



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ASİ NEHRİNDEN *ESCHERICHIA COLI* İZOLASYONU, FİLOGENETİK
GRUPLARI ve VİRÜLANS ÖZELLİKLERİ

Fatma DEMİRTAŞ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY
OCAK - 2024



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ASİ NEHRİNDEN *ESCHERICHIA COLI* İZOLASYONU, FİLOGENETİK
GRUPLARI ve VİRÜLANS ÖZELLİKLERİ

Fatma DEMİRTAŞ
ORCID:0000-0001-6846-0925

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Ebru Şebnem YILMAZ
ORCID: 0000-0001-6124-4832

HATAY
OCAK - 2024

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ASİ NEHRİNDEN *ESCHERICHIA COLI* İZOLASYONU, FİLOGENETİK
GRUPLARI ve VİRÜLANS ÖZELLİKLERİ

Fatma DEMİRTAŞ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Doç. Dr. Ebru Şebnem YILMAZ danışmanlığında hazırlanan bu tez 22/01/2024 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ebru Şebnem YILMAZ
Başkan

Prof. Dr. Özkan ASLANTAŞ
Üye

Prof. Dr. Aynur DEMİR
Üye

Kod No: 1474

Doç. Dr. Cengiz KARACA
Enstitü Müdürü

Bu çalışma HMKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

Proje No:22.YL.013

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

22/01/2024

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

İmzası

Fatma DEMİRTAŞ

ÖZET

ASİ NEHRİNDEN *ESCHERICHIA COLI* İZOLASYONU, FİLOGENETİK GRUPLARI ve VİRÜLANS ÖZELLİKLERİ

İnsan kaynaklı her türlü kirleticinin nehirlerle girişi, suyun fiziksel, kimyasal ve biyolojik bozulmasına yol açar. Bu çalışma başta tarımsal sulama ve çeşitli amaçlarla kullanılan Amik ovasını besleyen Asi Nehri boyunca belirlenen üç ayrı istasyonda on iki aylık örnekleme yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, otuzaltı yüzey suyu örneğinin bazı su kalite parametre ölçümleri ile toplam koliform, *E. coli* sayımları gerçekleştirilerek, 34 (%94,4) *E. coli* izole edilmiştir. İzolatların 16 farklı antibiyotiğe olan duyarlılıkları, geniş spektrumlu beta laktamaz/plazmid aracılı AmpC beta laktamaz üretimleri, filogenetik grupları ve virülans özellikleri araştırıldı. Ölçümü gerçekleştirilen her su kalite parametresinin kendi içinde değişken değerler gösterdiği belirlendi. Toplam koliform ve *E. coli* sayım sonuçları değerlendirildiğinde en az kontaminasyonun Eşrefiye istasyonu, en çok kontamine istasyonun ise Küçük Asi istasyonu olduğu gözlemlendi. Fenotipik olarak 15 izolat (%44,11) geniş spektrum beta-laktamaz (GSBL) ve 5 izolat ise (%14,7) plazmid aracılı AmpC (pAmpC) beta-laktamaz üretimi yönünden pozitif değerlendirildi. İzolatlarda en yaygın GSBL tipi CTX-M (n:9) ve TEM (n:3) olarak bulunurken, pAmpC tip beta laktamaz üretici izolatların 6'sında CMY-2 tip beta-laktamaz enzimi belirlendi. Oniki (%35,29) *E. coli* izolatı test edilen antibiyotiklerin tamamına duyarlı bulunurken, diğer izolatların tamamı (imipenem hariç) antibiyotiklere değişen oranlarda direnç gösterdi. İzolatların PZR ile filogenetik grup dağılımları; A1 (n:15), B1 (n:6), B2₂ (n:5), B2₃ (n:4) ve A₀ (n:4) olarak belirlendi. *E. coli* izolatlarının %58,8'inde (n: 20) en az bir veya daha fazla virülans geni tespit edilirken, 14 izolatta (%41,2) hiçbir virülans geni belirlenmedi. En yaygın virülans geni olarak *papC* (n:14, %41,2) ve *iucD* (n:11, % 32,3) tespit edildi.

Tez bulguları, Asi Nehrinde mikrobiyolojik kaynaklı ciddi bir su kirliliğinin varlığını göstermiştir. Sonuçlarımız, su kaynaklarının sürdürülebilirliğini sağlamak ve halk sağlığını korumak için su kalitesi yönetiminde daha etkin stratejilerin benimsenmesi gerektiğinin önemini vurgulamaktadır.

2024, 62 sayfa

Anahtar Kelimeler: Asi nehri, *Escherichia coli*, antibiyotik direnci, virülans, filogenetik tiplendirme

ABSTRACT

ISOLATION, PHYLOGENETIC CLASSIFICATION and VIRULENCE CHARACTERISTICS of *ESCHERICHIA COLI* from the ASI RIVER

The entry of all types of human-induced pollutants into rivers leads to the physical, chemical, and biological degradation of water. This study was conducted by sampling at three different stations identified along the Asi River, which feeds the Amik Plain primarily for agricultural irrigation and various other purposes, over a period of twelve months. For this purpose, thirty-six surface water samples were collected, and certain water quality parameters were measured along with total coliform and *E. coli* counts, resulting in the isolation of 34 (94.4%) *E. coli*. The susceptibility of isolates to 16 different antibiotics, production of extended spectrum beta-lactamase/plasmid-mediated AmpC beta-lactamase, phylogenetic groups, and virulence properties were investigated. It was found that each measured water quality parameter exhibited variable values. When evaluating total coliform and *E. coli* counts, it was observed that the Eşrefiye station had the least contamination, while the Küçük Asi station had the most contamination. Phenotypically, 15 isolates (44.11%) were positive for producing extended spectrum beta-lactamase (ESBL), and 5 isolates (14.7%) were positive for plasmid-mediated AmpC (pAmpC) beta-lactamase production. The most common ESBL types found in isolates were CTX-M (n:9) and TEM (n:3), while the CMY-2 type beta-lactamase enzyme was identified in isolates producing pAmpC beta-lactamase. Twelve (35.29%) *E. coli* isolates were found to be susceptible to all tested antibiotics, while all other isolates (except imipenem) showed varying degrees of resistance to antibiotics. Phylogenetic group distribution of isolates by PCR was determined as A1 (n:15), B1 (n:6), B2₂ (n:5), B2₃ (n:4), and A0 (n:4). Virulence genes were detected in 58.8% (n: 20) of *E. coli* isolates, while no virulence genes were detected in 41.2% (n: 14) of isolates. The most common virulence genes detected were *papC* (n:14, 41.2%) and *iucD* (n:11, 32.3%).

The findings of the thesis indicate the presence of significant microbiological pollution in the Asi River. Our results emphasize the importance of adopting more effective strategies in water quality management to ensure the sustainability of water resources and protect public health.

2024, 62 pages

Key Words: Orontes river, *Escherichia coli*, antibiotic resistance, virulence, phylogenetic typing

TEŞEKKÜR

Sevgili Danışmanım Doç. Dr. Ebru Şebnem YILMAZ'a yüksek lisans öğrenimim boyunca ve tez çalışmalarım süresince benden desteğini esirgemeyip her türlü fedakârlığı gösteren, sahip olduğu değerli bilgi ve deneyimleri en iyi şekilde paylaşan değerli hocama en içten teşekkürlerimi sunarım. Sizinle çalışmak benim için büyük bir ayrıcalık ve öğrenme deneyimi oldu. Katkılarınız ve rehberliğinizle dolu dolu geçen bu süre, kariyerimdeki temel taşlarından biri olacaktır. Emeğiniz için minnettarım.

Saygıdeğer Hocam Prof. Dr. Özkan ASLANTAŞ'a, laboratuvar çalışmalarımı kolaylıkla yürütmeme olanak tanıyan, büyük bir bilgi birikimi ve tecrübeyle rehberlik eden, her zaman yardımlarını benden esirgemeyen ve beni daima motive eden değerli öğretmenime sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Verdiğiniz değerli katkılar için minnettarım.

MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na (Proje No: 22.YL.013) maddi destekleriyle katkıda buldukları için içtenlikle teşekkür ederim.

Kızları olmaktan onur ve gurur duyduğum, eğitim hayatım boyunca benden bir an olsun maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen babam Osman DEMİRTAŞ ve annem Nimet DEMİRTAŞ'a teşekkür eder ve sonsuz minnetlerimi sunarım. Her fırsatta yardımına koşan ve bana olan inancımı kaybetmeyen biricik abim Burak DEMİRTAŞ'a yardımları için sonsuz şükranlarımı sunarım. Aile hayatımızda olarak varlığıyla mutluluk veren sevgili abim Zafer DEMİRTAŞ'a en içten sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Su Kaynakları.....	2
1.1.1. Yeraltı Suyu.....	2
1.1.2. Yüzey Suyu.....	2
1.1.2.1. Asi Nehri.....	3
1.2. Su Kalite Parametreleri.....	5
1.3. Su Kaynaklarının Kirliliği.....	7
1.3.1. Noktasal Kaynak Kirliliği.....	8
1.3.2. Noktasal Olmayan Kaynak Kirliliği.....	9
1.4. Mikrobiyal Kirlilik.....	10
1.4.1. Sudaki Patojenler.....	11
1.4.2. İndikatör Organizmalar.....	11
1.5. Koliform Bakteriler.....	12
1.5.1. <i>Escherichia coli</i>	13
1.5.1.1. Enteroagregatif <i>E. coli</i> (EAEC).....	15
1.5.1.2. Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC/STEC).....	15
1.5.1.3. Enteroinvaziv <i>E. coli</i> (EIEC).....	16
1.5.1.4. Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC).....	16
1.5.1.5. Enteropatojenik <i>E. coli</i> (EPEC).....	16
1.5.1.6. Diffüz Adheran <i>E. coli</i> (DAEC).....	17
1.5.2. Enterokoklar.....	17
1.6. Membran Filtrasyon Tekniği.....	18
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	19
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	27
3.1. Materyal.....	27
3.1.1. Araştırma Alanı ve Örnekleme.....	27
3.1.2. Kullanılan Besiyerleri ve Antibiyotik Diskleri.....	28
3.1.3. PZR’da Kullanılan Kimyasallar.....	29
3.1.4. PZR’da Kullanılan Alet ve Ekipmanlar.....	29
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. Su Örneklerinin Toplanması.....	29
3.2.2. Su Kalite Parametrelerinin Belirlenmesi.....	30
3.2.3. Yüzey Suyu Örneklerinin Membran Filtrasyon Yöntemi ile Analizi.....	30
3.2.4. Su Örneklerindeki Total Koliform ve <i>E. coli</i> Sayısının Belirlenmesi.....	30
3.2.5. <i>Escherichia coli</i> İzolasyonu ve İdentifikasyonu.....	31
3.2.6. Genomik DNA Ekstraksiyonu.....	31
3.2.7. Disk Difüzyon Yöntemi İle Antibiyotik Duyarlılık Tespiti.....	31

3.2.8. Çift Disk Sinerji Testi İle GSBL ve AmpC Beta-Laktamaz Üretimini Belirlenmesi	32
3.2.9. GSBL/AmpC Beta Laktamaz Sentezi ile İlgili Genlerin Tanımlanması.....	32
3.2.10. Filogenetik Graplama.....	33
3.2.11. Virülans Faktörlerinin Tespiti	34
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	37
4.1. Su Kalite Parametre Sonuçları.....	37
4.2. Total Koliform Bakteri ve <i>E. coli</i> Sayım Sonuçları	38
4.3. <i>E. coli</i> İzolasyonu ve İdentifikasyonu	39
4.4. Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları	40
4.5. Çift Disk Sinerji Testi İle GSBL Üretimini Belirlenmesi	41
4.6. GSBL/ AmpC Beta-Laktamaz Çeşitlerinin ve Filogenetik Grupların PZR İle Belirlenmesi	42
4.7. İzolatların Virülans Gen Sonuçları	46
4.8. Tartışma	46
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	62

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bazı su kalite parametrelerinin tanımı ve önemi	6
Çizelge 3.1. Geniş spektrumlu beta-laktamaz ve CMY-2 tip beta-laktamaz genlerinin belirlenmesinde kullanılan primerler	33
Çizelge 3.2. Filogenetik analiz için kullanılan primerler	34
Çizelge 3.3. Virülans çalışmasında kullanılan primerler	35
Çizelge 4.1. Örnekleme istasyonlarına ait on iki aylık su kalite parametreleri ile ilgili istatistiksel veriler	37
Çizelge 4.2. Örnekleme istasyonlarına ait on iki aylık total koliform bakteri ve sayımlarıyla ilgili istatistiksel veriler	39
Çizelge 4.3. İzolatların antibiyotipleri, GSBL, AmpC genlerine ve filogruplarına göre dağılımı.....	44
Çizelge 4.4. <i>E. coli</i> izolatlarında virülans genlerin dağılımı.....	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Asi Havzası'nın konumu ve havzadaki başlıca hidrolojik yapılar (Korkmaz ve Karataş, 2009)	4
Şekil 1.2. Endüstri faaliyetleri sonucunda sularda oluşan noktasal kirlilik kaynakları	8
Şekil 1.3. Türkiye-Suriye sınırında Asi Nehri kolunda oluşan noktasal olmayan kirlilik kaynağı	10
Şekil 3.1. Asi Nehri çalışma alanı ve örnekleme noktaları (I: Eşrefiye istasyonu, II: Demirköprü istasyonu, III: Küçük Asi istasyonu) (Kılıç, 2017).....	27
Şekil 3.2. Asi Nehri çalışma alanına ait görüntüler (I: Eşrefiye istasyonu, II: Demirköprü istasyonu, III: Küçük Asi istasyonu)	28
Şekil 4.1. Membran filtrasyon yöntemi ile izole edilen <i>E. coli</i> izolatları	40
Şekil 4.2. <i>E. coli</i> 'ye özgü 16S rRNA primeri kullanılarak gerçekleştirilen PZR sonuçları (<i>E. coli</i> pozitif izolatlar 401 bç)	40
Şekil 4.3. <i>E. coli</i> izolatlarının antibiyotik direnç profilleri	41
Şekil 4.4. Çift disk sinerji testi sonucu: GSBL pozitif.....	42
Şekil 4.5. Çift disk sinerji testi sonucu: GSBL pozitif.....	42
Şekil 4.6. <i>bla</i> _{TEM} pozitif izolatlar (1051 bç)	43
Şekil 4.7. <i>bla</i> _{CTX} pozitif izolatlar (948 bç)	43

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

g	: Gram
L	: Litre
μ	: Mikron
μg	: Mikrogram
μl	: Mikrolitre
μS	: Mikromhos/cm
° C	: Santigrat derece
CFU/mL	: Mililitrede koloni oluşturan birim
kob	: Koloni oluşturan birim
rpm	: Rotation per minute (dakikadaki dönme sayısı)

KISALTMALAR

bç	: Baz Çifti
HMKÜ	: Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi
CLSI	: Clinical Laboratory Standards Institute
ÇDST	: Çift Disk Sinerji
GSBL	: Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz
İYE	: İdrar Yolu Enfeksiyonu
MHA	: Mueller-Hinton Agar
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
TSB	: Tryptic Soy Broth
EPEC:	: Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
EPEC	: Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
EIEC	: Enteroinvaziv <i>Escherichia coli</i>
DAEC	: Diffüz Adheran <i>Escherichia coli</i>
EAEC	: Enteroagregatif <i>Escherichia coli</i>
EHEC	: Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>
STEC	: Shiga Toksini Üreten <i>Escherichia coli</i>
GSBL	: Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz
SKKY	: Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği
TDS	: Toplam Çözünmüş Katı Madde
EC	: Elektriksel İletkenlik
DO	: Suda Çözünmüş Oksijen
TH	: Toplam Sertlik
AKM	: Askıda Katı Madde

KOI	: Kimyasal Oksijen İhtiyacı
BOD ₅	: Biyolojik oksijen ihtiyacı
pH	: Asitlik-bazlık dengesi
T	: Sıcaklık
Q	: Debi
NH ₄ ⁺	: Amonyum azotu
NH ₃	: Amonyak azotu
NO ₂ ⁻	: Nitrit azotu
NO ₃ ⁻	: Nitrat azotu
PO ₄ ⁻³	: Fosfat
Na ⁺	: Sodyum
K ⁺	: Potasyum
Ca ⁺²	: Kalsiyum
Mg ⁺²	: Magnezyum
Cl ⁻	: Klor
Pb ⁺²	: Kurşun
Fe ⁺³	: Demir
Cu ⁺²	: Bakır
Mn ⁺²	: Manganez
As ⁺³	: Arsenik
Zn ⁺²	: Çinko
Cd ⁺²	: Kadmiyum
Cr ⁺³	: Krom
CO ₃ ⁻²	: Karbonat
HCO ₃ ⁻	: Bikarbonat
SO ₄ ⁻²	: Sülfat

1. GİRİŞ

Su, dünyanın hidrosfer tabakasının büyük kısmını oluşturan hem canlı hem de cansız varlıklar için büyük önem arz eden bir maddedir. Su, tüm organizmalar için de önemlidir. Çünkü biyolojik süreçlerinin gerçekleştirilmesi suyun var olabilmesi ile ilgilidir. İnsanların sağlığı açısından suyun, temiz ve güvenilir olması önem teşkil etmektedir (Muller ve Kfir, 2003). Sadece sağlık açısından değil bir yerleşim yerinin oluşabilmesi de temiz ve tatlı suya ulaşım ile var olabilmektedir.

Yerleşim yerlerindeki faaliyetlerden su kaynakları etkilenebilmektedir. Nüfus artışı, kentleşme ve sanayileşme sonucunda oluşan atıklar nehirlere boşaltıldığında su kaynaklarının kirlenmesine ve su kalitesinin bozulmasına neden olur. Su kaynaklarının kirlenmesi sonucunda, suda insan sağlığına zararlı olan mikroorganizmalar ürer. Yüzeysel suları, fekal koliform bakterilerinin üremesi için uygun çevresel ortama sahiptir. Yüzeysel sularındaki bu fekal kirlilik, insan ve hayvan dışkılarından kaynaklanarak sudaki koliform bakterilerinin (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. ve *Serratia* spp.) varlığı kontamisyona işaretler (Dobrijević ve ark., 2017; Akkan ve Topkaraoğlu, 2019).

Escherichia coli suşlarının çoğu kommensaldir fakat belirli virülans genlerin edinilmesi, diyare, idrar yolu enfeksiyonu, menenjit ve septisemi gibi geniş bir bağırsak ve ekstraintestinal enfeksiyon yelpazesine neden olan virülans özelliklerinin gelişmesine yol açabilir (Kaper ve ark., 2004). Niemi ve ark. (1983) yaptığı bir çalışmada, su örneklerinde fekal koliform cins üyeleri *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter* ve *Enterobacter*'in antibiyotik direnç gen belirleyicileri taşıdığı gösterilmiştir. *E. coli*, direnç özelliklerinin ana taşıyıcısı olarak kabul edilir (Oppegaard ve ark., 2001).

Bu çalışma, Asi Nehri'nin belirlenen üç istasyonundan düzenli aralıklarla (on iki aylık) alınan yüzeysel suyu örnekleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bu örneklerden izole edilen *E. coli* izolatları üzerinde antibiyotik duyarlılığı, filogenetik grupların ve virülans özelliklerinin belirlenmesi, GSBL (geniş spektrumlu beta-laktamaz) üretimlerinin belirlenmesi, beta-laktamaz gen varyantlarının (*bla_{SHV}*, *bla_{TEM}*, *bla_{OXA}*, *bla_{CTX-M}*, *CMY-2*) varlığının tespiti ve belirli su kalite parametrelerinin ölçülmesi amaçlanmıştır.

1.1. Su Kaynakları

Su kaynakları, yeraltı suyu (kuyular ve kaynaklar) ve yüzey suyu (nehirler, barajlar ve göller) kaynakları olmak üzere iki ana başlığa ayrılmaktadır (Hammer ve Mackichan, 1981). Dünya ülkelerinin bir kısmı, içme suyu kaynağı olarak yeraltı su kaynaklarını kullanırken bir kısmı da yüzey suyu kaynaklarını kullanmaktadır.

1.1.1. Yeraltı Suyu

Yeraltı suyu, alüvyal malzeme (kil, çakıl, kum veya silt), yeraltındaki çatlaklar ve yarıklar arasında, su tablasının altında bulunan su olarak tanımlanabilir (Hammer ve Mackichan, 1981). Gelişmekte olan ülkelerdeki kırsal nüfusa sahip bölgeler, yeraltı suyunu arıtma olmaksızın kullanır. Yeraltı suyu arıtılmadan kullanılırsa; yüksek nitrat, kalsiyum, magnezyum, fosfat ve florür seviyeleri içerdiğinden içme suyu olarak kullanan insanların sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir (Kongolo, 2011).

Yeraltı suyunun, toprağın doğal filtreleme mekanizması nedeniyle fekal kontaminasyon riskinin düşük olduğu kabul edilir. Bununla birlikte, yeraltı suyu kaynakları, koliform bakteriler ve enterik patojenler tarafından kontaminasyona karşı hassastır, bu da onların patojenler için yüzey suyu kaynakları kadar sık test edilmesi gerektiği anlamına gelir (Fan ve ark., 2009).

1.1.2. Yüzey Suyu

Barajlarda, göllerde, nehirlerde, akarsularda ve okyanusta yerin üstünde bulunan suya yüzey suyu denir (Hammer ve Mackichan, 1981). Türkiye, evsel, endüstriyel ve tarımsal su ihtiyacı için yüzey suyu kaynaklarını kullanır.

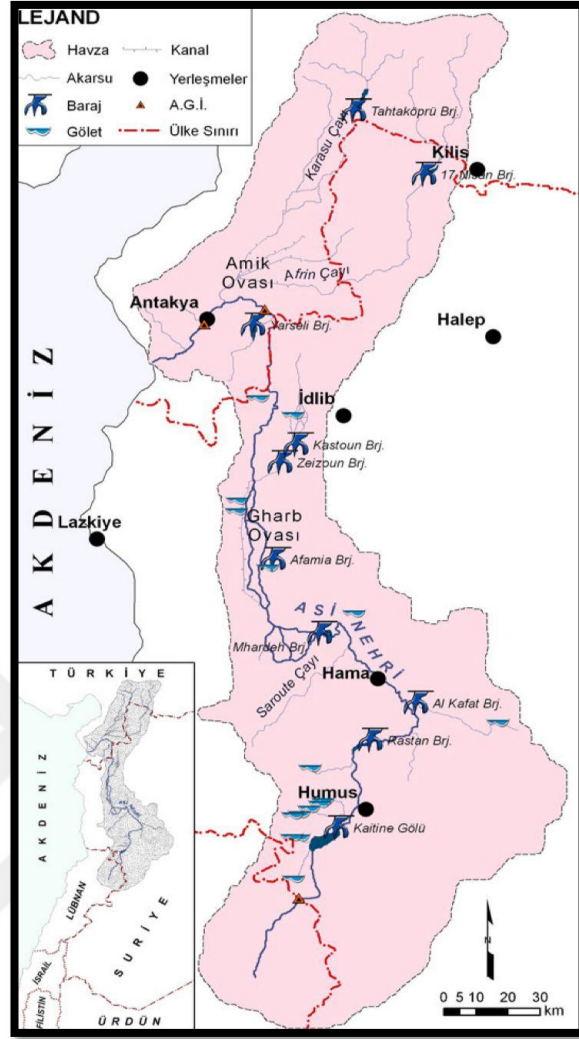
Yüzey sularının kalitesi, sudaki yaşamı destekleyecek ve amaca uygun olarak tüketime hazır konumda olmasına dikkat edilmez. Türkiye’de yüzey sularının (barajlar ve nehirler), %75’i tarımda, %15’i içme ve kullanmada, %10’u ise endüstriyel faaliyetlerde kullanılmaktadır (Aras, 2006). Türkiye’deki su kaynaklarının kalitesi,

endüstriyel ve evsel atıklarla, tarımda kullanılan zirai ilaçlarının (pestisit ve gübre) artmasıyla birlikte azalmaktadır.

Su kaynaklarının çeşitli faktörlerle kirlenmesi zararlı mikroorganizmaların çoğalmasına neden olur. Enterik patojenlerin suda yaşaması dört ana faktöre bağlıdır: suyun sıcaklığı, güneş ışığı, partiküller ve çözünür organik madde miktarı. Patojenler daha düşük sıcaklıklarda daha uzun süre hayatta kalır. *E. coli* O157:H7 içeren gübre ile kirlenmiş yüzey suyu çalışmaları, patojen bakterinin uygun ortam sıcaklığında 92 gün boyunca hayatta kaldığını göstermiştir (Fan ve ark., 2009). Bakteriler, daha düşük miktarda ultraviyole (UV) ışığın bulunduğu karanlık ortamda daha uzun süre hayatta kalır (Sylvia ve ark., 2005).

1.1.2.1. Asi Nehri

Asi Nehri, Lübnan topraklarında doğar, sınırlarını aşarak Suriye topraklarına ve buradan da Türkiye'ye ulaşır. Suriye'de 120 kilometrelik bir mesafe kat ettikten sonra, 22 kilometre boyunca Türkiye-Suriye sınırını oluşturur ve ardından 88 kilometre akarak Hatay'ın Samandağ ilçesinden Akdeniz'e dökülür (Cirit, 2007; Dalar, 2010). Asi Nehri'ne Türkiye sınırları içerisinde Karasu Çayı, Afrin Çayı, Küçük Asi (Karadere) Çayı ve Defne Çayı da katılmaktadır (Şekil 1.1). (Maden, 2011).



Şekil 1.1. Asi Havzası'nın konumu ve havzadaki başlıca hidrolojik yapılar (Korkmaz ve Karataş, 2009)

Asi Havzası'nın 26.530 km²'lik bir alana sahip olduğu tahmin edilmekte olup, bu alanın %25'i Türkiye'de, %67'si Suriye'de ve %8'i Lübnan'da bulunmaktadır (FAO, 2009). Asi Nehri üzerinde Lübnan'da iki küçük baraj bulunurken, Suriye'de ise iki baraj ve bir bent mevcuttur. Her iki ülke de bu nehir üzerinde sulama amacıyla yoğun bir şekilde faaliyet göstermektedir. Suriye, ortalama yıllık kapasitesi 2,7 milyar m³ olan Asi sularının yaklaşık %90'ını kullanmakta ve Türkiye-Suriye sınırında yılda ortalama 270 milyon m³ su bırakmaktadır. Suriye'nin Asi Nehri'ni özellikle tarımsal sulama amacıyla yoğun bir şekilde kullanması ve tehlikeli atıkların varlığı, Asi sularının Türkiye'ye çok az bir kısmının ulaşmasına neden olmaktadır. Bu durum, Hatay'daki Amik Ovası'nın susuz kalmasına ve kurak mevsimlerde nehir sularının denize bile ulaşamamasına sebep

olmaktadır (Dalar, 2010; Maden, 2011). Nehirdeki akış gözlem istasyonlarında yapılan çalışmalar, havzanın yıllık 2,7 milyar m³ su potansiyelinin 0,3 milyar m³'ünün Lübnan'dan, 1,2 milyar m³'ünün Suriye'den, Afrin'den Suriye'ye geçen sular da dâhil olmak üzere 1,3 milyar m³ suyunun ise Türkiye'den geldiğini ortaya koymuştur (Maden, 2011). Bu bağlamda, Asi Nehri'nin sularının %11'inin Lübnan'dan, %48'inin Suriye'den ve geri kalan %41'inin Türkiye'den kaynaklandığı belirtilmektedir. Ayrıca, suyun %90'ının Suriye'nin, %7'sinin Lübnan'ın ve yalnızca %3'ünün Türkiye'nin kullandığı ifade edilmektedir (Orhon, 2015).

Asi Nehri'nin debisi kış aylarında yağışlara bağlı olarak artış göstermektedir. Yaz aylarında ise debi kuraklığa ve suyun kullanımına bağlı olarak azalmaktadır.

1.2. Su Kalite Parametreleri

Su kalitesi, çeşitli sektörlerde ve toplumun genel sağlığı üzerinde doğrudan etkisi olan önemli bir konudur. Su kalite parametreleri, çeşitli kaynaklardan gelen suyun içme suyu, tarımsal sulama, endüstriyel kullanım ve diğer amaçlar için uygun olup olmadığını belirlemek için incelenir.

Su kalitesini ölçmek için kullanılan farklı parametreler ve izleme stratejileri genellikle su kaynağının türüne, kullanım amacına ve mevcut kaynaklara göre değişiklik gösterebilir. Çizelge 1.1'de yüzey sularının ölçülmesinde ve değerlendirilmesinde kullanılan parametrelerden bazıları tanımlanmıştır.

Çizelge 1.1. Bazı su kalite parametrelerinin tanımı ve önemi

Parametre	Birim	Tanımı	Önemi
pH	-	Bir çözültideki H ⁺ iyonlarına bağlı olarak asitlik ya da bazlık derecesini gösteren ölçü birimidir.	Suyun pH'ı suda gerçekleşen kimyasal ve biyolojik tepkimeleri etkilemesi sebebi ile önemlidir (Anonymous, 2016b).
TDS (Suda çözülmüş toplam katı madde)	mg/L	Suda çözülmüş olan toplam katı maddeyi gösteren ölçü birimidir.	Numuneden suyun buharlaştırılmasının ardından geride kalan sodyum, kalsiyum, magnezyum, bikarbonat, klorür ve diğer çözünen maddeleri içerir (Anonymous, 2016b)
EC (Elektriksel iletkenlik)	µS/cm	Suyun elektrik akımını iletme yeteneğini ölçen bir parametredir.	Suda bulunan iyon miktarı arttıkça, özellikle çözülmüş tuzlar, EC değeri artar (Anonymous, 2016b).
DO (Suda çözülmüş oksijen)	(mg/L) (ppm)	Su veya atık su içinde çözülmüş halde bulunan oksijen miktarıdır (Gündüz, 2016).	Sudaki organizmalar biyolojik süreçler için oksijene bağımlıdır.
T (Sıcaklık)	°C	Suyun sıcaklığını ya da soğukluğunu ifade etmek için kullanılan fiziksel bir parametredir.	Suyun sıcaklığı, suda bulunan çözülmüş oksijen miktarını etkilemesi, suda gerçekleşen kimyasal ve biyolojik tepkimeleri ve akuatik sistemdeki tür çeşitliliğini etkilemesi sebebiyle önemlidir (Anonymous, 2016a).

Çizelge 1.1. (Devamı) Bazı su kalite parametrelerinin tanımı ve önemi

Tuz	ppt	Sudaki tuz oranını gösteren parametredir.	Suyun tuzluluk oranına bağlı olarak kullanıma uygunluğu sebebiyle önemlidir.
NH₄⁺ (Amonyum)	mg/L	Bir litre suda bulunan amonyum miktarını mg cinsinden ifade eden parametredir.	Amonyum, sucul organizmalar için toksik olabilir. Amonyum, sudaki oksijen miktarını azaltabilir.
NO₂⁻ (Nitrit)	mg/L	Bir litre suda bulunan nitrit miktarını mg cinsinden ifade eden parametrelerdir.	Nitrit, sucul organizmalar için toksik olabilir.
NO₃⁻ (Nitrat)	mg/L	Bir litre suda bulunan nitrat miktarını mg cinsinden ifade eden parametrelerdir.	Aşırı nitrat seviyeleri, sucul ortamlarda alg patlamalarına ve sucul yaşamın bozulmasına yol açabilir.
Toplam Fosfor	mg/L	Bir litre suda bulunan fosfor miktarını mg cinsinden ifade eden parametrelerdir.	Fosforun artışı sudaki ekosistemi bozarak ötrofikasyona* neden olur.

* Göl gibi herhangi bir büyük su ekosisteminde, başta karalardan gelenler olmak üzere, çeşitli nedenlerle besin maddelerinin büyük oranda artması sonucu, plankton ve alg varlığının aşırı şekilde çoğalması

1.3. Su Kaynaklarının Kirliliği

Su, canlı ve cansız her ortam için önemli bir maddedir. Su, çeşitli nedenlerle kirlendiği takdirde hem canlı hem de cansız çevre bundan etkilenmektedir. Su kaynakları kirlendiğinde suyun kimyasal, mikrobiyolojik ve fiziksel özellikleri de değişikliğe uğramaktadır. Bu durumda ise suyun kalitesi değişmektedir.

Su kaynakları, ağır metallere, tarım ilaçlarına, suda çözülmüş maddelere ve daha birçok kirleticilere maruz kalarak kolayca kirlenebilir. Ayrıca su kaynakları, doğal ve antropojenik faaliyetler sonucunda da kirlenmektedir. Suların kirlenmesi, suya yaşamları boyunca ihtiyacı olan tüm canlılar için özellikle insanların sağlığı için bir tehdit oluşturmaktadır (Kong ve ark., 2009).

Hızlı kentleşme ve endüstrileşme sonucu yüzey ve yer altı suları da bu hıza bağlı olarak kirlenmektedir. Yüzey suyu kaynaklarının kalitesinin bozulması sudaki yaşamın bütünlüğünü olumsuz etkilemektedir. Arıtılmamış kirli suların nehirlere ve akarsulara ulaşması sonucunda belediyeler ciddi güçlüklerle karşılaşmaktadır. Endüstriyel ve kentleşme sonucu kirlenen suların arıtılması ekonomik yüke neden olur (Oelofse ve Strydom, 2010). Su kaynakları noktasal ve noktasal olmayan kirliliğe bağlı olarak kirlenmektedir.

1.3.1. Noktasal Kaynak Kirliliği

Noktasal kaynak kirliliği, kirlenici unsurların belirli yerlerden kaynaklanmasından ortaya çıkmaktadır. Noktasal kaynak kirliliğine daha çok endüstriyel ve evsel atıklar, kanalizasyon arıtma tesisleri ve yer altı madenleri neden olmaktadır. Bu kirlilik, Şekil 1.2'de gösterildiği gibi, tespit edilmesi oldukça kolaydır. Bununla birlikte bu kirlilik kolayca izlenebilir ve önenebilir. Ayrıca noktasal kaynak kirliliğine daha çok kentsel meydanlarda rastlanmaktadır.



Şekil 1.2. Endüstri faaliyetleri sonucunda sularda oluşan noktasal kirlilik kaynakları

Belediyelerin yetersiz arıtma tesislerinden yeterince arıtılmamış suların, evsel ve endüstriyel atıkların nehirlere ve akarsulara karışması sulardaki kirliliğin başlıca kaynağıdır. Endüstriyel tesislerden kaynaklanan atık sular asit, alkali, yağ, tuz, zehir ve

bazen de patojen bakteriler gibi zararlı kimyasallar içerebilir. Endüstriyel kirleticilerin en önemli kaynaklarından, şeker, gıda fabrikalarından ve mezbahalardan gelen organik atıklardır. Evsel atık sularından ise yüzey sularına, azot ve fosfor gibi kirlilik kaynakları karışabilir. Tarım alanlarından gelen akıntılar yüzey sularında ötrofikasyona neden olup suyun ekosistem dengesini bozabilir (Gumbo ve ark., 2003).

İnsanların tüketmek amacıyla kullandığı sular, iyi arıtılmamış olduğunda standartların üzerinde bakteri içerebileceğinden insan hayatının risk altında olduğunu söylemek mümkündür. Fekal maddeler, yüzey sularına ulaştığında bulaşıcı bakteri, virüs veya parazit içerebilir. Bu durumda ise insanlar ve hayvanlar ölümcül sonuçlar doğurabilecek hastalıklara yakalanabilir (Hill, 2004).

1.3.2. Noktasal Olmayan Kaynak Kirliliği

Noktasal olmayan kirlilik kaynağı, kaynağının belli olmadığı veya birçok sektörün karışımından kaynaklandığı bir kirlilik türüdür. Atmosferdeki kirli havanın yağışlarla birlikte yeryüzüne ulaşip sulara karışması, sedimentlerin kirlenmesi, tarım arazilerinde kullanılan pestisitlerin ve herbisitlerin yüzey akışıyla taşınarak yer altına sularına karışması noktasal kirlilik kaynağının nedenleridir (Quibell, 2000; DWAF, 2004a; Heath ve ark., 2009) (Şekil 1.3).

Çimlerin ve ekinlerin biçip sulanması, tarım arazilerinde tarım ilaçlarının kullanımıyla birlikte, yerleşim yerlerinden kullanılıp atılan zehirli atıkların birleşerek nehir sistemine ulaşması suyun kirliliğine neden olur (Ndlovu, 2013).

Noktasal olmayan kirlilik kaynağı bakıldığında daha az görünmesine rağmen daha çok kirletici unsur taşır ve geniş alanlara yayılır. Noktasal kirlilik kaynağına göre noktasal olmayan kirlilik kaynağı, yer altı ve yüzey sularının daha çok kirlenmesine neden olur.



Şekil 1.3. Türkiye-Suriye sınırında Asi Nehri kolunda oluşan noktasal olmayan kirlilik kaynağı

1.4. Mikrobiyal Kirlilik

Toprakta bulunan çoğu mikroorganizmaların yağışların olduğu mevsimlerde ve evsel, endüstriyel ve hayvansal atıkların bu yağışlarla yıkanıp su kaynaklarına ulaşarak burada mikroorganizma artışlarına sebebiyet vermesiyle birlikte sulardaki kirlilik oranı artar (Muller ve Kfir, 2003; Barnes ve ark, 2004; Ijabadeniyi, 2010).

Belediye kanalizasyonları, gecekondu, endüstriyel ve kentsel yerleşim yerleri mikrobiyolojik bakımdan su kalitesini etkileyen kaynaklardır. Su kaynaklarını etkili olarak izlemek ve önlem almak önem teşkil etmektedir. Çünkü su kaynaklı hastalıkların ciddi sağlık sorunlarına yol açtığı bilinmektedir (Ndlovu, 2013). Belediyeler ve su idareleri, içme suyunun kaynaklarındaki indikatör organizmaları tespit etmede hassas ve kullandığı yöntemler bakımından yüksek derecede güvenilir olmalıdır (Payne, 2007).

İçme sularının güvenilir bir yöntemle arıtılmadan doğrudan insanların kullanıma sunulması, suyun içerdiği mikrobiyal kirlilik insan sağlığını önemli ölçüde tehdit eder. Yüzeysel sularında yaygın olarak bulunan *Escherichia coli*, belediyelerin atık su deşarjlarından, yağmur sularından, tarım arazilerinden, insanların ve hayvanların atıklarından kaynaklanır ve sularda fekal kirlilik oluşturur. Yüzeysel sularında fekal kontamisyona sebep olan mikrobiyal kirlilik insan hastalıklarına ve ekonomik kayıplara neden olur (An ve ark., 2002; Barnes, 2003; Gemmell ve Schmidt, 2010).

1.4.1. Sudaki Patojenler

Sudaki patojenler mikroorganizmalar, virüsler, parazitler veya bakteriler gibi canlı organizmalardır. Bu patojenler genellikle kirli su kaynaklarından kaynaklanır ve insan sağlığı için ciddi risk oluşturabilirler (Leclerc ve ark., 2002; Ashton, 2010). Özellikle sulara bulunan bu enterik patojenler, su yoluyla bulaşan hastalıklara neden olabilirler. Su kaynaklarından kaynaklanan patojenik mikroorganizmalardan *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Vibrio cholerae*, *Cryptosporidium*, *Klebsiella aerogenes* ve *Pseudomonas fluorescens* ishale, dizanteriye, koleraya ve sindirim sistemi hastalıklarına neden olur (Obasohan ve ark., 2010; Prescott ve ark., 2005).

Sudaki patojenlerin kontrol edilmesi, suyun güvenliğini sağlamak için temel bir halk sağlığı önlemidir. Su arıtma ve dezenfeksiyon işlemleri, bu patojenlerin su kaynaklarından uzak tutulmasında önemli bir rol oynar.

1.4.2. İndikatör Organizmalar

İndikatör organizmalar, fekal maddede bol miktarda bulunan ve su kirliliğinin tespiti için kullanılan belirli mikroorganizmalardır. Su kaynağındaki fekal kontaminasyonu gösteren indikatör organizmalar su kalitesi hakkında bilgi verir. Bu zararsız organizmalar kontamine sulara uzun süre kalır (Okpokwasili ve Akujobi, 1996). İndikatör mikroorganizmaların varlığı, suda patojen mikroorganizmaların mevcut olabileceğini gösterir. Dolayısıyla bir mikroorganizmanın indikatör organizma olarak kabul edilebilmesi için belirli kriterler vardır;

- i. İnsan veya hayvan dışkısında çok sayıda bulunmalıdır.
- ii. Çeşitli su kaynaklarından elde edilen sulara indikatör organizma olarak analize uygun olmalıdır: yeraltı suları, nehirler ve akarsular, okyanus ve deniz, atık su.
- iii. Diğer patojenik organizmalarla ilişkili olmalıdır.
- iv. Basit ve uygun maliyetli tekniklerle tespit edilebilmelidir.
- v. Dış ortamda uzun süre hayatta kalabilmelidir (Prescott ve ark., 2005; Myers ve ark., 2007).

Su kalitesinin genel durumu hakkında bilgi sağlamak için koliform bakteriler, fekal streptokoklar ve enterokoklar yaygın olarak kullanılan indikatör organizmalardır. Koliform ve fekal streptokoklar daha çok tatlı sulardaki patojenleri tespit etmede kullanılırken enterokoklar ise tuzlu sulardaki fekal kontamasyonu saptamada kullanılır (Prescott ve ark., 2005; Buckalew ve ark., 2006).

1.5. Koliform Bakteriler

Koliform bakteriler, genellikle *Enterobacteriaceae* familyasına ait olan ve aerobik veya fakültatif anaerobik, Gram negatif, spor oluşturmeyen basil şeklindeki bakterilerin geniş bir grubunu temsil eder. Multi Tube Fermentation (MTF) tekniği ile 35-37°C sıcaklıkta 48 saat içinde karbonhidratlar laktik aside dönüşür. Bakteriyel analizler, *Enterobacteriaceae* familyasının üyelerinde β -galaktosidaz enziminin koliform grubuna özgü olduğunu göstermektedir (APHA, 1992). Benzer özellikleri paylaşan ve büyük ölçüde fekal maddede bulunan *Enterobacteriaceae* familyası üyeleri arasında *Shigella*, *Salmonella* ve *Serratia* cinsleri de bulunmaktadır. Koliformlar, insanların ve diğer sıcak kanlı hayvanların sindirim sisteminden (dışkı kaynaklı) ve doğal çevreden (dışkı kaynaklı olmayan) olmak üzere iki farklı kaynaktan gelir (Prescott ve ark., 2005).

Koliform bakteri grubu, birçok kaynaktan bakteriyel kirliliğin bir göstergesi olarak kullanılmıştır; ancak koliformlar çeşitli ortamlardan kaynaklanabilir. Toplam koliformlar, toprakta, suda veya bitki örtüsünde düşük seviyelerde bulunabilir ve genellikle zararsızdır. Tipik koliform cinsleri arasında *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* ve *Serratia* türleri bulunur (Prescott ve ark., 2005). Toplam koliform grubunun yaklaşık %60 ila %90'ı dışkı kaynaklı koliformlardan oluşurken, dışkı kaynaklı koliformların yaklaşık %90'ı *Escherichia* türündendir (APHA, 1992).

Fekal koliformlar, toplam koliform bakteri grubunun bir alt grubunu oluşturur ve 44,5°C'lik yüksek sıcaklıklarda üreyebilme özellikleri ile ayırt edilebilirler. Sıcak kanlı hayvanların sindirim sisteminde bulunan fekal koliformların termotolerant özelliği, onları diğer koliformlardan ayırır (Craun, 1986; Myers ve ark., 2007). Fekal koliformlar, insanlar da dahil olmak üzere sıcak kanlı hayvanların bağırsak yollarında bulunan mikroorganizmaların yaklaşık %10'unu oluşturur ve içme, eğlence ve sulama suyu için indikatör organizma olarak kullanılır (Prescott ve ark., 1993). İnsan

gastrointestinal sistemi, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Shigella sonnei*, *Vibrio cholerae* ve *Salmonella Typhimurium* gibi birçok mikroorganizmayı barındırır. Bu organizmalar su veya gıda ürünlerinin fekal kontaminasyonu için göstergeler olarak kullanılabilir. Farklı araştırma grupları, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *S. sonnei*, *S. Typhimurium*, *Micrococcus luteus*, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *E. coli* ve *Bacillus cereus*'u çeşitli numunelerde belirlemeye yönelik her bir bakteri türünü tanımlamaya yönelik spesifik genleri hedefleyen türe özgü primerleri kullanan geleneksel PZR yöntemleri geliştirmişlerdir (Liu ve ark., 2008; Zhu ve ark., 2008; Hsu ve ark., 2007; Yeh ve ark., 2002; Mukamolova ve ark., 2002; Spilker ve ark., 2004; Scarpellini ve ark., 2004; Kong ve ark., 1999; Manzano ve ark., 2003).

1.5.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli, 1885 yılında Alman bakteriyolog Theodor Escherich tarafından keşfedilmiştir. Dr. Theodor Escherich, bebeklerin bağırsak mikropları ve sindirim sistemi üzerine yaptığı çalışmalar sırasında, bağırsak florasında *Bacterium coli commune* adını verdiği hızla çoğalan bir bakteri keşfetmiştir. Bu bakteriyi inceledikten sonra, emzirilen yenidoğanlarda sindirim sisteminin işlevi bozulmadığı için bu mikroorganizmanın kommensal olarak kabul edilebileceği sonucuna varmıştır (Escherich, 1989). Theodor Escherich onuruna, bilim insanları tarafından bu bakteriyeye *Escherichia coli* adı verilmiştir.

Günümüzde *E. coli*, mikrobiyoloji, tıp, genetik ve biyoteknoloji gibi çeşitli araştırma alanlarında önemli bir model organizma olarak kabul edilmektedir. Bilim insanları, bu bakterinin genetik yapısını, patojenik özelliklerini, metabolizmasını ve bağırsak ekosistemleriyle etkileşimini anlamak için *E. coli* üzerine çeşitli çalışmalar yürütmektedirler.

E. coli'nin karakteristik özelliklerinden bahsedecek olursak; çoğunlukla sıcakkanlı organizmaların gastrointestinal sisteminin doğal bir üyesi olup, 2-4 µm × 1-1,5 µm boyutlarında, Gram-negatif, basil şekilli, fakültatif anaerobik bir bakteridir. Taksonomik olarak *E. coli*, *Enterobacteriaceae* familyasına ait olup, bağırsak mikrobiyotasının önemli bir bileşeni olan ve K vitamini ile B12 vitamini üretimi gibi temel metabolik

süreçlere katılan koliform bir bakteridir (Bentley ve Meganathan, 1982, Bilgehan, 2002).

E. coli, *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri gibi katalaz pozitif, oksidaz negatif, glikozu fermente edebilen ve nitratları nitrite indirgeyebilen bir bakteridir. Genel üretim besiyerlerinde kolayca çoğalabilirler. Optimal üreme sıcaklıkları 37 °C'dir ve çeşitli karbon kaynaklarını kullanabilirler, bununla birlikte gaz oluşumu gözlenir. D-Glukozu fermantasyon yoluyla asit oluştururlar ve Metil-red testi pozitif sonuç verir; ancak asetil-metil karbinol oluşturmazlar (Voges-Proskauer testi negatiftir). Ayrıca, sitratı karbon kaynağı olarak kullanamazlar. Triptofanaz enzimleri ile triptofandan indol oluştururlar. IMVIC testlerinde +++- sonucunu verirler (Bilgehan, 1992).

E. coli, laktozu parçalama yeteneğine bağlı olarak selektif besiyerlerinde diğer laktoz negatif *Enterobacteriaceae* üyelerinden ayrılır. Laktozu kullanamayan bazı türler dışında, *E. coli*'nin McConkey agarda pembe-kırmızı, EMB (Eosin Methylene Blue) agarda ise metalik refle veren koloniler oluşturmaktadır (Bilgehan, 1992).

E. coli grubunun çoğu suşu, normal bağırsak florasının patojenik olmayan üyeleri olsa da, bazıları idrar yolu enfeksiyonları, ishal, solunum yolu hastalıkları ve zatürre gibi sağlıkla ilgili çeşitli hastalıklara neden olabilir. Patojenik mikroorganizmalardan *E. coli*'ye horizontal yanal gen transferi, aynı zamanda yeni virulent *E. coli* suşlarının ortaya çıkmasına da yol açabilir (Sooka ve ark., 2004). Kazanılan virülans faktörlerine bağlı olarak, patojenik *E. coli* suşları Enteroagregatif *E. coli* (EAEC), Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) ve yakın zamanda önerilen Diffüz Adherent *E. coli* (DAEC) şeklinde sınıflandırılmıştır (Hunter, 2003; Sooka ve ark., 2004; Prescott ve ark., 2005; O'Sullivan ve ark., 2007).

Escherichia coli'nin Virülansı

Virülans, bir mikroorganizmanın hastalık yapma yeteneği veya patojenik potansiyelidir (Meriam-Webster, 2018). Patojen bir mikroorganizmanın virülansı, genellikle belirli faktörler aracılığıyla, enfekte ettikleri organizmada hastalık oluşturma kabiliyetleri olarak tanımlanır (Erol, 2007). Bu faktörler arasında toksinler, enzimler, yapışma faktörleri ve diğer moleküller bulunabilir.

Bazı *E. coli* suşları virülans faktörleri olarak bilinen belirli moleküller veya yapılar üretir, bu da onları insanlarda hastalığa neden olabilen patojenik *E. coli* türlerine dönüştürür. *E. coli*'nin virülansı, hastalık yapıcı yeteneklerine ve insanlarda hastalığa neden olan özelliklerine bağlıdır. Bazı *E. coli* suşları, çeşitli hastalıklara neden olabilen toksinler üretebilir.

1.5.1.1. Enteroagregatif *E. coli* (EAEC)

Enteroagregatif *E. coli* suşları, epitel hücrelerinin yüzeyine ve hücreler arasındaki lamellere yığılmış tuğla düzeninde dizilen *E. coli* suşları olarak tanımlanmaktadır. Bu suşlar bağırsakta karakteristik bir histopatolojik lezyon ve birkaç spesifik virülans faktörü üretirler (Vilalta, 2018).

İnsanlardaki ishal vakalarının önemli bir nedeni olarak tanımlanmış olan EAEC suşu, Hep-2 hücrelerine adhere olma yeteneğine sahip olduğundan bağırsak mukozası üzerinde sitotoksik etki gösterirler (Prescott ve ark., 2005).

EAEC, çocuklarda akut veya kronik ishale neden olabilen *aggR* genleri tarafından kodlanan agregatif adhezyon fimbrialarının (AAF) varlığı ile diğer *E. coli* suşlarından ayrılır. EAEC, ETEC tarafından üretilen ısıya dayanıklı enterotoksine benzer bir ısıya dayanıklı enteroagregatif toksin üretir. Bu toksini kodlayan *astA* geni plazmit üzerinde yer alır ve klinik semptomların bir kısmından sorumlu olduğu düşünülmektedir (O'Sullivan ve ark., 2007).

1.5.1.2. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC/STEC)

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), dünya çapında dağılmış iyi bilinen bir gıda kaynaklı hastalıklara yol açan bir patotiptir. EHEC, Shiga toksini (Stx) üretebilme yeteneğine sahip olduğu için önemli bir halk sağlığı tehdidi oluşturabilmektedir. Bu toksin, hemolitik üremik sendrom (HÜS) gibi ciddi komplikasyonlara neden olabilir (Vilalta, 2018). EHEC enfeksiyonları genellikle kontamine sular veya gıdalar aracılığıyla bulaşır ve bu tür enfeksiyonlar çocuklarda ve gençlerde daha sık görülür (Kongur, 2017).

Enterohemorajik *E. coli*, konak hücrelerinin protein sentezini inhibe ederek insanlarda hastalıklara neden olan shiga benzeri toksinlerden (*stx1* ve *stx2*) bir veya

daha fazlasını üretir. EHEC patotipine sahip bazı suşlar aynı zamanda enterositlere adhezyon ve mikrovillusların tahrip edilmesi gibi patolojik değişikliklere de neden olmaktadır (O'Sullivan ve ark., 2007).

1.5.1.3. Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) suşları genellikle gastrointestinal sistemde enfeksiyonlara yol açar ve yüksek ateş, karın krampları ile kan ve mukus içeren dizanteri tarzı diyareye neden olabilir (Kaper ve ark.,2004). Kolon mukoza enterositlerini etkileyen bir enterotoksin veya sitotoksin üreten EIEC, bağırsak epitel hücrelerine nüfuz eder ve çoğalarak ciddi ishale neden olabilir (Prescott ve ark., 2005). EIEC, *Shigella* türlerinde de bulunan 220 kb büyüklüğünde bir plazmid üzerinde yer alır ve hücreler arasında kendi tranferini sağlama yeteneğine sahiptir. EIEC'nin tam virülansını sağlamak için, çeşitli plazmid-kodlu proteinlerin üretilmesi gereklidir. Bu invazyon plazmid antijenleri (Ipa), özel bir gen dizisi olan Ipa operonu içinde bulunur. (O'Sullivan ve diğerleri, 2007).

1.5.1.4. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), genellikle sindirim sisteminde enfeksiyonlara neden olan bir bakteri patotipidir. Yetersiz sağlık koşullarına sahip bölgelere uzun süre seyahat eden yolcularda daha sık karşılaşılır. ETEC genellikle kontamine gıda veya su tüketimi yoluyla bulaşır (Daniels, 2006).

Kothary ve Babu (2001) tarafından belirtildiği üzere, insanlarla ilişkilendirilen enterotoksijenik *E. coli* suşları, ısıya duyarlı bir enterotoksin olan LT1 ile yapı ve ısı bakımından kolera toksinine benzeyen ısıya dayanıklı enterotoksinler (ST1a ve/veya ST1b) üreterek, iltihap, mukus veya kan olmadan hafif veya şiddetli sulu ishale neden olurlar.

1.5.1.5. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) terimi, ishale neden olan, bağırsak epiteline yapışarak yok etme lezyonları oluşturan ve Shiga toksinleri üretemeyen *E. coli* suşlarını

ifade eder. Ayrıca bu suşlar ısıya dayanıklı (ST) veya ısıya dayanıksız (LT) enterotoksinlere sahiptir (Nataro ve Kaper, 1998).

EPEC suşları ile ilişkilendirilen kanlı ishal, bağırsak enterositlerine adhezyon süreciyle bağlantılıdır. Bu adhezyon, konakçı hücrenin sinyal iletimini etkileyerek, yapışma ve yıkımlayıcı lezyonların oluşumuna neden olarak, fiziksel değişimlere yol açar (O'Sullivan ve ark., 2007).

1.5.1.6. Diffüz Adheran *E. coli* (DAEC)

Diffüz adheran *E. coli* (DAEC) ince bağırsaklarda hastalığa neden olan bir patotiptir. DAEC grubundaki suşlar Hep-2 hücrelerine diffüz olarak adhere olan ancak EPEC patotiplerinde görülen mikrokoloniler oluşturmaz (Nataro ve Kaper, 1998).

Hasanlı (2020) DAEC suşlarının çocuklarda hastalık yapma olasılığı oldukça yüksek olduğunu, gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerde görülebildiğini ve tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonlarına da neden olabildiğini bildirmiştir.

1.5.2. Enterokoklar

Enterokoklar, genellikle insan ve hayvan bağırsaklarında bulunan Gram-pozitif, spor oluşturmeyen, 10-45 °C'de üreyebilen fakültatif anaerobik bir bakteridir. Enterokoklar, genellikle dışkı kaynaklı olup olumsuz çevre koşullarına dayanıklıdır; bu nedenle sıklıkla gıda, bitki, su ve topraktan izole edilirler (Ndlovu, 2013; Matyar ve Dinçer, 2010; Health Protection Agency, 2005).

İnsanlarda en sık rastlanan enterokok türleri *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'dur. Dünya genelinde bakteriyemi, idrar yolu enfeksiyonları (İYE), endokardit, yara enfeksiyonları, menenjit, karın içi ve pelvik enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Vu ve Carvalho, 2011).

Enterokoklar, deniz suyunda fekal koliformlara göre daha dirençli oldukları için daha uzun yaşamaktadırlar. Bu özellikleri nedeniyle fekal kirlilik indikatörleri olarak önemli organizmalardır (Figueras ve ark., 1997). İnsan dışkısında genellikle *E. coli*'den sayıca daha az bulunan enterokokların, sulardaki enterik patojen varlığını fekal koliform bakterilere kıyasla daha iyi yansıttığı görüşü hakimdir (Besler, 2002).

1.6. Membran Filtrasyon Tekniği

Su örneklerinin incelenmesi sürecinde, mikroorganizmaların tespiti amacıyla kullanılan membran filtreler, mikroorganizmalardan daha küçük por çapı genişliğine sahiptir. Bu filtreler, vakum yardımı ile su numunelerinin geçirilerek su içinde bulunan bakterilerin filtre üzerinde etkili bir şekilde tutulmasını sağlamaktadır. Daha sonraki aşamada, membran filtreler, analiz edilmek istenen mikroorganizma türüne özgü selektif besiyerine transfer edilerek, uygun sıcaklık ve sürede inkübasyona bırakılmaktadır. Bu yöntem, inkübasyon süreci sonrasında besiyerinde oluşan kolonilerin membran filtre yüzeyindeki sayımını ve değerlendirmesini içermektedir. Analiz sonuçları, genellikle inkübasyon sonrasında elde edilen koloni sayısının filtre edilen hacime oranı olarak sunulmaktadır. Bakterilerin analizi için kullanılan membran filtreler, 47 mm çapında olup; por genişliği 0,22 µm ile 0,45 µm arasında değişmektedir. Bu filtrelerin tercih edilme nedenleri arasında, çok sayıda örneğin işlenebilmesi, az miktarda sarf malzeme kullanımı, hızlı sonuç elde etme imkânı ve sonuçların doğrudan sayılarak yorumlanabilmesi gibi avantajlar bulunmaktadır. Bu özellikleri sayesinde, bu yöntem, diğer analiz yöntemlerine kıyasla daha avantajlı bir seçenek olarak öne çıkmaktadır (Güngör, 2018).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Yüzey sularında yaygın olarak bulunan *E. coli*'nin, virülans özellikleri halk sağlığı açısından artan bir öneme sahiptir. Bu nedenle, yüzey sularında su kalitesinin izlenmesi ve *E. coli*'nin tespit edilmesi oldukça önem taşımaktadır. Literatür taramaları sonucunda, Asi Nehri'nden izole edilen *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılığı, filogenetik grupların ve virülans özelliklerinin belirlenmesi, GSBL (geniş spektrumlu beta-laktamaz) üretimlerinin belirlenmesi, beta-laktamaz gen varyantlarının (*bla_{SHV}*, *bla_{TEM}*, *bla_{OXA}*, *bla_{CTX-M}*, CMY-2) varlığının tespiti ve su kalitesinin izlenmesine yönelik çalışmaların sınırlı olduğu görülmektedir (Kürekci ve ark., 2017; Karaca ve ark., 2023). Ayrıca, literatürde Asi Nehri'nin su kalite parametrelerini belirlemeye yönelik çalışmalar da bulunmaktadır. Taşdemir ve Göksu (2001), Asi Nehri'nden Eylül 1996-Ağustos 1997 tarihleri arasında aylık dönemlerde beş farklı istasyondan örnek olarak bazı fiziksel ve kimyasal parametreleri incelemişlerdir. Su kalite parametreleri kapsamında çözülmüş oksijen (2,6-9,9 mg/L), pH (7,4-8,9), sıcaklık (6,8-29,8 °C), elektriksel iletkenlik (25-125 µmhos×10/cm), kimyasal oksijen ihtiyacı (12,8-464 mg/L), amonyak azotu (0,02-1,98 mg/L), nitrit azotu (0,002-0,42 mg/L), nitrat azotu (0,0003-4,91 mg/L), fosfat (0,002-2,44 mg/L), askıda katı madde (1-381 mg/L), sertlik (34-92 mg/L) ve silikat (0,53-10,12 mg/L) değerleri ölçülmüştür. Araştırmacılar, ölçülen parametrelerin mevsimlere göre değişiklik gösterdiğini, sonuç olarak Asi Nehri'nin az kirli su sınıfında ve kirlenme tehdidi altında olduğuna dikkat çekmişlerdir.

Rahman ve ark. (2012), Turag Nehri'nin (Bangladeş) su kalitesini belirlemek amacıyla bir yılda altı kez gerçekleştirdikleri örnekleme çalışması kapsamında, yağışlı ve kurak dönemleri içeren toplam on sekiz su numunesini belirledikleri üç farklı istasyondan almışlardır. Su kalite parametrelerinden pH (6,6-7,98), EC (160-1107 µs/cm), tuzluluk (0,1-0,55 ppt), TDS (100-580 mg/L), DO (21-220 mg/L), BOD₅ (10-180 mg/L), KOİ (21-220 mg/L), serbest CO₂ (5-22 mg/L), TH (45,8-204 mg/L) ve ağır metallardan arsenik (1,15-4,8 mg/L), kadmiyum (0,043-2 mg/L), çinko (0,04-0,4 mg/L), kurşun (2,29-18,62 mg/L) ve cıva (0,12-1,45 mg/L) analizlerini yapmışlardır. Sonuç olarak, Turag Nehri'nden analiz edilen pH, DO, BOD₅, KOİ ve serbest CO₂'in parametre değerlerindeki artışlar nedeniyle, bu bölgelerden gelen suyun insan tüketimi için uygun olmadığını belirtmişlerdir.

Mutlu ve ark. (2013), Mart 2011- Şubat 2012 tarihleri arasında Sivas-Kurugöl'ün su kalitesini ortaya koymak amacıyla her ay düzenli olarak üç farklı istasyondan toplamda on iki su örneği almış ve analiz etmişlerdir. Su kalite parametrelerinden T (6-22,9 °C), pH (8,58-8,99), DO (9,86-12,26 mg/L), tuzluluk (ortalama 0,16 ppt), EC (132,06-241,78 µs/cm), toplam alkanite (233-314,42 mg/L), TH (231-314,42 mg/L), NO₂⁻ (0-0,0017 mg/L), NO₃⁻ (0,62-8,98 mg/L), NH₄ (0-0,041 mg/L), K⁺ (6,14-12,08 mg/L), SO₄⁻² (43-119,42 mg/L), SO₃⁻² (0,92-4,06 mg/L), PO₄⁻³ (0,06-0,47 mg/L), AKM (0,05-6,86 mg/L), KOİ (8,40-14,78 mg/L), Cl⁻ (12,06-15,67 mg/L) Ca⁺² (36,42-53,06 mg/L), Mg⁺² (27,42-51,67 mg/L), Na⁺ (71,06-97,44 mg/L), Pb, Fe, Cu ve Cd analiz edilmiştir. Pb, Fe, Cu ve Cd analiz sonuçlarında Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliğine göre (SKKY) kabul edilebilir düzeyin altında bulunmuştur. Sonuç olarak Kurugöl Gölü SKKY'ye göre ölçülen parametreler gereğince I-III sınıf su kalitesi arasında değişim göstermiştir.

Zeybek ve Kalyoncu (2016), Kargı Çayı'nın (Antalya) fizikokimyasal özelliklerini ve su kalitesini değerlendirmek amacıyla Temmuz 2014-Nisan 2015 tarihleri arasında belirledikleri yedi istasyondan mevsimsel aralıklarla su örnekleri olarak incelemişlerdir. Su kalite parametrelerinden T (10,7-26,9 °C), DO (5,13-9,8 mg/L), pH (7,03-9,4), EC (299,5-916 µS/cm), NH₄ (<0,05 mg/L), NO₂⁻ (<0,01 mg/L), NO₃⁻ (0,15-1,26 mg/L), oPO₄⁻³ (<0,05 mg/L), Cl⁻ (2,39-132,21 mg/L) ve BOD₅ (1-4 mg/L) analiz etmişlerdir. Sonuç olarak Kargı Çayı'nın yoğun bir kirlenici altında olmadığı ve az kirlenmiş su sınıfında olduğunu belirtmişlerdir.

Howladar ve ark. (2017) tarafından yapılan araştırmada, Bangladeş'in Dinajpur bölgesindeki Maddhapara Granit Madencililiği alanındaki su kalitesini bir yıl boyunca incelemişlerdir. Araştırmacılar, bu bölgedeki yüzey ve yeraltı suyunun farklı noktalarından toplamda otuz bir örnek almış ve bu örneklerde yirmi dört farklı parametreyi analiz etmişlerdir. Bu parametreler pH (5,3-9,02), EC (41-587 µS/cm), TDS (24-382 mg/L), TH (2,5-87,5 mg/L), bulanıklık (3-45 NTU), toplam alkanite (5-88 mg/L), silikat (11,9-53,8 mg/L), Ca⁺² (1,3-55 mg/L), Mg⁺² (1-2,1 mg/L), K⁺ (0,4-12,2 mg/L), Cd⁺² (0,0008-0,0042 mg/L), Cr⁺³ (0-0,015 mg/L), Cl⁻ (0,71-73,84 mg/L), SO₄⁻² (0,08-10 mg/L), PO₄⁻³ (0,08-2,3 mg/L), NH₄⁺ (0,22-1,07 mg/L), NO₃⁻ (0,07-0,71 mg/L), Fe⁺³ (0,09-0,92 mg/L), Na⁺ (2,1-53 mg/L), As⁺³ (0-0,0017 mg/L), Zn⁺² (0,08-0,32 mg/L), HCO₃⁻ (5-87,5 mg/L), NO₃⁻ (0,07-0,71 mg/L) ve CO₃⁻² (4,3-18 mg/L)

oluşmaktadır. Araştırmacılar, Maddhapara Granit Madeni alanı çevresinden alınan su numunelerinin analizi sonucunda bölgedeki suların yüksek kaliteye sahip oldukları sonucuna varmışlardır.

Kılıç ve Can (2017), Devlet Su İşleri (DSİ) tarafından 2004-2014 yılları arasında gerçekleştirilen su kalitesi izleme çalışması kapsamında, Asi Nehri'ndeki ağır metal konsantrasyonundaki zamansal ve mekânsal değişimleri anlamak amacıyla beş farklı istasyonda araştırmışlar ve As (0,37-2,87 µg/L), Cd (0-0,16 µg/L), Cr (1,46-20,88 µg/L), Cu (2,09-20,88 µg/L), Fe (10-1765,4 µg/L), Hg (0,3-0,89 µg/L), Mn (25-1555 µg/L), Pb (0,3-3,3 µg/L), Zn (7,03-87,6 µg/L) gibi ağır metallerin analizini yapmışlardır. Araştırmacılar, zamana bağlı olarak Asi Nehri'nde ağır metallerin düzeyinin arttığını tespit etmişler; su kalitesinin genel olarak iyi olduğu ancak bölgede ana kirlilik göstergesi olarak Fe, Mn ve Hg düzeylerinin yüksek olduğu belirtilmişlerdir.

Kılıç ve Yücel (2018), Asi Havzası'nda DSİ tarafından 2004-2014 yılları arasında gerçekleştirilen mevsimsel su kalitesi çalışmalarının sonuçlarını inceleyerek, beş farklı istasyonda elde edilen verileri değerlendirmişlerdir. Çalışmada 16 farklı su kalite parametresinin analizi yapılmıştır. Bu kapsamda BOD₅ (1-24 mg/L), KOİ (3-125 mg/L), DO (2,10-10,60 mg/L), NO₂⁻ (0,01-0,63 mg/L), NO₃⁻ (0,30-7,50 mg/L), NH₄ (0,10-10 mg/L) oPO₄⁻³ (0,08-5,00 mg/L) SO₄⁻² (18,24-339,30 mg/L), EC (391-2130 µS/cm), AKM (8-213 mg/L), TDS (314-1530 mg/L), T (4-34 °C), Na⁺ (7,82-126,96 mg/L), Mg⁺² (20,90-109,40 mg/L), Ca⁺² (29,17-148,30 mg/L) ve Q (0,27-798,45 m³/s) parametrelerine bakmışlardır. Sonuç olarak Asi Nehri'nin su kalitesinin zamana ve mekâna bağlı olarak değişim gösterdiğini; iklimin, tarımsal faaliyetlerin ve erozyonun nehirdeki kirliliğe neden olduğu kanısına varmışlardır.

Turan ve ark. (2020), Şubat 2017 ile Ekim 2017 tarihleri arasında Asi Nehri'nin su kalitesini belirlemek amacıyla iki farklı istasyondan mevsimsel su örnekleri almışlardır. Bu çalışmada T (15,75-29,64 °C), pH (7,05-8,48), DO (5,45-7,76 mg/L), TH (10,20-19,00 mg/L), NH₄⁺ (1,030-2,040 mg/L), NO₂⁻ (0,035-0,160 mg/L), NO₃⁻ (0,010-0,990 mg/L) ve PO₄⁻³ (0,100-20,70 mg/L) su kalite parametrelerini incelemişler; Türkiye Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği kriterlerine göre Asi Nehri'nin III. sınıf kirlenmiş suya sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Ağca ve Doğan (2020), Mayıs 2017-Şubat 2018 tarihleri arasında Asi Nehri'nin sekiz farklı noktasından dört farklı dönemde otuz iki adet su örneği alarak incelemişler;

alınan su örneklerinde pH (7,72-9), EC (887-1663 $\mu\text{S}/\text{cm}$), katyonlardan; Na^+ (0,40-10,35 me/L), K^+ (0,12-2,05 me/L), Ca^{+2} (0,52-4,27 me/L), Mg^{+2} (2,28-14,29 me/L) ve anyonlardan; Cl^- (0,98-6,47 me/L), CO_3^- (0,6-2,4 me/L), HCO_3^{-2} (1,2-8,6 me/L) SO_4^{-2} (0,15-14,49 me/L) analizlerini yapmışlardır. Ayrıca sodyum adsorpsiyon oranı (0,16-3,53), kalıcı sodyum karbonat (<1,25 me/L) ve toplam sertlik (152,01-880,33 mg/L) ve magnezyum oranı (%35,72-91,77) su kalite parametrelerinin analizi sonucunda hesaplanmıştır. Araştırma sonucunda, ABD tuzluluk laboratuvar diyagramına göre Asi Nehri suyunun su kalite sınıfı C3S1 olarak belirlenmiş ve tuzluluk oranının yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle Asi Nehri suyunu kullanılırken dikkatli olunması gerektiği kanısına varmışlardır.

Hamelin ve ark. (2007) tarafından 26-27 Temmuz 2005 tarihlerinde gerçekleştirilen çalışmada, Kanada'daki St. Clair ve Detroit Nehirleri'nin altı farklı bölgesinden alınan yüzey suyu örneklerinden izole edilen 308 *E. coli* izolatının patotipi, filogenetik grubu ve antimikrobiyal direnç gen profilleri belirlenmiştir. Her bölgeden 10-12 su numunesi toplamışlardır. Ayrıca *E. coli* ATCC 29194 ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495 suşlarını doğrulayıcı testler sırasında pozitif ve negatif kontroller olarak kullanmışlardır. İzolatların ampisilin, tetrasiklin, streptomisin, spektinomisin, gentamisin, kanamisin, neomisin, kloramfenikol, trimetoprim, sülfonamide olan duyarlılıklarını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, kanalizasyon çıkış noktalarının aşağısında bulunan bir kentsel bölgede, diğer incelenen yerlerde görülen ortalamanın üzerinde virülans ve antimikrobiyal direnç genlerine sahip *E. coli* izolatının daha yüksek bir oranda olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada belirlenen çoğu *E. coli* patotipinin ekstraintestinal patojen *E. coli* (ExPEC) patotipine, B2 ve D filogenetik gruplarına ait olduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmada, en yaygın antimikrobiyal direnç genlerinin *tetA*, *tetB*, *bla_{TEM}* ve *sulII*'nin olduğu belirtilmiştir.

Sidhu ve ark. (2013), Avustralya'nın Brisbane kentinde belirlenen altı bölgeden fırtına dönemleri öncesinde ve sonrasında alınan yüzey suyu örnekleri ile bir araştırma yapmışlardır. Yüzey sularından izole edilen 300 *E. coli* izolatında, ishal oluşturan patotiplerle ilişkilendirilen virülans genlerinin yaygınlığını araştırmışlar bu amaçla *stx1*, *stx2*, *eaeA*, *ehxA*, LT, ST, *bfp*, *cdtB*, *ipaH*, *aggR* ve *astA* virülans genlerini PZR ile araştırmışlardır. Sonuç olarak EHEC patotipine özgü olan *eaeA*, *stx1*, *stx2* ve *ehxA* genlerinin sırasıyla izolatların %56'sında, %6'sında, %10'unda ve %13'ünde tespit

edildiğini saptamışlardır. Ayrıca, EAEC patotipiyle ilişkilendirilen *astA* (%69) ve *aggR* (%29) virülans genlerinin *E. coli* izolatlarında sıkça bulunduğunu belirtmişlerdir. EPEC virülans geni *bfp* genini izolatların %24'ünde EIEC virülans geni *ipaH* ise izolatların %14'ünde tespit etmişlerdir. Kurak dönemlerde, EAEC patotipine ait izolatların yaygın olarak tespit edildiğini (%23); bunu sırasıyla EHEC (%11) ve EPEC (%11) patotiplerinin izlediğini bildirmişlerdir. Fırtına olayları sonrasında ise EPEC (%14), EAEC (%12), EIEC (%10), EHEC (%7) ve ETEC (%7) gibi patotiplerin daha homojen bir yayılım gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Çalışmada, şehir içi su ekosistemlerinde potansiyel olarak ishal oluşturan patotiplerin yaygın olarak bulunduğunu ve bu durumun potansiyel sağlık riski oluşturabileceği vurgulanmıştır.

Kürekci ve ark. (2017) Asi Nehri'nde Temmuz, Eylül ve Aralık 2014 tarihleri arasında üç farklı zamanda geniş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) üreten *E. coli* varlığını araştırılmıştır. İzole ettikleri sefotaksime dirençli 54 *E. coli* suşunu GSBL tipi, integron varlığı ve sülfonamid direnç genleri açısından incelemişlerdir. Ayrıca, izolatlar PhP-tipleme sistemi ile filogenetik tiplendirme ve antimikrobiyal duyarlılık testi ile karakterize edilmiştir. Asi Nehri su örneklerinden izole edilen *E. coli* suşları arasında en yaygın filogenetik grup A (%52) olarak belirlenmiş ve bunu C (%16) ve E (%16), D (%8) ve B (%8) filogrupları izlemiştir. Şehir Atıksu Arıtma Tesisi örneklerinden izole edilen *E. coli* suşları arasında ise en yaygın filogenetik grup A (%48,3) olarak belirlenmiş; bunu C (%27,6), B (%10,4), E (%6,9) ve D (%6,9) filogrupları takip etmiştir. PZR ve sekans analizine göre sefotaksim dirençli 54 *E. coli* izolatının 20'sinde (%37) *bla*_{CTXM-15}, 16'sında (%29,6) *bla*_{CTX-M-15} ve *bla*_{TEM-1} birlikte, bir izolatta ise (%1,9) ise *bla*_{CTX-M1}+*bla*_{TEM-1} birlikte tespit edilmiştir. *bla*_{SHV} veya *bla*_{OXA} genleri izolatlar arasında saptanmamıştır. Antibiyotik direnç profiline göre GSBL üreten izolatların tümü ampisilin-sulbaktam (AMP-SUL), sefazolin (CFZ), seftazidim (CAZ) ve seftriakson (CTR)'a karşı dirençli bulunurken; 52 (%96,3) izolat aztreonam (ATM) ve sefepime (FEB) dirençli bulunmuştur. Siprofloksasine (CIP) (%68,5), levofloksasine (LEV) (%66,7), trimetoprim-sülfametoksazole (STX) (%66,7), tikarsilin-klavulanata (TIC-CLA) (%51,9), sefopezon-sulbaktama (CEF-SUL) (%31,2), sefoksitine (FOX) (%27,8), gentamisine (CN) (%25,9) ve piperasilin-tazobaktama (PIP-TAZ) (%24,1) için ise değişen direnç oranları belirlenirken; izolatların tamamı amikasin (AM), kolistin (COL), ertapenem (ERT), imipenem (IPM), meropenem (MER) ve tigesiklin (TIG)'e

duyarlı bulunmuştur. Sonuç olarak hem Asi Nehri hem Atık Su Arıtma Tesisi örneklerinde GSBL üreten *E. coli* suşlarının çeşitliliğin yüksek olduğuna ve kirlenme kaynaklarının çeşitliliğine işaret edilmiştir.

Alwash ve Al-Rafyay (2019), Irak'ın Babil ilinde bulunan Al-Hillah Nehri'nin su kalitesini değerlendirmek ortalarında amacıyla Aralık 2017 ayı içinde üç farklı bölgeden su örnekleri toplamışlar ve su örneklerinden 61 *E. coli* izole etmişler ve izolatların filogenetik gruplarını ve antibiyotik duyarlılıklarını [aminoglikozidler: amikasin (AK, 10 µg), gentamisin (CN, 10 µg) ve streptomisin (S, 10 µg); tetrasiklinler: tetrasiklin (TE, 30 µg) ve doksisisiklin (DO, 30 µg); β-laktamlar: ampisilin (AMP, 10 µg), imipenem (IPM, 10 µg), sefalotin (KF, 30 µg), sefoksitin (FOX, 30 µg), sefotaksim (CTX, 30 µg) ve sefepim (FEP, 30 µg); fluorokinolonlar: norfloksasin (NOR, 10 µg) ve siprofloksasin (CIP, 10 µg); fosfomisin (FF, 200 µg); ve fenikol: kloramfenikol (C, 30 µg)] araştırmışlardır. Araştırmacılar, Amerikan Çevre Koruma Ajansı (EPA)'na dayanarak, üç farklı bölgeden alınan su örneklerindeki bakteriyolojik parametrelerin, toplam koliform bakteri, *E. coli* ve enterokok için belirlenen sınırların üzerinde olduğunu tespit etmişlerdir. *E. coli* izolatları arasında en yaygın filogenetik grubun B2 (31 izolat, %50,8) olduğunu, bunu grup D (15 izolat, %24,6), B1 (9 izolat, %14,8) ve A (6 izolat, %9,8) grupların takip ettiğini rapor etmişlerdir. En yüksek direnç oranı β-laktam antibiyotiklere karşı (%63,1) belirlenirken, fosfomisin (%17,2), aminoglikozid (%16,4), tetrasiklin (%1,8) ve fluorokinolon (%1,5) direnci izlemiştir. Araştırmacılar sonuç olarak, *E. coli* izolatları arasında üç örnekleme noktasında yüksek düzeyde çoklu antibiyotik direncinin olduğunu belirtmişlerdir.

Moussa ve ark. (2021), 2017-2018 yılları arasında Asi Nehri ve Lübnan genelindeki dört büyük nehirde toplam 15 su örneği alarak, yüzey sularında bakterilerin antibiyotik dirençliliğini araştırmışlardır. Araştırmacılar yüzey suyu örneklerinden 91 farklı izolat elde etmişler; bu izolatların 25'inde çoklu ilaca direnci (MDR) tespit etmişlerdir. En yaygın MDR oranını *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatları arasında belirlemişlerdir. Bir *E. coli* izolatının *bla*_{NDM-5} genini konjugatif çoklu replikon plazmit üzerinde taşıdığı, *bla*_{CTX-M-15} ve *bla*_{TEM-1B} genlerinin ise MDR izolatlarının çoğunda bulunduğunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak araştırmacılar, yüzey sularında bakteriyel kontaminasyonun yaygın olduğuna ulaşmışlardır.

Takcı ve ark. (2021), Kilis'in Seve Barajı ve Konak Göleti olmak üzere iki farklı bölgeden topladıkları yüzey suyu örneklerinde fekal kirliliğe neden olan bakterilerin antibiyotik ve ağır metal dirençliliklerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, örneklerde fizikokimyasal parametreler olarak pH, sıcaklık, TDS ve EC analiz etmişlerdir. Seve Barajı ve Konak Göleti'nde pH değerlerinin 8,2-8,2; sıcaklık aralığının 25-25°C; TDS yönünden 170-190 mg/L ve EC için 350-390 µS/cm aralığında değerlere sahip olduğunu belirlemişlerdir. Örnekleme yapılan noktalarda, fekal kirlilik indikatörü olarak 21 *E. coli* suşu izole etmişlerdir. İzolatların toplam 16 farklı antibiyotiğe [ampisilin (AMP; 10 µg), sefazolin (CZ; 30 µg), sefepim (FEB; 30 µg), sefiksim (CFM; 5 µg), sefoperazon (CEP; 75 µg), seftizoksim (ZOX; 30 µg), kloramfenikol (C; 30 µg), klindamisin (CD; 2 µg), eritromisin (E; 15 µg), gentamisin (GEN; 10 µg), imipenem (IPM; 10 µg), meropenem (MRP; 10 µg), metronidazol (MT; 5 µg), streptomisin (S; 10 µg), tetrasiklin (TE; 30 µg) ve trimetoprim (TR; 5 µg)] olan duyarlılıklarını araştırmışlardır. *E. coli* izolatlarının tamamının klindamisin, eritromisin ve metronidazole dirençli olduğunu; %56,25'inin ise sefepim, sefiksim, sefoperazon, seftizoksim, kloramfenikol, gentamisin, imipenem, meropenem ve trimetoprime karşı duyarlı olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar *E. coli* izolatlarının ağır metallere olan dirençlilik durumlarını Cd⁺², Cu⁺², Mn⁺² ve Pb⁺²,nin 25-3200 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarının katıldığı Nutrient Agar kullanarak araştırmalardır. Bu amaçla CdCl₂, CuSO₄.5H₂O, MnCl₂.4H₂O ve (CH₃COO)₂Pb.3H₂O kullanmışlardır. *E. coli* izolatlarının tamamı kurşun ve manganeze karşı yüksek direnç gösterirken (ağır metallerin en yüksek Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) değerinin 1600 µg/mL olarak belirlenmiş), bakırın için bu değer 400 µg/mL olarak ölçülmüştür. İzolatların tamamının ise kadmiyuma duyarlı olduğu gözlemlenmiştir. *E. coli* suşlarının Minimum Ağır Metal Direnci (MHMR) indeksi 0,202 olarak hesaplanmış; *E. coli* ATCC 25922 için Pb⁺² (25-1600 µg/mL), Cu⁺² (25-200 µg/mL) ve Mn⁺² (25-1600 µg/mL) için değişen duyarlılıklar değerleri gözlenmiştir. Araştırmacılar, elde ettikleri sonuçlara dayanarak, göre yüzey sularının endüstriyel ve evsel atık suların etkisi altında olabileceğini belirtmişlerdir.

Kayış (2022) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Adıyaman ili Atatürk Barajı gölünün belirlenen beş farklı istasyonunda yüzey sularının fizikokimyasal parametreleri ve izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotik direnç profilleri araştırılmıştır.

Fizikokimyasal parametrelerden TDS (8,71-15,23 mg/L, pH (7,91-8,88), T (31-36 °C) ve EC (196-273 µS/cm) analiz edilmiştir. Fekal kirlilik indikatörü olarak örnekleme noktalarından yetmiş *E. coli* suşu izole edilmiştir. Çalışmada sefazolin (CZ-30 µg), sefuroksim (CXM-30 µg), sefotaksim (CTX-30 µg), sefepim (FEP-30 µg), seftarolin (CPT-5 µg), eritromisin (E-15 µg), gentamisin (CN-10 µg), imipenem (IPM-10 µg), tetrasiklin (TE-30 µg), kloramfenikol (C-30 µg) diskleri kullanılmıştır. *E. coli* ATCC 25922 suşu antimikrobiyal duyarlılık testinde kontrol suşu olarak dahil edilmiştir. İzole edilen *E. coli* suşlarının eritromisin, seftarolin, sefazolin, tetrasiklin, kloramfenikol, sefuroksim, sefotaksim ve sefepime olan direnç oranları sırasıyla %95, %31,42, %30, %14,28, %8,50, %4,28, %2,85 ve %2,85 olarak bulunmuştur. Adıyaman Atatürk Barajı gölünden elde edilen fizikokimyasal parametreler, su kalitesinin belirlenen sınır değerler içerisinde olduğu; ancak fekal kirlilik açısından riskli bölgeler içerdiği tespit edilmiştir.

Karaca ve ark. (2023), Asi Nehri'nde belirledikleri iki istasyonunda kirlilik düzeylerini ve izole edilen 10 *E. coli* suşunda ise antibiyotik direnç oranlarını araştırmışlardır. Sefotaksim, tobramisin, streptomisin, trimetoprim, sefepim, sefazolin ve ampiciline direnç oranları sırasıyla %20, %20, %40, %20, %20, %20 ve %40 olarak belirlenmiştir. *E. coli* izolatlarının %30'unun çoklu antibiyotik direncine sahip olduğu ve MAR indeksinin 0,200'den büyük olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Sonuç olarak, su kalitesi sınırlarının aşıldığını ve evsel, tarımsal ve kentsel deşarjların kirliliğin temel kaynağı olduğunu vurgulamışlardır.

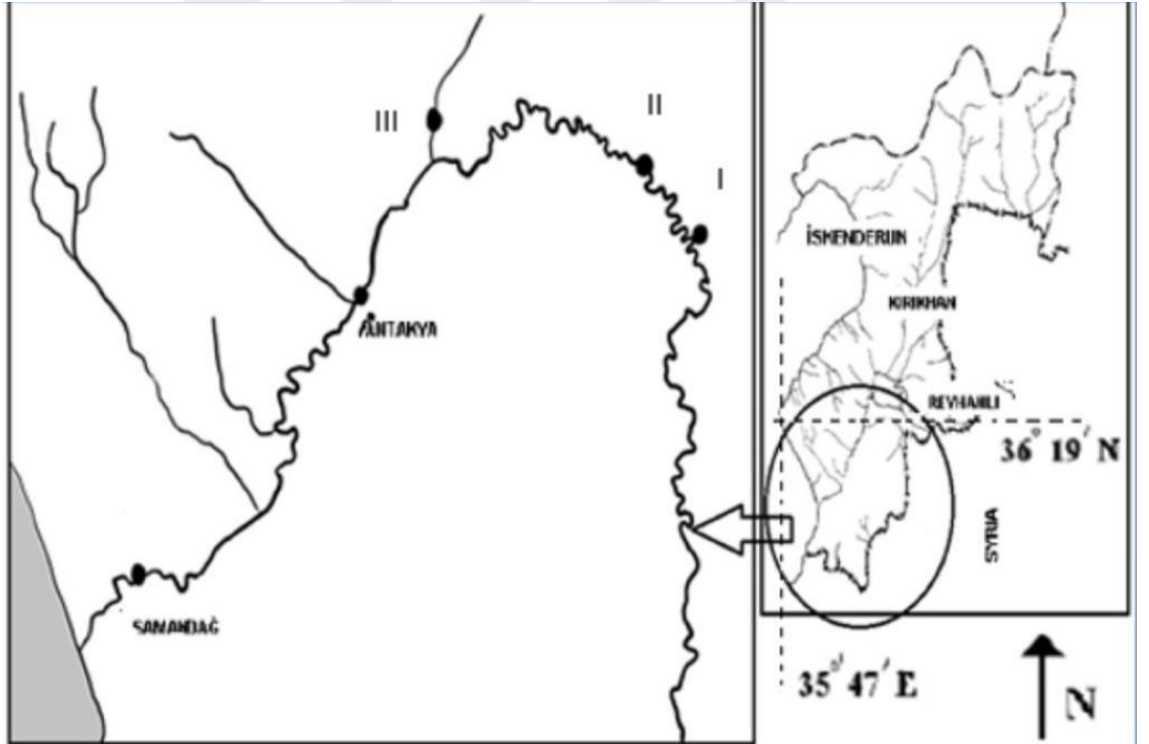
3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırma Alanı ve Örnekleme

Çalışmanın materyalini, Ocak-Aralık 2021 arasında Asi Nehrindeki üç farklı istasyondan (Eşrefiye/Reyhanlı, Demirköprü/Antakya ve Küçük Asi/Büyükdalyan) alınan 36 yüzey suyu örneği oluşturdu (Şekil 3.1, Şekil 3.2). Su örneklemelerinin aseptik koşullarda alınmasına dikkat edildi. Örnekler işlenmek üzere hızlıca laboratuvara getirilerek işleme tabi tutuldu.

Örnekleme istasyonlarının koordinat noktaları şu şekildedir: Eşrefiye İstasyonu $36^{\circ}09'46.2''N$ $36^{\circ}22'03.2''E$, Demirköprü İstasyonu $36^{\circ}14'35.3''N$ $36^{\circ}21'05.3''E$, Küçük Asi İstasyonu $36^{\circ}15'11.5''N$ $36^{\circ}14'43.8''E$.



Şekil 3.1. Asi Nehri çalışma alanı ve örnekleme noktaları (I: Eşrefiye istasyonu, II: Demirköprü istasyonu, III: Küçük Asi istasyonu) (Kılıç, 2017)



Şekil 3.2. Asi Nehri çalışma alanına ait görüntüler (I: Eşrefiye istasyonu, II: Demirköprü istasyonu, III: Küçük Asi istasyonu)

3.1.2. Kullanılan Besiyerleri ve Antibiyotik Diskleri

E. coli suşlarının izolasyonunda Endo Agar (HiMedia, Hindistan), izolatların pasajlanmasında Blood Agar (Merck, Almanya) ve izolatların saklanması için Trypton Soy Broth (TSB) (HiMedia, Hindistan); izolatların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde ve GSBL üretimini araştırmak için Mueller-Hinton Agar (MHA) (Merck, Almanya) kullanıldı.

Antibiyotik diskleri olarak; Ampisillin (AM 10 µg), Amoksisilin/klavulanik asit (AMC 30 µg), Kloramfenikol (C 30 µg), Tetrasiklin (TE 30 µg), Gentamisin (CN 10 µg), Siprofloksasin (CIP 5 µg), Seftazidim (CAZ 30 µg), Streptomisin (S 10 µg), Sefoksitin (FOX 30 µg), Sefotaksim (CTX 30 µg), Tobramisin (TOB 30µg), Aztreonam (ATM 30 µg), Trimetoprim/sülfametoksazol (SXT 1,25 + 23,75 µg), İmipenem (IPM 10 µg), Amikasin (AK 30 µg) ve Sefepim (FEB 30 µg) kullanıldı.

3.1.3. PZR'da Kullanılan Kimyasallar

E. coli izolatlarında GSBL ve virülans genleri ile filogenetik grupların belirlenmesi amacıyla 10x PZR buffer (Fermentas, Litvanya), Taq DNA polimeraz, 25 mM MgCl₂ (Fermentas, Litvanya), 10 mM dNTP miks (Fermentas, Litvanya); PZR ürünlerinin yürütülmesinde ise 100 bp plus DNA Ladder (Fermentas, Litvanya), Agaroz (Sigma, Almanya), Çizelge 3.1 ve 3.2'de bildirilen primerler; 6x Loading dye (Fermentas, Litvanya), Red Safe (DNA boyama solüsyonu), 10x TBE kullanıldı.

3.1.4. PZR'da Kullanılan Alet ve Ekipmanlar

Thermal cycler (BioRad), elektroforez tankı (Thermo), güç kaynağı (Thermo), jel görüntüleme sistemi, steril ekim kabini (Bioair), vorteks (Velp Scientifica), hassas terazi ve santrifüj kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Su Örneklerinin Toplanması

Numune alımı ve taşınması için, "Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği (SKKY) Numune Alma ve Analiz Metodları Tebliği" ile "İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik (İTASHY)" standartları referans olarak kullanılmıştır (Aslan ve Sümer, 2021). Belirlenen üç örnekleme istasyonundan alınan yüzey sularında, su kalite parametrelerinin, toplam koliform bakteri sayısının belirlenmesi ve indikatör mikroorganizma olarak kabul edilen *E. coli* izolasyonu için Ocak-Aralık (2021) aylarında, iki tekrarlı su örnekleri alınmıştır. Örnekler temiz 1,5 mL steril şişelere soğuk zincire dikkat edilerek laboratuvara getirilmiş, 3-4 saat içinde analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Su Kalite Parametrelerinin Belirlenmesi

Belirlenen istasyonlardan aylık örnekleme yapılan yüzey suyu örneklerinin bazı kalite parametreleri (pH, sıcaklık, çözülmüş oksijen, tuzluluk, iletkenlik, TDS) su kalite ölçüm cihazı AZ 86031 ile yerlerinde ölçülerek kaydedildi. Diğer su parametrelerinden olan toplam fosfor (PO_4^{-3}), amonyum (NH_4^+), nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) analizleri HMKÜ Teknoloji ve Araştırma Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (MARGEM) tez projemiz kapsamında hizmet alımı şeklinde yapıldı.

3.2.3. Yüzey Suyu Örneklerinin Membran Filtrasyon Yöntemi ile Analizi

Toplam koliform ve *Escherichia coli* bakterilerinin belirlenmesi amacıyla laboratuvara getirilen su örneklerinden, her biri 100 mL olmak üzere ayrı ayrı ve gerektiğinde 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ... olacak şekilde dilüsyonu yapılan su örnekleri, Sartorius marka 6'lı manifold membran filtrasyon cihazında (por büyüklüğü 0.45 µm olan selüloz membran filtreler, Merck Millipore, Almanya) vakum yardımıyla süzölmüştür. Membran filtreler, hava boşluklarını önlemek amacıyla steril pens kullanılarak Endo Agar besiyerine dikkatlice yerleştirilmiş ve 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edilerek koloni incelemeleri ve sayımları gerçekleştirilmiştir. Pembe-kırmızı renkli koloniler koliform bakteri, mor-mavimtrak renk koloni oluşturanlar ise *E. coli* olarak değerlendirilmiştir.

3.2.4. Su Örneklerindeki Total Koliform ve *E. coli* Sayısının Belirlenmesi

Bütün koliform bakterilerde yaygın olarak bulunan β-D-galaktosidaz enzimi, Endo Agar besiyerindeki laktozu metabolize ederek koliform bakterilerin pembemsi-kırmızı renkli koloni oluşturmasını sağlar. *E. coli* diğer koliform bakterilerden farklı olarak β-D-glukoronidaz enzimine sahiptir. Endo Agar besiyerinde bulunan laktoz, bu özel enzim tarafından parçalanarak *E. coli*'nin mavi/mor renkte koloni oluşturmasına neden olur (Güngör, 2018). Su örneğindeki koloni sayısı dilüsyon faktörü dikkate alınarak hesaplanmıştır ($kob/100\text{ mL}^{-1}$).

3.2.5. *Escherichia coli* İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Ocak-Aralık 2021 aralığında Asi Nehri'nin belirlenen 3 farklı istasyonlarından aseptik koşullarda alınan yüzey suyu örnekleri, hızlıca laboratuvara getirilerek işlendi. Yüzey suyu örneklerinden dönemsel olarak ihtiyaç duyulduğunda dilüsyon yapılarak membran filtrasyon yöntemi ile *E. coli* izolasyonu yapılmıştır (Mates ve Shaffer, 1989). Filtre edilen selüloz nitrat filtreleri Endo Agar besiyerlerine dikkatli bir şekilde yerleştirilerek 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tipik yanarlı/dönerli metalik renk veren koloniler seçilerek Endo Agar ve Kanlı Agar besiyerlerinde seri pasajları yapılarak saflaştırıldı. Geleneksel uygulanan konvansiyonel yöntemlerle (Gram boyama, oksidaz, katalaz, IMVIC testleri) izolatların tanımlamaları yapıldı. Fenotipik tanımlamaları yapılan örnekler PZR ile 16S rRNA yönünden genotipik olarak tarandı (Wang, 2002). Diğer deneysel çalışmalar için izolatlar gliserin içeren (%20) TSB besiyerinde -20°C'de saklandı.

3.2.6. Genomik DNA Ekstraksiyonu

İzolatlardan genomik DNA eldesi Ahmed ve ark. (2007) önerdiği kaynatma metoduna göre yapıldı. Öncelikle izolatlar beş mL TSB'da 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Daha sonra aktif taze kültürler steril endorff tüplere aktarılarak (200 kültür µL + 800 µL distile su) kuru ısıtıcı blokta 100 °C'de 10 dakika bekletildi ve 13.000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Üst sıvı kısımdan (süpernatant) 500 µL DNA örnekleri steril endorff tüplere aktarılarak PZR işlemlerinde kullanılmak üzere hazır hale getirildi.

3.2.7. Disk Difüzyon Yöntemi İle Antibiyotik Duyarlılık Tespiti

E. coli izolatlarının farklı sınıftan 16 farklı antibiyotiğe olan duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi yapılarak değerlendirildi (CLSI,2022).

3.2.8. Çift Disk Sinerji Testi İle GSBL ve AmpC Beta-Laktamaz Üretiminin Belirlenmesi

İzolatların GSBL üretimlerinin fenotipik araştırılması için Mueller-Hinton Agar (MHA) kullanılarak Jarlier ve arkadaşlarının (1988) önerdiği metot uygulandı. Gecelik kültüre edilen izolatların yoğunlukları McFarland 0.5 bakteri yoğunluğuna göre ayarlanarak MHA besiyerinin yüzeyine steril svapla ekildi. Ekim yapılan besiyerinin ortasına amoksisilin-klavulanik asit (AMC 30 µg) antibiyotik diski yerleştirilip orta noktadan merkeze uzaklığı yaklaşık 25 mm olacak şekilde aztreonam (ATM 30 µg), seftazidim (CAZ 30 µg) ve sefotaksim (CTX 30 µg) antibiyotik diskleri yerleştirildi. 24 saat 37°C inkübasyon sonrası sonuçlar değerlendirildi. Aztreonam, seftazidim ve sefotaksim'e göre oluşan inhibisyon zonlarının amoksisilin-klavulanik asit diskine göre yayılması veya iki inhibisyon zonu arasında bakteri üreyen alanda üremenin olmadığı bir bölgenin varlığı durumlarında izolat GSBL (genişlemiş spektrumlu beta laktamaz) pozitif olarak değerlendirildi.

Sefoksitin ve amoksisilin-klavulanik asite fenotipik dirençli bulunanlar AmpC beta laktamaz üretici izolatlar olarak seçildi (Aslantaş, 2020).

3.2.9. GSBL/AmpC Beta Laktamaz Sentezi ile İlgili Genlerin Tanımlanması

GSBL sentezleyen izolatlarda *bla_{SHV}*, *bla_{TEM}* ve *bla_{CTX}* genlerinin tespiti Monstein ve ark. (2007) tarafından bildirilen mütipleks PZR yöntemi ile gerçekleştirildi. Sefoksitin ve amoksisilin-klavulanik asit dirençli izolatlarda *bla_{CMY-2}* geninin belirlenmesinde Zhao ve ark. (2001) tarafından bildirilen yöntem kullanıldı (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Geniş spektrumlu beta-laktamaz ve CMY-2 tip beta-laktamaz genlerinin belirlenmesinde kullanılan primerler

Gen	Sekans (5' – 3')	Amplikon Büyüklüğü (bç)	Kaynak
<i>bla</i> _{TEM}	TCGCCGCATACACTATTCTCAGAA TGA ACGCTCACCGGCTCCAGATTTAT	445	Monstein ve ark. (2007)
<i>bla</i> _{SHV}	ATGCGTTATATTCGCCTGTG TGCTTTGTTATTCGGGCCAA	747	
<i>bla</i> _{CTX-M}	ATGTGCAGYACCAGTAARGTKAT GGC TGGGTRAARTARGTSACCAGAAY CAGGG	593	
<i>bla</i> _{CMY-2}	AACACACTGATTGCGTCTGAC CTGGGCCTCATCGTCAGTTA	1226	Zhao ve ark. (2001)

3.2.10. Filogenetik Gruplama

İzolatların filogenetik gruplandırılmaları (A, B1, B2 ve D) Clermont ve ark. (2000) önerdiği protokol uygulanarak multipleks PZR (mPZR) ile yapıldı. Değerlendirilmesi ise Escobar-Paramo ve ark. (2004) bildirisi ile gerçekleştirildi. Filogenetik tiplendirmede kullanılan primerler Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Filogenetik analiz için kullanılan primerler

Gen	Sekans (5' – 3')	Amplikon Büyüküğü (bp)	Kaynak
<i>chuA</i>	GAC GAA CCA ACG GTC AGG AT TGC CGC CAG TAC CAA AGA CA	279	
<i>yjaA</i>	TGA AGT GTC AGG AGA CGC TG ATG GAG AAT GCG TTC CTC AAC	211	Clermont ve ark. (2000)
<i>TspE4C2</i>	GAG TAA TGT CGG GGC ATT CA CGCGCCAACAAAGTATTACG	152	

3.2.11. Virülans Faktörlerinin Tespiti

İzolatlarda 18 virülans geninin [*iucD*, *hlyA*, *cnf1*, *papC*, *papE-F*, *sfa/focDE*, *f17A*, *f17a-A*, *f17b-A*, *f17c-A*, *17d-A*, *afa D-8*, *afa E-8*, *clpG*, *cnf2*, *stx1*, *stx2*, *eaeA*] varlığı PZR ile Yamamoto ve ark. (1995), Bertin ve ark. (1996), Bertin ve ark. (1998), Lalioui ve ark. (1999), Kaipainen ve ark. (2002) tarafından bildirilen yöntemlere göre yapıldı (Çizelge 3.3). Amplifiye edilen PZR örnekleri agaroz jel elektroforezi (% 1,5) uygulamasından sonra UVP (Bioimaging Systems) transluminatör cihazında incelendi.

Çizelge 3.3. Virülans çalışmasında kullanılan primerler

Gen	Sekans (5' - 3')	Amplikon Büyüküğü (bp)	Kaynak
<i>papC</i>	GAC GGC TGT ACT GCA GGG TGT GGC G ATA TCC TTT CTG CAG GGA TGC AAT A	328	
<i>papE-F</i>	GCA ACA GCA ACG CTG GTT GCA TCA T AGA GAG AGC CAC TCT TAT ACG GAC A	336	
<i>Sfa/focDE</i>	CTC CGG AGA ACT GGG TGC ATC TTA C CGG AGG AGT AAT TAC AAA CCT GGC A	410	Yamamoto ve ark. (1995)
<i>cnfI</i>	AAG ATG GAG TTT CCT ATG CAG GAG CAT TCA GAG TCC TGC CCT CAT TAT T	498	
<i>iucD</i>	TAC CGG ATT GTC ATA TGC AGA CCG T AAT ATC TTC CTC CAG TCC GGA GAA G	602	
<i>hlyA</i>	AAC AAG GAT AAG CAC TGT TCT GGC T ACC ATA TAA GCG GTC ATT CCC GTC A	1177	
<i>afa D-8</i>	GTT GAA CTG AGT CTT AAT ACC AGT G TGA GCA TTC TCC GCT AAC TGA TAA T	354	Lalioui ve ark. (1999)
<i>afa E-8</i>	CTA ACT TGC CAT GCT GTG ACA GTA TTA TCC CCT GCG TAG TTG TGA ATC	302	

Çizelge 3.3. (Devamı) Virülans çalışmasında kullanılan primerler

<i>clpG</i>	GGG CGC TCT CTC CTT CAA C CGC CCT AAT TGC TGG CGA C	402	Bertin ve ark. (1996)
<i>cnf2</i>	ACT GAA GAA GAA GCG TGG AAT A ATA AGT TGA GCC GAG CGA GG	654	Kaipainen ve ark. (2002)
<i>f17A</i>	GCA GAA AAT TCA ATT TAT CCT TGG CTG ATA AGC GAT GGT GTA ATT AAC	537	
<i>f17a-A</i>	GCT GGA AGG GTG CAA TAC GCC TG	321	Bertin ve ark. (1996)
<i>f17b-A</i>	CAA CTA ACG GGA TGT ACA GTT TC	323	
<i>f17c-A</i>	GCA GGA ACC GCT CCC TTG GC	416	
<i>f17d-A</i>	GAT AGT CAT AAC CTT AAT ATT GCA	239	
<i>stx1</i>	TCT CAG TGG GCG TTC TTA TG TAC CCC CTC AAC TGC TAA TA	338	
<i>stx2</i>	GCG GTT TTA TTT GCA TTA GC TCC CGT CAA CCT TCA CTG TA	115	
<i>eaeA</i>	ATG CTT AGT GCT GGT TTA GG GCC TTC ATC ATT TCG CTT TC	248	Wang ve ark. (2002)
16S rRNA	CCC CCT GGA CGA AGA CTG AC ACC GCT GGC AAC AAA GGA TA	401	

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Su Kalite Parametre Sonuçları

Asi yüzey suyu örneklerinin on iki aylık toplanma istasyonlardaki sıcaklık değerlerinin 8,2-32,2 °C; pH 7,27-8,7; EC için 570,2-1004 µS/cm; DO 3,7-8,5 mg/L; TDS 370,5-630,5 mg/L; tuzluluk 0,28-0,57 ppt; NH₄⁺ 0,01-0,73 mg/L; NO₂⁻ 0,06-0,39 mg/L; NO₃⁻ 4,3-25,7 mg/L; toplam fosforun 0,01-4,59 mg/L arasında değiştiği belirlenmiştir.

Asi nehri örnekleme istasyonlarının bir yıllık su kalite parametrelerinin minimum, maksimum ve standart sapma değerleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Örnekleme istasyonlarına ait on iki aylık su kalite parametreleri ile ilgili istatistiksel veriler

Parametre (Birim)	İstasyon			
		Eşrefiye	Demirköprü	Küçük Asi
T (°C)	Minimum	8,2	9	10,3
	Maksimum	31,6	29,6	32,2
	Ortalama	19,84	19,71	21,49
	Standart Sapma	9,24	8,98	9,42
pH	Minimum	7,27	7,51	7,68
	Maksimum	8,7	8,6	8,5
	Ortalama	7,40	7,41	7,38
	Standart Sapma	2,35	2,35	2,34
EC (µS/cm)	Minimum	793	779	570,2
	Maksimum	970	1004	967
	Ortalama	785,67	786,92	796,27
	Standart Sapma	255,02	254,30	265,09
DO (mg/L)	Minimum	3,9	3,7	4,9
	Maksimum	8,5	8,1	8,3
	Ortalama	6,03	5,18	6,07
	Standart Sapma	2,36	2,05	2,24

Çizelge 4.1. (Devamı) Örnekleme istasyonlarına ait on iki aylık su kalite parametreleri ile ilgili istatistiksel veriler

Parametre (Birim)	İstasyon			
	Eşrefiye	Demirköprü	Küçük Ası	
TDS (mg/L)	Minimum	406	417	370,5
	Maksimum	630,5	546,5	553
	Ortalama	429,71	415,04	426,21
	Standart Sapma	146,21	135,94	140,63
Tuzluluk (ppt)	Minimum	0,44	0,41	0,28
	Maksimum	0,52	0,55	0,57
	Ortalama	0,45	0,45	0,45
	Standart Sapma	0,14	0,14	0,17
NH ₄ ⁺ (mg/L)	Minimum	0,02	0,01	0,04
	Maksimum	0,27	0,33	0,73
	Ortalama	0,09	0,13	0,22
	Standart Sapma	0,08	0,09	0,22
NO ₂ ⁻ (mg/L)	Minimum	0,06	0,11	0,16
	Maksimum	0,23	0,26	0,39
	Ortalama	0,15	0,17	0,25
	Standart Sapma	0,06	0,04	0,08
NO ₃ ⁻ (mg/L)	Minimum	4,3	5	4,3
	Maksimum	15,6	25,7	10,2
	Ortalama	5,19	6,5	4,88
	Standart Sapma	5,06	7,31	3,99
Toplam Fosfor (mg/L)	Minimum	0,01	0,01	0,01
	Maksimum	3,1	2,11	4,59
	Ortalama	0,62	0,25	0,47
	Standart Sapma	1,1	0,59	1,3

4.2. Total Koliform Bakteri ve *E. coli* Sayım Sonuçları

Örneklenen 36 yüzey suyu toplam koliform ve *E. coli* mikroorganizmaları yönünden analiz edilerek sayımları gerçekleştirildi. İncelenen yüzey su numunelerinin tamamının kontamine olduğu, dolayısıyla kontaminasyonun yüksek olduğu belirlendi. İstasyonların sayım sonuçları kıyaslandığında en az kontaminasyonun 1. istasyon, en çok kontamine istasyonun ise 3. istasyon olduğu gözlemlenmiştir.

Sonuçların minimum, maksimum ve standart sapma değerleri Çizelge 4.2'de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Örnekleme istasyonlarına ait on iki aylık total koliform bakteri ve sayımlarıyla ilgili istatistiksel veriler

Parametre (Birim)	İstasyon			
	Eşrefiye	Demirköprü	Küçük Asi	
<i>E. coli</i> sayımları	Minimum	4	4	6
	Maksimum	68	125	87
	Ortalama	21,75	30,08	27,58
	Standart Sapma	22,39	37,35	26,59
Toplam Koliform Bakteri Sayısı (kob/100 mL)	Minimum	8×10^2	4×10^2	6×10^2
	Maksimum	12×10^3	18×10^3	41×10^3
	Ortalama	4350	6758,3	10108,3
	Standart Sapma	3558,47	5948,64	9886,95

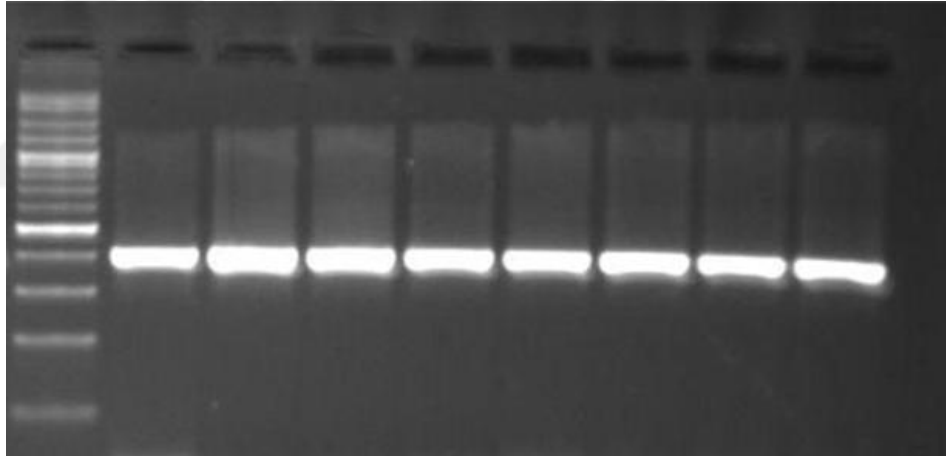
4.3. *E. coli* İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Membran filtrasyon yöntemi ile süzülüp filtrelenerek incelenen 36 yüzey suyu örneklerinden alınan selüloz filtreler Endo Agar petrilere yerleştirilmiş ve uygun inkübasyon sonucunda tipik/şüpheli *E. coli* kolonileri gözlemlenmiştir (Şekil 4.1).

Tüm izolatlar, genotipik olarak *E. coli*'ye özgü 16S rRNA primeri kullanılarak gerçekleştirilen PZR ile genotipik olarak da doğrulandı (Şekil 4.2). Fenotipik ve genotipik tanımlama analizleri sonucunda 36 yüzey suyu örneğinden 34 (%94,4) *E. coli* izole edildi.



Şekil 4.1. Membran filtrasyon yöntemi ile izole edilen *E. coli* izolatları

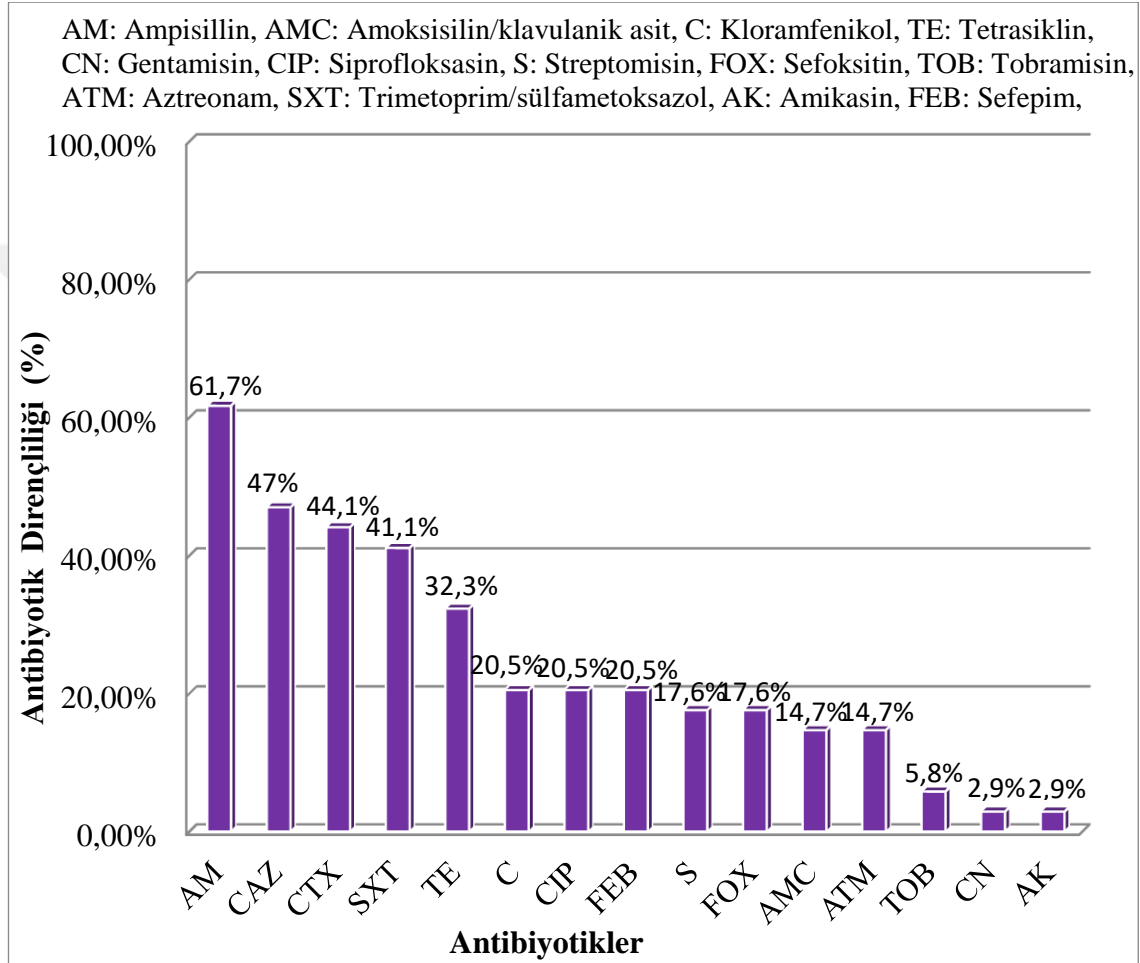


Şekil 4.2. *E. coli*'ye özgü 16S rRNA primeri kullanılarak gerçekleştirilen PZR sonuçları (*E. coli* pozitif izolatlar 401 bç)

4.4. Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları

İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi için CLSI'nın (2022) *E. coli* için belirlediği klinik sınır değerleri kullanıldı. 12 *E. coli* izolatu (%35,29) test edilen tüm (16) antibiyotiğe duyarlı bulunurken, diğer 22 izolatın tamamı imipeneme duyarlı bulundu. 22 *E. coli* izolatının diğer antibiyotiklere direnç oranları şöyledir:

Ampisillin %61,7 (n:21), seftazidim %47 (n:16), sefotaksim %44,1 (n:15), trimetoprim/sülfametoksazol %41,1 (n:14), tetrasiklin %32,3 (n:11), kloramfenikol %20,5 (n:7), siprofloksasin %20,5 (n:7), sefepim %20,5 (n:7), streptomisin %17,6 (n:6), sefoksitin %17,6 (n:6), amoksisilin/klavulanik asit %14,7 (n:5), aztreonam %14,7 (n:5), tobramisin %5,8 (n:2), gentamisin % 2,9 (n:1), amikasin %2,9 (n:1) (Şekil 4.3).

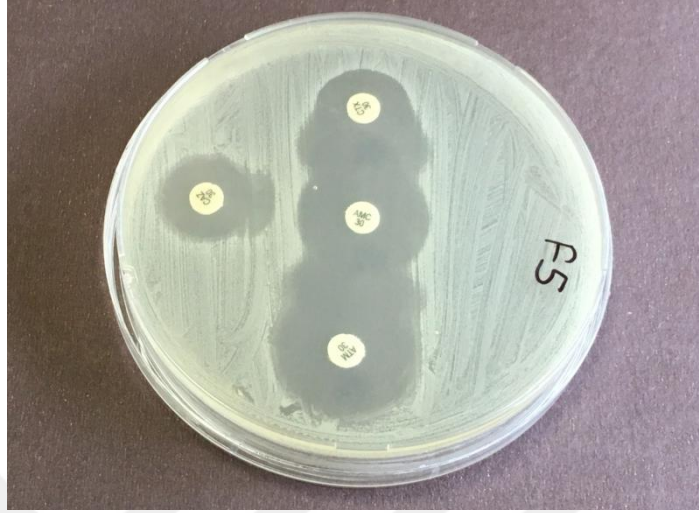


Şekil 4.3. *E. coli* izolatlarının antibiyotik direnç profilleri

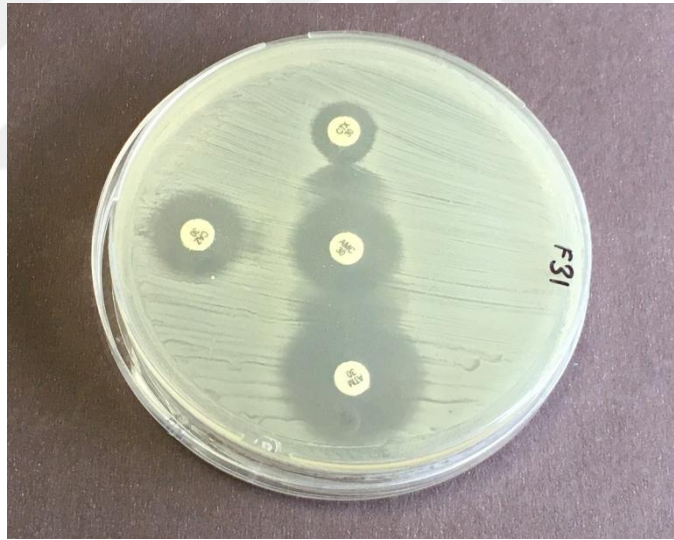
4.5. Çift Disk Sinerji Testi İle GSBL Üretiminin Belirlenmesi

Amoksisilin-klavulanik asit (AMC), Aztreonam (ATM), Seftazidim (CAZ) ve Sefotaksim (CTX) antibiyotik diskleri ile yapılan bu test ile 15 (% 44,11) izolat fenotipik olarak genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üretimi açısından pozitif değerlendirildi (Şekil 4.4, Şekil 4.5). Fenotipik olarak sefoksitin ve amoksisilin-

klavulanik asite dirençli 5 (%14,7) *E. coli* izolatu AmpC beta laktamaz üreticisi olarak değerlendirildi.



Şekil 4.4. Çift disk sinerji testi sonucu: GSBL pozitif



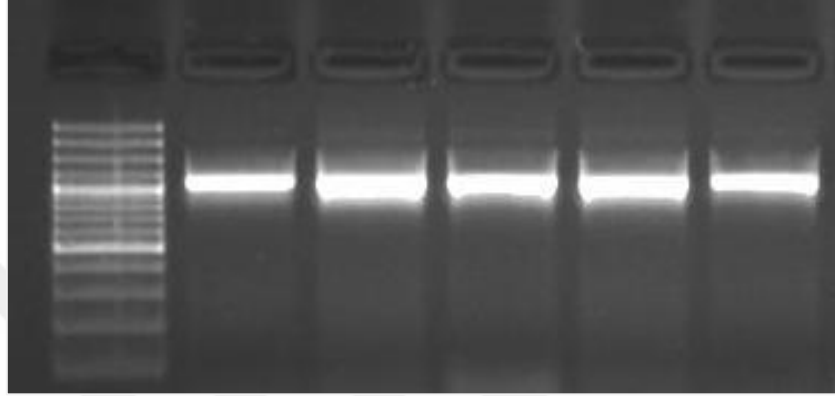
Şekil 4.5. Çift disk sinerji testi sonucu: GSBL pozitif

4.6. GSBL/ AmpC Beta-Laktamaz Çeşitlerinin ve Filogenetik Grupların PZR İle Belirlenmesi

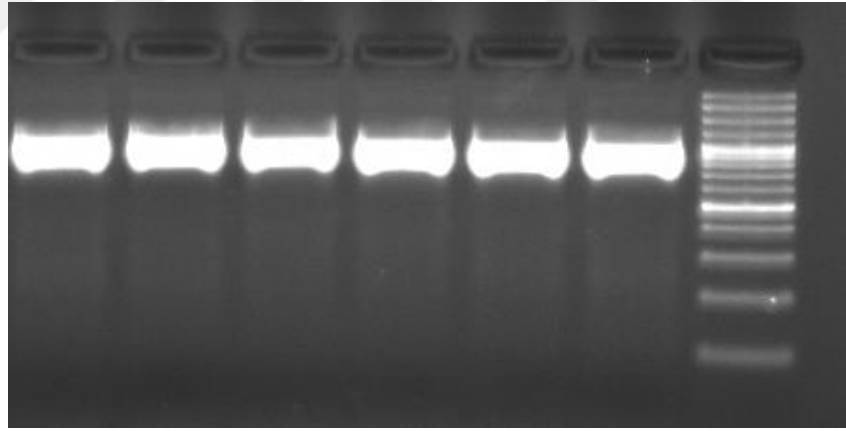
Fenotipik GSBL üreticisi seçilen 15 *E. coli* izolatu TEM, CTX-M, SHV ve OXA enzim çeşitleri açısından PZR ile analiz edildi. İzolatların hiçbirinde OXA geni bulunmadığı, buna karşın, 9 izolatu CTX-M, 3 izolatu TEM, 2 izolatu CTX-M+TEM

ve 1 izolatin CTX-M+TEM+SHV yönünden pozitif olduğu bulundu (Şekil 4.6, Şekil 4.7).

Fenotipik olarak AmpC şüpheli 5 izolatin sadece dördünde CMY-2 (%80), fenotipik olarak bu antibiyotiklere (sefoksitin + amoksisilin-klavulanik asite) dirençli olmayan 2 izolat dahil olmak üzere toplamda 6 örnekte CMY-2 geni belirlenmiştir.



Şekil 4.6. *bla*_{TEM} pozitif izolatlar (1051 bç)



Şekil 4.7. *bla*_{CTX} pozitif izolatlar (948 bç)

Clermont'un (2000) filogenetik gruplama için önerdiği multipleks PZR analizi sonucunda izolatların 15'inin A1, 6'sının B1, 4'ünün A₀, 5'inin B2₂, 4'ünün B2₃ grubunda yer aldığı bulundu.

Tüm izolatların antibiyotip dağılımları, GSBL genleri ve filogenetik grupları Çizelge 4.3'te toplu şekilde verilmiştir.

Çizelge 4.3. İzolatların antibiyotipleri, GSBL, AmpC genlerine ve filogruplarına göre dağılımı

İzolat No	Filogenetik Grup	Beta-Laktamaz Genotip			Direnç Fenotipi
		<i>bla</i> _{CTX}	<i>bla</i> _{TEM}	<i>bla</i> _{SHV}	
F1	A1	CTX-M			CMY-2 AM, AMC, C, CIP, FOX, TOB, ATM, FEB, CTX, CAZ
F2	B2 ₂	CTX-M	TEM		AM, ATM, FEB, CTX, CAZ
F3	A1		TEM		AM, C, TE, CIP, S, SXT
F4	A1	CTX-M	TEM		CMY-2 AM, AMC, C, TE, CN, CIP, FOX, TOB, ATM, SXT, FEB, CXT, CAZ
F5	A1	CTX-M			AM, CTX, CAZ
F6	B1		TEM		AM, S, CTX, CAZ
F7	A1				
F8	B2 ₂	CTX-M			AM, TE, CIP, ATM, SXT, CTX, CAZ
F9	B2 ₂	CTX-M			AM, TE, CIP, SXT, CTX, CAZ
F10	B2 ₃	CTX+M			AM, TE, CIP, CTX, CAZ
F11	B1				
F12	B1		TEM		AM, C, TE, S, SXT
F13	A1				
F14	A1				
F15	A1				AM, C, TE, SXT
F16	B1				AM, C, TE, CIP, S, SXT, CTX, CAZ
F17	A ₀			CMY-2	AM, C, TE, S, SXT, AK, CTX, CAZ
F18	A ₀			CMY-2	AM, FOX
F19	A1				

Çizelge 4.3. (Devamı) İzolatların antibiyotiplerine, GSBL, AmpC genlerine ve filogruplarına göre dağılımı

İzolat No	Filogenetik Grup	Beta-Laktamaz Genotip				Direnç Fenotipi
		bla _{CTX}	bla _{TEM}	bla _{SHV}	AmpC	
F20	B ₂					
F21	B ₂					
F22	B ₃					
F23	B ₃					
F24	B ₃					
F25	A1					
F26	A ₀				CMY-2	AM, AMC, FOX
F27	B1					AM, AMC, TE, S, FOX, SXT, CAZ
F28	A ₀				CMY-2	AMC, FOX
F29	A1	CTX-M				AM, SXT, CTX, CAZ
F30	A1	CTX-M				AM, SXT, FEB, CTX, CAZ
F31	A1	CTX-M				AM, SXT, FEB, CTX, CAZ
F32	A1					
F33	B1	CTX-M	TEM	SHV		AM, TE, S, ATM, SXT, FEB, CTX, CAZ
F34	A1	CTX-M				AM, SXT, FEB, CTX, CAZ

4.7. İzolatların Virülans Gen Sonuçları

İncelenen 34 *E. coli* izolatının 20'sinde (%58,8) en az bir veya daha fazla virülans gen tespit edilirken; 14 izolatın (%41,2) hiçbirinin virülans geni taşımadığı belirlendi. Gen tespit edilen izolatların hiçbirinde *stx1*, *stx2*, *hlyA*, *clpG*, *afaD-8*, *afaE-8*, *cnf1*, *f17A*, *f17a-A*, *f17b-A*, *f17c-A*, *f17d-A* gen taşıyıcılığı bulunamadı. En fazla belirlenen virülans geni *papC*'dir (n:14 % 41,2). *iucD* geni 34 izolatın 11'inde (% 32,3), *papE-F* geni 3'ünde (%8,8), *eaeA* geni 3'ünde (%8,8), *cnf-2* 2'sinde (%5,9), *sfa/focDE* 2'sinde (%5,9) ve *cnf2* ise 2'sinde (%5,9) tespit edildi. Tespit edilen 5 virülans gen kombinasyonları ise şu şekildedir: *papC+iucD* (n:7 %20,5), *papC+eaeA* (n:3 %8,8), *papC+papE-F* (n:2 %5,8), *sfa/focDE+cnf2* (n:1 %2,9), *iucD+papE-F+ sfa/focDE* (n:1 %2,9). Bu sonuçlar toplu olarak Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. *E. coli* izolatlarında virülans genlerin dağılımı

Virülans Genleri	<i>E. coli</i> (n: 34)	
	Sayı	Yüzde (%)
<i>papC</i>	14	41,2
<i>iucD</i>	11	32,4
<i>papE-F</i>	3	8,8
<i>eaeA</i>	3	8,8
<i>cnf-2</i>	2	5,9
<i>sfa/focDE</i>	2	5,9
<i>papC+iucD</i>	7	20,5
<i>papC+eaeA</i>	3	8,8
<i>papC+papE-F</i>	2	5,8
<i>sfa/focDE+cnf2</i>	1	2,9
<i>iucD+papE-F+ sfa/focDE</i>	1	2,9

4.8. Tartışma

Nehir, göl gibi tatlı sular özellikle antropojenik kaynaklı endüstriyel, tarımsal ve evsel atıkların kontrolsüzleşmesiyle, her geçen gün daha fazla çevre kirliliğine maruz kalmakta ve bu durum su kalitesinin (fiziksel, kimyasal, biyolojik) bozulmasının yanısıra sucul yaşam içinde olumsuz etkilere yol açmaktadır.

Asi Nehri yüzey suyu, tarımsal faaliyetin yoğun bir şekilde yapıldığı oldukça verimli Amik ovasının kalbi niteliğindedir. Nehir yüzey suyunun başta fiziksel, kimyasal ve biyolojik yönden kalitesinin değerlendirilmesi önemlidir. Bu tez çalışmasında, Türkiye’de ters akışta nehir olarak kabul gören Asi Nehri’nin bazı su kalite parametrelerinin yıllık olarak belirlenmesi, alınan yüzey suyu örneklerinde total koliform- *E. coli* sayımı, *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları, beta laktamaz üretim kapasiteleri ve virülans özellikleri araştırılmıştır.

Çalışmamızda örnekleme için seçilen istasyonlar tarımsal sulama için kullanılan ve evsel atıkların yoğun bulunduğu alanlar olduğu için seçilmiştir. Bir yıllık yüzey su analizleri ile Dünya Sağlık örgütü tarafından (WHO, 1997) önerilen standart değerler ile Asi Nehri yüzey suyunun fiziksel/kimyasal özellikleri kıyaslanarak uygunluğu değerlendirilmiştir. Çizelge 4.1’e bakıldığında ölçülen parametrelerin yüksek standart sapma değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Bu durum, Asi Nehri’ndeki su kalitesinin, doğal ve antropojenik etkenlerin etkisi altında zaman içinde değişebileceğini göstermektedir (González ve ark., 2014). Kılıç 2017’de yaptığı çalışmada benzer çıkarımlar yapmıştır. Ölçüm yaptığımız su kalite parametrelerinden biri olan EC (elektriksel iletkenlik) değerleri suyun tuzluluk seviyesinin bir ölçüsüdür. Ölçümlerimizde istasyonlardaki en düşük ve en yüksek EC değerleri 570-1004 $\mu\text{S}/\text{cm}$; üç istasyonun yıllık ortalaması ise 780 $\mu\text{S}/\text{cm}$ olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlardan anlaşıldığı üzere, Asi Nehir suyu Amerika Tuzluluk Laboratuvarı (Richards, 1954) sınıflandırmasına göre C3 kategorisinde değerlendirilerek sulama suyu kullanımına uygun bulunmuştur. Benzer bulgular Ağca ve Doğan’ın (2020) çalışmasında, Asi Nehri’nin su kalite parametre düzeyleri belirlenmiş ve bu bulgular, suyun içme ve sulama amaçlı kalitesi açısından değerlendirilmiştir. Yazarlar Asi Nehir suyunun kullanılırken dikkati olunması gerektiğini vurgulamışlardır. Bu noktada, Asi Nehir suyu tuzluluk açısından oldukça tuzlu sular sınıfına dahil edilmektedir. Amik ovasında tarımsal sulama kaynağı olarak Asi Nehri’nden yararlanılmaktadır. Yalnızca iyi drenaj koşulları ve tuzluluk kontrolü için özel yönetim uygulamaları altında sulamada kullanılabilir. Ölçüm yaptığımız tüm parametre sonuçları değerlendirildiğinde, Asi Nehri’nin seçilen istasyonlardaki yüzey suları genelde az kirli sular kategorisinde değerlendirilebilir.

Çalışmamızda üç farklı istasyondan bir yıl boyunca analiz ettiğimiz yüzey su örneklerinde toplam koliform ve *E. coli* sayımları yüksek bulunmuştur. Seçilen Asi Nehir istasyon yüzey sularında bu mikroorganizmaların varlığı önemli bir fekal kontaminasyon varlığına işaret etmektedir. Bu mikroorganizmalarla kontamine olan yüzey sularının kontrolsüz ve dikkatsizce kullanılması sonucu bazı salgın hastalıklar meydana gelebilmektedir. Bunu önlemek ve aynı zamanda halk sağlığını korumak amacıyla bu mikroorganizmaların varlığının araştırılmasına yönelik çalışmalar önem arz etmektedir (Berberoğlu ve Güngör 2013; Ekici ve ark. 2010). Ekici ve ark. (2010) Van ve çevresindeki içme sularının koliform ve *E. coli* varlığı açısından taradıkları çalışmalarında % 17,5 koliform ve %10 *E. coli* ile kontamine olduklarını bulmuşlardır. Taş ve ark. (2023) Miliç Irmağı'nın dört farklı istasyonundan yıllık olarak örneklemeler yaparak fekal indikatör bakteri (toplam koliform, *E. coli* ve *C. perfringens*) kontaminasyonunu araştırmışlardır. En yüksek kontaminasyonun seçilen istasyonlarda yağışlı dönemlerde olduğunu, ortalama koloni sayılarını ise toplam koliform (2022 kob/100 mL), *E. coli* (455 kob/100 mL), *C. perfringens* (34 kob/mL) için tespit etmişlerdir. Kaçar (2011), Ege Bölgesindeki nehir sularını aynı şekilde indikatör mikroorganizmalar açısından değerlendirerek kış aylarında kontaminasyonun en yüksek fekal koliform sayımlarında olduğunu bildirmiştir. Yapılan bu çalışmalar bizim deneysel bulgularımızla benzerlik göstermekte ve Asi Nehri'nin fekal indikatör bakterilerle kontamine olduğunu ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda üç farklı istayondan bir yıl boyunca elde ettiğimiz yüzey sularından izole edilen 34 *E. coli* izolatının, antibiyotiklere değişen oranlarda direnç gösterdiği belirlenmiştir. Şekil 4.3'e bakıldığında 16 antibiyotiğin 15'inde 22 *E. coli* izolatının direnç oluşturduğu gösterilmiştir. 12 *E. coli* izolatı ise test edilen tüm antibiyotiklere karşı duyarlı bulunmuştur. Kürekci ve ark. (2017)'de yaptıkları çalışmada Asi Nehri'nden ve Şehir Atıksu Arıtma Tesisinden izole edilen 54 *E. coli* izolatının geniş spektrumlu β -laktam antibiyotiklere karşı dirençliliğini araştırmışlardır. Antibiyotik dirençliliğine göre, tüm GSBL üreten izolatların ampisilin-sulbaktam (AMP-SUL), sefazolin (CFZ), seftazidim (CAZ) ve seftriakson (CTR)'a karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. 52 (%96,3) izolat, aztreonam (ATM) ve sefepime (FEB) dirençli bulunmuştur. Geri kalan antimikrobilyallere karşı direnç oranları şu şekilde bulunmuştur: siprofloksasine (CIP) 37 (%68,5) izolat, levofloksasine (LEV) 36 (%66,7)

izolat, trimetoprim-sülfametoksazole (STX) 36 (%66,7) izolat, tikarsilin-klavulanata (TIC-CLA) 28 (%51,9) izolat, sefoperazon-sulbaktama (CEF-SUL) 17 (%31,2) izolat, sefoksine (FOX) 15 (%27,8) izolat, gentamisine (CN) 14 (%25,9) izolat ve piperasilin-tazobaktama (PIP-TAZ) 13 (%24,1) izolat dirençli bulunmuştur. Tüm izolatlar amikasin (AM), kolistin (COL), ertapenem (ERT), imipenem (IPM), meropenem (MER) ve tigesikline (TIG) duyarlı bulunmuştur. Yazarlar *E. coli* suşlarının yüksek çeşitlilik gösterdiğini ve bu durumun Asi Nehri'nin kirlenme kaynaklarının çeşitliliğine işaret ettiğini belirtmişlerdir. Yapılan bu çalışma bizim çalışmamızın bulgularına benzerlik göstermektedir. Al-Hillah Nehri'nden izole edilen 61 *E. coli* izolatının antibiyotik dirençliliği, Always ve Al-Rafyay (2019)'nin çalışmasında değerlendirilmiştir. İzolatların, en yüksek direnci β -laktam antibiyotiklere (%63,1) karşı göstermiş olduğunu, bunu fosfomisin (%17,2) ve aminoglikozidler (%16,4) izlediğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar belirledikleri örnekleme istasyonlarında antibiyotik dirençliliğinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışma bizim bulgularımızla benzerlik göstermektedir. Moussa ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada, Asi Nehri ve Lübnan'daki dört farklı nehirde gerçekleştirilen araştırmada 91 izolat elde edilmiş ve bakterilerin antibiyotik dirençliliği incelenmiştir. *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae* en yaygın MDR izolatları olarak tanımlanmıştır. İzolatların %81'i (62/77) amoksisilin/klavulanik asite, %64'ü (49/77) tikarsiline %44'ü (34/77) sefalotine dirençli bulunmuştur. Asi Nehri'nden izole edilen *E. coli* imipeneme dirençli bulunmuştur. Araştırmacılar, yüzey sularında bakteriyel kontaminasyonun yaygın olduğuna ulaşmışlardır. Bu araştırma, kendi deneysel bulgularımızla paralellik göstermemektedir. Kilis'in Seve Barajı ve Konak Göleti'nde Takcı ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada, izole ettikleri 21 *E. coli* izolatının antibiyotik dirençliliği araştırılmıştır. İzole edilen *E. coli* izolatlarının %100'ünün klindamisin, eritromisin ve metronidazol'e dirençli olduğunu; %56,25'inin ise sefepim, sefiksime, sefoperazon, seftizoksime, kloramfenikol, gentamisin, imipenem, meropenem ve trimetoprime karşı duyarlı olduğunu saptamışlardır. Çalışma alanı farkı nedeniyle, yapılan bu çalışma bizim bulgularımızla benzerlik göstermemiştir. Kayış (2022) Adıyaman ilindeki Atatürk Barajı'ndan izole ettiği 70 *E. coli* izolatının antibiyotik dirençliliğini araştırmıştır. İzole edilen *E. coli* suşlarında antibiyotik direnç oranları şu şekilde belirlenmiştir: Eritromisin %95, seftarolin %31,42, sefazolin %30, tetrasiklin %14,28,

kloramfenikol %8,50, sefuroksim %4,28 ve sefotaksim ile sefepime ise %2,85. Araştırmacı bu sonuçlar neticesinde suyun fekal kirlilik açısından risk oluşturabileceğini bildirmiştir. Bu çalışmanın bizim bulgularımızla örtüşmemesinin temel nedeni, çalışma alanlarının farklılığından kaynaklanmaktadır. Karaca ve ark. (2023) Asi Nehri'nden izole ettikleri 10 *E. coli* izolatının antibiyotik duyarlılığını araştırmışlardır. Sefotaksim, tobramisin, streptomisin, trimetoprim, sefepim, sefazolin ve ampisiline direnç sırasıyla %20, %20, %40, %20, %20 ve %40 olarak belirlenmiştir. Araştırmacı antibiyotik direncinin yüksek olduğunu bununla birlikte su kalitesinin aşıldığını bildirmiştir. Araştırmacının yaptığı çalışmanın sonuçları bizim de yaptığımız çalışmanın bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda belirlediğimiz üç istasyondan bir yılda elde ettiğimiz yüzey sularından izole ettiğimiz 34 *E. coli* izolatının filogenetik grupları Clermont'un (2000) önerdiği bildiriye göre belirlenmiştir. İzolatlarımızın %44,1'inin A1, %17,6'sının B1, %14,7'sinin B2₂, %11,7'sinin B2₃ ve %11,7'sinin A₀ filogenetik grubunda olduğu tespit edildi. Hamelin ve ark. (2007) Kanada'daki St. Clair ve Detroit Nehirlerindeki gerçekleştirdikleri çalışmada 308 *E. coli* izolatının filogenetik gruplarını belirlemişlerdir. Çalışmada en çok ExPEC *E. coli* patotipi izole edilmiş olup, B2 ve D filogenetik gruplarına ait olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacıların belirledikleri istasyonlarda yaptıkları çalışmalar sonucunda istasyon noktalarına göre filogenetik grupların farklılık gösterdiğini rapor etmişlerdir. Kürekci ve ark. (2017)'de yaptıkları çalışmada Asi Nehri'nden ve Şehir Atıksu Arıtma Tesisinde izole edilen 54 *E. coli* izolatı izole edilmiştir. Asi Nehri suyu örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının A (%52), C (%16) ve E (%16), D (%8) ve B (%8) filogenetik gruplarına ait olduğunu bildirmişlerdir. Al-Hillah Nehri'nden izole edilen 61 *E. coli* izolatının B2 (31 izolat, %50,8), D (15 izolat, %24,6), B1 (9 izolat, %14,8) ve A (6 izolat, %9,8) filogenetik gruplarına ait olduğu, Always ve Al-Rafyay (2019) 'nin çalışmasında rapor edilmiştir. Moussa ve ark. (2021) Lübnan'da Asi Nehrin'e kıyısı olan bölgelerdeki yüzey sularından elde ettikleri *E. coli* izolatlarında filogruplandırmada B2'nin (%36) en yaygın olduğu, onu sırasıyla A (%27,8) ve D grubunun (%17) takip ettiğini raporlamışlardır. Kommensal *E. coli* izolatlarının genelde A ve B1 filogruplarında olduğu, patojenik ekstra intestinal suşların ise B2 ve D grubunda olduğu bilinmektedir (Johnson ve ark., 2001). Bununla beraber, A ve B1 filogrupları genelde B2 ve D

gruplarına kıyasla sucul çevrelerden daha sık izole edilirler (Figueira ve ark., 2011). En çok A1 ve B1 filogenetik grupta sınıflandırdığımız kendi izolatlarımız bu sonuçlarla uyumlu olmakla birlikte, B2₂ ve B2₃ grubuna dâhil olan patojenik olabilecek ekstra intestinal suşlarında varlığı dikkat çekmektedir.

Çalışmamızda üç farklı istayondan bir yıl boyunca elde ettiğimiz yüzey sularından izole edilen 34 *E. coli* izolatının 18 farklı virülans gen taşıyıcılığı incelenmiştir. 34 *E. coli* izolatının 20'sinde (%58,8) en az bir veya daha fazla virülans geni tespit edilirken, 14 izolatta (%41,2) hiçbir virülans geni belirlenmedi. En sık rastlanan virülans genleri *papC* (n:14 % 41,2) ve *iucD* (n: 11 % 32,3) olarak belirlenmiştir. Sidhu ve ark. (2013) çalışmasında Avustralya'nın Brisbane kentinde belirlenen altı bölgeden fırtına dönemleri öncesinde ve sonrasında alınan yüzey suyu örneklerinde virülans genlerinin varlığını incelemişlerdir. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) patotipine özgü olan *eaeA*, *stx1*, *stx2* ve *ehxA* genlerinin sırasıyla izolatların %56'sında, %6'sında, %10'unda ve %13'ünde tespit edildiği görülmüştür. Enteroagregatif *E. coli* (EAEC) patotipiyle ilişkilendirilen *astA* (%69) ve *aggR* (%29) virülans genlerinin *E. coli* izolatlarında sıkça bulunduğu belirlenmiştir. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) virülans geni *bfp*, izolatların %24'ünde tespit edilmiştir. Ayrıca, enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) virülans geni *ipaH* ise izolatların %14'ünde tespit edilmiştir.

Çalışmamızda üç farklı istayondan bir yıl boyunca elde ettiğimiz yüzey sularından izole edilen 34 *E. coli* izolatının GSBL gen varyantları araştırılmıştır. Fenotipik olarak 15 izolat (% 44,11) GSBL ve 5 izolatta (%14,7) *bla*_{CMY-2} tip beta-laktamaz üretimi açısından pozitif değerlendirilmiştir. İzolatlarda en yaygın GSBL enzimi CTX-M (n:9) ve TEM (n:3) olarak bulunurken, AmpC tipi beta laktamaz üretici izolatların 6'sında CMY-2 geni belirlenmiştir. Kürekcı ve ark. (2017)'de yaptıkları çalışmada Asi Nehri'nden ve Şehir Atıksu Arıtma Tesisinden izole edilen 54 *E. coli* izolatının GSBL gen varyantları değerlendirilmiştir. GSBL fenotipine sahip 54 sefotaksim dirençli *E. coli* suşundan 20'sinde (%37) *bla*_{CTX-M-15} bulunurken, 16 izolat (%29,6) *bla*_{CTX-M-15} ve *bla*_{TEM-1}'i bir arada taşımaktadır. Sadece bir izolatta (%1,9) ise *bla*_{CTX-M1}+*bla*_{TEM-1} tespit edilmiştir. Ancak tüm izolatların SHV veya OXA pozitif olduğu tespit edilememiştir. Moussa ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada, Asi Nehri ve Lübnan'daki dört farklı nehirde gerçekleştirilen araştırmada 91 izolat elde edilmiş ve bakterilerin GSBL gen varyantları incelenmiştir. Bir *E. coli* izolatının *bla*_{NDM-5} genini konjugatif çoklu

replikon plazmit üzerinde taşıdığı, *bla*_{CTX-M-15} ve *bla*_{TEM-1B} genlerinin ise MDR izolatlarının çoğunda bulunduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar, bu bulgular sonucunda yüzey sularında bakteriyel kontaminasyonun yaygın olduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan bu çalışmalar bizim deneysel bulgularımızla paralellik göstermektedir.



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yüzey suyu örneklerinde araştırılan su kalite parametreleri, ayrı ayrı incelendiğinde, Asi nehrinin durumu hakkında çeşitli sonuçlara işaret etmektedir. Ancak parametrelerin toplu değerlendirilmesi yapıldığında Asi Nehrinin Çevre bakanlığı tarafından belirlenen ölçütler çerçevesinde genellikle II. sınıf az kirli su sınıfında yer alabileceğini, fakat potansiyel kirlenme riskiyle karşı karşıya olduğu görüşüne varılmıştır.

Analiz edilen yüzey suyu örneklerinde *E. coli* ve total koliform bakteri sayımının yüksek olması, Asi nehri su kaynağının mikrobiyolojik yönden de kontamine olduğunu göstermiştir. Bu durum çevre sağlığıyla da yakından ilgili olduğundan, suyun kullanımında dikkatli olunması gerekmektedir.

İzolatların filogenetik grulamada en çok A1 ve B1 grubuna dahil kommensal suşlardan oluştuğu ancak ekstraintestinal patojen suşlarında dahil olduğu B2₂ ve B2₃ gruplarına da rastlanmıştır. Bu durum halk sağlığıyla yakından ilişkili olduğundan Asi nehrinin mikrobiyal kirlilik yükünün düzenli olarak takip edilmesi önerilmektedir.

Asi nehri yüzey sularından elde edilen izolatlarda GSBL, AmpC beta laktamaz taşıyıcılığı ile çeşitli antibiyotiklere direnç profillerinin ve virülans genlerinin de bulunması dikkat çekmektedir. Bu durum *E. coli* izolatları arasında direnç belirleyici ve virülans genlerinin taşıyıcı mobil elementlerle birlikte yayılacağını ve Asi nehir yüzey sularının önemli bir rezervuar olarak işlev görebileceğini ortaya çıkarmaktadır.

KAYNAKLAR

- Ağca, N. and Doğan, K., 2020. Asi Nehrinin su kalite parametre düzeylerinin belirlenmesi. **MKU. Tar. Bil. Derg.**, 25(1) : 1-9.
- Ahmed, A.M., Motoi, Y., Sato, M., Maruyama, A., Watanabe, H., Fukumoto, Y. and Shimamoto, T., 2007. Zoo Animals As A Reservoir of Gram Negative Bacteria Harboring Integrans and Antimicrobial Resistance Genes. **Appl. Environ. Microbiol.**, 73 (20): 6686-6690.
- Akkan, T. and Topkaraoğlu, T., 2019. Determination of antibiotic resistance levels of *Escherichia coli* isolates obtained from freshwater sources: Batlama Creek. **Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences**, 4(3), 539-544.
- Alwash, M.S. and Al-Rafyay, H.M., 2019. Antibiotic Resistance Patterns of Diverse *Escherichia coli* Phylogenetic Groups Isolated from the Al-Hillah River in Babylon Province, Iraq. **The Scientific World Journal**, (1):1-8.
- An, Y-J., Kampbell, D.H. and Breidenbach, P.G., 2002. *Escherichia coli* and Total coliforms in water and sediments at Lake Marinas. **Environmental Pollution**, 120: 771-778.
- Anonymous, 2016a. Water Quality Indicators: Temperature and Dissolved Oxygen. <http://www.rampalberta.org/river/water+sediment+quality/chemical/temperature+and+dissolved+oxy+gen.aspx> (Erişim: 08.07.2016)
- Anonymous, 2016b. Water Quality Indicators: Conventional Variables. <http://www.rampalberta.org/river/water+sediment+quality/chemical/conventional.aspx> (Erişim: 08.07.2016)
- APHA, 1992. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Joint Publication. **Standard methods for the examination of water and wastewater, 18th edition**, 9-49.
- Aras, İ., 2006. "Damla sulama yöntemi", **Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi**, c. 15, s. 1-2, ss. 49-60.
- Ashton, P.J., 2010. The demise of the Nile (*Crocodylus niloticus*) as a keystone species for aquatic ecosystem conservation in South Africa: The case of the Olifants River. **Aquatic Conservation Marine and Freshwater Ecosystems**, 20: 489-493, South Africa.
- Aslan, R. ve Sümer, Z., 2021. İçme ve Kullanma Suyu Örneklerinin Mikrobiyolojik Kalitesinin *Escherichia coli* O157:H7 Serotipi Yönünden Araştırılması: Sivas İli Örneği. **Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, 6(3), 192-200.
- Aslantaş, Ö., 2020. High occurrence of CMY-2-type beta-lactamase-producing *Escherichia coli* among broiler flocks in Turkey. **Trop Anim Health Prod.**, 52(4):1681-1689.
- Barnes, J.M., 2003. The impact of water pollution from formal and informal urban developments along the Plankenburg River on water quality and health risk. PhD Dissertation, **Department of Community Health**, University of Stellenbosch, South Africa.
- Barnes, J.M., Slabbert, M.M., Huisamen, A. and Wassermann, E., 2004. *Escherichia coli* as an indicator of microbiological water quality in the Plankenburg River: What other pathogens does it indicate? **Water institute of Southern Africa (WISA) Biennial Conference**, 445-451.

- Bentley, R. And Meganathan, R., 1982. Biosynthesis of vitamin K (menaquinone) in bacteria. **Microbiol Rev.**, 46(3):241–80.
- Berberoğlu, U. ve Güngör, ., 2013. Yüzey suyu ve sulama amalı atık sularda fekal kirlilik düzeyleri ile helmint yumurta ve protozoa kistlerinin araştırılması. **Türk Hij Den Biyol Derg.**, 70(4): 191-200.
- Bertin, Y., Martin ,C., Oswald, E. and Girardeau, J.P., 1996. Rapid and specific detection of F17-related pili and adhesin genes in diarrheic and septicemic *Escherichia coli* strains by multiplex PCR. **J Clin Microbiol.**, 34(12):2921-8.
- Bertin, Y., Martin, C., Girardeau, J.P., Pohl, P. and Contrepolis, M., 1998. Association of genes encoding P fimbriae, CS31A antigen and EAST 1 toxin among CNF1-producing *Escherichia coli* strains from cattle with septicemia and diarrhea. **FEMS Microbiology Letters**,162(2):235-9.
- Besler, A., 2002. Torba Limanında Kirlilik İndikatörü Olan Bakterilerin Tespiti ve İzole Edilen *E. coli* Suşlarının Bazı Direnç Özelliklerinin Belirlenmesi. Muđla Üniversitesi, **Fen Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek Lisans Tezi.
- Bilgehan, H., 1992. Enterobacteriaceae Klinik Mikrobiyolojik Tanı. **Fakülteler Kitabevi**, Ankara.
- Bilgehan, H., 2002. **Temel mikrobiyoloji ve bağışıklık bilimi kitabı: Bağışık yanıt ve temelleri, 10. Baskı.** Barış Yayınları, İzmir, 303-317.
- Buckalew, D.W., Hartman, L.J., Grimsley, G.A., Martin, A.E. and Register, K.M., 2006. A long-term study comparing membrane filtration with Colilert defined substrates in detecting faecal coliforms and *E. coli* in natural waters. **Journal of Environmental Management**, 80: 191-197.
- Cirit, H., 2007. Sınıraşan Sular ve Türkiye. Dicle Üniversitesi, **Sosyal Bilimler Enstitüsü**, Kamu Hukuku Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Clermont, O., Bonacorsi, S., Bingen, E., 2000. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. **Applied and Environmental Microbiology**, 66(10): 4555-4558.
- CLSI., 2022. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.* Clinical and Laboratory Standards Institute. Thirty-Second Informational Supplement, M100-S32. Wayne, PA.
- Craun, G.F., 1986. **Waterborne Diseases in the United States, 1st edition.** Center for Research Council Press, Inc, Boca Raton, Florida, United States.
- Dalar, M., 2010. Asi Nehri'nin Türkiye-Suriye İlişkileri zerindeki Etkisi Ve Geleceđi. **Ortadoğu Analiz, Cilt: 2, Sayı: 15.**
- Daniels, N.A., 2006. Enterotoxigenic *Escherichia coli*: Traveler's Diarrhea Comes Home. **Clinical Infectious Diseases**, 42: 335-336.
- Dobrijevi, D., Trudi, A., Bori, V. and Bekut, M., 2017. Antibiotic susceptibility profile of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from drinking and surface water. **Racionalna Terapija**, IX(1), 1-13.
- DWAF, (Department of Water Affairs and Forestry), 2004a. Berg Water Management Area. Internal Strategic Perspective. Prepared by Ninham Shand (Pty) Ltd in association with Jakoet and Associates, Umvoto Africa and Tlou and Matji, on behalf of the Directorate: National Water Resource Planning. DWAF Report No P WMA/000/00/0304.
- Ekici, K., Krkoca, H., Sancak, Y.C. ve Atalan, E., 2010. Van ve Yresi İme Sularında Koliform ve *E. coli* Araştırılması. **Uludađ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, 29(2): 21-25.

- Erol, İ., 2007. **Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi**, 1. Baskı. Pozitif Matbaacılık, Yenimahalle, Ankara; 49-56.
- Escherich, T., 1989. The intestinal bacteria of the neonate and breast-fed infant. **Rev Infect Dis.**, 11(2):352-6.
- Escobar-Paramo, P., Clermont, O., Blanc-Potard, A.B., Bui, H., Le Bouguenec, C. and Denamur, E., 2004. A specific genetic background is required for acquisition and expression of virulence factors in *Escherichia coli*. **Mol Biol Evol**, 21:1085-1094.
- Fan, X., Niemira, B., Doona, C., Feeherry, F., and Gravani, R., eds., 2009. **Microbial Safety of Fresh Produce**. Ames, IA: Wiley-Blackwell.
- FAO., 2009. AQUASTAT Transboundary River Basins – Asi-Orontes River Basin. **Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)**, Rome, Italy.
- Figueira, V., Serra, E. and Manaia, C.M., 2011. Differential patterns of antimicrobial resistance in population subsets of *Escherichia coli* isolated from waste- and surface waters. **Sci Total Environ.**, 409:1017-1023.
- Figueras, M.J., Polo, F., Inza, I. and Guarro, J., 1997. Past, Present and Future Perspectives of the EU Bathing Water Directive. **Marine Pollution Nulletin**, 34(3), 148-156.
- Gemmell, M.E. and Schmidt, S., 2010. Potential links between irrigation water quality and microbiological quality of food in subsistence farming in Kwazulu-Natal, South Africa. (A. Mendez-Vilas, Editors). **Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**, 1190-1195.
- González, S.O., Almeida, C.A., Calderón, M., Mallea, M.A. and González, P., 2014. Assessment of the water self-purification capacity on a river affected by organic pollution: application of chemometrics in spatial and temporal variations. **Environmental Science and Pollution Research**, 21(18): 10583-10593.
- Gumbo, B., Mlilo, S. and Lumbroso, D., 2003. Industrial Water Demand Management and Cleaner Production: A case of three industries in Bulawayo, Zimbabwe. **Physics and Chemistry of Earth**, 28: 797-804.
- Gündüz, O., 2016.
http://kisi.deu.edu.tr/orhan.gunduz/english/courses/TurkceIngilizce_teknik_terimler_sozlugu.pdf (Erişim: 08.08.2016)
- Güngör, Ö.G., 2018. Bazı Mahalle Çeşme Sularının Koliform Bakteri Düzeylerinin Araştırılması. Marmara Üniversitesi, **Fen Bilimleri Enstitüsü**, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Hamelin, K., Bruant, G., El-Shaarawi, A., Hill, S., Edge, T.A., Fairbrother, J., Harel, J., Maynard, C., Masson, L. and Brousseau, R., 2007. Occurrence of Virulence and Antimicrobial Resistance Genes in *Escherichia coli* Isolates from Different Aquatic Ecosystems within the St. Clair River and Detroit River Areas. **Applied and Environmental Microbiology**, 73(2):477-84.
- Hammer, M.J and Mackichan, A.K., 1981. **Hydrology and Quality of Water Resources**, John Wiley and Sons, New York.
- Hasanlı, L., 2020. Kan ve idrar örneklerinden izole edilen *Escherichia coli* izolatlarında virülens genlerinin araştırılması. Selçuk Üniversitesi, **Bilimsel Araştırma Projeleri**.
- Health Protection Agency., 2005. *Enterococcus spp.* and *Glycopeptide Resistant Enterococci* (GRE). Available from www.hpa.org.uk

- Heath, R.G., Van Zyl, H.D., Schutte, C.F. and Schoeman, J.J., 2009. First order assessment of the quality and quantity of non-point sources of pollution associated with industrial, mining and power generation. www.wrc.org.za/Document%20Thumbnails/Research%20Reports/plain%20Reports/1627-1-09%20/sanitation.pdf [14 October 2011].
- Hill, K.M., 2004. **Understanding Environmental Pollution, 2nd edition**. Cambridge University Press, United Kingdom.
- Howladar, M.F., Al Numanbakhth M.A. and Faruque M.O., 2017. An application of Water Quality Index (WQI) and multivariate statistics to evaluate the water quality around Maddhapara Granite Mining Industrial Area, Dinajpur, Bangladesh. **Environ Syst Res.**, 6(1):13.
- Hsu, W.B., Wang, J.H., Chen, P.C., Lu, Y.S. and Chen, J.H., 2007. Detecting low concentrations of *Shigella sonnei* in environmental water samples by PCR. **FEMS Microbiology Letters**, 270: 291-298.
- Hunter, P.R., 2003. Drinking water and diarrhoeal disease due to *Escherichia coli*. **Journal of Water and Health**, 1(2):65-72.
- Ijabadeniyi, O.A., 2010. Effect of irrigation water quality on the microbiological safety of fresh vegetables. Phd Dissertation, Department of Food Science, **Faculty of Natural and Agricultural Sciences**, University of Pretoria, South Africa.
- Jarlier, V., Nicolas, M.H., Fournier, G. and Philippon, A., 1988. Extended Broad-Spectrum β -Lactamases Conferring Transferable Resistance to Newer β -Lactam Agents in Enterobacteriaceae: Hospital Prevalence and Susceptibility Patterns. **Reviews of Infectious Diseases**, Volume 10, Pages 867–878.
- Johnson, J.R., Delavari, P., Kuskowski, M. and Stell, A.L., 2001. Phylogenetic distribution of extraintestinal virulence-associated traits in *Escherichia coli*. **J Infect Dis.**, 183:78–88.
- Kacar, A., 2011. Analysis of spatial and temporal variation in the levels of microbial fecal indicators in the major rivers flowing into the Aegean Sea, Turkey. **Ecological Indicators**, 11(5), 1360–1365.
- Kaipainen, T., Pohjanvirta, T., Shpigel, N.Y., Shwimmer, A., Pyörälä, S. and Pelkonen, S., 2002. Virulence factors of *Escherichia coli* isolated from bovine clinical mastitis. **Vet Microbiol.**, 85(1):37-46.
- Kaper J.B., Nataro, J.P. and Mobley, H.L., 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nat Rev Microbiol.**, 2(2):123-40.
- Karaca, C., Huner, T. and Takci, H.A.M., 2023. Antibiotic susceptibility profiles of *Escherichia coli* strains and fecal contamination in Orontes River, Turkey. **International Journal of Life Sciences and Biotechnology**, 6(2): p. 155-165.
- Kayış, F.B, 2022. Antibiotic Resistance Profile of *Escherichia coli* Bacteria Isolated from Atatürk Dam Lake, Adıyaman. **Comm. J. Biol.**, 6(1), 105-109.
- Kılıç, E. and Can, M.F., 2017. Determination of Spatiotemporal Variations in Heavy Metal Concentration through Orontes River. **Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology**, 5(9): 1086-1093.
- Kılıç, E. and Yücel, N., 2018. Determination of Spatial and Temporal Changes in Water Quality at Asi River Using Multivariate Statistical Techniques. **Turk. J. Fish. and Aquat. Sci.**, 19(9), 727-737.
- Kılıç, E., 2017. Asi Havzasındaki Su Kalitesinin Çok Değişkenli İstatiksel Yöntemler Kullanılarak Değerlendirilmesi. İskenderun Teknik Üniversitesi, **Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü**, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

- Kong, R.Y.C., Mak, M.M.H. and Wu, R.S.S., 2009. DNA technologies for monitoring waterborne pathogens: A revolution in water pollution monitoring. *Ocean and Coastal Management*, 52: 355-358.
- Kong, R.Y.C., So, C.L., Law, W.F. and Wu, R.S.S., 1999. A sensitive and versatile multiplex PCR system for the rapid detection of Enterotoxigenic (ETEC), Enterohaemorrhagic (EHEC) and Enteropathogenic (EPEC) strains of *Escherichia coli*. **Marine Pollution Bulletin**, 38(12): 1207-1215.
- Kongolo, M., 2011. Water resources management for agricultural growth in drylands in developing countries. **African Journal of Business Management**, 5(3): 3913-3922.
- Kongur, E., 2017. Üriner sistem enfeksiyonu ön tanılı bakteriyemik ve nonbakteriyemik hasta örneklerinden izole edilen *Escherichia coli* kökenlerinde virülens genlerinin araştırılması. Karadeniz Teknik Üniversitesi, **Tıp Fakültesi**, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi.
- Korkmaz, H. ve Karataş, A., 2009. Asi Nehri'nde Su Yönetimi ve Ortaya Çıkan Sorunlar. **Mustafa Kemal Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi**, 6(12): 18-40.
- Kothary, M.H. and Babu, U.S., 2001. Infective dose of foodborne pathogens in volunteers: a review. **Journal of Food Safety**, 21: 49-73.
- Kürekci, C., Aydın, M., Yipel, M., Katouli, M. and Gündoğdu, A., 2017. Characterization of extended spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in Asi (Orontes) River in Turkey. **Journal of Water and Health**, Oct;15(5):788-798.
- Lalioui, L., Jouve, M., Gounon, P. and Le Bouguenec, C., 1999. Molecular cloning and characterization of the afa7 and afa8 gene clusters encoding afimbrial adhesins in *Escherichia coli* strains associated with diarrhea or septicemia in calves. **Infect Immun.**, 67(10):5048-59.
- Leclerc, H., Schwartzbrod, L. and Dei-Cas, E., 2002. Microbial agents associated with waterborne diseases (Abstract). **Critical Review Microbiology**, 28(4): 371-409.
- Liu, Y., Liu, C., Zheng, W., Zhang, X., Yu, J., Gao, Q., Hou, Y. and Huang, X., 2008. PCR detection of *Klebsiella pneumoniae* in infant formula based on 16S-23S internal transcribed spacer. **International Journal of Food Microbiology**, 125: 230-235.
- Maden, T.E., 2011. Türkiye - Suriye İlişkilerinde Asi Nehri. **Ortadoğu Analiz**, Cilt 3, Sayı: 31-32.
- Manzano, M., Giusto, C., Medrala, D., Cantoni, C. and Comi, G., 2003. Optimisation of DNA extraction to detect *Bacillus cereus* from food using PCR technique-short communication. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, 12(53): 69-71.
- Mates A. and Shaffer M., 1989. Membrane filtration differentiation of *E. coli* from coliforms in the examination of water. **J Appl Bacteriol.**, Sep;67(3):343-6. PMID: 2693426.
- Matyar, F. ve Dinçer, S., 2010. Doğu Akdeniz'den İzole Edilen *Enterococcus faecalis* Bakterilerinin Antibiyotik ve Ağır Metal Dirençliliği. **Journal of Science**, 5(2), 172-178.
- Meriam-Webster Inc., 2018. Online Dictionary: <https://www.merriam-webster.com/> [Accessed November 2018].
- Monstein, H.J., Ostholm-Balkhed, A., Nilsson, M.V., Nilsson, M., Dornbusch, K. and Nilsson, L.E., 2007. Multiplex PCR amplification assay for the detection of

- blaSHV, blaTEM and blaCTX-M genes in Enterobacteriaceae. **APMIS**, 115(12):1400-1408.
- Moussa, J., Abboud, E. and Tokajian, S., 2021. The dissemination of antimicrobial resistance determinants in surface water sources in Lebanon. **FEMS Microbiol Ecol.**, 17;97(9):fiab113.
- Mukamolova, G.V., Turapo, O.A., Kazarian, K., Telkov, M., Kaprelyants, A.S., Kell, D.B. and Young, M., 2002. The *rpf* gene of *Micrococcus luteus* encodes an essential secreted growth factor. **Molecular Microbiology**, 46(3): 611-621.
- Muller, M. and Kfir, R., 2003. Management of water related microbial diseases. **The Department of Water Affairs and Forestry**, Republic of South Africa.
- Mutlu, E., Demir, T., Kutlu, B. ve Yanık, T., 2013. Sivas-Kurugöl Su Kalite Parametrelerinin Belirlenmesi. **Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi**, 1(1): 37-43.
- Myers, D.N., Stoeckel, D.M., Bushon, R.N., Francy, D.S and Brady, A.M.G., 2007. **US Geological Survey Techniques of Water-Resources**, Fecal indicator Bacteria, book 9, chapter A7, section 7.1 (version 2.0). http://water.usgs.gov/owq/FieldManual/Chapter7/7.1_Ver2.0.pdf [11 October 2011].
- Nataro, J.P. and Kaper J.B., 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clin Microbiol Rev.**, 11(1):142– 201.
- Ndlovu, T., 2013. Comparison Of Diagnostic Tools And Molecular Based Techniques For The Rapid Identification Of *Escherichia coli* And Coliforms In Contaminated River Water. **Cape Peninsula University of Technology**.
- Niemi, M., Sibakov, M. and Niemela, S., 1983. Antibiotic resistance among different species of fecal coliforms isolated from water samples. **Appl. Environ. Microbiol.**, 45, 79-83.
- O’Sullivan, J., Bolton, D.J., Duffy, G., Baylis, C., Tozzoli, R., Wasteson, Y. and Lofdahl, S., 2007. Pathogenic *Escherichia coli* Network: Methods for Detection and Molecular Characterisation of Pathogenic *Escherichia coli*. **Ashtown Food Research Centre**, Ireland.
- Obasohan, E.E., Agbonlahor, D.E. and Obano, E.E., 2010. Water pollution: A review of microbial quality and health concerns of water, sediment and fish in the aquatic ecosystem. **African Journal of Biotechnology**, 9(4): 423-427.
- Oelofse, S. and Strydom, W., 2010. A CSIR perspective on water in South Africa. www.csir.co.za/nre/docs/CSIR%20Perspective%20on%20Water_2010.PDF. [12 October 2011].
- Okpokwasili, G.C. and Akujobi, T.C., 1996. Bacteriological indicators of tropical water quality. **Environmental Toxicology and Water Quality**, 11: 77-81.
- Oppegaard, H., Steinum, T.M. and Wasteson, Y., 2001. Horizontal transfer of a multidrug resistance plasmid between coliform bacteria of human and bovine origin in a farm environment. **Appl. Environ. Microbiol.**, 67, 3732-3734.
- Orhon, K.B., 2015. Sınıraşan Yerüstü Suların Yönetiminde Dünya Ve Türkiye Uygulamaları, **T.C. Orman Ve Su İşleri Bakanlığı**, Uzmanlık Tezi.
- Payne, S.J.O., 2007. Tools for microbial detection and characterisation in drinking water distribution systems, Department of Civil and Resource Engineering, **Master of Applied Science thesis**, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia.

- Pérez-Pérez, F.J., Hanson, N.D., 2002. Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. **J Clin Microbiol.**, 40:2153–2162.
- Prescott, M.L., Harley, J.P. and Klein, D.A., 2005. **Microbiology, 6th edition**, the McGraw Hill companies, New York.
- Prescott, M.L., Harley, P.J. and Klein, A.D., 1993. **Microbiology, 2nd edition**, Wm.C.Brown Publishers, Oxford England.
- Quibell, G., 2000. Managing the root causes of non-point source pollution- some experience from the project to manage the water quality effects of densely populated settlements. **Presented at Water Institute of Southern Africa**, South Africa.
- Rahman, A.K.M.L., Islam, M., Hossain, M.Z. and Ahsan, M.A., 2012. Study of the seasonal variations in Turag river water quality parameters. **African Journal of Pure and Applied Chemistry**, Vol. 6(10), pp. 144-148.
- Richards, L.A., 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. **US Dep Agri.**, Handbook 60:147.
- Scarpellini, M., Franzetti, L. and Galli, A., 2004. Development of PCR assay to identify *Pseudomonas fluorescens* and its biotype. **FEMS Microbiology Letters**, 236: 257-260.
- Sidhu, J.P.S., Ahmed, W., Hodgers, L. and Toze, S., 2013. Occurrence of Virulence Genes Associated with Diarrheagenic Pathotypes in *Escherichia coli* Isolates from Surface Water. **Applied and Environmental Microbiology**, 79(1): 328-335.
- Sooka, A., Du Plessis, M. and Keddy, K., 2004. Enterovirulent *Escherichia coli*. **The Southern African Journal of Epidemiology and Infection**, 19(1): 23-33.
- Spilker, T., Coenye, T., Vandamme, P. and LiPuma, J.J., 2004. PCR-Based Assay for differentiation of *Pseudomonas aeruginosa* from other *Pseudomonas species* recovered from cystic Fibriosis patients. **Journal of Clinical Microbiology**, 42(5): 2074-2079.
- Sylvia, D.M., Hartel, P.G., Fuhrmann, J.F. and Zuberer, D.A., 2005. **Principles and applications of Soil Microbiology, 2nd edition edn**. Upper Saddle River Pearson Prentice Hall.
- Takçı, H.A.M., Toplar, S. and Özdenefe, M.S., 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.
- Taş, B., Topaldemir, H., Ustaoglu, F. ve Koloren, Z., 2023. Ilıman iklim kuşağındaki bir kıyusal ırmak-sulak alanındaki pelajik mikrobiyal su kalitesinin zamansal ve mekansal değişimi. **Aquatic Research**, 6(3), 175-188.
- Taşdemir, M., ve Göksu, Z.L., 2001. Asi Nehri'nin (Hatay, Türkiye) Bazı Su Kalite Özellikleri. **Su Ürünleri Dergisi**, 18(1-2):55-64.
- Turan, F., Eken, M.D. and Ergenler, A., 2020. Assessment Of Water Quality Of The Orontes River Basin, Turkey. Conference: **1st International Conference On Environment, Technology And Management (Icetem) At: Niğde Ömer Halisdemir University Niğde-Turkey**.
- Vilalta, E.G., 2018. Interplay of virulence, antibiotic resistance and epidemiology in *Escherichia coli* clinical isolates. **ISGlobal**, 27–29.
- Vu, J. and Carvalho, J., 2011. Enterococcus: review of its physiology, pathogenesis, diseases and the challenges it poses for clinical microbiology. **Front. Biol.**, 6, 357–366.

- Wang, G., Clark, C.G. and Rodgers, F.G., 2002. Detection in *Escherichia coli* of the genes encoding the major virulence factors, the genes defining the O157:H7 serotype, and components of the type 2 Shiga toxin family by multiplex PCR. **J of Clinical Microbiology**, 40(10):3613-19.
- WHO, 1997. Guidelines for drinking-water quality, vol 1. WHO, Geneva.
- WHO., 2011. Hardness in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/hardness.pdf (Erişim: 11.07.2016)
- Yamamoto, S., Tsukamoto, T., Terai, A., Kurazono, H., Takeda, Y. and Yoshida, O., 1995. Distribution of virulence factors in *E. coli* isolated from urine of cystitis patients. **Microbiol Immunol.**, 39(6):401-4.
- Yeh, K.S., Chen, T.H., Liao, C.W., Chang, C.S. and Lo, H.C., 2002. PCR amplification of the *Salmonella typhimurium fimY* gene sequence to detect the *Salmonella* species. **International Journal of Food Microbiology**, 78: 227-234.
- Zeybek, M. ve Kalyoncu, H., 2016. Kargı ayı (Antalya, Türkiye) su kalitesinin fizikokimyasal parametrelere göre belirlenmesi. **Su rnleri Dergisi**, Cilt:33 Sayı:3 Sayfa: 223-231.
- Zhao, S., White, D.G., Mc Dermott, P.F., Friedman, S., English, L., Ayers, S., Meng, J., Maurer, J., Holland, R. And Walker, R.D., 2001. Identification and expression of cephamycinase bla_{CMY} genes in *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from food animals and ground meat. **Antimicrob Agents Chemother**, 45:3647-3650.
- Zhu, H., Sun, S.J. and Dang, H.Y., 2008. PCR detection of *Serratia spp.* using primer targeting *pfs* and *luxS* genes involved in A1-2-dependent Quorum sensing. **Current Microbiology**, 57: 326-330.

ÖZGEÇMİŞ

Fatma DEMİRTAŞ, İlkokul, Ortaokul ve Lise öğrenimini Adana’da tamamladı. 2015 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği Bölümü’nü kazandı. 2019 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi’nden mezun oldu. 2020/2021 Güz döneminde Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı.

