



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ



KAFEİK ASİTİN BALIK PATOJENLERİ ÜZERİNE
ANTİBAKTERİYEL ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Fatih TAPAN

Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

KAFEİK ASİTİN BALIK PATOJENLERİ ÜZERİNE
ANTİBAKTERİYEL ETKİSİNİN BELİRLENMESİ
Fatih TAPAN

Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı
Tezin Sunulduğu Tarih: 13/08/2018

Tez Danışmanı:
Prof. Dr. Sebahattin ERGÜN

ÇANAKKALE

Fatih TAPAN tarafından Prof. Dr. Sebahattin ERGÜN yönetiminde hazırlanan ve **13/08/2018** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Kafeik Asitin Balık Patojenleri Üzerine Antibakteriyel Etkisinin Belirlenmesi**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Prof. Dr. Sebahattin ERGÜN

.....

Başkan

Prof. Dr. Murat YİĞİT

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Onur KARADAL

.....

Üye

Prof. Dr. Levet GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Fatih TAPAN

TEŞEKKÜR

Yapmış olduğum tez çalıőması sũresince tezime yaptıkları katkılarından dolayı değerli hocam Prof. Dr. Sebahattin ERGÜN'e, tezimin uygulama kısmını yũrũtmem sırasında bana desteğini esirgemeyen sayın hocam Arő. Gör. Dr. Sevdan YILMAZ ile çalıőmalarım sırasında bana destek veren Songũl BİÇER'e her sıkıntıda benim yanımda olan, yardımlarını esirgemeyen, hiçbir zaman beni yalnız bırakmayan ve maddi manevi benim hep yanımda olan değerli aile ũyelerim Nuriye TAPAN, Gũlũm TAPAN, Aydın TAPAN, Murat İLHAN, İbrahim İLHAN, Ayőe TAPAN, Necla İLHAN, Pakize İLHAN, őengũl TAPAN, Leyla TAPAN, Tũlay TAPAN, Arif BEL, Őzlem BEL, Necati İLHAN, Mert İLHAN, Alpay BEL ve Őmer TAPAN'a sonsuz teőekkũrlerimi sunarım.

Fatih TAPAN
anakkale, Ağustos 2018

SİMGELER VE KISALTMALAR

BH	Brean Heart
BHA	Bütüllemiş Hidroksi Anisol
BHT	Bütüllemiş Hidroksi Toluen
DİSK	Disk Difüzyon Yöntemi
DMSO	Dimetil Sülfoksit
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FCR	Yem Çevirim Oranı
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
MH	Muller Hinton
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
OIE	Dünya Hayavan Sağlığı Örgütü
TS	Triptik soy besi ortamı
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

KAFEİK ASİTİN BALIK PATOJENLERİ ÜZERİNE ANTİBAKTERİYEL ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Fatih TAPAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi

Su ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Sebahattin ERGÜN

13/08/2018, 37

Dünya su ürünleri sektöründe balık hastalıklarında hızlı bir artış görülmektedir. Yem katkı maddeleri, stok yoğunluğu gibi birçok farklı etmenin balık hastalıklarındaki artışı hızlandırdığı da bilinmektedir. Bu durumun devamlılık arz etmesi sonucunda da salgın hastalıklar görülmektedir. Hastalıkların tedavisi için uzun yıllardır antibiyotik gibi sentetik maddeler kullanılmakta ve bu durum canlı vücudunda antibiyotik birikimine, su kalitesinde de bozulmalara sebep olmaktadır. Antibiyotiklerin kullanımı arttıkça güvenli gıdaya ulaşımında zorlukların yaşanmaktadır. Sentetik maddelerin kullanımına yasaklar uygulanmakta ve/veya kısıtlamalar getirilmektedir. Bu durumun doğal sonucu olarak da farklı alternatiflere yönelim başlamıştır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde, antibiyotik ajanlara karşı alternatif olarak fenolik (organik) asitlerin kullanılması patojen bakterilerin çoğalmasını önlemekte, balıkların bağırsak floralarında yararlı bakterilerin çoğalmasını teşvik ederek hayvanları iyileştirme özelliği göstermektedir. Organik asitlerin su ürünleri yetiştiriciliğinde, katkı maddesi ve antibakteriyel ajan olarak kullanılmasının gelecekte artacağı düşünülmektedir. Yapılan bu çalışmada organik asitlerden biri olan kafeik asitin balık patojenlerine karşı disk difüzyon (DİSK) ve minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) yöntemleri kullanılarak, *Yersinia ruckeri* E42, *Listonella anguillarum* SY-L24, *Streptococcus iniae* ATCC 2917, *Edwardsiella tarda* SY-ED14, *Citrobacter sp.*, SY-C10 bakterileri üzerine antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. Çalışmada kafeik asitin araştırmaya konu patojenler içerisinde en etkili olan patojenin *E.tarda* SY-ED14 olduğu belirlenmiştir.

Bu alışma sonucunda elde edilen bulgular ışığında ileriki çalışmalarda *in vivo* hayvan deneyleri ile yeme ilave edilen kafeik asitin balıkların *E.tarda* SY-ED14 patojenine karşı hastalık direnci kazanımlarının araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar sözcükler: Kafeik Asit, Bakteriyel Balık Patojeni, Antibakteriyel Aktivite, Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK), Disk Difüzyon (DİSK)



ABSTRACT

DETERMINATION OF THE ANTIBACTERIAL IMPACT OF CAFFEIC ACID ON FISH PATHOGENS

Fatih TAPAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Institute of Science and Technology

Faculty of Marine Sciences and Technology

Aquaculture Department Master of Science Thesis

Advisor : Prof. Dr. Sebahattin ERGÜN

13/08/2018, 37

A rapid increase in fish diseases is seen in the world aquaculture sector. It is also known that many different factors such as feed additives and stock density accelerate the increase in fish diseases. As a result of this situation, epidemic diseases are seen. For the treatment of diseases, synthetic materials such as antibiotics have been used for a long time and this causes the accumulation of antibiotics in live body and deterioration of water quality. As the use of antibiotics increases, there are difficulties in reaching safe food. Prohibitions are imposed and / or restrictions are imposed on the use of synthetic materials. As a natural consequence of this situation, orientation to different alternatives has begun. The use of phenolic (organic) acids as an alternative to antibiotic agents in aquaculture prevents the multiplication of pathogenic bacteria and demonstrates the ability of fish to cure animals by promoting the growth of beneficial bacteria in the intestinal flora. It is thought that the use of organic acids as an additive and antibacterial agent in aquaculture will increase in the future. In this study, the antibacterial effect of the caffeic acid, one of the organic acids, on *Yersinia ruckeri* E42, *Listonella anguillarum* SY-L24, *Streptococcus iniae* ATCC 2917, *Edwardsiella tarda* SY-ED14, *Citrobacter* sp., SY-C10 bacteria was investigated by using the Disc diffusion (DISC) and Minimum inhibitory concentration (MIC) methods. In the study, it was determined that caffeic acid was the most effective on *E. tarda* SY-ED14, among the investigated pathogens.

In the direction of the findings of this research, in future studies it is necessary to investigate the addition of the caffeic acid food on the disease resistance of the fishes against *E. tarda* SY-ED14 pathogen *in vivo*.

Keywords: Caffeic Acid, Bacteriyel Fish Pathogen, Antibacterial Activity, Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Disk Diffusion (DISC)



İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAVI SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
1.1. Yetiştiricilikte Hastalık Etkenleri.....	2
1.2. Su Ürünlerinde Bakteriler ve Hastalık etkenleri	2
1.3. Bakteriyel Hastalıkların Kontrolü ve Karşılaşılan Sorunlar	3
1.4. Su Ürünlerinde Antibiyotik Tanımı	3
1.5. Antibakteriyel Direnç	5
1.6. Gelecek İçin Antibiyotikler Olarak Tıbbi Bitkiler	5
1.7. Fenolikler ve Türevleri.....	5
1.8. Organik Asitlerin Etki Mekanizmaları	7
1.9. Kafeik Asit	7
BÖLÜM 2	
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	10
2.1. Bitki Ekstraktlarının Antibakteriyel Etkileri	11
2.2. Organik Asitlerin Kullanımları ve Antibakteriyel Etkileri	13
BÖLÜM 3	
MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. Patojen Bakteri Materyali	17
3.2. Kafeik Asit Materyalinin Temini	17
3.3. Disk Difüzyon Testi	17
3.4. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC)	20
BÖLÜM 4	
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	22
4.1. Bulgular.....	22
4.2. Tartışma.....	23

BÖLÜM 5	
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	27
KAYNAKLAR	28
ÖZGEÇMİŞ	I



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. Kafeik asitin kimyasal yapısı.....	8
Şekil 3.1. Tüplerde bakteri kültürü	18
Şekil 3.2. Svab yöntemiyle agar yüzeyine bakteri ekimi.....	18
Şekil 3.3. Disklerin agar üzerine yerleştirilmek üzere hazırlanması	19
Şekil 3.4. Disklerin ve plakaların inkübasyonu için kullanılan kuluçka cihazı (inkübatör) 19	19
Şekil 3.5. Disk zonlarının tespiti.....	19
Şekil 3.6. Ekim yapılan plakalar	21
Şekil 4.1. Disklerdeki inhibisyon zon değerleri.....	22



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 1.1. Çalışmada kullanılan Patojen bakteriler ve hastalık etkenleri.....	3
Çizelge 1.2. Gıdalardaki önemli fenolik asitler	7
Çizelge 3.1. <i>İn vitro</i> denemelerde kullanılacak olan balık patojeni bakteriler	17
Çizelge 4.1. <i>Y. ruckeri</i> , <i>L. anguillarum</i> , <i>S.iniae</i> , <i>E. tarda</i> , <i>Citrobacter</i> sp. Patojenlerine karşı kafeik asitin MİK değerleri (µg/mL).....	22



BÖLÜM 1

GİRİŞ

Dünyada hızla artan nüfusla birlikte insanların gıdaya olan ihtiyaçları aynı hızla artmakta ve insanlık için önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Gıdaya ulaşım ile ilgili problemler bir kenarda dururken insanlığı tehdit eden bir başka önemli problem ise su sorunudur. Parasat (2014)'a göre içilebilir düzeyde temiz su kaynaklarının sınırlı olduğu düşünüldüğünde, tatlısu kaynaklarının içme suyu olarak mı, gıda temini amacıyla balık üretiminde mi kullanılmasının doğru olacağı konusunda fikirler ortaya atılmaktadır. Tatlısu kaynaklarının az olduğu ve denize kıyısı olmayan su sıkıntısının yaşandığı bölgelerde yaşamın devamı için her iki yaşamsal faaliyete de ihtiyaç vardır. Bu iki yaklaşımın da doğru olduğu ve beraber uygulanmasının varlığımızın devamı için daha uygun olacağı ortadadır.

Bu düşünceler ışığında hareket edilecek olunursa, dünyada ve ülkemizde su kaynakları sınırsız değildir ve mevcut su kaynakları yönetiminde ise, geleceğimiz için gerekli olan yeniden bir yapılanma ve ihtiyaçların karşılanabileceği bir gelecek perspektifinin ortaya konulmasıdır.

Dünyada ve ülkemizde hızlı büyüme gösteren sektörlerin başında su ürünleri gelmektedir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde üretimdeki artış, işletmelerin kullanılabilir alanları ve buna bağlı olarak da stok yoğunluğundaki artış demektir. Bunun doğal sonucu olarak da işletmelerdeki yoğun stoklar sebebiyle yetiştiriciliği yapılan balıkların strese girmesi, yeme katılan katkı maddelerinin de suyun kalitesini bozması sebebiyle hastalıklar, su ürünleri yetiştiriciliğindeki sorunların en önemlileri arasındadır. Kapalı devre yetiştiricilik sistemlerinde de aynı problemlerin olduğu bilinmektedir (Yıldırım ve Okumuş, 2004). Sonuç olarak üretici yönünden ekonomik kayıplara, çevresel yönden ise antibiyotik ve diğer bazı kimyasalların kullanımının artmasına sebebiyet vermektedir. Farklı yetiştiricilik yöntemleri ve sektördeki değişimler göz önüne alındığında yetiştiricilik yapılan yerlerde hastalıkların meydana gelmesi, bu hastalıkların kısa sürede yayılmasına ve sonuç olarak maddi kayıpların artması nedeniyle su ürünlerinin sürdürülebilirlik sınırlarını daraltmaktadır (Bondad-Reantaso ve ark., 2005). Sektör yöneticilerinin daha fazla maddi kazanç sağlamak istemeleri su ürünlerinin kontrolsüz ve bilinçsiz bir şekilde büyümesine ve bunun bir sonucu olarak da kültürü yapılan sucul canlılarda parazitel, bakteriyel, viral ya da fungal enfeksiyonlarda artış görülmesi sonucunda istenilen büyüme değerlerine ulaşamamaktadır. Özellikle antibiyotiklerin kullanımı bakterilerin antibiyotiğe olan direncini arttırdığı bilinmektedir ve bu üretim faaliyetleri işletme ekonomisini doğrudan etkileyebilmektedir.

Bu bilgiler ışığında sentetik yem katkı maddelerine alternatif olarak yeme farklı katkı maddelerin ilave edilmesi bilim insanları tarafından araştırılmakta ve araştırılmaya da devam eden bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır (Citarasu, 2012).

1.1. Yetiştiricilikte Hastalık Etkenleri

Su ürünleri yetiştiriciliğinde bulaşıcı hastalıklar genişleme ve sosyoekonomik gelişmeyi engelleyen önemli bir faktördür. Su ürünleri yetiştiriciliği üretimi daha yoğun hale geldikçe, hastalıkların görülme sıklığı artmış ve önemli ekonomik kayıplara yol açmıştır. Mikrobiyal hastalıklar arasında patojenik bakteriler, virüsler ve mantarlar, kuluçkahanede ve büyüme havuzlarında ciddi hasara ve ekonomik kayıplara neden olur (Citarasu, 2010).

1.2. Su Ürünlerinde Bakteriler ve Hastalık etkenleri

Birbirinden bağımsız olarak yaşamını sürdürebilen tek prokaryot hücreli organizmalardır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde bakteriler çiftliklerde yetiştirilme dönemlerinde yetiştirme havuzlarında ölümlere ve ciddi ekonomik kayıplara neden olur. Bakteriyel hastalıklar *Y. ruckeri*; salmonidlerde enterik kırmızı ağız (Bullock ve Snieszko, 1975; Toranzo ve ark., 2005; Austin ve Austin, 2012), *E.tarda* ve *Edwardsiella ictaluri*; kırmızı kangrene neden olur, genel olarak karaciğer, dalak ve böbrekler üzerinde beyaz nodüller vardır, böbrek büyümüştür, yayın balığı enterik septisemi yılan balıklarında iç organlarda apseler görülür (Hoshina, 1962), *Listonella anguillarum*; bir çok deniz balık türünde vibriosis gibi hastalıklara neden olur (Toranzo ve ark., 2005; Austin ve Austin, 2012), *Streptococcus iniae*; Sıcaksu treptokokozu (Hoshina ve ark., 1958), *Citrobacter sp.*; Pankreas nekrozu (Sato ve ark., 1982), (Çizelge 1.1)'de olduğu gibi, *S. aureus*; sazan, kızıl çipura ve sarı kuyrukta göz hastalıkları, *Clostridium botulinum*; salmonidlerde üretilen botulizm, *Vagococcus salmoninarium*; atlantik salmonu ve gökkuşacağı alabalı septisemi, *Stomopteryx difficilis*; sazan, alabalık, gümüş pomfret ve tilapiyada meningoensefalit, *Renibacterium salmoninarium*; salmonidlerde bakteriyel böbrek hastalığına, patojenik, *Bacillus sp.*; çeşitli tatlı su balıklarında septisemi ve basiller nekroz hastalığına, *Micrococcus luteus*; gökkuşacağı alabalığı mikrokocası, *Mycobacterium sp.*; birçok balık türünde mikobakteriyoz ve balık tüberkülozu, *A. hydrophila*; süs balıkları da dahil olmak üzere birçok tatlı su balık türünde üretken, *Aeromonas* septisemi, *A. salmonicida*; salmonidlerde furunculosis, *Flavobacterium sp.*; kalkan balığı, akciğer hastalığı ve birçok tatlı su balığında solungaç hastalıkları, *Photobacterium damsela*; bazı balık türlerinde (çipura balığı ve sarı

kuyruk) balıklarında fotobakteriyozis, *Pseudomonas sp.*; tatlı su balık türlerinde bakteriyel hemorajiler, *Vibrio alginolyticus*; gobialarda göz hastalıkları ve septisemi, (Austin ve Austin, 2007). Önemli kabuklu deniz ürünleri hastalıkları bakıldığında ise, karides türlerinde *Vibrio harveyi*, *Vibrio fischeri* ve *Vibrio parahaemolyticus*'un neden olduğu vibriosis veya bakteriyel hastalık, karides bakteriyel septisemi, karides vibriosis veya lüminesan vibriosislerdir (Aguirre-Guzmán ve ark., 2004).

Çizelge 1.1. Çalışmada kullanılan Patojen bakteriler ve hastalık etkenleri (Öztürk ve Altınok, 2014)

Bakteri	Hastalık	Kaynakça
<i>Yersinia ruckeri</i>	Enterik kırmızı ağız, yarsiniosis	(Austin ve Austin, 2012; Bullock ve Snieszko, 1975; Toranzo, 2004)
<i>Edwardsiella tarda</i>	Enterik septisemi, İç organlarda apseler	(Hoshina, 1962)
<i>Listonella anguillarum</i>	Vibriosis	(Austin ve Austin, 2012; Toranzo ve ark, 2005)
<i>Citrobacter sp.</i>	Pankreas nekrozu	(Sato ve ark., 1982)
<i>Streptococcus iniae</i>	Sıcaksu treptokokozu	(Hoshina ve ark., 1958)

1.3. Bakteriyel Hastalıkların Kontrolü ve Karşılaşılan Sorunlar

Su ürünleri yetiştiriciliğinde, vitaminler, hormonlar, antibiyotikler, diğer bazı sentetik kimyasallar ve büyüme arttırıcıları antibakteriyeller olarak kullanılmışlardır (Jayaprakas ve ark., 1996). Hem balık hem de karides üzerinde olumlu etkileri olsa da özellikle çeşitli sebeplerden dolayı su ürünleri işletmelerinde antibiyotik önerilmez. Su ürünleri yetiştiriciliğindeki olumsuzluklar, nispeten yüksek maliyet, toksisite, yasak veya belirsiz düzenleyici statüleri, tatbiki zor olan uygulama yolları, zayıf emilim, çevre üzerindeki belirli etkiler ve dirençli bakterilerin insanlara aktarılması gibi durumlardan dolayıdır (Sambhu, 1996). Genel olarak balıklar için büyük ticari havuzlarda hasattan sonra su boşaltımı yapılmaz, bu nedenle yüksek miktarda ilaç bulunabilir, bu da daha sonra havuzlara yeni atılan balıklarda antibiyotik kalıntılarına ve aktif dirençli bakterilere maruz kalabilirler.

Deniz balıklarında kullanılan kuluçkahanelerde tedavi amaçlı olarak antibiyotiklerin rasgele kullanımı, dirençli suşların gelişmesine yol açmış ve diğer antibiyotiklere geçişi gerektirmiştir. Antibiyotikler ayrıca larvaların büyümesini azaltabilir ve savunma mekanizmalarını engelleyebilir. Zayıf bağışıklık sistemleri ve antibiyotiklerle

birleştirilemeyen özellikli patojenlere bağlı olarak çok yüksek mortaliteye neden olabilir (Brown, 1989).

Günümüzde çoğu antibiyotikler, patojenik bakteriler arasında antibiyotiğe karşı direncin artmasıyla birlikte balık yetiştiriciliğinde başta bakteriyel hastalıklar olmak üzere su ürünleri kültür yetiştiriciliğinde hastalıkların kontrolünde etkili değildir. Ayrıca, birçok ülke su ürünleri yetiştiriciliğinde halkın sağlığından kaygılandıkları için ve maruz kaldıkları çevresel tehlikeler sebebiyle antibiyotik kullanımını yasaklamıştır (Lee ve ark., 2009). 2006 yılından sonra, su ürünleri kültüründe büyüme artırıcı olarak antibiyotik kullanımı AB’de tamamen yasaklanmıştır. Hindistan Deniz Ürünleri İhracat ve Geliştirme Kurumu (MPEDA), kuluçka sahiplerine ve çiftçilere, sağlık ve çevre üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle bazı antibiyotikleri kullanmamaları talimatını vermiştir (Sanandakumar, 2002).

1.4. Su Ürünlerinde Antibiyotik Tanımı

Su ürünleri sektörü dünyada ve ülkemizde hızla büyümekte ve büyümeye de devam etmektedir. Fakat hastalık patojenleri bu sektörü olumsuz etkilemekte, bazı canlıların büyümesi etkileyen ilk etken olarak ortaya çıkmaktadır. Patojenlerin balıklar üzerinde oluşturdukları hastalıkların tedavisi için antibiyotikler çok önemli bir yere sahiptir. Antibiyotiklerin kullanımda farklılık göstermesi canlının hastalık etkeniyle durumuna bağlı olarak yeme katılarak, enjeksiyon ile veya suya katılarak kullanılırlar (Avsever ve ark., 2010). Balıklarda kullanılan antibiyotiklere son dönemlerde sınırlamalar getirilmiştir. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) balıklar için florfenikolün, sulfamerazin, sulfadimetoksin-ormetoprim ve oksitetrasiklin dihidratın yasal olarak kullanımına izin vermektedir. Fakat Avrupa ülkelerinde ise bu maddelere ek olarak flumekuın bileşikleri, amoksisilin, sarofloksasin, sulfadiazin+trimetoprim, oksitetrasiklin, florfenikol ve oksolinik asit gibi maddelerin kullanımı su ürünleri sektöründe lisans alınarak kullanılmaktadır. Ülkemizde ise ruhsatlı oksolinik asit, sulfadiazin+trimetoprim, florfenikol, enrofloksasin, oksitetrasiklin, amoksisilin gibi 35 madde vardır (Baydan ve ark., 2012). Su ürünlerinde tedavi ve büyümeyi desteklemek için kullanılan antibiyotikler hayvan ve insan sağlığını olumsuz etkilemekte ayrıca su ortamına da potansiyel zararlarının olduğunun bilinmesi gerekmektedir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde büyümenin hızlandırılması, çevreye ve insan sağlığına zararlı bir dizi gelişmeye yol açmıştır. İkincisi, özellikle gelişmekte olan ülkelerde, balık yetiştirme sırasındaki hijyen eksikliklerinden kaynaklanan bakteriyel enfeksiyonları önlemek için bu sektördeki profilaktik antibiyotiklerin yaygın ve sınırsız kullanımı ile gösterilmektedir. İnsan tıbbında faydalı biyobozunur antibiyotikler de dâhil olmak üzere

geniş çapta çok çeşitli antibiyotiklerin kullanımı, su ortamında kalmalarını ve uzun süreler boyunca seçici baskılarını sürdürmelerini sağlar. Bu süreç, balık yetiştiriciliğinde antibiyotiğe dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına, balık patojenlerinde antibiyotik direncinin artmasına neden olmuştur (Alderman ve Hastings, 1998). Balık yemleri ile karıştırılması gereken büyük miktardaki antibiyotiklerin kullanımı, endüstriyel sağlığa da sorun yaratmakta ve balıkta ve balık ürünlerinde antibiyotiklerin kalıntılarının önlenmesine yönelik çalışmalar artmaktadır. Bu nedenle, biriken kanıtlar, sınırsız kullanımın balıklar, kara hayvanları ve insan sağlığı ve çevre için zararlı olduğunu gösterdiğinden, su ürünleri yetiştiriciliğinde profilaktik antibiyotiklerin daha bilinçli kullanımını teşvik etmek için küresel çabaların gerekli olduğu görülmektedir (Aarestrup ve Wegener, 1999). Balık yemleri ile karıştırılması gereken büyük miktardaki antibiyotiklerin kullanımı, endüstriyel sağlığa da sorun yaratmakta ve balıkta ve balık ürünlerinde artık antibiyotiklerin bulunmasına yönelik fırsatları arttırmaktadır. Bu nedenle, biriken kanıtlar, sınırsız kullanımın balıklar, kara hayvanları ve insan sağlığı ve çevre için zararlı olduğunu gösterdiğinden, su ürünleri yetiştiriciliğinde profilaktik antibiyotiklerin daha bilinçli kullanımını teşvik etmek için küresel çabaların gerekli olduğu görülmektedir. Balık yemleri ile karıştırılması gereken büyük miktardaki antibiyotiklerin kullanımı, endüstriyel sağlığa da sorun yaratmakta ve balıkta ve balık ürünlerinde artık antibiyotiklerin bulunmasına yönelik fırsatları arttırmaktadır. Bu nedenle, biriken kanıtlar, sınırsız kullanımın balıklar, kara hayvanları ve insan sağlığı ve çevre için zararlı olduğunu gösterdiğinden, su ürünleri yetiştiriciliğinde profilaktik antibiyotiklerin daha bilinçli kullanımını teşvik etmek için küresel çabaların gerekli olduğu görülmektedir (Cabello, 2006).

1.5. Antibakteriyel Direnç

İnsanlarda ve karasal hayvanlarda olduğu gibi, bakterilere karşı antibakteriyel direnç, su ürünleri yetiştiriciliğinde yaygın hâle gelmiştir. Enfekte balıklar ve kabuklu deniz canlıları türleri arasında yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan bazı sucul patojenlerin direnci, bu hastalıkların tedavisini yüksek maliyetlere yol açması sebebiyle önemlidir. Bu artan üretim maliyetleri üreticilerin geçimini etkiler ve tüketiciler hayvansal ürünlerin mevcut durumundan ve maliyetinden etkilenir ve uluslararası ticaret etkileri açısından potansiyeli vardır (Morley ve ark., 2005).

1.6. Gelecek İçin Antibiyotikler Olarak Tıbbi Bitkiler

Tıbbi bitkilerin içeriğindeki antimikrobiyal bileşiklerin mikrobiyal patojenlere karşı savunma mekanizması olarak kullandıkları bir gerçektir. Sentetik ilaçların %50 oranında fitokimyasallardan sonra tüketildiği tahmin edilir. Farmakoloji endüstrisinde en fazla sayıda antimikrobiyal ilaca katkıda bulunmuş olan tıbbi bitki ailesi alkaloidler, fenolikler ve diğer bileşikler gibi ikincil metabolitlerdir. Biyolojik olarak parçalanabilen daha güvenli, bitki kaynaklı bileşikler, dirençli mikroplar sorununa umut verici bir çözüm sunar (Citarasu, 2010).

1.7. Fenolikler ve Türevleri

Fenolikler yaygın adıyla polifenoller aromatik hidrokarbon grubuna ait hidroksil grubu (-OH) içeren bir kimyasal bileşikler gurubunu oluştururlar. Mikroorganizmaların etkilerine karşı savunma görevi görürler. Polifenoller proteinler ile ağır çözünür kompleksler oluşturabilen, bakterilere yapışabilen ve böylece hücre yüzeyindeki var olan reseptör mevcudiyetini bozabilir. Fenolik asitler bitkilerde yaygın olarak bulunur farklı bir grup oluştururlar. Dağıtılmış hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitlerdir. (Perumal samy ve Gopalakrishnakone, 2010). Sentetik antibiyotikler toksik ve kanserojen etkileri sebebiyle doğal antioksidan ve antimikrobiyal etkileri sahip olan fenoliklerin çalışmalarda kullanılması buna bağlı olarak da ilginin gitgide artmasına sebep olmuştur. Fenoliklerin katarakt, kalp hastalıkları, kanser, göz hastalıkları gibi bazı hastalıklara iyi geldiği söylenmektedir (Nizamlioğlu ve Nas, 2010). Bundan dolayı fenolik bileşikler bakımından yüksek içeriğe sahip sebze ve meyvelerin tüketilmesi sağlığımıza olumlu etkilerinin yanı sıra hastalıklara karşı da direç kazandıracığı söylenmektedir. Bundan dolayı bu sebze, meyve ve bitkilerin içeriği olan fenolik maddelerin tespiti önem arz etmektedir. BHA (bütil hidroksi anisol) ve BHT (bütil hidroksi toluen) benzeri sentetiklerin kansorejen ve toksik etki yapabilecekleri çalışmalarda ortaya çıkması sonucu ülkelerin bazılarında yasaklar bazı ülkelerde kısıtlamalar getirilmiştir. Bunun bir sonucu olarak baharat, meyve, bitkisel çay ve sebzelerin bilimsel çalışmalarda kullanılmaya başlanması sonucu ilgi giderek artmıştır (Nizamlioğlu ve Nas, 2010). Serbest radikaller lipit, nükleik asitlere ve proteinleri, hasarlar vermekte ve hücrenin yapısını bozarak DNA'da bulunan biyokimyasalların bozulmasına sebebiyet vererek farklı hastalıklar çıkmasını sebep olacağı söylenmektedir (Nizamlioğlu ve Nas, 2010).

Fenolik bileşikler iki ana guruba ayrılırlar. Bunlardan ilki flovonoidler bir diğeri ise fenolik asitlerdir. Fenolik asitler de iki ana guruba ayrılırlar bunlar benzoik asitler

(hidroksibenzoik asit) bir diğeri ise sinnamik asitler (hidroksisinnamik asit) dir. Genelde fenolik asitler serbest halde bulunmazlar. Amino asitler, glikozitler, proteinlerle ya da karboksil grupları karbonhidratlar reaksiyona girmekte ve amidler, fenol esterleri ve alkollerle reaksiyona girerek amino gurubu bağı olan bileşikler oluşturmuşlar (Acar, 1998). Hidroksisinnamik asitler (C6-C1) en yaygın olarak sebze ve meyvelerde bulunurlar bunlar; ferulik, sinapik, kafeik, pkumarik asitlerdir (Rommel, 1993; Acar, 1998). Bazı fenolik asitler (Çizelge 1.2) olduğu gibidir.

Çizelge 1.2. Gıdalardaki önemli fenolik asitler (Karanfil, 2013)

Hidroksibenzoik asitler(C6-C1)	Hidroksisinnamik (C6-C3)	Hidroksisinnamik türevleri
Fenolik Asitler		
Vanilik asit	o-kumarik asit	Klorojenik asit
Salisilik asit	p-kumarik asit	4Neoklorojenik asit
Sirinjik asit	Kafeik asit	Kaftarik(kefeoitartarik) asit
Gentisik asit	Ferulik asit	p-kumaroilquinik asit
p- Q-rezorsilik asit	İzoferulik asit	Kutarik (p-kumaroiltartarik asit)
hidroksibenzoik asit	Sinapik asit	İzoklorojenik asit
o-protokatesuik asit		Kritoklorojenik asit
İzovanillik asit		
m-hidroksibenzoik asit		

1.8. Organik Asitlerin Etki Mekanizmaları

Organik asitler, maya, küf ve bakteriler gibi mikroorganizmaların sebebiyet verdiği bozulmaları önlemekte ve yaygın bir şekilde yemlerde koruyucu madde olarak kullanılır (Ricke, 2003). Yeme katılan fenolik asitlerin pH'yı aşağıya çekerek, depolama sırasında veya diğer durumlarda istenmeyen mikrobiyel ajanların çoğalmasını durdurur. Bulaşma olan yemlerin az da olsa mikotoksik etkisinin olması balık üretiminde hayvanların beslenme ve sağlık açısından ciddi sorunlarla karşılaşılabilir. Bu sebeple yemin asitleştirilme hijyeni arttırmak için ve saklanması sırasında besin değerinde kayıpların olmaması için kullanılır. Bulaşma olan yemlerde düşük miktarda kullanılması bile kültürü yapılan canlılarda, özellikle su ürünleri sektöründe çok ciddi sağlık ve beslenme sorununa sebep olabilir.

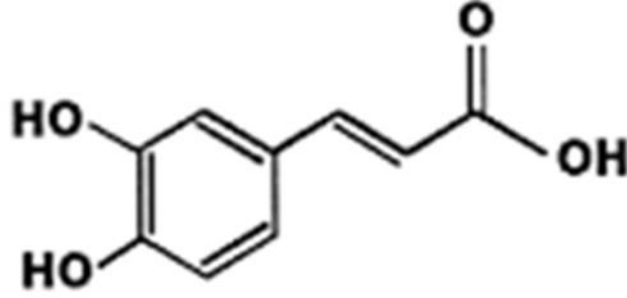
Bakteriler çoğu uygun pH olmadığı zaman gelişimleri durur ve yüksek seviyede asidik koşullarda üreyemezler. Hidrojen iyonları organik asitleri serbest bırakır pH değerini düşürürler. Asidik ortama duyarlı bakterilerin büyüme ve çoğalması bu yolla engelleyebilirler. Laktik, benzoik, sorbik, sitrik ve asetik asitler gibi zayıf bağları olan

organik asitler, içeceklerde ve gıdalarda pH' değerini aşağıya çekerek bakteriyel çoğalmayı önlemek için kullanılır (Russell ve Gould, 2003).

1.9. Kafeik Asit

Kafeik asit 3,4-hidroksi sinnamik asit olarak bilinir ve kimyasal yapısı (Şekil 1.1)'de olduğu gibidir. Bazı bitki, meyve ve sebzelerde de bulunan fenolik asitlerden birisidir. Kafeik asit, özellikle kahvede bulunan bir fenolik asittir ve kafeinden ayrı bir maddedir (Higdon ve Frei, 2006). Ayrıca, kandaki ürik asit, serum kreatinin ve üreyi düşürür ve toplam albümin ve protein değerlerinde artışa sebep olur. Ayrıca popülüstteki başlıca yararlı maddelerden olan galangin, pinosebrin, apigenin, naringenin, kaemferol, luteolin, rutin, kuarsetin, hesperidin, genkvanin, krisinlerin yanı sıra kafeik asit ve fenil esterleri de mevcuttur. Propolisin kaynağına bağlı olarak içindeki fenolik bileşikler ve miktarları değiştiğinden insan sağlığı üzerindeki etkileri de değişebilmektedir. Bu amaçla, başta Brezilya ve Bulgaristan olmak üzere yurtdışında yapılmış pek çok çalışmalar vardır (Bankova ve ark., 1998; Seidel ve ark., 2008). İklim kuşakları ve mevsimsel etkileri göze alınarak yapılan çalışmalarda antimikrobiyal etkileri daha iyi olan fenolik bileşikler kuzey Amerika, Avrupa, Çin ve Yeni Zelanda gibi ülkelerde daha yaygın olarak tespit edilmiştir.

Türkiye'de de propolislerin fenolik bileşikler bakımından içeriğiyle ilgili çalışmalar (Katırcıoğlu ve Mercan, 2006; Gençay ve Salih, 2009; Gülçin ve ark., 2010; Erdoğan ve ark., 2011) bulunmaktadır. Ancak, fenolik madde miktar analizinin yapıldığı ve ulaşabildiğimiz çalışmaları incelediğimizde likit kromatografi ile Bingöl, Rize, Tekirdağ ve Van'dan topladıkları birer propolis numunelerinde kafeik asit, gallik asit, pkumarik asit ve luteolin miktarlarının belirlenmiş olduğu görülmektedir (Erdoğan ve ark., 2011). Kafeik asitin ayrıca bağışıklık sistemini olumlu etkilerinin yanı sıra iltihaplanmayı önleyici, antioksidan olarak ilaç sanayinde geniş bir aralığı vardır (Chen ve Ho, 1997; Gülçin, 2006). Kafeik asidin farmakolojik çalışmalarda beyin iskemisindeki ve beyinde oksidatif zarara karşı koruyucu etki gösterdiğini biyokimyasal değişimlerle beraber davranışsal beyin hasarlarını önlemektedir (Zhou ve ark., 2006).



Şekil 1.1. Kafeik asitin kimyasal yapısı (Akyol ve ark., 2011)

Fenolik asitler, hidrojen iyonlarını serbest bırakır ve direkt olarak pH'yı düşürürler. Ayrıca asidik ortama hassasiyet gösteren mikroorganizmaların çoğalıp büyümesini önlemektedir. Sorbik, benzoik, laktik, asetik asit gibi fenolik (organik) asitler, antibakteriyel aktivite göstererek bakteriyel büyümeyi ve çoğalmayı sınırlandırmak için içeceklerde veya gıdalarda pH'ı düşürmek için kullanılan başlıca organik asitlerdir (Russell ve Gould, 2003).

Fenolik asitlerin antimikrobiyal ve bakteriyostatik etkisini, pH nötr yapmak için bakterilerin yarı geçirgen membranından geçerek sitoplazmada ayrışabilmesinden kaynaklıdır (Cherrington ve ark., 1991; Booth ve Stratford, 2003). Hücrede fazla protonların birikimi, sitoplazma pH'ını düşürür ve böylelikle metabolizmik enerji olarak kullanılan piruvat dekarboksilaz enziminin ve bazı hücredeki enzimlerin inhibisyonu sonucu bakteriyel hücre metabolizmasının engellenmesi sağlanmış olur. Sitoplazmik pH, fizyolojik optimal aralığın altına inerse hücrede ölüm gerçekleşir (Smigic ve ark., 2009).

Ng ve ark (2009)'e göre organik asitlerin ve tuzlarının katıldığı yemlerle balıkların beslenmesi dışkılarında ve bağırsaklarında antimikrobiyal etkisini ilk olarak bildirmişlerdir (Yılmaz ve Hunt, 2017). Organik asitler ve bunların tuzlarının bağırsak üzerindeki zararlı mikroorganizmalara antimikrobiyal etkisi, *Oreochromis sp.* (tilapya) balığı üzerinde (Koh ve ark., 2016) *Paralichthys olivaceus* (pisi balığı) üzerinde (Park ve ark., 2011), *L. vannamei* (pasifik beyaz karides) üzerinde (Da Silva ve ark. 2016) yaptıkları araştırmalar da belirtmişlerdir. Bağırsak florasında ve bileşimindeki değişimler, hayvanların büyümesine, besin maddesi kullanımına, bağışıklık üzerindeki yanıt ve patojenlere karşı direnci üzerinde önemli etkilerinin olduğunu tespit etmişlerdir (Chuchird ve ark., 2015). Bağırsak mikroflorasındaki mikrobiyolojik değişikliklerle yemlerdeki organik asitlerin, tuzlarının, ekstrektlerin veya bunların bağlantılı etkileri belirlemek için daha ayrıntılı araştırma yapılmalıdır.

Bu tezde yukarıdaki bilgiler ışığında *Y. ruckeri* E42, *L. anguillarum* SY-L24, *S. iniae*

ATCC 2917, *E. tarda* SY-ED14, *Citrobacter* sp., SY-C10 üzerine kafeik asitin antibakteriyel etkileri incelenmiştir.



BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Su ürünlerinde antibiyotiklerin kalıntı bırakması, tüketiciler açısından halk sağlığını tehdit etmektedir (Cabello ve ark., 2013). Maddi anlamda kazanç elde edilebilmesi için kültür balıkları yetiştiriciliğinde antibiyotiklerin kullanılmasına sınırlandırma getirilmesi gerektiği düşünülmektedir (Rebouças ve ark., 2011). Tüketicinin sağlığını etkilemesinin yanında çevreye verilen zararları düşünüldüğünde antibiyotiklerin ve kimyasalların zararlı etkilerini minimuma indirmek gerekir. Kültür balıkçılığında; büyüme performansını ve FCR oranını gösteren, sağlıklı ve dirençli canlılar yetiştirmek için aynı zamanda da canlı etinde kalıntı bırakmayan alternatif olarak kullanılabilir katkı maddeleri gerekmektedir. Bunlardan bazıları; probiyotik, prebiyotik, fenolik asit ve bazı enzimler olduğunu bildirmişlerdir (Barug, 2006).

Fenolik asitler, bir ya da birden fazla karboksil grubu ihtiva eden ve organik R-COOH olarak genel bir molekül yapısına sahip olan organik moleküllere denir. Organik sitler sürekli zayıf karboksilik asitler, kısa zincirli yağ asitleri veya uçucu yağ asitleri olarak adlandırılır. Hayvanların yem maddelerinde en fazla kullanılan organik asitler ise laktik asitler, formik asit, fumarik asit, propiyonik asit ve türevleri ve tuzları olduğu belirtmiştir (Cherrington ve ark., 1991).

Kısa zincirli fenolik asitler (C1-C7) veya tuzları ya da miksleri, asitleştirici olarak bilinmektedirler ve antibiyotiklere alternatif olarak ele alındığı bildirilmiştir (Ng ve Koh, 2009). Genelde, propiyonik, laktik, benzoik ve formik asitler ürünlerin bozulmasına yol açan organizmaları durdurmak için gıdalarda ve yemlerde katkı maddeleri ve koruyucular olarak kullanılır. Organik asitlerin bazılarının ise, *Salmonella* spp ve *E. coli*. gibi gıda bulunan patojen bakterilere karşı iyi antibakteriyel etkisi vardır (Cherrington ve ark., 1991). Yapılan araştırmada organik asitlerin kullanıldığı yemler ile yem tüketimi ve büyüme, yem tüketim verimliliğinin artış gösterdiği ve hastalık direncini artırdığı ve hasta canlılarda iyileşmeler olduğu belirtilmiş (Kluge ve ark., 2005). Diyetteki organik asitlerin ve bunların türevlerinin karasal hayvanlar üzerinde yaygın olarak araştırmalar yapılmasına karşı su ürünlerindeki araştırmalar hızı son yıllarda artmıştır.

Tüketicilerin sağlıklı gıda tüketme istekleri ve dünyadaki yetiştiricilik yapan çiftlik sahiplerinin de değişmesi sonucu bu duruma duyarsız kalamayan ve ekonomik yaklaşımların da sonucunda organik asit kullanımlarının dünyada artış göstermesi beklenmektedir (Ng ve Koh, 2017).

Bağırsak florası; yem kullanımı, enzim aktiviteleri, sindirim, büyüme ve hastalıklara direnç'in tespit edilmesi üzerine yem katkı maddesi olarak fenolik asitlerin etkileri araştırılmaktadır. Yapılan bu araştırmalar, katkı maddeleri üreten, yem üretimi yapan su ürünleri şirketlerini ve bu sektörle ilgili tüm yöneticilerin yararlı olabileceği kanaatine varmışlardır. Çalışmalarda, antibiyotiklere alternatif oluşturabilecek, bilimsel araştırmalarla kanıtlanabilmesi ve böylelikle su ürünlerinde sektörünün devamını ve elde edilen su ürünlerinin de tüketilebilir olması amaçlanmıştır (Yılmaz ve Hunt, 2017).

2.1. Bitki Ekstraktlarının Antibakteriyel Etkileri

Tıbbi bitkilerin mikrobiyal etkilerinden dolayı dünyanın farklı bölgelerinde kullanımının arttığı bildirilmiştir (Abutbul ve ark., 2005). Bu nedenle su ürünlerinde hastalık etkenlerinin kontrolü hususunda bitkilerden elde edilmiş organik asitlerin kullanılmasında artış olmuştur. Yapılan araştırmalara bakıldığında bazı bitki ve deniz yosunlarından elde edilen ekstraktların sucul canlılara etki eden patojenlerin artışını engellemiştir (Direkbusarakom ve ark., 1998; Abutbul ve ark., 2005; Bansemir ve ark., 2006; Dubber ve Harder, 2008). Özellikle alabalıklarda yoğun üretimle birlikte sıklıkla salgın hastalıklar baş göstermektedir ve salgın hastalıklarda tespit edilmiş patojen bakterilerin başını *Y. ruckeri* ve *L. anguillarum* çekmektedir. Patojenler sebebiyle oluşan hastalıkların tedavisinde antibakteriyellerin yaygın ve bilinçsizce kullanılması insan, çevre ve sucul canlılar üzerinde olumsuz etkiler oluşturmaktadır. Yakın zamanda su ürünleri yetiştiriciliğinde hastalıkların kontrol edilmesinde doğada tespit edilmiş bazı bitkiler kullanılmaktadır (Bansemir ve ark., 2006; Türker ve Türker 2009; Ekici ve ark., 2011).

Bansemir ve ark. (2006), ya göre Rhodophyceae (kırmızı alg) familyasına ait sucul bitki türlerinin tohumlarından elde edilmiş olan ekstraktların *Y. ruckeri*, *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas anguilliseptica*, *Aeromonas hydrophila* ve *Vibrio anguillarum* patojenlerine karşı etkisinin antibiyotiklere oranla MIC değerlerinin yüksek çıktığı bildirilmiştir.

Türkiye'deki 8 endemik bitkinin su ve alkol çözeltileriyle elde edilmiş ekstraktların 5 farklı patojen bakteriler (*Lactococcus garvieae*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Y. ruckeri* ve *A. hydrophila*,) üzerinde antibakteriyel etkilerine bakılmış ve *L. garvieae*, *S. agalactiae*, *Y. ruckeri*, *A. hydrophila* bakterilerine antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir. Fakat *Tripolium pannonicum* (Bataklik papatyası) bitkisine karşı alkol çözücüsünde elde edilen ekstraktının *E. faecalis*'e hiçbir etki göstermemiştir. Bitki

ekstraktlarının kullanılması su ürünleri yetiştiriciliğinde giderek artan bir durum olduğunu bildirmişlerdir (Türker ve ark., 2009).

Torras ve ark. (2005) yaptıkları çalışma sonucunda sahil çamından elde edilen ekstraktın, farklı 23 patojenik mikroorganizmalara gram pozitif ve gram negatif bakterilerle, mantarlar ve mayalara karşı antimikrobiyal etkilerini belirtilmiştir. Yapılan çalışmada, sahil çamından içeriğindeki pycnogenol maddesinin 20-250 µg/mL konsantrasyon aralığında mikroorganizmaların aktivitesini durdurduğunu belirtmiştir. Ayrıca bu ekstraktın antibakteriyel özelliğin yanında antiviral ve antikanserojenik özelliklerinin de tespit edildiğini söylemişlerdir.

Gao ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada insanda kronik olan bir hastalığın tedavisinde *Ganoderma lucidum* mantarının antimikrobiyal etkisinden dolayı kullanılmakta olduğunu belirtmiş. gram pozitif bakterilerde ve gram negatiflerde *Ganoderma lucidum* (reşi mantarı)' dan elde edilen polisakkarit ve triterperoidlerin antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Sadaf ve Bhatti (2011)'nin yapmış oldukları bir çalışmada *Ganoderma lucidum* dan elde edilen ekstraktın, (*B. subtilis* MTCC-1789, *Klebsiella pneumoniae* MTCC-2405, *P. aeruginosa* MTCC-779, *Salmonella typhi* MTCC-531, *E. coli* MTCC-443 ve *S. aureus* MTCC-737) patojenlerine karşı etkilerine bakılmış ve etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Wang ve ark. (2011) yapmış oldukları araştırmada farklı bölgelerden alıç meyvesinden elde edilmiş ekstraktlarının herpes virüsü ve *C. albicans* bakterisi üzerinde yaptıkları araştırmada iyi derecede etki ettiğini saptanmışlardır.

Ekici ve ark. (2011)'ye göre Asha ve ark. (2008), farklı 15 farklı bitkilerden elde edilmiş ekstraktın *A. hydrophila* ve *V. parahaemolyticus* ve *V. harvei* bakteriyel patojenlere karşı etkili olduğunu tespit etmişler. Bu bitkilerden sadece aseton çözeltisinden elde edilen *Lawsonia inermis*' ekstraktının bu çalışmada kullanılmış olan bakterilere karşı yüksek seviyede antibakteriyel etki yaptığını belirlemişlerdir. Bitki ekstraktlarının anti bakteriyel etkilerinin yüksek olması toksisitesinin düşük olması nedeniyle alternatif olarak *A. hydrophila* ve *V. parahaemolyticus* ve *V. harvei* patojenlerinin sebep oldukları hastalıkların tedavisinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Bansemir ve ark. (2006)'e göre Rhodophyceae familyası türlerinden *Falcenbergia rufolamosa*, *Gracillaria cornea*, *Ceramium rubrum*, *Halopitys incurvus*, *Drachiella minuta*, *Asparagopsis armata*'ya ait tohumlarının *P. anguilliseptica*, *A. solmonocida*, *L. Anguillarum*, *Y. ruckeri*, *A. hydrophila* patojenlerine en etkili türler olduğunu tespit etmişler. Araştırmada

bu tohum ekstraktlarının pozitif kontrol olan Oksitetrasiklinden daha yüksek MİC değerine sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Başka bir çalışmada ise deniz yosunlarından 3 tanesi (*Enteromorpha compressa*, *Ulva fasciata* ve *Gracilaria corcicata*), Mangrov bataklık bitkisi ve ağacıdan 5 adet (*Aglaia cucullata*, *Aegiceras corniculatum*, *Aegialitis rotundifolia*, *Cynometra iripa*, *Xylocarpus granatum*) kullanılmışlar ve etilasetat, kloroform, metanol çözeltileri kullanılmıyayla elde edilen ekstraktlarda antibakteriyel aktiviteye sahip balık patojenlerinden 6 (*A. hydrophila* (2 suş), *V. alginolyticus*, *P. fluorescens*, *E. tarda*, *P. aeruginosa*) bakterileri de denenmiş ve çalışmada mangrov bataklık bitkisi ve ağaçlarından *C. iripa*'nın metanol dan elde edilmiş ekstraktı patojenlerin tamamına etki ettiği bildirilmişlerdir (Choudhury ve ark. 2005).

Türker ve ark. (2009), ülkemize ait 8 endemik bitkinin su ve alkol çözeltilisinden elde edilmiş ekstraktlarının farklı 5 balık patojeni üzerinde (*L. garvieae*, *A. hydrophila*, *Y. ruckeri*, *E. faecalis* ve *S. agalactiae*) antibakteriyel etkisine bakılmış. Bitkilerden alkol çözeltilisinde elde edilen *T. pannonicum*'un ekstraktının sadece *E. faecalis* bakterisi üzerinde etkisi tespit edilmemiş diğer bakterilere karşı, *Y. ruckeri*, *A. hydrophila*, *L. garvieae* ve *S. agalactiae* antibakteriyel aktivitesini tespit etmişlerdir.

Ekici ve ark. (2011), Melisa (*Melissa oleum*), kekik (*Origanum vulgare*), zencefil (*Zingiber officinale*) biberiye, (*Rosmarinus officinalis*) karabaş, (*Lavandulae romanae oleum*) ve bitkilerinden elde edilen yağların bakteriyel patojenlerden; *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *A. hydrophila*, *L. garvieae*, *F. psychrophilum*, *Y. ruckeri* 'ye karşı anti bakteriyel etkisi bulunmuştur. Bu çalışmada, melisa yağının, *L. garvieae* hariç bütün patojenlere antibakteriyel etkisi belirlenmiş fakat diğer yağların antibakteriyel etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Türker ve ark. (2009), yapmış olduğu çalışmada ise bazı bitkilerin (*Filipendula ulmaria* (L.), *Salvia verticillata* L., *Salvia tomentosa* Miller, *Fragaria vesca* L., *Maxim*, *Thymus praecox* Opiz, *Nymphaea alba* L. ve *Nuphar lutea* (L.) Sm.) alkol ve su çözeltileri ile elde edilmiş ekstraktlarının antibakteriyel etkisini bazı patojen bakteriler olan (*E. seriolicida*, *A. salmonicida*, *Y. ruckeri*)'üzerine incelemişler ve alkolle hazırlanan bazı bitkilerin ekstraktlarının antibakteriyel etkini belirlemişlerdir.

2.2. Organik Asitlerin Kullanımları ve Antibakteriyel Etkileri

Ng ve Koh (2009)'a göre Polifenoller arasında, flavan-3-ols; flavonoller, tanenler, ve diğer polifenollere kıyasla geniş etki mekanizmaları, daha yüksek antimikrobiyal aktiviteleri ve çoğu mikrobiyal bakterileri baskılayabilmelerinden dolayı da daha fazla ilgi görürler.

Fenolik bileşiklerin türevleri olan kısa zincirli fenolik asitler, tuzları veya miksleri, yaygın kulanıma sahiptir. Antibiyotiklere alternatif olarak görüldüğünü belirtmiştir (Yılmaz ve Hunt, 2017). Genelde, laktik propiyonik, benzoik, formik asitler gibi organik asitler, ürünlerde bozulmaya yol açan bakteri ve mantarları engellemekte, gıdalarda ve yemlerde korucu olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte bazı fenolik asitlerin, *Salmonella* spp ve *E. coli* gibi gıdalarda bulunan patojen bakterilere karşı güçlü antibakteriyel etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir (Cherrington ve ark., 1991).

Ng ve ark. (2009), ise çalışmaların birçoğunda fenolik (organik) asitlerin, tuzlarının veya bu maddelerin mikslerinin balıklarda gastrointestinal sistemdeki bakterileri etkileyebileceği bildirmiş ve organik asit karışımı yemler kullanılarak beslenmiş balık dışkılarında ve bağırsak yüzeyinde antibakteriyel etkisi ilk defa bildirildiği belirtilmiştir

Chuchird ve ark. (2015), bağırsak mikrobiyotunun popülasyonu ve bileşimindeki değişimler, canlıların büyümesini, yem kullanımı, bağışıklığa verdiği yanıt ve patojenler üzerindeki direnç gösterdiğini belirlenmişlerdir. Rasyondaki organik asitler bağırsaktaki mikrobiyal değişikliklere etkilerinin belirlenmesi için ayrıntılı araştırma gerekir. Yaygın olarak kullanılan asitler ve bitki ekstraktlarının büyümeye ve antibakteriyel etkilerine bakıldığında ise;

Sitrik asit kullanılmasına ilişkin ilk araştırma gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde yapılmıştır (Fauconneau,1988). Yapılan çalışmalarda sitrik asit veya tuzları, kültür balıkçılığında en çok araştırılmış organik asit konumundadır. Birçok çalışmada sitrik asitin farklı türdeki balıklarda büyüme, yem tüketimini ve mineral tüketilebilirliğini, özellikle fosfor emiliminin artacağı ile ilgili bilimsel verilerin edildiği bildirilmiştir (Baruah ve ark., 2007; Castillo ve ark., 2014).

Gökkuşağı alabalıklarında yem asitleştirmenin mineral emilimine etkisine araştırılmıştır (Sugiura ve ark., 1998). Fosfor, magnezyum, kalsiyum ve demir emiliminin arttığını tespit etmişlerdir. Fakat aynı yemin *Carassius auratus*, üzerinde etkisinin aynı olmadığını da bu çalışmada tespit etmişlerdir. 5 hafta süren çalışma boyunca sitrik asitin gökkuşağı alabalığında yem alımı üzerine hiç etkisinin olmadığı fakat, yemlerde *C. auratus*'da belirgin bir azalmanın olduğu belirtilmişler (Sugiura ve ark., 1998).

Gökkuşağı alabalıklarında mineral maddeler üzerine (0, 4, 8 ve 16 g/kg) gibi farklı miktarlardaki sitrik asit'inin ilave edilmesiyle yapılan çalışmada ise, düşük fosfor içeriği bulunan balık yemleri ile beslenen balıkların, vücutlarında demir birikimi tespit edilmiştir. Çalışılan sitrik asitin büyümeye etkisi olmamış, fakat fosfor oranını arttırmış olduğunu belirtmişler (Vielma ve ark., 1999).

Pandey ve Satoh. (2008) Gökkuşığı alabalıklarında yapmış oldukları çalışma sonucuda balık unu azaltılmış sitrik asit ilave yemlerle beslenen balıklarda büyümede fazla bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Başka alabalık çalışmalarına paralel olarak, kalsiyum, çinko ve fosfor içerikleri artmış, organik asit katılmış yemler ile beslenen balıkların mineral emiliminin iyi düzeyde olduğu bildirmişlerdir.

Baruah ve ark. (2005)'e göre ise bağırsak pH'sı sitrik asitin ile 6,53'ten 5,70'e düşürerek, sazan balıklarında, mineral emiliminde ve büyümede önemli bir faktör olarak bulunduğunu bildirmişlerdir.

Zhou ve ark. (2009), formik asit ilaveli yem ile beslenen tilapia balıklarında balıklarında (hibrit) (*Oreochromis aureus* × *Oreochromis niloticus*) büyüme etkilerine bakılmış ve gözle görülür bir etkiye sahip olmadığını belirtmişlerdir. Sonuçların farklılığı, su ürünleri yetiştiriciliğinde koşullardaki değişimle alakalı olabileceği düşünülmektedir.

Elala ve Ragaa (2015) formik asit 2 ila 3 g/kg eklendiğinde *O. niloticus* büyümeyi, yem tüketimini ve ham protein sindirimini artmış olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumu da midede ve üst bağırsaktaki pH'nın düşüşüne bağlı olduğunu belirtmişler.

Formik asit'in bağırsak pH'sında belirlenmiş etkisinin olduğu, gökkuşığı alabalığında magnezyumun, kalsiyumun ve fosforun emilmesinde daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar, organik asitlerin türü, miktarı, yem kompozisyonu ve balık türleri üzerinde farklı sonuçları kültür koşullarındaki farklı uygulamalara bağlamışlardır (Vielma ve Lall, 1997).

Pasifik okayunusu karidesiyle yapılan araştırmalarda, büyümede önemli etkisinin olmamış fakat formik asit eklenmiş yemlerle beslenen canlıların, *Vibrio parahaemolyticus*'a karşı önemli ölçüde antibakteriyal direnç gösterdiğini bulmuşlardır (Chuchird ve ark., 2015).

Owen ve ark. (2006) Afrika kedibalığı türünde *Clarias gariepinus* üzerinde yapılmış olan araştırmada, yemdeki Na-bütiratın bağırsak mikroflorasını değişikliğe uğrattığını ancak, balıklarda SGR, PER ve FCR üzerinde önem arz eden etkisinin olmadığını belirtilmiştir.

Sparus aurata'da yapılan bir araştırmada ise 3 g/kg bütiratın balık yemine eklenmesinin büyümeyi artırdığını tespit etmişler ve bağırsak metabolizmasında fayda sağladığını belirtmişler (Robles ve ark., 2013).

Yılmaz ve Hunt. (2017)'e göre Fauconneau (1988) Gökkuşığı alabalığında süksinik asit ilave edilmiş yemlerin canlıların yem tüketimini olumsuz etkilediği, ancak enerji kullanımına ve protein aktivitesine etkisinin olmadığı belirtmişlerdir.

Sugiura ve ark. (2006)'ya göre yapılan bir araştırmada, asetik asitin yeme 50 g/kg ilavesi ile gökkuşağı alabalığında midenin ve bağırsakların pH'ını dūřürdüđü buna bağlı olarak fosfor emilimini arttırdığını bildirmişler.

Format, asetat, sitrat laktat, butirat ve propionat gibi farklı organik asitlerin ve bunların tuzlarının çeşitli çalışmalar yapılmış, Na-propiyonat 20 g/kg ilave edilmiş bu yemlerle beslenen pasifik beyaz karidesi ve deniz karidesleri yem tüketimini arttırdığını tespit edilmiştir. Potansiyel olarak önemli etkiye sahip olan organik asit tuzunun Na-propiyonatu olduğunu tespit edilmiştir (Da Silva ve ark., 2016).

Diğer araştırmalarında ise Na-propiyonat'ın yemdeki ilave oranları (5, 10 veya 20 g/kg) olarak ayarlanmış ve tüm oranlarda karideslerdeki büyüme ve yem alım verimini arttırdığını tespit etmişler. Na-fumarat, Na-propiyonat'a oranla etkisinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Da Silva ve ark, 2016).

Fenolik (organik) asitler veya bunların tuzlarının araştırılması, farklı türlerdeki balıklar için yem formülasyonlarında fenolik asitlerin doğru oranlarda kullanılmasının ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Doğru olmayan düzeyde organik asitlerin kullanılması, balıklarda antibakteriyel etkinliğinin hiç olmadığı veya azaldığı, canlılarda büyüme veya fizyolojisinin üzerinde olumsuz etkileri hatta zararlı etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarda görölmektedir.

Su ürünleri yetiştiriciliğinde kùltürü yapılan canlı bakıldığında, kullanılması dūřünülen en uygun organik asidin tespit edilmesi, etkisinin ne biçimde olacağının belirlenmesi vede bunun üzerinden değerlendirmeler yapmak için çok daha fazla araştırma ihtiyaç vardır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Patojen Bakteri Materyali

Çanakkale onsekiz mart üniversitesi su ürünleri fakültesinden temin edilmiştir. Tez çalışmasında balıklarda yaygın olarak karşılaşılan *Y. ruckeri*, E42, *L. Anguillarum* SY-L24, *S. iniae* ATCC 2917, *E. tarda* SY-ED14, *Citrobacter* sp., SY-C10 kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. *In vitro* denemelerde kullanılacak olan balık patojeni bakteriler

Bakteri	Açıklama	Üreme Ortamı	(°C)
<i>Citrobacter</i> sp., 1-6	Patojen	MH,TS	28
<i>Edwardsiella</i> 1-8	Patojen	MH,TS	28
<i>Listonella</i> sp., 1-6	Patojen	MH,TS*	24
<i>Streptococcus</i> sp., 1-3	Patojen	BH	37
<i>Yersinia</i> sp., 1-6	Patojen	MH,TS	22

*%1,5 tuzlu besi ortamı, MH-Muller Hinton besi ortamı, BH: Breart besi ortamı

TS: Triptik soy besi ortamı

3.2. Kafeik Asit Materyalinin Temini

Kafeik asit ticari ürün (Carl Roth GmbH + Co. KG) olarak piyasadan satın alınmıştır.

3.3. Disk Difüzyon Testi

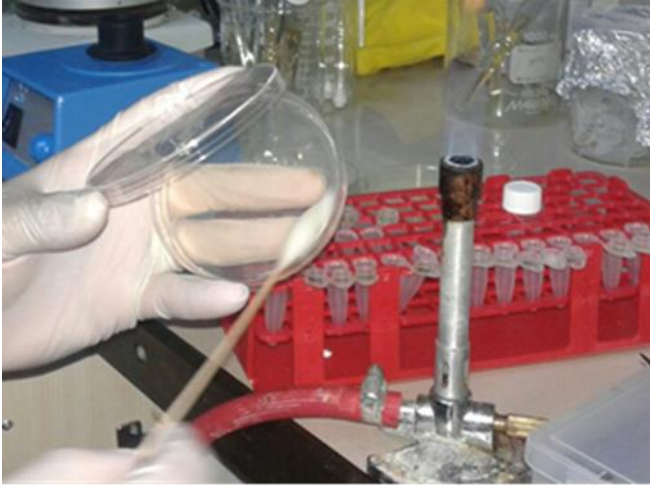
Disk difüzyon testi için Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2005) standartları uygulanmıştır (Miller, 2003,CLSI 2005).

Bu amaç ile patojen bakteriler ve probiyotikler uygun sıcaklık ve sıvı besiyerlerinde üretilen yoğunlukları 0,5 McFarlant olacak şekilde (Şekil 3.1.) olduğu gibi ayarlanmıştır. Devamında ise bakteri türleri için uygun katı besiyeri üzerine yoğunluğu ayarlanmıştır (0,5 McFarlant). Sıvı besiyerlerinde üremiş bakterilerden steril pamuk svab ile geçiş yapılmıştır (Şekil 3.2). Geçiş yapıldıktan sonra disk difüzyon testi için steril diskler katı besiyeri üstüne konulacak ve kafeik asit (2 mg /disk) 20 µL emdirilmiştir (Şekil 3.3). Kuluçkalanmaları (inkübe) için inkübasyon cihazına konuşmuştur (Şekil 3.4). Gerekli olan kuluçka sıcaklık ve üremelerinden sonra oluşan zonlar (CLS, 2005) ölçülmüştür (Şekil 3.5). Petriler 24 saatlik inkübasyondan sonra oluşmuş olan inhibisyon zon çaplarının ölçülmesi sonucu

antibakteriyal etkiye sahip olup olmadığı belirlenmiştir. Çalışma iki paralelli set olarak yapılmıştır.



Şekil 3.1. Tüplerde bakteri kültürü (orijinal)



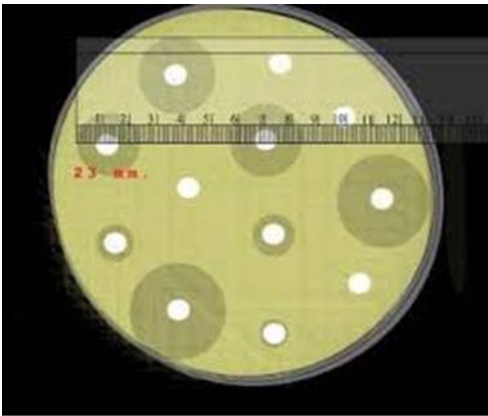
Şekil 3.2. Svab yöntemiyle agar yüzeyine bakteri ekimi (orijinal)



Şekil 3.3. Disklerin agar üzerine yerleştirilmek üzere hazırlanması (orijinal)



Şekil 3.4. Disklerin ve plakaların inkübasyonu için kullanılan kuluçka cihazı (inkübatör) (orijinal)



Şekil 3.5. Disk Zonlarının tespiti

3.4. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC)

Minimum inhibitör konsantrasyonu analizi Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2006) tarafından belirtilen metotlar ile yapılmıştır. Çözücü olarak DMSO (%5) kullanılmıştır. Organik asit stok solüsyonu (2500 µg/mL) uygun üreme besi ortamı içerisinde hazırlanacak sonra 100 µL besi ortamı 100 µL stok solüsyonu ilave edilecek 96 plakalar içerisinde iki katlı seyreltmeler (2500-0,15 µg/mL) yapılmıştır. Devamında kuyucuklara 100 µL bakteri süspansiyonu (10^5 CFU/mL) ilave edilmiştir. Kontrol kuyucuklarına:

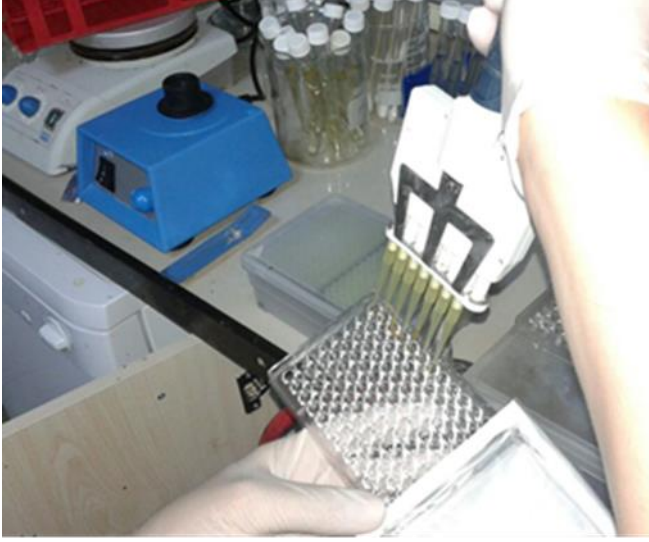
1-Sadece 2500 µL bakterili besi ortamı

2- DMSO ve her organik asitin her bir konsantrasyonlarını içeren 2500 µL bakterisiz besi ortamı

3-Sadece 2500 µL bakterisiz besi ortamı konulmuştur.

Devamında plakalar optimum üreme sıcaklıklarında ve besi ortamlarında 24 saat inkübatörde üremeye bırakılmıştır. MİK değeri üremeyi inhibeden konsantrasyona bakılarak belirlenmiştir.

MİK değeri, mikroorganizmalarda büyümenin olmadığı en düşük organik asit konsantrasyonu olarak değerlendirilmiştir. Kafeik asitin bu çalışmada kullanılan beş bakteriye karşı MİK değerleri mikro plaka mikrodilüsyon metodu kullanılarak saptanmıştır. Müller Hinton Broth (MHB)'a inoküle edilen bakteriler 12 saat inkübe edildikten sonra yoğunlukları steril PBS kullanılarak Mc Farland 0,5'e (10^8 KOB/mL) ayarlanmıştır. Kafeik asitten 1000 µg/mL'lik çalışma stokları etanol kullanılarak hazırlanmıştır. Çalışma stoğundan alınan miktar ile aynı miktardaki etanol (1:1) karıştırılarak ve her seferinde yarıya düşürülerek (2500; 1250; 625; 312,50; 156,25; 78,12; 39,06; 19,53; 9,76; 4,88; 2,44; 1,22; 0,61; 0,30; 0,15 µg/mL) 15 farklı konsantrasyonlar oluşturulmuştur (Şekil 3.6). 96 çukurlu mikropalakaların her bir çukuruna hazırlanan konsantrasyonlardan 100 µL ve hazırlanan bakteri kültüründen 100 µL eklenmiştir. Kontrol olarak eşit hacimde etanol ve MHB karıştırılarak kullanılmıştır. Mikropalakalar (Çizelge.3.1)'de belirttiği sıcaklıklarda 24 saat inkübe edildikten sonra örneklerdeki mikrobiyal büyüme gözle izlenmiştir.



Şekil 3.6. Ekim yapılan plakalar (orijinal)

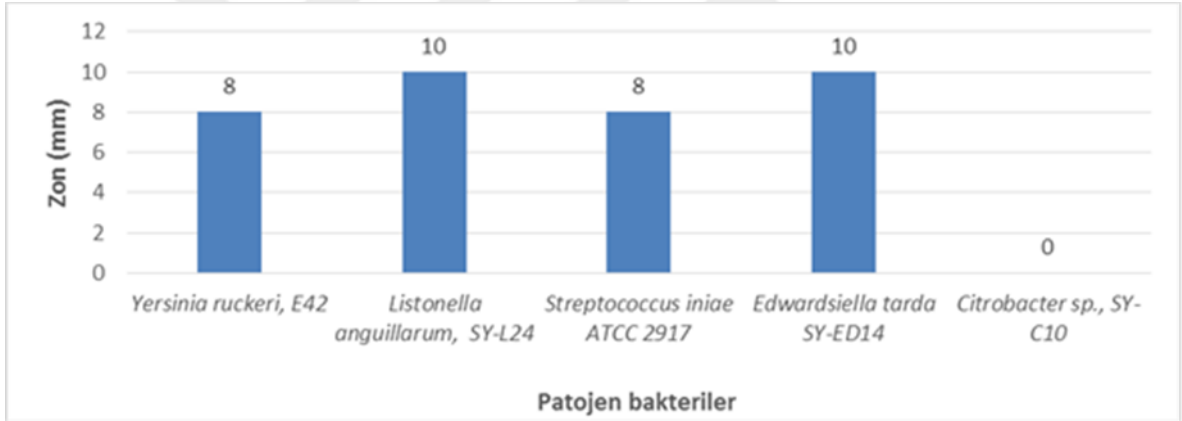
BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

Bu tez çalışmasında kafeik asitin patojenlere karşı disk difüzyon test sonuçları *Y. ruckeri* E42 için 8 mm, *L. Anguillarum* SY-L24 için 10 mm, *S. iniae* ATCC 2917 için 8 mm, *E. tarda* SY-ED14 için 10 mm *Citrobacter sp.*, SY-C10 için 0 mm olarak belirlenmiştir. Disklerdeki inhibisyon zon değerleri (Şekil 4.1) verilmiştir.

Kafeik asit'in MİK değerlerine bakıldığında ise *Y. ruckeri* E42 için 2500 µg/mL, *L. anguillarum* SY-L24 için 1250 µg/mL, *S. iniae* ATCC 2917 için 2500 µg/mL, *E. tarda* SY-ED14 için 312,5 µg/mL *Citrobacter sp.*, SY-C10 için 2500 µg/mL olarak ölçülmüş ve *E. tarda* SY-ED14 (312,50 µg/mL)'ün diğer bakterilere göre minimum inhibisyon konsantrasyonu sonucu daha iyi çıkmıştır. MİK değerleri (Çizelge 4.1) verilmiştir.



Şekil 4.1. Disklerdeki inhibisyon zon değerleri

Çizelge 4.1. *Y. ruckeri*, *L. anguillarum*, *S. iniae*, *E. tarda*, *Citrobacter sp.* Patojenlerine karşı kafeik asitin MİK değerleri (µg/mL)

Miktar (µg/ml)	Patojen Bakteriler				
	<i>Y. ruckeri</i> E42	<i>L. anguillarum</i> SY-L24	<i>S. iniae</i> ATCC 2917	<i>Citrobacter sp.</i> , SY-C10	<i>E. tarda</i> SY-ED14
2500	-	-	-	-	-
1250	+	-	+	+	-
625	+	+	+	+	-
312,50	+	+	+	+	-

156,25	+	+	+	+	+
78,12	+	+	+	+	+
39,06	+	+	+	+	+
19,53	+	+	+	+	+
9,76	+	+	+	+	+
4,88	+	+	+	+	+
2,44	+	+	+	+	+
1,22	+	+	+	+	+
0,61	+	+	+	+	+
0,30	+	+	+	+	+
0,15	+	+	+	+	+
Kontrol	+	+	+	+	+

4.2 Tartışma

Yapılan bir çalışmada enginar yaprakları ekstraktlarından elde edilmiş fenolik asitlerden 3-O-dicaffeoylquinic asit türevi olan 3 organik asit (Klorojenik asit, 4,5-O-dicaffeoylquinic asit, 3,5-O-dicaffeoylquinic asit)'in antibakteriyal patojen bakterilerden gram-pozitif (*B. subtilis* CGMCC1.1849, *S. aureus* ATCC6358P, *A. tumefaciens* CGMCC1.1415, ve *M. luteus* CGMCC1.880.) ve gram negatif (*E. coli* CGMCC1.90, *S. typhimurium* CGMCC1.1190, ve *P. aeruginosa* CGMCC1.2031) bakterilere karşı antibakteriyal etkisine bakılmıştır (Zhu ve ark., 2004). Yapılan çalışmada organik asitlerin MİC dreğerleri; 3,5-O- dicaffeoylquinic asitin; *B. subtilis* için 200 µg/mL *S. aureus* için 200 µg/mL, *A. tumefaciens* için 200 µg/mL ve *M. luteus* için 100 µg/mL, *E. coli* için 200 µg/mL etkili olduğu bildirilmiştir. Ancak *S. typhimurium* ve *P. aeruginosa* için hiçbir etki göstermediği tespit edilmiştir. Klorojenik asitin; *B. subtilis* için 200 µg/mL, *S. aureus* için 200 µg/mL, *A. tumefaciens* için 100 µg/mL, ve *M. luteus* için 100 µg/mL, *E. coli* için 200 µg/mL, *S. typhimurium* için 200 µg/mL, ve *P. aeruginosa* için 200 µg/mL olarak tespit edilmiş, 4,5-O-dicaffeoylquinic asitin ise; *B. subtilis* için 200µg/mL *S. aureus* için 100 µg/mL, *A. tumefaciens* için 200 µg/mL, ve *M. luteus* için 50µg/mL, *E. coli* için 100 µg/mL olarak tespit edilmiş fakat *S. typhimurium* ve *P. aeruginosa* için hiçbir etki göstermediği belirtilmiştir (Zhu ve ark., 2004).

Diğer bir çalışma polifenolik asitlerden 3 organik asitin (gallik asit, p-anisik asit ve sinnamik asit)'in seçilen gram negatif bakteriyel patojenlere (*A. hydrophila* MTCC646, *A.*

salmonicida MTCC1522 ve *E. tarda* MTCC2400) karşı antibakteriyel etkisine bakılmıştır (Prasad ve ark., 2014). Yapılan *in vitro* denemede organik asitlerin MİC değerleri gallik asitin; *A. hydrophila* için 0,96 mg/mL, *A. salmonicida* için 1,25 mg/mL, *E. Tarda* için 1,25 mg/mL, p-anisik asitin; *A. hydrophila* için 1,14 mg/mL, *A. salmonicida* için 1,25 mg/mL, *E. Tarda* için 1,04 mg/mL, sinnamik asitin; *A. hydrophila* için 1,14 mg/mL, *A. salmonicida* için 0,83 mg/mL, *E. Tarda* için 1,04 mg/mL olarak tespit edilmiştir (Prasad ve ark., 2014).

Yapılan başka bir çalışmada bazı bitkilerden elde edilen ekstraktları civanperçemi, karanfil, limon balsamı, fesleğen, guava, nar, biberiye, adaçayı, jambolan ve kekik, bazı fitokimyasal maddeler öjenol ve farnezol ve 2 organik asit olarak da benzoik, ve sinnamik asitin antimikrobiyal etkilerine bakılmıştır. Çalışmada patojen bakteri olarak, *B. subtilis*, *E. coli*, *Proteus* spp, *Shigella* spp, *S. aureus*, *Proteus* spp, *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *K. pneumoniae*, *S. choleraesuis* kullanılmıştır (Nascimento ve ark., 2000). Disk difüzyon inhibisyon zonu ≥ 7 mm (+) olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmadaki Organik asitlere bakıldığında sinnamik asitin disk difüzyon test sonuçları *Shigella* spp (-), *K. pneumoniae* (-), *E. aerogenes* (+), *B. subtilis* (-), *C. albicans* (+), *Proteus* spp (-), *S. aureus* (+), *P. Aeruginosa* (-), *E. coli* (+), *S. aureus* (+), *S. choleraesuis* (-). Diğer bir organik asit olan benzoik asitin disk difüzyon test sonuçları ise *Proteus* spp (-), *E. coli* (+), *B. subtilis* (-), *K. pneumoniae* (-), *S. aureus* (-), *S. choleraesuis* (-), *Shigella* spp (-), *Proteus* spp (-), *P. Aeruginosa* (-), *E. aerogenes* (-), *C. albicans* (-), *P. aeruginosa* (-), *S. aureus* (-) olarak bulunduğu bildirilmiştir (Nascimento ve ark., 2000). Bu çalışmada ise zon çapı literatürde genel olarak daha çok kabul gören 12 mm ve üzeri olarak değerlendirilmiştir. 7 mm ve üzeri zon çapının etkili olduğunu varsayarsak bu çalışmada *Citrobacter* sp., hariç diğer patojenlere karşı kafeik asitin disk difüzyon testi açısından etkili olduğu görülmektedir. Ancak, daha detaylı çalışmalar ile canlı üzerinde bu etkilerin doğruluğu desteklenmelidir.

Fekal sudaki bakteriler (*E. coli* ATCC25922, *E. coli* CECT5947, Mutant *E. coli* lpxc/tolC, *S. aureus* EP167, *P. aeruginosa* PAO1) üzerine yenen gıdalarda en bol bulunan fenolik asitlerden 13 organik asidin etkisine bakılmış ve antibakteriyel duyarlılığı yüzde (%) olarak ifade edilmiştir (Cueva ve ark., 2010). *E. coli* ATCC25922; benzoik asit için %63, 3-hidroksibenzoik asit için %0, 4-hidroksibenzoik asit için %0, 3,4-dihidroksibenzoik asit için %0, 4-hidroksi-3-metoksibenzoik asit için %5, fenilasetik asit için %5, 3-hidroksifenilasetik asit için %0, 4-hidroksifenilasetik asit için %0, 3,4-dihidroksifenilasetik asit için %0, fenilpropiyonik asit için %2, 3-hidroksifenilpropiyonik asit için %0, 3,4-dihidroksifenilpropiyonik asit için %0, ve 4-hidroksifenilpropiyonik asit için %0, etki ettiğini belirtilmiştir. Bir diğer bakteri olan *E. coli* CECT5947; benzoik asit için %100, 3-

hidroksibenzoik asit için %30, 4-hidroksibenzoik asit için %12, 3,4-dihidroksibenzoik asit için %0, 4-hidroksi-3-metoksibenzoik asit için %30, fenilasetik asit için %100, 3-hidroksifenilasetik asit için %29, 4-hidroksifenilasetik asit için %14, 3,4-dihidroksifenilasetik asit için %0, fenilpropiyonik asit için %100, 3-hidroksifenilpropiyonik asit için %13, 4-hidroksifenilpropiyonik asit için %35, 3,4-dihidroksifenilpropiyonik asit için %0 etki ettiği belirtilmiştir. Bir diğer bakteri olan Mutant *E. coli* lpxc/tolC; benzoik asit için %100, 3-hidroksibenzoik asit için %100, 4-hidroksibenzoik asit için %100, 3,4-dihidroksibenzoik asit için %30, 4-hidroksi-3-metoksibenzoik asit için %100, fenilasetik asit için %100, 3-hidroksifenilasetik asit için %100, 4-hidroksifenilasetik asit için %85, 3,4-dihidroksifenilasetik asit için %35, fenilpropiyonik asit için %100, 3-hidroksifenilpropiyonik asit için %100, 4 hidroksifenilpropiyonik asit için %100, 3,4-dihidroksifenilpropiyonik asit için %48 etki ettiği belirtilmiştir. Diğer bir bakteri ise *S. aureus* EP167 karşı, benzoik asit için %94,35, 3-hidroksibenzoik asit için %90,54, 4-hidroksibenzoik asit için %97,20, 3,4-dihidroksibenzoik asit için %55,60, 4-hidroksi-3-metoksibenzoik asit için %71,89, fenilasetik asit için %72,78, 3-hidroksifenilasetik asit için %70,40, 4-hidroksifenilasetik asit için %65,75, 3,4-dihidroksifenilasetik asit için %33,53, fenilpropiyonik asit için %89,54, 3-hidroksifenilpropiyonik asit için %67,21, 4-hidroksifenilpropiyonik asit için %69,89, 3,4-dihidroksifenilpropiyonik asit için %40,73 etki ettiği belirtilmiştir. Fenolik asitlerden 13 organik asidin hiçbiri *P. aeruginosa* PAO1 karşı ise duyarlı olmadığı bildirilmişlerdir (Cueva ve ark., 2010).

Yapılan diğer bir çalışmada ise beş aromatik bileşiğin (timol, karvakrol, sitral, öjenol, geraniol) dört organik asitin (asetik asit, sitrik asit, laktik asit , pirofosforik asit) ve bunların kombinasyonlarının *S. typhimurium* ATCC13311 *in vitro* etkilerine bakılmıştır (Nazer ve ark., 2005). Organik asitlerin MİC değerleri mM olarak ifade edilmiş; pirofosforik asit için 20.8 mM, sitrik asit için 40 mM, asetik asit için 50 mM, laktik asit için 60 mM tespit edilmiş ve elde edilen veriler ışığında en etkili organik asidin Pirofosforik asit olduğu belirtilmiş (Nazer ve ark., 2005).

Yapılan başka bir çalışmada 29 tane fin bitkisinden (papatya, solucan otu, beyaz huş ağacı, kırmızı pancar, karga çalısı, biberiye, funda, yaban mersini, küçük kızılçık, bataklık yaban mersini, kırmızı yaban metrsini. frenk üzümü, kekik, soğan, kırmızı hevulma, söğüt otu, Norveç ladini, sarı çam, yulaf, çavdar, aronya, erkek sakalı, Malus elma, gülgiller yaprakları, ahu dudu , dağ külü, keçi söğüdü, patateslerden edilen fenolik bileşiklerden: kafeik asit, gallik asit, protocatekuik asit, naringenin flavone, quercetin, morin, rutin,

naringin, (+)-catechin, kaempferol, (+/-)-catechin'in antibakteriyal etkisine bakılmıştır (Rauha., 2000). Yapılan çalışmada fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi yok < 1 (-) mm olarak, hafif antimikrobiyal aktivite >1–3 mm (~), orta antimikrobiyal aktivite > 3–4 mm (+): Temiz antimikrobiyal aktivite, > 4–10 mm (++) , güçlü antimikrobiyal aktivite > + 10 mm (+++):olarak ifade edilmiştir. Bu çalışmada antibakteriyel etkisine bakılmış olan fenoliklere bağlı organik asitlerden kafeik, gallik ve protocatekuik asitlerin içerisinde sadece protocatekuik asitin *P. aeruginosa* ATCC9027 üzerinde temiz antimikrobiyal aktivite ve *M. luteus* YMBL üzerine orta düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *S. aureus* DSM20231, *S. epidermidis* ATCC12228, *S. epidermidis* FOMK, *B. subtilis* ATCC9372, *B. subtilis* ATCC6633, *M. luteus* YMBL, *E. coli* ATCC8739, *E. coli* ATCC11775, *P. aeruginosa* ATCC9027 bakterileri üzerine ise test edilen organik asitlerin herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Rauha, 2000). Bu çalışmada ise güçlü antimikrobiyal aktivite > + 10 mm zon çapının olduğunu varsayarsak bizim çalışmamızda *L. anguillarum* SY-L24 ve *E. tarda* SY-ED14 karşı kafeik asitin disk difüzyon testi açısından güçlü antimikrobiyal aktivite etkisi gösterdiği, temiz antimikrobiyal aktivite, > 4–10 mm olduğunu var sayarsak ise *Y. ruckeri* E42 *S. iniae* ATCC 2917 ise temiz antibakteriyal etki gösterdiği görülmektedir. Ancak, canlı üzerinde daha detaylı çalışmalar ile bu etkilerin doğruluğu desteklenmesi gerekmektedir.

Yukarıdaki çalışmalar değerlendirildiğinde kafeik asitin ve/veya türevlerinin farklı patojen bakteriler üzerinde farklı antimikrobiyal etkisinin olduğu gözükmektedir. Ayrıca çalışmalarda disk difüzyon zon çaplarının değerlendirme ölçütünde farklılıklar içermesi bizim bulgularımızla diğer çalışmalardaki bulguların karşılaştırılmasını güçleştirmektedir. Sonuç olarak bizim çalışmamızda kafeik asitin kabul edilen etkili zon çapı 12 mm ve üzeri olarak değerlendirildiğinde disk difüzyon testi açısından güçlü bir etkisinin olmadığı söylenebilir. Ancak diğer çalışmalarda etkili zon çapları daha düşük değerlendirilmiştir. Bu durumda daha detaylı çalışmalar yapılması gerektiği anlaşılmaktadır.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Patojen bakteriler antimikrobiyal ajanlara direnç göstermeleri tüm dünyada her geçen gün artmaktadır. Antibakteriyal ajanlara karşı gösterdikleri direnç mekanizmalarının anlaşılması ve bunlara uygun yeni antibakteriyal ajanların tespiti ve kullanımına karşı kısa sürede yeniden direnç mekanizmaları geliştirmeyi başarmaktalar. Gelişmekte olan ülkelerde antibakteriyal kontrolsüz ve yaygın bir şekilde kullanmaları bakterileri dirençli hali getiren bir döngü haline gelmiştir (Akalin, 1994). Son yıllarda antibiyotiklerin kontrolsüz kullanımından dolayı son yıllarda antibiyotik direncinin artarak sorun olmaya başladığı bildirilmektedir (Jones, 1998; Guillemot, 1999). Bu durum su ürünleri sektörü açısından bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Fenolik bileşiklerin doğal antioksidan özellik göstermesi ve sentetik antibiyotiklerin ise kanserojen ve toksik etkileri sebebiyle biyolojik olarak parçalanabilen daha güvenli, bitki kaynaklı bileşikler olması sebebiyle dirençli mikroplar sorununa umut verici bir çözüm sunmaktadır (Citarasu, 2012). Organik asitlerle ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır ve çalışmaların birçoğu yetersiz kalmaktadır. Bütün bu bilgiler ışığında yapmış olduğumuz *in vitro* çalışmasında kafeik asitin çalışılan balık patojenlerine karşı antibakteriyel etkisine bakılmıştır ve *E. tarda* SY-ED14 MİC değeri diğer patojenlerden daha iyi sonuç vermiştir. Ancak, ileriki çalışmalarda *in vivo* hayvan deneyleri ile yeme ilave edilen kafeik asitin balıkların *E. tarda* patojenine karşı hastalık direnci kazanımlarının araştırılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Aarestrup F. M., Wegener H. C., 1999. The Effects of Antibiotic Usage in Food Animals on The Development of Antimicrobial Resistance of Importance for Humans in *Campylobacter* and *Escherichia coli*. *Microbes and Infection*, 1(8): 639-644.
- Abutbul S., Golan Goldhirsh A., Barazani O., Ofir R., Zilberg D., 2005. Screening of Desert Plants for Use Against Bacterial Pathogens in Fish Israel Journal Aquaculture Bamidgeh, 57,71–80.
- Acar J., 1998. Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri, Gıda kimyası Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Türkiye, 435-452.
- Aguirre-Guzmán G., Meija R. H., Ascencio F., 2004. A Review of Extracellular Virulence Product of *Vibrio* species Important in Disease of Cultivated Shrimp, *Aquaculture Res* 35, 1395–1404.
- Akyol S., Armutçu F., Yiğitoğlu M. R., 2011. Propolisin Aktif Bileşenlerinden Kafeik Asit Fenetil Ester'in (Cape) Bazı Nörolojik Hastalık ve Acillerde Kullanılması. *Spatula* 1(1): 37-42.
- Alderman D. J., Hastings T. S., 1998. Antibiotic Use in Aquaculture: Development of Antibiotic Resistance–Potential for consumer health risks. *International Journal of Food Science and Technology*, 33(2): 139-155.
- Austin B., Austin D. A., 2007. Bacterial Fish Pathogens Diseases of Farmed and Wild Fish, Chichester, Springer, in Association With Praxis Publishing, 4–14.
- Austin B., Austin D. A., 2012. Vibrionaceae Representatives. In *Bacterial Fish Pathogens* Springer, Dordrecht, 357-411.
- Avsever M.L., Türk N., Tunalıgil S., 2010. The Increase of Antibiotic Resistance in Aquakulture and its Effects on Human Health. *Bornova Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 32, 19-23
- Bankova V., Boudourova. Krasteva G., Popov S., Sforcin J. M., Funari S. C., 1998. Seasonal Variations in Essential Oil from Brazilian Propolis. *Journal of Essential Oil Research*, 10(6): 693-696.

- Bansemir A., Blume M., Schröder S., Lindequist U., 2006. Screening of Cultivated Seaweeds for Antibacterial Activity Against Fish Pathogenic Bacteria. *Aquaculture*, 252(1): 79-84
- Baruah K., Pal A. K., Sahu N. P., Jain K. K., Mukherjee S. C., Debnath D., 2005. Dietary Protein Level, Microbial Phytase, Citric Acid and Their Interactions on Bone Mineralization of *Labeo Rohita* (Hamilton) Juveniles. *Aquaculture Research*, 36(8): 803-812.
- Baruah K., Sahu N. P., Pal A. K., Debnath D., Yengkokpam S., Mukherjee S. C., 2007. Interactions of Dietary Microbial Phytase, Citric Acid and Crude Protein Level on mineral utilization by rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), juveniles. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38(2): 238-249.
- Barug D., 2006. Antimicrobial growth promoters: where do we go from here?. Wageningen Academic Pub. books.google.com
- Baydan E., Yurdakök B., Aydın F.G., 2012. Afarmakoloji ve Toksikoloji AD, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara Türkiye Klinikleri J Vet Sci., 3(3):45-52
- Bondad-Reantaso M. G., Subasinghe R. P., Arthur J. R., Ogawa K., Chinabut S., Adlard R., Shariff M., 2005. Disease and Health Management in Asian Aquaculture. *Veterinary Parasitology*, 132(3-4): 249-272.
- Booth I. R., Stratford M., 2003. Acidulants and Low pH. in *Food Preservatives* 25-47. Springer, Boston, MA.
- Bullock G.L., Snieszko S.F., 1975. Hagerman Redmouth, a Disease of Salmonids Caused By a Member of The Enterobacteriaceae. United States Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Fish Disease Leaflet. 42, 1-5
- Cabello F. C., 2006. Heavy use of Prophylactic Antibiotics in Aquaculture: A Growing Problem for Human and Animal Health and For The Environment. *Environmental Microbiology*, 8(7):1137
- Cabello F. C., Godfrey H. P., Tomova A., Ivanova L., Dölz H., Millanao A., Buschmann A. H., 2013. Antimicrobial use in Aquaculture Re-Examined: Its Relevance to Antimicrobial Resistance and to Animal and Human Health. *Environmental Microbiology*, 15(7): 1917-1942.

- Castillo S., Rosales M., Pohlenz C., Gatlin III D. M., 2014. Effects of Organic Acids on Growth Performance and Digestive Enzyme Activities of Juvenile Red Drum *Sciaenops Ocellatus*. *Aquaculture*, 433, 6-12.
- Chen J. H., Ho C. T., 1997. Antioxidant Activities Of Caffeic Acid and its Related Hydroxycinnamic Acid Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7): 2374-2378.
- Cherrington C. A., Hinton M., Mead G. C., Chopra I., 1991. Organic Acids: Chemistry, Antibacterial Activity and Practical Applications. in *Advances in Microbial Physiology* 32, 87-108. Academic Press.
- Choudhury S., Sree A., Mukherjee S. C., Pattnaik P., Bapuji M., 2005. In vitro Antibacterial Activity of Extracts of Selected Marine Algae and Mangroves Against Fish Pathogens. *Asian Fisheries Science*, 18(3/4): 285.
- Chuchird N., Rorkwiree P., Rairat T., 2015. Effect of dietary Formic Acid and Astaxanthin on The Survival and Growth of Pacific white Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and Their Resistance to *Vibrio parahaemolyticus*. *SpringerPlus*, 4(1): 440.
- Citarasu T., 2010. Herbal Biomedicines: A New Opportunity for Aquaculture Industry. *Aquaculture International*, 18(3): 403–414.
- Citarasu T., 2012. Natural Antimicrobial Compounds for use in Aquaculture. in *Infectious Disease in Aquaculture*, 419-456.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2005. Methods for Antimicrobial disk Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals; Proposed Guideline. CLSI document M42-P (ISBN 1-56238-576-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA,
- Cueva C., Moreno-Arribas MV., Martín-Álvarez P.J., Bills G., Vicente M.F, Basilio A., Lopez Rivas C., Rodriguez J.M., Bartolomé B., 2010. Antimicrobial activity of phenolic acids against communal, probiotic and pathogenic bacterials. *Microbiology Research*, 161(5): 372-382.
- Da Silva B. C., Vieira F. D. N., Mouriño J. L. P., Bolivar N., Seiffert W. Q., 2016. Butyrate and Propionate Improve the Growth Performance of *Litopenaeus vannamei*.

- Aquaculture Research, 47(2): 612-623.
- Direkbusarakom S., Ruangpan L., Ezura Y., Yoshimizu M., 1998. Protective Efficacy of *Clinacanthus Nutans* on Yellow-Head Disease in Black Tiger Shrimp (*Penaeus Monodon*). *Fish Pathology*, 33(4): 401-404.
- Dubber D., Harder T., 2008. Extracts of *Ceramium Rubrum*, *Mastocarpus Stellatus* and *Laminaria Digitata* Inhibit Growth of Marine and Fish Pathogenic Bacteria At Ecologically Realistic Concentrations. *Aquaculture*, 274(2-4): 196-200.
- Ekici S., Diler Ö., Didinen B.I., Kubilay A., 2011. Balıklardan İzole Edilen Bakteriyel Patojenlere Karşı Bazı Bitkisel Uçucu Yağlarının Antibakteriyal Aktivitesi, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 17, 47-54.
- Elala N. M. A., Ragaa N. M., 2015. Eubiotic Effect of A Dietary Acidifier (Potassium Diformate) on the Health Status of Cultured *Oreochromis niloticus*. *Journal of Advanced Research*, 6(4): 621-629.
- Erdoğan S., Ates B., Durmaz G., Yılmaz I., Seçkin T., 2011. Pressurized Liquid Extraction of Phenolic Compounds From Anatolia Propolis and Their Radical Scavenging Capacities. *Food and Chemical Toxicology*, 49(7): 1592-1597.
- Fauconneau B., 1988. Partial Substitution of Protein by A Single Amino Acid Or an Organic Acid in Rainbow Trout Diets. *Aquaculture*, 70(1-2): 97-106.
- Gao Y., Tang W., Gao H., Chan E., Lan J., Li,X., Zhou S., 2005. Antimicrobial Activity of the Medicinal Mushroom *Ganoderma*. *Food Reviews International*, 21(2): 211-229.
- Gençay Ö., Salih B., 2009. GC-MS Analysis of Propolis Samples From 17 Different Regions of Turkey, Four Different Regions Of Brazil And One From Japan. *Mellifera*, 9(17). 19-28.
- Gülçin I., Bursal E., Şehitoğlu M. H., Bilsel M., Gören A. C., 2010. Polyphenol Contents and Antioxidant Activity of Lyophilized Aqueous Extract of Propolis From Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8-9): 2227-2238.
- Gülçin İ., 2006. Antioxidant activity of Caffeic Acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217(2-3): 213-220.
- Higdon J. V., Frei B., 2006. Coffee and Health: a Review of Recent Human Research.

- Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 46(2): 101-123.
- Hoshina T., 1962. On a new bacterium, *Paracolobactrum anguillimortiferum* sp. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 28, 162-164.
- Hoshina T., Sano T., Morimoto K., Jofre J., 1958. A *Streptococcus* Pathogenic to Fish. Journal of The Tokyo University of Fisheries, 44, 57-68.
- Jayaprakas V., Sambhu C., Sunil Kumar S., 1996. Effect Of Dietary L-Carnitine On Growth and Reproductive Performance of Male *Oreochromis Mossambicus* (Peters). Fishery Technology, 33, 84-90.
- Katircioğlu H., Mercan N. 2006. Antimicrobial activity and chemical compositions of Turkish propolis from different regions. African Journal of Biotechnology, 5(11): 1151-1153.
- Kluge H., Broz J., Eder K. 2005. Effect of Benzoic Acid on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Nitrogen Balance, Gastrointestinal Microflora and Parameters of Microbial Metabolism in Piglets. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 90, 316-324.
- Koh C. B., Romano N., Zahrah A. S., Ng W. K. 2016. Effects of a Dietary Organic Acids Blend and Oxytetracycline on The Growth, Nutrient Utilization and Total Cultivable Gut Microbiota of The Red Hybrid Tilapia, *O. reochromis* sp., and Resistance to *Streptococcus agalactiae*. Aquaculture Research, 47(2): 357-369.
- Lee S., Najiah M., Wendy W., Nadirah M., 2009. Chemical Composition and Anti-Microbial Activity of The Essential Oil of *Syzygium Aromaticum* Flower Bud (Clove) 452 Infectious Disease in Aquaculture
- Morley P. S., Apley M. D., Besser T. E., Burney D.P., Fedorka-cray P.J., Papich M.G., Traub-Dargatz J. L., Weese J. S., 2005. ACVIM Consensus Statement, J Vet Intern Med., 19, 617-629
- Nascimento G. G., Locatelli J., Freitas P. C., Silva G. L., 2000. Antibacterial Activity of Plant Extracts and Phytochemicals on Antibiotic-Resistant Bacteria. Brazilian Journal of Microbiology, 31(4): 247-256.
- Ng W. K., Koh C. B., 2017. The utilization and mode of action of organic acids in the

- feeds of cultured aquatic animals. *Reviews in Aquaculture*, 9(4): 342-368.
- Ng W. K., Koh C. B., Sudesh K., Siti-Zahrah A., 2009. Effects of Dietary Organic Acids on Growth, Nutrient Digestibility and Gut Microflora of Red Hybrid Tilapia, *Oreochromis sp.*, and Subsequent Survival During a Challenge Test With *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture Research*, 40(13): 1490-1500.
- Nizamlioglu N. M., Nas S. 2010. Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(1): 20-35.
- Owen M. A. G., Waines P., Bradley G., Davies, S., 2006. The Effect of Dietary Supplementation of Sodium Butyrate on The Growth and Microflora of *Clarias Gariepinus* (Burchell 1822). in *Proceedings of The XII International Symposium Fish Nutrition and Feeding*. 147.
- Pandey A., Satoh S., 2008. Effects of Organic Acids on Growth and Phosphorus Utilization in Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fisheries Science*, 74(4): 867-874.
- Park G. H., Lee J. H., Yun H. H., Browdy C. L., Bharadwaj A. S., Bai S. C., 2011. Effects of Two Different Organic Acid Blands in Olive Flounder. *Korean Journal of Organic Agriculture*.19, 39-42.
- Perumal Samy R., Gopalakrishnakone P., 2010. Therapeutic Potential of Plants as Antimicrobials For Drug Discovery. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 7(3): 283-294.
- Prasad V. G. N. V., Swamy P. L., Rao T. S., Rao G. S., 2014. Antibacterial Synergy Between Quercetin and Polyphenolic Acids Against Bacterial Pathogens of Fish. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4, 326-329.
- Rauha J. P., Remes S., Heinonen M., Hopia A., Kähkönen M., Kujala T., Pihlaja K., Vuorela H., Vuorela, P., 2000. Antimicrobial Effects of Finnish Plant Extracts Containing Flavonoids and Other Phenolic Compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 56(1): 3-12.
- Rebouças R. H., de Sousa O. V., Lima A. S., Vasconcelos F. R., De Carvalho P. B., Dos Fernandes Vieira R. H. S., 2011. Antimicrobial Resistance Profile of *Vibrio* species Isolated from Marine Shrimp Farming Environments (*Litopenaeus vannamei*) at

- Ceará, Brazil. Environmental Research, 111(1): 21-24.
- Ricke S. C. 2003. Perspectives on The Use of Organic Acids and Short Chain Fatty Acids as Antimicrobials. Poultry Science, 82(4): 632-639.
- Robles R., Lozano A. B., Sevilla A., Márquez L., Nuez-Ortín W., Moyano F. J., 2013. Effect of Partially Protected Butyrate Used as Feed Additive on Growth and Intestinal Metabolism In Sea Bream (*Sparus aurata*). Fish Physiology and Biochemistry, 39(6): 1567-1580.
- Rommel A., Wrolstad, R. E., 1993. Composition of Flavonols in Red Raspberry Juice as Influenced by Cultivar, Processing, and Environmental Factors. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 41(11): 1941-1950.
- Russell N. J., Gould G. W., 2003. Food Preservatives. Springer Science and Business Media.
- Sadaf S., Bhatti H. N. 2011. Biosorption of Foron Turquoise SBLN Using Mixed Biomass of White rot Fungi from Synthetic Effluents. African Journal of Biotechnology, 10(62): 13548-13554.
- Sambhu C., 1996. Effect of Hormones and Growth Promoters on Growth and Body Composition of Pearlsport, *Etroplus suratensis* and White Prawn *Penaeus indicus*. Ph.D. Thesis. University of Kerala, India. 215
- Sanandakumar S., 2002. MPEDA Asks Aquafarms Not to Use Banned Antibiotics, Times News Network, 9.
- Sato N., Yamane N., Kawamura T., 1982. Systemic *Citrobacter freundii* Infection Among Sunfish *Mola mola* in Matsushima Aquarium. Bulletin of The Japanese Society of Fisheries, 48, 1551-1557
- Seidel V., Peyfoon E., Watson D. G., Fearnley J., 2008. Comparative Study of The Antibacterial Activity of Propolis From Different Geographical and Climatic Zones. Phytotherapy Research, 22(9): 1256-1263.
- Smigic N., Rajkovic A., Nielsen D.S., Siegumfeldt H., Uyttendaele M., Devlieghere F., Arneborg N., 2009. Intracellular Ph as an Indicator of Viability and Resuscitation of *Campylobacter jejuni* After Decontamination With Lactic Acid. International

- Journal of Food Microbiology, 135(2): 136-143.
- Sugiura S. H., Dong F. M., Hardy R. W., 1998. Effects of Dietary Supplements on The Availability of Minerals in Fish Meal; Preliminary Observations. *Aquaculture*, 160(3-4): 283-303.
- Sugiura S. H., Roy P. K., Ferraris, R. P., 2006. Dietary Acidification Enhances Phosphorus Digestibility but Decreases H⁺/K⁺-ATPase Expression in Rainbow trout. *Journal of Experimental Biology*, 209(19): 3719-3728.
- Toranzo A. E., Magarinos B., Romalde J. L., 2005. A Review of The Main Bacterial Fish Diseases in Mariculture Systems. *Aquaculture*, 246(1-4): 37-61.
- Torras M. A. C., Faura C. A., Schönlau F., Rohdewald P., 2005. Antimicrobial activity of Pycnogenol. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 19(7): 647-648.
- Türker H., Türker A. U., 2009. Bazı Bitki Özütlerinin Önemli Alabalık Patojenleri Üzerine Antibakteriyel Etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 5(1): 18-21
- Türker H., Yildirim A. B., Karakaş F. P., Köylüoğlu H., 2009. Antibacterial Activities of Extracts From Some Turkish Endemic Plants on Common Fish Pathogens. *Turkish Journal of Biology*, 33(1): 73-78.
- Vielma J., Lall S. P., 1997. Dietary Ormic Acid Enhances Apparent Digestibility of Minerals in Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Nutrition*, 3(4): 265-268.
- Vielma J., Ruohonen K., Lall S. P., 1999. Supplemental Citric Acid and Particle Size of Fish Bone-Meal Influence The Availability of Minerals in Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Nutrition*, 5(1): 65.
- Wang C. H., Wang Y. X., Liu H. J., 2011. Validation and Application by HPLC for Simultaneous Determination of Vitexin-2 "-O-Glucoside, Vitexin-2 "-ORhamnoside Rutin, vitexin, and Hyperoside. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 1(4): 291-296.
- Yıldırım Ö., Okumuş İ., (2004). *Aquaculture in province of Muğla and its Importance to*

Turkish Aquaculture Sub-Sector. Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 21 (3-4): 361-364

Yılmaz F. Ö., Hunt A. Ö., 2017. Organic Acids and Use in Aquaculture. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 5(8), 935-943.

Zhou Y., Fang S. H., Ye Y. L., Chu L. S., Zhang W. P., Wang M. L., Wei E. Q., 2006. Caffeic Acid Ameliorates Early and Delayed Brain Injuries After Focal Cerebral Ischemia in Rats 1. Acta Pharmacologica Sinica, 27(9): 1103-1110.

Zhou Z., Liu Y., He S., Shi P., Gao X., Yao B., Ringø E., 2009. Effects of Dietary Potassium Diformate (KDF) on Growth Performance, Feed Conversion and Intestinal Bacterial Community of Hybrid Tilapia (*Oreochromis niloticus*♀ × *O. aureus*♂). Aquaculture, 291(1-2): 89-94.

Zhu X., Zhang H., Lo R., 2004. Phenolic Compounds From the Leaf Extract of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) and Their Antimicrobial Activities. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(24): 7272-7278.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Fatih TAPAN

Doğum Yeri : Samsun

Doğum Tarihi : 02.08.1985

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : ÇOMÜ, Su Ürünleri Mühendisliği

Yüksek Lisans Öğrenimi : Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

Bildiği Yabancı Diller : Gürcüce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

- a) Yayınlar -SCI -Diğer
- b) Bildiriler -Uluslararası -Ulusal
- c) Katıldığı Projeler

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl :

İLETİŞİM

E-posta Adresi : fatihtapan99@gmail.com