

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**TUNCELİ İLİNDEKİ ALABALIKLARDA PLAZMİT KAYNAKLI KOLİSTİN
DİRENÇ GENLERİNİN MULTİPLEKS POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE
SAPTANMASI**

Esra TOPRAK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ülkü ÖZBEY**

**II. DANIŞMAN
Prof. Dr. Gökben ÖZBEY**

TUNCELİ-2023

**T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**TUNCELİ İLİNDEKİ ALABALIKLARDA PLAZMIT KAYNAKLI KOLİSTİN
DİRENÇ GENLERİNİN MULTİPLEKS POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE
SAPTANMASI**

Esra TOPRAK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ülkü ÖZBEY**

**II. DANIŞMAN
Prof. Dr. Gökben ÖZBEY**

TUNCELİ-2023

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TUNCELİ İLİNDEKİ ALABALIKLARDA PLAZMİT KAYNAKLI KOLİSTİN
DİRENÇ GENLERİNİN MULTİPLEKS POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE
SAPTANMASI

Esra TOPRAK
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez 11/01/2023 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oy birliği** ile kabul edilmiştir.

İmza	İmza	İmza
Prof. Dr. Ülkü ÖZBEY (Munzur Üniversitesi)	Doç. Dr. Önder AKSU (Munzur Üniversitesi)	Doç. Dr. Başar ALTINTERİM (Malatya Turgut Özal Üniversitesi)
BAŞKAN DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu tez, Enstitümüz **Biyoteknoloji** Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Murat KORUNUR
Enstitü Müdürü

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: YLMUB021-01

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı "Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu"ndaki hükümlere tabidir.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İmza

Esra TOPRAK

Danışman

Prof. Dr. Ülkü ÖZBEY

TEŞEKKÜR

“Tunceli İlindeki Alabalıklarda Plazmit Kaynaklı Kolistin Direnç Genlerinin Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu İle Saptanması” isimli yüksek lisans tezimin hazırlanması aşamasında eğitim ve öğretim süresince tez yazımında bilgi ve tecrübelerini esirgemeyip, tezimin projelendirme ve her aşamasında yardım ve katkılarıyla destek olan saygıdeğer danışman hocam sayın Prof. Dr. Ülkü ÖZBEY’e materyal temini ve örneklerin hazırlanması aşamalarında büyük yardımları olan Doç. Dr. Önder AKSU’ya, laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Barış OTLU’ya ve Uzm. Dr. Elif Seren TANRIVERDİ’ye, istatistik bilgilerinden faydalandığım Barış ÖZGÜN’e, teşekkür eder saygı ve şükranlarımı sunarım.

Yüksek Lisans eğitimim süresince her daim yanımda olup bana sonsuz destek veren aileme ve özellikle saygıdeğer babam Mehmet Emin KESEN’e, eşim Ubeydullah TOPRAK’a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmama MUNİBAP-YLMUB021-01 nolu proje kapsamında maddi destek sağlayan Munzur üniversitesi bilimsel araştırma projeleri birimine de ayrıca teşekkür ederim. Yüksek Lisans Tezimi biricik oğlum Ahlas Talha TOPRAK’a ithaf ediyorum.

Esra TOPRAK
TUNCELİ-2023

İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IV
TABLolar LİSTESİ.....	VI
RESİMLER LİSTESİ.....	VII
KISALTMALAR LİSTESİ.....	VIII
ÖZET.....	X
ABSTRACT	XI
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Dünya, Türkiye ve Tunceli’de Su Ürünleri Yetiştiriciliği	1
1.2. Gökkuşluğu Alabalığı (Oncorhynchus Mykiss).....	5
1.3. Escherichia Coli (E.coli)	8
1.4. Bakterilerin Yapısında Bulunan Plazmid.....	10
1.5. Plazmidlerin Bakteride Saptanması	12
1.6. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları	13
1.7. Antimikrobiyal İlaçlara Direnç Mekanizmaları	14
1.8. Polimiksinler ve Kolistin.....	16
1.9. Alabalıklarda Antibiyotik Kullanımı ve Antibiyotik Çeşitleri.....	21
1.10. Matris Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi	22
1.11. Tezin Önemi ve Amacı	23
2. MATERYAL VE METOD.....	27
2.1. Materyal	27
2.1.1. Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler.....	27
2.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	27
2.1.3. Örneklerin Hazırlanması	28
2.1.4. Numunelerin temin edilmesi.....	28
2.2. Metod.....	31
2.2.1. Kullanılan primer dizileri.....	30
2.2.2. Doku örneklerinden bakteri izolasyonu	32
2.2.3. E.coli, enterobacter spp., salmonella spp. türlerinin MALDI-TOF MS analizi ile tanımlanması	33
2.2.4. Bakterilerden DNA izolasyonu.....	33
2.2.5. Kullanılan marker DNA'ların hazırlanması.....	34
2.2.6. Multipleks PZR kullanılarak e. coli, enterobacter spp. izolatlarında mobil kolistin direnç (mcr) genlerinin saptanması	35
2.2.7. Multipleks PZR ile DNA amplifikasyonu.....	36
2.2.8. Kolistin minimum inhibitör (mik) konsantrasyonunun saptanması.....	37
2.2.9. Antimikrobiyal duyarlılığın değerlendirilmesi.....	37
2.2.10. İstatistiksel Analiz	38
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	39
3.1. Bulgular.....	39
3.2. Tartışma.....	84
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	99
5. KAYNAKLAR.....	102
ÖZGEÇMİŞ.....	115

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Gökkuşuğu alabalığının dünya'ya yayılımı	2
Şekil 1.2.	Yetiştiricilik üretiminin türlere göre dağılımı	4
Şekil 1.3.	Hayvanlar-çevre-gıda ve insanlar arasında mcr-1 geni barındıran kolistin dirençli <i>E. coli</i> ' nin dolaşımı.....	9
Şekil 1.4.	Plazmid DNA' ya ait elektron mikroskobu görüntüleri	11
Şekil 1.5.	Kolistinin kimyasal yapısı	17
Şekil 1.6.	Mcr genlerinin insan ve hayvanlarda keşfinin kronolojik seyri	19
Şekil 1.7.	Mcr-1 genlerinin insanlar, hayvanlar ve çevre arasındaki potansiyel geçiş yolları.....	19
Şekil 1.8.	Mcr genlerinin GSBL ve karbapenemazla birlikte ilişkisinin tarihsel yolculuğu .	20
Şekil 3.1.	Haziran ayında Ovacık, Pertek, Çemişgezek ve Mazgirt ilçelerindeki bakterilerin sayısal dağılımı	44
Şekil 3.2.	Haziran ayında identifikasyonu gerçekleştirilen bakteri türlerinin dağılımı.....	45
Şekil 3.3.	Temmuz ayında Ovacık, Pertek, Çemişgezek ve Mazgirt ilçelerindeki bakterilerin sayısal dağılımı.....	46
Şekil 3.4.	Temmuz ayında identifikasyonu gerçekleştirilen bakteri türlerinin dağılımı	47
Şekil 3.5.	Aralık ayında Ovacık, Pertek, Çemişgezek, Mazgirt ilçelerindeki bakterilerin sayısal dağılımı.....	48
Şekil 3.6.	Aralık ayında identifikasyonu gerçekleştirilen bakteri türlerinin dağılımı	46
Şekil 3.7.	İlçelerden identifikasyonu gerçekleştirilen bakterilerin organlara göre dağılımı .	50
Şekil 3.8.	Gökkuşuğu alabalıklarının bağırsaklarında tespit edilen bakterilerin dağılımı.....	52
Şekil 3.9.	Gökkuşuğu alabalıklarının derilerinde tespit edilen bakterilerin dağılımı	53
Şekil 3.10.	Gökkuşuğu alabalıklarının solungaçlarında tespit edilen bakterilerin dağılımı	54
Şekil 3.11.	Tunceli ili ilçelerinden temin edilen gökkuşuğu alabalığı numunelerinden izole edilen <i>enterobacteria</i> familyasının prelevansı	58
Şekil 3.12.	Çemişgezek ilçesindeki gökkuşuğu alabalığı numunelerinde identifiye edilen <i>enterobacteria</i> familyasının prelevansı	59
Şekil 3.13.	Mazgirt ilçesindeki gökkuşuğu alabalığı numunelerinde identifiye edilen <i>enterobacteria</i> familyasının prelevansı	60
Şekil 3.14.	Ovacık ilçesindeki gökkuşuğu alabalığı numunelerinde identifiye edilen <i>enterobacteria</i> familyasının prelevansı	61
Şekil 3.15.	Pertek ilçesindeki gökkuşuğu alabalığı numunelerinde identifiye edilen <i>enterobacteria</i> familyasının prelevansı	62
Şekil 3.16.	<i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>ciprofloxacin</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	68
Şekil 3.17.	<i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>cefepime</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	69
Şekil 3.18.	<i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>ceftazidime</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları.....	70
Şekil 3.19.	<i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>ampicillin</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	71
Şekil 3.20.	<i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>amikacin</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	72
Şekil 3.21.	<i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>ertapenem</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	73

Şekil 3.22. <i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>imipenem</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	74
Şekil 3.23. <i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>sulphamethoxazole/trimethoprim</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	75
Şekil 3.24. <i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>meropenem</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	76
Şekil 3.25. <i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>cefoxitin</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	77
Şekil 3.26. <i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>aztreonam</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	78
Şekil 3.27. <i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>amoxicillin</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	79
Şekil 3.28. <i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>cefotaxime</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	80
Şekil 3.30. <i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>gentamicin</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	81
Şekil 3.31. <i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>piperacillin/tazobactam</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	82
Şekil 3.32. <i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>levofloxacin</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	83
Şekil 3.33 <i>Enterobacteria</i> familyasındaki bakterilerin <i>ceftriaxone</i> antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları	84

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Dünya su ürünleri üretimi.....	1
Tablo 1.2. Ülkemizde üreticiliği gerçekleştirilen gökkuşuğu alabalığının yıllara göre dağılımı.....	5
Tablo 1.3. Bazı bakterilerde polimiksin direnci	18
Tablo 2.2. <i>E. coli</i> , <i>Enterobacter spp.</i> ve <i>Salmonella spp.</i> izolatlarında mcr genleri için kullanılan primerler	31
Tablo 2.3. DNA boyut marker protokolü	35
Tablo 2.4. Multipleks PZR Prosedürü.....	36
Tablo 2.5. Multipleks PZR sıcaklık döngü profili.....	36
Tablo 2.6. Projede Kullanılan Antibiyotikler ve Duyarlılık ve EUCAST'nin Direnç Değerleri.....	37
Tablo 3.1. Ağ kafes ve beton havuz MALDI-TOF MS sonuçları	40
Tablo 3.2. MALDI-TOF MS ile bakterilerin idetifikasyonunda doğruluk değerleri	41
Tablo 3.3. İlçelere göre MALDI-TOF MS analizi sonuçları.....	43
Tablo 3.4. Bağırsak, deri ve solungaç kısımlarında tespit edilen bakterilerin insidansı	51
Tablo 3.5. Çemişgezek, Pertek, Ovacık, Mazgirt ilçelerindeki ağ kafes beton havuzlarından temin edilen su numunelerinin analiz sonuçları	55
Tablo 3.6. <i>Enterobacteria</i> familyasına ait bakteri türlerinin ağ kafes ve beton havuzlardaki prelevansı.....	56
Tablo 3.7. Tunceli ili ilçelerinden temin edilen gökkuşuğu alabalığı numunelerinden identifiye edilen <i>enterobacteria</i> familyasının prelevansı	57
Tablo 3.8. Çemişgezek, Tunceli, Ovacık, Pertek ilçelerinden temin edilen gökkuşuğu alabalığı numunelerinin bağırsak, deri, solungaçlarından identifiye edilen <i>enterobacteria</i> familyasının prelevansı	63
Tablo 3.9. Tüm ilçelerdeki tesislerden temin edilen Gökkuşuğu alabalıklarında tespit edilen <i>enterobacteria</i> familyasının aylara göre dağılımı	64
Tablo 3.10. <i>Enterobacteria</i> familyasına ait bakteri türlerinin antimikrobiyal duyarlılık oranları.....	67

RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1.	Tunceli ili ve ilçelerinden temin edilen gökkuşığı alabalığı numunelerinin bağırsak, solungaç, deri kısımlarının bakteri izolasyonunu gerçekleştirmek üzere petri kaplarına ekimlerinin yapılması.....	28
Resim 2.2.	Bakteri izolasyonu için bağırsak, deri ve solungaç kısımlarının ekimlerinin yapıldığı petri kaplarının 24 saat boyunca inkübasyonu.....	29
Resim 2.3.	Aralık ayı Mazgirt ilçesi ağ kafes Gökkuşığı alabalığı yetiştirme tesisinden numune alımı	29
Resim 2.4.	Gökkuşığı alabalığının deri kısımlarının çıkarılmasının kesit görüntüsü	30
Resim 2.5.	Gökkuşığı alabalığının bağırsak kısımlarının çıkarılmasının kesit görüntüsü ...	30
Resim 2.6.	Gökkuşığı alabalığının solungaç kısımlarının çıkarılmasının kesit görüntüsü ..	30
Resim 2.7.	Tunceli ili ve ilçelerinden alınan gökkuşığı alabalıklarının barsak deri ve solungaç kısımlarındaki bakteri izolasyonunun petri kaplarındaki görüntüsü....	32
Resim 2.8.	Tunceli ili ilçelerinden alınan Gökkuşığı alabalıklarının deri kısımlarındaki <i>E.coli</i> üremesine ait görüntü	33
Resim 2.9.	Seçilen koloniden 1 µl alınıp maldı kuyusuna konulması ve MALDI-TOF MS veri tabanı sonuçları gösteren görüntü	34
Resim 2.10.	Mueller Hinton Agar besiyerine antibiyotik içeren disklerin ilave edilmesi.....	38
Resim 2.11.	Antimikrobiyal duyarlılığın belirlenmesi amacıyla inhibisyon zon çaplarının ölçümü.....	38
Resim 3.1.	Mcr gen varlığını ortaya koymak amacıyla <i>E. Coli</i> , <i>Enterobacter spp.</i> izolatlarında gerçekleştirilen Multipleks PZR'ye ait elektroforez jel görüntüleri.....	65

KISALTMALAR LİSTESİ

APH	: Fosfotransferazlar
AAC	: Asetiltransferaz
ANT	: Adeniltransferaz
CAT	: Kloramfenikol Asetiltransferaz Enzimini
MCR	: Mobil Kolistin Direnç Geni
PZR	: Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu
MİK	: Kolistin Minimum İnhibitör
EUCAST	: Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi
AK	: Amikacin
CN	: Gentamicin
MEM	: Meropenem
SXT	: Trimethoprim
ETP	: Ertapenem
TPX	: Tazobactam
İMP	: İmipenem
FOX	: Sefoksitin
ATM	: Aztreonam
CTX	: Cefotaxime
AMC	: Amoxicillin
CİP	: Ciprofloxacin
LEV	: Levofloxacin
CAZ	: Ceftazidime
FEP	: Cefepime
AM	: Ampicillin
AB	: Avrupa Birliği
GNB	: Gram Negatif Bakteri
GPB	: Gram Pozitif Bakteri
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
BSGM	: Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü
TUİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
EMB	: Eosin Methylen-blue Lactose Sucrose
E. COLİ	: Escherichia Coli
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
CDC	: ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
AB	: Avrupa Birliği
AMR	: Antimikrobiyal Direnç Geni
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
ECDC	: Avrupa Hastalık Önleme Ve Kontrol Merkezi
FA	: Yağ Asidi
LPS	: Liposakkarit
MCR	: Mobil Kolistin Direnç
TEPAV	: Türkiye Ekonomi Politikaları Araştırma Vakfı

TÜBA	: Türkiye Bilimler Akademisi
EMA	: Avrupa İlaç Ajansı
GSBL	: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar
MALDI-TOF MS	: Matris Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi)
IVD	: İn-Vitro Tıbbi Tanı Cihazları
CE	: Avrupaya Uyum
PZR	: Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SÜDAM	: Su Ürünleri Deney Hayvanları Araştırma Merkezi
MİK	: Kolistinin Minimum İnhibitör
RVS	: Rappaport-Vassiliadis
IVD	: In Vitro Diagnostic
BÇ	: Baz Çift
HCCA	: 1 µ-siyano-4-hidroksisinamik asit



ÖZET

Antimikrobiyal direnç (AMR) küresel bir sağlık sorunudur. Su ekosistemleri AMR'nin yayılmasında ideal bir ortam sağlayabilir. Balık çiftliklerinde terapötik ajanlar olarak yeme ilave edilen antimikrobiyaller su içerisine eklenmektedir. Antibiyotik kalıntıları aquatik ortamlarda kalmakta ve bu atık sular akarsulara karışarak üretim tesislerine taşınabilmekte ve direnç genleri o ortamda bulunan bakterilere aktarılabilmektedir. Yapılan araştırmalara göre Türkiye'de su ürünlerinin antimikrobiyal dirençliliğinin belirlenmesi konusunda yeterli bir çalışma olmamakla birlikte yapılan çalışmalarda sınırlıdır.

Bu çalışmada; Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık, Mazgirt ilçelerindeki ağ kafes ve beton havuzlarda Gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan 16 tesisten Haziran, Temmuz, Aralık ayları süresince temin edilen 200 adet yavru veya ergin Gökkuşuğu alabalıklarının bağırsak, deri ve solungaç kısımlarından alınan 600 adet numune ve 64 adet su örneğinden konvansiyonel yöntemlerle bakteri izolasyonu ve bakterilerin Matris Aracılı Lazer Desorbsiyon İyonizasyon-Uçuş Zamanlı-Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS) analiziyle identifikasyonunu gerçekleştirilmesi, identifiye edilen enterobacteria familyasına ait bakterileri türlerinden ekstrakte edilmiş DNA kullanılarak multipleks PZR yöntemiyle mcr gen varlığının ortaya konulması, bu familyaya ait bakteri izolatlarının kolistin minimum inhibitör (MİK) konsantrasyonunun sıvı mikrodilüsyon ve antimikrobiyal duyarlılıklarının Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemleriyle tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada; MALDI-TOF MS analiziyle Moraxellaceae, Enterococcaceae, Vibrionaceae, Comamonadaceae, Pseudomonas, Staphylococcaceae, Pseudomonadaceae ve Enterobacteriaceae olmak üzere 8 bakteri familyasına ait ağ kafeslerden 290 (% 59,67), beton havuzlardan ise 196 (% 40,33) olmak üzere toplamda 486 adet bakteri identifikasyonu gerçekleştirildi. 114 adet numunede ise bakteri üremesi görülmedi. Multipleks PZR metoduyla enterobacteria familyasına ait bakterilerde mcr geni tespit edilemedi. MİK konsantrasyonu sıvı mikrodilüsyon testi sonucunda MİK değerinin 2'den küçük olarak bulunmasıyla kolistin duyarlılığı ortaya konuldu. Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal duyarlıklar sonucunda enterobacteria familyasına ait izolatların kinolon grubu antibiyotiklere karşı direnç geliştirdikleri saptandı. Ülkemizde ve Doğu Anadolu havzasında E. coli, Enterobacter ve Salmonella türlerini içeren enterobacteriales'lerde kolistin direnç gen varlığının ilk olarak belirlenmeye çalışılacak olması projenin özgün yönünü ortaya koymaktadır. Konvansiyonel ve moleküler tanımlama yöntemleri ile kıyaslanacak olursa MALDI-TOF MS örnek başı maliyeti ve tanımlama için geçen süre yönünden çok daha etkin görülmektedir. Özellikle enterobacteria familyasına ait bakterilerin tiplendirilmesinde % 100 sonuç alınabilen MALDI-TOF MS analizi moleküler çalışmalarda öne çıkmıştır. Tunceli ilinin Mazgirt, Çemişgezek, Ovacık ve Pertek ilçelerindeki gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan işletmeleri kapsayan çalışmamızda plazmid aracılı kolistin direnç potansiyelini ve tehlikesini ortaya koyarak ülkemizin antimikrobiyal direnç önleme stratejilerine katkı sağlanacaktır.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal dirençlilik, Escherichia coli, Kolistin, Multipleks PZR, MALDI-TOF MS Analizi

ABSTRACT

Determination of Plasmid-Delivered Colistine Resistance Genes in Trout in Tunceli by Multiplex Polymerase Chain Reaction

Antimicrobial resistance (AMR) is a global health problem. Aquatic ecosystems can provide an ideal environment for the spread of AMR. Antimicrobials added to the feed as therapeutic agents in fish farms are added into the water. Antibiotic residues remain in aquatic environments, and these wastewaters can be mixed with rivers and transported to production facilities, and resistance genes can be transferred to bacteria in that environment. According to the researches, there is not enough study on the determination of the antimicrobial resistance of fishery products in Turkey, but the studies are limited.

In this study, bacteria isolation is it was aimed to determine by conventional methods from 64 water samples and 600 samples taken from the intestine, skin and gill parts of 200 juvenile or adult rainbow trout obtained from 16 facilities where rainbow trout breeding in net cages and concrete ponds in Pertek, Çemişgezek, Ovacık, Mazgirt districts of Tunceli province during the months of June, July, and December. isolation from 600 samples taken from the intestine, skin and gill parts of 200 juvenile or adult rainbow trout and 64 water samples obtained from 16 facilities where rainbow trout are raised in net cages and concrete ponds in Pertek, Çemişgezek, Ovacık, Mazgirt districts of Tunceli province during the months of June, July and December, to identification of bacteria by Matrix Mediated Laser Desorption Ionization-Time of Flight-Mass Spectrometer (MALDI-TOF MS) analysis, To reveal the presence of mcr gene by multiplex PCR method using DNA extracted from bacteria species belonging to the identified enterobacteria family, to determine the colistin minimum inhibitory (MIC) concentration, liquid microdilution and antimicrobial susceptibility of bacterial isolates belonging to this family by Kirby-Bauer disk diffusion methods. In this study; 290 (59.67%) of the mesh cages belonging to 8 bacterial families, including Moraxellaceae, Enterococcaceae, Vibrionaceae, Comamonadaceae, Pseudomonas, Staphylococcaceae, Pseudomonadaceae, Enterobacteriaceae and 96 (40.33%) of concrete pools, a total of 486 bacterial identification was performed by MALDI-TOF MS analysis. Bacterial growth was not observed in 114 samples. The mcr gene could not be detected in bacteria belonging to the enterobacteria family by multiplex PCR method. Colistin susceptibility was revealed by the MIC concentration being less than 2 as a result of the liquid microdilution test. As a result of the antimicrobial sensitivities determined by the Kirby-Bauer disc diffusion method, it was determined that the isolates belonging to the enterobacteria family developed resistance to the quinolone group antibiotics. The first attempt to determine the presence of colistin-resistance genes in enterobacteriales containing *E.coli*, *Enterobacter* and *Salmonella* species in our country and in the Eastern Anatolia basin is to reveal the original aspect of the project. When it compared with conventional and molecular identification methods, it is more effective on per sample costs and elapsed time on working. In particular, MALDI-TOF MS analysis, which can achieve 100% results in typing bacteria belonging to the Enterobacteria family, has come to the fore in molecular studies. In our study, which covers rainbow trout farms in Mazgirt, Çemişgezek, Ovacık and Pertek districts of Tunceli province, we will contribute to our country's antimicrobial resistance prevention strategies by revealing the resistance potential and danger of plasmid-mediated colistin.

Keywords: Antimicrobial resistance, *Escherichia coli*, Colistin, Multiplex PCR, MALDI-TOF MS Analysis.

1. GİRİŞ

1.1. Dünya, Türkiye ve Tunceli’de Su Ürünleri Yetiştiriciliği

Dünyada su ürünleri yetiştiriciliği; İnsanoğlunun varoluşundan günümüze beslenmede su ürünlerinin önemi yadsınamaz. Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) yaptığı çalışmalar sonucunda son 10 yıllık zaman süreci içerisinde tarım sektöründe maksimum büyüme sergileyen sektör su ürünleri sektörüdür. Su ürünleri yetiştiriciliğinin miktarında yükselişinin ana nedeni incelendiğinde ilk sırada dünya popülasyonunun ve kişi başına düşen gelirin yükselmesi gıdaya, öncelikli olarak da protein içeriği fazla yiyeceklere yönelimi arttırmıştır. Önümüzdeki 20 yıl sürecinde 7 milyar olan nüfusun 8 milyara yaklaşması düşünüldüğünde, su ürünlerinin tüketilme oranı artacaktır.

Gıdalarda vitamin miktarı göz önüne alındığında hayvansal ürünlerin insan yaşamının devamlılığı için mühim bir yere sahip olduğu görülür. Su ürünleri, protein içeriği zengin, A, D, B ve K vitaminleri ile kalsiyum, fosfor ve daha çeşitli sağlığa olumlu katkıları olan mineralleri içermektedir. Böylece su ürünleri faaliyetlerinin çoğalmasında minerallerin önemli bir yeri vardır. BM raporlarına bakıldığında her yıl yaklaşık olarak yılda 78 milyon civarında artış gösteren dünya nüfusunun 2050’ li yıllarda 13 milyara yaklaşacağı ve önümüzdeki 20 yılda hayvansal ürün arzının 2 kat yükseleceği, nüfusun hayvansal protein ihtiyaçlarının % 20’sini balıklardan tedarik ettikleri bildirilmiştir (FAO, 2014).

Tablo 1.1. Dünya su ürünleri üretimi (FAO, 2015).

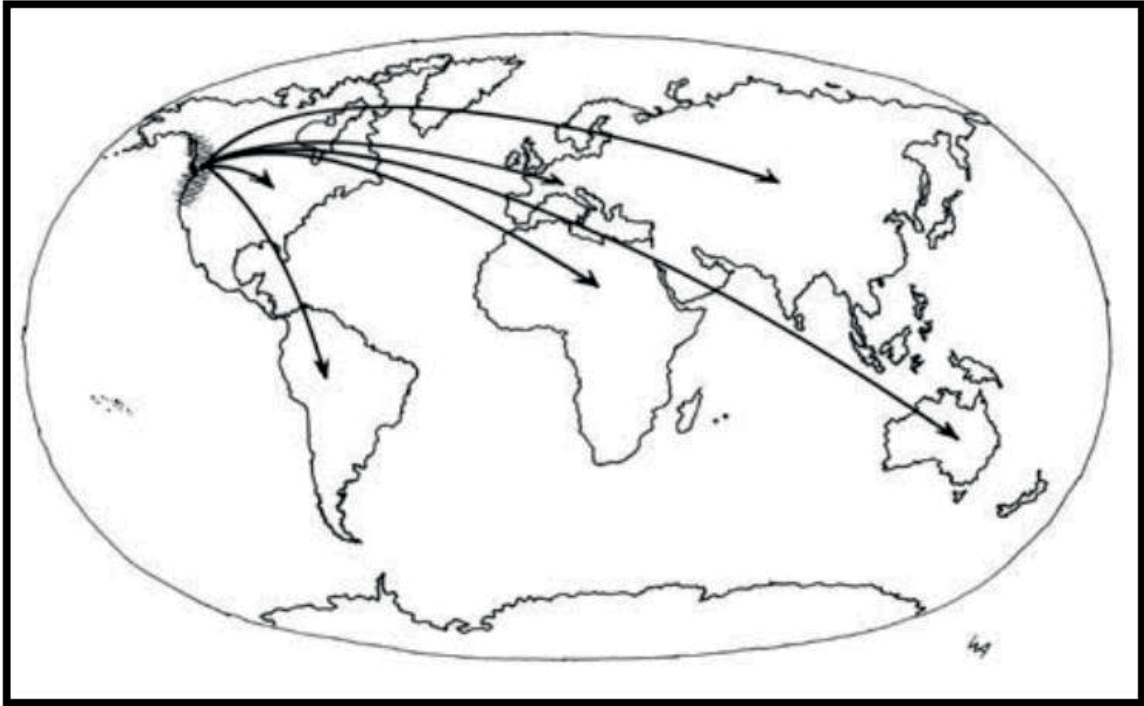
Yıllar	Avcılık (Ton)			Yetiştiricilik (Ton)			TOPLAM (Ton)
	Deniz	İç su	Toplam	Deniz	İç su	Toplam	
2010	77.828.396	11.27.1565	89.099.961	22.310.734	36.790.052	59.100.786	148.200.747
2011	82.623.550	11.124.401	93.747.951	23.366.371	38.698.805	62.065.176	155.813.127
2012	79.719.854	11.630.320	91.350.174	24.707.343	41.948.313	66.655.656	158.005.830
2013	80.899.153	11.687.507	92.586.660	25.536.710	44.686.846	70.223.556	162.810.216
2014	81.564.094	11.895.922	93.460.016	26.727.687	47.104.420	73.832.107	167.292.123
2015	81.179.323	12.525.293	93.704.616	27.879.872	48.761.154	76.641.025	170.345.641

FAO araştırmaları incelendiğinde; denizlerde avcılıkla elde edilen üretim 1996’da 86,4 milyon ton ile maksimum seviyeye ulaşmış, devam eden süreçlerde geçmişe oranla daha durağan bir yol izlemiştir. Son zamanlarda, deniz ve iç su avcılığı toplam üretimi 90 milyon ton civarında olduğu görülmektedir. Su ürünleri yetiştiricilik üretimi ise düzenli bir şekilde

artış göstermekte ayrıca bütün gıda ürünleri üretiminde maksimum büyümeyi görmekteyiz (OECD, 2016).

Avcılık üretim oranlarına bakıldığında en fazla üretim oranına sahip ülke Çin olurken (2017 de % 16,6), sırasıyla Endonezya, Hindistan, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Rusya Federasyonu gelmektedir. FAO su ürünleri avcılık verilerine bakıldığında 1.680'den fazla deniz canlısı olduğu görülmektedir. Fakat 25 ana çeşit total deniz ürünleri avcılığının % 42'sini oluşturmaktadır. Var olan çeşitlerin büyük çoğunluğunu küçük pelajikler oluşturmaktadır (FAO, 2018).

Dünyada su ürünleri alanında çalışan popülasyonda 158 milyon ile gelişmekte olan ülkeler başı çekmektedir. 158 milyoun 38 milyonu su ürünleri yetiştiriciliğinde, 120 milyonun üstünde balıkçılık alanında (balıkçılık, işleme, ticaret) uğraş gösterdiği düşünülmektedir. Balıkçılık sektöründe 56 milyon kadın istihdamı olduğu bilinmektedir (HLPE, 2014).



Şekil 1.1. Gökkuşaağı alabalığının dünya'ya yayılımı (FAO, 2011)

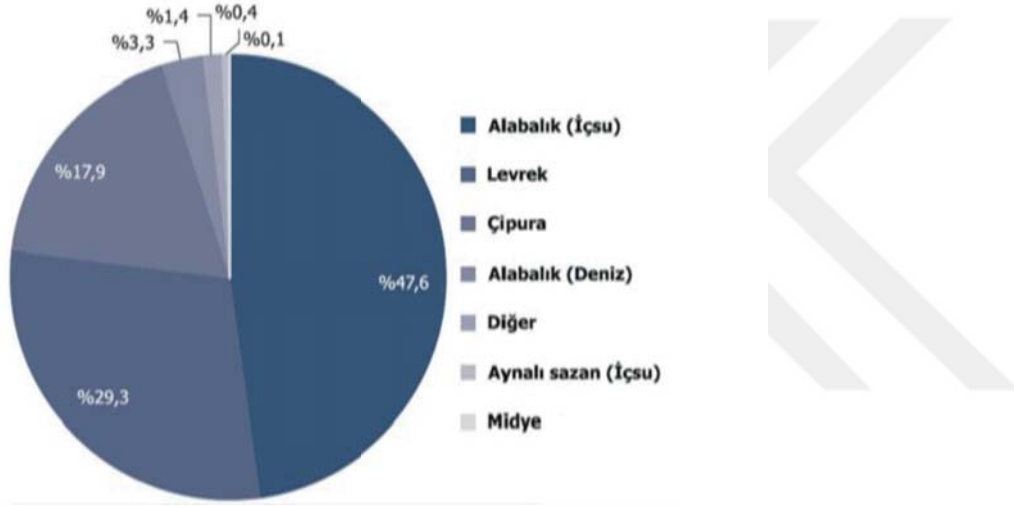
Türkiye’de su ürünleri yetiştiriciliği; Ülkemizde 1985 yılı öncesi su ürünleri üreticiliği ile alakalı bir bilgi kayıtlara geçmemiştir. Bu alanda çalışmalar 1960’ın sonunda sazan ve gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ile gün yüzüne çıkmış, 1980’in çeyreğinde çipura ve levrek türlerinin önem kazanmasıyla gündeme gelmiştir (Demir, 2008).

Son zamanlarda Türkiye'nin iç sularında Alabalık, Sazan, Yılan Balığı, denizde ise Çipura, Levrek Orkinoz, Kalkan Balığı, Lahoz, Karagöz, Sinagrit, Fangiri, Sivri burun vb. türlerin yetiştiricilik alanında çalışıldığı bilinmektedir (Özden ve ark., 2005). Sucul ekosistemler, deniz, göl, akarsu ve bataklık ekosistemleri diye 4 gruba ayrılır. Türkiye'nin birçok yerleşkesinde iklimsel, ekolojik ve teknik özellikler uygun koşullar sağlamış olması, gıda üretim seviyesini maksimum değerlere çıkması gibi sebeplerle balık üretimine olan eğilim artmıştır (Çakmak ark., 2005; Akşit ve Kum, 2008; Şahin, 2011; Anon, 2010 a; Anon 2013). Ülkemizde iç sularda yetiştiricilik faaliyetleri bulunan balık türlerinin ilk sırasını alabalık almaktadır (BSGM, 2016). Ülkemizde su ürünleri üretimi 2016'da 2015'e kıyasla % 12.4 değer kaybederek, 588.715 ton seviyesinde ortaya çıkmıştır. Üretimin % 44.8 deniz balıkları, % 6.4 diğer deniz ürünleri, % 5.8'i iç su ürünleri ve % 43'ünün yetiştiricilik ürünleri olduğu görülmüştür. Su ürünleri avcılığı 2016'da % 22.4 düşerek, 335.320 ton olduğu görülürken, yetiştiricilik % 5.4 yükselerek 253.395 ton değerinde seyretmiştir. Yetiştiriciliğin % 40.1'i iç sulardan, % 59.9'u denizlerden elde edilmiştir (TÜİK, 2016). Ülkemizde yetiştiricilik için en uygun görülen alabalık çeşidi *Oncorhynchus mykiss* 'dir. *Oncorhynchus mykiss* çeşidinin 1882'de Kuzey Amerika'dan Avrupa'ya ulaştığı belirtilmiştir (Anon, 2010c; Anon, 2010d).

Sularda oluşan kirlilik, su niteliğinde düşme, maksimum yoğunlukta yetiştirme, istikrarsız beslenme vb. sebepler balıklarda hastalık sorunlarını meydana getirmektedir. Balıklarda oluşan bakteri kökenli hastalıkları gözden geçirmek gayesiyle değişik antibiyotikler su veya yeme katılarak kullanılmaktadır. Tüketilen antibiyotiklerin fazlası ve bıraktıkları kalıntılar civardaki sedimentte yığılmaktadır. Sedimentteki yığılmalar bakterilerde selektör tesir meydana getirerek ortamdaki antibiyotiklere direnç gösteren bakterilerin çoğalmasına sebep olduğu görülmektedir. Antibiyotiğe direnç gösteren genin sucul ortamlarda var olan başka bakteri çeşitlerine nakledilme ihtimalide vardır. Antibiyotik kaynaklı direnç genlerinin insan ve hayvan patojenlerine de geçebildiği görülmektedir (Jalal ve ark., 2012).

Ülkemizin civarında gözlenen tüm denizler Akdeniz sular sisteminin bir bölümüdür. Ancak gözlenen denizler ekolojik, coğrafik, jeomorfolojik, meteorolojik açıdan değişik özellikleri bünyelerinde barındırır. Karadeniz ve Akdeniz daha değişken özelliklere sahiptir. Bu farklılıklar balıkçılık ile ele alındığında çeşitliliğe ve miktarda artışa neden olmaktadır (TÜİK, 2019 b). Alabalık yetiştiriciliği yoğun olarak barajlarda, dağ eteklerinde ve akarsu kıyılarında yapılmaktadır. Yaz döneminde su sıcaklıklarının artması, barajlarda su seviyesinin

azalması ve akarsuların sel suları ile bulanması sektörde faaliyet gösteren işletmelerin tam kapasite ile çalışmamasına sebep olmaktadır. Sel baskını ve taşkınların olmadığı dönemlerde de su kalitesindeki bozulmalar ciddi sıkıntılar oluşturmaktadır (Kurtoğlu, 2007). İç sularda en fazla üretilen su ürünü alabalık, denizlerde ise levrek ve çipura alabalığı takip etmektedir. 2002 sonlarında alabalık yetiştiriciliği artmış ve 2013’de 128 bin ton üretim sağlanmıştır. Alabalık üretimi son yıllarda 110 bin seviyesinde seyretmektedir. Çipura üretimi, 2002’den sonra küçük bir artış göstermiş, 2005-2012 yılları aralığında sabit üretim döneminde kalmış, daha sonra bir kez daha artış göstererek 2018’de 76,7 bin oranında gözlenmiştir. 2018’de alabalık üretimi 116,9 bin ton seviyesine ulaşmıştır (TÜİK, 2019b).



Şekil 1.2. Yetiştiricilik üretiminin türlere göre dağılımı (TÜİK, 2009)

Türkiyede başarıyla yürütülen alabalık üreticiliği ilk kez 1970’de üretim yapılmış ve üretimi yapan işletmeler çeşitli güçlükleri aşmak zorunda kalmışlardır (Aydın, 2005). Ülkemizde 2019 yılında 373 bin ton balık üretimi yapılmıştır. Bu miktar bünyesinde 138 bin ton levrek, 100 bin ton çipura ve diğer kısmı ise alabalık olarak üretildiği ortaya konmuştur. Balıkların yaklaşık 100 tonu yurt dışına ihraç edilmiştir (TÜİK, 2019). Su ürünleri üretimi Ege Bölgesinde daha fazla olduğu görülmektedir. 2018’de üretimin % 69’u Ege Bölgesinden temin edilmiştir. Yetiştiricilik üretiminde payı en yüksek olan iller sırasıyla; Muğla (% 36,6), İzmir (% 23,9), Aydın (% 6,5) ve Elazığ (% 5,7) olduğu bilinmektedir (TÜİK, 2019).

Tablo 1.2. Ülkemizde üreticiliği gerçekleştirilen gökkuşağı alabalığının yıllara göre dağılımı (BSGM, 2020)

Yıllar	İç su Üretimi (Ton)	Deniz Üretimi (Ton)	Toplam Üretim (Ton)
2000	42 572	1 961	44 533
2005	48 033	1 249	49 282
2010	78 165	7 079	85 244
2015	101 166	6 872	108 038
2016	101 297	5 716	107 013
2017	103 705	5 952	109 657
2018	104 887	9 610	114 497
2019	116 053	9 692	123 573

Tunceli’de su ürünleri yetiştiriciliği; Tunceli ili doğal su kaynakları açısından oldukça zengin olması yanında, su ürünleri ve bu ürünlerden göze çarpan alabalık yetiştiriciliği potansiyeli yüksektir. Munzur Çayı içerisinde dünya genelinde ün yapmış alabalıklar olduğu gözlenmektedir (Tarım, 2021).

1.2. Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus Mykiss*)

Oncorhynchus mykiss, *Salmonidae* familyasından *Oncorhynchus* genusunda ABD menşeyli balık türüdür (Frose ve Pauly, 2019). Bu aileye mensup balıklar genelinde ince uzun, iğ şeklinde görülüp, sırt yüzgeci ve kuyruk yüzgeci ortasında yağ yüzgeci bulundurulur. Etobur özellikte, ağızlarında çeşitlilikleri nedeniyle farklı sayılarda dişleri mevcuttur. Farklı türlerinde renk çeşitliliği gözlenir (Sarıeyüpoğlu ve ark., 2017). Standart yetişkin *Oncorhynchus mykiss* 2-3 kg ağırlığında olurken, 11 yaşında 25.4 kg ağırlık ile 120 cm boy miktarında olduğu bilinmektedir (Frose ve Pauly, 2019).

Oncorhynchus mykiss denizlerin ve nehirlerin üst ve soğuk bölgelerinde hayat bulurlar. Yaşam alanları ile beslenme formları, vücut oranını ve renklerini oluşturur. *Oncorhynchus mykiss* yetiştiricilikteki tercih sebepleri arasında çabuk gelişim, hızlı adaptasyon, üreme miktarındaki fazlalık ile hastalıklara karşı direnç geliştirmesi olarak karşımıza çıkmaktadır (FAO, 2011).

Gökkuşağı alabalığının (*O. mykiss*) bilimsel sınıflandırması:

-Alem: Animalia

-Şube: Chordata

-Sınıf: Actinopterygii

-Takım: Salmoniformes

-Familya: Salmonidae

-Genus: *Oncorhynchus*

-Tür: *O. mykiss* (Walbaum, 1792).

Gökkuşağı alabalıklarında görülen bakteriyel hastalıklar; bakteriyel balık hastalıklarının hızlı başlayan, müzmin ve subakut aşamaları göz önüne alınarak bunlara bağlı ölüm seviyelerinde de değişkenlik görülmektedir. Balıklarda akut etki, fazla sayıda ölüm, kronik gelişim ve minimum seviyede ölümü oluşturan faktörlerin başında enfeksiyon çeşitliliği gelmektedir (Timur, 2003; Roberts, 2012; Austin, 2016). Dünya genelinde Gökkuşağı alabalıklarını sarsan bakteriyel hastalıkların başında furunkulosis, yersiniozis ve vibriosis gelmektedir (Austin, 2007; Noga, 2010).

Türkiyede *Oncorhynchus mykiss* üretimi arttıkça, hastalıklarla oluşan ölümlerde artış görülmüştür. Ülkemizde üretilen *Oncorhynchus mykiss* güncel olarak *Aeromonas*, *Yersinia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* ve *Vibrio* genuslarındaki bakterilerden oluşan hastalık sorunları görülmüştür. Ayrıca *Staphylococcus* ve *Lactococcus* genuslarına ait bakterilerden oluşan hastalıklar gözlenmiştir (Timur, 2003; Karataş ve Candan, 2007).

Enterobacteriaceae, *Salmonella* ve *E.coli* vb. hastalık faktörlerini de içeren mühim bakteri familyasıdır. Bu familyanın üyelerinde enfeksiyon hastalıklarına sebep bakterilerin olmasının yanında, gıda ve ilaç sektöründe kullanılarak fayda oluşturan bakteri çeşitleri de vardır. Yaşam alanları; doğa, toprak, su ve bitkilerdir. Bazıları organik maddelerin doğada yok olmasına neden olurken; birkaçı da insan ve diğer hayvanların normal bağırsak florasını oluştururlar. Gram negatif bakteriler şeklinde de adlandırılan *Enterobacteriaceae* familyasında var olan bakterilerin benzer yönleri; 0.5 x 1-3 µm. büyüklüğünde, sporsuz, çomak görümlü bakterilerdir. Fakültatif anaeropturlar, bazılarının hareket özelliği yoktur (*Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*, *Salmonella gallinarum* ve *S. pullorum*) çoğu hareketli ve peritrih kirpikleri mevcuttur. Üremeleri için zengin besiyerlerine gerek yoktur. Genel besiyerlerinde 18-24 saatte türe özgü koloni oluşturarak ürerler. Enerji üretim aşamalarında

nitratları nitritlere indirgerler. Oksidaz negatiftirler, katalaz pozitifler (Öznil ark; 2008, Köşker ark; 2010).

Enterobacteriaceae dünyada toprakta, suda, bitkilerde, insan ve birçok hayvanın doğal bağırsak florasında daimi görülen organizmalardır. Bu bakterilerin insanda bakteriyemilerin % 30-35'i, idrar yolu enfeksiyonlarının % 70'den fazlası ve intestinal enfeksiyon vb. daha birçok hastalığın sebebi olduğu bilinmektedir. Bir grup mikroorganizma (örnek: Salmonella typhi, Shigella türleri, Yersinia pestis) sadece insanda hastalık oluştururken bir grup ise (örnek: E. coli, K. pneumoniae ve P. mirabilis) normal komensal floranın üyesi olarak fırsatçı enfeksiyonları ortaya çıkarırlar (Murray ark., 2010). *Enterobacteriaceae* ailesine ait mikroorganizmalar, klinik örneklerden en fazla izole edilen bakteri ailesidir. İdrar yolu enfeksiyonlarının % 75-90'ından *Enterobacteriaceae* familyasındaki bakteriler oluşturur (Willke 2008, Patrick ve ark 2009). Enterobacteriaceae ailesinde görülen Salmonellaya özgü türlerin mevcut olduğu serotiplerdir (Brenner ve ark, 2000). Enterobacteriaceae ailesinin umumi faktörlerini bünyesinde barındıran Salmonellalar Gram (-), kısa ve minik çomaklar şeklindedir (İzgür, 2006; Gast, 2003). Salmonella cinsi adını Daniel E. Salmon'dan almıştır. Bu cins bakteriler Gram negatif, kapsülsüz, sporsuz, S. gallinarum dışındakiler peritrih kirpikleri ile hareketli basillerdir. 2-5 mikrometre boyunda, 0,7 ile 1,5 mikrometre enindedir. Hem oksidatif hem de fermentatif metabolizmalıdır. Çoğunda tip1 ve tip2 fimbriaları bulunur. Genel kullanım besiyerlerinde kolayca ürerler. En iyi üreme ısısı 37 °C'dir. Üreyebildiği en iyi pH 7,4'tür (Ustaçelebi, 1999). Salmonella serotipleri yerleşme eğilimi gösterdikleri konaklara göre sınıflandırılırlar. Bazıları insanlara, bazıları insan dışındaki özel konaklara, bazıları da hem insan hem de insan dışı konaklarda enfeksiyonlara yol açarlar (Bilgehan 2009). Dışkı izolasyonunda McConkey ve Eosin Methylen- blue Lactose Sucrose Agar (EMB) kullanılabilir. Salgınlar sırasında brillant yeşili ve bizmut sulfid içeren besiyerleri de kullanılabilir. Salmonella'nın değişik virulans faktörleri vardır. Bunlar, endotoksin, sitotoksin, enterotoksin yüzey antijenleri, dokuya invazivliği sağlayan faktörlerdir. Patogenezde her birinin rolü enfeksiyon tipine ve konak organizmaya göre değişir. Salmonellalar sıcaklığa karşı dayanıksızdır. 55 °C'de 1 saatte, 60 °C'de 20 dk' da ölürler (Ustaçelebi, 1999).

1.3. Escherichia Coli (E.coli)

E. coli etiyolojisi incelendiğinde; 1,0-1,5 µm eninde, 2-6 µm boyunda düz, uçları yuvarlak bakteriyolojik boyalarla iyi boyanan gram negatif bir basildir. *E. coli* suşları genellikle fimbria ortaya çıkarmaktadır. Peritrih flagellalara sahip olan türleri hareketli iken, flagellaları olmayanlar hareketsizdir (Kuntz ve Kuntz, 1999). Genel üretim besiyerlerinde üreyebilmektedirler. Optimal üreme sıcaklığı 37 °C iken 20 °C - 44 °C arasında üreyebilmektedirler (Özkuyumcu, 2009). *E.coli'nin* bazı patojenik tipleri insan ve hayvanlarda zaman zaman ölümcül olabilen diyareye, yara, solunum, safra ve idrar yolu enfeksiyonlarına, neonatal menenjit, septisemi, aterokleroz, hemolitik üremik sendrom, karaciğer apsesi ve çeşitli immünolojik hastalıklara yol açmaktadır (Kılıçturgay ve ark., 1993, Günaydın 2004, Strohl ve ark., 2006).

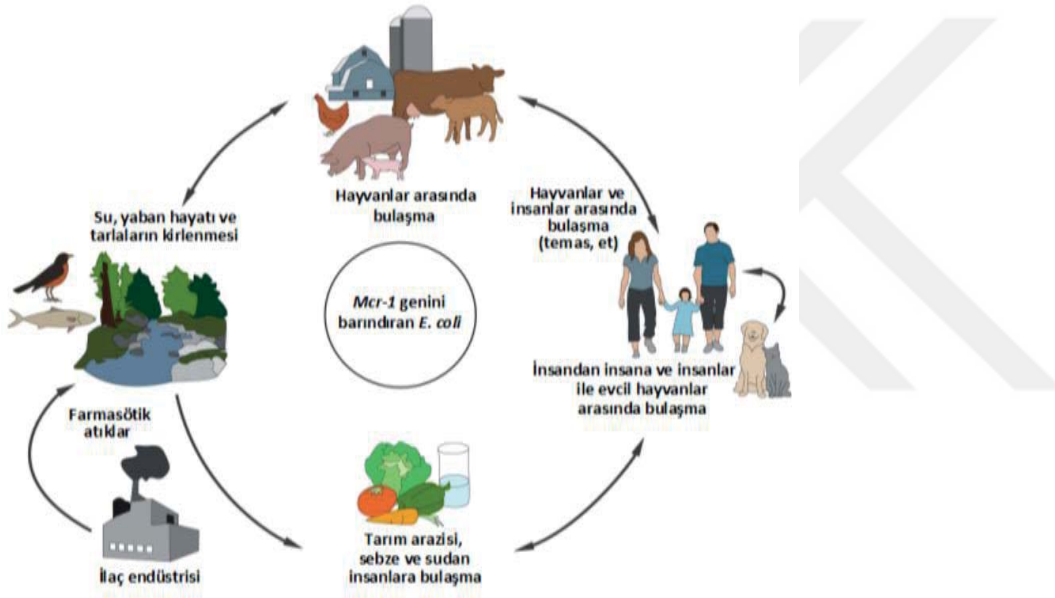
Bakteriyel enfeksiyonlar sıralamasında öncelikli kendine yer bulan üriner sistem enfeksiyonları, fazla antibiyotik kullanımının sağladığı direnç sebebiyle dünyada tedavisi zor olan ve maddi açıdan yüksek rakamlara ulaşan enfeksiyon olmuştur (Oteo ve ark., 2005, Ruppe ve ark., 2009).

E. coli biyokimyasal özellikleri incelendiğinde; *Enterobacteriaceae* familyasında her bir bakteri kendi biyokimyasal özellikleri dikkate alınarak isimlendirilir. Bu özellikler bakteri kromozomunda var olan genler ile tanımlanır. *E.coli'nin* mühim biyokimyasal özelliği glikozdan gaz ve asit oluşumu ile laktöz pozitif gözlenmesidir. *E.coli'nin* bazı türleri laktozu 24 saatten fazla zamanda fermente ederler. Bunlara *Paracoli-coliform* veya *Paracolobactrum* denir. Bu bakteriler genelde kolay tanımlanamazlar (Töreci 2002, Günaydın 2004). *E.coli* bakterileri fakültatif anaerob özelliği gösterdiğinden oksijenli veya oksijensiz ortamda oluşabilirler. Fermentasyon oluşturduğundan kontamine olmuş yiyecek ve içeceklerde, diğer gastrointestinal patajonlere oranla tanımlanması daha hızlıdır (Torres 2011).

E. coli enfeksiyonları; Hasta morbidite ve mortalitesinin artmasıyla mühim halk sağlığı problemi olarak karşımıza çıkmaktadır (Banerjee ve Johnson, 2014). Dünya genelinde fazlaca enfeksiyon nedeni olmuş ayrıca hastalık oranları % 12,5 - 30 değerlerinde değişkenlik gösterirler (Nicolas ve ark., 2014). *E. coli* bağırsaktan vücudun bazı bölgelerine bulaşım dokularla teması halinde bağırsak dışı enfeksiyonları oluşturmaktadır. Bağırsak dışı enfeksiyonlara örnek olarak; bakteriyemi, neonatal menenjit, üriner sistem enfeksiyonları ve karın içi enfeksiyonları örnek olarak verilebilir (Croxen ve Finlan., 2010). Bağırsak dışında oluşan enfeksiyonlar dünya genelinde görülerek zirveye tırmanmıştır (Russo ve Johnson.,

2003). Patojenik *E. coli*, hem insanlarda hem de refakatçi hayvanlarda ekstraintestinal ve bağırsak enfeksiyonlarının önemli bir nedeni olarak kabul edildiği de ortadadır (Russo ve Johnson, 2003; Wiles ve ark., 2008; Li ve ark., 2018).

Ayrıca, 1980' lerde antimikrobiyal ajanların geniş spektrumuna direnç gösteren *E. coli* suşlarının ortaya çıktığı bildirilmiştir (Novick ve RP, 1981; Li ve ark., 2018). *E. coli*'nin ortaya çıkışı, son on yıllarda etkili antimikrobiyal ajanların bulunmaması nedeniyle acil bir küresel sağlık tehdidi haline gelmiştir. Polimiksinler (kolistin dahil), *E. coli* dahil gram negatif bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde önemli terapötik yöntem olarak yer almıştır (Biswas ve ark., 2012; Li ve ark., 2018).



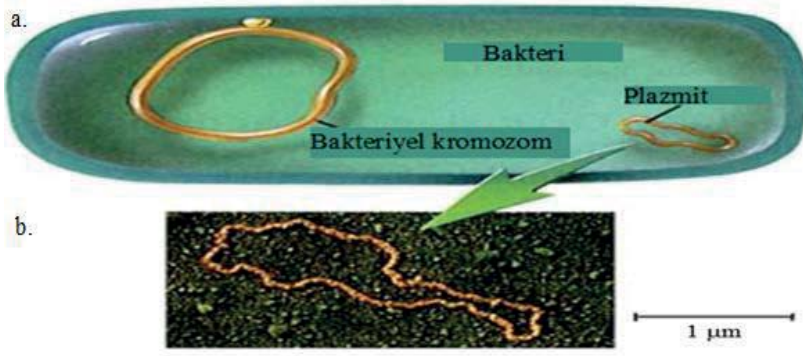
Şekil 1.3. Hayvanlar-çevre-gıda ve insanlar arasında mcr-1 geni barındıran kolistin dirençli *E.coli*' nin dolaşımı (Rhouma ve ark., 2016)

***E. coli*'de antimikrobiyal dirençliliği incelendiğinde;** dünya genelinde fazlaca üzerinde düşünülen ve en kolay tanımlanabilen mikroorganizma olduğu görülmektedir. İnsan ve hayvanlarda doğumdan itibaren birleşen bakteri türlerinin başında gelmektedir ve bağırsağın bir diğer yarısı olarak görülmektedir. 1940'lı yıllarda antibiyotik çağının baş göstermesiyle beraber gelişen tıpta gelişmeler yaşanarak bulaşıcı hastalıkların oluşmasına engel olunmuştur. Fakat patojen bakteriler, zaman geçtikçe antibiyotiklere direnç gösteren değişik mekanizmalar geliştirmiştir. Gelişen antimikrobiyal direnç sistemi dünya genelinde halk sağlığı açısından global sorun olarak karşımıza çıkmıştır. *E. coli*'de, antibiyotiklere karşı

direnç, görülen ilk hastadan günümüze düzenli artış göstermekte ayrıca insan sağlığındaki kötü etkileri Enterobacteriaceae ailesinin geri kalan üyeleriyle beraber Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO, 2017) insan sağlığına ciddi derecede risk oluşturan 12 bakteri familyası listesinde kendine yer bulmuştur. *E. coli*'nin, insandan insana ve hayvanlardan insanlara dışkı veya oral yolla bulaşma sıklığı sebebiyle *E.coli* antibiyotik direnci konusunda ciddi bir rol oynamıştır. 2018' de, Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi'ne ulaşan *Escherichia coli* suşlarının çoğu, en az bir tanesi antimikrobiyal gruba dirençli ve birkaç antimikrobiyal gruba karşı da kombine direnç gösterdiği görülmüştür (CDC, 2018). Antibiyotiklerin fazlaca tüketilmesi sonucunda uygun olmayan antibiyotik reçetesi, hayvancılık ve balık üretiminde genel antibiyotik verilmesi, yetersiz hijyen, bakterilerin mutasyona uğraması, ortaya çıkan yeni antibiyotiklerin yetersiz kalması gibi olumsuz sonuçlar ortaya çıkmıştır (WHO, 2014). *E. coli* antibiyotiklerle savaşmak için farklı mekanizmalar oluşturmuş ve genelde direnç genlerini bu ilaçların çeşitli sınıflarına ulaştırarak tedaviyi daha komplike bir duruma sokmaktadır (Galindo-Méndez, 2020).

1.4. Bakterilerin Yapısında Bulunan Plazmid

Plazmidler, konakçı genomik DNA'sından farklı olarak replike olan halkasal DNA molekülleridir. Bakterilerde genelde çift sarmal yapıda görülürler. Kromozomal DNA plazmid DNA' ya oranla çok daha büyük yapıda olup tüm yaşamsal bilgiyi kodladığı halde plazmidler onlara nispeten çok daha küçüktür ve daha çok antibiyotik direnci ve virülans gibi belli koşullar altında ihtiyaç duyulan özellikleri kodlarlar (Smillie ve ark., 2010; Doğan, 2009).



a. Bakteri hücresi içerisinde plazmid DNA' nın konumu

b. Plazmid DNA' nın elektron mikroskobu görüntüsü

Şekil 1.4. Plazmid DNA' ya ait elektron mikroskobu görüntüleri (Thomas, 2008)

Bakteri plazmidleri birçok özellikleri baz alınarak çeşitli sınıflandırmalar tanımlanmıştır. Bu sınıflamalar;

Büyükliklerine göre sınıflandırma; Plazmidler büyüklüklerine ya da molekül ağırlıklarına göre 3 grup olarak karşımıza çıkmaktadır (Cassali ve Peterson, 2003).

a) Küçük (mini sirküler) plazmidler: Bunlar $1-10 \times 10^6$ dalton ağırlığındadırlar.

b) Orta plazmidler: Bunlar, $10-50 \times 10^6$ molekül ağırlığındadırlar.

c) Büyük plazmidler: Bu ölçülerin üzerinde molekül ağırlığına sahip olanlarıdır (Cassali ve Perston, 2003).

Uyum durumlarına göre sınıflandırma; Bakteri plazmidleri, tek hücrede beraber bulunup bulunmadıklarına bakılarak şu şekillerde gözlemlenir: **Uyumlu Grup:** Bir veya daha çok plazmidin tek bakteride bulunması halidir. **Uyumsuz Grup:** Bu plazmidler birbirlerini iterek direnç göstermesi hali uyumsuz grup olarak tanımlanır (Kibar, 2009).

Konjugatif özelliklerine göre sınıflandırma; Küçük (1-10 kbç uzunlukta) plazmidler kendilerini bir bakteriden diğerine transfer edebilecek genetik bilgilere sahip değildirler. Bu nedenle nonkonjugatif bir özellik taşırlar. (Kibar, 2009).

Taşıdıkları özel sekanslara göre sınıflandırma; Plazmidler'in en önemli özelliklerinden birisi, DNA'larında bazı özel işaretleyicilerin kodlarını bünyesinde barındırmasıdır. Konjugatif plazmidler bu özelliklerini başka plazmite aktarma yeteneğine sahiptirler. Bu işaretleyiciler ışığında plazmidler 5 farklı grup içerisinde sınıflandırılırlar. Bunlar; F faktörü (seks pilusu), rezistenslik, virulans, bakteriyosin ve metabolik plazmidler şeklinde sınıflandırılır (Sözen, 2015).

Direnç (R) plazmidleri; İlk olarak Japonya’da dizanteri salgını sırasında *S. dysenteriae* gözlenmiş ve bakterilerden ayrıştırılmış durumda olmasına rağmen *E.coli* ve nice bakteride bulunmuştur (Sözen, 2015).

Kolisinojenik (Col) plazmidleri; Kolisinojenik plazmidleri, kolisin üretme kabiliyeti oluşturan *E.coli* plazmidleridir. Kolisin, Col plazmidi bulundurmeyen hassas bakterilerin çoğalmasına müdahale eden bir proteindir. Col plazmidleri birçok bakteri türünde var olan ve bakteriosini ortaya çıkaran bakteriosinojenik plazmidler gurubu içerisinde yer almaktadır. Kolisinler bakteriyosinlerin örneği olması yanı sıra; duyarlı bakterilerde etkileşime geçerek birçok temel faaliyeti engeller. Kolisinlerin eksi yönde etkilediği faaliyetler; DNA replikasyonu, transkripsiyon, translasyon ve enerji metabolizması olarak karşımıza çıkmaktadır (Sözen, 2015).

Degradasyon plazmidleri; *Pseudomonas* cinsi, yüzden fazla değişik çeşit organik bileşiği karbon kaynağı olarak sarf etmektedir. Bilhassa, oktan, toluen, vb. zehirli karbonları sarf edebilirler. Görüldüğü üzere bu metabolik yeteneğe sahip plazmid degradasyon plazmididir (Sözen, 2015).

Virülans plazmidleri; Bakterilerdeki virülans faktörlerin belli bir bölümü kromozomlarında kodlanmasına rağmen bir kısmı da plazmid kökenlidir. Bu plazmidler bakterilerin virülansında etkilerde bulunurlar (Kaya, 2009).

1.5. Plazmidlerin Bakteride Saptanması

Bakteriyel popülasyonlarda plazmidlerin varlığını belirlemede fiziksel, morfolojik ve fonksiyonel testlerden fayda sağlanmaktadır. Bakterilerin, bir kısım özel karakterleri hızlıca kazanması ve bu karakterleri nesillere iletmesi veya bunları çabuk yitirmesi, bu özelliklerin plazmidlerce kodlandığının göstergesi olarak karşımıza çıkmaktadır. Önceleri birtakım özellikleri bünyesinde barındırmadığı görülen bakterilerin devam eden bölümlerinde yeni karakterler elde etmesi ve bu karakterleri yeni nesillere aktarması bunların plazmid ile ilişki içerisinde olabileceğini ortaya koymaktadır. Plazmid DNA'sı karşı uçta iken, büyük olan kromozomal DNA başlangıç yerinde (veya buraya yakın) konumlanır. Plazmid DNA elektron mikroskopu sayesinde rahatlıkla gözlenebilir. Plazmid DNA ile kromozomal DNA arasındaki temel ayırt edici özellik büyüklük farkının olmasıdır (Kibar, 2009).

1.6. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları

Direnç; Patojen mikroorganizma ya da suşun, antimikrobiyal ilacın tüketildiği miktar civarında, ilaç kanalıyla etki görmemesidir. Her yıl Avrupa Birliği (AB) ve çevresinde antibiyotiklere dirençli bakterilerden kaynaklı minimum 25 bin insanda ölüm vakası gözlenmektedir. Antimikrobiyal direnç denilince ilk etapta akla antibiyotik direnci gelmektedir. Antibiyotiklere direnç gösteren bakteriler bir taraftan kendisine önceden tesirli ilaçların etkisini ve tedavinin faydalarını indirirken, diğer taraftan da hayvanlar arası veya hayvandan insana bulaşan rahatsızlıkların fazlaca görülmesine sebep olmaktadır. Bu yönüyle konu, halk sağlığı açısından da önem taşımaktadır. Yaşanılan süreçte bütün dünya ülkelerinde kendini belli etmeyen bir salgın şeklinde yayılım gösteren antimikrobiyal direncin global halk sağlığı problemi olduğu Tıp ve Veteriner otoriteleri kanalıyla ortaya koyulmaktadır (Abbasoğlu ve Çevikbaş, 2011). Antimikrobiyal ilaçlara gösterilen direnç, mikroorganizmalarda başka durumlar sergileyebilir. Mikroorganizmaların bazıları muadil antimikrobiyal ilaçlara karşı birden fazla direnç mekanizması ortaya koyabilir. Böylece birçok direnç mekanizması oluşturması ‘çapraz direnç’ tanımını ortaya koymaktadır (Abbasoğlu ve Çevikbaş., 2011). 1970’lerden günümüze gözlenen Gram negatif mikroorganizmaların oluşturduğu direnç problemi önemini fazlaca korumaktadır. Dirençli bakteri probleminin maksimum seviyede görüldüğü yer hastanelerdir. Antimikrobiyal ilaç tüketiminin hastanelerde hat safhada olması bunun en önemli kanıtıdır (Keyik, 2013).

Hedef proteinleri kodlayan AMR birincil antibiyotik direnci olduğu görülmüştür. Bu yüzden bütün bakteri genomlarında antibiyotik direnç genleri mevcuttur (Wright, 2007). Antibiyotik direnci yalnızca patojen bakterilerle sınırlanmamıştır. Bu direnç çevresel bakteriler arasında da maksimum seviyede yayılmıştır. Direnç mekanizmalarının geniş genetik farklılıklarının varlığından dolayı büyük oranda gözlemlendiği bölgeler doğal ekosistemler ve serbest yaşayan mikroorganizmalar arasındadır. **Rezistom;** mikrobiyal antibiyotik direnci ile ilgili gen topluluklarıdır (Levy ve Marshall, 2004). Yer altı suları ve Antarktik suları vb. bakir çevrelerde bakterilerde dahi direnç havuzlarının varlığı gözlemlenmiştir (Martinez, 2008; Bhullar ve ark., 2012). **Antimikrobiyal ilaçlara direnç 3 şekilde ortaya konulmaktadır:**

1. Doğal direnç: Bazı antimikrobiyal ilaçlar bakterinin genetiği sayesinde bakteriyeye etki edemez ve bu da doğal direnç olarak karşılık bulur.

2. Kazanılmış direnç: Bakterideki kalıtsal hususların varyasyonu; transpozon ya da plazmid DNA'sında oluşan mutasyonlarla oluşur.

3. Dış Etkenlere ve şartlara bağlı direnç: PaO₂ değerleri, dokuda asitlik veya bazlık derecesi farklılıkları, antimikrobiyal ilacın infeksiyon alanına yetişememesi faktörlerinden dolayı in-vitro denemelerine cevap veren antimikrobiyal ilaçlar in-vivo alanda cevap vermeyebilir (Keyik, 2013).

1.7. Antimikrobiyal İlaçlara Direnç Mekanizmaları

İlacın hedefine ulaşamaması: İlacın hedefe ulaşamaması, ilacın içeri alınmasındaki azalmadan ya da atılmasını hızlandıran pompa sistemlerinden kaynaklanabilmektedir. Bir antibiyotığın etki gösterebilmesi için öncelikle hedefine ulaşması gerekir. Dış zar antibiyotığın hedefe ulaşmasını engelleyebilir. Ajanın hücre dışına atılmasını sağlayan aktif pompa sistemlerinin varlığı yaklaşık olarak 15 yıl önce tetrasiklinler için belirlenmiştir. Ayrıca makrolidler, kloramfenikol, kinolonların da direnç gelişimine neden olabileceği son yıllarda anlaşılmıştır.

İlaç etkinliğini gideren enzimlerin üretimi: Antibiyotik sınıfına dirençli önde gelen mekanizmalar vardır. Örneğin, Beta laktamazlar penisilin gibi antibiyotikleri kapsayan beta laktam grubu ajanları hidrolize eder ve direnç gelişimine yol açar.

İlacın bakteri hücreindeki hedefini değiştirmesi: Bu değişimlerin bazıları esas hedef tek bir mutasyon ile hücresel işlemlerini devam ettiren fakat aşama bağlanma özelliği düşük yeni bir hedefin yapılması ile ilgilidir.

İlaç hedefinin dışında başka bir metabolik yolun kullanılması: Bazı bakteriler ilaca duyarlı hedefe gereksinimi kaldıracak yeni bir metabolik yol geliştirebilirler (Ustaçelebi, 1999).

Betalaktamlara direnç; Betalaktam direnç mekanizması; betalaktamaz enzimlerinin antibiyotığın aktivitesini bozmasıyla, bakterideki hedef enzimlerin (beta-laktamaz) etkilenmemesi ve hedef enzimlerin modifikasyonu ile ortaya çıkmaktadır (Walsh, 2000; Li ve ark., 2007).

Hedef yapıdaki değişim sonrası antibiyotik bağlanamamasından dolayı dirençli suşlarda penisilin bağlayan proteinlerde değişim olur penisilin dirençli bu suşlarda penisilin bağlayan protein değişimleri beta-laktam afinitesinin düşmesine sebep olur. Betalaktam

ajanlara dirençte rol oynayan gram negatiflerde porin değişikliğine bağlı olarak geçirgenlik azalır. Betalaktam antibiyotığının hücre içinde birikmesi aktif pompa sistemi ile önlenir ve böylece birçok antibiyotik grubuna direnç gelişir (Ustaçelebi, 1999).

Aminoglikozitlere direnç; genel olarak streptomisin direncinde önem taşımaktadır. 30S ribozomal alt bölümünde mutasyon nedeniyle ortaya çıkan farklılık temellidir.

Geçirgenlik azalması; kromozomal mutasyonla iç ve dış zarda oluşan farklılıklar neticesinde ilaç hücre içine giremez.

Enzimatik direnç; amino glikozitler hücre içine enerji kullanarak geçer ve bu göçmenin ana sebebi amino glikozitlerin pozitif yüklü bir bileşik olmasından kaynaklıdır. Enzim yapısında değişikliğe neden olan enzimler bulunur. Bu enzimler; **Fosfotransferazlar (APH), Asetiltransferaz (AAC), Adeniltransferazlar (ANT)'dır** (Abbasoğlu ve Çevikbaş, 2011; Öztürk, 2002).

Kloramfenikollere direnç; kromozom ya da plazmid denetimi altında sentezlenen “kloramfenikol asetiltransferaz” (CAT) enzimini meydana getirir (Abbasoğlu ve Çevikbaş, 2011; Öztürk, 2002).

Glikopeptidlere direnç; glikopeptidler, gram negatif (gram (-)) bakterinin hücre çeperinden iletilmemesi nedeniyle dolayı doğal dirençli olarak gözlenir (Abbasoğlu ve Çevikbaş, 2011; Öztürk, 2002).

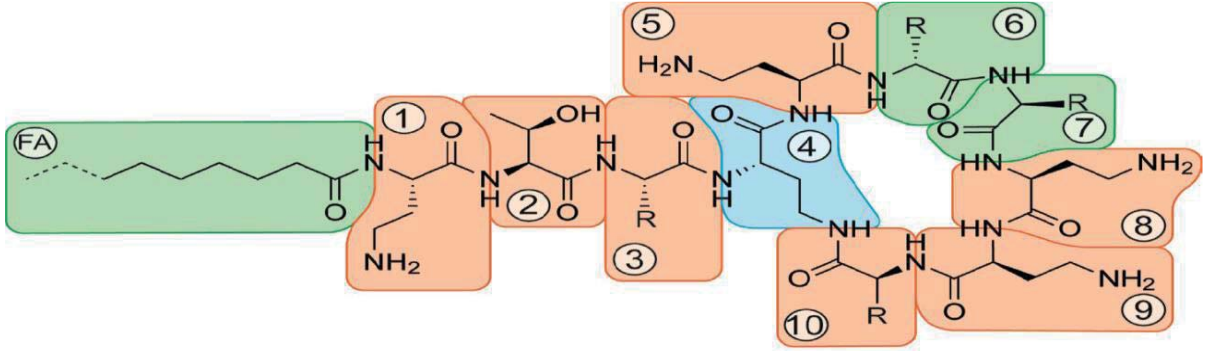
Tigesiklinlere direnç; gram (-), aerobik, anaerob patojenler ve gram pozitif tigesiklin direnç görülür. 30S ribozomal alt bölümlere tekrarlı birleşerek protein sentezini ortadan kaldırır. Tetrasiklinlerden değişik bağlanma bölgeleri vardır. Bu nedenle Tet M proteini tesir etmez ve tetrasiklinlerin beş katı tesir gösterir. Direnç ilerlemesi; ribozomal koruma ve dışa atım pompası mekanizmalarıyla oluşmaktadır (Abbasoğlu ve Çevikbaş, 2011; Çalık ve Akova, 2017).

Kinolonlara direnç; kinolonlara direncin mekanizması kromozomal mutasyon yöntemiyle oluşur. Kinolonlara direncin önemli mekanizmaları; hedef enzimde farklılık bulunması ve hücre içine ilacın alımının düşürülmesidir. Direnç ilerlemesi kromozom temellidir (Park ve ark., 2011). Florokinolonlar, bakteri DNA girazını yok eder ayrıca bakterisidaldirler. Gram negatif bakterilerin birden fazla türüne kuvvetli etkinlik gösterirler. Kinolonların ana bölümüne yan zincirlerin ilavesiyle farklı kinolonlar oluşturulmuştur. Günümüz kuşağı kinolonlar, gram negatiflere tesirlerinin artırılması yanında, gram pozitif ve anaerobik bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonlarda da tesirlidir (Yılmaz, 2017).

1.8. Polimiksinler ve Kolistin

Polimiksin, ilk kez bir gram pozitif bakteri (GPB) olan *Paenibacillus polymyxa subsp. colistinus*'dan izole edilmiş polipeptid grubu bir antimikrobiyaldır (Stansly ve Schlosser, 1947). Polimiksin sınıfında A'dan E'ye kadar beş farklı polimiksin bulunmakta olup bunlardan sadece polimiksin B ve polimiksin E klinik kullanımında yer alır. Hem kolistin hem de polimiksin B, bu bakterilerin ribozomal olmayan proteininin ikincil metabolitidir (Biswas ve ark., 2012). Günümüzde polimiksinler çoklu antibiyotik direnci geliştiren *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve karbapenemaz oluşturan enterik bakteriler vb. problemlili mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyonlar için zorunlu tüketilen antibiyotik grubudur (Li ve ark., 2006). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), ilkinin 2005 yılında yayınladığı raporlarla kolistini gıda üretimi yapılan hayvanlarda kullanımı kritik öneme sahip antimikrobiyallar arasında göstermektedir (WHO, 2019). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) ve Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC) özellikle son yıllarda “Tek Sağlık” kavramı kapsamında çalışmalarda bulunmuş olup yayınladığı raporlarda antibiyotik direnciyle gıda, veteriner hekimlik ya da çevre gibi farklı sektörlerin ilişkisini ortaya koymaya çalışmış; tüketicilerin ilgisini bu alana yönlendirmeye odaklanmıştır (ECDC, 2016; EFSA/ECDC, 2020).

Kolistinin kimyasal yapısı; polimiksinler amfipatik, non ribozomal olarak sentezlenen, bir amid bağı ile metil-6-oktanoik aside bağlanmış onlu peptid grubu içeren siklik lipopeptitlerdir. Onlu peptid grubunda yedi aminoasit bir halka oluşturur ve bu halkaya diğer üç aminoasit düz bir zincir şeklinde bağlıdır. Peptid gruplarında yer alan amino asitlerin kompozisyonuna ve yağ asit gruplarına göre farklı polimiksinler tanımlanmıştır. Kolistin; tripeptid yan zincirle birlikte D ve L- aminoasitlerinin oluşturduğu siklik hepta peptid halkasını içermektedir. Yan zincir açıl grubu ile yağ asidine kovalent olarak bağlanmaktadır (Li ve ark., 2019).



Şekil 1.5. Kolistinin kimyasal yapısı (Li ve ark., 2019)

Polimiksinlerin genel kimyasal yapısı: Polimiksinlerin peptid kısmının değişken bölgeleri (amino asitler 3, 6, 7 ve 10' un kalıntıları) "R" ile gösterilir. Tek tek amino asitler ve yağ asidi (FA), molekül içindeki işlevlerine göre renklendirilmiştir. Hidrofobik kısımlar yeşil, hidrofilik kısımlar ise turuncu ile belirtilmiştir. Maviyle renklendirilen 4. pozisyondaki L-Dab, molekül içi döngüyü oluşturmak için bağlayıcı olarak işlev görür (Velkov ve ark., 2010).

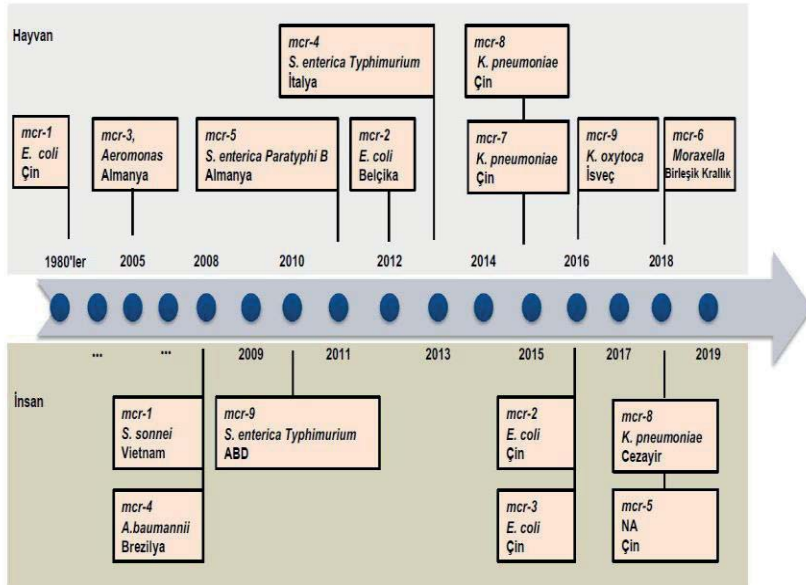
Kolistinin antimikrobiyal etkisi; Kolistin, gram negatif bakteriler (GNB) için seçici olarak bakterisidaldir ve gram pozitif bakteriler (GPB) ile aside dirençli bakterileri etkilemez. Kolistin, bu tür bakterilerin membranlarında liposakkarit (LPS) moleküllerinin varlığı nedeniyle sadece GNB'lere karşı etkilidir (Falagas ve ark., 2005; Li ve ark., 2019). GNB membranlarında bulunan LPS molekülleri kolistin için hayati öneme sahiptir, çünkü kolistinin etki mekanizması LPS molekülleri ile etkileşime dayanır (Falagas ve ark., 2005; Li ve ark., 2019; Sabnis ve ark., 2019). Kolistinin etki mekanizması, kolistinin GNB yakınına gelmesiyle başlar (Janssen, 2020).

Kolistinde direnç mekanizmaları; enterobacteriaceae' da *mcr-1* geni tarafından kodlanan plazmid aracılı kolistin direncinin Çin'deki çoklu kaynaklardan (Liu ve ark., 2016) ve dünya çapındaki hayvan kökenli örneklerden tanımlanmasından (Skov ve Monnet, 2016) bu yana, Avrupa'da gıda tüketimi amaçlı üretilen hayvanlarda insan sağlığı üzerinde bir etkisi olabileceği gerekçesiyle polimiksinlerin kullanımı sorgulanmaya başlanmıştır (EMA/CVMP/CHMP, 2016). Bildirilen kolistin direnci, birçok farklı direnç mekanizması kolistin direncine yol açabildiğinden dolayı doğrudan *mcr-1* geniyle ilişkilendirilememektedir (EMA/CVMP/CHMP, 2016).

Tablo. 1.3. Bazı bakterilerde polimiksin direnci (WHO, 2018)

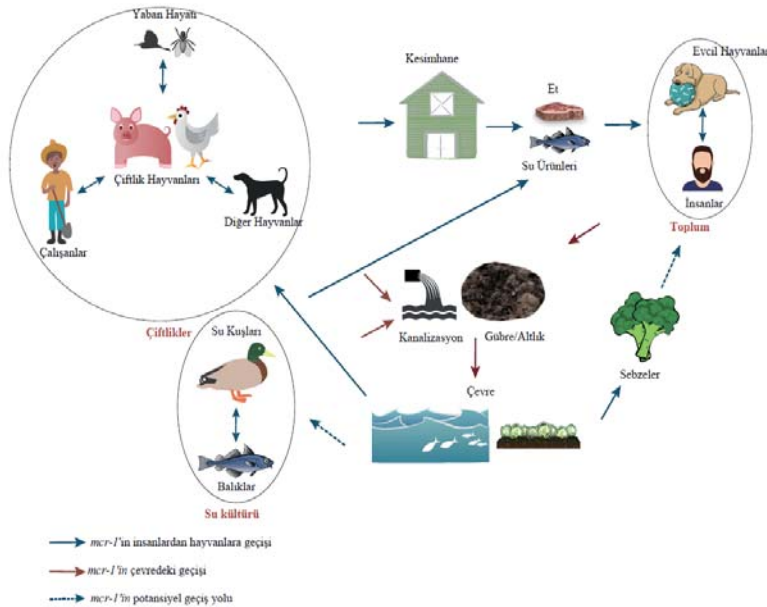
MİKROORGANİZMA	POLİMİKSLERE DİRENÇ DURUMU
Escherichia Coli	Duyarlı
Klebsiella Spp.	Duyarlı
Enterobacter Spp.	Duyarlı
Pseudomonas Aeruginosa	Duyarlı
Acinetobacter Spp.	Duyarlı
Salmonella Spp	Duyarlı
Shigella Spp.	Duyarlı
Pasteurella Spp.	Duyarlı
Haemophilus Spp.	Duyarlı
Proteus Spp.	Doğal dirençli
Providencia Spp	Doğal dirençli
Morganella Morganii	Doğal dirençli
Serratia Spp.	Doğal dirençli
Brucella Spp.	Doğal dirençli
Neisseria Spp.	Doğal dirençli
Chromobacterium Spp.	Doğal dirençli
Burkholderia Spp.	Doğal dirençli
Gram Pozitif Bakteriler	Tüm gram pozitif bakteriler dış membranları olmadığından polimiksinlere doğal dirençlidir.

Enterobacteriaceae’ da tanımlanan ve plazmid aracılı *mcr-1* geninden aktarılan polimiksin direnci küresel olarak önemli ölçüde endişe yaratmış olup şu anda en çok konuşulan polimiksin direnç mekanizmasıdır (Liu ve ark., 2016). Temmuz 2016’da, *E. coli* ‘de plazmid aracılı yeni bir kolistin direnci belirleyicisi olan *mcr-2* geni tanımlanmıştır. Muhtemelen LPS ekstremitesini değiştiren bir fosfoetanolamin transferaz olan *mcr-2*, *mcr-1* ile % 80.6 oranında aminoasit benzerliğine sahiptir (Xavier ve ark., 2016). Daha sonra *mcr-3* (Yin ve ark., 2017), *mcr-4* (Carattoli ve ark., 2017) ve *mcr-5* (Borowiak ve ark., 2017) genleri tanımlanmıştır. Birleşik Krallık’ta domuzlardan izole edilmiş *Moraxella* sp.’da *mcr-6* geni (Abu Oun ve ark., 2017), Çin’de kanatlılardan izole edilmiş *K. pneumoniae*’da *mcr-7* geni (Yang ve ark., 2018), yine Çin’de domuzlardan ve insandan izole edilen *K. pneumoniae*’da *mcr-8* geni (Wang ve ark., 2018), Amerika Birleşik Devletleri’nde insandan izole edilmiş *Salmonella enterica*’da *mcr-9* geni (Carroll ve ark., 2019) ve Çin’de insandan izole edilen *Enterobacter roggenkampii*’de *mcr-10* geni (Wang ve ark., 2020) tanımlandığı bildirilmiştir.



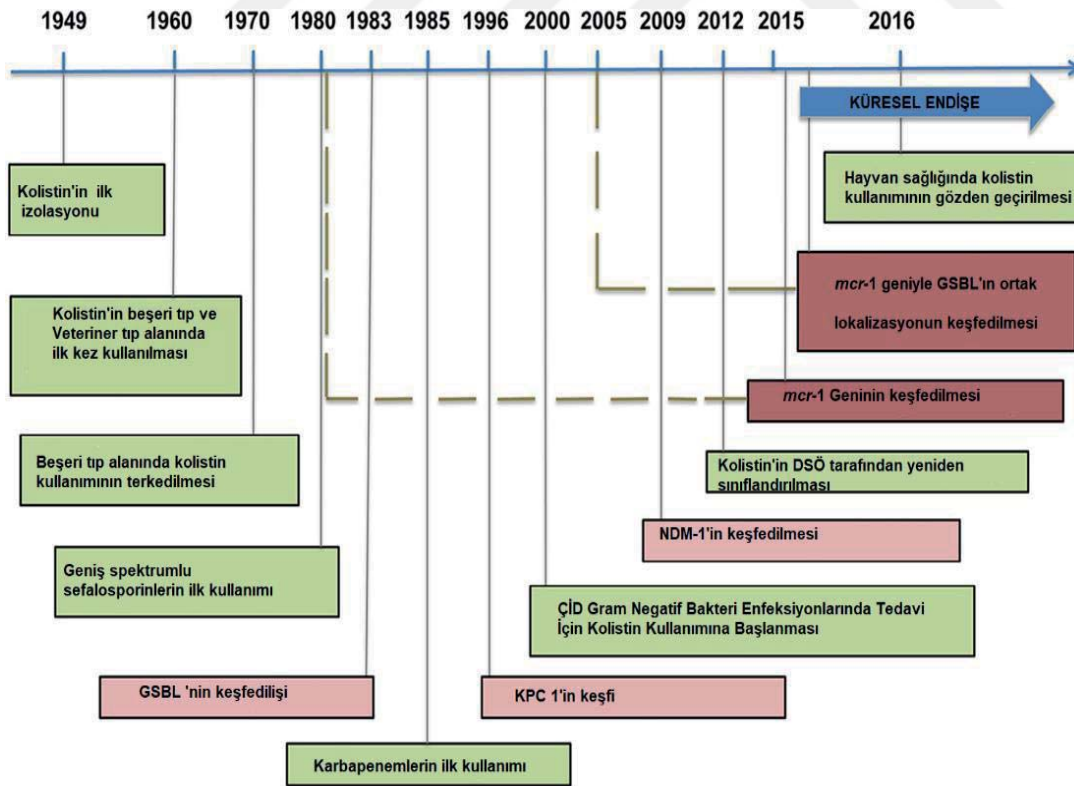
Şekil 1.6. mcr genlerinin insan ve hayvanlarda keşfinin kronolojik seyri (Luo ve ark., 2020)

Ülkelerin yayınladığı raporlar ele alındığında, antimikrobiyal direnç seviyelerinin önemli kısmı hayvancılıkta tüketilen antimikrobiyaller odaklı karşımıza çıkmaktadır. Ülkemizde antimikrobiyal konusunda fikir beyan etme durumu söz konusu değildir. Yeterli düzeyde çalışma ve yayım bu konuda henüz yoktur (TEPAV, 2017; TÜBA, 2017).



Şekil 1.7. Mcr-1 genlerinin insanlar, hayvanlar ve çevre arasındaki potansiyel geçiş yolları (Xiaomin ve ark., 2020)

“Tek Sağlık” yaklaşımının giderek yaygınlaşmasıyla Şubat 2019’da Avrupa’da Tıp hekimleri ve Veteriner Hekimler arasında bir istişare çalışması yapılmış, antimikrobiyallerin hayvanlarda kullanımları ve olası bir antimikrobiyal direnç gelişimi de düşünülerek EMA’nın Kritik Öneme Sahip Antimikrobiyaller sınıflandırması gözden geçirilmiştir. Buna göre sınıflandırma A'dan D'ye kadar dört kategoriden oluşmaktadır; A-Kaçının, B-Kısıtlı kullanın, C-Dikkatli kullanın ve D-İhtiyatlı kullanın. Polimiksinler B kategorisine girmekte olup bu kategoride insan tıbbında kritik öneme sahip ve hayvanlarda kullanımları halk sağlığına yönelik riski azaltmak için sınırlandırılması gereken antimikrobiyaller yer almaktadır (EMA/CVMP/CHMP, 2020). Enterobacteriaceae enfeksiyonlarındaki kullanımına ek olarak kolistin, *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonlarını tedavi etmek için giderek daha fazla uygulanmaktadır. Tarım ve hayvancılıkla ilişkili olarak *mcr* geninin yayılmasını azaltmak amacıyla Çin ve Brezilya gibi birçok ülke, kolistin kullanımını yasaklamak ve kısıtlamak için harekete geçmiştir (Holmes ve ark., 2018). Bu kısıtlamaların yararlı ve gerekli olmasına rağmen, *mcr*'nin yayılma dalgasını durduramayacağından korkulmaktadır (Wang ve ark., 2018).



Şekil 1.8. *mcr* genlerinin GSBL ve karbapenemazla birlikte ilişkisinin tarihsel yolculuğu (Rhouma ve Letellier, 2017)

1.9. Alabalıklarda Antibiyotik Kullanımı ve Antibiyotik Çeşitleri

Alabalıklarda bakteriyel patojenler ile mücadele; son zamanlarda su ürünlerinde, bakterilere karşı aşı ve antibiyotik tüketimi yaygınlık kazanmıştır. Türkiye’de balık patojeni bakterileri içeren *Yersinia ruckeri*, *Lactococcus garvieae* ve *Vibrio sp.* çeşitlerine uygun ruhsatlı aşılarda üretilerek sıklıkla tüketilmektedir (Kayış, 2019). Aşı kullanımının yaygınlaşması ile antibiyotik kullanımının azaltılması beklenmektedir. Türkiye’de su ürünleri üretim tesislerinde kullanılan antibiyotikler; sulfadiazin+trimetoprim, amoksisilin-klavulanik asit, florfenikol, oksitetrasiklin, enrofloksasin ile oksolinik asit etken maddelerini bünyesinde barındıran 41 ruhsatlı hazır balık ilaçlarının varlığı rapor edilmiştir (Kayış, 2019).

Antibiyotik kullanımı ve bakteriyel direnç; antibiyotik tüketiminin hastalıklarla başa çıkmada ciddi önem taşıması ve genel kullanımından dolayı doğal olarak beraberinde birçok sorunu da gün yüzüne çıkarmıştır. Sorunlar antibiyotiklerin pahalı oluşu ve temin edilmesinde kullanılan para ilk etapta düşünülen sorun olsada antibiyotiklerin canlı yaşamına ve çevreye zararlı katkılarının olması günümüz coğrafyasında kendine önemli bir yer edinmiştir. Antibiyotiklerin bakterilerle mücadelesinde ve etkili bir şekilde tüketilmesinde bazı biyokimyasal yollar tanımlanmıştır. Bu yollar 2 şekilde belirtilmektedir. Birincisi bakteriyostatik (bakterilerin üremesini engelleyici) özelliğe sahip antibiyotikler, ikincisi de bakterisit (bakterileri yok eden) antibiyotiklerdir. Antibiyotikler bakterilerde bazı değişikliklere yol açarlar. Bunların ilki hücre duvarı sentezini yok etmektir. İkincisi protein sentezi inhibitörleri, üçüncüsü nükleik asit fonksiyonu veya sentezini inhibe edenler ve son olarak dördüncüsü hücre membranı görevini etkileyen durumlar olarak gözlenmiştir. Antibiyotiklerin bakteri üzerindeki hakimiyeti direnç genleri vesilesiyle zaman geçtikçe etkisini yitirir. Bakterilerin az miktarda antibiyotik ile etkileşim halinde olması sebebiyle direnç genleri ortaya çıkmaktadır. Direnç mekanizmasının varlığı da bakterilerle savaşmak için sayısız antibiyotiğin bulunmasını ve daha çok antibiyotik tüketilmesini zorunlu kılmıştır. Bu sebeplerden dolayı bilim insanları birbirinden değişik kökenli bakterilerin var olan antibiyotiklere gösterdikleri dirençleri çalışma olanağı bulmuşlardır (Gülay, 2017).

Balıklarda antibiyotik uygulamaları; geçmişten günümüze balık hastalıklarının ortadan kaldırılmasında ilk akla gelen yöntem antibiyotik kullanımı olmuştur. Antibiyotikler su ve yeme eklenerek ya da enjeksiyonla tüketilir. Balıklarda tüketilen 41 adet ruhsatlı ilaç mevcuttur. Bu ilaçların 15 tanesi florfenikol, 9 tanesi sulfadiazin+trimetoprim, 12 tanesi

oksitetrasiklin, 2 tanesi enrofloksasin, 2 tanesi amoksisiklin ve 1 tanesi de oksolinik asit barındırır (URL 1, 2015).

Sülfonamid grubu ilaçlar; balıklarda tedavi ve korunma amaçlı tüketilir.

Florfenikol, balıklarda furunkulozisin tedavisinde tüketilir. (URL 1, 2015).

Kinolonlar; insan ve hayvan sağlığında tercih edilen geçmişten günümüze en etkili ve en çok tercih edilen antibiyotik çeşididir (Samanidou, 2007).

Tetrasiklin grubu antibiyotikleri; balıklarda büyüme artırıcı ve *Pseudomonas* enfeksiyonlarının giderilmesinde tüketilir (Namdari ve ark., 1999).

Sucul sistemlerden izole edilen bakterilerin dirençlilik durumları, sucul ekosistemlerde genellikle insan patojeni olan çeşitler öncelikli görülmektedir. Öncelikli görülen türlerin başında gelen *Escherichia coli* çoğu sistemde kalıntı kirlilik diye adlandırılmakta olmasının yanı sıra antibiyotik dirençlilik ile ilgili yapılan çalışmalara ışık olmuştur. Doğu Karadeniz Bölgesi'nde alabalık üretim tesislerinden ayrıştırılan 133 bakterinin antibiyotik direnciyle ilgili yapılan çalışmada maksimum direnç cephalothin % 70, amoxicillin-klavulanik asit % 63 ve ampicillin % 62 oranında direnç gösterdikleri bildirilmiştir (Çapkın ve ark., 2017).

1.10. Matris Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS)

Matris Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS), 2009 yılından günümüze standart klinik uygulamalarında kendine yer edinmiş mikroorganizma tanımlama yöntemidir. Bu sistemde, bakteri ya da mantarların ribozomal proteinleri matriksle iyonize edilerek uçurulmakta, proteinlerin uçuş süresine bakılarak moleküler kütleleri hesaplanmakta ve test edilen mikroorganizmanın protein spektrumu oluşturularak tanımlama yapılmaktadır. Bu sayede, yaşamımızda 1000'den fazla klinik açıdan önem arz eden bakteri ve mantar türlerinin tanımlanması, in-vitro tıbbi tanı cihazları (IVD) ve Avrupa'ya uyum (CE) sertifikalı olarak kısa sürede tamamlanmıştır (Vitek MS V3., 2016). Daha önceki projelerde, bu sistemin güvenilirliği konusunda tatmin edici sonuçlar rapor edilmiş MALDI-TOF MS'nin gram-pozitif, gram-negatif, aerobik ve anaerobik bakteri, mikrobakteri ve mantarları referans yöntemi ile % 90-100 seviyesinde doğru sonuçlar verdiği görülmüştür (Miller ve ark., 2018).

MALDI-TOF MS süregelen mikrobiyoloji laboratuvarlarında mikroorganizmaların tür seviyesinde isimlendirilmesinde tercih edilen çabuk, hesaplı, gerçek netice alınabilen avantajları sayesinde yeni bir sistem olarak kabul görmüştür. MALDI-TOF MS, mikroorganizmanın biyomoleküllerini (şeker, peptit, protein vb.) büyük organik moleküllerini iyonize şekle dönüştürülme akabinde elektrik veya manyetik bölgeden akarak protein profillerinin oluşturulması temellidir. Sonrasında profil spektrallarına ilişkin grafiksel görüntünün, yöntemin veri tabanındaki referans mikroorganizmalarıyla harmonileri baz alınarak cins ve tür seviyesinde isimlendirilmeleri oluşturmaktır (Yılmaz ve ark., 2014). Diğer yöntemlerle tanımlanma, 1-2 gün sürebilmekte iken, MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlama süresi 1 saate kadar inebilmektedir. Üreyen tek bir koloni bile olsa, MS yöntemiyle koloniyi kaybetmeden çalışma olanağı bulunmaktadır. Analizin basitliği ve çabukluğu yöntemin önemine katkıda bulunmaktadır. MALDI-TOF MS ile Enterobacteriaceae'lar, non-fermentatif gram negatif bakteriler, stafilokoklar, streptokoklar, diğer bakteriler ve mantarlar hızlı ve kolay, tür düzeyinde güvenilir bir şekilde tanımlanabilmesi açısından avantajlara sahiptir. Enterobacteriaceae ailesi dışında bakteri tiplendirilmesinde bazen tür ayırımında net güvenilir tanımlamalar yapamamaları açısından MALDI-TOF MS dezavantajlıdır (Holler ve ark., 2011).

1.11. Tezin Önemi ve Amacı

Sularda oluşan kirlilik, üst seviyede yetiştirme, su kalitesinde azalma, dengesiz besleme vb. sebepler balıklarda hastalık sorunlarını oluşturmaktadır. Gökkuşluğu alabalıklarında çeşitli coğrafik bölgelerde enfeksiyona sebep balıklar için patojen türler çalışılmış ve *Aeromonas spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Flexibacter spp.*, *Vibriom spp.*, *Yersinia spp.*, *Renibacterium spp.*, *Streptococcus spp.* gibi etkenler belirtilmiştir. Özellikle *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio manguillarum*, *Lactococcusm garvieae* ve *Yersinia ruckeri'nin* sebep olduğu balık enfeksiyonlarının önemli kayıplar verdiğini tespit edilmiştir (Akşit ve Kum, 2008). Balıklarda meydana gelen bakteriyel hastalıkları denetim altına almak amacıyla çeşitli antibiyotikler suya veya yeme eklenerek kullanılmaktadır. Tunceli'de alabalık üreticiliğine elverişli olan kaynak, dere ve çay sularının kullanılmasıyla tesisler oluşturulabilir. Tunceli ili doğal su kaynakları açısından oldukça zengin, su ürünleri, özellikle alabalık yetiştiriciliğinde önemli bir potansiyel oluşturmaktadır. Munzur dağlarından doğup, il merkezinden geçerek

Keban baraj gölüne dökülen Munzur Çayı, dünya çapında ünlü alabalıkları ihtiva etmektedir. Tunceli; Mazgirt, Nazimiye, Ovacık, Pertek, Çemişgezek ilçeleri ve merkez olmak üzere 27 adet tesis ile 7033 ton/yıl kapasite, üretim miktarı yaklaşık 2000 ton civarındadır. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.* ve *Salmonella spp.* 'nin oluşturduğu balık enfeksiyonlarının önemli yok oluşlara sebep olduğu rapor edilmiştir. Balık yetiştiriciliği ve halk sağlığı açısından önemli sorunların başında gelmekte ve büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Tunceli ilini kapsayan çalışmamız bu türlerinin yaygınlığını ortaya koyarak balık hastalıklarının etkin tedavi ve kontrol stratejilerine katkı sağlayacaktır. Çemişgezek, Mazgirt, Ovacık ve Pertek ilçelerinde beton havuz ve ağ kafes yetiştirme metoduna sahip tesislerin alması gereken önlemlerin ortaya konulması, Gökkuşığı alabalıklarında hastalığa sebep olan bakterilerin saptanması, hastalıklı gökkuşığı alabalıklarının tedavisinde kullanılacak olan antibiyotikleri belirleme açısından çalışmamız büyük önem taşımaktadır.

Balık yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotiklere karşı bakterilerin bir ve birden fazla antibiyotiğe aynı anda direnç kazandığı balık çiftliklerinde ve çevresindeki sucul bölgelerde gözlenmiştir. Tüketilen antibiyotiklerin fazlası ve antibiyotik kalıntısı civardaki sedimentte yığılmaktadır. Oluşan yığılımlar bakterilerde seçici etki oluşturarak bölgedeki antibiyotiklere dirençli bakterilerin fazlalaşmasına sebep olmaktadır. Antibiyotiğe direnç geninin sucul bölgede var olan başka bakteri çeşitlerine aktarılma sorunu da söz konusudur. Ek olarak, antibiyotiğe direnç geni insan ve hayvan patojenlerine de aktarılabilmektedir (Jalal ve ark., 2012). AMR küresel bir sağlık sorunudur. Su ekosistemleri AMR' nin yayılmasında ideal bir ortam sağlayabilir. Balık çiftliklerinde terapötik ajanlar olarak yeme ilave edilen antimikrobiyaller su içerisine eklenmektedir. Antibiyotik kalıntıları aquatik ortamlarda kalmakta ve bu atık sular akarsulara karışarak üretim tesislerine taşınabilmekte ve direnç genleri o ortamda bulunan bakterilere aktarılabilmektedir. Son çare antibiyotik olan kolistin, karbapenem dirençli Enterobacterales enfeksiyonlarını kontrol altına almak için önemlidir.

Mobil kolistin direnç genlerinin (*mcr*) ortaya çıkışı, kolistin etkinliğini tehdit etmiştir. *mcr-1* geninin yakın zamanda İsviçre' de bir *E. coli* suşunun kromozomu üzerinde tanımlanmış ve bu direnç geninin bazı izolatlarda genom içine entegre ve aynı zamanda stabilize de edilebilmektedir (Zurfluh ve ark., 2016; Poirel ve ark., 2017). Polimiksin antibiyotiklere direnç dışında, *mcr-1* üretiminin lizozime direnç sağladığı gösterilmiştir (Sherman ve ark., 2016; Poirel ve ark., 2017). Su ürünleri yetiştiriciliğinin *mcr*' nin küresel

yayılmasına katkıda bulunduğu varsayılmaktadır. Aquatik sistemlerin kolistine dirençli genler için önemli bir rezervuar olduğu ve bunları doğrudan ve dolaylı olarak insanlara iletebildiği öne sürülmüştür. Bununla birlikte, dünyada su ürünleri yetiştiriciliğinde mcr ile ilgili veriler yok denecek kadar azdır. Bu nedenle, küresel olarak su ürünleri yetiştiriciliğinde kolistin direncini ve mcr' yi araştırmak, özellikle sınırlı alt yapıya sahip ülkelerde önemlidir. Yapılan literatür taramasında ülkemizde balıklarda plazmit aracılı kolistin direncine neden olan mcr geninin var olup olmadığını ortaya koyan bilimsel bir veri bulunmamaktadır.

Tunceli ilindeki alabalıklarda *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli* ve *Salmonella spp.* bakterilerinin kolistin direncinin araştırılması ve antimikrobiyal direnç genlerinin ortaya konulmasının hedeflendiği bu çalışmada; Tunceli ili ve ilçelerindeki alabalık işletmelerinden toplanan 200 adet alabalık örneği ile su örneklerinden *E. Coli* ve *Enterobacter spp.* izolasyonu gerçekleştirildi. İzole edilen bakterilerin MALDI-TOF MS yöntemi ile identifikasyonunun yapılması, identifiye edilen izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırılması, Kolistin duyarlılıkları ise sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile tespit edilmiştir. Bu yöntemle kolistin dirençli bulunan izolatlarda kolistin ve çoklu direnç varlığı, kolistin direnç genlerinin (*mcr1-9*) varlığını ortaya koymak amacıyla Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi kullanılmıştır. Proje ülkemizde su ürünlerinde kolistin direnç genlerinin varlığının ortaya konulmasında bir ilk olma özelliği taşımaktadır. Ayrıca; bu çalışma Tunceli ili Mazgirt, Çemişgezek, Ovacık ve Pertek ilçelerindeki Gökkuşluğu Alabalıklarında Plazmit Kaynaklı Kolistin Direnç Genlerinin Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Saptanması konusunda da Doğu Anadolu havzasında bir ilk olma özelliğine sahiptir.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesi esnasında yazılacak makaleler ve bu makalelerin SCI indeksli dergilerde yayınlanması, bilimsel olarak çalışmanın uluslararası düzeyde, ciddi yararları olacaktır. Tunceli ili Mazgirt, Çemişgezek, Ovacık ve Pertek ilçelerindeki Alabalıklarda Plazmit Kaynaklı Kolistin Direnç Genlerinin Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Saptanması küresel bir sorun olan kolistin direnci konusunda yapılacak çalışmalara veri desteği sağlayacaktır. Yaptığımız çalışma sayesinde bölgedeki balık kalitesi ve verimi artacağı düşüncesindeyiz. Sunulan çalışmadan elde edilen bilgiler ışığında benzer konuda daha ileri düzeyde Yüksek Lisans/Doktora Tezi çalışmaları belirlenerek, Ulusal/Uluslararası yeni projelerin altyapısı oluşturulabilecektir.

Bu çalışmada, Tunceli ilindeki Mazgirt, Çemişgezek, Ovacık ve Pertek ilçelerindeki ağ kafeslerde ve beton havuzlarda gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan işletmelerden 200 adet yavru veya ergin rastgele alınan gökkuşuğu alabalığı ve alabalıkların bulunduğu havuz suyu örneklerinden *E. coli*, *Enterobacter* spp. ve *Salmonella* spp.`yi içeren Enterobacterales`lerin kültür metodu ile izolasyonu gerçekleştirilecektir. İzole edilen bakterilerin MALDI-TOF MS yöntemi ile identifikasyonunun yapılması, İdentifiye edilen izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırılması, Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile kolistin duyarlılıklarının tespit edilmesi, İdentifiye edilen *E. coli*, *Enterobacter* spp. ve *Salmonella* spp. izolatlarında plazmit aracılı kolistin direncine neden olan *mcr* genlerinin (*mcr* 1-9) multipleks PZR yöntemi kullanılarak araştırılması, *mcr* pozitif *E. coli*, *Enterobacter* spp. ve *Salmonella* spp. izolatlarının 16S rRDA dizi analizine tabi tutulması amaçlanmıştır. Ülkemizde *E. coli*, *Enterobacter* spp. ve *Salmonella* spp.`yi içeren Enterobacterales`lerde kolistin direnç genlerinin varlığının ilk kez belirlenmeye çalışılacak olması projenin özgün yönünü oluşturmaktadır.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal

2.1.1. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler

1. Öze (N405001 Biosigma),
2. Elektronik hassas terazi (Weightlab WL3002L),
3. Hız ayarlı vorteks (ISOLAB),
4. %5 Koyun Kanlı Agar,
5. Mac Conkey Agar,
6. Hektoen Enterik Agar,
7. Mikrosantrijüf (BIOSAN),
8. Etüv (BINDER),
9. Elektroforez Aparatı (BIORAD),
10. UV lambası ve ilgili okuma, kaydetme, fotoğraf alma ünitesi (Gel Logic 200, KODAK),
11. MALDI-TOF VITEK MS (Biomérieux, France) Cihazı,
12. Pipetler,
13. Eppendorf Tüpü (1,5 ml kapaklı)
14. 2 ml PCR tüpü (981005 QIAGEN),
15. Corning 96 well clear polystyrene microplate (CLS3367 SIGMA),
16. Millipore Membrane Filter (0.22 µm pore size).

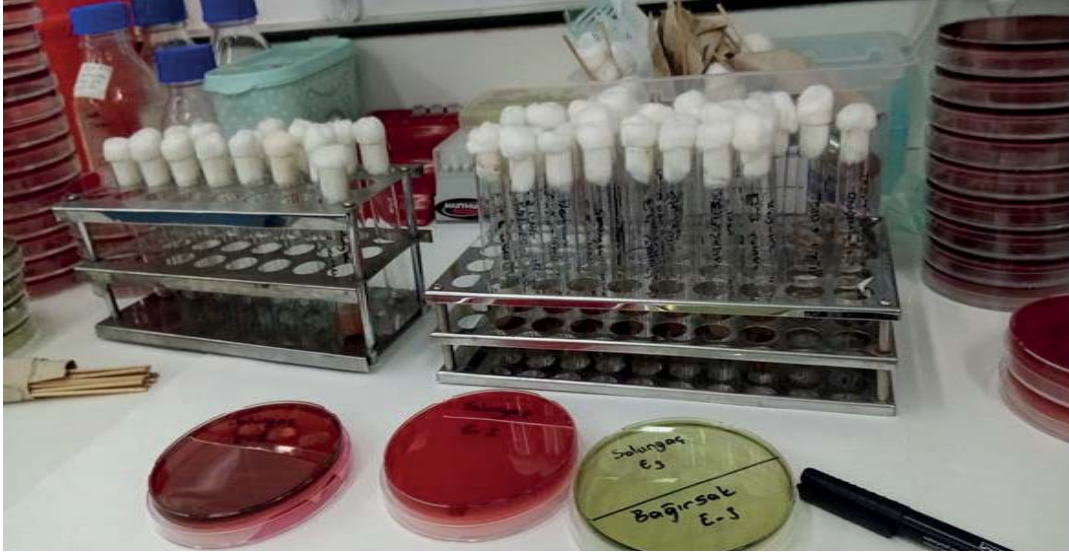
2.1.2. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

1. Colistin C2700000 SIGMA (25 MG),
2. Benzocaine,
3. % 70'lik etil alkol,
4. Mueller Hinton Besiyeri (ORBAK),
5. Rappaport-Vassiliadis Sıvı Besiyeri,
6. TopTaq Master Mix (203113 QIAGEN),
7. DNA Ladder (SM0241 THERMO),

8. QIA Symphony DSP Virüs/Patojen kiti (Cat No:937055 QIAGEN),
9. Primer 24baz (ELLA BIOTECH),
10. Mueller Hinton Sıvı Besiyeri,
11. Qiaquick PZR saflaştırma kiti,
12. Bigdye Terminator (V3.1 Cycle) dizileme kiti.

2.1.3. Örneklerin Hazırlanması

Tunceli ili Ovacık, Pertek, Mazgirt, Çemişgezek ilçelerinde beton havuz ve ağ kafes üretim metoduna sahip Gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden rastgele alınan 200 adet gökkuşuğu alabalığının deri, solungaç, bağırsak organlarından alınan doku örnekleri ve su numunelerinin katı besiyerlere ekimleri yapıldı. Ekimleri yapılmış petri kapları *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.* ve *Salmonella spp.* bakterilerinin üremesi için 36.6 °C dereceye ayarlı etüvde 24 saat boyunca bekletildi.



Resim 2.1. Tunceli ili ve ilçelerinden temin edilen gökkuşuğu alabalığı numunelerinin bağırsak, solungaç, deri kısımlarının bakteri izolasyonunu gerçekleştirmek üzere petri kaplarına ekimlerinin yapılması



Resim 2.2. Bakteri izolasyonu için bağırsak, deri ve solungaç kısımlarının ekimlerinin yapıldığı petri kaplarının 24 saat boyunca inkübasyonu

2.1.4. Numunelerin temin edilmesi

Bu çalışmada, gökkuşacağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan Tunceli ili Mazgirt, Çemişgezek, Ovacık ve Pertek ilçelerindeki ağ kafes ve beton havuz üretim metoduna sahip işletmelerden rastgele alınan 200 adet yavru veya ergin gökkuşacağı alabalığı numunelerinin bağırsak, deri ve solungaçlarından bakteri izolasyonu gerçekleştirmek üzere 2021-2022 yılı Haziran, Temmuz, Aralık ayları süresince gökkuşacağı alabalığı temin edildi. Gökkuşacağı alabalığı numuneleri Fırat Üniversitesi' nin Su Ürünleri Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (SÜDAM) biriminde vücut yüzeyleri % 70' lik etil alkolle silinerek ve bir bistüri yardımı ile aseptik koşullarda kesilerek steril penslerle balığın solungaç, bağırsak ve deri kısımları çıkarılarak, bu kısımlar moleküler analizlerin gerçekleştirilmesi amacıyla en kısa sürede soğuk zincir altında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Turgut Özal Tıp Merkezi, Moleküler Mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı.



Resim 2.3. Aralık ayı Mazgirt ilçesi ağ kafes Gökkuşacağı alabalığı yetiştirme tesisinden numune alımı



Resim 2.4. Gökkuşığı alabalığının deri kısımlarının çıkarılmasının kesit görüntüsü



Resim 2.5. Gökkuşığı alabalığının bağırsak kısımlarının çıkarılmasının kesit görüntüsü



Resim 2.6. Gökkuşığı alabalığının solungaç kısımlarının çıkarılmasının kesit görüntüsü

2.2. Metod

Konvansiyonel metotlarla *E. coli*, *Enterobacter spp.* izolasyonu gerçekleştirilmiş olup bakteri izolasyonu gerçekleştirilen izolatlar MALDI-TOF MS analizi ile tanımlanmıştır. *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* ve *Enterobacter spp.*' deki antimikrobiyal duyarlılıklar Kirby-Bauer disk difüzyon metodu ile belirlendi. Kolistinin minimum inhibitör (MİK) değeri, sıvı mikrodilüsyon testi kullanılarak *E. coli* ve *Enterobacter spp.* izolatları için belirlendi. Sıvı mikrodilüsyon sonuçlarına göre kolistin dirençli izolatlardan DNA ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Genomik DNA, üretici firmanın talimatlarına göre QIA-symphony cihazında QIA-symphony DSP Virüs/Patojen kiti (Qiagen, Valencia, CA, ABD) kullanılarak izole edildi.

2.2.1. Kullanılan primer dizileri

Kolistin direnç genlerinin saptanması için önceden tanımlanmış primerler kullanılacaktır. *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4*, *mcr-5*, *mcr-7*, *mcr-8*, *mcr-9* hedef alan primerler (Tablo 2.5.1.1) (Liu ve ark., 2020) kullanılarak PZR ile amplifiye edildi.

Tablo 2.2. *E. coli*, *Enterobacter spp.* ve *Salmonella spp.* izolatlarında *mcr* genleri için kullanılan primerler (Liu ve ark., 2020)

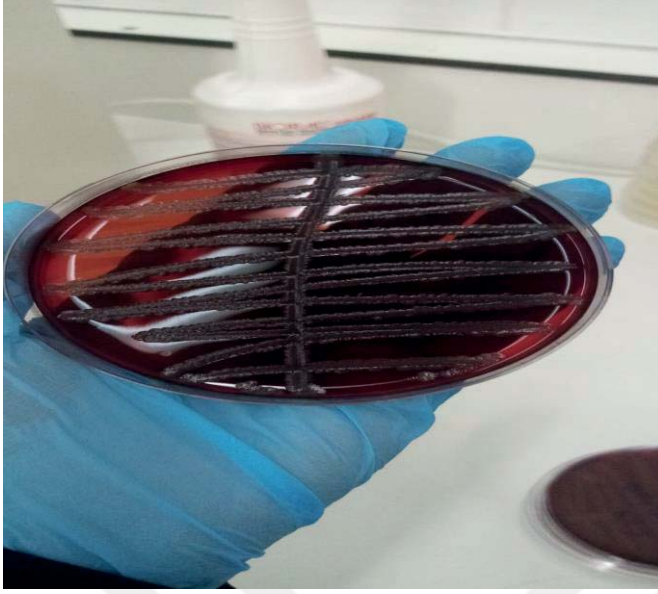
Primerler	Primer Dizileri (5'-3')	Gen Bölgesi	Amplikon Büyüklüğü (bp)
mcr-1_205F mcr-1_205R	5'TCCAAAATGCCCTACAGACC 3'GCCACCACAGGCAGTAAAAT	mcr-1	205
mcr-2_279F mcr-2_279R	5' CCTTTTGTGCTGATGGGTTT 3' ATTTTGGAGCATGGTGGTGT	mcr-2	279
mcr-3_347F mcr-3_347R	5' CTTGCTGAACCAATCCCATT 3' CCATCGTTCTCCTTCCAAA	mcr-3	347
mcr-4_426F mcr-4_426R	5' GATCCGAAGCTGTGTTCTG 3' GCCAGCATTGGTACGCTAGT	mcr-4	426
mcr-5_522F mcr-5_522R	5'GGTTGGCCGAGAAGATAACA 3'ATGTTGCCAGAAGGTCCAAC	mcr-5	522
mcr-7_791F mcr-7_791R	5' GTCAGTTACGCCATGCTCAA 3' TTCTTGTCGAGAAGTGTGG	mcr-7	791
mcr-8_943F mcr-8_943R	5'AAACTGAACCCGGTACAACG 3' GCCATAGCACCTCAACACCT	mcr-8	943
mcr-9_635F mcr-9_635R	5' GCGGTTGTAAAGGCGTATGT 3' CAAATCGCGTTCAGGATTAT	mcr-9	635

2.2.2. Doku örneklerinden bakteri izolasyonu

Tunceli ili ilçelerinden toplanan balık numunelerinin solungaç, deri ve bağırsak kısımları ayrıca elde edilen su numunelerinin bakteri izolasyonu ve identifikasyonu için gerçekleştirilen aşamalar; Gökkuşığı alabalığı numunelerinin solungaç, deri ve bağırsak kısımları 225 ml tamponlanmış peptonlu su (buffered peptone water, BPW) içeren steril poşetlere konarak stomacher cihazında 2 dakika homojenize edildi. Enterobacterales izolasyonu için plastik öze ile 10 µL alınarak Mac Conkey agar ve % 5 koyun kanlı agar besiyerlerine kantitatif ekim yapılarak aerobik koşullar altında 37 °C'de 18-24 saat inkübe edildi. Tüm şüpheli Enterobacterales kolonileri saflaştırıldı ve biyokimyasal yöntemlerin ardından MALDI-TOF MS ile identifiye edildi. Salmonella izolasyonu için, yaklaşık 25 g miktarında örneklerden (balık solungaçları, bağırsak ve deri) tartıldı. 225 mL BPW içeren steril poşetlere konarak 2 dakika süreyle stomacher cihazı ile homojenize edildi. Ön zenginleştirme besi yerinden 0,1 alınarak 10 mL Rappaport-Vassiliadis (RVS) sıvı besi yerine aktarıldı ve 42 °C'de 18-24 saat inkübe edildi. Seçici zenginleştirme kültüründen plastik öze ile 10 µL alınarak Hektoen- Enterik agar ve % 5 koyun kanlı agar besiyerlerine kantitatif ekim yapıldı. Aerobik koşullar altında 37 °C'de 18-24 saat inkübasyona tabi tutuldu. Agar plakları üzerindeki şüpheli koloniler saflaştırıldı. Bakterilerin identifikasyon aşaması için numuneler MALDI-TOF MS analizine tabi tutuldu.



Resim 2.7. Tunceli ili ve ilçelerinden alınan gökkuşığı alabalıklarının barsak deri ve solungaç kısımlarındaki bakteri izolasyonunun petri kaplarındaki görüntüsü



Resim 2.8. Tunceli ili ilçelerinden alınan Gökkuşuğu alabalıklarının deri kısımlarındaki *E.coli* üremesine ait görüntü

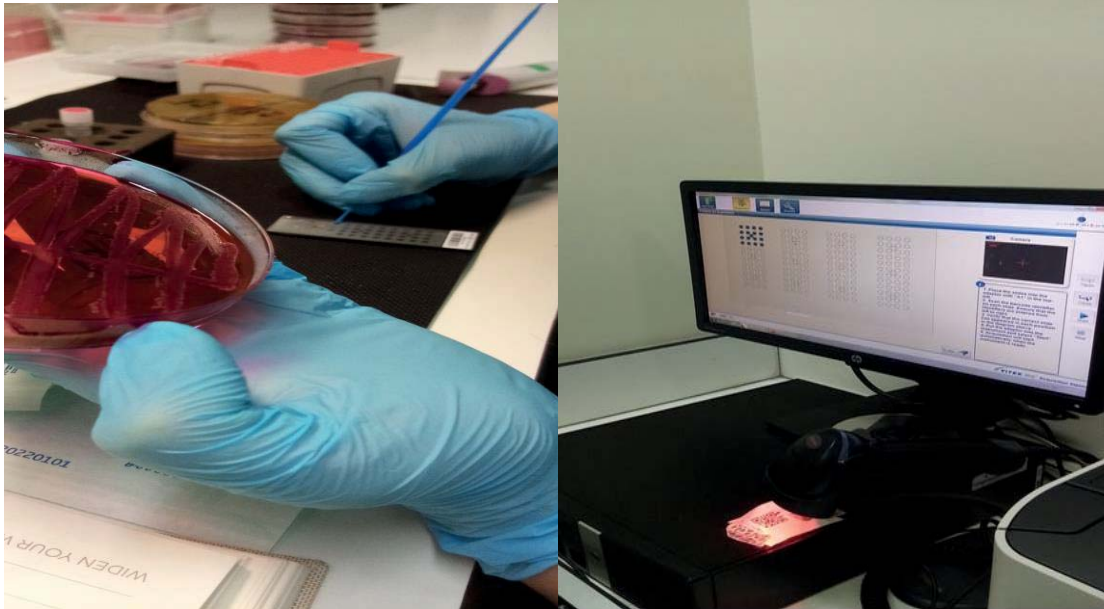
Sıvı besiyerinden 1ml çaplı öze kullanılarak katı besiyerine ekim yapılmıştır. Bu yöntemle 100.000 cfu/ml koloni oluşturan bakteri sayısı anlamlı üreme olarak kabul edilmiştir. Deri kısımlarından izole edilen bakterilerin petri kabını tamamen kapladığı 100.000 cfu/ml koloni oluşturduğu Resim 2.8.' de görülmektedir.

2.2.3. E.coli, enterobacter spp., salmonella spp. türlerinin MALDI-TOF MS analizi ile tanımlanması

Konvansiyonel metotlarla *E. coli*, *Enterobacter spp.* olarak tanımlanan izolatlar MALDI-TOF MS ile tanımlamaları yapıldı. İlk olarak % 5 koyun kanlı agar, Mac Conkey agar ve Hektoen- Enterik agarlardan üreyen kolonilerden, steril bir kürdan yardımıyla tek koloni alındı. Seçilen koloniden 1 µl alınarak maldı kuyusuna konularak 25°C de kurutuldu. Kuyudaki örnek kuruyunca protein yapıdaki biyomarkerların ortaya konulması amacıyla üzerine 1 µ-siyano-4-hidroksisinamik asit (HCCA) matriks solüsyonu eklendi. Böylece örnek kristalize hale gelerek birkez daha 25°C' de kuruması beklendi. Kuruyan örnekler MALDI-TOF MS makinasına koyulup analize tabi tutuldu. Mikroorganizma tiplendirmesinin en güvenilir biçimde ortaya çıkması için 2000-20.000 Da kütle aralığında ve pozitif iyon dengesinde ölçümler yapıldı. Kuruyan maldı plakları cihaza yerleştirilirken sisteme hava girişi

olmaması için analiz yapılmadan önce cihazı içindeki havası alınmış boşluk bir kez daha oluşturuldu ve numuneler lazer bombardımanına uğratıldı.

Minimum seviyede mikrobiyal biyokütleyle analiz süreci tamamlandı. Daha sonra spektrum bilgisayarlı veri tabanında varolan referans mikroorganizmalara ait diğer spektrumlarla karşılaştırılarak tiplendirme oluşturuldu. MALDI-TOF VITEK MS (Biomerieux, France) ticari sistemi tercih edildi. Ölçümler üretici firmanın önerilerine uygun oluşturuldu. İzolatlar Vitek MS (Bio Mérieux, Fransa) cihazı kullanılarak "In Vitro Diagnostic (IVD)" modülü V3.0 veri tabanı ile tanımlandı (MALDI-TOF VITEK MS V3, Biomerieux France, 2020).



Resim 2.9. Seçilen koloniden 1 µl alınıp maldı kuyusuna konulmasını ve MALDI-TOF MS veri tabanı sonuçlarını gösteren görüntü

2.2.4. Bakterilerden DNA izolasyonu

Örneklerin DNA izolasyonu; QIASymphony DSP Virüs/Patojen kiti (Qiagen) ticari kiti kullanılarak yapıldı. İzolasyon aşağıdaki basamaklar izlenerek yapılmıştır. QIASymphony DSP Virüs/Patojen kiti (Qiagen) ticari kiti direktiflerine göre: Alınan örnekler 1,5 µl'lik mikrosantrifuj tupune konuldu. Üzerine 20 µl Proteinaz K ve 200 µl ATL tamponundan eklenerek 15 saniye karıştırıldı (vortekslendi). 56°C'de 10 dakika inkube edildi. Tüp duvarındaki karışımın aşağı inmesi için, 8000 rpm'de 1 dakika santrifuj edildi. Nükleik asit

izolasyonu için Qiasymphony cihazına yerleştirildi. Oluşturulan DNA izolatları kısa süreli kullanım için +4 °C' ye, uzun süreli saklamak için -20 °C' ye kaldırıldı (QIASymphony DSP Virüs Qiagen, 2018).

2.2.5. Kullanılan marker DNA'ların hazırlanması

Deneyler boyunca iki DNA boyut marker kullanıldı. Bunlar 50 bp ve 100 bp'lik DNA markerleridir. Bunlardan ilki 50 ile 1000 baz çiftlik DNA'ların tanınmasına imkan sağlarken, ikincisi 100 ile 3000 baz çiftlik DNA oligonükleotidlerinin tanınmasına yardımcı olabilmektedir. Agaroz jel elektroforezinde marker olarak kullanılmak üzere hazırlanan bir marker DNA şeması aşağıda verilmiştir (Fermentas, 2020) (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. DNA boyut marker protokolü (Fermentas, 2020)

Komponent	Agaroz jel
DNA Boyut Marker (0.5-1µg)	1-2 µl
6X Loading Boya Solüsyonu	1 µl
Deiyonize Su	4 µl

2.2.6. Multipleks PZR kullanılarak e. coli, enterobacter spp. izolatlarında mobil kolistin direnç (mcr) genlerinin saptanması

Sıvı mikrodilüsyon sonuçlarına göre kolistin dirençli izolatlardan DNA ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Genomik DNA, üretici firmanın talimatlarına göre QIASymphony cihazında QIASymphony DSP Virüs/Patojen kiti (Qiagen, Valencia, CA, ABD kullanılarak izole edildi. DNA örnekleri, kullanılıncaya kadar -25 °C'de saklandı. Kolistin direnç genlerinin saptanması için önceden tanımlanmış primerler kullanıldı. mcr-1, mcr-2, mcr-3, mcr-4, mcr-5, mcr-7, mcr-8, mcr-9 hedef alan primerler kullanılarak PZR ile amplifiye edildi. PZR reaksiyonları 3 µL DNA, spesifik primerlerin her birinden 0,5 µL, 4 µL master miks ve 12 µL DNase içermeyen su ile gerçekleştirildi. Amplifiye edilen ürünler, elektroforez işlemini takiben ethidium bromide ile boyandı ve ultraviyole ışığı altında bir jel görüntüleme sistemi kullanılarak fotoğraflandı (Liu ve ark., 2020).

2.2.7. Multipleks PZR ile DNA amplifikasyonu

Multipleks PZR, DNA’da çalışılan bölgenin oligonükleotid primerlerle arttırılmasıyla yapılır. Multipleks PZR sıcaklıkla DNA molekülünün çift zincirinin ayrılması yani denatürasyon, primerlerin kopmuş olan DNA zincirine bağlanması (annealing) ve DNA polimeraz enzimiyle hedef bölgenin sentezlenmesi (extension) şeklinde ortaya çıkmaktadır. Gerçekleştirilen aşamalar 35-40 döngü şeklinde tekrarlanarak çalışılacak DNA bölgesi çoğaltıldı. Bu çalışmada *multipleks PZR* için uygulanan prosedür Tablo 2.4.’de görülmektedir.

Tablo 2.4. Multipleks PZR Prosedürü.

Stok	25 µl için kullanılan	Son konsantrasyon
10XPCR buffer	3 µl	1X
25mM MgCl ₂	3 µl	2.5 Mm
25mM Dntp	3 µl	2.5 Mm
Primer “ Sense” 20 ng/ 1µl	1µl	20 pmol
Primer “Antisense” 20 ng/ 1µl	1 µl	20 pmol
Taq DNA polimeraz 5U/µl	0.2µl	0.5 U
Genomik DNA	4µl	100 ng
dH ₂ O	10.8 µl	-

Tablo 2.5. Multipleks PZR sıcaklık döngü profili

İşlem	İşlem Sıcaklık °C	Süre	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	95°C	4 dakika	-
Denatürasyon	95°C	30 saniye	35
Annealing	56°C	30 saniye	-
Elongasyon	72°C	1 dakika	-
Son Uzama	72°C	7 dakika	-

PCR ürünleri Applied Biosystems marka 310/3130 Genetik Analizör cihazında ısı döngü işlemine tabi tutuldu. Ardından örneklerin % 1.5’ luk agaroz jelde elektroforezi gerçekleştirildi.

2.2.8. Kolistin minimum inhibitör (mik) konsantrasyonunun saptanması

Kolistinin MİK değeri, sıvı mikrodilüsyon testi kullanılarak *E. coli* ve *Enterobacter spp.* izolatları için belirlendi. Besiyerinde üremenin olmadığı en düşük kolistin konsantrasyonu olarak tanımlanan MİK değeri hesaplandı. Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST) kriterlerine göre, Enterobacterales için MİK değeri $> 2 \mu\text{g} / \text{mL}$ olan izolatlar kolistin dirençli olarak kabul edildi (EUCAST, 2021).

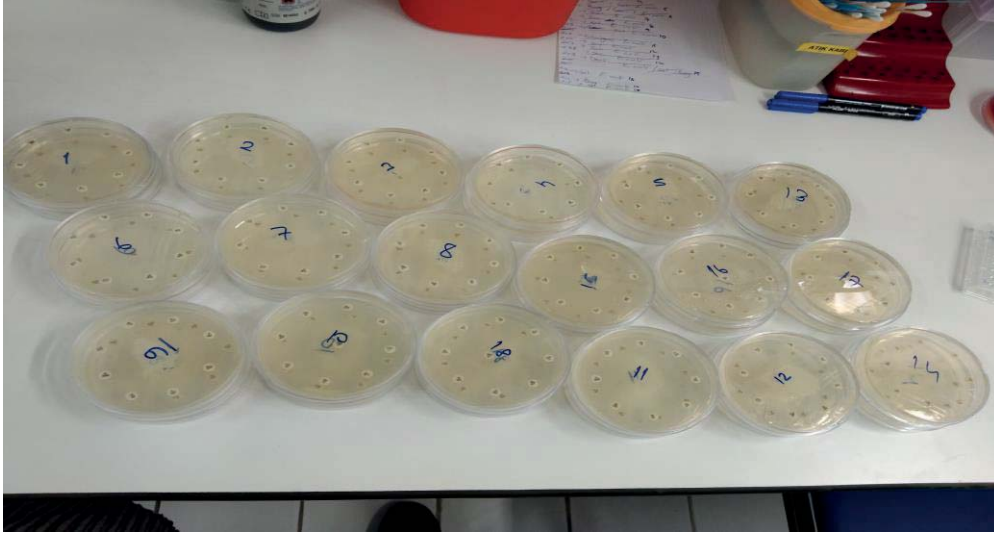
2.2.9. Antimikrobiyal duyarlılığın değerlendirilmesi

E. coli, *Enterobacter spp.*'deki antimikrobiyal duyarlılıklar Kirby-Bauer disk difüzyon metodu ile belirlendi. Besiyeri olarak Mueller Hinton Agar kullanılmış olup ve 0,5 Mcfarland standardıyla karşılaştırılarak bakteri süspansiyonu ayarlandı. Bu süspansiyondan alınarak Muller Hinton Agar besiyerine inokulasyon yapıldı. Mueller Hinton Agar besiyerine yukarıdaki tabloda belirtilen antibiyotik içeren disk ilave edildi. 37°C 'de 18-24 saat süreyle inkübasyonu gerçekleştirildi. Antimikrobiyal duyarlılık sonuçları, inhibisyon zon çapları ölçülerek kaydedildi. Sonuçlar EUCAST`nin önerileri doğrultusunda yorumlandı (EUCAST, 2021) (Tablo 2.6.).

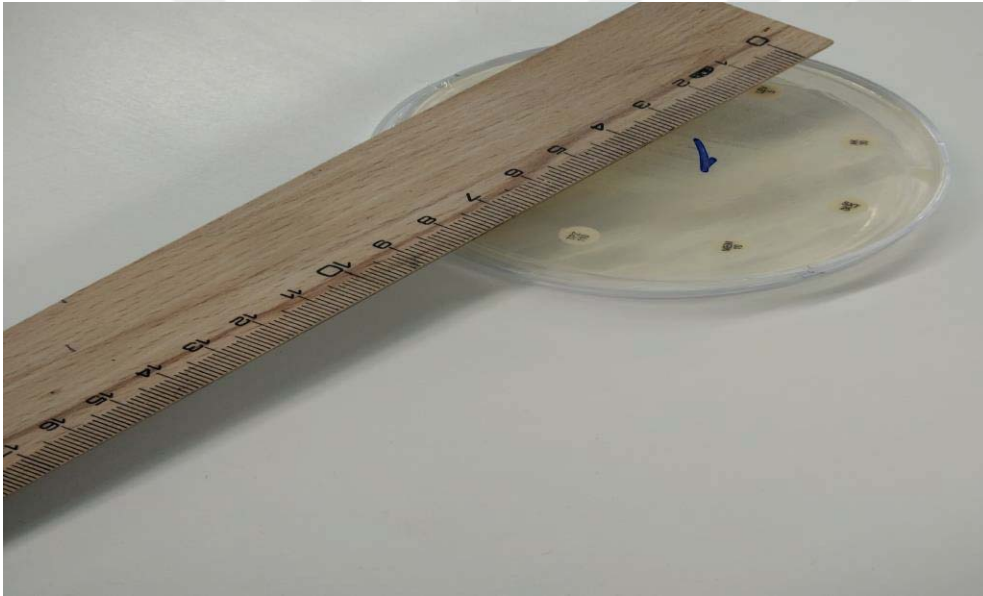
Tablo 2.6. Projede Kullanılan Antibiyotikler ve Duyarlılık ve EUCAST'nin Direnç Değerleri (EUCAST, 2021)

EUCAST	S*(\geq)	R*($<$)
Amikacin	18	18
Levofloxacin	23	19
Trimethoprim	15	15
Piperasilin Tazobaktan	20	20
Cefalexin	18	18
Ertapenem	25	25
Ciprofloxacın	25	22
Cefotaxime	20	17
Ceftazidime	22	19
Cefoxitin	19	19
Ceftriaxone	25	22
Aztreonam	26	21
Ampicillin	20	20
Imipenem	22	19
Amoxicillin	14	14
Meropenem	22	16
Gentamisin	17	17

S*: Duyarlı, R*: Dirençli



Resim 2.10. Mueller Hinton Agar besiyerine antibiyotik içeren disklerin ilave edilmesi



Resim 2.11. Antimikrobiyal duyarlılığın belirlenmesi amacıyla inhibisyon zon çaplarının ölçümü

2.2.10. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonucunda elde edilecek veriler, ortalamalar, standart sapmalar, betimsel istatistik yöntemi kullanılarak yapıldı.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Bulgular

Tunceli ili ilçelerinden beton havuz ve ağ kafes üretim sistemine sahip Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan numunelerden izole edilen bakterilerin MALDI-TOF MS analizi ile identifikasyonu; Bu çalışmada, Tunceli ili Ovacık, Pertek, Mazgirt, Çemişgezek ilçelerinden beton havuz ve ağ kafes alabalık üretim tesislerinden ergin veya yavru rastgele temin edilen 200 adet Gökkuşığı alabalığının bağırsak, solungaç ve derileri kısımlarından izole edilen bakterilerin tiplendirilmesi MALDI-TOF MS analiziyle yapıldı. MALDI-TOF MS analiziyle ortaya konulan bakteri tiplendirilmesi sonuçları incelendiğinde 8 adet bakteri familyası tespit edildi. Tespit edilen bu bakteri familyaları şunlardır:

- ✓ Moraxellaceae familyası,
- ✓ Enterococcaceae familyası,
- ✓ Vibrionaceae familyası,
- ✓ Enterobacteriaceae familyası,
- ✓ Comamonadaceae familyası,
- ✓ Pseudomonas familyası,
- ✓ Staphylococcaceae familyası,
- ✓ Pseudomonadaceae familyasıdır.

Bu çalışmada, ağ kafes ve beton havuzlardan alınan 200 adet Gökkuşığı alabalığının bağırsak, deri, solungaç organlarından alınan 600 adet numunenin; ağ kafeslerden 290 adet (% 59,67), beton havuzlardan ise 196 adet (% 40,33) olmak üzere toplamda 486 adet bakteri identifikasyonu gerçekleştirilmiş olup 114 adet numunede ise bakteri üremesi görülmedi (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Ağ kafes ve beton havuz MALDI-TOF MS sonuçları

Bakteri Adı	Bakteri Sayısı	Ağ Kafes		Beton Havuz	
		n	%	n	%
Acinetobacter baumannii	11	11	100,00		0,00
Acinetobacter lwoffii	9	6	66,67	3	33,33
Acinetobacter radioresistent	9	5	55,56	4	44,44
Aeromonas hydrophila	13	4	30,77	9	69,23
aeromonas media	16	4	25,00	12	75,00
Aeromonas salmonicida	5	1	20,00	4	80,00
aeromonas salmonicida spp salmonicida	1		0,00	1	100,00
Aeromonas sobria	87	74	85,06	13	14,94
Aeromonas Veronii	46	39	84,78	7	15,22
Alcaligenes faecalis	5	5	100,00		0,00
carnobacterium maltaromaticum	1	1			
citrobacter brakii	1		0,00	1	
Citrobacter freundii	5	3	60,00	2	40,00
Citrobacter werkmanii	7	7	100,00		0,00
citrobacter youngae	1	1			0,00
civabacter Freundi	1	1			
Comamonas aquatica	1	1	100,00		
delftia acidovorans	2			2	100,00
e. Hermannii	5		0,00	5	100,00
E.coli	51	42	82,35	9	17,65
enterococcus faecium	8	3	37,50	5	62,50
Enterobacter asburiae	2	2	100,00		
enterobacter cloacae	2	1		1	50,00
Enterobacter harmaechei	2	2	100,00		0,00
enterobacter kobei	2	2	100,00		0,00
enterococcus casseliflovis	2	2	100,00		
enterococcus faecalis	2	2			0,00
Fingoldia magna	1	1	100,00		0,00
Hafnia alvei	39	11		28	
Klebsiella aerogenes	5	5	100,00		
klebsiella oxytoca	3	3	100,00		0,00
lactococcus garviae	1		0,00	1	100,00
Leclercia Adecarboxylata	14	14	100,00		0,00
Lelliottia amnigena	1	1	100,00		
Macrococcus Caseolyticus	10	9	90,00	1	10,00
morganella morganii	2	2	100,00		0,00
obesumbacterium proteus	3	2	66,67	1	33,33
pantoea agglomerans	1		0,00	1	100,00
plesiamonas shigellaloides	4	4	100,00		0,00
proteus mirabilis	1		0,00	1	
Proteus vulgaris	1		0,00	1	100,00
providencia rettgeri	3	3	100,00		
providencia stuartii	1	1			0,00
pseudomonas putida	13		0,00	13	100,00
pseudomonas stutzeri	2	2			
punctata (caviae)	13	4	30,77	9	69,23
Serratia marcescens	18			18	100,00
staphylococcus aureus	1		0,00	1	100,00
staphylococcus epidermidis	5	3		2	
stenotrophomonas maltophilia	44	3	6,82	41	93,18
Yersinia ruckerii	3	3	100,00		0,00
Üreme Yok	114	73	64,04	41	35,96
TOPLAM	600	363	60,50	237	39,50

Bu çalışmada; deri, bağırsak ve solungaç kısımlarından alınan numunelerden bakteri identifikasyonunu MALDI-TOF MS yöntemi ile gerçekleştirilmiş olup enterobacteria familyasına ait 24 farklı bakteri türü % 95.00-% 99.9 doğruluk değer aralığında tespit edildi. Enterobacteria ailesi için bakteri identifikasyonunda tür ve cins düzeyinde % 100' e yakın doğru sonuçlar veren yöntem olarak bilinen MALDI-TOF MS Enterobacteria ailesi dışındaki diğer bakteri ailelerindeki tür ve cins düzeyinde çoğunlukla

bakterilerin tiplendirilmesinde yöntem olarak kullanılmakla birlikte, tür ve cins düzeyinde tiplendirmesi konusunda şüpheli sonuçlar verebilmektedir. Çalışmamızda, Deri ve bağırsaklardan Vibrocia familyasından olan Aeromonas Hydrophila/Punctata (Cavia) olarak identifiye edilen 3 adet şüpheli izolatta tanımlama doğruluk değeri % 51.0 olarak tespit edilmiş, tiplendirmede bakterinin Aeromonas Hydrophila'mı yoksa Punctata (Cavia)'mı olduğuna dair iki tür arasında kalınmıştır. MALDI-TOF MS analizinde tür ve cins düzeyinde tanımlama doğruluk değerinin % 60'ın altında kalan tanımlama şüpheli tanımlama olarak değerlendirildiğinden tanımlamanın kesinleştirilmesi amacıyla 16S rDNA dizi analizine tabi tutulması gerekli görülmüş fakat tespit edilen şüpheli izolat türleri Vibrocia familyasından olduğu ve bu çalışmanın konusu olan Enterobacteria familyası üyesi olmadığından 16s rDNA dizi analizine tabi tutulmasına gerek duyulmamıştır (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. MALDI-TOF MS ile bakterilerin idetifikasyonunda doğruluk değerleri

BAKTERİ ADI	İZOLE EDİLDİĞİ KISIM	MALDI-TOF MS DOĞRULUK DEĞER ARALIĞI
<i>Citrobacter Brakii</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Citrobacter Freundii</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Citrobacter Werkmanii</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Citrobacter Youngae</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>E.Coli</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Enterobacter Asburiae</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Enterobacter Cloacae</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Enterobacter Harmaechei</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Enterobacter Kobei</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Enterococcus Faecalis</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Eschericia Hermannii</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Klebsiella Aerogenes</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Klebsiella Oxytoca</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Obesumbacterium Proteus</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Morganella Morganii</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Obesumbacterium Proteus</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Plesiamonas Shigellaieias</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Proteus Mirabilis</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Proteus Vulgarius</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Providencia Rettgeri</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Providencia Stuartii</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Serratia Marcescens</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00
<i>Yersinia Ruckerii</i>	Bağırsak, Deri, Solungaç	%95.00-%100.00

Tunceli ili ovacık, pertek, çemişgezek, mazgirt ilçelerinden gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden temin edilen gökkuşığı alabalıklarında MALDI-TOF MS ile identifikasyonu yapılan bakterilerin ilçelere ve aylara göre bakteri sayısı ve türlerinin dağılımları incelendiğinde,

Çemişgezek ilçesinde; toplamda 113 adet bakteri identifikasyonu gerçekleştirilmiş ve en fazla identifikasyonu gerçekleştirilen bakteri türü 21 adet ile *Vibriocia* ailesinden olan *Aeromonas veronii* olduğu tespit edilmiştir.

Mazgirt ilçesinde; toplamda 190 adet bakteri identifikasyonu gerçekleştirilmiş ve en fazla identifikasyonu gerçekleştirilen bakteri türü 39 adet ile *Pseudomonadaceae* ailesinden *Stenotrophomonas maltophila* olduğu tespit edilmiştir.

Ovacık İlçesinde; toplamda 93 adet bakteri identifikasyonu gerçekleştirilmiş ve en fazla identifikasyonu gerçekleştirilen bakteri türü 27 adet ile enterobacteria ailesinden *Hafnia alvei* olduğu tespit edilmiştir.

Pertek ilçesinde; toplamda 90 adet bakteri identifikasyonu gerçekleştirilmiş ve en fazla identifikasyonu gerçekleştirilen bakteri türü 26 adet ile *Vibrocia* ailesinden olan *Aeromonas sobria* olduğu tespit edildi. Tunceli ili Çemişgezek, Mazgirt, Ovacık ve Pertek ilçelerinde gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan numunelerden izole edilen MALDI-TOF MS yöntemi ile identifikasyonu gerçekleştirilen bakterilerin ilçelere göre dağılımları Tablo 3.3' de görülmektedir.

Tablo 3.3. İlçelere göre MALDI-TOF MS analizi sonuçları

Bakteri Adı	Bakteri Sayısı	Çemişgezek		Mazgirt		Ovacık		Pertek	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Acinetobacter baumannii	11	4	36,36	6	54,55		0,00	1	9,09
Acinetobacter lwoffii	9	3	33,33	2	22,22	2	22,22	2	22,22
Acinetobacter radioresistent	9	5	55,56	4	44,44		0,00		0,00
Aeromonas hydrophila	13		0,00	7	53,85	1	7,69	5	38,46
aeromonas media	16		0,00	15	93,75		0,00	1	6,25
Aeromonas salmonicida	5		0,00	1	20,00	3	60,00	1	20,00
aeromonas salmonicida spp salmonicida	1		0,00	1	100,00		0,00		0,00
Aeromonas sobria	87	21	24,14	31	35,63	7	8,05	28	32,18
Aeromonas Veronii	46	16	34,78	26	56,52	4	8,70		0,00
Alcaligenes faecalis	5	4	80,00		0,00			1	20,00
carnobacterium maltaromaticum	1	1					0,00		0,00
citrobacter brakii	1		0,00			1			0,00
Citrobacter freundii	5	1	20,00		0,00	1	20,00	3	60,00
Citrobacter werkmanii	7	1	14,29		0,00		0,00	6	85,71
citrobacter youngae	1				0,00			1	100,00
civabacter Freundi	1	1					0,00		0,00
Comamonas aquatica	1	1	100,00						0,00
delftia acidovorans	2			2	100,00		0,00		0,00
e. Hermannii	5		0,00		0,00	5	100,00		0,00
E.coli	51	12	23,53	24	47,06	8	15,69	7	13,73
enterococcus faecium	8		0,00	3	37,50	5			0,00
Enterobacter asburiae	2		0,00				0,00	2	100,00
enterobacter cloacae	2				0,00		0,00	2	100,00
Enterobacter harmaechei	2		0,00		0,00			2	100,00
enterobacter kobei	2	2	100,00		0,00		0,00		0,00
enterococcus casseliflovis	2	2	100,00				0,00		0,00
enterococcus faecalis	2	2			0,00		0,00		0,00
Finegoldia magna	1		0,00		0,00		0,00	1	100,00
Hafnia alvei	39	7		2		27	69,23	3	7,69
Klebsiella aerogenes	5	5	100,00						0,00
klebsiella oxytoca	3	2	66,67	1	33,33		0,00		0,00
lactococcus garviae	1		0,00	1	100,00		0,00		0,00
Leclercia Adecaboxylata	14	2	14,29		0,00		0,00	12	85,71
Lelliottia amnigena	1		0,00					1	100,00
Macrocooccus Caseolyticus	10	9	90,00		0,00	1	10,00		0,00
morganella morganii	2	2	100,00		0,00				0,00
obesumbacterium proteus	3		0,00		0,00	1	33,33	2	66,67
pantoea agglomeans	1		0,00		0,00	1			0,00
plesiamonas shigellaoides	4	3	75,00	1	25,00		0,00		0,00
proteus mirabilis	1		0,00			1			0,00
Proteus vulgaris	1		0,00		0,00	1	100,00		0,00
providencia rettgeri	3	3	100,00						0,00
providencia stuartii	1	1			0,00				0,00
pseudomonas putida	13		0,00	13	100,00		0,00		0,00
pseudomonas stutzeri	2	1					0,00	1	50,00
punctata (caviae)	13		0,00	7	53,85	1	7,69	5	38,46
Serratia marcescens	18			1	5,56	17	94,44		0,00
staphylococcus aureus	1		0,00		0,00	1	100,00		0,00
staphylococcus epidermidis	5			3		2	40,00		0,00
stenotrophomonas maltophila	44	2	4,55	39	88,64	3	6,82		0,00
Yersinia ruckerii	3		0,00		0,00		0,00	3	100,00
Üreme Yok	114	35	30,70	23	20,18	24	21,05	32	28,07
TOPLAM	600	148	24,67	213	35,50	117	19,50	122	20,33

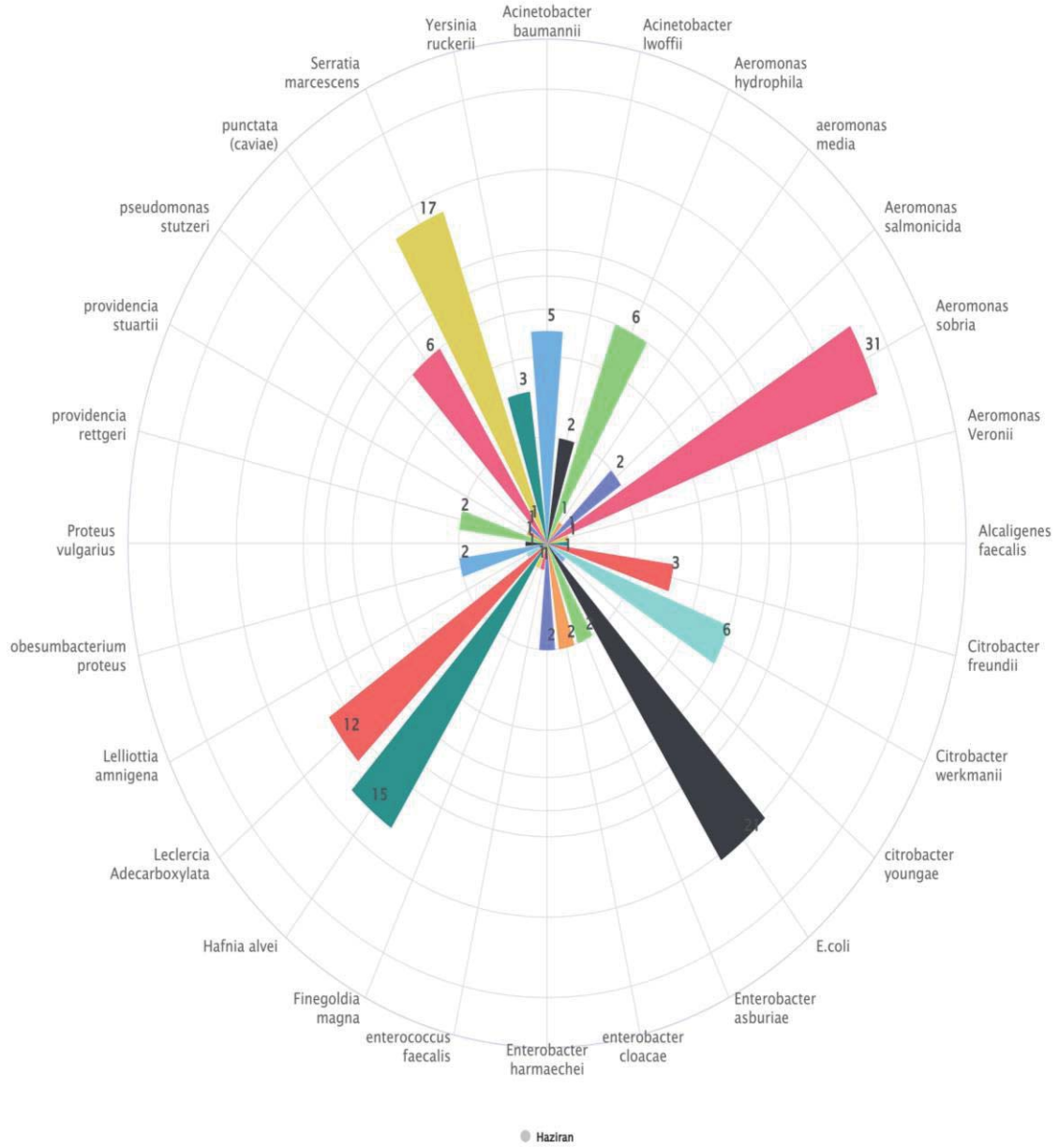
Bu çalışmada; Tunceli ili Ovacık, Pertek, Çemişgezek, Mazgirt ilçelerinde bulunan beton havuz ve ağ kafes üretim metoduyla Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan toplamda 16 tesisden Haziran, Temmuz, Aralık aylarında numune temini sağlandı. Temin edilen Gökkuşığı Alabalığı numunelerinin bakteri dağılımları aylara ve ilçelere göre incelendiğinde;

Haziran ayında ilçelerde identifiye edilen bakterilerin tür ve sayıları detaylı olarak incelendiğinde; **Ovacık'ta** 37, **Pertek'de** 90, **Çemişgezek'te** ise 22 bakteri identifikasyonu gerçekleştirilmiş olup tablo 3.1.'de görülmektedir.



Şekil 3.1. Haziran ayında Ovacık, Pertek, Çemişgezek ve Mazgirt ilçelerindeki bakteri dağılımı

En fazla identifikasyonu gerçekleştirilen bakteri; Vibrionacea familyasından olan **31 *Aeromonas sobria***, Enterobacteriaceae familyasından olan **21 *E. Coli***, **17 *Serratia marcescens***, ve **15 adet *Hafnia alvei*** olarak tespit edilmiş olup Şekil 3.2.'de görülmektedir.



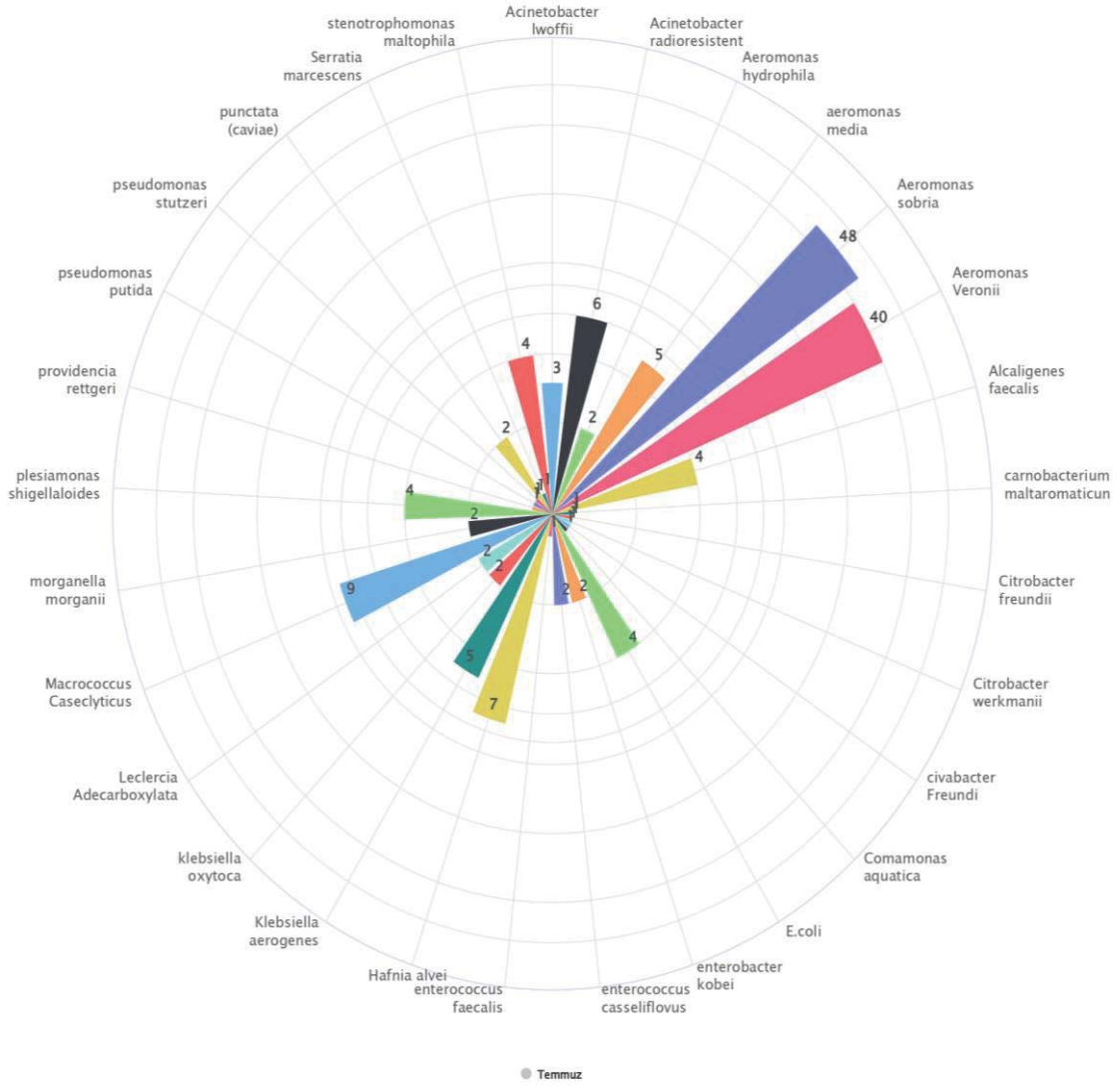
Şekil 3.2. Haziran ayında identifikasyonu gerçekleştirilen bakteri türleri

Temmuz ayında ilçelerde identifiye edilen bakterilerin tür ve sayıları detaylı olarak incelendiğinde; Çemişgezekde 91 ve Mazgirtde 72 adet bakteri identifikasyonu gerçekleştirilmiş olup Şekil 3.3.' de görülmektedir.



Şekil 3.3. Temmuz ayında Ovacık, Pertek, Çemişgezek ve Mazgirt ilçelerindeki bakteri dağılımı

En fazla identifikasyonu gerçekleştirilen bakteri Vibrionacea familyasından **48** *Aeromonas sobria* ve **40 adet** *Aeromonas veronii* olduğu Şekil 3.4’ de görülmektedir.



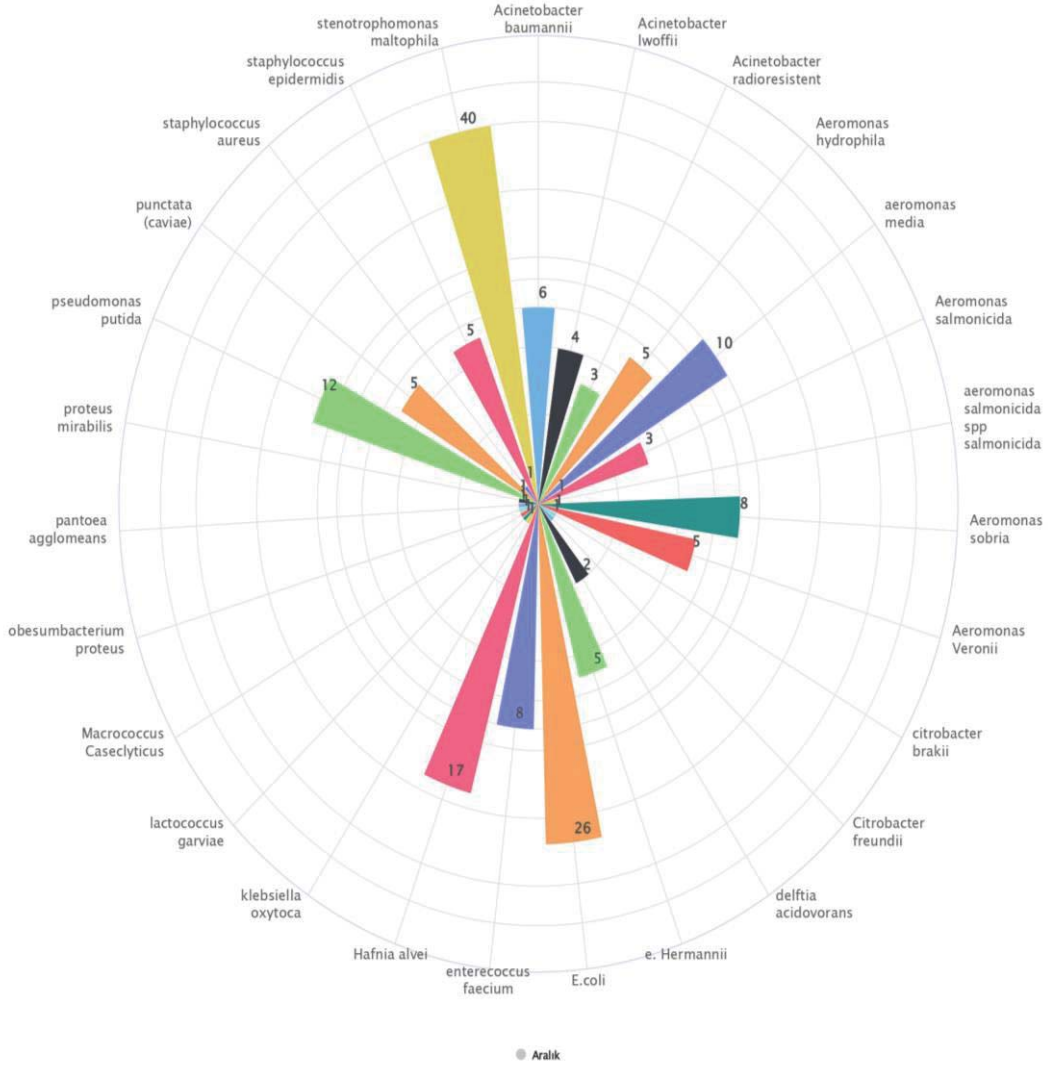
Şekil 3.4. Temmuz ayında identifikasyonu gerçekleştirilen bakteri türleri

Aralık ayında ilçelerde identifiye edilen bakterilerin tür ve sayıları detaylı olarak incelendiğinde; Ovacıkta 56 ve Mazgirtte 118 adet bakteri identifikasyonu gerçekleştirilmiş olup Şekil 3.5’ de gösterilmiştir.



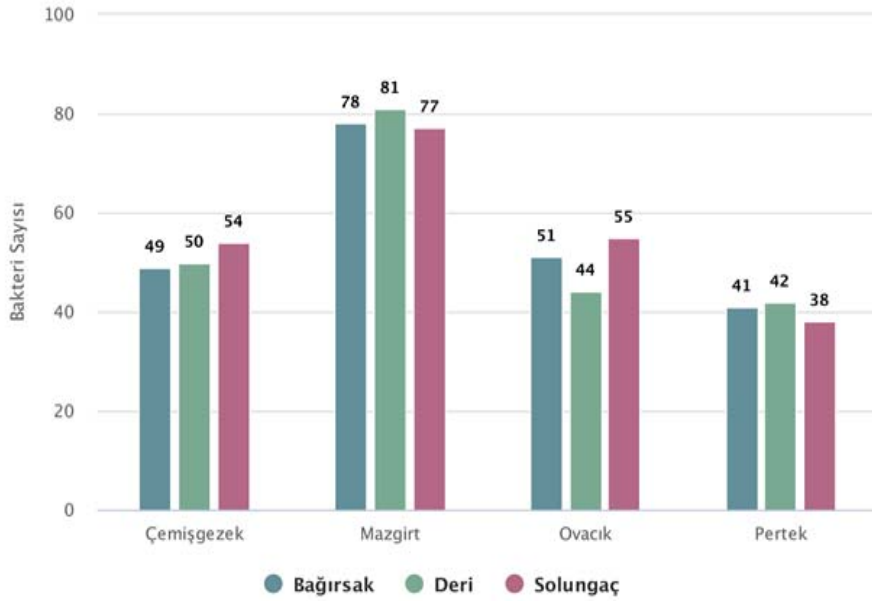
Şekil 3.5. Aralık ayında Ovacık, Pertek, Çemişgezek, Mazgirt ilçelerindeki bakteri dağılımı

En fazla identifikasyonu gerçekleştirilen bakteri Pseudomonadaceae familyasından; **40 *Stenotrophomonas maltophilia***, Enterobacteriaceae familyasından **26 *E. coli*** ve **17 adet *Hafnia alvei*** tespit edilmiş olup Şekil 3.6’ da gösterilmiştir.



Şekil 3.6. Aralık ayında identifikasyonu gerçekleştirilen bakteri türleri

Bu çalışmada, MALDI-TOF MS analizi sonuçları değerlendirildiğinde deri, bağırsak ve solungaçlarda en fazla bakteri identifikasyonu gerçekleştirilen ilçe 236 adet ile Mazgirt ilçesi tespit edilmiş olup Şekil 3.7.' de gösterilmiştir.



Şekil 3.7. İlçelerden identifikasyonu gerçekleştirilen bakterilerin organlara göre dağılımı

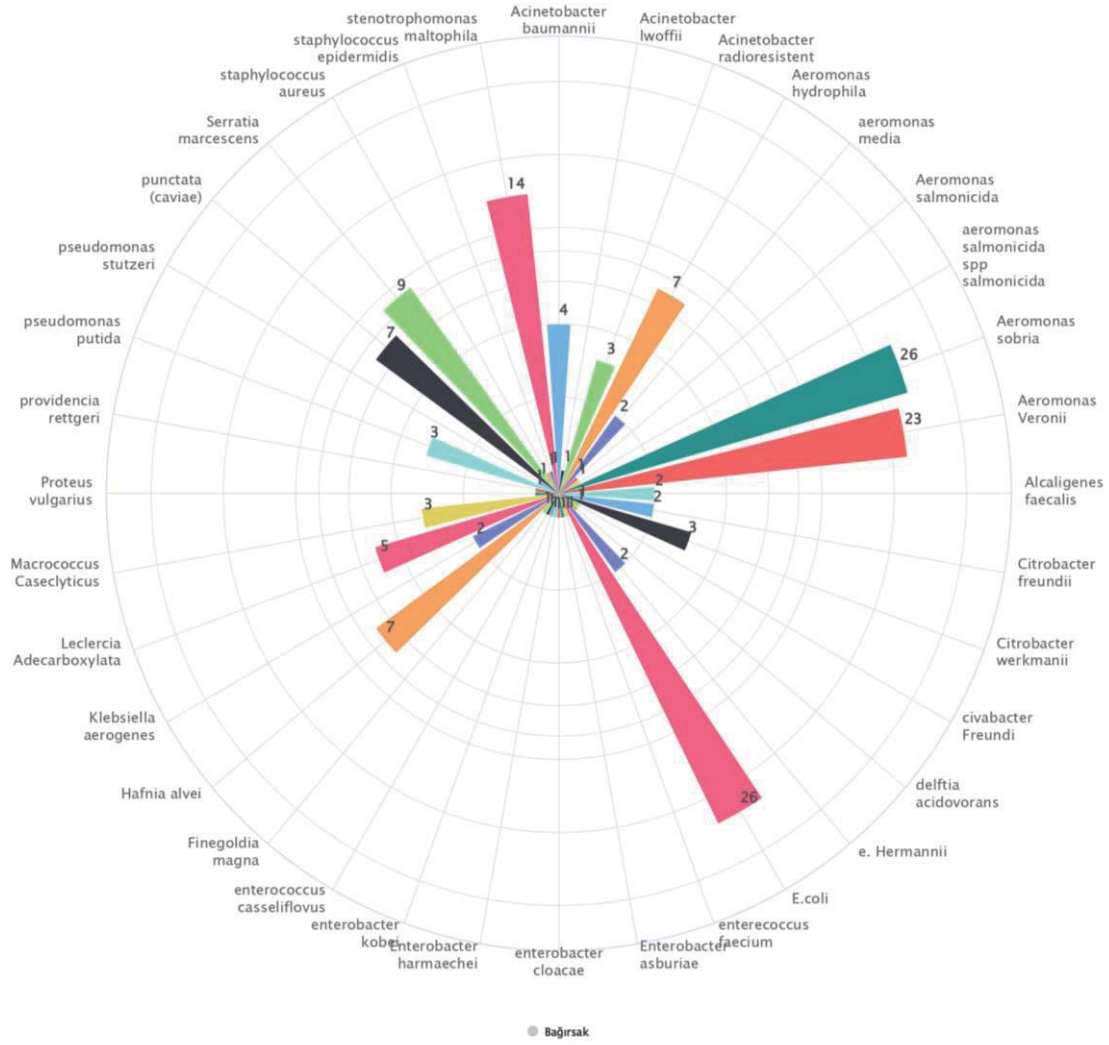
Tunceli ili pertek, çemişgezek, ovacık, mazgirt ilçelerinden gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan ağ kafes ve beton havuz tesislerden temin edilen gökkuşığı alabalıklarının bağırsak, deri ve solungaçlarında tespit edilen bakterilerin tür ve sayılarının dağılımı incelendiğinde; Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık, Mazgirt İlçelerinde beton havuz ve ağ kafeslerde Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden 2 **Ovacık**, 1 **Pertek**, 3 **Mazgirtte** olmak üzere toplamda 6 adet **beton havuz** ve 2 **Pertek**, 6 **Çemişgezek**, 2 **Mazgirt** olmak üzere 10 adet **ağ kafes** olmak üzere toplamda 16 tesis bulunmaktadır. Ağ kafes ve beton havuzlarda üreme metoduna sahip Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan balık numunelerinde mevcut bakterilerin insidansı incelendiğinde; bağırsaklarda 161, derilerde 158, solungaçlarda ise 167 adet olmak üzere toplamda 486 adet bakteri identifikasyonu gerçekleştirilmiş olup Tablo 3.4.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.4. Bağırsak, deri ve solunak kısımlarında tespit edilen bakterilerin insidansı

Bakteri Adı	Bakteri Sayısı	Bağırsak		Deri		Solunak	
		n	%	n	%	n	%
Acinetobacter baumannii	11	2	18,18	5	45,45	4	36,36
Acinetobacter Iwoffii	9	4	44,44	4	44,44	1	11,11
Acinetobacter radioresistent	9	2	22,22	4	44,44	3	33,33
Aeromonas hydrophila	13	3	23,08	3	23,08	7	53,85
aeromonas media	16	10	62,50	4	25,00	2	12,50
Aeromonas salmonicida	5	4	80,00		0,00	1	20,00
aeromonas salmonicida spp salmonicida	1		0,00		0,00	1	100,00
Aeromonas sobria	87	29	33,33	32	36,78	26	29,89
Aeromonas Veronii	46	12	26,09	11	23,91	23	50,00
Alcaligenes faecalis	5		0,00	3	60,00	2	
carnobacterium maltaromaticun	1			1			0,00
citrobacter brakii	1	1	100,00				
Citrobacter freundii	5	2	40,00	1	20,00	2	40,00
Citrobacter werkmanii	7	2	28,57	2	28,57	3	42,86
citrobacter youngae	1			1	100,00		
civabacter Freundi	1					1	100,00
Comamonas aquatica	1	1	100,00				
delftia acidovorans	2			1	50,00	1	50,00
e. Hermannii	5		0,00	3	60,00	2	40,00
E.coli	51	15	29,41	10	19,61	26	50,98
enterococcus faecium	8	3	37,50	4	50,00	1	12,50
Enterobacter asburiae	2	1	50,00			1	50,00
enterobacter cloacae	2			1	50,00	1	50,00
Enterobacter hormaechei	2	1	50,00		0,00	1	50,00
enterobacter kobei	2		0,00	1	50,00	1	50,00
enterococcus casseliflovis	2		0,00	1		1	50,00
enterococcus faecalis	2	2	100,00		0,00		0,00
Fingoldia magna	1		0,00		0,00	1	100,00
Hafnia alvei	39	19	48,72	13	33,33	7	17,95
Klebsiella aerogenes	5	2	40,00	1	20,00	2	40,00
klebsiella oxytoca	3		0,00	3	100,00		0,00
lactococcus garviae	1		0,00	1	100,00		0,00
Leclercia Adecarboxylata	14	3	21,43	6	42,86	5	35,71
Lelliottia amnigena	1		0,00	1	100,00		
Macrococcc Caseolyticus	10	2	20,00	5	50,00	3	30,00
morganella morganii	2	2	100,00		0,00		
obesumbacterium proteus	3	3	100,00		0,00		0,00
pantoea agglomeans	1	1	100,00		0,00		
plesiamonas shigellaloides	4	4	100,00		0,00		0,00
proteus mirabilis	1	1	100,00				
Proteus vulgaris	1		0,00		0,00	1	100,00
providencia rettgeri	3	2	66,67			1	33,33
providencia stuartii	1	1	100,00		0,00		
pseudomonas putida	13	3	23,08	7	53,85	3	23,08
pseudomonas stutzeri	2	1	50,00			1	50,00
punctata (caviae)	13	3	23,08	3	23,08	7	53,85
Serratia marcescens	18	4	22,22	5	27,78	9	50,00
staphylococcus aureus	1		0,00		0,00	1	100,00
staphylococcus epidermidis	5	1	20,00	3	60,00	1	20,00
stenotrophomonas maltophila	44	12	27,27	18	40,91	14	31,82
Yersinia ruckerii	3	3	100,00		0,00		0,00
Üreme Yok	114	36	31,58	37	32,46	41	35,96
TOPLAM	600	197	32,83	195	32,50	208	34,67

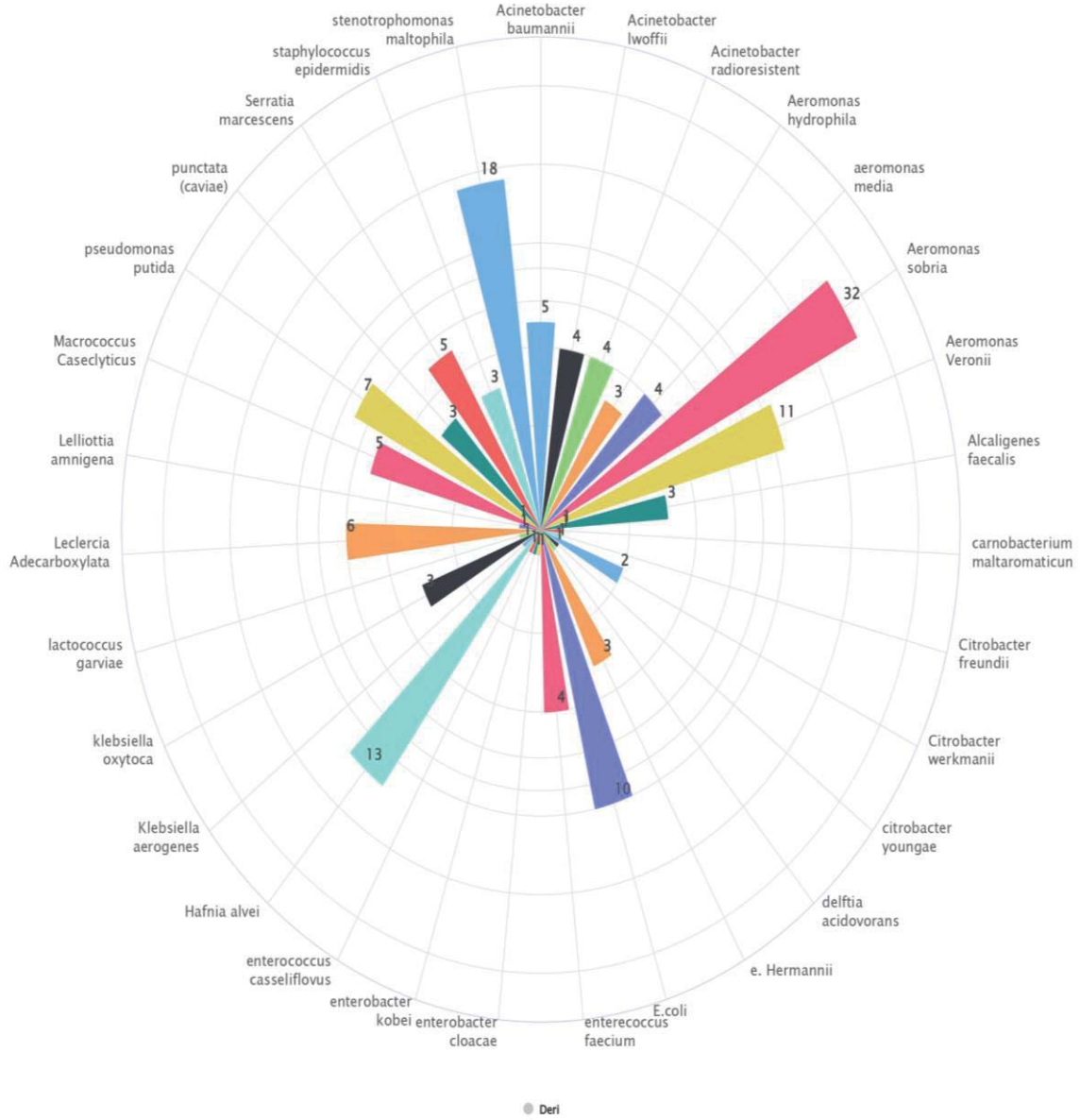
Tunceli ili ilçelerinden beton havuz ve ağ kafeslerde gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği temin edilen tesislerden alınan balık numuneleri bağırsak deri ve solungaçlarında tespit edilen bakteri türleri incelendiğinde;

Bağırsaklarda; en fazla 26 *Aeromonas sobria*, 23 adet *Aeromonas veronii* tespit edilmiş olup şekil 3.8.'de gösterilmiştir.



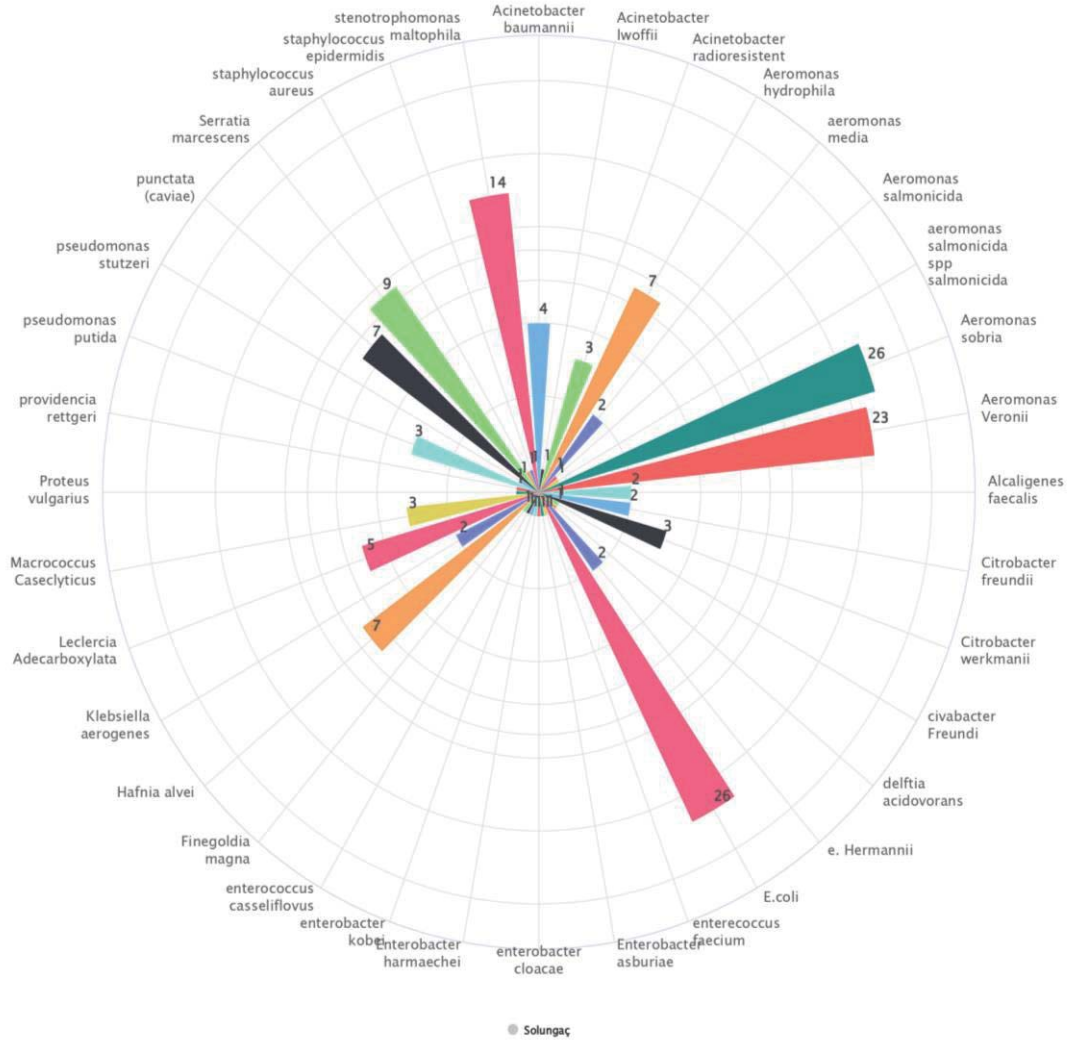
Şekil 3.8. Gökkuşığı alabalıklarının bağırsaklarında tespit edilen bakterilerin dağılımı

Derilerde; en fazla 32 *Aeromonas sobria*, 18 *Stenotrophomonas maltophilia* ve 13 adet *Hafnia alvei* olduğu tespit edilmiş olup Şekil 3.9.'da gösterilmiştir.



Şekil 3.9. Gökkuşluğu alabalıklarının derilerinde tespit edilen bakterilerin dağılımı

Solungaçlarda; en fazla 12 *Aeromonas Sobria*, 10 *E.Coli* ve 12 adet *Aeromonas Veronii* olduğu tespit edilmiş olup Şekil 3.10'da gösterilmiştir.



Şekil 3.10. Gökkuşığı alabalıklarının solungaçlarında tespit edilen bakterilerin dağılımı

Tunceli ili ilçelerinden beton havuz ağ kafeslerde gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan su numuneleri analiz sonuçlarına göre; Tunceli ili Çemişgezek, Pertek, Ovacık, Mazgirt ilçelerinden beton havuz-ağ kafeslerde gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan toplamda 16 tesisden alınan su numunelerinde; Çemişgezek, Pertek, Mazgirt ilçelerinin ağ kafes üretim yapan tesislerde bakteri üremesine rastlanılmadığı sadece **Ovacık** ilçesindeki **1 ve 2 nolu tesislerin beton havuzlarında** Enterobacteriaceae familyasına ait *E.Coli*, *Lelliottia Amnigena* ve *Raoultella Planticola* tespit edilmiş olup tablo 3.5’de gösterilmiştir.

Tablo 3.5. Çemişgezek, Pertek, Ovacık, Mazgirt ilçelerindeki ağ kafes beton havuzlarından temin edilen su numunelerinin analiz sonuçları

Bakteri İzolasyonu	Ağ Kafes	Beton Havuz	Temin Edilen İlçe-Tesis No
Ecoli		✓	Ovacık-Tesis No: 1
Lelliottia Amnigena		✓	Ovacık-Tesis No: 2
Raoultella Planticola		✓	Ovacık-Tesis No: 2
Üreme Yok		✓	Pertek- Tesis No: 1
Üreme Yok	✓		Pertek-Tesis No: 2
Üreme Yok	✓		Pertek-Tesis No: 3
Üreme Yok	✓		Çemişgezek-Tesis No: 1
Üreme Yok	✓		Çemişgezek-Tesis No: 2
Üreme Yok	✓		Çemişgezek-Tesis No: 3
Üreme Yok	✓		Çemişgezek-Tesis No: 4
Üreme Yok	✓		Çemişgezek-Tesis No: 5
Üreme Yok	✓		Çemişgezek-Tesis No: 6
Üreme Yok		✓	Mazgirt-Tesis No: 1
Üreme Yok		✓	Mazgirt-Tesis No: 2
Üreme Yok		✓	Mazgirt-Tesis No: 3
Üreme Yok	✓		Mazgirt-Tesis No: 4
Üreme Yok	✓		Mazgirt-Tesis No: 5

Tunceli ili ilçelerinden gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan balık numunelerdeki MALDI-TOF MS ile identifikasyonu gerçekleştirilen bakterilerden enterobacteria familyasının ağ kafes ve beton havuzlardaki üreme durumlarına bakıldığında; Tunceli ili Çemişgezek, Ovacık, Pertek, Mazgirt ilçelerinde beton havuzlarda ve ağ kafeslerinde temin edilen balık bağırsak, deri, solungaç kısımlarından izole edilen MALDI-TOF MS analizi ile identifikasyonu gerçekleştirilen **enterobacteria familyasının** prevalansının; bütün ilçelerde **ağ kafeslerde** toplamda 81 adet, **beton havuzlarda** ise 39 adet olmak üzere toplamda 120 adet farklı bakteri türü tespit edilmekle birlikte bu bakteri familyasına ait 21 farklı bakteri türü tespit edildi. Bu bakteriler arasında; Citrobacter Brakii

(1 Adet), Citrobacter Freundii (5 adet), Citrobacter Werkmanii (7 adet), Citrobacter Youngae (1 adet), E. Hermannii (5 adet), E.Coli (51 adet), Enterobacter Asburiae (2 adet), Enterobacter Cloacae (2 adet), Enterobacter Harmaechei (2 adet), Enterobacter Kobei (2 adet), Enterococcus Faecalis (2 adet), Klebsiella Aerogenes (5 adet), Klebsiella Oxytoca (3 adet), Morganella Morganii (2 adet), Obesumbacterium Proteus (3 adet), Proteus Mirabilis (1 adet), Proteus Vulgarius (1 adet), Providencia Rettgeri (3 adet), Providencia Stuartii (1 adet), Serratia Marcescens (18 adet) ve Yersinia Ruckerii (3 adet) yer almakta olup Tablo 3.6.' da gösterilmiştir.

Tablo 3.6. Enterobacteria ailesinde bulunan bakteri türlerinin ağ kafes ve beton havuzlardaki prelevansı

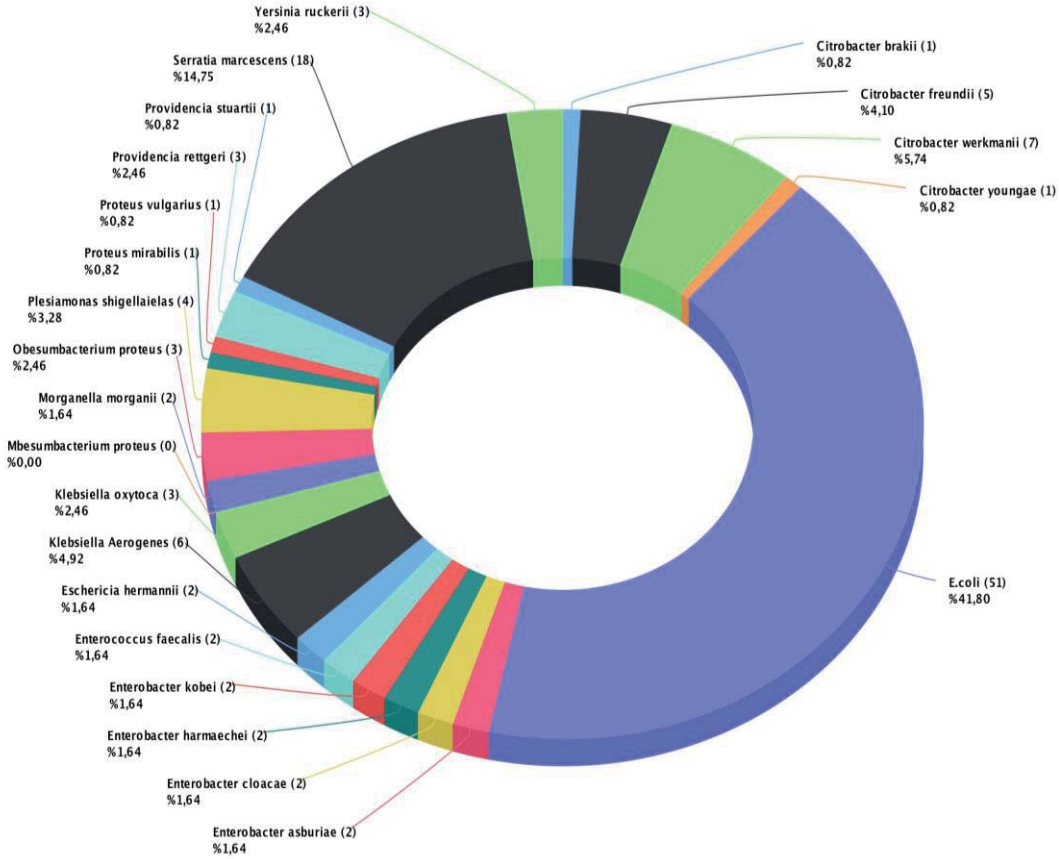
Bakteri Adı		Ağ Kafes		Beton Havuz	
		n	%	n	%
citrobacter Brakii	1		0,00	1	
Citrobacter freundii	5	3	60,00	2	40,00
Citrobacter werkmanii	7	7	100,00		0,00
citrobacter youngae	1	1			0,00
e. Hermannii	5		0,00	5	100,00
E.coli	51	42	82,35	9	17,65
Enterobacter asburiae	2	2	100,00		
enterobacter cloacae	2	1		1	50,00
Enterobacter harmaechei	2	2	100,00		0,00
enterobacter kobei	2	2	100,00		0,00
enterococcus faecalis	2	2			0,00
Klebsiella aerogenes	5	5	100,00		
klebsiella oxytoca	3	3	100,00		0,00
morganella morganii	2	2	100,00		0,00
obesumbacterium proteus	3	2	66,67	1	33,33
proteus mirabilis	1		0,00	1	
Proteus vulgarius	1		0,00	1	100,00
providencia rettgeri	3	3	100,00		
providencia stuartii	1	1			0,00
Serratia marcescens	18			18	100,00
Yersinia ruckerii	3	3	100,00		0,00
TOPLAM	120	81	67,50	39	32,50

Tunceli ili ilçelerinden ağ kafes ve beton havuzlarda gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan balık numunelerdeki MALDI-TOF MS ile identifikasyonu gerçekleştirilen enterobacteria familyasına ait bakterilerin ilçelere göre prelevansına bakıldığında; Çemişgezek, Mazgirt, Ovacık, Pertek ilçelerinden temin edilen gökkuşuğu alabalığı numunelerinden izole edilen enterobacteria familyasına ait 21 farklı bakteri türü tespit edilmiş olup toplamda 120 adet bakteri identifikasyonu gerçekleştirilmiştir. En fazla tespit edilen bakteriler; 51 *E.coli* ve 18 adet *Serratia Marcencens*, en az tespit edilen bakteriler ise; 1' er adet ile *Citrobacter brakii*, *Citrobacter youngae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgarius* olduğu tespit edilmiş olup tablo 3.7'de görülmektedir.

Tablo 3.7. Tunceli ili ilçelerinden temin edilen gökkuşuğu alabalığı numunelerinden identifiye edilen enterobacteria familyasının prelevansı

Enterobacter Türleri	Bakteri Sayısı	Çemişgezek		Mazgirt		Ovacık		Pertek	
		n	%	n	%	n	%	n	%
citrobacter brakii	1		0,00			1			0,00
Citrobacter freundii	5	1	20,00		0,00	1	20,00	3	60,00
Citrobacter werkmanii	7	1	14,29		0,00		0,00	6	85,71
citrobacter youngae	1				0,00			1	100,00
e. Hermannii	5		0,00		0,00	5	100,00		0,00
E.coli	51	12	23,53	24	47,06	8	15,69	7	13,73
Enterobacter asburiae	2		0,00				0,00	2	100,00
enterobacter cloacae	2				0,00		0,00	2	100,00
Enterobacter harmaechei	2		0,00		0,00			2	100,00
enterobacter kobei	2	2	100,00		0,00		0,00		0,00
enterococcus faecalis	2	2			0,00		0,00		0,00
Klebsiella aerogenes	5	5	100,00						0,00
klebsiella oxytoca	3	2	66,67	1	33,33		0,00		0,00
morganella morganii	2	2	100,00		0,00				0,00
obesumbacterium proteus	3		0,00		0,00	1	33,33	2	66,67
proteus mirabilis	1		0,00			1			0,00
Proteus vulgarius	1		0,00		0,00	1	100,00		0,00
providencia rettgeri	3	3	100,00						0,00
providencia stuartii	1	1			0,00				0,00
Serratia marcescens	18			1	5,56	17	94,44		0,00
Yersinia ruckerii	3		0,00		0,00		0,00	3	100,00
TOPLAM	120	31	25,83	26	21,67	35	29,17	28	23,33

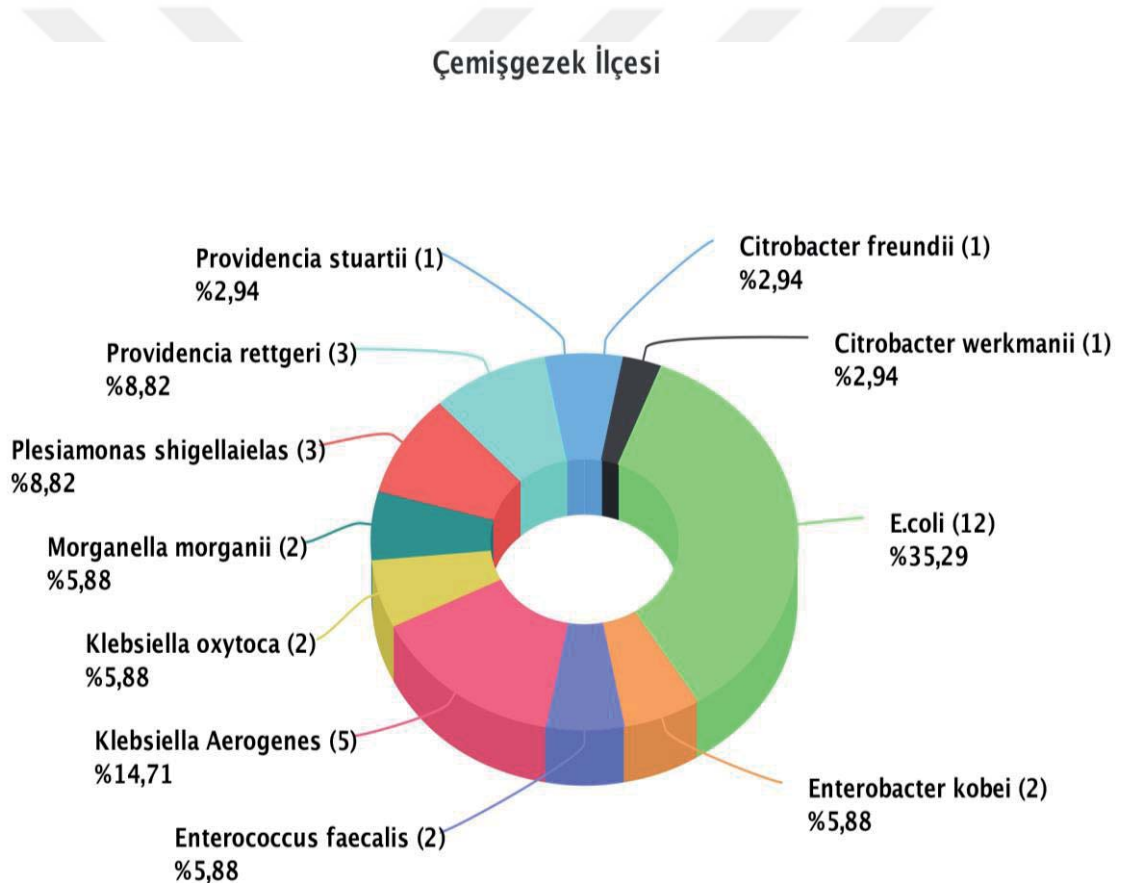
Tunceli ili ilçelerinden temin edilen gökkuşuğu alabalığı numunelerinden identifiye edilen enterobacteria familyasından; en fazla (% 41,80) 51 *E.coli* en az ve en tehlikeli (%14,75) 18 adet *Serratia marcescens* olarak tespit edilmiş ve Şekil 3.11.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.11. Tunceli ili ilçelerinden temin edilen gökkuşuğu alabalığı numunelerinden izole edilen *enterobacteria* familyasının prelevansı

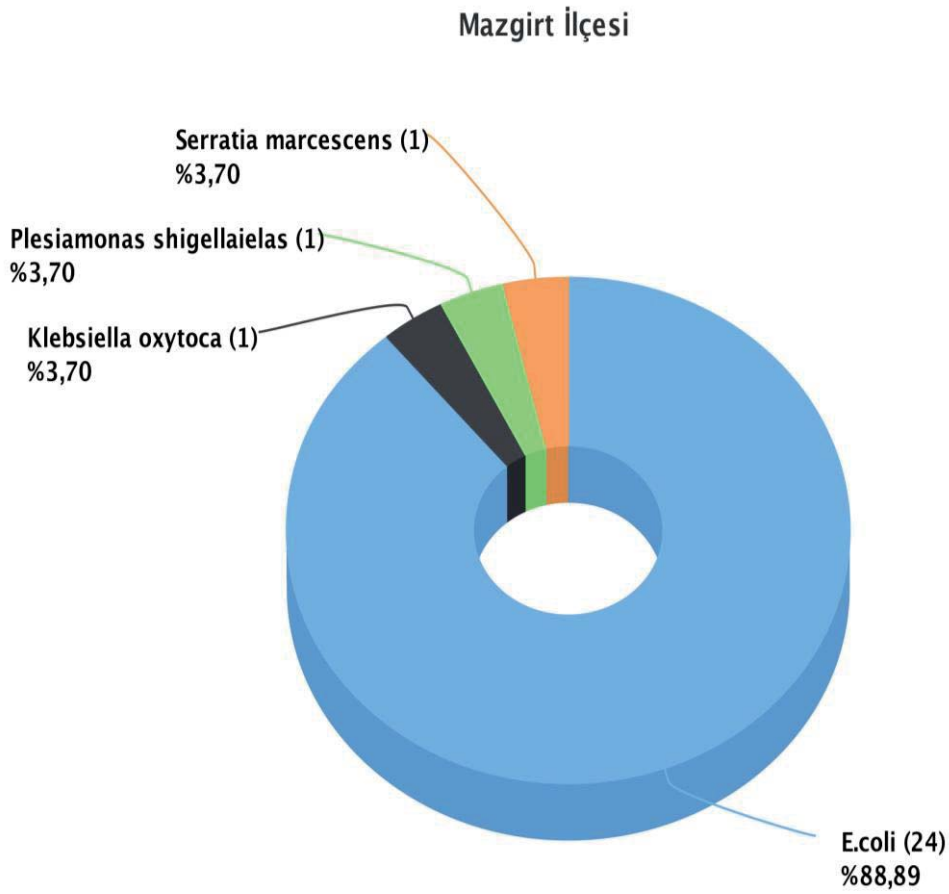
Temin edilen gökkuşuğu alabalığı numunelerinden izole edilen enterobacteria ailesinin prelevansı ilçelere göre ayrı ayrı ele alındığında ;

Çemişgezek ilçesindeki tesislerden temin edilen gökkuşuğu alabalıklarındaki bakteri dağılımına bakıldığında; enterobacteria familyasına ait 11 adet farklı bakteri türü; *Providencia Stuartii* 1 adet (% 2,94), *Povidencia Rettgeri* 3 adet (% 8,82), *Plesiamonas Shigellaielas* 3 adet (% 8,82), *Morganella Morganii* 2 adet (% 5,88), *Klebsiella Oxytoca* 2 adet (% 5,88), *Klebsiella Aerogenes* 5 adet (% 14,71), *Enterococcus Faecalis* 2 adet (% 5,88), *Citrobacter Freundii* 1 adet (% 2,94), *Citrobacter Werkmanii* 1 adet (% 2,94), *E. Coli* 12 adet (% 35,29), *Enterobacter Kobei* 2 adet (% 5,88) tespit edilmiş olup Şekil 3.12’ de görülmektedir.



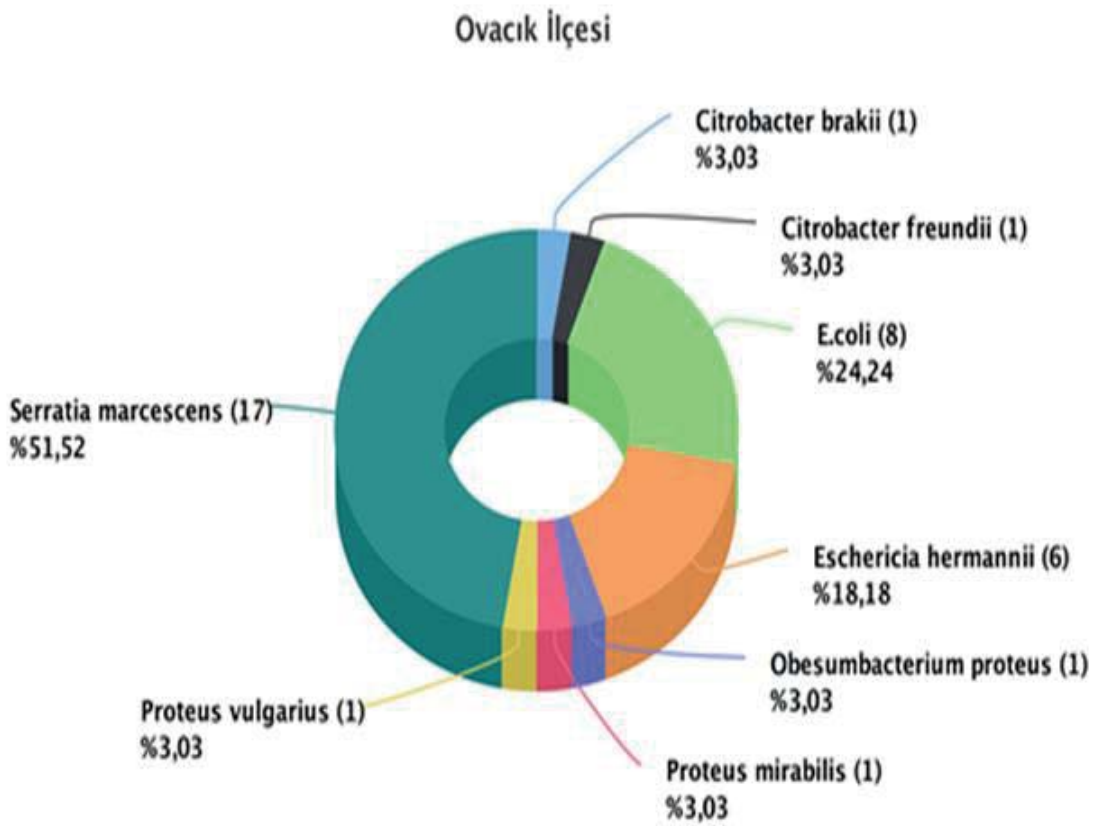
Şekil 3.12. Çemişgezek ilçesindeki gökkuşuğu alabalığı numunelerinde identifiye edilen enterobacteria ailesinin prelevansı

Mazgirt ilçesindeki tesislerden temin edilen gökkuşuğu alabalıklarındaki bakteri dağılıma bakıldığında; enterobacteria familyasına ait 4 adet farklı bakteri türü tespit edilmiştir. Bu bakteriler; *Serratia marcescens*, *Plesiamonas Shigellaielas*, *Klebsiella Oxytoca*, *E. Coli* olarak tanımlanmıştır. Tanımlanan enterobacteria familyasına ait bakterilerin Mazgirt ilçesi MALDI-TOF MS Analizi sonuçları incelendiğinde, *Serratia marcescens* 1 adet (% 3,70), *Plesiamonas Shigellaielas* 1 adet (% 3,70), *klebiella oxytoca* 1 adet (% 3.70) ve e.coli 24 adet (% 88,89) tespit edilmiş olup Şekil 3.13’ de görülmektedir.



Şekil 3.13. Mazirt ilçesindeki gökkuşuğu alabalığı numunelerinde identifiye edilen enterobacteria ailesinin prelevansı

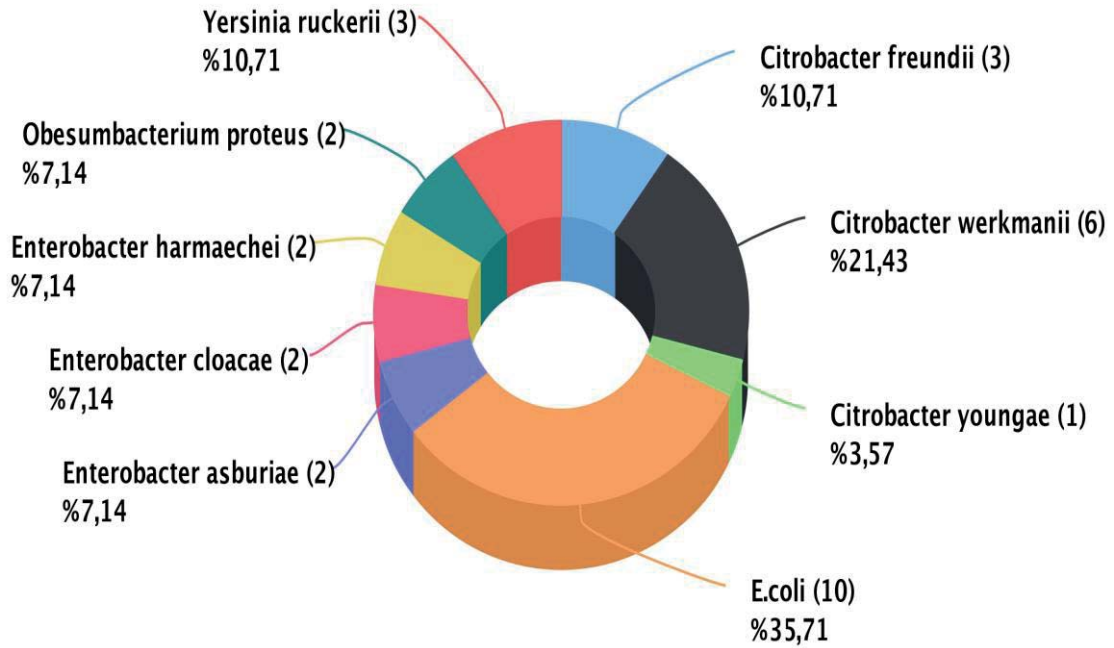
Ovacık ilçesinden temin edilen gökkuşuğu alabalıklarının MALDI-TOF MS analizi ile tanımlanması sonuçlarına göre enterobacteria familyasına ait 8 adet farklı bakteri türü tespit edildi. Tanımlanan enterobacteria familyasına ait bakterilerin Ovacık ilçesi MALDI-TOF MS Analizi sonuçları incelendiğinde; *Serratia marcescens* 17 adet (% 51,52), *Citrobacter brakii* 1 adet (% 3,03), *Citrobacter freundii* 1 adet (% 3,03), *E. coli* 8 adet (% 24,24), *Eschericia hermanni* 6 adet (% 18,18), *Obesumbacterium proteus* 1 adet (% 3,3), *Proteus mirabilis* 1 adet (% 3,3) *Proteus vulgaris* (% 3,03) tespit edilmiş olup Şekil 3.14.' de görülmektedir.



Şekil 3.14. Ovacık ilçesindeki gökkuşuğu alabalığı numunelerinde identifiye edilen enterobacteria ailesinin prelevansı

Pertek ilçesinden temin edilen gökkuşağı alabalıklarının MALDI-TOF MS analizi ile tanımlanması sonuçlarına göre enterobacteria familyasına ait 9 adet farklı bakteri türü tespit edilmiştir. Tanımlanan enterobacteria familyasına ait bakterilerin Pertek ilçesi MALDI TOF MS Analizi sonuçları incelendiğinde; *Yersinia ruckerii* 3 adet (% 10,71), *Obesumbacterium proteus* 2 adet (% 7,14), *Enterobacter harmaechei* 2 adet (% 7,14), *Enterobacter cloacae* 2 adet (% 7,14), *Enterobacter asburiae* 2 adet (% 7,14), *Citrobacter freundii* 3 adet (% 10,71), *Citrobacter werkmanii* 6 adet (% 21,43), *Citrobacter youngae* 1 adet (% 3,57), *E.coli* 10 adet (% 35,71) tespit edilmiş olup Şekil 3.15’de görülmektedir.

Pertek İlçesi



Şekil 3.15. Pertek ilçesindeki gökkuşağı alabalığı numunelerinde tanımlanan enterobacteria ailesinin prevalansı

Tüm ilçelerdeki tesislerden temin edilen Gökkuşuğu alabalıklarında bağırsak deri ve solungaçlarında yerleşim gösteren enterobacteria familyasının dağılımı incelendiğinde; Bağırsak, deri ve solungaç kısımlarında ortak olarak toplamda 5 adet ile en az *Citrobacter freundii*, en fazla ise; 51 adet ile *E.coli* tespit edilmiş olup tablo 3.8’de görülmektedir.

Tablo 3.8. Çemişgezek, Tunceli, Ovacık, Pertek ilçelerinden temin edilen gökkuşuğu alabalığı numunelerinin bağırsak, deri, solungaçlarından identifiye edilen enterobacter familyasının prelevansı

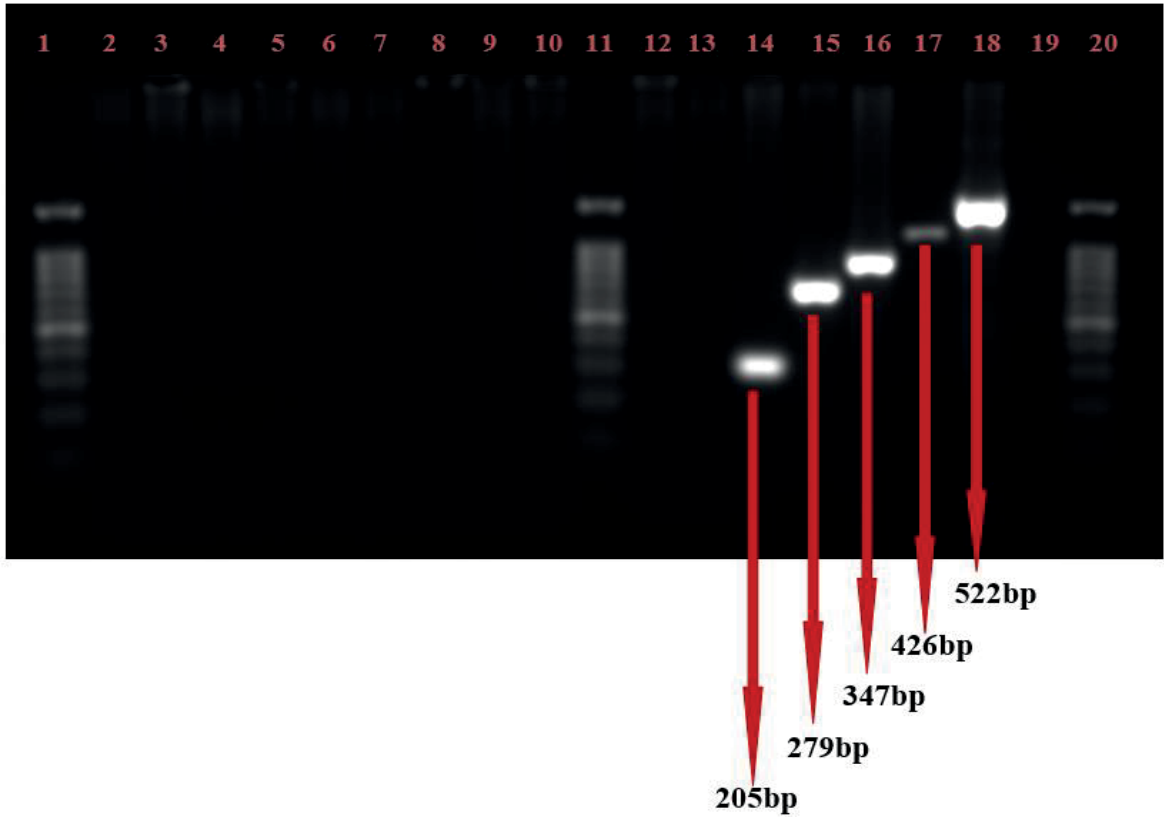
Enterobacter Türleri	Bakteri Sayısı	Bağırsak		Deri		Solungaç		Çemişgezek		Mazgirt		Ovacık		Pertek	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>citrobacter brakii</i>	1	1	100,00						0,00			1			0,00
<i>Citrobacter freundii</i>	5	2	40,00	1	20,00	2	40,00	1	20,00		0,00	1	20,00	3	60,00
<i>Citrobacter werkmanii</i>	7	2	28,57	2	28,57	3	42,86	1	14,29		0,00		0,00	6	85,71
<i>citrobacter youngae</i>	1			1	100,00						0,00			1	100,00
<i>e. Hermannii</i>	5		0,00	3	60,00	2	40,00		0,00		0,00	5	100,00		0,00
<i>E.coli</i>	51	15	29,41	10	19,61	26	50,98	12	23,53	24	47,06	8	15,69	7	13,73
<i>Enterobacter asburiae</i>	2	1	50,00			1	50,00		0,00				0,00	2	100,00
<i>enterobacter cloacae</i>	2			1	50,00	1	50,00				0,00		0,00	2	100,00
<i>Enterobacter harmaechei</i>	2	1	50,00		0,00	1			0,00		0,00			2	100,00
<i>enterobacter kobei</i>	2		0,00	1	50,00	1	50,00	2	100,00		0,00		0,00		0,00
<i>enterococcus faecalis</i>	2	2			0,00		0,00	2			0,00		0,00		0,00
<i>Klebsiella aerogenes</i>	5	2	40,00	1		2		5	100,00						0,00
<i>klebsiella oxytoca</i>	3		0,00	3	100,00		0,00	2	66,67	1	33,33		0,00		0,00
<i>morganella morganii</i>	2	2	100,00		0,00			2	100,00		0,00				0,00
<i>obesumbacterium proteus</i>	3	3	100,00		0,00		0,00		0,00		0,00	1	33,33	2	66,67
<i>proteus mirabilis</i>	1	1	100,00						0,00			1			0,00
<i>Proteus vulgaris</i>	1		0,00		0,00	1	100,00		0,00		0,00	1	100,00		0,00
<i>providencia rettgeri</i>	3	2	66,67			1		3	100,00						0,00
<i>providencia stuartii</i>	1	1			0,00			1			0,00				0,00
<i>Serratia marcescens</i>	18	4		5	27,78	9	50,00			1	5,56	17	94,44		0,00
<i>Yersinia ruckerii</i>	3	3	100,00		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00	3	100,00
TOPLAM	120	42	35,00	28	23,33	50	41,67	31	25,83	26	21,67	35	29,17	28	23,33

Tüm ilçelerdeki tesislerden temin edilen gökkuşağı alabalıklarında tespit edilen enterobacteria familyasının aylara göre dağılımına bakıldığında; Çemişgezek, Tunceli, Ovacık, Pertek ilçelerinden Haziran, Temmuz, Aralık aylarında temin edilen gökkuşağı alabalığı numunelerinden identifiye edilen bakteri türlerinden; **Haziran ve Aralık** aylarında **en fazla E. coli**, **Temmuz** ayında ise **Klebsiella aerogenes** tespit edilmiş olup **Tablo 3.9**'da görülmektedir.

Tablo 3.9. Tüm ilçelerdeki tesislerden temin edilen Gökkuşağı alabalıklarında tespit edilen enterobacteria familyasının aylara göre dağılımı

Bakteri Adı	Bakteri Sayısı	Aralık		Haziran		Temmuz		Çemişgezek		Mazgirt		Ovacık		Pertek	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
citrobacter brakii	1	1	100,00						0,00			1			0,00
Citrobacter freundii	5	1	20,00	3	60,00	1	20,00	1	20,00		0,00	1	20,00	3	60,00
Citrobacter werkmanii	7		0,00	6	85,71	1	14,29	1	14,29		0,00		0,00	6	85,71
citrobacter youngae	1			1	100,00						0,00			1	100,00
e. Hermannii	5	5	100,00		0,00		0,00		0,00		0,00	5	100,00		0,00
E.coli	51	26	50,98	21	41,18	4	7,84	12	23,53	24	47,06	8	15,69	7	13,73
Enterobacter asburiae	2		0,00	2			0,00		0,00				0,00	2	100,00
enterobacter cloacae	2			2	100,00		0,00				0,00		0,00	2	100,00
Enterobacter harmaechei	2		0,00	2	100,00				0,00		0,00			2	100,00
enterobacter kobei	2		0,00		0,00	2	100,00	2	100,00		0,00		0,00		0,00
enterococcus faecalis	2			1	50,00	1	50,00	2			0,00		0,00		0,00
Klebsiella aerogenes	5		0,00			5		5	100,00						0,00
klebsiella oxytoca	3	1	33,33		0,00	2	66,67	2	66,67	1	33,33		0,00		0,00
morganella morganii	2		0,00		0,00	2		2	100,00		0,00				0,00
obesumbacterium proteus	3	1	33,33	2	66,67		0,00		0,00		0,00	1	33,33	2	66,67
proteus mirabilis	1	1	100,00						0,00			1			0,00
Proteus vulgaris	1		0,00	1	100,00		0,00		0,00		0,00	1	100,00		0,00
providencia rettgeri	3		0,00	2		1		3	100,00						0,00
providencia stuartii	1			1	100,00			1			0,00				0,00
Serratia marcescens	18			17	94,44	1	5,56			1	5,56	17	94,44		0,00
Yersinia ruckerii	3		0,00	3	100,00		0,00		0,00		0,00		0,00	3	100,00
TOPLAM	120	36	30,00	64	53,33	20	16,67	31	25,83	26	21,67	35	29,17	28	23,33

Çalışmamızdan elde edilen *E. coli* ve *enterobacter spp.* İzolatlarında multipleks PZR analiz sonuçlarına göre; tüm ilçelerden temin edilen Gökkuşuğu alabalığının bağırsak, deri ve solungaç kısımlarından izole edilen enterobacteria familyasına ait tespit edilen bakterilerde MCR gen varlığının olup olmadığını tespit etmek amacıyla yapılan Multipleks PZR analiz sonuçları incelendiğinde; mcr-1, mcr-2, mcr-3, mcr-4, mcr-5, mcr-6, mcr-7, mcr-8 ve mcr-9 gen varlığına rastlanılamamıştır. Çalışmamızda; Multipleks PZR elektroforez jel görüntüsü Resim 3.1.'de görülmektedir.



Resim 3.1. Mcr gen varlığını ortaya koymak amacıyla *E. Coli*, *Enterobacter spp.* izolatlarında gerçekleştirilen Multipleks PZR'ye ait elektroforez jel görüntüleri: 1. 11. ve 20. kuyucuk DNA Ladder, 19. kuyucuk negatif kontrol, 18. kuyucuk mcr-5 pozitif kontrol, 17. kuyucuk mcr-4 pozitif kontrol, 16. kuyucuk mcr-3 pozitif kontrol, 15. kuyucuk mcr-2 pozitif kontrol, 14. kuyucuk mcr-1 pozitif kontrol ve mcr-1 205 bp, mcr-2 279 bp, mcr-3 347 bp, mcr-4 426 bp, mcr-5 522 bp olduğu görülmektedir

Bu çalışmada, *E. coli* ve *enterobacter spp.* izolatlarında kolistin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri hesaplandığında; kolistin MİK değerleri, sıvı mikrodilüsyon testi kullanılarak *Salmonella spp.* bulunamadığından sadece *E. Coli* ve *Enterobacter spp.* izolatları için belirlendi. Besiyerinde üremenin olmadığı en düşük kolistin konsantrasyonu,

minumum inhibitör konsantrasyon değeri hesaplandı. EUCAST kriterlerine göre, Enterobacterales için MİK değerinin 2 µg/mL'den büyük olan izolatlar kolistin dirençli olarak kabul edilmesine rağmen bu çalışmada MİK değeri 2 µg/mL'den küçük olması izolatların kolistine duyarlı olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda; *E. Coli* ve *enterobacter spp.* ve izolatlarında mobil kolistin direnç (MCR) genlerinin varlığına rastlanılmadı. Bu çalışmadaTunceli ili ve ilçelerinde gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan numunelerde identifikasyonu gerçekleştirilen enterobacteria familyasında antimikrobiyal duyarlılıklarının analiz edildiğinde;

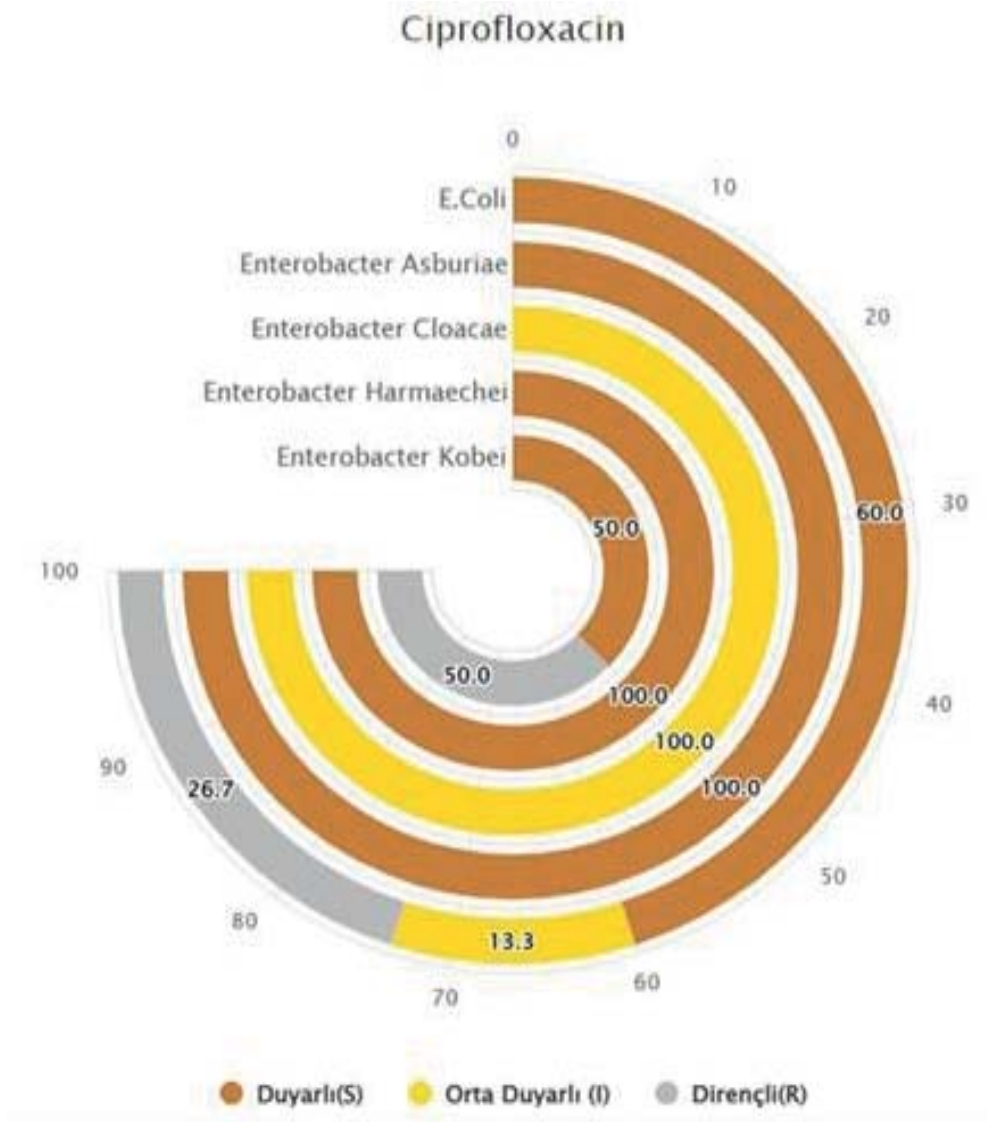
Tunceli ili ve ilçelerinden gökkuşağı alabalığı ağ kafes ve beton havuz üreme metodlarına sahip işletmelerden alınan bağırsak deri solungaç numunelerinden izole edilen bakterilerin antimikrobiyal duyarlılığı, kirby bauer disk difüzyonu yöntemiyle bakterilerin zon çapları ölçülerek tespit edilen duyarlılıklar EUCAST'a göre yorumlandı. Duyarlılık ölçümlerinde; Amikacin (AK), Gentamicin (CN), Meropenem (MEM), Trimethoprim (SXT), Ertapenem (ETP), Tazobactam (TPZ), İmipenem (İMP), Sefoksitin (FOX), Aztreonam (ATM), Cefotaxime (CTX), Amoxicillin (AMC), **kinolon grubu antibiyotikler**; Ciprofloxacin (CİP) ve Levofloxacin (LEV), **beta laktam grubu antibiyotikler**; Ceftazidime (CAZ), Cefepime (FEP), Ampicillin (AM), Ceftriaxone (CRO) olmak üzere 17 çeşit antibiyotik kullanıldı. Multipleks PZR kullanarak mcr gen varlığının araştırılması ve sadece **mcr-1, mcr-2, mcr-3, mcr-4, mcr-5 genlerine ait pozitif kontrollerin olması**, ülkemizde bir ilk olma özelliği taşımasından dolayı yapılan bu çalışmada **mcr-6, mcr-7, mcr-8, mcr-9, mcr-10** pozitif kontrolünün olmayışı; 24 farklı enterobacteria ailesi üyesinden bakteri tespit edilmesine rağmen sadece **mcr-1, mcr-2, mcr-3, mcr-4, mcr-5'e ait** pozitif kontrollerimize duyarlı olan *E.coli*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter harmaechei*, *Enterobacter kobei* olmak üzere 5 adet bakteri üzerinde antimikrobiyal duyarlılık çalışılmış olup tablo 3.10'da görülmektedir.

Tablo 3.10. Enterobacteria familyası türlerinin antimikrobiyal duyarlılık oranları

Bakteri Adı	Duyarlılık	AK		CN		MEM		SXT		ETP		CİP		TPZ		LEV		İMP		CAZ		CRO		FOX		ATM		AM		CTX		FEP		AMC	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
E. coli	S	29	97	28	93	30	100	22	73	19	63	18	60	27	90	23	77	28	93	16	53	12	40	18	60	16	53	6	20	16	53	11	37	18	60
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	13	0	0	0	0	1	3,3	1	3,3	6	20	0	0	5	17	0	0	0	0	11	37	0	0
	R	1	3,3	2	6,7	0	0	8	27	11	37	8	27	3	10	7	23	1	3,3	13	43	12	40	12	40	9	30	24	80	14	47	8	27	12	40
Enterobacter Asburiae	S	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	50	0	0
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	100	1	50	2	100	0	0	2	100	0	0	1	50	2	100
Enterobacter Cloacae	S	2	100	2	100	2	100	1	50	0	0	0	0	2	100	2	100	2	100	1	50	0	0	0	0	2	100	0	0	1	50	1	50	0	0
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	50	0	0	0	0	0	0	0	1	50	0	0
	R	0	0	0	0	0	0	1	50	2	100	0	0	0	0	0	0	0	1	50	1	50	2	100	0	0	2	100	1	50	0	0	2	100	
Enterobacter Haraechei	S	2	100	1	50	2	100	1	50	2	100	2	100	2	100	1	50	2	100	2	100	0	0	1	50	1	50	0	0	2	100	0	0	1	50
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	50	0	0	1	50	0	0	0	0	2	100	0	0
	R	0	0	1	50	0	0	1	50	0	0	0	0	0	0	1	50	0	0	0	0	1	50	1	50	0	0	2	100	0	0	0	0	1	50
Enterobacter Kobei	S	2	100	2	100	2	100	2	100	1	50	2	100	1	50	2	100	2	100	2	100	2	100	0	0	2	100	0	0	2	100	2	100	0	0
	I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	50	0	0	1	50	0	0	0	0	0	0	0	2	100	0	0	2	100	0	0	0	0	2

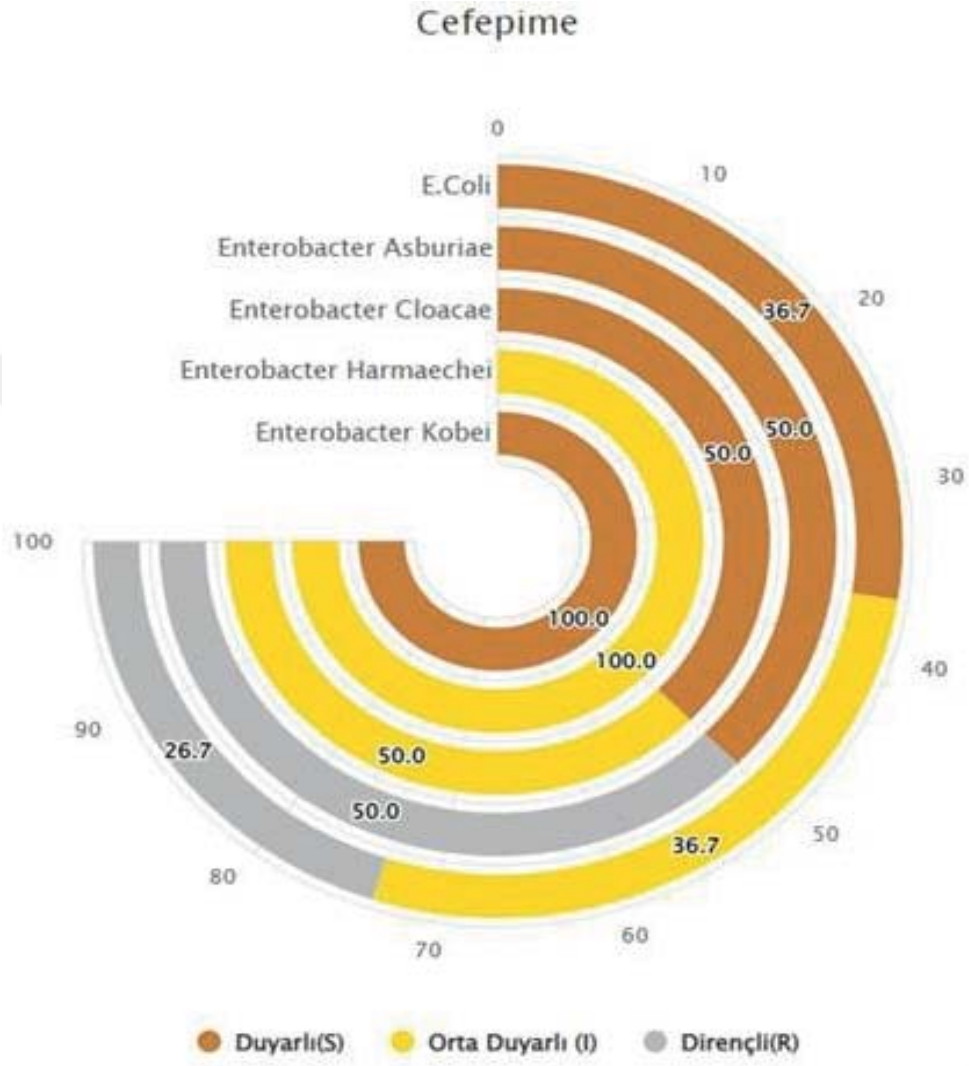
Çalışmamızda Gökkuşuğu alabalıklarından identifiye edilen enterobacteria ailesi için EUCAST'nin belirlediği antibiyotiklerin duyarlılık durumları değerlendirildiğinde; Enterobacteria familyasından olan bakterilerin tedavisinde ilk olarak kinolon ve beta laktam grubu antibiyotiklerin yanında EUCAST'in belirlediği antibiyotikler tercih edilmektedir. Yapılan bu çalışmada da; enterobacteria familyasından olan bakterilerin antimikrobiyal duyarlılık durumları ortaya koymak için 2 adet kinolon ve 4 adet beta laktam grubu antibiyotiklere ek olarak yine EUCAST'in belirlediği 11 farklı antibiyotik olmak üzere toplamda 17 antibiyotik kullanıldı. Kullanılan bu antibiyotiklerin enterobacteria ailesi üzerinde gösterdikleri duyarlılık durumları detaylı olarak incelendiğinde;

Ciprofloxacin antibiyotiğine karşı; E. Coli % 60 duyarlı, *Enterobacter Asburiae* % 100 duyarlı, *Enterobacter Cloacae* % 100 orta duyarlı, *Enterobacter Harmaechei* % 100 duyarlı, *Enterobacter Kobei*'nin ise % 50 duyarlı olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 3.16.)



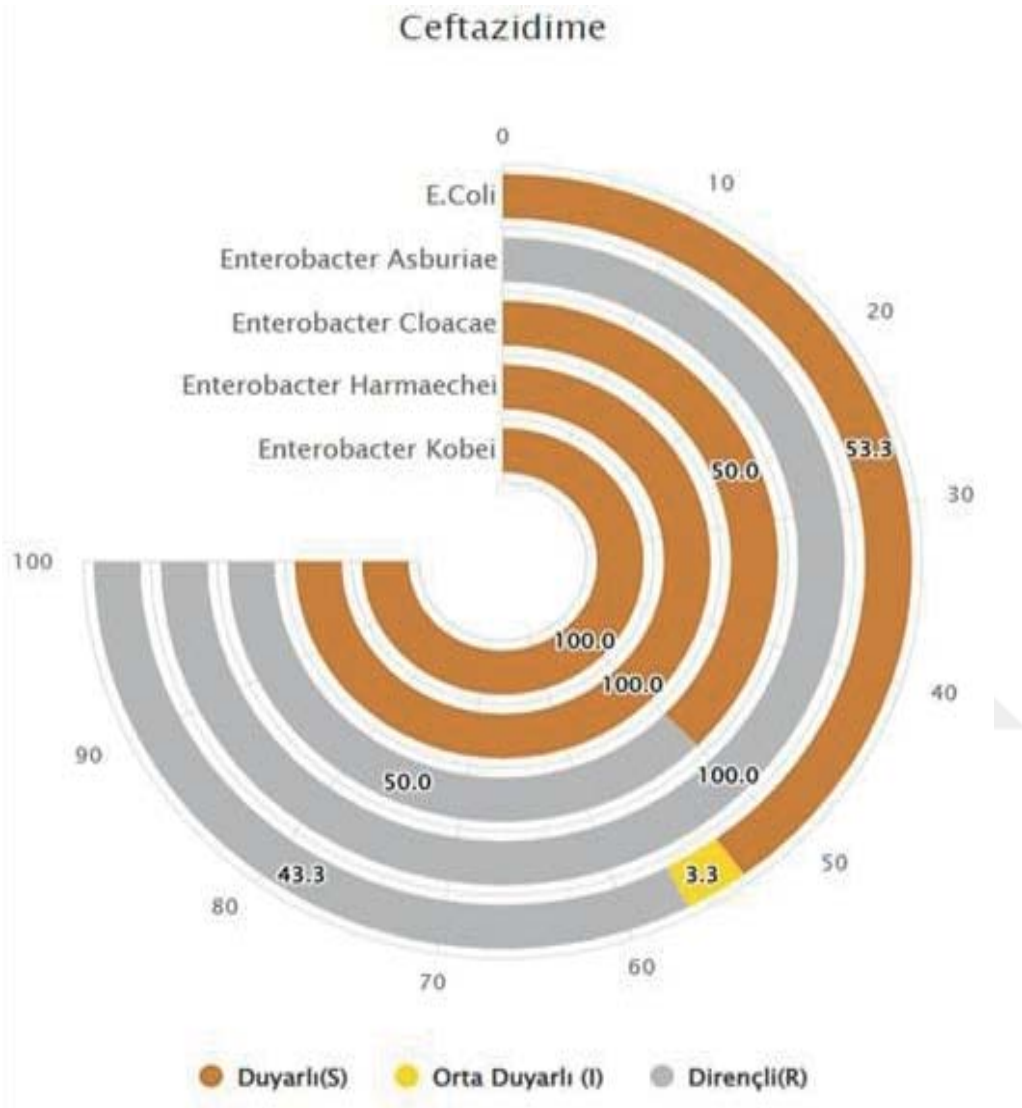
Şekil 3.16. *Enterobacteria* familyasındaki bakterilerin *ciprofloxacin* antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

Cefepime antibiyotigine karşı; *E. coli* % 36.7 duyarlı, *Enterobacter asburiae* % 50 duyarlı, *Enterobacter cloacae* % 50 duyarlı, *Enterobacter harmaechei* % 100 orta duyarlı, *Enterobacter kobei*' nin ise % 100 duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.17.)



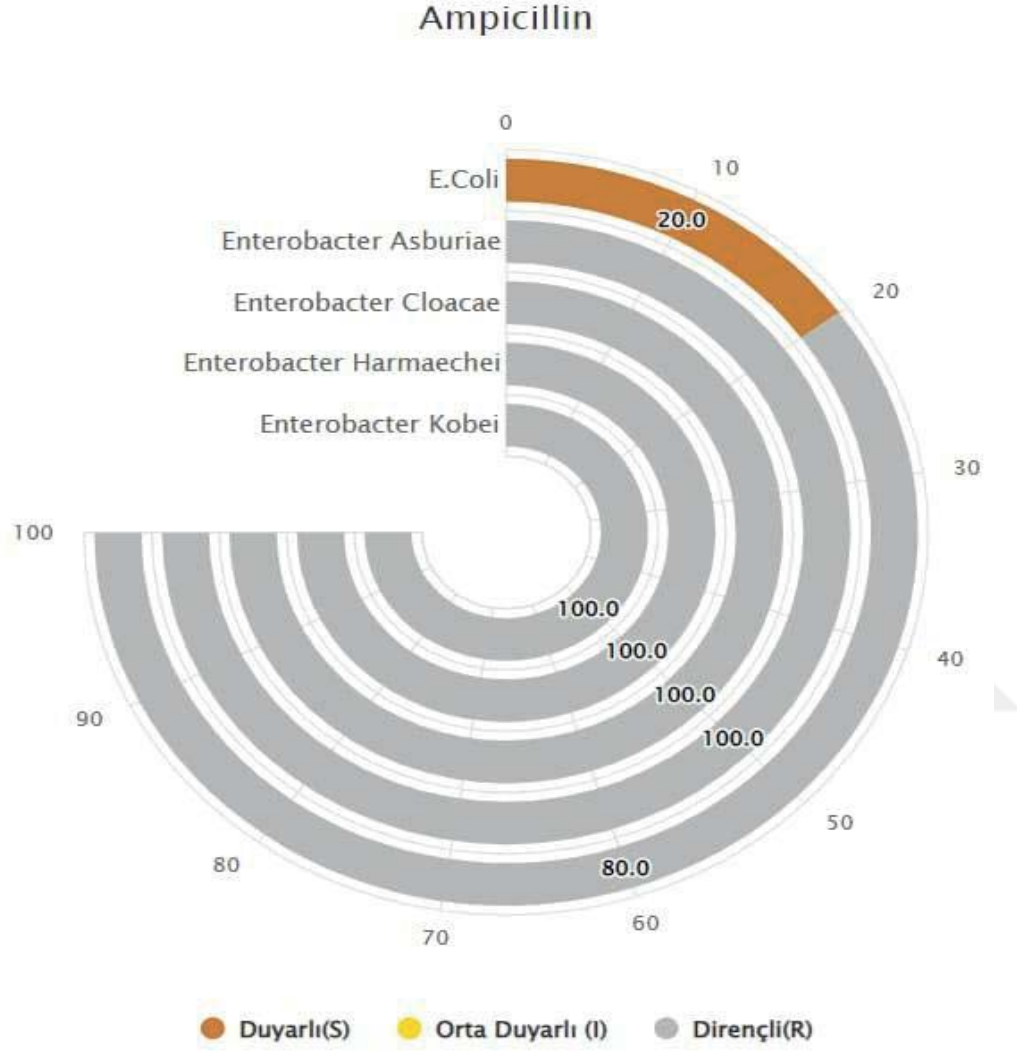
Şekil 3.17. *Enterobacteria* familyasındaki bakterilerin *cefepime* antibiyotigine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

Ceftazidime antibiyotiğine karşı; *E. coli* % 53.3 duyarlı, *Enterobacter asburiae* %100 dirençli, *Enterobacter cloacae* % 50 duyarlı, *Enterobacter harmaechei* % 100 duyarlı, *Enterobacter kobei*'nin ise % 100 duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.18.).



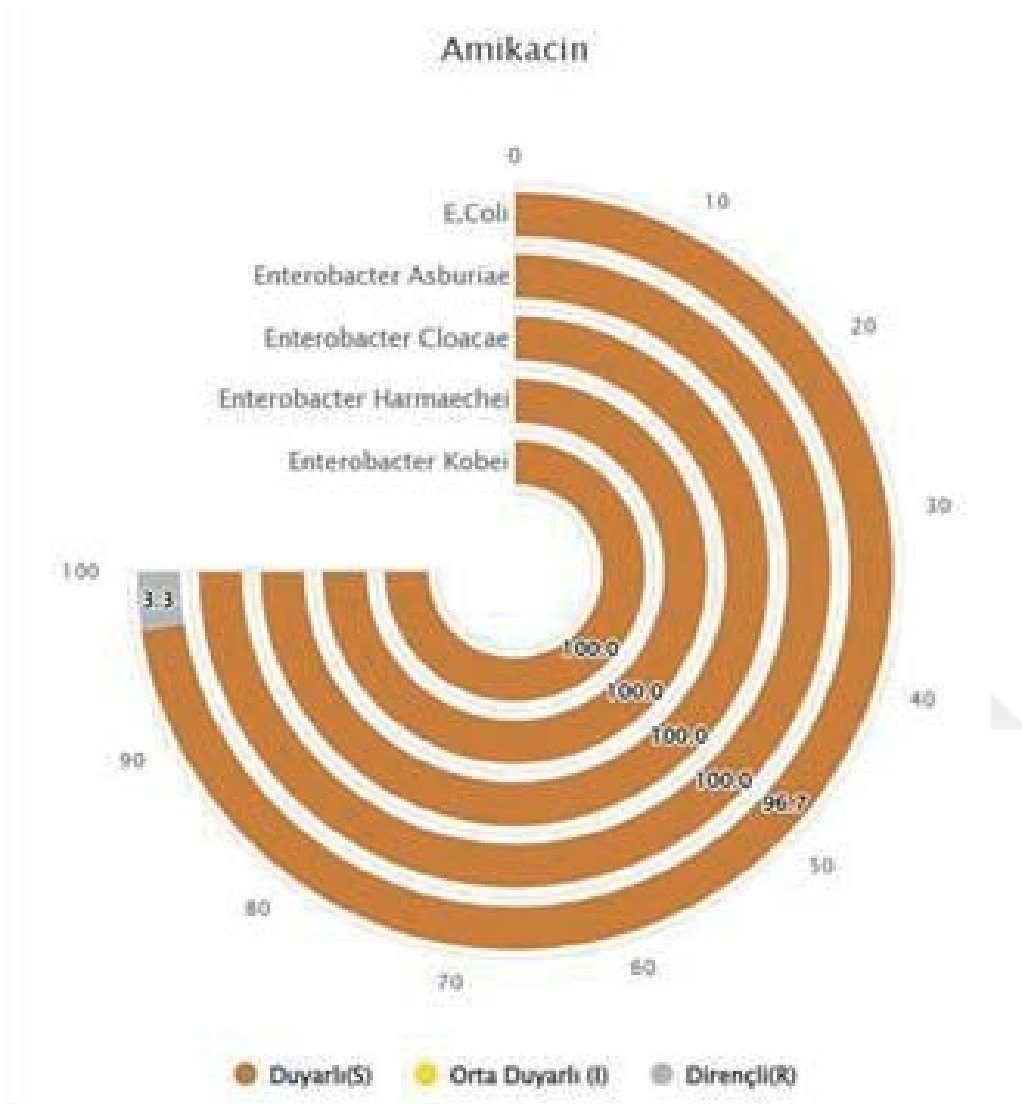
Şekil 3.18. *Enterobacteria* familyasındaki bakterilerin *ceftazidime* antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

Ampicillin antibiyotiğine karşı; *E. coli* % 80 dirençli, *Enterobacter asburiae* % 100 dirençli, *Enterobacter cloacae* % 100 dirençli, *Enterobacter harmaechei* % 100 dirençli, *Enterobacter kobei*'nin ise % 100 dirençli olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.19.)



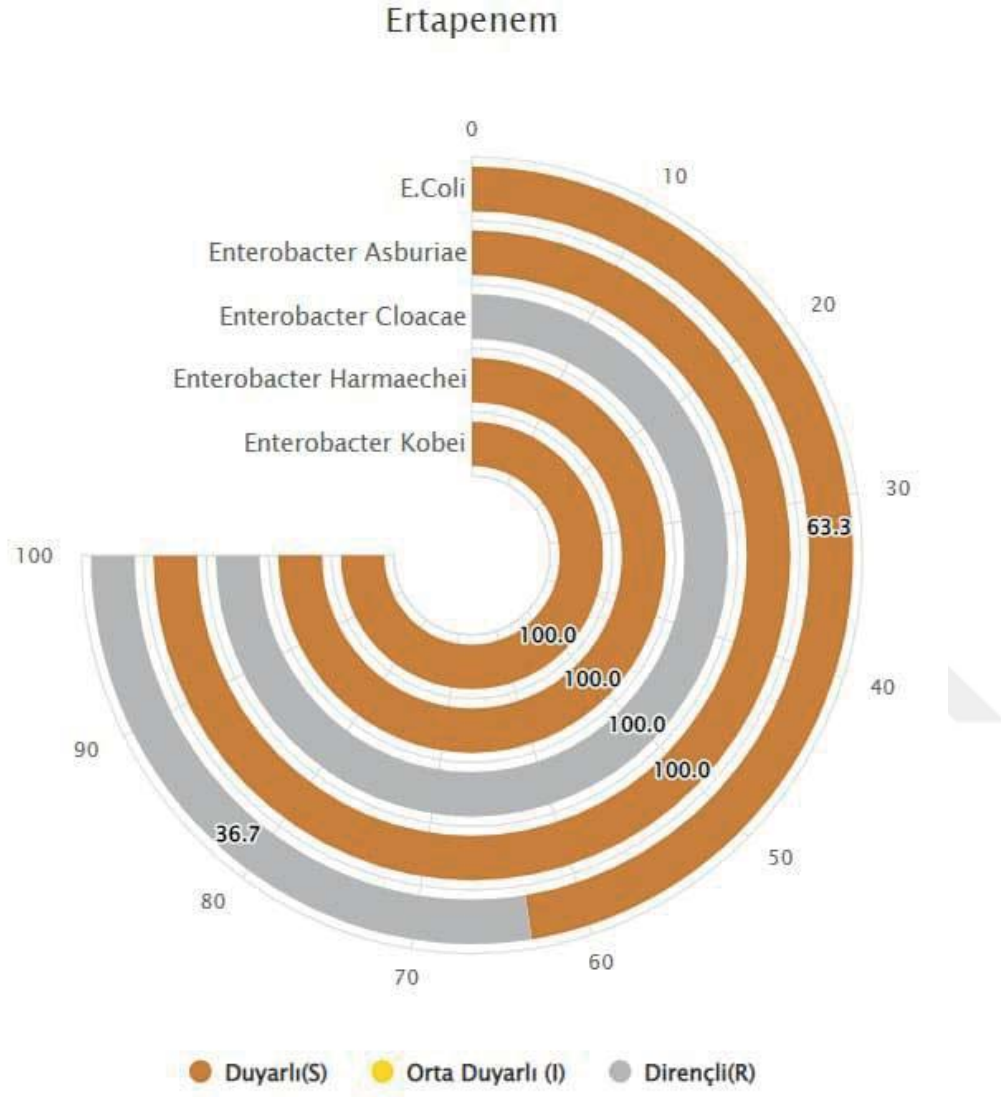
Şekil 3.19. *Enterobacteria* familyasındaki bakterilerin *ampicillin* antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

Amikacin antibiyotiğine karşı; *E. coli* % 96.7 duyarlı, *Enterobacter Asburiae* % 100 duyarlı, *Enterobacter cloacae* % 100 duyarlı, *Enterobacter harmaechei* % 100 duyarlı, *Enterobacter kobei*'nin ise % 100 duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.20.)



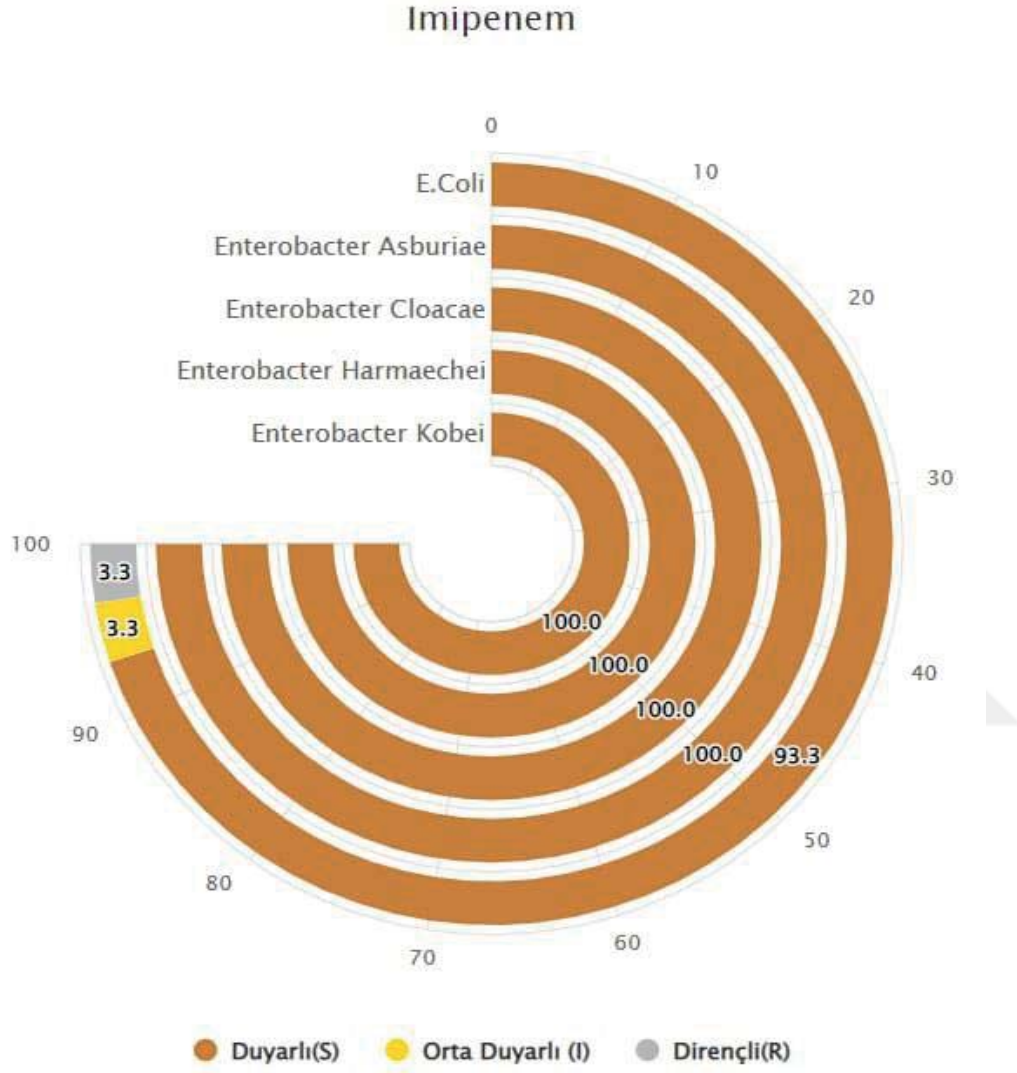
Şekil 3.20. *Enterobacteria* familyasındaki bakterilerin *amikacin* antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

Ertapenem antibiyotiğine karşı; *E. coli* % 63.3 duyarlı, *Enterobacter asburiae* % 100 duyarlı, *Enterobacter cloacae* % 100 dirençli, *Enterobacter harmaechei* % 100 duyarlı, *Enterobacter kobei*'nin ise % 100 duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.21.)



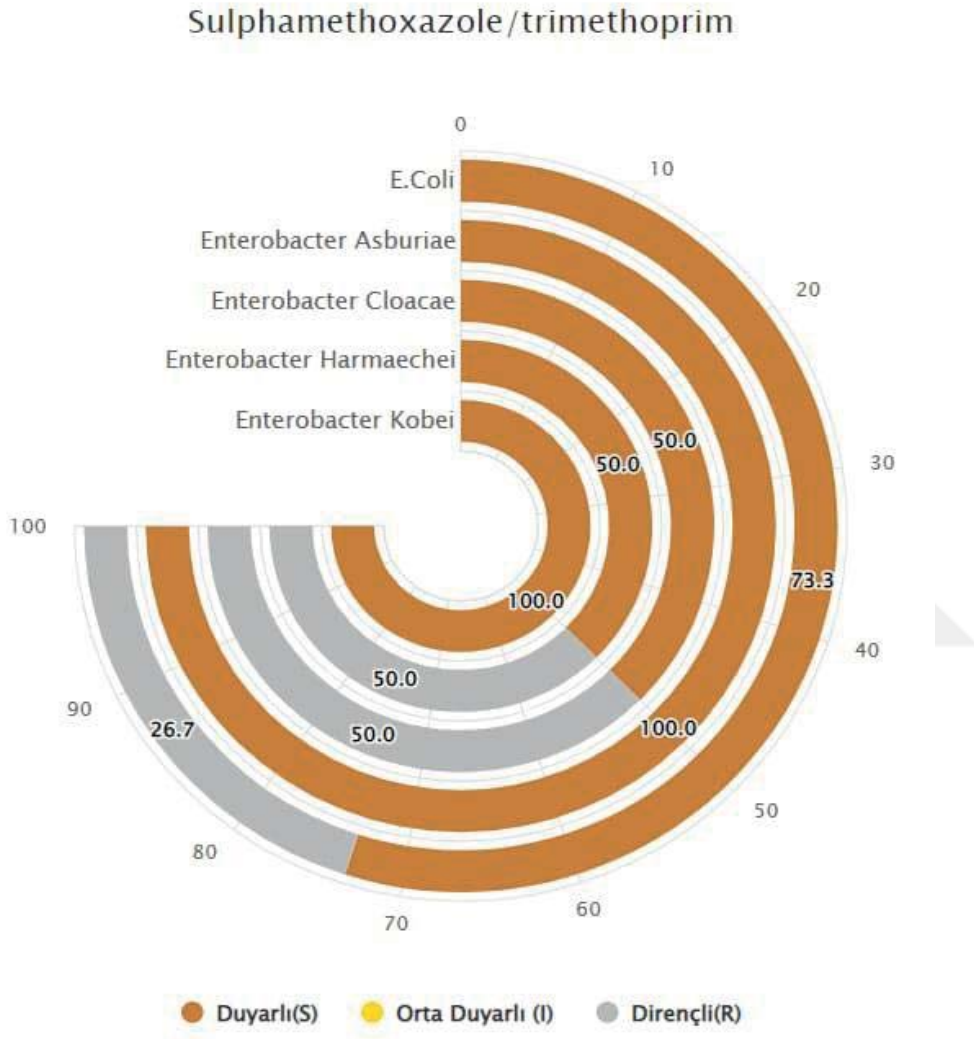
Şekil 3.21. *Enterobacteria* familyasındaki bakterilerin *ertapenem* antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

İmipenem antibiyotiğine karşı; *E. coli* % 93.3 duyarlı, *Enterobacter asburiae* % 100 duyarlı, *Enterobacter cloacae* % 100 duyarlı, *Enterobacter harmaechei* % 100 duyarlı, *Enterobacter kobei*'nin ise % 100 duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.22.)



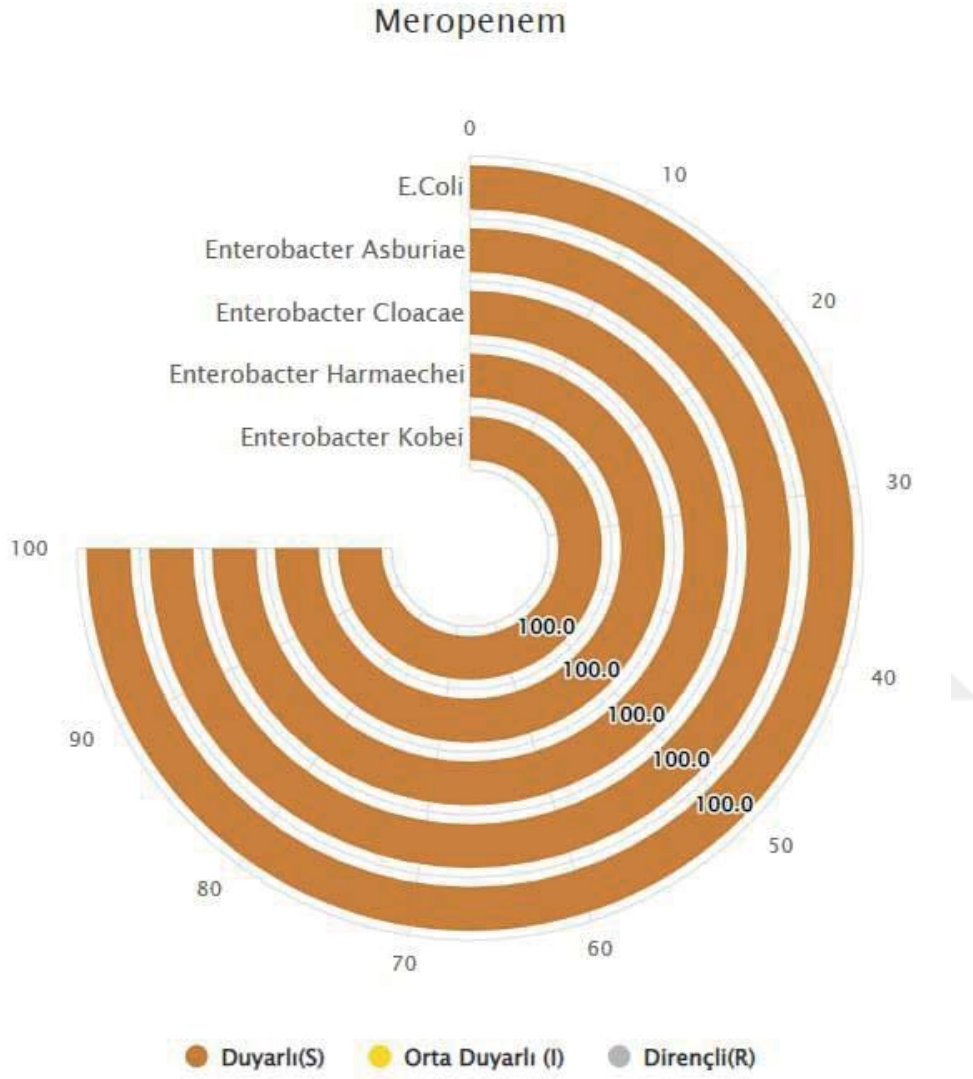
Şekil 3.22. *Enterobacteria* familyasındaki bakterilerin *imipenem* antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

Sulphamethoxazole/trimethoprim antibiyotiğine karşı; *E. coli* % 73.3 duyarlı, *Enterobacter asburiae* % 100 duyarlı, *Enterobacter cloacae* % 50 duyarlı, *Enterobacter harmaechei* % 50 duyarlı, *Enterobacter kobei*' nin ise % 100 duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.23.)



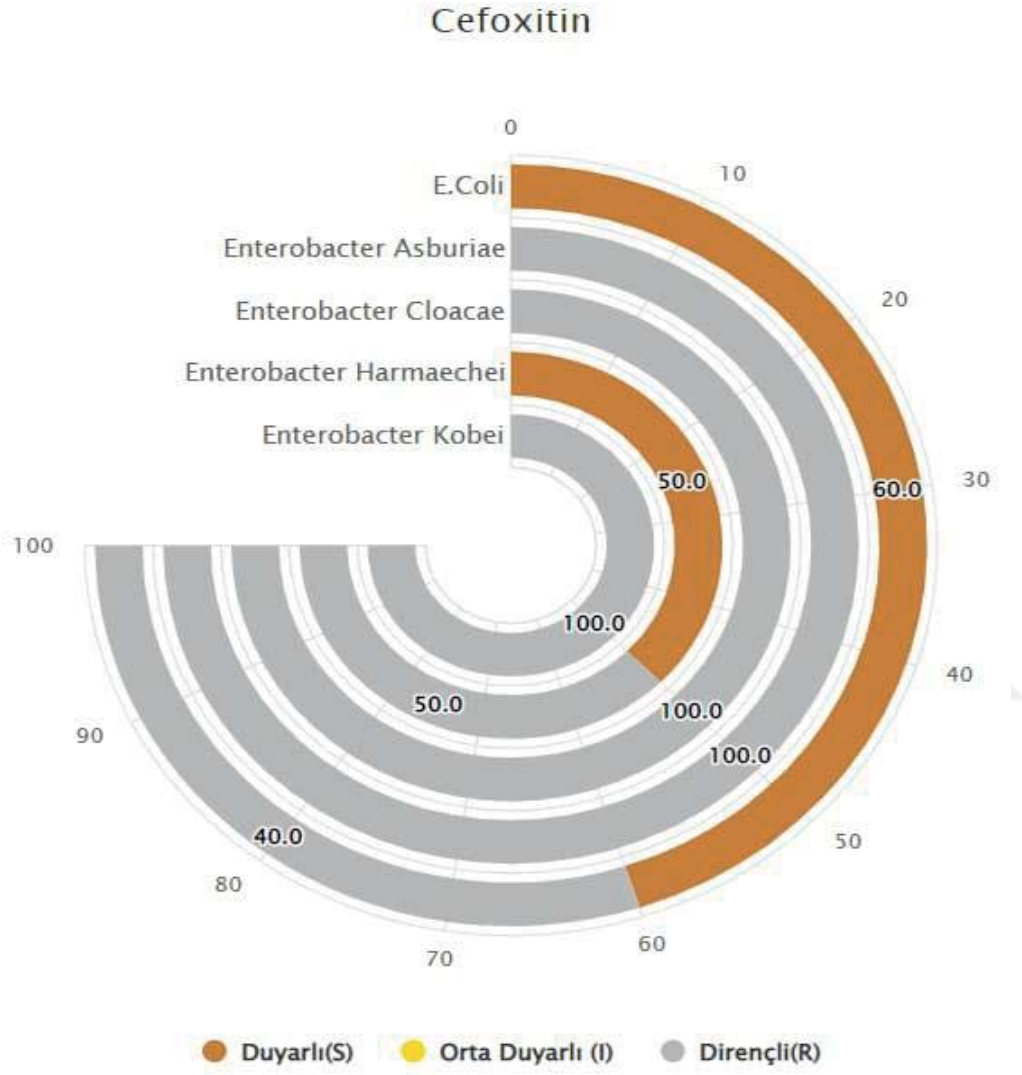
Şekil 3.23. *Enterobacteria* familyasındaki bakterilerin *sulphamethoxazole/trimethoprim* antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

Meropenem antibiyotiğine karşı; *E. coli* % 100 duyarlı, *Enterobacter asburiae* % 100 duyarlı, *Enterobacter cloacae* % 100 duyarlı, *Enterobacter harmaechei* % 100 duyarlı, *Enterobacter kobei*' nin ise % 100 duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.24.)



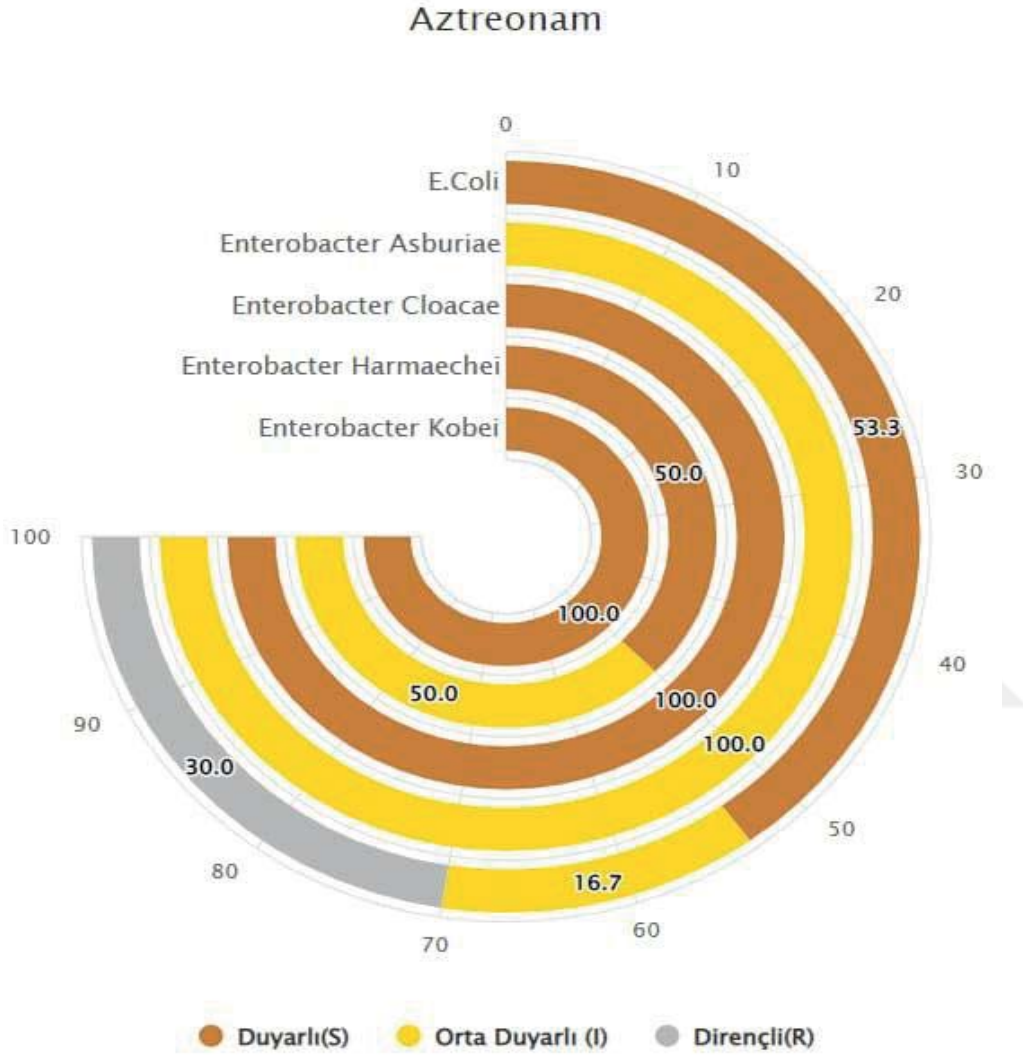
Şekil 3.24. *Enterobacteriaceae* familyasındaki bakterilerin *meropenem* antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

Cefoxitin antibiyotigine karşı; *E. coli* % 60 duyarlı, *Enterobacter asburiae* % 100 dirençli, *Enterobacter cloacae* % 100 dirençli, *Enterobacter harmaechei* % 50 duyarlı, *Enterobacter kobei*' nin ise % 100 dirençli olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.25.)



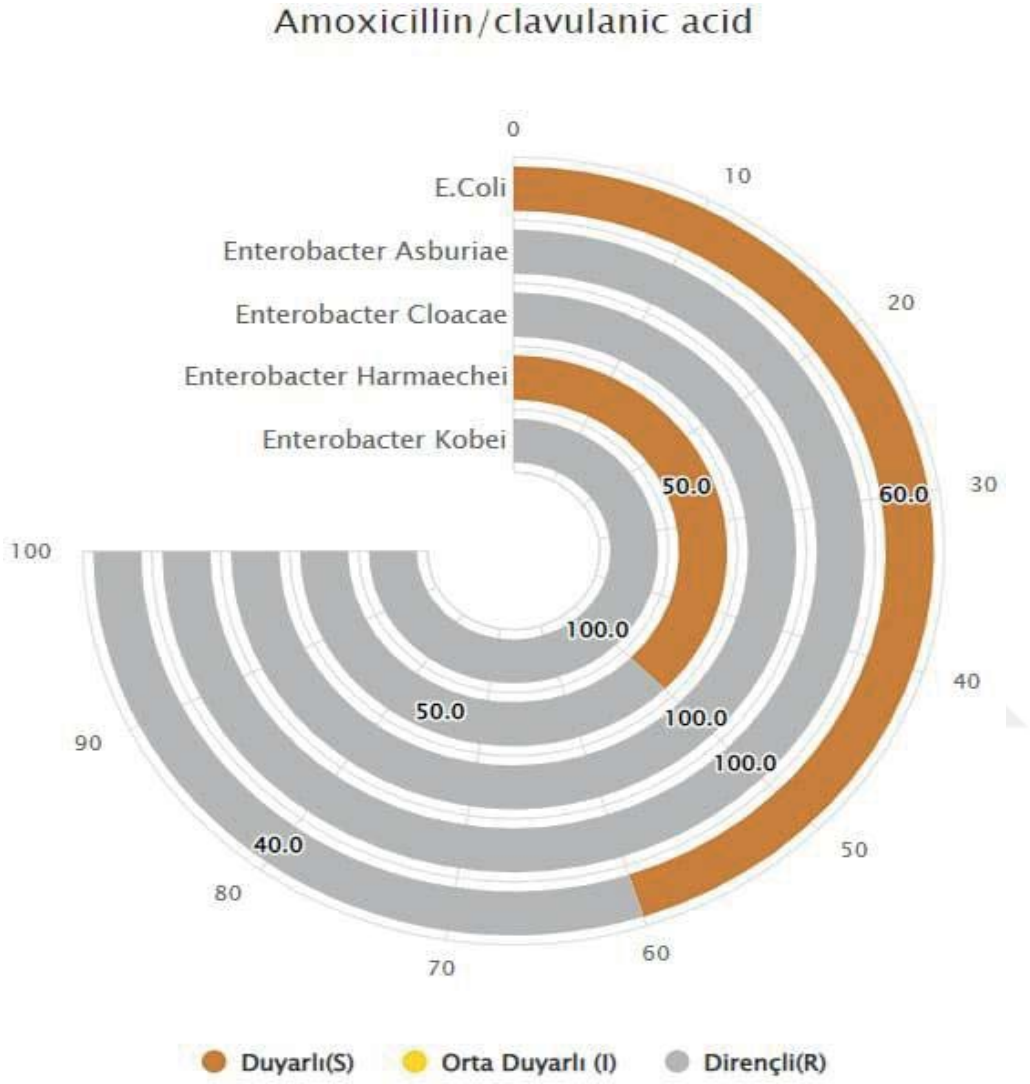
Şekil 3.25. *Enterobacteria* familyasındaki bakterilerin *cefoxitin* antibiyotigine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

Aztreonam antibiyotiğine karşı; *E. coli* % 53.3 duyarlı, *Enterobacter asburiae* % 100 orta duyarlı, *Enterobacter cloacae* % 100 duyarlı, *Enterobacter harmaechei* % 50 duyarlı, *Enterobacter kobei*' nin ise % 100 duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.26.)



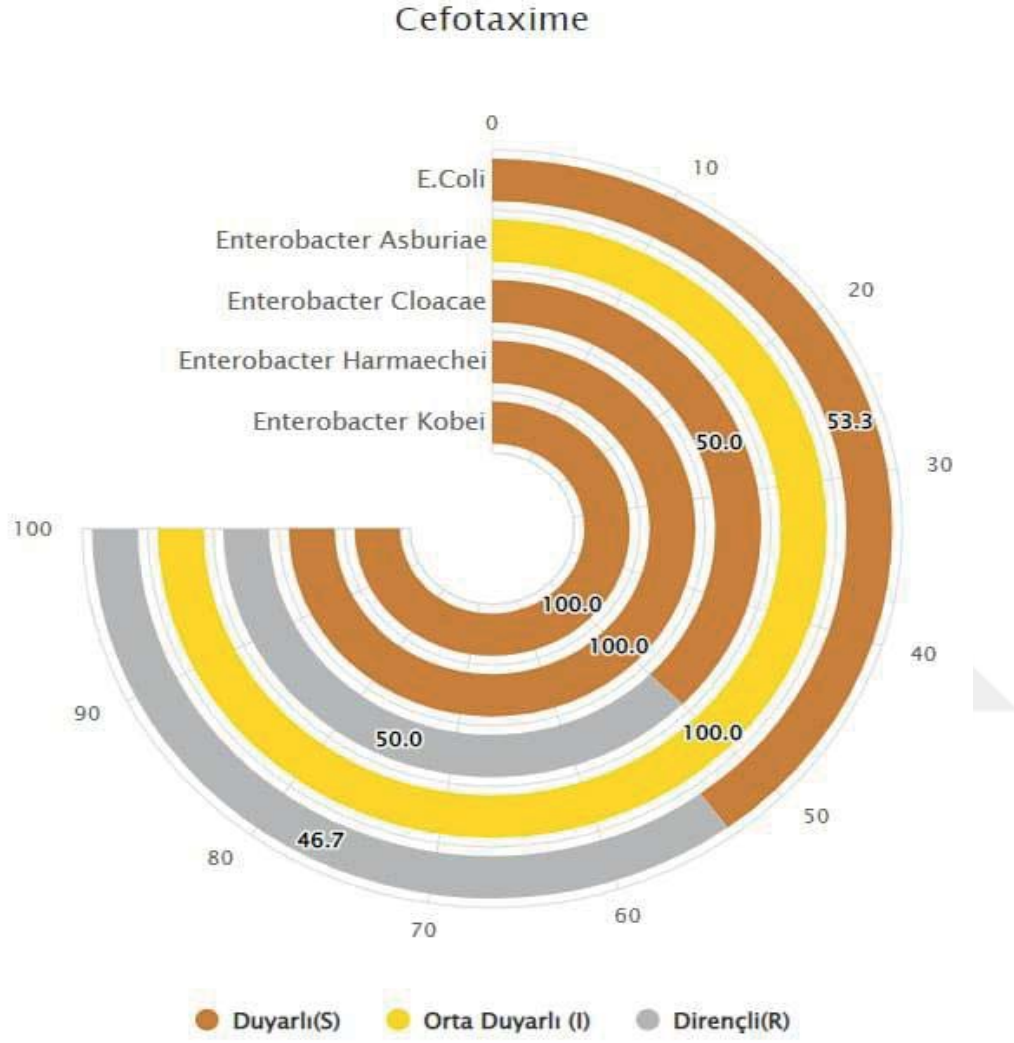
Şekil 3.26. *Enterobacteria* familyasındaki bakterilerin *aztreonam* antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

Amoxicillin antibiyotiğine karşı; *E. coli* % 60 duyarlı, *Enterobacter asburiae* % 100 dirençli, *Enterobacter cloacae* % 100 dirençli, *Enterobacter harmaechei* % 50 duyarlı, *Enterobacter kobei*' nin ise % 100 dirençli olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.27.)



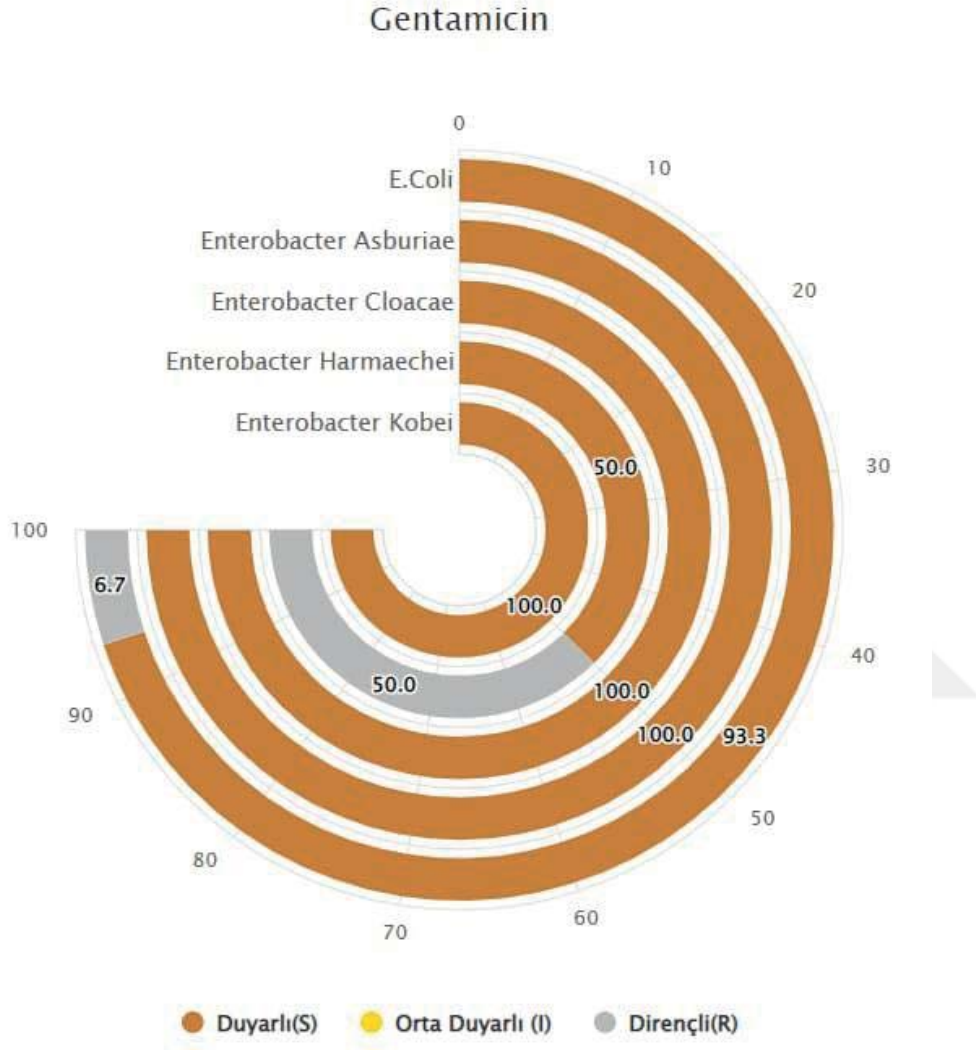
Şekil 3.27. *Enterobacteria* familyasındaki bakterilerin *amoxicillin* antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

Cefotaxime antibiyotiğine karşı; *E. coli* % 53.3 duyarlı, *Enterobacter asburiae* % 100 orta duyarlı, *Enterobacter cloacae* % 50 duyarlı, *Enterobacter harmaechei* % 100 duyarlı, *Enterobacter kobei*' nin ise % 100 duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.28.)



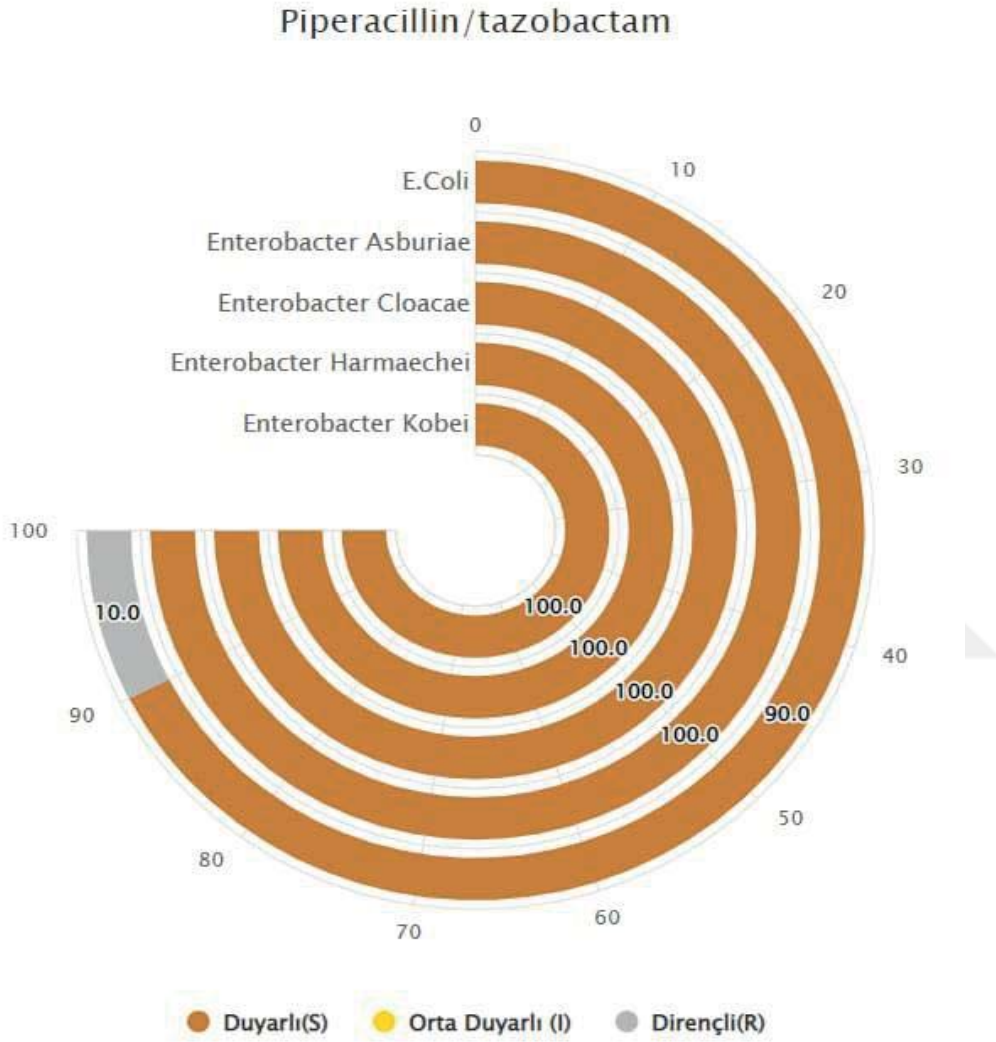
Şekil 3.28. *Enterobacteriaceae* familyasındaki bakterilerin *cefotaxime* antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

Gentamicin antibiyotigine karşı; *E. coli* % 93.3 duyarlı, *Enterobacter asburiae* % 100 duyarlı, *Enterobacter cloacae* % 100 duyarlı, *Enterobacter harmaechei* % 50 duyarlı, *Enterobacter kobei*' nin ise % 100 duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.29.)



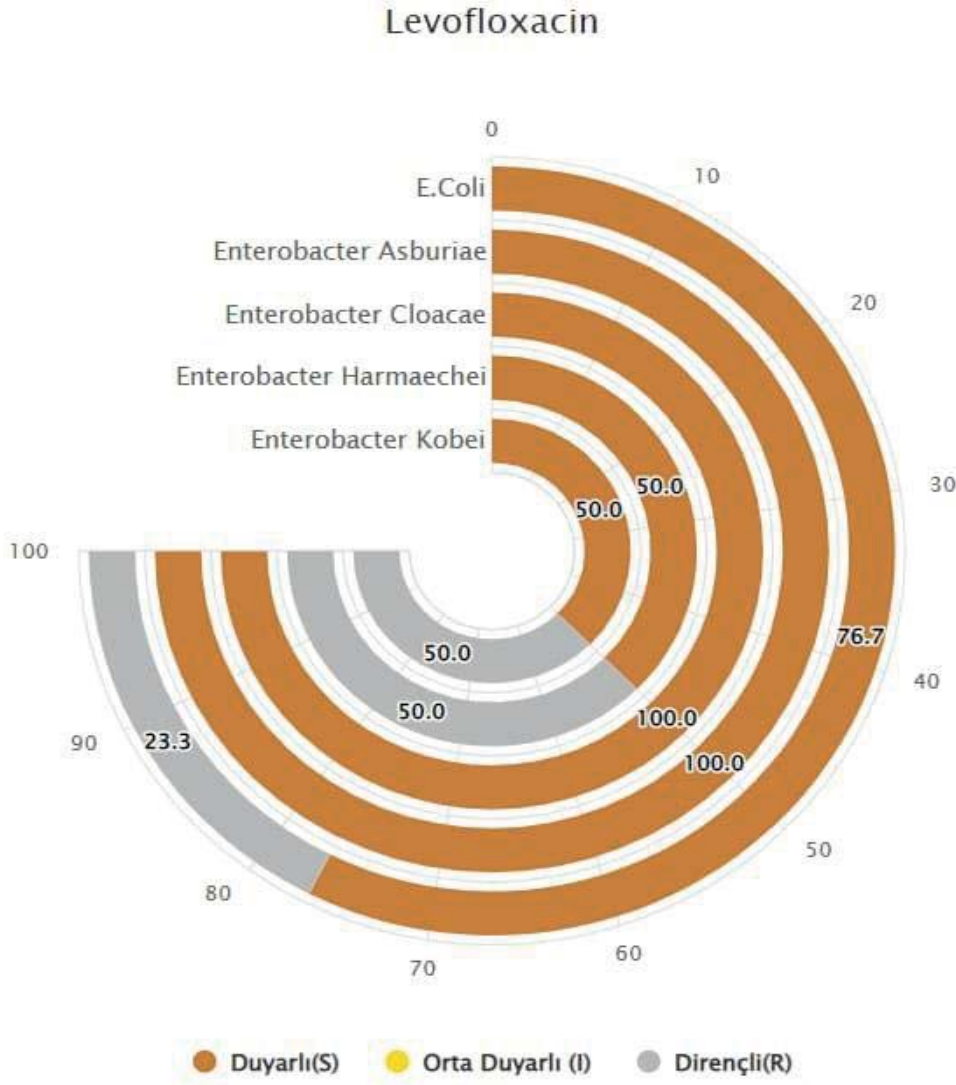
Şekil 3.30. *Enterobacteria* familyasındaki bakterilerin *gentamicin* antibiyotigine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

Piperacillin/tazobactam antibiyotiğine karşı; *E. coli* % 90 duyarlı, *Enterobacter asburiae* % 100 duyarlı, *Enterobacter cloacae* % 100 duyarlı, *Enterobacter harmaechei* % 100 duyarlı, *Enterobacter kobei*' nin ise % 100 duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.31.)



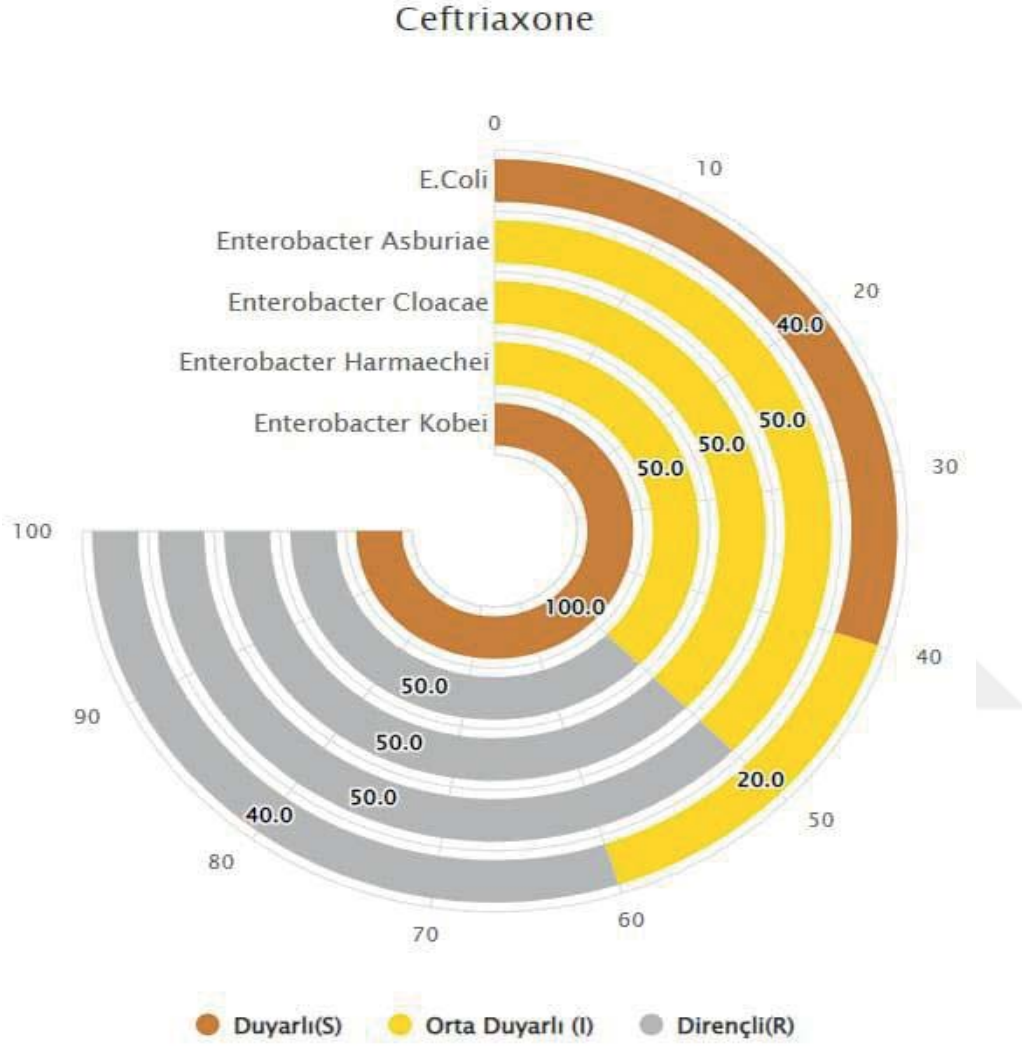
Şekil 3.31. *Enterobacteria* ailesindeki bakterilerin *piperacillin/tazobactam* antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

Levofloxacin antibiyotiğine karşı; *E. coli* % 76.7 duyarlı, *Enterobacter asburiae* % 100 duyarlı, *Enterobacter cloacae* % 100 duyarlı, *Enterobacter harmaechei* % 50 duyarlı, *Enterobacter kobei*' nin ise % 50 duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.32.)



Şekil 3.32. *Enterobacteria* familyasındaki bakterilerin levofloxacin antibiyotiğine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

Ceftriaxone antibiyotigine karşı; *E. coli* % 40 duyarlı, *Enterobacter asburiae* % 50 orta duyarlı, *Enterobacter cloacae* % 50 orta duyarlı, *Enterobacter harmaechei* % 50 orta duyarlı, *Enterobacter kobei* 'nin ise % 100 duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.33.)



Şekil 3.33 *Enterobacteria* familyasındaki bakterilerin *ceftriaxone* antibiyotigine karşı gösterdikleri duyarlılık durumları

3.2. Tartışma

Tunceli ili Mazgirt, Çemişgezek, Ovacık, Pertek ilçelerinde beton havuz ve ağ kafes üretim metoduna sahip gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan numunelerden izole edilen bakterilerin identifikasyonunda metodolojiye bakıldığında, Ferreira ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, enterobacteria için tür seviyesinde % 89.6, cins seviyesinde ise % 97.9 oranında doğru tiplendirme elde edildiğini, *Acinetobacter baumannii*' yi tür seviyesinde % 50, cins seviyesinde % 100 oranında doğru tiplendirildiğini, *E. coli*' yi cins seviyesinde % 100, tür seviyesinde % 96.5 oranında doğru tiplendirildiğini, Klebsiellanın cins düzeyinde % 100 oranında doğru tiplendirildiğini, *Pseudomonas aeruginosa*'nın cins seviyesinde % 100, tür seviyesinde % 87.5, Salmonellanın tür ve cins seviyesinde % 100 oranında tiplendirildiğini tespit ederek rapor etmişlerdir (Ferreira ve ark., 2010). Schubert ve arkadaşları, 500 pozitif kan kültürünü MALDI TOF MS yöntemi kullanarak incelemiş, MALDI TOF MS yönteminin bakterileri % 83.6 doğru tiplendirdiğini rapor etmişlerdir. Frederic ve arkadaşları yaptıkları çalışmaları esnasında birbirinden farklı iki ticari kit ile tiplendirme yaptıklarını, ikisinde de MALDI TOF MS analizinin minimum düzeyde hata verdiğini, çalışma prensibinin oldukça basit ve maliyetin düşük olduğunu ve 127 kan kültüründe gram (-) bakterilerin daha yüksek oranda pozitif sonuç vererek tiplendirme özelliğine sahip olduklarını rapor etmişlerdir (Frederic ve ark., 2015). Ülkemizde gerçekleştirilen çalışmalar incelendiğinde; Tan ve arkadaşları çalışma süresince 952 izolatu (824 bakteri izolatu ve 128 maya izolatu) MALDI TOF analiziyle tiplendirdiklerini ve MALDI-TOF MS analizinin sonucunda doğruluğunun % 98.3 tespit ettiklerini, MALDI TOF protokolünün tiplendirme maliyetini sunmak amacıyla biyokimyasal, immünolojik ve genotipik testlerin birbirleriyle karşılaştırdıklarını ve MALDI protokolünün bakteriler, mayalar için birinci sırada tiplendirme yöntemi olduğunu rapor etmişlerdir (Tan ve ark., 2018). Tahir ve arkadaşları, *Aedes aegypti* sivrisineklerinde filarya tespiti amacıyla MALDI-TOF MS analiziyle yaptıkları çalışmalarda 4 ile 6 günlük 534 dişi sivrisinekle çalıştıklarını, referans yöntem olarak MALDI-TOF MS sonuçlarının PZR ile karşılaştırıldığını, MALDI-TOF MS sisteminin 16 S moleküler sekans tiplendirme teknikleriyle aynı, daha iyi doğrulukta, maliyeti düşük ve hızlı bir analiz olarak tespit ettiklerini rapor etmişlerdir (Tahir ve ark., 2019).

Bu çalışmada, Tunceli ili ve ilçelerinde ağ kafes ve beton havuz üretim metodlarıyla Gökkuşluğu Alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan 200 adet Gökkuşluğu Alabalığının bakteri izolasyonu konvansiyonel yöntemlerle yapıldı. Özellikle enterobacteria ailesinin tür düzeyinde tiplendirilmesi MALDI-TOF MS tekniğiyle % 99.9 güven aralığında tespit edildi. Bakteri identifikasyonu için kullanılan MALDI-TOF MS analizi son yıllarda bakteri tiplendirmesi açısından önemli bir yer edinmiştir. Öyle ki şüpheye mahal vermeden tür ve cins düzeyinde tanımlama yapılabilmektedir. Ayrıca çalışmamızda da, enterobacter familyasına ait bakteri türleri tanımlamasında % 99.9 doğruluk değeri oranında tespit edilmiş olmasına rağmen sadece 3 şüpheli izolatin tür düzeyinde tanımlaması yapılamadığı gözlemlendi. Tür düzeyinde tanımlamanın kesinleşebilmesi amacıyla MALDI-TOF MS tekniği yanında türler arasında tanımlamada başka yöntemler olan 16S rDNA ve gyrB dizi analizi kullanılması önerilmektedir. Çalışmamızda 3 şüpheli izolat için bu yöntemlerden 16S rDNA dizi analizi gerekli görülmüş fakat şüpheli izolatlar enterobacteria ailesinden olmadığı için 16S rDNA dizi analizi yapılmasına gerek duyulmamıştır. Çalışmamızda MALDI-TOF MS tekniğiyle Enterobacter familyasından; Providencia Stuartii, Providencia Rettgeri, Plesiamonas Shigellaeias, Morganella Morgani, Klebsiella Oxytoca, Klebsiella Aerogenes, Enterococcus Faecalis, Citrobacter Freundii, Citrobacter Werkmanii, E Coli, Enterobacter Kobei olarak tespit edilmekle birlikte Enterobacter ailesinden olan salmonella spp. tespit edilemedi. Vibrionacea familyasından; Aeromonas Sobria Aeromonas Veroni Aeromonas hdrophyla tespit edilmiştir. Pseudomonadaceae familyasından Stenotrophomonas Maltophila tespit edilmiştir. MALDI-TOF MS analizi tür ve cins düzeyinde bakteri identifikasyonunda oldukça güvenilir bir yöntem olmasına rağmen bazı durumlarda tanımlama değer aralıkları düşük sonuçlar vermekte ve bir izolat üzerinde farklı tanımlamaları aynı anda sunarak bakteri tanımlamasında şüpheli durumlara yol açmaktadır. Bununla birlikte MALDI-TOF MS analizi enterobacter ailesi dışında bakteri tiplendirmesinde yüksek oranda sonuçlar vermeyebilir. Bu nedenle yapılacak çalışmalarda bakteri identifikasyonu doğruluk değerlerini yükseltmek amacıyla değişik tekniklerin MALDI-TOF MS ile beraber kullanılması, daha kesin ve hassas veriler sunmak amacıyla da ileri moleküler tanımlama yöntemlerinin kullanılmasının fayda sağlayacağını düşünmekteyiz. 16S rDNA bakteriyel filogeni ve taksonomide önemli rol oynadığından 16S rDNA dizi analizinin yapılmasını uygun görmekteyiz. Türler arasındaki benzerliklerin kesin sonuca varılabilmesi için bir diğer moleküler yöntem olan gyrB gen dizi analizi

yöntemi kullanılmasını, kompleks olarak tanımlanan suşlar *gyrB* dizi analizi ile tanımlanarak kompleks içinde yer alan türlerin tespitinin yapılması açısından *gyrB* dizi analizinin yapılmasını uygun olacağını düşünmekteyiz.

Aylara ve ilçelere göre bakteri üremesine bakıldığında yapılan uluslararası ve ulusal çalışmalarda; Savvidis ve arkadaşları Yunanistan da 2003-2006 yılları arasında Eylül ayında yüksek su sıcaklıklarında *L. garvieae* enfeksiyonlarını tespit ederek rapor etmişlerdir (Savvidis ve ark., 2007). Erganiş çalışmalarında Haziran 2002-Ağustos 2004 tarihleri arasında incelemiş olduğu 180 adet gökkuşağı alabalığında *L. garvieae*'yi izole ve tanımladığını tespit ederek bildirmiştir (Erganiş, 2008). Kaşgar çalışmasında 1991-1992 yıllarında İstanbul boğazından alınan deniz suyu örneklerinde fekal koliform bakterileri incelemiş ve fekal koliform sayılarını aralık ayında düşük, temmuz ayında yüksek bulunduğunu rapor etmiştir (Kaşgar, 1992). Altun ve arkadaşları ülkemizin orta batı bölgesindeki altı farklı balık çiftliğinde sonbaharda genç ve ergin gökkuşağı alabalıklarından *L. garvieae*'yi izole ettiklerini ve bunun nedeni olarak su sıcaklığının 17 °C ve üzerinde olduğunu tespit ederek bildirmişlerdir (Altun ve ark., 2010).

Çalışmamız da; **Haziran ayı** bakteri identifikasyonu; 500 adet ile en fazla Pertek ilçesinde, en fazla bakteri identifikasyonu 31 adet ile Aeromonas Sobria, **Temmuz ayı** bakteri identifikasyonu; en fazla 91 adet ile ovacık ilçesinde, en fazla identifikasyon gerçekleştirilen bakteri Aeromonas Sobria, **Aralık ayında ise** bakteri identifikasyonunda ise; 118 adet ile en fazla Ovacık ilçesinde, en fazla identifikasyonu gerçekleştirilen bakteri 40 adet ile Stenotrophomonas Maltophilia olduğu tespit edilmiştir. Aralık ayında en fazla bulunan *Stenotrophomonas Maltophilia* hastanede, özellikle de yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda ciddi hastane enfeksiyonlarına yol açan fırsatçı bir patojendir. Yapılan literatür taraması sonucunda *Stenotrophomonas Maltophilia'nın* üreme ve yaşam optimum sıcaklığı minimum 24 °C ve maksimum 37°C arasında olduğu görülmüştür. Çalışmamızda Stenotrophomonas Maltophilia bakterisinin kış ayında görülmesi göze çarpıcı bir bulgudur. Stenotrophomonas Maltophilia'nın aralık ayında en fazla görülmesi bize su sıcaklığının yüksek olduğu kanısına varmamıza sebep olmuştur. Bu duruma yönelik yapılan literatür taraması sonucunda; çalışmanın yapıldığı inceleme alanı içerisinde sıcak ve mineralli suların karıştığı en önemli yüzey suyu Peri Çayı'dır. Çalışma alanının doğusunda Ohi Çayı suyunun Peri Çayı'na karışımı, Peri Çayı'nın su miktarını artmasına sebep olmaktadır. Peri Çayı akım yönü boyunca akarsu yatağının sağ ve sol sahilinde gözlenen traverten oluşumları, sıcak ve mineralli suların gerek akarsu yatağı

çevresinden ve gerekse akarsu yatağı tabanından Peri Çayı suyuna karıştığını göstermektedir. Yapılan bir çalışmada, Peri ve Ohi Çay sularının Mayıs ayı sıcaklık ortalamaları 16.11 °C ve Eylül ayı ortalamaları ise 18.6 °C olarak hesaplanmıştır (Öztek in ve ark., 2019). Dedebağ sıcak ve mineralli su kaynakları, Tunceli ilinin Mazgirt İlçesi Dedebağ (Bağın) Köyü sınırları içerisinde yer almaktadır. Belirtilen sıcak su kaynakları kış aylarında su sıcaklığının artmasına sebep olmakla kalmamış ve üreme koşullarının kış mevsim şartlarına uygun olmayan *Stenotrophomonas Maltophilia* gibi diğer bakterilerinde üreme ortamı oluşturmasına yol açabileceğini bizlere düşündürmektedir.

Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık, Mazgirt ilçelerinden alınan balık numunelerindeki bağırsak, deri ve solungaç kısımlarında bakterilerin yayılım göstermesine bakıldığında uluslararası ve ulusal çalışmalarda; Ringø isimli araştırmacının yaptığı bir çalışmada, Enterokokus ve Streptokokus cinslerini de ihtiva eden laktik asit bakterilerinin balıkların özellikle bağırsaklarından izole edilebileceğini, ancak bu bakterilerin diğer iç organlardan da izolasyonunun gerçekleştirilebileceğini tespit ederek rapor etmiştir (Ringø, 1998). Moore ve arkadaşları'nın kesimhanelerden temin ettikleri tavuklarad yaptığı bir çalışmada bu izolatlardan % 78'i *C. jejuni* % 20'si *C. coli* ve % 2'si de *C. lari* olmak üzere % 92 oranında termofilik *Campylobacter* türlerinin, tavuk derisinde yayılım gösterdiğini rapor etmişlerdir (Moore ve ark., 2020). Svobodová ve arkadaşları'nın 2005-2006 yıllarında yaptıkları araştırmalarında yirmi üç işletmeden aldıkları 609 tavuk bağırsak ve karaciğerlerinden 112 adet örneğin *Clostridium perfringens* olduğunu saptamış ve rapor etmişlerdir (Svobodová ve ark., 2007). Arslan ve arkadaşları'nın Elazığ ilinde yapmış olduğu bir çalışmada tavuk kesimhanesinden alınan tavuk gövde kısımları (but, boyun, kanat ve göğüs) ile karkas yıkama suyu örneklerinde yaptıkları araştırmalarında; but örneklerinin 2 adedinde *Listeria monocytogenes*, 7 adedinde *Listeria innocua*, 4 adedinde *Listeria welshimeri*; kanat örneklerinin 1 adedinde *Listeria monocytogenes*, 3 adedinde *Listeria innocua*, 5 adedinde *Listeria welshimeri*; göğüs örneklerinin 3 adedinde *Listeria innocua*; boyun örneklerinin 3 adedinde *Listeria monocytogenes*, 2 adedinde *Listeria innocua*; alınan yıkama suyu örneklerinin 2 adedinde *Listeria monocytogenes*, 5 adedinde *Listeria innocua* ve 4 adedinde *Listeria welshimeri* saptamış ve rapor etmişlerdir (Arslan ve ark., 2019). Kalın ve arkadaşları'nın yaptıkları bir çalışmada 1000 adet tavuk karaciğer örneğinde % 0,1 oranında *Escherichia coli* O157 serotipi belirlemiş ve rapor etmişlerdir (Kalın ve ark., 2018). Keban Baraj Gölü'nün Koçkale bölgesinde önceki yıllarda balıklar üzerinde yapılan çalışmalarda, bağırsakta

Salmonella izole edildiği rapor edilmiştir. (Muz ve diğ., 1995; Ertaş ve diğ., 1999). Patır ve arkadaşları, Keban Baraj Gölü'nün Ağın yöresinden avlanan tatlı su ıstakozlarının (*Astacus leptodactylus*) mikrobiyal florasını inceledikleri araştırmada *Enterococcus spp.*'yi izole ettiklerini bildirmişlerdir (Patır ve ark., 2002) .

Çalışmamızda ise; Gökkuşuğu alabalıklarının bağırsak, deri ve solungaç kısımlarından dokularından alınan numuneler detaylı olarak incelendiğinde; *A. sobria*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Hafnia alvei*, *E. coli*, *A.veronii* sırasıyla en fazla izole edilen bakterilerdir. *Enterococcus faecium*, *Bacillus cereus* grup, *Acinobacter baumannii*, *Acinobacter lwoffii*, *Klebsiella aerogenes*, *Lactococcus garvieae*, *Macroccoccus caseolyticus*, *Pseudomonas putida*, *Staphylococcus epidermidis*, *Yersinia ruckeri*, *Obesumbacterium proteus*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter werkmanii*, *Providencia rettgeri*, *Acinobacter radioresistent* türleri fazla görülen bakteri türleri olarak izole edildi. Yapılan bu çalışmayla tatlı su balıklarının bakteriyel florasının yaşadıkları sucul ekosistemin mikroflorasını taşıması yanısıra farklı balık üretimi yapan işletmelerde varlık gösteren balıklar arasında da cins ve tür düzeyinde farklılıkların olması ayrıca aynı türe ait bakteriyel floranın da değişebileceği görülmüş olup sağladığımız verilerin yapılan diğer çalışmalarla benzer olduğu görülmektedir.

Bu çalışmada en fazla bakteri üremesi; Mazgirtte bağırsakta, Çemişgezek ve Ovacık ilçelerinde solungaçlarda, Mazgirt ve Pertek ilçelerinde ise derilerde tespit edilmiştir. Bu durum Tunceli'de, kaynağını Ovacık ilçesindeki Gözeler'den alıp, adını verdiği vadi boyunca akan Munzur Çayı ile kent merkezinde ona eklenen Pülümür Çayı, kenarlarında kurulan özel işletmelerin kanalizasyon ve atık suları munzura karışmaktadır. Ayrıca vadi boyunca yapılaşma da evsel atıkların Munzur'a karışmasına neden olmaktadır. Munzur çayının bu denli kirletilmesi sonucunda munzurda varlık gösteren su ürünlerini de derinden etkilemektedir. Çalışmamızda tespit ettiğimiz Çemişgezek-Ovacık ilçelerinde bakteri identifikasyonun en fazla olduğu organın solungaç ve Mazgirt-Pertek ilçelerinde ise deri olması ayrıca bağırsak, deri ve solungaçlarda en fazla tespit edilen bakterinin *Aeromonas Sobria* olması ve *Aeromonas Sobria*'nın etkenler tuz oranı yüksek sular dışında tüm sularda özellikle organik madde oranı yüksek kirli sularda her zaman buldukları göz önüne alındığında bu tespitlerin su kirliliği kaynaklı olduğunu bize düşündürmektedir. Ayrıca, balıkların mikroflorasında normal olarak bağırsakda bulunan bakterilerin diğer organlarda yerleşimi ile ilgili su ürünleri alanında yapılan çalışmalarda yok denecek kadar az bilgi bulunduğundan çalışmamızda tespit edilen bakterilerin lokasyonlarının;

konvansiyonel yöntemle ekimi yapılan petri kaplarında inkübe olan bakteri kolonilerinin petri kabında bakteri sayım miktarları değerlendirildiğinde; 70.000 ile 100000 cfu/ml aralığında tespit edildikere *E.coli* ve diğere bakteri türlerinin patojen etken olarak balıkların deri, bağırsak ve solungaç kısımlarında yayılım gösterdikleri; bakteriler yerleştikleri organ ve dokularda hastalık oluşturarak makroskopik değışikler oluşturabileceğinden, yerleştikleri organda hastalık etkeni olarak bulduklarını bize düşündürmektedir. Suyun genel mikroflorasına bakıldığında; sularda bulunan patojenler; çevresel patojenler ve enterik patojenler olarak 2 grupta incelenirler. *Legionella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Nagleria fowleri* gibi çevresel patojenler sürekli bu ortamlarda yaşayan, konak organizmaya ihtiyaç duymadan düşük besin ortamında çoğalabilen mikroorganizmalardır. Enterik patojenler ise genellikle enfekte konakların bağırsak sistemlerinde çoğalarak ve suya fekal kontaminasyon yoluyla girmektedirler. Enterik patojenlere örnek olarak *salmonella spp.* ve enterovirüsler verilebilir. Yaptığımız çalışmada *salmonella spp.* tespit edilememesine rağmen 8 farklı familya ait bakterileri türlerinin tespit edilmesi ve bu bakterilerin genellikle bağırsaklarda görülmesi çalışma yaptığımız beton havuz ve ağ kafeslerdeki sularda fekal kontaminasyonun olabileceğini bizlere düşündürmektedir. Yine numune temin edilen Ovacık, Pertek, Çemişgezek, Mazgirt ilçelerinde ağ kafes ve beton havuzlarda gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğı yapılan tesislerin kuluçka üretim üniteleri olmadığı için başka tesislerden yavru gökkuşağı alabalığı nakilleri gerçekleştirilerek gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğı yapılmaktadır. Kuluçka üretim üniteleri taşınması esnasında bakteri kontaminasyonu olmaması açısından ünitelerin steril koşullarda taşınması önem arz etmektedir. Bu ünitelerin nakillerinde dezanfekte edilmiş alet, ekipman ve taşıma araçları kullanılmaması, alabalık kuluçka üretim ünitelerinin olduğu tesislerde düzenli bir şekilde el hijyeninin sağlanması için tesislerin giriş kısımlarında el yıkama lavabolarının bulunmaması, çalışan personelin giyinme ve soyunma odaları için ayrı bir bölme bulundurulmaması, tesislerde havalandırmanın düzenli yapılmaması, ağ kafeslerde alabalık yetiştiriciliğinde belirli aralıklarla ağların temizliğinin yapılmaması, kirlenmiş hijyenik olmayan ağ ortamlarında çeşitli bakterilerin üremesi ve hastalıkların ortaya çıkması, doğrudan veya dolaylı olarak balık veya balık ürünleriyle temas eden bütün personelin gerekli yerlerde koruyucu kıyafetler, bone ve çizme giymemeleri faktörlerinden dolayı bakteri kontaminasyonu olduğunu çalışmamızda tespit ettiğimiz bakterilerin yavru balıkların taşıdıkları bakteri floraları ile bu bakteri türlerinin bağırsak, deri ve solungaç kısımlarından izole edilmesinin bakteriyel translokasyonla immün sistemin zayıfladığı

durumlarda bakterilerin balıkların derilerinde bulunan ve bir bariyer görevi gören mukoid tabakadaki mukoza duvarını aşarak translokasyonla bu organlara yerleştiği düşünülmektedir. Normal bir balığın mikroflorası incelendiğinde; balıkların üzerini örten kaygan tabakada Acinetobacter, Flavobacterium, Pseudomonas, E. Coli Micrococcus, Serratia, Bacillus ve Vibrio cinsi bakterileri bünyelerinde barındırır. Genellikle bakterilerin balıklara girişi ve vücutta ilerlemesi solungaç, uzun damar sistemi ve özellikle kuyruğa yakın damarlarla olmaktadır. Balığa giren bakteriler birkaç gün içinde böbreğin her tarafına, karın çeperlerine, vücut boşluklarına, ete ve derinin her tarafına yayılır. Yapılan literatür araştırmalarında bölgede balıklarda bakteri tanımlama ve bakteri sayım çalışmalarının yetersiz olması bu yönde çalışmaların yapılmasının gerekliliğinin oluştuğunu göstermektedir. Tüm bu veriler ışığında yapılan bu çalışmada bakterilerin gökkuşağı alabalıklarının solungaç ve derilerinde 100.000 cfu/ml üzerinde bakteri kolonisinin varlık göstermesi bu bakterilerin patojen olduğunu bizlere göstermekte ve bu bakterilerin kuluçka üretim ünitelerine sahip olmayan tesislerden alınan numunelerde görülmesi kuluçka üretim ünitelerinin taşınması esnasında hijyen kurallarına uyulmadığını ve bu konuda yeterli literatür bilgisi olmadığından mevcut literatürler tarandığında tespit edilen bakterilerin normal bir balık florasında bağırsaklarda bulunmasının beklenen bir sonuç olduğu fakat çalışmamızda gökkuşağı alabalıklarının bağırsak dışındaki deri ve solungaç kısımlarında da tespit edilmesi organlar arasında bu bakterilerin translokasyona uğradığını ve bakteri kontaminasyonun oluşturabileceğini bizlere düşündürmektedir.

Ovacık, Pertek, Mazgirt ve Çemişgezek ilçelerinden alınan su numunelerinin analizinde bakteri üremesine bakıldığında uluslararası ve ulusal çalışmalarda; Marisol ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, nehir sularında 110 Enterobacteriaceae ve 118 adet Aeromonas izolat tespit ettiklerini rapor etmişlerdir (Marisol ve ark., 2000). Mudryk ve arkadaşları Baltık Denizi'nin güney kıyılarında yapmış oldukları çalışmada deniz suyundan enterobacteria ailesine üye 49 izolat tespit ederek rapor etmişlerdir (Mudryk ve ark., 2010). Akkan İskenderun Körfezi deniz suyundan 3 farklı bölgeden izole ettiği 356 gram negatif bakteri tespit ederek rapor etmiştir (Akkan, 2009). Matyar ve arkadaşları akdenizden 158 adet Enterococcus faecalis bakterisi izole ettiklerini bildirmişlerdir (Matyar ve ark., 2010). Kaçar, yapmış olduğu çalışmada Ege Denizi'ne dökülen bazı akarsularda koliform bakteri kirliliğini araştırmış ve bahar mevsimlerinde bakteri sayısını 5×10^6 kob/100 ml olarak saymış ve koliform bakteri sayısının en fazla $1,3 \times 10^6$ kob/100 ml olduğunu rapor etmişlerdir (Kaçar, 2011). Hacıoğlu ve Dulger, Çanakkale'de Sarıçay Deresi'nde yapmış oldukları çalışmada, dere suyunun toplam koliform ve fekal koliform sayılarının 46461 ve 33103 EMS/100 ml olduğunu tespit etmiş ayrıca Çanakkale Biga Nehri'nde yapmış oldukları

çalışmada toplam ve fekal koliform sayılarını sırasıyla 39381 ve 42500 EMS/100 ml olarak dere suyunun 4. sınıf su kalitesine sahip olduğunu rapor etmişlerdir (Hacıoğlu ve Dulger, 2009). Özer ve arkadaşları'nın Mersin ilinde bulunan 58 Gökkuşuğu alabalığı kuluçkahanelerinde yaptıkları çalışmada *Sphingomonas* cinsine ait olan *S. paucimobilis* bakterisini işletmedeki sudan izole ettiklerini rapor etmişlerdir (Özer ve ark., 2008). Elazığ şehir kanalizasyonunun fiziksel yöntemlerle arıtılarak verildiği Haringet Çayı'nın Keban Baraj Gölü'ne döküldüğü bölgeden yakalanan balıklarda, bir kirlilik indikatörü olan *Streptococcus faecalis* bakterisinin az sayıda da olsa izole edildiği bildirilmiştir (Bitton, 2005). Bizim çalışmamızda da Tunceli il merkezindeki evsel atıklar atık su arıtma tesisinde arıtıldıktan sonra alıcı ortam olarak Munzur Suyu'na deşarj edilmesi ve bu sayede bakterilerin üremesi Bitton'un yaptığı çalışmayla benzerlik göstermektedir.

Yapılan bu çalışmada; 6 adet beton havuz ve 10 adet ağ kafes üreme metoduna sahip toplam 16 tesisten alınan su numunelerinin analiz sonuçlarına bakıldığında; Çemişgezek, Pertek, Mazgirt ilçelerinden temin edilen su numunelerinde bakteri üremesi olmadığı sadece Ovacık ilçesindeki 2 adet beton havuz tesisinden alınan su numunelerinde bakteri üremesi tespit edilmiş olup, tespit edilen bakteriler enterobacteria ailesinden; *E.coli*, *Lelliottia amnigena* ve *Raoultella planticola*dır. Ağ kafes ve beton havuzlarda su numunelerinde *E.coli* bakterisinin az ya da fazla miktarda bulunması insan ve hayvan kaynaklı bir kontaminasyonu, fazla miktarda bulunmaları aşırı ve yakın bir zamanda olan kontaminasyonu, az miktarda bulunmaları ise az veya oldukça eski bir kontaminasyonun belirtisi olabilir. Ağ kafeslerde ağların kirlenmesi sonucu ağ açıklıklarının kapanması ve açıklıklardan su geçişinin azalmasıyla oksijen değerinin düşmesi sonucu bakteri oluşumu artmaktadır. Beton havuzlarda, *E. Coli* bakteriside dahil olmak üzere birçok bakteri çeşidinin üremesini klorun engellediğini ve yok ettiğini bilmekteyiz. Ovacık ilçesinde enterobacteria ailesinin varlığı beton havuz üreme metoduyla gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapan bu tesislerde klorü yeteri kadar kullanmadıklarını ya da tespit edilen bakterilerin klora karşı direnç geliştirmiş olabileceğini düşündürmektedir. Tunceli il merkezinde İleri Biyolojik Atıksu Arıtma Tesisi faaliyet göstermektedir. İl merkezindeki evsel nitelikli atık sular 9000 m³/gün kurulu kapasiteli atık su arıtma tesisinde arıtıldıktan sonra alıcı ortam olarak Munzur Suyu'na deşarj edilmektedir. Munzur Nehrinin kaynağı Ovacık sınırları içerisinde Ziyaret Köyü mevkiinde Munzur gözelerinde başlamaktadır. Bu kaynak Ovacık-Tunceli karayolunu takiben akarak ovacık ilçe merkezinden geçmektedir. Ovacık ilçesinde biyolojik atık su arıtma tesisi bulunmadığından insan kaynaklı atıklar

kanalizasyon yoluyla Munzur Nehrine karışmaktadır. Kanalizasyon ve evsel atıkların Munzur nehrine karışmasıyla su parametreleri bozulmakta, sudaki oksijen seviyesi azalmakta ve su sıcaklığı 10 derece üzerine çıkmaktadır. Ovacık ilçesinde Munzur nehrine karışan kanalizasyon atıkları enterobacteria familyasının üremesine sebebiyet vereceğini olduğu ve sucul ekosistemde yaşayan canlıları, başta temiz suyu seven gökkuşağı alabalıklarının olumsuz yönde etkilenmesine sebep olacağını göstergesi olabileceğini düşünmekteyiz.

Tunceli ili Mazgirt, Çemişgezek Ovacık, Pertek ilçelerinden alınan Gökkuşağı alabalığı numunelerinin bağırsak, deri, solungaç kısımlarında enterobacter ailesinin dağılımına bakıldığında uluslararası ve ulusal düzeyde çalışmalarda, Kwon' in yapmış olduğu bir çalışmada Kore'de tavuk örneklerinden toplam 216 *E. coli* suşu tespit ettiklerini rapor etmiştir (Kwon ve ark., 2008). De Carli ve arkadaşları'nın yapmış olduğu çalışmada Brezilya'nın farkı bölgelerinden alınan tavuk ve hindi etinden 138 *E. coli* suşu izole ettiklerini tespit ederek rapor etmişlerdir (De Carli ve ark., 2015). Subedi ve arkadaşları'nın Nepal'in Chitwan ilinde yapmış oldukları çalışmada tavukların derilerinden izole edilen *E. coli* suşlarının varlığını tespit ederek rapor etmişlerdir (Subedi ve ark., 2018). Yılmaz ve arkadaşları'nın 2001-2002 yılları arasında İstanbul'da yapmış oldukları çalışmada tamamen sağlıklı 330 sığırdan rektal svap ile alınan numunelerde % 4,2 (14/330) oranında *E. Coli* tespit ederek rapor etmişlerdir (Yılmaz ve ark., 2002). Elazığ'da sığırlar üzerine yapılan bir araştırmada alınan 540 rektal svap örneklerinin PZR testinde 82 sorbitol negatif *E. coli* izolatın 34'ü *E. coli* O157 yönünden pozitif olduğu rapor edilmiştir (Kalender, 2013). Ege Bölgesi'nde farklı yaş ve cinsiyetteki sağlıklı sığırlar üzerine yapılan bir çalışmada; 150 sığır dışkı numunesinde % 2 (3/150) oranında *E. Coli*'nin serotipi olan O157, % 1,3 (2/150) oranında *E. coli* O157:H7 varlığını tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Çiçek ve Savaşan, 2010). Bu çalışmada Çemişgezek, Tunceli, Ovacık, Pertek ilçelerinden temin edilen Gökkuşağı Alabalığı numunelerinin bağırsak, deri, solungaçlarında enterobacter ailesinin dağılımına bakıldığında; en fazla % 42.50 oranında *E. Coli* olarak tespit edilmiştir. *E. Coli* bakterisi doğada, toprakta, suda, havada geniş bir yayılım alanı içerisinde kendine üreme ortamı bulduğu için yaptığımız çalışmada da organlarda en fazla oranda *E. Coli* tespit edilmesi beklenen bir sonuçtur. Yapılan literatür taraması sonuçlarıyla yapılan bu çalışmada *E.Coli* izolasyon bulguları açısından paralellik göstermektedir.

Çalışmada tespit edilen enterobacteri familyasında Mcr gen varlığı ve kolistin direnci incelendiğinde uluslararası ve ulusal çalışmalarda, Laxminarayan ve arkadaşları'nın 2000-2010 yılları arasında yaptıkları bir istatistiksel analize göre, Brezilya, Çin, Hindistan, Rusya ve Güney Afrika'nın dünyada kolistin kullanımının % 13'ünü oluşturduğunu rapor etmişlerdir (Laxminarayan ve ark., 2016). Shen ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada Çin'de 2011 ile 2015 yılları arasında yılda 2875 metrik ton civarında kolistin tüketimi gerçekleştiğini rapor etmişlerdir (Shen ve ark., 2016). Maron ve arkadaşları'nın 2006 yılında AB'de yapmış oldukları çalışmada, büyümeyi teşvik etmek için hayvanlarda kolistin kullanımının yasaklandığını tespit ederek rapor etmişlerdir (Maron ve ark., 2013). Fransa'da kan kültürleri üzerine Caspar ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) pozitif bir *K. pneumoniae* suşunda mcr-1 genine ulaşılmış ve rapor edilmiştir (Caspar ve ark., 2017). Yeni Kaledonya'da Robin ve arkadaşları'nın çalıştıkları, 48 GSBL pozitif *E. coli* suşunun 2'sinde mcr-1 geni (% 4,2) tespit edilerek rapor etmişlerdir (Robin ve ark., 2016). Finlandiya'da Gröndahl ve arkadaşları ilk defa 2016'da GSBL pozitif 1 *E. coli* suşunda mcr-1 genine rastlamıştır (Gröndahl ve ark., 2018). ABD'de yapılan domuzlar üzerinde yapılan çalışmada domuzlardan izole edilen 2 *E. coli* izolatında mcr-1 geni tespit edilmiştir (Meinersmann, Ladely, Plumlee, Cook ve Thacker, 2017). Doğu Kanada'da MCR-1'in domuzlarda % 40 oranında tespit edildiği rapor edilmiştir (Pilote, Létourneau, Girard ve Duchaine, 2019). Mısır'da Nil deltasında farklı çiftliklerde var olan piliçlerden dışkı örneklerinde *E. coli* izolatlarının % 7,9'unun MCR-1 ihtiva ettiği ve kolistine dirençli olduğu rapor edilmiştir (Moawad ve ark., 2018) Redhwan ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada Ürdün'den alınan hayvan izolatlarında *e. coli* ve *klebsiella mcr-1* barındırdığı tespit edilerek rapor edilmiştir (Redhwan ve ark., 2019). Fransa'da 2018'de Duployez ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada GSBL üreten *E. coli* suşlarında kolistin direnci bulunmazken, *K. pneumoniae* suşlarında direnç % 9.1 rapor edilmiştir (Duployez ve ark., 2019). Hong-Kong'da 2017'de Ip ve arkadaşları'nın çalışmasında GSBL üreten suşların kolistin direnci % 11.2 oranında belirtilmiştir (Ip ve ark., 2017). mcr-1 proteini ilk defa 2015'de *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında tiplendirilmiş ve 2016'da mcr-2 proteini ortaya konulmuştur. Plazmit aracılı direnç mekanizmaları, yatay gen transferiyle hızlıca türler arasında artış gözlenmesi ve salgın potansiyeli ihtiva etmesinden ötürü, klinik ve epidemiyolojik olarak önem taşımaktadır (Sarı ve ark, 2017). Türkiyede ilk defa 2018'de mcr-1 geni taşıyan *E. coli* suşu rapor edilmiştir (Kurekci ve ark., 2018). Yapılan

araştırmalar sonucunda, Ayrıca, 2017 den sonra kolistin direnci Türkiye de giderek artma eğiliminde olduğu ve 2018 yılı itibariyle de kolistin direnci Türkiyede artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Türkiyede 2017’de gerçekleştirilen çok merkezli bir çalışmada, mcr-1 veya mcr-2 gen bölgesi tespit edilmemesine rağmen, ilk kez 2018 yılında mcr-1 geni taşıyan E. coli suşu izole edildiği rapor edilmiştir (Sarı ve ark, 2017 Kurekci ve ark., 2018). Bilal ve arkadaşları 2021’de, ineklerde GSBL pozitif 129 izolatın 30 (%25)’unda bla_{oxa}-48 ile 4 izolatta mcr-1 genin varlığını ortaya koyarak rapor etmişlerdir (Bilal ve ark. 2021). Türkiyede sığır ve koyunlardan izole edilmiş E. coli izolatlarında mcr-2 ve mcr-3 genleri rapor edilmiştir (Ayaz ve ark., 2019). Sarı ve arkadaşları ise; 2017’de sundukları çalışmada 22 merkeze ait 329 Enterobacterales izolatında mcr-1 ve mcr-2 gen varlığını PZR yöntemiyle çalışmış fakat çalışmaya katılan izolatların hiçbirinde aranan gen bölgesi tespit edilememiştir (Sarı ve ark., 2017). Sarı ve ark., çalışmasından elde ettiği veriler ile bizim bulgularımızla paralellik göstermektedir.

Bu çalışmada mcr1-mcr9’a kadar gen varlığı araştırılmış olup mcr gen varlığı tespit edilememiştir. mcr gen varlığını teyit amaçlı colistin mik çalışılarak mik değerinin 2’nin altında olması sebebiyle mcr gen varlığına rastlanılmamıştır. Ayrıca enterobacteria familyasının kolistine karşı duyarlı olduğu tespit edilmesi ve mcr gen varlığına rastlanılmaması çalışmada tespit edilen colistin mik sonuçları multipleks PZR analiz bulgularını desteklemektedir. Yapılan literatür taramasında Enterobacteria ailesinde sıklıkla mcr-1 ve mcr-3 geni bulunmuş, mcr-2, mcr-4, mcr-5, mcr-6, mcr-7, mcr-8 ve mcr-9 geninin saptanmasının oldukça zor olduğu rapor edilmiştir. Çalışmamız; mcr-1’ den mcr-9’a kadar gen varlığının araştırılması asındanda bir ilk olma özelliği taşımaktadır. Yapılan literatür taramasında ülkemizde balıklarda plazmid aracılı kolistin direncine neden olan *mcr* geninin var olup olmadığını ortaya koyan bilimsel bir veri bulunmaması yönüyle de yapılan bu çalışma bir ilk olma özelliğine sahiptir.

Çalışmada tespit edilen enterobacteria familyasındaki bakterilerin antimikrobiyal duyarlılık durumlarına bakıldığında uluslararası ve ulusal çalışmalarda; Fransa’da 2018’de Duployez ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada GSBL üreten E. coli suşlarında kolistin direnci bulunmazken, *K. pneumoniae* suşlarında direnç % 9.1 rapor edilmiştir (Duployez ve ark., 2019). Hong-Kong’da 2017’de Ip ve arkadaşları’nın çalışmasında GSBL üreten suşların % 11.2 oranında kolistin direncinin olduğunu rapor etmişlerdir (Ip M ve ark., 2017). Sharifi Yazdi ve arkadaşları’nın çalışmalarında, *L. garvieae* suşlarının antibiyogram test sonuçlarına göre eritromisin, enrofloksasin ve

kloramfenikole oldukça duyarlı olduğunu bildirmiştir (Sharifi Yazdi ve ark., 2010). Millar ve arkadaşları çalışmalarında en az 2 antibiyotiğe dirençli olanların frekansını % 27 olduğunu belirtmiştir (Millar ve ark., 2008). Bangladeş'te kanatlıların bağırsaklarından izole edilen Salmonella kolistin için fenotipik direnci % 48,5 seviyesinde olduğunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Islam ve ark., 2020). Nijerya'da kanatlıların derilerinden izole edilen Salmonella izolatlarındaki fenotipik direncinin % 11,7 seviyesinde olduğu gözlemlenmiştir (Ngbede ve ark., 2020). Uzakdoğu ülkelerinden biri olan Tayland'da kanatlıların derilerinden izolasyonu sağlanmış Salmonella suşlarında kolistine fenotipik direnç % 12,6 seviyesinde olduğu gözlemlenmiştir (Sakdinun, Sriwongsa ve Wongmuk, 2018). Mudryk ve arkadaşları'nın Baltık Denizi'nin güney kıyılarındaki çalışmasında deniz suyundan elde edilen 49 izolatın 19'unun test edilen tüm antibiyotiklere karşı hassas olduğunu, geriye kalan 30 izolatın da en az 1 antibiyotiğe karşı dirençli olduğu bildirilmiştir (Mudryk ve ark., 2010). Matyar ve arkadaşları, Seyhan Barajı Gölü ve Seyhan Nehri'nden izole ettikleri 286 gram negatif bakteride ampisilin (% 80.2), streptomisin (% 71.6) ve sefazoline (% 60.4) karşı yüksek direnç gösterdiklerini rapor etmişlerdir (Matyar ve ark., 2014). Matyar ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışma ampisillin antibiyotiğinin yüksek oranda dirençlilik göstermesi yönüyle çalışmamızdan elde edilen bulgularla benzerlik göstermektedir. Lee ve arkadaşları Malezya'daki çalışmalarında tatlı su kaynaklarından izole ettikleri bakterilerin, Tetracycline (TE), Erythromycin (E), Nalidik asit (NA) ve Ampicillin (AM) antibiyotiklerine karşı sırasıyla % 78.4, % 53.8, % 57 ve % 65.4 oranında dirençli olduklarını bildirmişlerdir. Ayrıca, izolatlar arasında çoklu antibiyotik dirençlilik (ÇAD) değerlerine referans değer olan 0.2'den daha yüksek çok sayıda izolat olduğunu bildirmişlerdir (Lee SW., 2009). Jiang ve arkadaşları Çin'in Guangzhou şehrindeki balık marketlerinde satışı sunulan balıkların deri ve solungaçlarından izole ettikleri E. coli izolatlarında plazmid kaynaklı kinolon direnç genleri tespit ettiklerini ve Beta-laktamaz enzimi içeren bakteri izolatlarında 218 tane E. coli tespit ettiklerini bildirmişlerdir. İzolasyonu gerçekleşen bakterilerin ampisillin ile siprofloksasin antibiyotiğine karşı duyarlılık gösterdiğini rapor etmişlerdir (Jiang ve ark., 2012). Jiang ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada siprofloksasin antibiyotiğine karşı duyarlılık tespit edilmesi çalışmamızdaki bulgularla paralellik göstermektedir. Kurtoğlu ve Korun Fethiye bölgesindeki bazı alabalık işletmelerinde laktokokkozis belirtisi gösteren yavru balıklarda *L. garvieae* suşlarını tanımlamıştır. Araştırmacılar izole ettikleri *L. garvieae* suşlarının ampisilin, eritromisin, kloramfenikol, sülfametoksazol, oksitetrasiklin

ve trimetoprime duyarlı olduklarını, suşların basitrasinin, flumekuini, furazolidon, kanamisin, nalidiksik asit, oksalinik asit ve streptomisine ise dirençli olduğunu bildirmiştir (Kurtoğlu ve Korun, 2018). Dinç ve arkadaşları E.coli suşlarındaki yapmış oldukları çalışmada suşların % 75'inin en az 1, % 54.3'ünün en az 2 yada daha fazla antibiyotiğe dirençli olduğunu rapor etmişlerdir (Dinç ve ark., 2012). bizim çalışmamızdaki antibiyotik dirençlilik durumları Dinç ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmayla tutarlılık göstermektedir.. Ülkemizde gıda zehirlenmesi yaşayan insanlardan alınan kan örnekleri üzerinde yapılan bir çalışmada kan örneklerinden izole edilen *Salmonella* spp.'nin kolistine karşı fenotipik direnç seviyesi % 44,1 olarak tespit edildiğini rapor etmişlerdir (Kızıl, 2020). Kara midyesi (*Mytilus galloprovincialis*) ve deniz salyangozlarından (*Rapana venosa*) izole edilen *E. coli*'nin, antimikrobiyal direnç profillerinin ortaya konulduğu bir çalışma yapılmış ve sulfametoksazol antibiyotiğine karşı % 83 oranında yüksek bir direnç gösterdiği kaydedilmiş, en düşük dirençlilik ise florfenikol antibiyotiğine karşı % 1,9 oranı ortaya konulduğunu rapor etmişlerdir (Terzi, 2018a). Kara midyesi ve salyangozlar üzerine yapılan bu çalışma sulfametoksazol antibiyotiğine karşı direnç profillerinin ortaya koyulması ve bizim çalışmamızda *E.coli*'nin sulfametoksazol antibiyotiğine karşı yüksek duyarlılık göstermesi açısından farklıdır. Üreticiliği yapılan mersin balıklarından (*Acipenser gueldenstaedti*, *A. baeri*) izole edilen 37 farklı suş üzerinde yapılan antimikrobiyal direnç taramalarında ise, en yüksek direncin sulfametoksazol ve ampisiline (% 97,3) antibiyotiklerine karşı olduğu bildirilmiştir (Terzi, 2018b). Yaptığımız çalışmada da en yüksek dirençlilik ampisiline karşı olduğundan bu çalışma bizim çalışmamızla benzerdir. Sazan balıklarının solungaçlarından izolasyonu sağlanan *A. hydrophila* suşlarının ampisiline karşı dirençli olduğunu Öztürk ve arkadaşları bildirmişlerdir (Öztürk ve ark., 2007). Altun ve arkadaşları Gökkuşuğu alabalıklarından izolasyon sağladıkları 15 tane *Yersinia ruckerii* izolatlarının antibiyotik duyarlılık değerlerini rapor etmişlerdir. Raporda bakterilerin florfenikol, eritromisin, oksitetrasiklin, trimetoprim-sulfametoksazol antibiyotiklerine dirençlilikleri bildirilmiştir (Altun ve ark., 2013). Özaktaş ve arkadaşları inci balığının derisinden 12 farklı bakteri izolasyonu gerçekleştirmiş ve bakterilerin yaklaşık % 95'i ampisiline, % 93'ü kloramfenikole ve % 88'i ise kanamisin ve streptomisin antibiyotiklerine dirençli olduğunu tespit ederek rapor etmişlerdir (Özaktaş ve ark., 2012). Ayrıca Özdemir ve arkadaşları bakterilerin farklı antibiyotiklere farklı oranlarda direnç göstermesinin bakterilerin farklı yer ve zamanlarda izole edilmesinden kaynaklanabileceğini ortaya koymuşlardır. (Özdemir ve ark., 2015) Bizim çalışmamızda da

tespit edilen enterobacteria familyasındaki bakterilerin ampicillin antibiyotigine karşı %100 dirençlilik göstermesi ve bakterilerin farklı antibiyotiklere farklı oranlarda direnç göstermesinin bakterilerin farklı yer ve zamanlarda izole edilmesinden kaynaklanabileceğini açısından bizim çalışmamızla paraleldir. Kurekci ve arkadaşları'nın Asi Nehri'nden izole ettikleri E. coli suşlarında geniş spektrumlu β -laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç geliştirdiklerini belirtmişlerdir (Kurekçi et al. 2017). Bizim çalışmamızda da E.coli suşları β -laktam grubu antibiyotiklere karşı dirençli olması yönüyle Kürekçi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayla benzerlik göstermektedir. Büyükkaya ve arkadaşlarının yapmış oldukları, Gölbaşı ve Azaplı göllerinden izole ettikleri 248 adet bakteriyi içeren çalışmada, sefazolin (% 98) ve penisiline (%100.0) karşı yüksek direnç geliştirdiklerini rapor etmişlerdir (Büyükkaya ve ark., 2018). Akkan, İskenderun Körfezi deniz suyundan izole ettikleri 161 gram negatif bakterilerdeki çalışmalarında, antibiyotik direnç seviyelerinin eritromisine % 94,4, ampiciline % 72.7, streptomisine % 68.3, sefazoline % 64.6 ve karboksipeneme % 57.1 olduğunu rapor edilmiştir (Akkan ve ark., 2019). Mercimek, Seve barajı ve Konak göletinden (Kilis) izole ettikleri E. coli suşlarının, ampiciline (% 80.95), sefazoline (% 66.67), streptomisine (% 19.04) ve tetrasikline (% 14.28) karşı orta düzeyde duyarlı olduğunu ortaya koymuşlardır (Mercimek Takçı ve ark., 2021).

Bu çalışmada; antimikrobiyal duyarlılık analizinde beta laktam grubu antibiyotiklerinden olan *Ceftazidime* ve *Cefoxitin* ayrıca *Ampicillin*, *Ertapenem*, *Amoxicillin'e* % 100 dirençli olduğunun tespit edilmesi enterobacteria ailesinin üyesi olan bakterilerin yok edilmesinde beta laktam grubu antibiyotiklerin etkisiz kaldığı ve gökkuşağı alabalığı tesislerinde *Ampicillin*, *Ertapenem* ve *Amoxicillin'in* rastgele, kontrolsüz ve fazla miktarda kullanıldığının bir göstergesi olduğunu ortaya koymaktadır. Bu çalışmalar incelendiğinde, farklı sucul ekosistemlerden izole edilen bakterilerin dirençli oldukları antibiyotik grupları da çeşitlilik sunabilmektedir. Bu durum, sucul ekosistemin etki alanında bulunduğu karasal ekosistemdeki antibiyotik kullanımı ile ilişkilendirilmektedir.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan araştırmalara göre Türkiye’de su ürünlerinin antimikrobiyal dirençliliğinin belirlenmesi konusunda yeterli bir çalışma olmamakla birlikte yapılan çalışmalarda sınırlıdır. Bununla birlikte, dünyada su ürünleri yetiştiriciliğinde *mcr* ile ilgili veriler yok denecek kadar azdır. Bu nedenle, küresel olarak su ürünleri yetiştiriciliğinde kolistin direncini ve *mcr*' yi araştırmak, özellikle sınırlı altyapıya sahip ülkelerde önemlidir.

Çalışmamızdan elde edilen verilerin uluslararası indeksli dergilerde (SCI ve SCI Expanded) yayınlanma ve ulusal ve uluslararası kongre ve sempozyumlarda sunulma potansiyeline sahip olacağı düşünülmektedir. Tunceli ilinin Mazgirt, Çemişgezek, Ovacık ve Pertek ilçelerindeki gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğı yapılan işletmeleri kapsayan çalışmamızda plazmid aracılı kolistin direnç potansiyelini ve tehlikesini ortaya koyarak ülkemizin antimikrobiyal direnç nleme stratejilerine katkı sağlanacaktır. Bu projeden elde edilecek olan veriler benzer konuda daha ileri düzeyde Doktora Tezi alışmaları belirlenerek, Ulusal/Uluslararası yeni projelerin altyapısı oluşturulabilecektir.

Sonuç olarak; MALDI-TOF MS analizi bakteri tanımlaması ve özellikle de enterobacter ailesi bakterilerinin tanımlanmasında güvenilir, maliyeti düşük, sonuçların kısa sürede alınması gibi özelliklerinden dolayı önemli bir tanımlama metodudur. Ancak enterobacteria ailesi dışında bakteri ailelerinin tür ve cins düzeyinde tanımlanması için MALDI-TOF MS analizi yanında; 16S rDNA ve *gyrB* dizi analizlerinin kullanılması da önerilmektedir. Yapılan analizler sonucunda; Enterobacter ailesinden olan Salmonella spp. tespit edilememiştir. E. Coli, Enterobacter Spp. izolatlarında mobil kolistin direnç (MCR) genlerinin varlığı tespit edilememiştir. Antimikrobiyal duyarlılık testlerinin sonuçları incelendiğinde; enterobacteria familyasına ye bakterilerin genel olarak beta laktam grubu antibiyotiklere karşı % 100 oranında dirençli oldukları tespit edilmiştir. Kış aylarında enterobacteria ailesinin fazlalığı tespit edilmiştir.

Yapılan bu çalışmada **Tüketicilere**; önemli mineral ve vitamin kaynağı olan su ürünlerinin pişirilme sıcaklığına, dondurularak saklanma koşullarına dikkat etmeleri, insan sağlığı ve besleyiciliğı açısından son yıllarda önem kazanan su ürünlerinin tüketim hususlarına dikkat edilmesi önerilmektedir. Su rnlerinin deri, bağırsak ve solungaçlarında oluşan bakterilerin insan sağlığı üzerine önemli etkileri olduğu bilinmektedir. Su ürünlerinden olan balıklarda zararlı bakteri ve parazitler, pişirme

sırasında iç sıcaklık 63 °C' ye ulaşırsa yok olmaktadır. Bu sıcaklık altında balık pişirimi bakteri ve parazitlerin tüketim yoluyla insan vücuduna girişi ve hastalık etmeni olması kaçınılmazdır. Eğer balık sushi veya sashimi olarak tüketilecekse dondurulmalıdır. Dumanlanmış balık kullanılacaksa soğuk dumanlamanın parazitler üzerinde etkin olmadığı göz önünde bulundurularak sıcak dumanlanmış balıklar tercih edilmesi önerilmektedir.

Tesis işletmecilerine; Suda bakteri önleme ve azaltma açısından alabalık yetiştiriciliği yapan beton havuz üreme sistemine sahip işletmeler klorlama işlemi özenle, zamanında ve yeteri kadar yapmaya dikkat etmelidirler. Balık yetiştiriciliği yapılan beton havuz ve ağ kafes üretim tesislerinde balık hastalıklarıyla mücadelede oral yolla antibiyotik uygulamalarında bakteri kontaminasyonu olmaması için tesis işletmecileri üst safhada önlem almaları ve hijyene dikkat etmeleri gerekmektedir. Antibiyotik kullanımı azaltılmalıdır. Ağ kafeslerde düzenli olarak ağlar temizlenmelidir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde balığın sağlıklı büyüebilmesi, zamanında, istenen kalitede ve rantabilitede güvenilir ürün elde edilebilmesi için yemin içeriği, kalitesi, ete dönüşüm oranı, sindirilebilirliği önem arz etmektedir. Kalitesiz yem kullanımının doğaya daha fazla yem artığı ve dışkı bırakılacağı için su ortamını kirletmesi söz konusudur. Bu nedenle kalite oranı yüksek yem kullanımı artırılması önerilmektedir. Alabalık kuluçka ünitelerinin nakillerinde dezanfekte edilmiş alet, ekipman ve taşıma araçları kullanılmalıdır. Alabalık kuluçka üretim ünitelerinin olduğu tesislerde düzenli bir şekilde el hijyeninin sağlanması için tesislerin giriş kısımlarında el yıkama lavabolarının bulunması, çalışan personelin giyinme ve soyunma odaları için ayrı bir bölme bulundurulması, tesislerde havalandırmanın düzenli yapılması bakteri kontaminasyonu olmaması açısından önerilmektedir. Ağ kafeslerde alabalık yetiştiriciliğinde belirli aralıklarla ağların temizliğinin yapılması, kirlenen ağların göze açıklıkları kapanacağı için kafeslerdeki su değişimi azalacağı ve Böylece zamanla balıklarda oksijen yetersizliğinden kayıplar yaşanmaması amacıyla ağların temizliğinin düzenli olarak yapılması önerilir. Ayrıca kirlenmiş hijyenik olmayan ağ ortamlarında çeşitli bakterilerin üremesi ve hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Doğrudan veya dolaylı olarak balık veya balık ürünleriyle temas eden bütün personelin gerekli yerlerde koruyucu kıyafetler, bone ve çizme giymeleri sağlanmalıdır.

Jeoloji mühendislerine; buldukları havzaların jeolojik yapısının iyi bilinmesi ve termal su kaynaklarının başka bir lokalizasyonla birleşip su sıcaklığına etki edecek etkenleri ortadan kaldırmak için beton havuz üretim metoduna sahip tesislerin kurulum

yerlerinin özenle seçilmesi konusunda dikkat etmeleri önerilir. Ayrıca su arıtma tesislerinin nüfusa ve yerleşim özelliklerine göre yeterli düzeyde yapılmasına dikkat edilmesi gerekmektedir.

Su ürünleri mühendislerine; çalışma yaptığımız tesislerin enterobacteria ailesinin tedavisi için bakterilere % 100 duyarlı olan *amikacin*, *imipenem*, *gentamicin*, *piperacillin/tazobactam* ve *meropenem* antibiyotiklerinin kullanımına yönelmesinin tedavide daha etkin olacağı önerilmektedir.

Araştırmacılara; bakteri identifikasyonu için MALDI-TOF MS analizinin yöntemin maliyetinin ucuz olması, tanımlama süresinin kısa olması, enterobacteria ailesinin tanımlama değerlerinin % 99,9 oranında doğru sonuçlar vermesi vb. nedenleri göz önüne alarak bu analizin kullanımının artırılması, MALDI-TOF MS analizi enterobacteria familyası dışında bakteri tiplendirmesinde yüksek oranda sonuçlar vermediği durumlarda yapılacak çalışmalarda bakteri identifikasyonu doğruluk değerlerini artırmak amacıyla farklı tekniklerin bir arada kullanılması, daha kesin ve hassas sonuçlar elde etmek için ise ileri moleküler tanımlama yöntemleri olan 16s RDNA ve gyrB gen dizi analizlerinin tercih edilmesinin faydalı olacağı önerilmektedir.

Bilim insanlarına; ülkemizde mobil kolistin direnç genleri üzerinde yapılan çalışmalara daha fazla yönelmesi önerilmektedir.

Bu çalışmadan elde edilen veriler benzer konuda daha ileri düzeyde Doktora Tezi çalışmaları belirlenerek, Ulusal/Uluslararası yeni projelerin altyapısı oluşturulabileceği düşüncesindeyiz. Ayrıca yapılan bu çalışma ‘‘Tunceli İlindeki Alabalıklarda Plazmit Kaynaklı Kolistin Direnç Genlerinin Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu İle Saptanması’’ açısından ülkemizde ve Doğu Anadolu havzasında bir ilk olma özelliğine sahiptir.

5. KAYNAKLAR

- Abbasoğlu, U., Çevikbaş, A.,** 2011. Farmasötik Mikrobiyoloji. 1. baskı. Ankara: Efil Yayınevi, s.527-531.
- Austin, B., Austin, D. A.,** 2016. Bacterial Fish Pathogens, diseases of farmed and wild fish, 6th edition, Springer Publishing, Dordrecht, 978-3-319-32674-0.
- Austin, B., Austin, D.A.,** 2007. Bacterial Fish Pathogens Diseases of Farmed and Wild Fish. Springer, Praxis Publishing Chichester, UK.
- Altun, S., Kubilay, A., Diler, Ö.,** 2010. Yersinia ruckeri suşlarının fenotipik ve serolojik özelliklerinin incelenmesi, Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 16: 223-229.
- AbuOun, M., Stubberfield, E.J., Duggett, N.A., Kirchner, M., Dormer, L., Nunez-Garcia, J., Randall, L.P., Lemma, F., Crook, D.W., Teale, C., Smith, R.P., ve Anjum, M.F.,** 2017. mcr-1 and mcr-2 (mcr-6.1) variant genes identified in Moraxella species isolated from pigs in Great Britain from 2014 to 2015. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1;72(10):2745-2749.
- Altun, S., Onuk, E.E., Ciftci, A., Duman, M., ve Büyükekiz, A.G.,** 2013. Determination of Phenotypic, Serotypic and Genetic Diversity and Antibiotyping of Yersinia ruckeri Isolated from Rainbow Trout, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 19(2), 225-232.
- Akkan, T., Topkaraoğlu, T.,** 2009. Tatlısu Kaynaklarımızdaki Escherichia coli İzolatlarının Antibiyotik Direnç Düzeylerinin Belirlenmesi: Batlama Deresi Örneği, Giresun. Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences, 4(3), 539-544.
- Akşit, D., Kum, C.,** 2008. Gökkuşığı Alabalıkları (Oncorhynchus mykiss, Walbaum 1792)'nda Sık Görülen Patojen Mikroorganizmaların Tespiti ve Antibiyotik Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 19(1):1-7.
- Aydın, S., Gültepe, N., Çiltaş, A.,** 2011. Çanakkale İlindeki Bir Gökkuşığı Alabalığı (Oncorhynchus mykiss Walbaum) İşletmesinde Pseudomonas sp. Enfeksiyonu. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 36(1),39-43.
- Ayaz, N.D., Cufaoğlu, G., Yonsul, Y., Goncuoğlu, M., Erol, I.,** 2019. Plasmid-Mediated Colistin Resistance in Escherichia coli O157: H7 Cattle and Sheep Isolates and Whole-Genome Sequence of a Colistin-Resistant Sorbitol Fermentative Escherichia coli O157: H7. Microb Drug Resist; 25(10):1497-1506.

- Banerjee, R., Johnson, J.R.,** 2014. A new clone sweeps clean: the enigmatic emergence of *Escherichia coli* sequence type 131. *Antimicrob Agents Chemother*, 58(9): 4997-5004.
- Brenner, F.W., Villar, R.G., Angulo, F.J., Tauxe, R., Swaminathan, B.,** 2000. *Salmonella* nomenclature. *J Clin Microbiol* 38(7):2465-2467.
- Bhullar, K., Waglechner, N., Pawlowski, A., Koteva, K., Banks, E.D., Johnston, M.D., Barton, H.A., Wright, G.D.,** 2016. Study on the antimicrobial resistance of animals. *Animal Health Prod and Hyg*, 5(2):472-476.
- Biswas, S., Brunel, J.M., Dubus, J.C., Reynaud-Gaubert, M., Rolain, J.M.,** 2012. Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century, *Expert review of anti-infective therapy*, 10(8):917-934.
- BSGM,** 2016. Su Ürünleri İstatistikleri GTHB, Ankara, 175 s.
- BSGM,** 2020. Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü.
- Bilgehan, H.,** 2009. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*, 9 ed. İzmir: Fakülteler Kitapevi; 428-29.
- Biswas, S., Brunel, J-M., Dubus, J-C., Reynaud-Gaubert, M., Rolain, J.M.,** 2012. Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 10(8):917-34.
- Bitton, G.,** 2005. *Wastewater Microbiology*, Third Edition, a John Wiley & Sons, Inc., Publication, New Jersey, 746p.
- Borowiak, M., Fischer, J., Hammerl, J.A., Hendriksen, R.S., Szabo, I., Malorny, B.,** 2017. Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1;72(12):3317-3324.
- Bilal, H., Rehman, T.U., Khan, M.A.,** 2021. Molecular Epidemiology of *mcr-1*, *bla* (KPC-2,) and *bla* (NDM-1) Harboring Clinically Isolated *Escherichia coli* from Pakistan. *Infect Drug Resist*, 16(14):1467-1479.
- Büyükkaya-Kayış, F., Dinçer, S., Matyar, F.,** 2018. Isolation, Identification and Antibiotic Resistance of *Aeromonas Spp.* and *Pseudomonas aeruginosa* From Azapli and Golbasi Lakes, Adiyaman, Turkey (Southeast Anatolian Region). *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(1):116-124.
- Carattoli, A., Villa, L., Feudi, C., Curcio, L., Orsini, S., Luppi, A., Pezzotti, G., Magistrali, C.F.,** 2017. Novel plasmid-mediated colistin resistance *mcr-4* gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016. *Euro surveillance: bulletin European sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 3;22(31):30589.

- Carroll, L.M., Gaballa, A., Guldemann, C., Sullivan, G., Henderson, L.O., Wiedmann, M.,** 2019. Identification of Novel Mobilized Colistin Resistance Gene *mcr-9* in a Multidrug-Resistant, Colistin-Susceptible *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Isolate. *mBio*, 7;10(3):e00853-19.
- Caspar, Y., Maillet, M., Pavese, P.,** 2017. *mcr-1* colistin resistance in ESBL- producing *Klebsiella pneumoniae*, France. *Emerg Infect Dis*, 23(5):874-876.
- CDC,** 2018. Antibiotic Resistance Threats in the United States. <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>.
- Croxen, M.A., Finlay, B.B.,** 2010, Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nat Rev Microbiol*. 8(1):26-38.
- Çapkın, E., Özdemir, S., Öztürk, R.C., Altınok, I.,** 2017. Determination and transferability of plasmid-mediated antibiotic resistance genes of the bacteria isolated from rainbow trout. *Aquaculture Research*, 48(11):5561-5575.
- Demir, O.,** 2008. Türkiye Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Yem Sektörüne Genel Bakış, *Journal of Fisheries Sciences*, 2(5):704-710.
- Duployez, C., Loïez, C., Cattoen, C., Wallet, F., Vachée, A.,** 2019. In vitro activity of temocillin against extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from urinary tract infections in France. *Med Mal Infect*, 49(1):47-53.
- Dinç, G., Ata, Z., Temelli, S.,** 2012. Sığır Mastitislerinden İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarında Genişletilmiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Aktivitesi ve Antibiyotik Dirençlilik Profilinin İncelenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 59:85-88.
- EUCAST,** 2021. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0. Retrieved from: <http://www.eucast.org>.
- EMA/CVMP/CHMP,** 2016. Updated advice on the use of colistin products in animals within the European Union: development of resistance and possible impact on human and animal health, European Medicines Agency.
- ECDC,** 2020. Plasmid-mediated colistin resistance in Enterobacteriaceae. EFSA/ECDC, The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017/2018. *EFSA Journal*, 18(3):6007
- ECDC/EFSA/EMA ECDC/EFSA/EMA,** 2019. Second Joint Report on the Integrated Analysis of the Consumption of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Bacteria from Humans and Food-Producing Animals.
- FAO,** 2018. *FAO Yearbook, Fishery and Aquaculture Statistics 2016*, Rome. 104pp.

- FAO**, 2011. Small-scale rainbow trout farming. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 561:1-81.
- Falagas, M.E., Kasiakou, S.K., Saravolatz, L.D.**, 2005. Colistin: The Revival of Polymyxins for the Management of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections. *Clin Infect Dis*, 40(9):1333-41.
- FAO**, 2014. Fisheries and Aquaculture Department, The State of World Fisheries and Aquaculture, Roma.
- Frédéric, R.S., Antoine, M., Bodson, A., Lissoir, B.**, 2015. Bacterial Rapid Identification With Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry: Development Of An 'In-House Method' and Comparison with Bruker Sepsityper Kit Trainee In Laboratory Medicine, *Université Catholique De Louvain, Belgique*, 70(5):325-30.
- Ferreira, C., Pereira, A. M., Melo, L. F., Simões, M.**, 2017. Advances in industrial biofilm control with micro- nanotechnology, *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, In: Méndez-Vilas, A.,2, Formatex Research Center, Spain, 1(2)845-854.
- Froese, R., Pauly, D.**, 2019. Fish Base *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792), <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=127185>.
- Falagas, M.E., Kasiakou, S.K., Saravolatz, L.D.**, 2005. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clinical infectious diseases*, 1;40(9):1333-41.
- Gülay, Z.**, 2017. Antibacterials and their mechanism of action at the bacterial cell. *Türkiye Klinikleri Journal of Infectious Diseases-Special Topics*, 10(1):6-19.
- Gast**, 2003. Salmonella Enteritidis Deposition in Eggs after Experimental Infection of Laying Hens with Different Oral Doses, 76(1):108-13.
- Günaydın, M.**, 2004. "Gram Negatif Bakteri İnfeksiyonlarında Mikrobiyolojik Tanı". Gram Negatif Bakteri İnfeksiyonları. Ed: Ulusoy S, Leblebicioğlu H, Arman D. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye: s. 45-67.
- Galindo,Méndez, M.**, 2020. Antimicrobial Resistance in Escherichia coli. In *E. coli Infection*, Intech Open.
- Holmes, A., Holmes, M., Gottlieb, T., Price, L.B., Sundsfjord, A.**, 2018. End non-essential use of antimicrobials in livestock. *BMJ*, s.259-360.
- HLPE**, 2014. Sustainable Fisheries and Aquaculture for Food Security and Nutrition, A Report by the High Level Panel of Experts on Food Security and Nutrition of the Committee on World Food Security, Rome 2014.
- İzgür, M.**, 2006. Salmonella infeksiyonları. *Kanatlı Hayvan Hastalıkları*. Medisan Yayınevi, Ankara, 41-53.

- Ip, M., Lai, C.K., Fung, K.S.C., Wong, K-T., Zhu, C., Velde, S.V., et al.** 2017. Activity of temocillin and 15 other agents, including fosfomycin and colistin, against Enterobacteriaceae in Hong Kong. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 36(12):2491-2494.
- Islam, M., Urmi, U., Rana, M., Sultana, F., Jahan, N., Hossain, B., Iqbal, S.,** 2020. Poultry chicken gut-bacteria carry high extent of colistin resistant mcr-1 gene in Bangladesh. *International Journal of Infectious Diseases*, 1(101):60.
- Janssen, A.B.,** 2020. Mechanisms and evolution of colistin resistance in clinical Enterobacteriaceae, Utrecht University.
- Jiang, H.X., Tang, D.A., Liu, Y.H., Zhang, X.H., Zeng, Z.L., Xu, L., Hawkey, P.M.,** 2012. Prevalence and Characteristics of Lactamase and Plasmid Mediated Quinolone Resistance Genes in *Escherichia coli* Isolated from Farmed Fish in China, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(10):2350-2353.
- Kaçar, A.,** 2011. Analysis of Spatial and Temporal Variation in the Levels of Microbial Fecal Indicators in the Major Rivers Flowing into the Aegean Sea, Turkey, *Biological Indicators*, 11(5):1360-1365.
- Kaşgar, H.S.,** 1992. İstanbul Boğazının Deniz Suyu ve Midyelerinin Fekal Koliform Bakteriler Bakımından İncelenmesi. İ.Ü. Fen Bilimleri Yüksek Lisans Tezi.
- Korun, J., Kurtoğlu, M.,** 2018. Yavru Gökkuşluğu alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, W.)'ndan *Lactococcus garvieae*'nin İzolasyonu ve Plazmit Profilleri Üzerine Bir Çalışma . *Journal of Advances in Vet Bio Science and Techniques*, 3(1):11-22.
- Kayış, Ş.,** 2019. Analysis of fish health status in terms of sustainability of aquaculture in Turkey-A swot analysis. *Aquaculture Studies*, 19(1):69-76.
- Kalender, H.,** 2013. Isolation, virulence genes and antimicrobial susceptibilities of Shiga Toxinproducing *Escherichia coli* O157 from slaughtered cattle in Abattoirs and ground beef Sold in Elazığ. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(3):461-467.
- Kaya, O., Akçam, F.Z., Uyar, C., Demir, C., Yaylı, G.,** 2009. 2000-2004 yılları arasında izole edilen üropatojen *Escherichia coli* suşlarında artan antibiyotik direnci, S.D.Ü. *Turkish Journal of Urology* 35(3):201.
- Keyik, Ş.,** 2013. *Acinetobacter baumannii* Suşlarında OXA-23 ve OXA-58 İpi Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Varlığının Araştırılması ve FGE Yöntemiyle Klonal kınılığının İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Konya Selçuk Üniversitesi.
- Köşer, Z.P.,** 2010. Enterobacteriaceae. in: Tıbbi mikrobiyoloji. Ed: Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. 6. Baskı. 301-15.
- Kuntz, T.B., Kuntz, S.T.,** 1992. Enterohemorrhagic *E. coli* infection. *Primary Care Update*, 3(2):192-196.

- Kılıçturgay, K., Gökırmak, F., Töre, O., Gedikoğlu, S.,** 1993. Klinik mikrobiyoloji. Onur yayıncılık. Bursa: s. 45-52.
- Kürekçi, C., Aydın, M., Nalbantoglu, O.U., Gündoğdu, A.,** 2018. First report of *Escherichia coli* carrying the mobile colistin resistance gene *mcr-1* in Turkey. *J Glob Antimicrob Resist.* 15:169-170.
- Kizil, S.,** 2020. Extended Spectrum Beta-Lactamase (ES β L), Amp C and carbapenemase activities and colistin resistance of *Salmonella* spp. isolated from food poisoning cases in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 4(44):821-829.
- Kürekçi, C., Aydın, M., Yipel, M., Katouli, M., Gündoğdu, A.,** 2017. Characterization of extended spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in Asi (Orontes) River in Turkey. *Journal of Water and Health*, 15(5):788-798.
- Lee, SH., Jung, B.Y., Rayamahji, N.,** 2009. A multiplex real-time PCR for differential detection and quantification of *Salmonella* spp., *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and Enteritidis in meats. *J Vet Sci*, 10(1):43-51.
- Levy, S.B., Marshall, B.,** 2004. Antibacterial Resistance Worldwide: Causes, Challenges and Responses, *Nature Medicine Supply*, 1(10):122-129.
- Li, C., Lillehoj, H.S., Gadde, U.D., Ritter, D., Oh, S.,** 2017. Characterization of *Clostridium perfringens* strains isolated from healthy and necrotic enteritis-afflicted broiler chickens. *Avian Diseases Sciences*, 61(2):178–185.
- Li, Z., Cao, Y., Yi, L., Liu, J.H., Yang, Q.,** 2019. Emergent Polymyxin Resistance: End of an era *Open Forum Infect Dis*, 1;6(10):368.
- Li, X-P., Fang, L.X., Jiang, P., Pan, D., Xia, J., Liao, X.P., Liu, Y-H., Sun, J.,** 2017. Emergence of the colistin resistance gene *mcr-1* in *Citrobacter freundii*, *International journal of antimicrobial agents*, 49(6):786.
- Li, J., Nation, R.L., Turnidge, J.D., Milne, R.W., Coulthard, K., Rayner, C.R., Paterson, D.L.,** 2006. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *The Lancet infectious diseases*, 6(9):589-601.
- Liu, Y.Y., Wang, Y., Walsh, T.R., Yi, L.X., Zhang, R., et al** 2016. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(2):161-168.
- Laxminarayan, R., Matsoso, P., Pant, S., Brower, C., Røttingen, J.A., Klugman, K., Davies, S.,** 2016. Access to effective antimicrobials: A worldwide challenge. *Lancet*, 9;387(10014):168-75.

- Luo, Q., Wang, Y., Xiao, Y.,** 2020. Prevalence and transmission of mobilized colistin resistance (*mcr*) gene in bacteria common to animals and humans. *Biosafety and Health*, 2(2):71-78.
- Mercimek, T., H.A., Toplar, S., Sumengen, Özdenefe., M.** 2021. Antibiotic and Heavy Metal Resistance of *Escherichia coli* Strains Isolated from the Seve Dam, and Konak Pond, Kilis, Turkey. *Acta Aquatica Turcica*, 17(2):290-297.
- Martinez-Martinez, L., Cano, M.E., Rodriguez-Martinez, J.M., Calvo, J.,** 2008. Plasmidmediated quinolone resistance. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 6(5): 685-711.
- Matyar, F., Gülnaz, O., Guzeldag, G., Mercimek, H.A., Akturk, S., Arkut, A., & Sumengen, M. (2014).** Antibiotic and heavy metal resistance in Gram-negative bacteria isolated from the Seyhan Dam Lake and Seyhan River in Turkey. *Annals of Microbiology*, 64(3):1033-1040.
- Murray, P.R., Rosenthal, K.S., Pfaller, M.A.,** 2010. *Tıbbi Mikrobiyoloji*. 6. Baskı, Atlas Tıp Kitabevi, 301-315.
- Muz, A., Sarıeyyüpoğlu, M., Ertaş, H.B., Şimşek, A.,** 1995. Keban Baraj Gölünde yakalanan bazı balıkların çeşitli organlarının aerobik ve mikroaerofilik bakteriler yönünde incelenmesi. *F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 9(2):212-220.
- Moore, J. E., Corcoran, D., Dooley, J. S., Fanning, S., Lucey, B., Matsuda, M., Whyte, P.,** 2005. *Campylobacter*. *Veterinary research*, 36(3):351-382.
- Miller, E., Cantrell, C., Beard, M., Derylak, A., Babady, N.E., McMillen, T.,** 2018. Performance of Vitek MS v3.0 for identification of *Mycobacterium* species from patient samples by use of automated liquid medium systems. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(8):e00219-18.
- Maron, D.F., Smith, T.J., Nachman, K.E.** 2013. Restrictions on antimicrobial use in food animal production: An international regulatory and economic survey. *Global Health*, (9):48.
- Matyar, F., Akkan, T., Uçak, Y., Eraslan, B.** 2009. *Aeromonas* and *Pseudomonas* antibiotic and heavy metal resistance species from Iskenderun Bay, Turkey (Northeast Mediterranean Sea), *Environ Monit Assess*, 167(1-4):309-20.
- Marisol, G.U., Capdepuy, M., Arpin, C., Raymond, N., Caumette, P., Quentin, C.,** 2000. Impact of an urban effluent on antibiotic resistance of riverine *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas* spp. *Appl Environ Microbiol* January, 66(1):125-132.
- Mudryk, Z., Perlinski, P., Skórczewski, P.,** 2010. Detection of Antibiotic Resistant Bacteria Inhabiting the Sand of Non-recreational Marine Beach, *Marine Pollution Bulletin*, s.207-214.

- Namdari, R., Abedeni, S., Law, F.C.P.,** 1999. A Comparative tissue distribution study of oxytetracycline in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* Aquacult. Res. 4(30):279-286.
- Nicolas-Chanoine, M.H.,** 2014, Bertrand X, Madec JY. *Escherichia coli* ST131, an intriguing clonal group. Clin Microbiol Rev, 27(3):543-74.
- Novick, R.P.N.,** 1981. The development and spread of antibiotic-resistant bacteria as a consequence of feeding antibiotics to livestock.
- Noga, E.J.,** 2010. Balık Hastalığı: Teşhis ve Tedavi, İkinci Baskı. Wiley-Blackwell: Ames, IA. sayfa 13-48, 143-147, 375-420.
- Ngbede, E.O., Poudel, A., Kalalah, A., Yang, Y.,** 2020. Identification of mobile colistin resistance genes (*mcr-1.1*, *mcr-5* and *mcr-8.1*) in Enterobacteriaceae and *Alcaligenes faecalis* of human and animal origin, Nigeria. International Journal of Antimicrobial Agents, 56(3):106-108.
- OECD,** 2016. Review of Fisheries: Policies and Summary Statistics 2015, OECD Publishing, Paris, 110 pp.
- Okan, Ö., Kalender, L., Çetindağ, B.,** 2019. The impacts of the Yoğunağaç-Karakoçan ve Dedebeğ-Mazgirt thermal and mineral waters on the Peri Stream Water, Cilt 25, Sayı 3, 342-351.
- Oteo, J., Lázaro, E., Abajo, F.J., Baquero, F., Campos, J.,** 2005. Antimicrobial-resistant invasive *Escherichia coli*. Spain, Emerg Infect Dis, 11(4):546-53.
- Özden, O., Fırat, K., Büke, E., Saka. Ş.,** 2005. Fangri Balığı (*Pagrus pagrus*) Yetiştiriciliği, T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müd. 239s. Öziş Matba-Ankara.
- Öznile, AM.,** 2008. Enterobacteriaceae. In: Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Etkenlere göre enfeksiyonlar, 3.Bask. s.2126-2136.
- Özkuyumcu, C.,** 2009. Klinik Bakteriyoloji El Kitabı. Ankara: Güneş Tıp Kitapevi.
- Öztürk, T., Didinen, B. I., Doğan, G., Özer, A., Bircan, R.** 2002. Gökkuşluğu alabalığında, (*Oncorhynchus mykiss*, W., 1792) lactococcosis hastalığı ve *Lactococcus garvieae*'nin antibakteriyel duyarlılığı. Ulusal Su Günleri 2009 Sempozyumu, Elazığ.
- Öztürk, D., Adanir, R., Turutoglu, H.,** 2007. Isolation and Antibiotic Susceptibility of *Aeromonas hydrophila* in a Carp (*Cyprinus carpio*) Hatchery Farm, Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 51(3):361-364.
- Özaktas, T., Taskin, B., Gozen, A.G.,** 2012. High Level Multiple Antibiotic Resistance among Fish Surface Associated Bacterial Populations in Non-Aquaculture Freshwater Environment, Water Research, 46(19):6382-6390.

- Özdemir, S.**, 2015. Balıklardan İzole Edilen Bakterilerden Antibiyotik Direnç Geni Profillerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon.
- Özer, S., Bulduklu, P.S., Dönmez, E.**, 2008. Mersin ilinde yetiştiriciliği yapılan gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Streptokokkozis varlığı, *Journal of fisheries sciences.com*, 2(3):272-283.
- Patır, B., Dinçoğlu, A.H., İnanlı, A.G.**, 2002. Keban Baraj Gölü tatlı su ıstakozlarının (*Astacus leptodactylus* Escholtz, 1823) mikrobiyolojik kalitesi ile mikrobiyal florası üzerine araştırmalar, *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, Cilt:19, Sayı:1-2, 19-28.
- Park, Y.S., Adams-Haduch, J.M., Shutt, K.A., et al.** 2011. Clinical and microbiologic characteristics of cephalosporin-resistant *Escherichia coli* at three centers in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 56(4):1870-76.
- Redhwan, A., Choudhury, M., Alharbi, B.**, 2019. A Snapshot about the Mobile Colistin Resistance (*mcr*) in The Middle East and North Africa Region. *Journal of Infection and Public Health*, 12(1):149-50.
- Poirel, L., Jayol, A., Nordmann, P.**, 2017. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes, *Clinical microbiology reviews*, 30(2):557-596.
- Ringø, E.**, 1998. Lactic acid bacteria in fish: a riview, *Aquaculture*, 160,177-203.
- Russo, T.A., Johnson, J.R.**, 2003. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem, *Microbes and infection*, 5(5):449-456.
- Rhouma, M., Beaudry, F., Theriault, W., Letellier, A.**, 2016. Colistin in pig production: chemistry, mechanism of antibacterial action, microbial resistance emergence, and one health perspectives, *Frontiers in microbiology*, 18;10(8):e0136052.
- Ruppe, E., Hem, S., Lath, S.**, 2009. CTX-M β -Lactamases in *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections. *Emerging Infectious Diseases* 15(5):741-748.
- Roberts, R.J.**, 2012. *Fish Pathology*, 4th Edition, Wiley-Blackwell, UK., 978-1-4443-32827.
- Rhouma, M., Letellier, A.**, 2017. Extended-spectrum β -lactamases, carbapenemases. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49(3).
- Russo, T.A., Johnson, J.R.**, 2003. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem, *Microbes and infection*, 5(5), 449-456.

- Rhouma, M., Beaudry, F., Theriault, W., Letellier, A.,** 2016. Colistin in pig production: chemistry, mechanism of antibacterial action, microbial resistance emergence, and one health perspectives, *Frontiers in microbiology*, 7,1789.
- Ruppe, E., Hem, S., Lath, S.,** 2009. CTX-M β -Lactamases in *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections. *Emerging Infectious Diseases* 15(5):741-748
- Rodriguez, L.A., Gallardo, C.S., Acosta, F., Nieto, T.P., Acosta, B., Real, F.,** 1998. *Hafnia alvei* as an opportunistic pathogen causing mortality in brown trout, *Salmo trutta* L., *Journal of Fish Diseases*, 5(21):365-369.
- Robin, F., Beyrouthy, R., Colot, J., et al.** 2017. MCR-1 in ESBL-producing *Escherichia coli* responsible for human infections in New Caledonia. *J Antimicrob Chemother*, 2(72): 946-7.
- Svobodova, I., Steinhäuserová, I., Nebola, M.,** 2007. Department of Meat Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Czech Republic, 76(8):25-30.
- Sarıeyyüpoğlu, M., Özcan, M., Barata, S.,** 2017. Gökkuşacağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nda deri ensizyonu ile operasyon uygulanması ve balığın canlılığının kontrolü üzerine bir araştırma. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 29(1):9-13.
- Savvidis, G. K., Anatoliotis, C., Kanaki, Z., Vafeas, G.,** 2007. Epizootic outbreaks of lactococcosis disease in rainbow trout, *O. mykiss* (Walbaum), culture in Greece. *Bull Eur Ass Fish Pathol*, 27(6):223-228.
- Strohl, A.W., Rouse, H., Fisher, B.D.,** 2006. “Microbiology”, An Ö Çeviri Editörü. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul, Türkiye: s.175-177.
- Samanidou, V.F., Evaggelopoulos, E.N.,** 2007. Analytical strategies to determine antibiotic residues in fish. *J. Sep. Sci*, 2(30):2549-2569.
- Stansly, P., Schlosser, M.,** 1947. Studies on polymyxin: isolation and identification of *Bacillus polymyxa* and differentiation of polymyxin from certain known antibiotics. *Journal of bacteriology*, 54(5):549-556.
- Sabnis, A., Klöckner, A., Becce, M., Evans, L.E., Furniss, R.C.D., Mavridou, D.A., Stevens, M.M., Edwards, A.M.,** 2019. Colistin kills bacteria by targeting lipopolysaccharide in the cytoplasmic membrane. *bioRxiv*, 479618.
- Skov, R.L., Monnet, D.L.,** 2016. Plasmid-mediated colistin resistance (*mcr-1* gene): three months later, the story unfolds. *Eurosurveillance*, 21(9):30155. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.9.30155.
- Shen, Z., Wang, Y., Shen, Y., Shen, J., Wu, C.,** 2016. Early emergence of *mcr-1* in *Escherichia coli* from food-producing animals. *Lancet Infect. Dis*, 16(3):293.

- Sakdinun, P., Sriwongsa, N., Wongmuk, S.,** 2018. Detection of colistin resistance and *mcr-1* gene in *Salmonella* isolated from feces of poultry in western Thailand during 2013-2016. *KKU Veterinary Journal*, 1(28):1-10.
- Sharifi, Y., Akhlaghi, H., Tabatabaei, M., Mostafavi, M.,** 2010. Isolation and characterization of *Lactococcus garvieae* from diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) cultured in Iran, Iran. *J. Vet. Res*, 11(4):342-350.
- Smillie, C., Garcillan-Barcia, M.P., Francia, M.V., et al** 2010. Mobility of plasmids. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74(3):434-52.
- Şahin, İ., Öksüz, Ş., Kaya, D., Şencan, İ., Gülcan, A.,** 2011. Çocuk yaş grubunda servis ve poliklinik kökenli üropatojen Gram negatif çomakların antibiyotik duyarlılıkları, *Ankem Derg*, 1(18):101.
- Tan, K.E., Ellis, B.C., Lee, R., Stamper, P.D., Zhang, S.X., Carrol, K.C.,** 2012. Prospective Evaluation Of A Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time Of Flight Mass Spectrometry System In A Hospital Clinical Microbiology Laboratory For Identification Of Bacteria And Yeasts: A Bench-By-Bench Study For Assessing The Impact On Time To Identification And Cost-Effectiveness. *Johns Hopkins University School Of Medicine, Baltimore, MD, USA*. 50(10):3301-3308.
- Töreci, K.,** 2002. *Escherichia* türleri, Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, 2.baskı. Nobel Tıp Kitabevi Cilt 2. Ankara: s.1564-1575.
- Torres, A.G.,** 2011. Pathogenic *Escherichia coli* in Latin America. *Bentham Books*: p.5-54.
- Timur, G., Karataş, S., Akaylı, T., Ercan, D.,** (2009). “A Histopathological Study of Hexamitiasis in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fry in Turkey”, *Bul . Eur. Ass. Fish Pathol.*, 29(3),104-108.
- TÜİK,** 2019b. Su Ürünleri İstatistikleri, http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=100.
- TÜİK,** 2016. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=97&locale=tr> Erişim Tarihi: 5.12.2023 14.35.
- Terzi, E.,** 2018a. Antimicrobial resistance profiles and tetracycline resistance genes of *Escherichia coli* in Mediterranean mussel and sea snails collected from the Eastern Black Sea Turkey. *Alinteri Journal of Agriculture Sciences*, 33(1):43-49. DOI: 10.28955/alinterizbd.355019.
- Terzi, E.,** 2018b. Yetiştiriciliği yapılan mersin balıklarından izole edilen bakterilerin antimikrobiyal direnç profillerinin belirlenmesi. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 4(2):7-13.

- TÜBA**, 2017. İnsan ve Hayvan Sağlığında Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Antibiyotik Dirençlilik Raporu, Şahin K. 21.
- TEPAV**, 2017. Türkiye'de Antimikrobiyal Direnç Ekonomik Değerlendirme ve Öneriler. URL1.URL1,2015.https://interactivepdf.uniflip.com/2/34834/312877/pub/document.pdf.
- Ustaçelebi, Ş.**, 1999. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitapevi; Ankara, 480-96.
- Vitek, M.S., V3.0** 2016. Database for clinical usage. BioMérieux SA, France.
- Velkov, T., Thompson, P.E., Nation, R.L., Li, J.**, 2010. Structure–Activity Relationships of Polymyxin Antibiotics. Journal of Medicinal Chemistry, 1(53):1898-1916.
- Walsh, C.**, 2000. Antibakteriyel İlaç Direnci Sağlayan Moleküler Mekanizmalar, Nature, 1(406):775-781.
- Wright, A.V., Morelli, L., Vogensen, F.K.**, 2007. Lactic Acid Bacteria, Microbiological and Functional Aspects. CRC Press, Third Edition.
- Wiles, T.J., Kulesus, R.R., Mulvey, M.A.**, 2008, Origins and virulence mechanisms of uropathogenic Escherichia coli, Experimental and molecular pathology, 85(1):11-19.
- Willke, A.**, 2008. Escherichia coli ishallerinde etyoloji ve patogenez. Ankem Derg, 1(22): p.188-191.
- WHO**, 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance, World Health Organization
- WHO**, 2017. World Health Organization global report on surveillance
- WHO**, 2018. Global Antimicrobial Resistance Surveillance System GLASS the detection and reporting of colistin resistance, World Health Organization.
- WHO**, 2019. WHO list of critically important antimicrobials for human medicine WHO CIA list, World Health Organization.
- Wang, C., Feng, Y., Liu, L., Wei, L., Kang, M., ve Zong, Z.**, 2020. Identification of novel mobile colistin resistance gene mcr-10. Emerging Microbes & Infections, 5(9):508-16.
- Wang, R., Lucy, V.D., Shaw, L.P., Bradley, P., Wang, Q., et al.** 2018. The global distribution and spread of the mobilized colistin resistance gene mcr-1. Nature Communications, 2(9):1-9.
- Xavier, B., Lammens, C., Ruhul, R., Kumar-Singh, S., Butaye, P., Goossens, H., Malhotra-Kumar, S.**, 2016. Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, mcr-2, in Escherichia coli, 7;21(27).

- Xiaomin, S., Yiming, L., Yuying, Y., Zhangqi, S., Yongning, W., and Shaolin, W.,** 2020. Microbiological assessment of chicken meat with focus on non-typhoidal Salmonella and mcr-mediated colistin resistance in Enterobacteriaceae 2020;9(9):701.
- Yin, W., Li, H., Shen, Y., Liu, Z., Wang, S., Shen, Z., Zhang, R., Walsh, T.R., Shen, J., ve Wang, Y.,** 2017. Novel plasmid-mediated colistin resistance gene mcr-3 in Escherichia coli. MBio, 8, e00543-17.
- Yang, Y.Q., Li, Y.X., Lei, C.W., Zhang, A.Y., Wang, H.N.,** 2018. Novel plasmid-mediated colistin resistance gene mcr-7.1 in Klebsiella pneumoniae. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1;73(7):1791-1795.
- Yılmaz, A., Gün, H., Yılmaz, H.,** 2002. Frequency of Escherichia coli O157:H7 in Turkish Cattle. Journal of Food Protection, 65(10):1637–1640.
- Yılmaz, N.O., Agus, N., Bozcal, E., Oner, O., Uzel, A.,** 2014. Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. Indian J Med Microbiol 2014; 31(1): 53-9.
- Yılmaz, E.,** 2017. Kinolonlar, Türkiye Klinikleri Enfeksiyon Hastalıkları Özel Dergisi, 10(1):99-105.
- Zurfeh, K., Poirel, L., Nordmann, P., Nüesch-Inderbinen, M., Hächler, H., Stephan, R.Ç.,** 2016. Occurrence of the Plasmid-Borne mcr-1 Colistin Resistance Gene in Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in River Water and Imported Vegetable Samples in Switzerland. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 5(60):2594-2595.