 14,5
16 – 102	M2	Istavrit	nuc, coa, spa,	cadX, cadD, copA,	Cd: <0,015
17 – 103	M2	Istavrit	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd: <0,015, Zn: 12;4
18 – 118b	M2	Istavrit	nuc, coa, spa,	mco	Cu : 1,14
19 – 119b	M2	Istavrit	nuc, coa, spa,	copA, mco	Hg: <0,05, Cu: 0,86
21 – 132	M3	Karides	nuc, coa, spa,	mco	Cu: 14,09
23 – 135	M3	Karides	nuc, coa, spa,	mco	Cu: 10,02
24 – 140a	M3	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd: 0,036
25 – 141a	M2	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD, mco	Cd: <0,015, Cu: 2,96

26 – 142b	M2	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd: 0,022
27 – 143a	M2	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd : 0,036
29 – 146	M2	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd : 0,019
30 – 147a	M2	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd : 0,022
32 – 149b	M2	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd : <0,015
33 – 150a	M2	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd : <0,015
35 – 153b2	M2	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd : <0,015
36 – 154a	M2	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd : <0,015
37 – 155b	M2	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd : <0,015
38 – 156a	M2	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd : <0,015
41 – 170b	M4	Karides	nuc, coa, spa,	cadX, cadD, mco	Cd : <0,015, Cu : 3,03
44 - 214c	M4	Istavrit	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd : <0,015
45 – 215b	M4	Istavrit	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd : <0,015
46 – 216a	M4	Istavrit	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd : <0,015
47 – 219	M4	Istavrit	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd : <0,015
48 – 221	M4	Istavrit	nuc, coa, spa,	cadX, cadD, mco	Cd : <0,015, Cu : 0,6
49 – 293b	M2	Istavrit	nuc, coa, spa,	cadX, cadD,	Cd : <0,015, Hg : <0,05, Cu : 0,85
50 – 297b	M2	Istavrit	nuc, coa, spa,	cadX, cadD, copA, mco	Cd : <0,015, Hg : <0,05, Cu : 0,86

Tablo 4-2: Numunelerin PCR ve ICP-MS Sonuçları

NUMUNE CİNSİ	AĞIR METAL	MAKSİMUM LİMİT(mg/kg)
BALIKLAR	Kadmiyum	0,10
	Civa	0,50
	Kurşun	0,30
İSTAVRİT	Kadmiyum	0,10
	Civa	Belirtilmemiş
	Kurşun	Belirtilmemiş
KAFADAN BACAĞILAR (KARİDES)	Kadmiyum	1,00
	Civa	0,50
	Kurşun	1,00

Tablo 4-3: Türk Gıda Kodeksine Verilerine Göre Seçili Su Ürünlerindeki Maksimum Ağır Metal Seviyeleri

5. TARTIŞMA

Dünyada balık ve su ürünlerine talep giderek artmaktadır (Feldhusen, 2000). Buna bağlı olarak, balık ve deniz ürünleri kaynaklı hastalıkların, gıda kaynaklı salgınlarla ilgili yiyecekler listesinde üst sıralarda olduğuna dair önemli veriler bulunmaktadır (Huss, 1997). Deniz mahsullerinin protein bakımından zengin olması ve düşük molekül ağırlıklı peptitlere ve amino asitlere parçalanmaları *S. aureus* gibi patojen bakterilerin gelişimini desteklemektedir .

S. aureus insanlarda ve hayvanlarda çok sayıda enfeksiyona neden olabilen, ortam şartlarına oldukça dayanıklı ve çevresel kaynaklarda yaygın olarak bulunan bir mikroorganizmadır. Stafilokokal gıda zehirlenmesi, dünyadaki en yaygın gastroenterit nedenlerinden biri olarak bilinmektedir (Jablonski, 2001).

Bu araştırma kapsamında Marmara Denizi'nden avlanan istavrit (*Trachurus trachurus*) ve karides (*Parapenaeus longirostris*) balıklarının oluşturduğu toplam 300 adet numunenin incelenmesi sonrasında 34 (% 11,6) adet numunede *S.aureus* tespit edilmiştir. Söz konusu *S. aureus* suşları, Marmara Denizinin M-2, M-3, M-4 bölgesi kaynaklı olup, 2014-2015 yılları arasında avlanan istavrit ve karides numunelerinden izole edilmiştir.

Birçok araştırmacı deniz ürünlerinde *S. aureus'un* insidensi hakkında çalışmalar yapmıştır. Ayulo ve ark. (1994) karideslerden izole ettiği *S. aureus* prevalansını yüzdesi % 7 olarak bildirmişlerdir. Bir diğer çalışmada, balıklarda *S. aureus* yüzdesi % 8 olarak belirtilmiştir (Jay, 1986). Rodma ve ark. (1991) ise karideslerde % 7, dondurulmuş mürekkep balıklarında % 4, balıklarda da % 4 oranında *S. aureus* tespit etmiştir. İlave olarak araştırmacılar, inceledikleri 175 adet deniz ürünü numunesinde *S. aureus* prevalansını % 20 olarak tespit etmişlerdir. Bu sonuca göre elde ettikleri pozitif *S. aureus* suş sayısının 35 olduğunu ifade etmişlerdir. Analize aldıkları çeşitli deniz ürünleri içerisinde sadece 1 adet karideste *S. aureus* saptamışlardır. *S. aureus* pozitif balıkların numune sayısı ise 6'dır. Diğer taraftan, Atwa (2017) ise 80 balık örneği ile yaptığı çalışmada *S. aureus* prevalansını % 12,5 olarak bildirmektedir. Saito ve ark. (2011) ise yaptığı çalışmada perakende balık örneklerinde *S. aureus'un* izolasyon oranını (% 19,6; 41/209) olarak tespit etmiştir. Çeşitli deniz ürünleri ile yapılan bir çalışmada ise, incelenen 51 adet küçük karides örneğinde *S. aureus* prevalansı % 5,9 olarak saptanmıştır

(Foster ve ark 1977). Abeyta ve ark. (1983) ise Seattle bölgesinden incelenen deniz ürünlerinin % 37,6'sında, *S. aureus* bulmuştur. İlave olarak araştırmacılar, inceledikleri 17 soyulmuş karides numunesinin 11 adedinde (% 64,7), 18 adet soyulmamış karidesin numunesinin 4'ünde (% 22,2), balık numunelerinin ise 60'ında (% 38,7; 60/155) *S.aureus* pozitif suşu tespit etmişlerdir.

Sanjeevand Iyer (1988) balık işleme tesisinde çalışan personelin avuç içi ve boğazlarından aldığı örneklerde yüksek oranda *S. aureus* suşuna rastladığını bildirmektedir. Buna karşın, Basti ve ark. (2006) ise Sanjeevand Iyer (1988)'in yaptığı çalışmaya anti tez olarak *S. aureus*'un gerek yeni yakalanmış deniz ürünlerinin kendi doğal mikrofloralarında ve gerekse işlem görmüş deniz ürünlerinde bulunmayacağını, eğer var ise sebebinin hijyenik olmayan koşullar ile kötü personel hijyeni olduğunu ileri sürmüşlerdir. İlave olarak araştırmacıların dayandığı bir diğer nokta, deniz ürünlerinin doğal mikroflorasında *S. aureus* bulamamış olamamalarıdır (Basti ve ark 2006). Sanjeev ve ark. (1986) ise dondurulmuş balıkçılık ürünlerinde % 68 oranında ve balık ve kabuklu deniz hayvanlarında % 8 oranında *S. aureus* tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, Basti ve ark.'na (2006) benzer şekilde taze yakalanmış deniz mahsullerinin *S. aureus* içermediğini ve kullanım sırasında kirlenmenin gerçekleştiği belirtmiştir. Ancak yaptığımız çalışmada *S. aureus* olduğu doğrulanan suşlarda moleküler biyolojik yöntemler ile ağır metal direnç genleri varlığı kanıtlanması ve incelenen örneklerde de söz konusu ağır metallerin tespiti, Basti ve ark.'nın (2006) iddialarını çürütür niteliktedir. Buna göre elde edilen sonuçlar; personel hijyeni ve kirlilik dışında da deniz ürünlerinin bünyesinde *S. aureus* varlığını ortaya koymaktadır.

Birçok bilim insanı, çok sayıda mikroorganizmanın çeşitli metallerin varlığında gelişimlerini devam ettirebildiğini bildirmektedir (Bruins ve ark., 2000; Choudhury ve Srivastava 2001). Yapılan çalışmalarda ağır metal kirliliğine uzun süre maruz kalmış ortamlarda dirençli farklı türlerin varlığı da rapor edilmiştir (Filali ve ark., 2001) Bakterilerin ağır metallerle ilgili işlemlerde rol alabilmesi için önce ilgili metale karşı dirençli olması gerekmektedir. Bakterilerin hangi mekanizmalarla bu toksik metallere dirençlilik gösterdiklerine yönelik çeşitli çalışmalar yapılmış ve bu mekanizmaların kromozomal genler tarafından belirlenmesinden çok son yıllarda insan faktörü etkisi ile artan endüstriyel kaynaklı kirliliğin bir sonucu olduğuna yönelik bulgulara ulaşılmıştır (Genthner ve ark., 2005; Peters ve ark., 2000, Jana ve Bhattacharya, 1988).

Yapılan çalışmalarda, ilk olarak rastlanan direnç civa ve organomerküriyellere karşı tespit edilmiş olup, ağır metal direnç sistemlerinin prokaryotik yaşamın başlangıcından hemen sonra geliştiği ve neredeyse tüm bakterilerde bulunduğu rapor edilmiştir (Ji ve Silver, 1995). Günümüze kadar kadar, nikel, kadmiyum, krom, arsenik, çinko, bakır gibi metaller için direnç mekanizmaları detaylı olarak çalışmalar yapılmış ve tanımlanmıştır (Spain, 2003).

Misra (1992) yaptığı çalışmada, hem Gram pozitif (*S. aureus*, *Bacillus* sp.) hem de Gram negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* ve *Thiobacillus ferrooxidans*) mikroorganizmalarda civa direnci tespit etmiştir. Bazı bakteriler civa direncinden sorumlu bir grup geni içeren civa direnç operonunu adı verilen “*mer*” genine sahiptir. Bu operonun sadece civa detoksifikasyonu yapmadığını bunun yanında civa taşınımı ve hücrenin civaya direncini de düzenlediği çeşitli araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir (Misra 1992; Ji ve Silver 1995). “*mer*” operonu bazı mikroorganizmaların plazmidlerinde çalışılmış ve yaygın olarak 5 veya 6 gen içerdiği gözlenmiştir (Misra, 1992). Bu genler; *merA* (civa redüktaz) , *merB* (organomercurial redüktaz enzimini), *merC* (taşıma proteinini), *merD* (mer genlerinin ekspresyonunu düzenleyici), *merR* (aktivatör proteini), *merP* (taşıma proteini) ve *merT* (taşıma proteini) genleridir.

Aşırı miktarlarda alınımı mikroorganizmalarda toksik etkilere neden olan ağır metallere karşı bakteriyel direncin fenotipik olarak saptanmasında konvansiyonel yöntemden, genotipik olarak saptanmasında ise moleküler yöntemlerden faydalanılmaktadır (Abou-Shanab ve ark., 2007; Akinbowale ve ark., 2007). Mikroorganizmaların sahip olduğu ağır metal direncinin genotipik profillerinin ortaya konulmasında faydalanılan moleküler yöntemler arasında; Polymerase Chain Reaction (PCR), Microarray, DNA - DNA Hybridization, Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) ve Semi quantitative reverse transcription-PCR (RT-PCR) bulunmaktadır (Abdelatey ve ark., 2011; Abou-Shanab ve ark., 2007).

Çalışmamız kapsamında elde ettiğimiz *S. aureus* olduğu PCR ile doğrulanmış suşlarda *merA*, *merB* ve *merT* genlerinin varlığı araştırılmıştır. Bu kapsamda, 1 adet suşta *merB*, 5 adet suşta *merT* geni saptanmıştır. *merA* genine ise hiçbir suşta tespit edilememiştir. Çevre kirliliğinin bir göstergesi olarak canlılarda ölçülen metalik

kirleticiler özellikle su ürünlerinde sıklıkla yüksek seviyelere ulaşabilmektedir. Bu şekilde besinlerle birlikte düşük düzeylerde ama sürekli olarak alınan civa, kadmiyum ve kurşun gibi metal kalıntıları çevre ve insan sağlığını önemli derecede etkilemektedir. Ağır metaller bir organizmanın dokularında biriktiği zaman, gelişen metabolik olaylar bu ağır metalleri toksik potansiyellerine ve yararlılık oranlarına bağlı olarak kullanmak, elimine etmek veya dışarıya atmak zorundadır (Margoshes ve Vallee, 1957; George ve ark., 1979; Pavicic ve ark., 1992; Roesijadi ve Hall, 1981; Fowler, 1986).

Spain ve Alm (2003), bazı ağır metallerin esansiyel olmalarına karşın yüksek miktarlarının bakteriler için toksik olduğunu açıklamışlar ve sonuç olarak bu tarz dirençli bakterilerin çevresel olarak toksik metallerle kontamine alanların temizliğinde kullanılabilceğini ancak, ağır metal ve antibiyotik direnç genlerini bir arada içeren aynı plazmidin bir diğer Gram negatif bakteriye aktarımı ile dirençli bakterilerin seleksiyonunun meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bunun sonucunda da dirençli bakterilerin antibiyotik sağaltımından etkilenmedikleri, hastalıkların nüks ettiği ve sürü bazındaki sağaltım çalışmalarında ekonomik kayıpların arttığını bildirmişlerdir.

SONUÇ

Ağır metal dirençliliğini kodlayan genler aynı zamanda antibiyotik dirençliliğinde de etkilidir. Bu nedenle bu mikroorganizmalar sadece biyoremediasyon, biyomadencilik gibi uygulamalar için değil sağlık sektöründe de önem kazanmaktadır. Antibiyotiklerin keşfinden önceki dönemlerde yüzyıllarca ağır metaller hastalıkların tedavisinde ilaç olarak kullanılmıştır. Bu nedenle patojen mikroorganizmalarda da ağır metal dirençliliği gelişmiştir. Özellikle plasmid transferi ile bu plasmidler üzerinde bulunan direnç genleri tür içi ve türler arasında taşınabilir ve patojenitenin artmasına neden olabilmektedir.

Bu çalışmamızdan elde edilen bulgular ışığında; Marmara Denizinin çeşitli bölgelerinden toplanan örneklerden izole edilen *S.aureus*'un ağır metal dirençlilik düzeylerinin yüksek olması, Marmara Denizinin ağır metal kirliliğine az ya da yüksek oranda maruz kaldığını göstermektedir.

Ağır metal dirençliliği mekanizmalarının tam olarak anlaşılması ile kirletilmiş çevrelerin etkin olarak temizlenmesi, çevre dostu teknolojiler kullanılarak düşük cevher içerikli madenlerden yüksek kalitede ürün elde edilmesi ve patojen mikroorganizmalara karşı etkin yeni ilaçlar geliştirilmesi sağlanabilecektir.

KAYNAKLAR

- Abdelatey, L. M., Khalil, W. K., Ali, T. H., & Mahrous, K. F. (2011). Heavy Metal Resistance And Gene Expression Analıysis Of Metal Resistance Genes in Gram-Positive and Gram-Negative Bacteri Present in Egyptian Soils. *Journal of applied sciences in environmental sanitation*, 6(2).
- Abeyta, J., & S., C. A. (1983). Bacteriological quality of fresh seafood products from Seattle retail markets. *Journal of food protection*, 46(10), 901-909.
- Abou-Shanab, R. A., Van Berkum, P., & Angle, J. S. (2007). Heavy metal resistance and genotypic analysis of metal resistance genes in gram-positive and gram-negative bacteria present in Ni-rich serpentine soil and in the rhizosphere of *Alyssum murale*. *Chemosphere*, 68(2), 360-367.
- Achman, D., Hornbuckle, K., & Eisenreich, S. (1993). Volatilization of polychlorinated bipheyls from Green Bay, Lake Michigan. *Environmental Science and Technology*, 75-87.
- Aires-de-Sousa, M., Boye, K., De Lencastre, H., Deplano, A., Enright, M. C., Etienne, J., & Kearns, A. M. (2006). High interlaboratory reproducibility of DNA sequence-based typing of bacteria in a multicenter study. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(2), 619-621.
- Akal, S., Yonar, T., & Pınarlı, V. (1998). Mudanya İlçesi deniz deşarj sistemlerinin incelenmesi, Türkiye'nin Kıyı ve Deniz Alanları, II. Ulusal Konferansı. *Türkiye Kıyıları 98 Konferans Bildiriler Kitabı, ODTÜ*, 629-638.
- Akinbowale, O. L., Peng, H., G. P., & Barton, M. D. (2007). Antibiotic and heavy metal resistance in motile aeromonads and pseudomonads from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Australia. *International journal of antimicrobial agents*, 30(2).
- Akpınar Bayızit, A., Özcan Yılsay, T., & A., v. Y. (2003). Donmuş karideslerin bazı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 20:303-312.
- Akşıray, F. (1987). Türkiye Deniz Balıkları ve Tayin Anahtarı. *İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü Yayınları*, No:3490, 811s.

- Anonim. (2004). Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Su Ürünleri Yönetmeliği 2003 ve Tebliği 2004.
- Anonim. (2008). Fisheries and Aquaculture, Turkey. *FAO, (Food and Agriculture Organization of the United Nations)*.
- Aras, N., Yanık, T., & Kocaman, M. (2000). Kuzeydoğu Anadolu bölgesi su ve su ürünleri potansiyelinin değerlendirilmesi., (s. 125-130).
- Artüz İ, & Artüz, M. (K. K.G.M.1989). Türkiye Sularında Yaşayan Kafadanbacaklılar. 123/2.
- Artüz, İ. (1967). Karidesler Hakkında. *Balık ve Balıkçılık* , 15: 1-8.
- Artüz, M. (2006). Investigat ons on Beam-trawl Fishery for Deep Sea Pink Shrimp *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) in the Sea of Marmara. *Ecology Natura*, 65-67.
- Artüz, M. L. (2005). Türkiye Denizlerinde Bulunana Karides Türleri Üzerine Etüt. *ZooNatantia, Publications Scientifiques*, 22s.
- Artüz, M. L., Okay, I. A., M. B., Artüz, O. B., Gürseler, G., & Okay, N. (2007). *Bilimsel Açıdan Marmara Denizi*. Türkiye Barolar Birliği Yayınları, 119.
- Atamanalp, M. v. (2003). Salmonidlerde yapılan toksikolojik çalışmalar. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg*, 34(1), 105-110.
- Atay, D. (1985). Deniz Balıkları Üretim Tekniği. *Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi Yayınları:943 Ders Kitabı:268, Ankara Üniv. Basımevi, Ankara*, 244s.
- Atwa, E. I. (2017). Bacteriological Study of Fish Samples Collected from Different Markets in Some Egyptian Governorates and Antimicrobial Sensitivity of Isolates. . *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 6(5), 2765-2776.
- Ayulo, A. M., M. R., & Scussel, V. M. (1994). Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in Wsh and seafood from the Southern region of Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, 24, 171–178.
- Baird-Parker, A. (1965). A classification of staphylococci and micrococci from world-wide sources. *Journal of General Microbiology*, 38, 363-7.
- Balkıs, N., Kayhan, F. E., & Aksu, A. (2006). İstanbul Balık Halinden Allnan Akdeniz Midyelerinde (*Mytilus galloprovincialis*)Arsenik Düzeyleri. *Ekoloji*, 15, 61, 1-5.
- Basti, A. A., Misaghi, A., Salehi, T. Z., & Kamkar, A. (2006). Bacterial pathogens in fresh, smoked and salted Iranian fish. *Food control*, 17(3), 183-188.

- Bat, L., & Arıcı, E. (2016b). Heavy metal levels in tissues of *Merlangius merlangus* (Linnaeus, 1758) from the Black Sea coast of Turkey and potential risks to human health. *International Journal of Marine Science*, 6 (10): 1-8.
- Bat, L., & E., A. (2016a). Health risk assessment of heavy metals in *Sarda sarda* Bloch, 1793 for people through consumption from the Turkish Black Sea coasts. *International Journal of Zoology Research*, 1(1): 01-07.
- Bayhan, B., Kalaycı, F., Sever, T., & Samsun, N. (2005). Orta Karadeniz’de dağılım gösteren karagöz istavrit’in (*Trachurus trachurus* L., 1758) (Pisces: carangidae) mevsimsel beslenme rejimi üzerine ilk gözlemler. *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 4: 110-114.
- Bayhan, K., Ünlüer, T., & Akkaya, M. (2005). Some Biological Aspects of *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) (Crustacea, Decapoda) Inhabiting the Sea of Marmara. *Turk journal Veterinary and Animal Science*, 29, 853-856.
- Brown, W. M., George, M., & Wilson, A. C. (1979). Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(4), 1967-1971.
- Bruins, M., Kapil, S., & Oehme, F. (2000b). Microbial Resistance to Metals in the Environment. *Ecotox. Environ. Safe.*, 45, 198-207.
- Calabrese, J. R., Bowden, C. L., Sachs, G. S., Ascher, J. A., Monaghan, E., & Rudd, G. D. (1999). A double-blind placebo-controlled study of lamotrigine monotherapy in outpatients with bipolar I depression. *Journal of Clinical Psychiatry*, 60(2), 79-88.
- Campbell, N. (2005). The myxosporean parasitofauna of the Atlantic horse mackerel, *Trachurus trachurus* (L.) in the North-East Atlantic Ocean and Mediterranean Sea. *Acta Parasitologica*, 50(2), 97-101.
- Castro-González, M. I., & Méndez-Armenta, M. (2008). Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environmental toxicology and pharmacology*, 26(3), 263-271.
- Cengiz, A. (1999). Staphylococcus. *Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, s: 339–46.
- Cha, J. S., & Cooksey, D. A. (1991). Copper resistance in *Pseudomonas syringae* mediated by periplasmic and outer membrane proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(20), 8915-8919.

- Chan, K. Y., & Dean, A. C. (1988). Effects of cadmium and lead on growth, respiration and enzyme activity of the marine bacterium *Pseudomonas marina*. *Chemosphere*, 17(3), 597-607.
- Choudhury, R., & Srivastava, S. (2001). Zinc resistance mechanisms in bacteria. *Current Science*, 768-775.
- Connor, J. R., & Menzies, S. L. (1995). Cellular management of iron in the brain. *Journal of the neurological sciences*, 134, 33-44.
- Copat, C., Arena, G., Fiore, M., Ledda, C., Fallico, R., Sciacca, S., & Ferrante, M. (2013.). Heavy metals concentrations in fish and shellfish from eastern Mediterranean Sea: Consumption advisories. *Food and Chemical Toxicology*, 53, 33-37.
- Çakmakçı, S., & Kahyaoglu, D. T. (2012). Yağ asitlerinin sağlık ve beslenme üzerine etkileri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2), 133-137.
- Çiner, F., & İnan, H. (1997). Gemi taşımacılığında kaynaklanan deniz kirlenmesi, Yerleşim ve Çevre Sorunları. *Çanakkale İli*, Editör: Ayşe Filibeli.
- Dadar, M., Dhama, K., Vakharia, V. N., Hoseinfar, S., Karthik, K., Tiwari, R., & Joshi, S. (2017). Advances in aquaculture vaccines against fish pathogens: global status and current trends. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 25(3), 184.
- Dalgaard, P., Mejlholm, O., Christiansen, T. J., & Huss, H. H. (1997). Importance of *Photobacterium phosphoreum* in relation to spoilage of modified atmosphere-packed fish products. *Letters in Applied Microbiology*, 24(5), 373-378.
- De Conto Cinier, C., Ramel., M., Faure., R., Garin., D., & Bouvet., Y. (1999). Kinetics of Cd accumulation and elimination in Carp *Cyprinus carpio* tissues. *Comp. Biochem. Physiol. Part C*, 122:345-352.
- Diler A, & Ataş, Ş. (27: 497-503). Antalya bölgesinden avlanan *Penaeus semisulcatus* de Haan 1884'un mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi ile et verimi. *Türk J Vet Anim Sci*, 2003.
- DoEllman, P., Jansen, E., Michels, M., & Van, T. (1994). Effect of heavy metals in soil on microbial diversity and activity as shown by the sensitivity-resistance, index, an ecologically relevant parameter. *Biol. Fertil. Soils*, 12, 5-9.
- Egemen, Ö. (2000). Çevre ve Su Kirliliği. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları İzmir*, 3. Baskı 42.

- Engel, D., Sundu, W., & Fowler, B. (1981). Factors Effecting Trace Metal Uptake And Toxicity To Estuarine Organism. *Academic Pres, London*, 41.
- Erdoğrul, Ö., & Ateş, A. (2006). Determination of Cadmium and Copper in fish samples from Sır and Menzelet Dam Lake Kahramanmaraş, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 117:1-3, 281-290.
- Erol, İ. (2007). *Gıda hijyeni ve mikrobiyolojisi*. Ankara: Pozitif matbaacılık.
- Erüstün G, & A., Ş. (1988). Research on canned shrimp and frozen preservation (in Turkish). *T.C. Tarım ve Köyiğleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Çanakkale İl Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, Çanakkale*.
- Fakhri, Y., Mohseni-Bandpei, A., Conti, G. O., Ferrante, M., Cristaldi, A., Jeihooni, A. K., & Sarkhosh, M. (2018). Systematic review and health risk assessment of arsenic and lead in the fished shrimps from the Persian gulf. *Food and Chemical Toxicology*, 113, 278-286.
- Fao. (2008). F. A. O. S. T. A. T. *Food and agriculture organisation of the United Nations*, Retrieved on, 15.
- Feldhusen, F. (2000). The role of seafood in bacterial foodborne diseases. *Microbes and infection* 2(13), 1651-1660.
- Filali, A., Ouammi, L., Betbeder, A. M., Baudrimont, I., Soulaymani, R., Benayada, A., & Creppy, E. E. (2001). Ochratoxin A in beverages from Morocco: a preliminary survey. *Food Additives & Contaminants*, 18(6), 565-568.
- Foster, J. F., Fowler, J. L., & Ladiges, W. C. (1977). A bacteriological survey of raw ground beef. *Journal of food protection*, 40(11), 790-794.
- Fowler, S. W. (1986). Trace metal monitoring of pelagic organisms from the open Mediterranean Sea. *Environmental Monitoring and Assessment*, 7(1), 59-78.
- Förstner U, W. G. (1983). Metal pollution in the aquatic environment. *Second Revised Edition. Springer-Verlag, Berlin*.
- Francesconi, K. A., Gailler, J., Edmonds, J. S., Goessler, W., & Irgolic, K. J. (Part C, 122, 131-137). Uptake of arsenic-betaines by the mussel *Mytilus edulis*. *Comp. Biochem. and Physiology*, 1999.
- Genthner, F. J. (2005). Use of composite data sets for source-tracking enterococci in the water column and shoreline interstitial waters on Pensacola Beach, Florida. *Marine Pollution Bulletin*, 50(7), 724-732.

- Giordano, R. P. (1989). Mercury, cadmium and lead levels in marine organisms (*Mytilus galloprovincialis*) collected along the Italian coasts. *Ann. Ist. Super. Sanita*, 25(3): 511-516.
- Gordon, D. T., & Ratliff, V. (1992). The implications of omega 3 fatty acids in human health. *Advances in seafood biochemistry composition and quality*, Technomic Publishing Co. Inc, 69-98.
- Gorga, C. (1998). Quality assurance of seafood. *An Avi Book Published by Van Nostrand Reinhold New York*.
- Göğüş AK, K. N. (1992). *Su Ürünleri İşleme Teknolojisi*. Ankara. Ankara: Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 1243, Ders Kitabı: 358, 261s.
- Götz, F. &. (2000). Colonization of medical devices by coagulase-negative staphylococci. In *Infections Associated with Indwelling Medical Devices*, Third Edition . *American Society of Microbiology*, 55-88 .
- Guzzo, J. D., Guzzo, J., Diorio , D., DuBow, & Alexander, D. (1999). Toward understanding metal stress in environment microbial flora. *Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology*. Canada.
- Güngör, H. G., & G., M. Z. (2007). Socio-Economic Structure of the Deep Water Pink Shrimp Fisheries in the Marmara Sea. *JOTAF/Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 4(3), 261-269.
- Holthuis, L. B. (1980). FAO species catalogue. Volume 1-Shrimps and prawns of the world. *An annotated catalogue of species of interest to fisheries*, No. 125.
- Hookey, J. V. (1999). PCR-RFLP analysis of the coagulase gene of *Staphylococcus aureus*: application to the differentiation of epidemic and sporadic methicillin-resistant strains. *Journal of Hospital Infection*, 42(3), 205-212.
- İnanlı AG, Ö. G. (102- 107). Elazığ'da tüketime sunulan karides ve kalamar ürünlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*., 2007.
- Jablonski, L. M. (2001). *Staphylococcus aureus*. In M. P. Doyle, L. Beuchat, & T. Montville (Eds.). *Food microbiology: fundamentals & frontiers* Washington DC: ASM Press. , (2nd ed., pp. 411–433).
- Jana, S. &. (1988). Effect of heavy metals on growth population of a fecal coliform bacterium *Escherichia coli* in aquatic environment. *Water, Air, and Soil Pollution*, 38(3-4), 251-254.

- Järup, L. (2003). Hazards of metal contamination. *British medical bulletin*, vol 68:167-182.
- Jay, J. (1986). *Modern Food Microbiology*, 3rd edition. Van Nostrand Reinhold, New York., pp. 440-442.
- Ji, G. &. (1995). Bacterial resistance mechanisms for heavy metals of environmental concern. . *Journal of industrial microbiology*, 14(2), 61-75.
- Kaim, W. &., Kaim, W., & Rall, J. (1996). Copper - a “modern” bioelement. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 35 (1), 43-60.
- Kalay, M. C. (2004). Comparison of Cd levels in the muscle and liver tissues of *Mullus barbatus* and *Sparus aurata* caught from the Mersin Gulf. (in Turkish). *Ekoloji Dergisi*. , 13(52):23-27.
- Kaya, Y., Duyar, H. A., & Erdem, M. E. (2004). Balık Yağ Asitlerinin İnsan Sağlığı İçin Önemi. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 2004*, Cilt/Volume 21, Sayı/Issue (3-4): 365–370.
- Kayhan F.E., M. M. (2009). Bazı ağır metallerin sucul organizmalar üzerinde yarattığı stres ve biyolojik yanıtlar. *Journal of Fisheries Science*, 3(2), 153-162.
- Kayhan, F. E. (2006). Su ürünlerinde kadmiyumun biyobirikimi ve toksisitesi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 23(1-2), 215-220.
- Kayhan, P., & Beyatlı, Y. (2006). Balıklardan İzole Edilen Bacillus Cinsi Bakterilerin Bazı Metabolik Özelliklerinin Belirlenmesi, Plazmid DNA ve Protein Profillerinin İncelenmesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, Cilt: 04 Sayı: 03 Sayfa: 1-30.
- Kayser, F., Bienz, K., Eckert, J., & Zinkernagel, R. (2002). "*Genel Bakteriyoloji*". Nobel Tıp kitabevleri.
- Kılıç, N. K., & Dönmez, G. (2008). Mikroorganizmalarda Ağır Metal Stresine Yanıtın Proteom Analizi ile Araştırılması. *Mikroorganizmalarda Ağır Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR (Eski adı: OrLab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi)*, Cilt: 06 Sayı: 2 Sayfa: 27-33.
- Kırmızıgül, F., Güneri, E., & Gümüş, C. (2013). Effects of different deposition conditions on the properties of Cu₂S thin films. *Philosophical Magazine*, 93(5), 511-523.
- Knaus, W. F., Beermann, D. H., Robinson, T. F., Fox, D. G., & Finnerty, K. D. (1998). Effects of a dietary mixture of meat and bone meal, feather meal, blood meal, and

- fish meal on nitrogen utilization in finishing Holstein steers. *Journal of animal science*, 76(5), 1481-1487.
- Kocataş, A., Katağan, T., Uçal, O., & Benli, H. A. (1991). Shrimps of Turkey and Shrimp Culture. Ministry of Agriculture and Rural Affairs. *Institute of Fisheries, Bodrum*, No.4, 146s.
- Koneman, E. W., & Truell, J. E. (1983). Microbiology for low-volume laboratories. *Laboratory Medicine*, 14(1), 26-36.
- Kromhout, D. B. (1985). The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *New England journal of medicine* , 312(19), 1205-1209.
- Kumlu, M. (1999). The use of nematodes as live feed for larval shrimps. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 23(EK2), 401-410.
- Lau, C. S., Morley, K. D., & Belch, J. J. (1993). Effects of Fish Oil Supplementation On Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug Requirement in Patient With Mild Rheumatoid Arthritis-A Double Blind Placebo Controlled Study. *Rheumatology*, 32(11), 982-989.
- Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003). Staphylococcus aureus and food poisoning. *Genet Mol Res*, 2(1), 63-76.
- Lean, G., Hinrichsen, D., & Markham, A. (1990). *Atlas of the Environment*, Prince Hall Press.
- Lee, S. W., Najiah, M., Wendy, W., Zahrol, A., & Nadirah, M. (2009). Multiple antibiotic resistance and heavy metal resistance profile of bacteria isolated from giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) hatchery. *Agricultural Sciences in China*, 8(6), 740-745.
- Lemaire-Gony, S., & Lemaire, P. (1992). Interactive effects of cadmium and benzo (a) pyrene on cellular structure and biotransformation enzymes of the liver of the European eel *Anguilla anguilla*. *Aquatic Toxicology*, 22(2), 145-159.
- Levesque, H., Moon, T., Campbell, P., & Hontela, A. (2002). Seasonal variation in carbohydrate and lipid metabolism of Yellow perch (*Perca flavescens*) chronically exposed to metals in the field. *Aquatic Toxicol*, 60:257-267.
- Lloris, D., & Moreno., T. (1995). Distribution model and association in three pelagic congeneric species (*Trachurus* spp.) present in the Mediterranean Iberic Sea. *Sci. Mar*, 59 (3-4), 399-403.

- López-Maury, L., Marguerat, S., & Bähler, J. (2008). Tuning gene expression to changing environments: from rapid responses to evolutionary adaptation. *Tuning gene expression to changing environments: from rapid responses to evolutionary adaptation. Nature Reviews Genetics*, 9(8), 583.
- Love, R. M. (1982). Basic facts about fish. *Fish handling & Processing*, 2-19.
- Margoshes, M., & Vallee, B. L. (1957). A cadmium protein from equine kidney cortex. *Journal of the American Chemical Society*, 79(17), 4813-4814.
- Mater, S., Kaya, M., & Bilecenoğlu, M. (2002). Türkiye Deniz Balıkları Atlası. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları*, No:68, 169 s.
- Matyar, F. E., Matyar, F., Eraslan, B., Akkan, T., Kaya, A., & Dinçer, S. (2009). İskenderun Körfezi Balıklarından İzole Edilen Bakterilerde Antibiyotik ve Ağır Metal Dirençliliklerinin Araştırılması. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 2 (2): 1-5, 2009 ISSN:1308-3961.
- Merian, E. (1991). Metals and their Compounds in the Environment. *Occurrence Analysis and Biological Relevance, VCH, Weinheim, 1373.*, Vch.
- Misra, T. (1992). Bacterial Resistant to İnorganic Salt and Organamercury. *Plasmid* 25, 4-16.
- Nakahara, H., Ishikawa, T., Yasunaga, S., Kondo, I., Kozukue, H., & Silver, S. (1977). Linkage of mercury, cadmium, and arsenate and drug resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol*, 33, 975-976.
- Nakazawa, Y., & Hosono, A. (1992). Types and standards for fermented milks and lactic drinks. Functions of fermented milk. *Challenges for the health sciences. England: Elsevier Science Publications Ltd.*
- Nardi, E. P., Evangelista, F. S., Tormen, L., Saint, T. D., Curtius, A. J., S., S., & Barbosa Jr, F. (2009). The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. *Food Chemistry*, 112(3), 727-732.
- Nettleton, J. S., & Spain, W. J. (2000). Linear to supralinear summation of AMPA-mediated EPSPs in neocortical pyramidal neurons. *Journal of neurophysiology*, 83(6), 3310-3322.
- Nies, D. H. (1992). Resistance to cadmium, cobalt, zinc, and nickel in microbes. *Plasmid*, 27(1), 17-28.

- Nies, D. H., & Silver, S. (1995). Ion efflux systems involved in bacterial metal resistances. *Journal of industrial microbiology*, 14(2), 186-199.
- Orenstein, A. (2011). The discovery and naming of *Staphylococcus aureus*. *Periodical Date*.
- Oxoid. (1998). *Oxoid Manual*. Basingstoke, U.K: Vol: 8, Oxoid Ltd.
- Özkan, Y. S. (2006). The efficiency of omega-3 fatty acid (fish oil) in hyperlipidemia treatment (in Turkish). *Fırat Tıp Dergisi*, 11(1):40-44.
- Özkan, Y., Aksakal, E., & Oğuz, M. C. (2010). İstavrit (*Trachurus trachurus* L 1758) balığında kaydedilen nematod larvalarının balık boy gruplarına göre karşılaştırılmalı yaygınlık, ortalama yoğunluk ve bolluk parametrelerinin belirlenmesi. *Biyoloji bilimleri araştırma dergisi*, 3, 145-7.
- Öztürk, B. (2009). Kuzey Marmara Bölgesinde bulunan derin su pembe karidesi *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) üzerinde çalışmalar. *Journal of Black Sea/Mediterranean Environment*, 15(3).
- Palomares TS, Fajaarda, M., Chang, J., & Rangiollo, L. (1985). Establishment of thermal processes and storage studies of shrimp and Tma Adobo. *NSTA Tech. J.*, 3: 17-28.
- Parsons, E. C. (1999). Trace element concentrations in whole fish from North Lantau water, Hong Kong. *ICES Journal of Marine Science. ICES Journal of Marine Science*, 56(5), 791-794.
- Pavicic, J., Raspor, B., & Branica, M. (1992). Metal binding proteins of *Mytilus galloprovincialis*, similar to metallothioneins, as a potential indicator of metal pollution. *MAP Technical Reports Series (UNEP)*.
- Pigott, G. M., & Tucker, B. W. (1990). Food from the sea. *Seafood: Effects of technology on nutrition*, 1-30.
- Rao, D. S., & Saxena, A. B. (1981). Acute toxicity of mercury, zinc, lead, cadmium, manganese to the *Chironomus* sp. *International Journal of Environmental Studies*, 16(3-4), 225-226.
- Robinson, C. H., Lawyer, M. R., Chenoweth, W. L., & Garwic, A. E. (1986). Normal and Therapeutic Nutrition. *7th Edition, Macmillan Publishing Company, New York*, 228.

- Roesijadi, G., & Hall, R. E. (1981). Characterization of Mercury-Binding Proteins From the Gills of Marine Mussels Exposed to Mercury. *COMPAR. BIOCHEM. & PHYSIOL*, 70(1), 59-64.
- Sağlamtimur, B., Cıçık, B., & Erdem, C. (2003). Effects of different concentrations of copper alone and a copper+ cadmium mixture on the accumulation of copper in the gill, liver, kidney and muscle tissues of *Oreochromis niloticus* (L.). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27(4), 813-820.
- Saito, E., Yoshida, N., Kawano, J., Shimizu, A., & Igimi, S. (2011). Isolation of *Staphylococcus aureus* from raw fish in relation to culture methods. *Journal of Veterinary Medical Science*, 73(3), 287-292.
- Sales, A. R., Silva, B. M., Neves, F. J., Rocha, N. G., Medeiros, R. F., Castro, R. R., & Nóbrega, A. C. (2012). Diet and exercise training reduce blood pressure and improve autonomic modulation in women with prehypertension. *European journal of applied physiology*, 112(9), 3369-3378.
- Salomans, W., Rooij, N., H. Kerdiijk, & Bril, a. J. (1987). Sediments as a Source for Contaminants. *Hydrobiologia*, 149: 13-30.
- Salomon, D., Carraux, P., Mérot, Y., & Saurat, J. H. (1987). Pathway of granule formation in Merkel cells: an ultrastructural study. *Journal of investigative dermatology*, 89(4), 362-365.
- Sanjeev, S., Iyer, K. M., Rao, C. C., & James, A. M. (1986). Occurrence of enterotoxigenic *Staphylococci* in frozen Whshery products. *Fishery Technology*, 23, 164–166.
- Seçer, S., & Rad, F. (1993). *Su Ürünleri ve Beslenme Politikaları*. Su Ürünleri ve Beslenme Politikaları. Su Ürünleri Sempozyumu, Su Ürünleri Sempozyumu, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, 12-15.
- Seker, E., Özmen, H., & Aksoy, S. (1998). Elazığ Hazar Gölü'nden Yakalanan *Capoeta Capoeta Umbla* (Heckel, 1843)'Da Ağır Metal Birikimlerinin Araştırılması. *Fırat Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 10 (2), 13-20 S.
- Sena C, B. A. (1988). Preparation of a shrimp by-catch fish paste spread. *Archivos Latin Americanos de Nutricion*, 38: 865–882.
- Shinn, C., Dauba, F., Grenouillet, G., Guenard, G., & Lek, S. (2009). Temporal variation of heavy metal contamination in fish of the river lot in southern France. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(7), 1957-1965.

- Simon, S. S., & Sanjeev, S. (2007). Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory workers. *Food control*, 18(12), 1565-1568.
- Solmaz, S., Yonar, T., & Üstün, G. (2000). Gemlik Körfezi'nde karasal kaynaklı kirlilik envanteri. *Marmara Denizi Sempozyumu*.
- Spain, A., & Alm, E. (2003). Implications of microbial heavy metal tolerance in the environment.
- Stoker, H. S. (1976). "Environmental Chemistry. Air And Water Pollution Scott". *Foresman And Company*, S. 231.
- Stoll, A. L., Locke, C. A., Marangell, L. B., & Severus, W. E. (1999). Omega-3 fatty acids and bipolar disorder: a review. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 60(5-6), 329-337.
- Stone, J. N. (1996). Fish consumption, fish oil, lipids, and coronary heart disease. *Circulation*, 94(9), 2337-2340.
- Sudağidan, M., & Aydın, A. (2013). Lizozim ve nisinin gıda kaynaklı *Staphylococcus aureus* suşlarında gelişim ve biyofilm oluşumu üzerine etkileri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 39(2), 254-263.
- Sudağidan, M., Çavuşoğlu, C., & Bacakoğlu, F. (2008). Investigation of the virulence genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from biomaterial surfaces. *Mikrobiyoloji bulteni*, 42(1), 29-39.
- Süren, E. (2004). Çanakkale Bogazında Toksik Etki Gösteren Bazı Ağır Metallerin ICPOes Ve Elektroanalitik Yöntemlerle Tayini, Yüksek Lisans Tezi,. *Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı*, 40 S.
- Şensurat Genç, T., Atamanalp, M., & Aydın, C. (2018). Selectivity of Turned Meshes Codends for Deepwater Rose Shrimp (*Parapenaeus longirostris*), Horse Mackerel, (*Trachurus trachurus*) and European Hake (*Merluccius merluccius*) in the Aegean Sea. *Su Ürünleri Dergisi*, 35 (2), 1-1.
- Talınlı, İ., Görgün, E., & Ünal, K. (1997). *Türkiye Boğazları'nda tehlikeli maddelerden oluşacak çevresel risklerin değerlendirilmesi, Yerleşim ve Çevre Sorunları: Çanakkale İli*. Editör: Ayşe Filibeli.

- Tan, E., & Tek, H. (1987). Karides kuyruk eti konservesinde tekstürün düzeltilmesi ve kararmanın önlenmesi üzerine araştırmalar. *TOKB, Gıda Kontrol ve Araştırma Enst. Bursa*, 46-60.
- Tan, E., & Tek, İ. (1987). Studies on textural enhancement of shrimp meat and prevention of colour loss (in Turkish). *T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Bursa İl Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, Bursa*, 48–60.
- Taşdemir, Y. (1997). *Modification and Evaluation of a Water Surface Sampler to Investigate the Deposition and Air Water Exchange of Polychlorinated Bipheyls (PCBs), Doktora Tezi*. America: Illinois Institute of Technology.
- Taşdemir, Y. (2002). Marmara Denizi: Kirleticiler ve Çevre Açısından. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, Cilt 7, Sayı 1.
- Taşdemir, Y., & Payan, F. (2000). Bursa'daki tekstil sanayinden kaynaklanan klasik hava kirleticilerin karakterizasyonu. *Marmara Denizi 2000 Sempozyumu*, (s. 377-383).
- Taşdemir, Y., Odabaşı, M., Vardar, N., Sofuoğlu, A., Noll, K., & Holsen, T. (1997). Development and evaluation of a water surface sampler to investigate the deposition of semivolatile organic compounds. *Environmental Research Forum*, (s. (7-8) 305-310).
- Topçuoğlu, S., Kırbaoğlu., Ç., & Güngör., Ç. (2002.). *Heavy metals in organisms and sediments from Turkish Coast of the Black Sea*. Environment International. 27:521-526.
- Tümen, F., Bildik, M., Baybay, M., Cici, M., & Solmaz, B. (1992). Pollution potential of Ergani copper smelter's rigid wastes. *Doğa Turkish Journal of Engineering and Environmental Sciences*, 16, 43-53.
- Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkındaki Tebliğ. (2008/26).
- Türkmen, N., Akgöz, S., Çoltu, A., & Ergin, N. (2005). Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi acil servisine başvuran adli olguların değerlendirilmesi. *Uludağ üniversitesi tıp fakültesi dergisi*, 31(1), 25-29.
- Varlık, C., Baygar, T., Özden, Ö., Erkan, N., & Mol, S. (2000). Sensory evaluation and determination of some physical and chemical characteristics of shrimp during gold storage. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 24(3), 181-186.

- Von Schacky, C. (2000). n-3 fatty acids and the prevention of coronary atherosclerosis. *The American journal of clinical nutrition*, T 71(1), 224s-227s.
- Vural, N. (1996.). Toksikoloji., . *Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi* , Yayın No: 73, Ankara, 659, .
- Wheaton, F., & Lawsont, B. (1985). Processing aquatic food products. *Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, London*.
- Yavuz, O., & Sarıgül, N. (2016). Toprak ve sucul ortamlardaki ağır metal kirliliği ve ağır metal dirençli mikroorganizmalar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(1), 44-51.
- Yaygın, H. (1998). Gıda ve Personel Hijyeni. *Basılmamış Ders Notları, Antalya*.
- Yazkan, M., Özdemir , F., & Gölükçü, M. (2004). Antalya Körfezinde Avlanan Bazı Yumuflakçalar ve. *Turk J Vet Anim Sci*, 95-100.
- Yılmaz, A. (2002). Türkiye Denizlerinin Biyojeokimyası: Dağılımlar ve Dönüşümler. *Turkish J. Eng. Env. Sci*, 26, 219-235.
- Yılmaz, A. (2002). Türkiye denizlerinin biyojeokimyası: Dağılımlar ve dönüşümler . *Turkish Journal of Engineering and Environmental Sciences*, 26, 219-235.
- Zengin, M., Polat, H., Kutlu, S., Dinçer, C., Güngör, H., Aksoy, M., . . . Firidin, S. (2004). Marmara Denizi'ndeki Derin Su Pembe Karidesi (*Parapenaeus longirostris*, LUCAS, 1846)Balıkçılığının Geliştirilmesi Üzerine Bir Araştırma. *Tarım ve Köy İşler Bakanlığı, Su ürünler Merkez Araştırma Müdürlüğü, Trabzon*.
- Zouboulis, A. I., Loukidou, M. X., & Matis, K. A. (2004). Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal-polluted soils. *Process Biochemistry*, 39(8), 909-916.

6. BAŞVURULAR



HAM VERİLER

FORMLAR



ETİK KURUL KARARI





PATENT HAKKI İZİNİ



İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Rüveyda	Soyadı	GÜNAYDIN
Doğ.Yeri	İSTANBUL	Doğ.Tar.	26.06.1989
Uyruğu	T.C	TC Kim No	
Email	biologistruveyda@gmail.com	Tel	

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ	2013
Lise	ASIR KOLEJİ	2007

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İNGİLİZCE	İYİ	İYİ	İYİ		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):