



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**DOKTORA TEZİ**

**Yılan Türlerinden İzole Edilen Pseudomonas ve Aeromonas Türlerinin Dağılımı ve Antibiyotik Direnç Profillerinin Belirlenmesi**

**Burak ALABAŞ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Arzu Funda BAĞCIGİL**

**Veterinerlik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**

**Veterinerlik Mikrobiyolojisi, Doktora Programı**

**Aralık, 2023**

## TEZ KABUL VE ONAYI

**„Burak Alabaş** tarafından, **Prof. Dr. Arzu Funda Bağcigil** danışmanlığında hazırlanan **"Yılan Türlerinden İzole Edilen Pseudomonas ve Aeromonas Türlerinin Dağılımı ve Antibiyotik Direnç Profillerinin Belirlenmesi"** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **01/05/2021** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

### Tez Jürisi

	İmza	Sonuç
<b>DANIşMAN</b>	Prof. Dr. Arzu Funda BAğCIGİL İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>ÜYE</b>	Prof. Dr. Seyyal AK İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>ÜYE</b>	Doç. Dr. Lora KOENHEMSİ İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa İç Hastalıkları Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>ÜYE</b>	Doç. Dr. Elçin GÜNAYDIN Kastamonu Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>ÜYE</b>	Doç. Dr. M. Sencer KARAGL Kocaeli Üniversitesi Kartepe Atılık MYO, Bitkisel ve Hayvansal retim, Atılık ve Antrenrlğ Programı Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret

Her zaman ve her koşulda bana destek olan sevdiklerime ithaf ediyorum...



## **BÜTÇE DESTEKLERİ**

### **YILAN TÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN PSEUDOMONAS VE AEROMONAS TÜRLERİNİN DAĞILIMI VE ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ**

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: TDK-2020-35372

“Hastane Enfeksiyonları ve Antimikrobiyal Direnç” tematik alanında 100/2000 YÖK doktora bursu ile desteklenmiştir.

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sűresince değerli rehberliği, destekleri ve sonsuz sabrı ile yolumu aydınlatan danışman hocam Prof. Dr. Arzu Funda BAĞCIGİL'e, akademik dűőnceyi ve farklı perspektifleri gűrmemi sağlayıp ufkumun genişlemesi için fırsat yaratan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Seyyal AK'a, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı hocalarım Prof. Dr. Serkan İKİZ, Prof. Dr. Kemal METİNER, Prof. Dr. Beren BAŐARAN KAHRAMAN, Doç. Dr. Belgi DİREN SİĞIRCI'ya,

Tűm sűre boyunca desteęini ve yardımlarını esirgemeyen, örnekleri toplamamda yardımcı olan Doç. Dr. Lora KOENHEMSİ hocama,

Akademik ve ötesi rehberliği, bilgi birikimi ve desteğini benden esirgemeyen Dr. Baran ÇELİK hocama,

Sűre boyunca bana yardımcı olan Dr. Barıř HALA, Dr. A. Ilgın KEKEÇ ve teknisyenimiz Gűlten KARAKUZ'a,

Destekleri ve yardımlarıyla yolumu aydınlatan çok değerli dostlarım, Dr. Yalçın ABUL, Dr. Begűm MAŐLAK, Dr. Gökçe İLHAN, Bilim Uzmanı Hager ABUGHONEM, Vet. Hek. Bařak Kaymaz ve varlığıyla neře saçan Vet. Hek. Cansu ENGİN'e, minnettarlığımı ve teŐekkűrlerimi sunarım.

Ocak 2024

Burak ALABAŞ

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BÜTÇE DESTEKLERİ .....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ .....	viii
TABLO LİSTESİ.....	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	x
ÖZET .....	xi
ABSTRACT .....	xii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE .....</b>	<b>3</b>
2.1. <i>SERPENTES</i> ALT TAKIMI, ÜLKEMİZDE YILAN POPÜLASYONU VE YILANLARIN BARINDIRILMASI.....	3
2.2. YILANLARDA BAKTERİYEL İNFEKSİYONLAR .....	5
2.3. <i>Aeromonas</i> CİNSİ VE OLUŞTURDUĞU İNFEKSİYONLAR .....	6
2.4. <i>Pseudomonas</i> CİNSİ VE OLUŞTURDUĞU İNFEKSİYONLAR .....	12
<b>3. YÖNTEM .....</b>	<b>18</b>
3.1. GEREÇ .....	18
3.1.1. Örnekler.....	18
3.1.2. Besiyerleri .....	19
3.1.3. Ayraçlar ve Kimyasallar.....	21
3.1.4. Moleküler Çalışmalar .....	22
3.1.5. Diğer Gereçler .....	24
3.2. YÖNTEM .....	24
3.2.1. İnceleme örneklerinden <i>Pseudomonas</i> spp. izolasyonu ve identifikasyonu .....	24
3.2.2. İnceleme örneklerinden <i>Aeromonas</i> spp. izolasyonu ve identifikasyonu .....	26
3.2.3. İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının saptanması .....	27
3.2.4. İstatistiksel Analiz .....	28
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>29</b>

4.1. <i>Pseudomonas</i> spp. İZOLASYONU .....	29
4.2. <i>Aeromonas</i> spp. İZOLASYONU .....	30
4.3. İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI.....	33
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>36</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>46</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>47</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>57</b>
<b>İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI .....</b>	<b>64</b>
<b>KURUM İZİNİ YAZILARI.....</b>	<b>65</b>



## ŞEKİL LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
Şekil 2-1: Tryptic soy agarda (TSA) pyoverdin pigmentli bir <i>P. aeruginosa</i> izolatı.....	14
Şekil 3-1: Burma pitonundan ( <i>Python bivittatus</i> ) örnek alınması .....	19
Şekil 4-1: <i>Pseudomonas</i> agarda (PA) <i>P. aeruginosa</i> kolonileri.....	29
Şekil 4-2: <i>Pseudomonas</i> spp. olarak saptanan izolatların agaroz jel elektroforez görüntüsü (m: marker, a: pozitif kontrol, b: negatif kontrol, c: izolatlara ait bantlar).....	29
Şekil 4-3: <i>Aeromonas</i> agarda (AA) <i>A. hydrophila</i> kolonileri.....	30
Şekil 4-4: <i>Aeromonas</i> spp. olarak saptanan izolatların agaroz jel elektroforez görüntüsü (m: marker, a: pozitif kontrol, b: negatif kontrol, c: izolatlara ait bantlar).....	31
Şekil 4-5: Enrofloksasine duyarlı (1) ve orta duyarlı (2) izolatların E-test görüntüleri .....	33

## TABLO LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
Tablo 4-1: Yılanlardan elde edilen <i>Pseudomonas</i> ve <i>Aeromonas</i> izolatların dağılımları .....	32
Tablo 4-2 Yılanlara ait bilgiler ve izolatların pozitiflik oranları .....	33
Tablo 4-3: İzolatların antibiyotik dirençleri ve prevalansları (ENR: Enrofloksasin; MRP: Meropenem, S: Duyarlı O: Orta duyarlı, R: Dirençli).....	35



## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
°C	: Santigrat Derece
µl	: Mikrolitre
kg	: Kilogram
gr	: Gram
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
L	: Litre
rpm	: Revolutions Per Minute
Bp	: Baseper
µM	: Mikromol
Pmol	: Pikomol

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>AA</b>	: <i>Aeromonas</i> Agar
<b>CFC</b>	: Cetrimide Fucidate Cephalothin
<b>CLSI</b>	: Clinical and Laboratory Standart Institute
<b>IUCN</b>	: International Union for Conservation of Nature
<b>TE</b>	: Tris-EDTA
<b>TSA</b>	: Tryptic Soy Agar
<b>TSB</b>	: Tryptic Soy Broth
<b>MHA</b>	: Mueller Hinton Agar
<b>NA</b>	: Nutrient Agar
<b>PA</b>	: <i>Pseudomonas</i> Agar
<b>WHO</b>	: World Health Organization

## ÖZET

### [DOKTORA TEZİ]

#### [YILAN TÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *Pseudomonas* ve *Aeromonas* TÜRLERİNİN DAĞILIMI ve ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ ]

[Burak ALABAŞ]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü  
Veterinerlik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Veterinerlik Mikrobiyolojisi, Doktora Programı

[Danışman : Prof. Dr. Arzu Funda BAĞCIGİL ]

Yılanlar antik dönemlerden beri insanlar için simgesel bir öneme sahip olan, ekosistemin vazgeçilmez parçalarıdır. Son yıllarda sürüngenlerin ve yılanların eşlikçi hayvanlar olarak bakılmaları bazı potansiyel riskleri beraberinde getirmektedir. Zoonoz karakterde olan *Pseudomonas* ve *Aeromonas* etkenleri yılanların normal mikrofloralarında bulunabilmekte ve etrafa saçılabilir. Bu çalışmanın amacı; kapalı alanlarda barındırılan yılanlarda *Pseudomonas* ve *Aeromonas* etkenlerinin izolasyon oranlarının belirlenmesi ve antibiyotik direnç profillerinin değerlendirilmesini içermektedir. Bu amaçla İstanbul ili ve çevresinde bulunan hayvanat bahçelerinde barındırılan 13 farklı türde, 100 yilandan alınan kloakal sıvab örnekleri, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında *Pseudomonas* ve *Aeromonas* etkenleri yönünden incelenmiştir. İncelenen örneklerden *Pseudomonas* cinsine ait 47 izolat, *Aeromonas* cinsine ait ise 7 izolat saptanmıştır. *Pseudomonas* cinsine ait izolatlar; 22 (%46.8) *P. aeruginosa*, 23 (%48.9) *P. putida*, ve 2 (%4.2) *Pseudomonas* spp. olarak belirlenmiştir. *Aeromonas* cinsine ait izolat ise; 3 (%42,8) *A. caviae*, 3 (%42.8) *A. veronii* ve 1 (%14.2) *A. hydrophila* olarak saptanmıştır. İzolatların duyarlılıkları 21 antibiyotik için test edilmiş ve izolatlardan hiçbiri bu antibiyotiklere dirençli olarak saptanmamıştır. Toplamda 21 izolat enrofloksasine orta duyarlı [9 (%40.9) *P. aeruginosa*, 10 (%43.4) *P. putida*, 2 (%66.6) *A. caviae*] olarak belirlenmiştir. Bunun yanında 9 izolat [8 (%34.7) *P. putida*, 1 (%4.3) *P. aeruginosa*] meropeneme orta duyarlı olarak saptanmıştır. Dünya çapında yılanlarda *Pseudomonas* ve *Aeromonas* türleri ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Ancak bu etkenlerin zoonoz özellikleri ve antibiyotik dirençleri gözardı edilmemelidir. ]

Ocak 2024 , [85] sayfa.

**Anahtar kelimeler:** [*Aeromonas*, Antibiyotik direnç, *Pseudomonas*, Yılan ]

## ABSTRACT

[Ph.D. THESIS]

### [DISTRIBUTION OF *Pseudomonas* and *Aeromonas* SPECIES FROM DIFFERENT SNAKE SPECIES AND DETERMINATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE PROFILES ]

[Burak ALABAŞ]

İstanbul University-Cerrahpaşa  
Institute of Graduate Studies  
Department of Microbiology  
Veterinary Microbiology, Ph.D Programme

[Supervisor : Prof. Dr. Arzu Funda BAĞCIGİL ]

Snakes have held symbolic significance for humans since ancient times and are indispensable parts of the ecosystem. However, in recent years, viewing reptiles and snakes as companion animals has brought about some potential risks. Pathogens of a zoonotic nature, such as *Pseudomonas* and *Aeromonas*, can be present in the normal microflora of snakes and may spread to the surrounding environment. The aim of this study is to determine the isolation rates of *Pseudomonas* and *Aeromonas* agents in snakes housed in indoor facilities and to evaluate their antibiotic resistance profiles. For this purpose, cloacal swab samples were collected from 13 different species of 100 snakes in zoos located in Istanbul and its surroundings. These samples were then examined for *Pseudomonas* and *Aeromonas* pathogens at the Istanbul University-Cerrahpaşa Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology. Among the examined samples, a total of 47 isolates belonging to the *Pseudomonas* genus and 7 isolates belonging to the *Aeromonas* genus were identified. The isolates from the *Pseudomonas* genus were further classified as 22 (46.8%) *P. aeruginosa*, 23 (48.9%) *P. putida*, and 2 (4.2%) *Pseudomonas* spp. The isolates from the *Aeromonas* genus were identified as 3 (42.8%) *A. caviae*, 3 (42.8%) *A. veronii*, and 1 (14.2%) *A. hydrophila*. The sensitivity of the isolates was tested for 21 antibiotics, and none of the isolates were found to be resistant to these antibiotics. However, a total of 21 isolates were identified as moderately sensitive to enrofloxacin [9 (40.9%) *P. aeruginosa*, 10 (43.4%) *P. putida*, 2 (66.6%) *A. caviae*]. Additionally, 9 isolates [8 (34.7%) *P. putida*, 1 (4.3%) *P. aeruginosa*] were determined to be moderately sensitive to meropenem. Worldwide, studies on *Pseudomonas* and *Aeromonas* species in snakes are limited. However, the zoonotic characteristics and antibiotic resistance of these pathogens should not be overlooked. ]

January 2024, [85] pages.

**Keywords:** [*Aeromonas*, Antibiotic resistance, *Pseudomonas*, Snake]

## 1. GİRİŞ

Sürüngenler ekosistemin ve türler arası dengeyi sağlayan etkileşimin vazgeçilmez parçalarıdır. Beslenme ve yaşama şekilleri sebebiyle içlerinde buldukları ekosistemde fare, sıçan, amfibiler, balıklar ve eklembacaklılar gibi besin zincirinin alt basamaklarında yer alan türlerin popülasyonlarını kontrol altında tutarken, besin zincirinin en üstünde bulunan avcılara yaşam desteği sağlarlar. Geçmişten günümüze sürüngenler çoğu zaman sevilmeyen bir aileye özellikle de yılanlar insanların aralarına mesafe koymak istedikleri, aynı ortamı paylaşmaktan oldukça rahatsızlık duydukları olarak bilinmektedir. Bu mesafenin temel sebepleri öğrenilmiş korkular, paylaşılan travmalar, mübalağa ile anlatılan mitlerden kaynaklanmaktadır. Yılanların yaşam ortamları, çoğu insan için kestirilemez hareketleri ve her yılanın zehirli olduğu algısı insanların yılanlardan uzak durması için yeterli olmaktadır.

Yılanların evlerde eşlikçi hayvanlar olarak beslenmesi beraberinde birtakım problemleri birlikte getirmekte ve gözden kaçabilecek ancak ciddi sağlık sorunlarına neden olabilecek durumlara yol açmaktadır. Organizmalarında patojen bakterileri kendileri etkilenmeden bulundurabilen yılanlar, bu etkenleri çevreye saçarak bulaşmalara neden olabilmektedirler. Özellikle immun sistemi zayıflamış olan bireyler, çocuklar ve yaşlılarda bu etkenlerin bulaşmaları sonucunda zoonoz enfeksiyonlar gelişebilmektedir. Sürüngenlerde bulunan zoonoz özellikle bakteriler üzerine yapılan çalışmaların az olması gelişebilecek enfeksiyonlar konusunda geniş perspektifte tahmin yürütülememesine sebep olmaktadır.

Günümüzde tıpta ve veteriner tıpta karşılaşılan en büyük problemlerden biri antibiyotik direncidir. Antibiyotiklerin sık ve gelişigüzel kullanılması ve bakterilerde efektif olmayan tedaviler sonucunda antibiyotik direnç gelişmesi, takip eden tedavilerde başarısızlığa, dirençli bakterilerin çevreye saçılmasına ve diğer bireylerde ciddi enfeksiyonların gelişmesi ile sonuçlanmaktadır. Özellikle çoklu direnç gösteren bakterilerin oluşturduğu enfeksiyonlar hastanelerde uzun süren tedavilere ve bu süreçte diğer hastalarda enfeksiyon gelişmesine neden olmaktadır.

Veteriner tıpta antibiyotik direnç çalışmaları daha çok kedi, köpek, kuş gibi sıklıkla karşılaşılan eşlikçi hayvanlar ve ürünleri tüketilen çiftlik hayvanlarına odaklanmışken, sürüngenler gibi yeni popülerite kazanmış türler üzerinde çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmaların az olması sürüngenlerin portör oldukları zoonoz bakterilerin

antibiyotik duyarlılık profilleri ile ilgili net bir tablo çizilememesine ve gelişebilecek zoonoz infeksiyon durumlarında öngörülerde bulunamamaya sebep olmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, eşlikçi hayvan olarak popülerite kazanan yılanlarda, zoonoz özellikteki *Pseudomonas* ve *Aeromonas* türlerinin izolasyon oranlarının saptanması ve antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesini içermektedir.



## 2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

### 2.1. *SERPENTES* ALT TAKIMI, ÜLKEMİZDE YILAN POPÜLASYONU VE YILANLARIN BARINDIRILMASI

Yılanlar tarih boyunca mistik ve gizemli bir sembolizmi kendinde barındırmışlardır. Antik Mısır'da Tanrıça İsis'in yarattığına inanılan kobralar kutsal hayvanlardır ve ilahi olanlar tarafından koruyucu olarak atanmışlardır (Oppenheim ve diğ., 2015). Antik Yunan'da ise yılanlar mistisizm ile örülü mitlerin ana karakteri olarak yer almışlardır. Gizlenmiş bilginin ve sadece belli bir zümrenin erişebileceği bilgi birikiminin anahtarları yılan figürü ile betimlenmiştir. Şifa ile ilişkilendirilmiş yılanların öncüsü ise sağlık ve tıbbın tanrısı Asklepios'un asasına sarılan biçimi ile betimlenmiş ve geçmişten günümüzde tıp ve sağlık bilimlerini temsilen kullanılmıştır (Retief ve Ciliers 2009).

Günümüzde yılanlar mistik bir sembolizm olmaktan çıkmış, ilgi çekici yapılarından dolayı eşlikçi hayvanlar olarak beslenen, ekolojik ve evrimsel çalışmalara konu olan ve zehirlerinde bulunan aktif maddelerin terapötik preparatlar olarak hazırlanması için çalışılan hayvanlar olmuşlardır. Yılan zehirleri antikanser, antiinflamatuvar ve antihipertansif özellikleri ile modern tıpta oldukça dikkat çeken doğal materyallerden biridir. Sitotoksin, nörotoksin ve hemotoksinlerden oluşan yılan zehirleri ile birçok yeni farmakolojik preparat geliştirilmiş ve kullanıma sunulmuştur (Estevao-Costa ve diğ., 2018, Oliviera ve diğ., 2022).

Yılanlar, Antarktika hariç dünyanın her kıtasında yaşamlarını sürdürebilen canlılardır. Yapılan araştırmalar sonucunda dünyada yılan türü sayısı 4.038 olarak bildirilmiştir (Wallach ve diğ., 2014; Uetz, 2023). Bacakları olmayan kara hayvanları olan yılanlar, korunmak ve hayatta kalabilmek için çoğunlukla yeraltında, kovuklarda, diğer hayvanların oluşturduğu tünellerde veya saklanabilecekleri alanlarda yaşar, yerdeki ve ağaçlardaki diğer hayvanları avlarlar.

Obligat karnivor olan yılanların diyetleri, türler arasındaki boyut farklılıklarından dolayı oldukça fazla değişkenlik göstermektedir. Dünyanın en küçük yılan türü olan ve erişkin boyutu 100 milimetre olan Barbados iplik yılanı (*Leptotyphlops carlae*) toprak altında karıncalar ve termitler ile beslenirken, 6 metre boya ve 75 kg ağırlığa ulaşabilen ağılı pitonlar (*Python reticulatus*) yabani domuzlarını ve geyikleri avlayabilirler (Shine, 2002; Williams, 2009).

Beslenme şekillerine ve diyetlerine göre yılanlar evrimsel süreç içerisinde zehirli ve zehirsiz yılanlar olarak ikiye ayrılmışlardır. Zehirsiz türler çoğunlukla avlarını güçlü bir şekilde ısırıp vücutları ile sıkarak boğma yöntemi ile avlanmaktadırlar. Ancak istisnai olarak sadece yumurta ile beslenen Taiwan yılanı (*Oligodon formosanus*) ve deniz canlıları ile beslenen beyaz taçlı deniz yılanı (*Emydocephalus orarius*) türleri de bulunmaktadır (Gartner ve Green, 2008; Nankivell ve diğ., 2020). Zehirli türlerde ise değişen zehir etkinliğine göre avlanma şekilleri farklılık göstermektedir. Engerekler avlarını ısırıp zehirlerini aktardıktan sonra, avlarının felç olmasını ve ölmesini bekleyip beslenmeye başlamaktadırlar. Kobralar ise avlarını ısırıp bırakmazlar ve avları etkisiz hale geldikten sonra beslenme aşamasına geçmektedirler.

Ülkemizde 120 farklı sürüngen türünün olduğu ve 40 farklı yılan türü bulunduğu saptanmış, 10 türün de değişen derecede zehirli olarak belirtilmiştir (www.bilimtekni.k.tubitak.gov.tr, Erişim tarihi: 09.12.2023). Ülkemizin coğrafi konumu nedeniyle dört mevsimi yaşaması ve çok çeşitli ekosistemlere sahip olması türler arasındaki çeşitliliği belirginleştirmiştir. Bu çeşitliliğin endemik türleri de kapsadığı saptanmış ve Dünya Doğayı ve Doğal Kaynakları Koruma Birliği (IUCN) listelerine göre ülkemizde endemik 10 yılan türü olduğu bildirilmiştir. Bunlar IUCN tarafından Çoruh engereği (*Vipera pontica*), Anadolu engereği (*Vipera anatolica*), Baran engereği (*Vipera barani*), Bolkar engereği (*Vipera bulgardaghica*), beyaz bantlı dağ engereği (*Montivipera albizona*), uysal yılan (*Eirenis eiselti*), Bolkar uysal yılanı (*Eirenis aurolineatus*), Tuşpa uysal yılanı (*Eirenis thospitis*) ve tırnak başlı kör yılan (*Letheobia episcopus*) olarak sıralanmıştır (www.iucnredlist.org, Erişim tarihi 09.12.2023).

Ülkemizde sürüngenlerin ve yılanların yetiştiriciliği ya da beslenmesi “Av ve Yaban Hayvanları ile Bunlardan Elde Edilen Ürünlerin Bulundurulması, Üretimi ve Ticareti Hakkında Yönetmelik” çerçevesinde sınırlandırılmış olup bulundurma izni tüzel kişilere verilmemektedir (www.mevzuat.gov.tr Erişim tarihi: 09.12.2023). Son birkaç yıl öncesine kadar tüm sürüngenlerin bulundurulması ve beslenmesi ülkemiz sınırları içerisinde yasak iken, yakın zamanda *Agama agama*, *Agama persimilis*, *Lepidothyris fernandi*, *Scincopus fasciatus*, *Hemitheconyx caudicinctus*, *Uromastyx geyri* ve *Iguana iguana* olmak üzere yedi tür ile sınırlandırılmıştır. Bu türler ithalat yapan şirketler tarafından ülkemize getirilmekte, 21 gün zorunlu karantina süresi sonunda mikroçip ile işaretlenmekte ve T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü tarafından takip ve kontrol edilmektedir. İzne tabii bu türler sadece geko (*Eublepharidae*) ve bazı kertenkeleleri

(*Scincidae*, *Iguanidae*, *Agamidae*) içermekte iken, günümüzde halen herhangi bir yılan türünü tüzel kişilerin beslemesi yasal değildir. Yılanların beslenmesi ve barındırılması ancak hayvanat bahçeleri gibi “Av ve Yaban Hayvanları ile Bunlardan Elde Edilen Ürünlerin Bulundurulması” izni sahibi kuruluşlar tarafından gerçekleştirilebilmektedir.

## 2.2. YILANLARDA BAKTERİYEL İNFEKSİYONLAR

Yılanlar yaşam alanları, anatomik yapıları ve diyetleri gereği, çevrelerinde bulunan birçok bakteriyi organizmalarında taşıyabilmekte, bu sebeple de çok çeşitli bakteri türleri ile infekte olabilmektedirler. Toprak yüzeyinde bulunan *Burkholderia*, *Ochrobactrum* ve *Stenotrophomonas* gibi bakteriler sürüngelede de fırsatçı infeksiyonlara neden olabilmektedir (Bengtsson-Palme ve diğ., 2018). Ayrıca yılanlarda görülen ülseratif veya nekrotik dermatit, infeksiyöz kloaka yangısı, travmatik yaraların sebep olduğu ağız çürüğü (infeksiyöz stomatit) yılanların yaşadıkları alanlardaki çevre bakterilerinin oluşturduğu hastalıklara örnek verilebilmektedir (Jho ve diğ., 2011).

Diğer sürüngelede olduğu gibi yılanlar da bazı patojen bakterileri, kendileri etkilenmeden taşıyabilir ve çevreye saçabilirler. Zoonotik özellikte olabilen *Salmonella* spp., *Leptospira* spp., *Chlamydia* spp., *Mycobacterium* spp., *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Aeromonas* spp., *Serratia* spp., *Micrococcus* spp., *Proteus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Yersinia* spp. ve *Klebsiella* spp. türlerinin yılan dışkıları ile saçıldığı bildirilmiştir (Ebani, 2012; Ebani, 2017; Jho ve diğ., 2011; Blaylock, 2001; Draper ve diğ., 1981). Yılanların oral mikrofloralarında doğal olarak bulunabilen *Aeromonas hydrophilia* (*A. hydrophila*), *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp. *Morganella morganii*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Salmonella arizonae*, *Yersinia enterocolitica* ve *Bacteroides* türlerinin yılan ısırması sonucunda insanlarda infeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir (Abrahamian ve Goldstein, 2011; Lam ve diğ., 2011, Jho ve diğ., 2011). Doğaları gereği spesifik ortam koşullarına gereksinim duyan yılanlar stres, diyet ve çevresel faktörler gibi nedenlerde yeterli immun cevap oluşturamadıklarında bu etkenlerle infekte olabilmektedirler (Jho ve diğ., 2011, Blaylock, 2001, Draper ve diğ., 1981). Doğada serbest yaşayan yılanların hem yaşam ortamları hem de avladıkları hayvanlar nedeniyle birçok mikroorganizma ile karşılaşır ve bunları vücutlarında taşırlar. Kapalı alanlarda barındırılan yılanların ortamlarında ise sıcaklık, havalandırma, nem ve organik maddeler gibi terraryumların kendine özgü çevresel koşulları, kommensel mikroorganizmalar ve fırsatçı

patojenler için elverişli ve uygun çoğalma faktörleri olarak belirtilmiştir (Barazorda Romero ve diğ., 2015).

Kapalı alanlarda barındırılan veya eşlikçi hayvan olarak bakılan sürüngenlerin sayısında gözlenen artışa bağlı olarak, sürüngenlerden kaynaklanan zoonotik hastalıklarda da artış gözlenmiştir (Mendoza-Roldan ve diğ., 2021, Ebani, 2017, Corrento ve diğ., 2017). Lupescu ve Baraitareanu 2021 yılında gerçekleştirdikleri araştırmada, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) raporlarına göre sürüngen zoonoz vakalarını taramışlar ve en sık görülen sürüngen kaynaklı zoonozları Salmonelloz, *Mycobacterium marinum* infeksiyonları, Kampilobakteriyoz, Q-Ateşi, *Edwardsiella tarda* ve *Aeromonas* infeksiyonları olduğunu belirtmişlerdir (Lupescu ve Baraitareanu 2015). Sürüngenlerden insanlara geçebilen zoonotik hastalıkların en önemli etkenlerinden biri *Salmonella* türleri olarak belirtilmiştir (Lukac ve diğ., 2017). *Salmonella* türleri sürüngenler, memeliler, kuşlar dahil olmak üzere çok çeşitli türleri insanlarda infeksiyon oluşturabilmektedir. Bunun yanında sürüngenler çoklu antibiyotik direnci gösteren *Salmonella* türlerini sindirim sistemlerinde, kendileri etkilenmeden barındırdıkları ve dışkıları ile çevreye aralıklı olarak saçtıkları belirtilmiştir (Jajere, 2019). Marin ve diğ. (2021) 123 eşlikçi sürüngende gerçekleştirdiği çalışmada *Salmonella* spp. prevalansı %48 olarak bildirilmiş ve bu izolatların %72'si, birden fazla sayıda antibiyotiğe dirençli olarak saptamışlardır. Memeliler, kuşlar ve sürüngenleri içeren geniş bir konakçı yelpazesine sahip olan Gram negatif, kamçılı ve çomak şekilli olan *Campylobacter*, *Helicobacter* ve *Arcobacter* cinslerine ait türlerin de sürüngenlerle ilişkilendirilmiş zoonotik infeksiyonlara sebep oldukları bildirilmiştir (Gilbert ve diğ., 2014).

### 2.3. *Aeromonas* CİNSİ VE OLUŞTURDUĞU İNFEKSİYONLAR

*Aeromonas* terimi Yunanca hava veya gaz anlamına gelen "Aer" ve birimler anlamına gelen "Mona" kelimelerinin birleştirilmesi ile oluşturulmuştur. İlk olarak 1936'da Kluyver ve van Neil tarafından gaz üreten bakterileri tanımlamak için önerilmiştir. Stainer 1943 yılında bu bakteri türlerinin eklendiği cinsi belirtmek için resmi olarak "*Aeromonas*" kelimesini kullanımını önermiştir (Gonçalves Pessoa ve diğ., 2019).

Günümüzde *Gammaproteobacteria* sınıfında *Vibrinoceae* ve *Enterobacteriaceae* ile birlikte bulunan, *Aeromonadales* takımı, *Aeromonadaceae* familyası ve *Aeromonas* cinsine ait 32 tanımlanmış tür bulunmaktadır (Figueras ve diğ., 2017). Tüm *Aeromonas* türleri Gram negatif, fakültatif anaerob, spor oluşturmayan karakteristik yapı göstermektedirler. Mikroskopik morfolojileri 1-3 µm uzunlukta yuvarlak uçlu düz çomaklar olarak izlenir ancak

bazen kokobasil veya filamentöz formda tek, çiftler veya kısa zincirler halinde görülebilmektedirler (Martin-Carnahan ve Joseph 2005). Bunun yanında *Aeromonas* cinsine ait türler oksidaz ve katalaz pozitif, glukozu fermente edebilme ve yüksek konsantrasyonda tuzu (%0,3-5 NaCl) tolere edebilme yeteneğine sahiptirler (Parker ve diğ., 2011). Hemoliz oluşturma özellikleri *Aeromonas* türleri içinde ve türleri arasında kullanılan kan hücrelerine göre değişiklik göstermektedir. Bir çalışmada dokuz farklı hayvan türünün eritrositleri *Aeromonas* türleri için test edilmiş,  $\beta$ -hemolizin tespiti için en hassas kanlı agarın fare eritrositleri ile hazırlandığı, son sırada hassaslık gösteren kanlı agarın ise koyun eritrositleri ile hazırlandığı saptanmıştır (Brenden ve Janda, 1987). En sık izole edilen *A. hydrophila* ve *Aeromonas veronii* (*A. veronii*) koyun kanlı agarda güçlü  $\beta$ -hemolitik etki gösterirler. *Aeromonas* türlerinde  $\beta$ -hemoliz geniş zonlu, çift zonlu, dar zonlu ve sadece koloni sınırının altında hemoliz görülmesi şeklinde gerçekleşebilmektedir. Birçok *Aeromonas caviae* (*A. caviae*) izolatu yarı-hemolitik olarak değerlendirilmekte,  $\alpha$ -hemoliz veya dar zon  $\beta$ -hemoliz özelliği sergileyebilmektedir (Carnahan ve Joseph, 1993).

*Aeromonas* cinsi gelişme ve büyüme özelliklerine göre psikrofilik ve mezofilik olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. İki grup arasında üreme sıcaklıkları, koloni yapıları ve koloni morfolojileri haricinde, infekte ettikleri hayvan grupları arasında da farklılıklar bulunmaktadır. Psikrofilik grubun 22-25 °C'de optimal olarak ürediği, hareket özelliğine sahip olmadığı ve bu grubun en önemli temsilcisinin özellikle balık infeksiyonları ile ilişkili *A. salmonicida* olduğu ifade edilmiştir (Beaz-Hidalgo ve Figueras, 2013). Psikrofilik grupta bulunan *Aeromonas* türleri 20-22 °C'de 24 saatlik inkübasyon sonrasında iğne ucu büyüklükte, beyaz-krem koloniler oluşturmaktadırlar. Bu kültürlerin inkübasyonu 4 gün boyunca devam ettirilirse, koloni boyutları 1-3 mm çapına ulaşmakta ve yuvarlak konveks koloniler gözlenmektedir (Griffin ve diğ., 1953).

Optimal üreme ısısı 35-37 °C olan mezofilik grubun ise önemli temsilcileri ise *A. hydrophila*, *A. caviae* ve *A. veronii* olarak belirtilmiştir. Mezofilik grup bir adet polar flagella sayesinde hareket etme yeteneğine sahiptir. Bu gruba ait izolatların 35-37 °C'de inkübe edilen kültürlerinde 24 saat sonra 1-3 mm çapında, yuvarlak, konveks ve şeffaf olarak izlenir. Kültürlerin inkübasyonu devam ettirildiğinde, kolonilerin sert kıvamlı olduğu gözlemlenmektedir (Allen ve diğ., 1983). Mezofilik *Aeromonas* türlerinin çoğu laktozu fermente etmezken, bazı *A. caviae* izolatları laktozu fermente ederek MacConkey agarda pembe koloniler oluşturmaktadırlar (Martin-Carnahan ve Joseph 2005).

Su ve sucul sistemler ile neredeyse eş anlamlı hale gelmiş olan *Aeromonas* türleri nehirler, göller, su birikintileri, denizler ve haliçler, bataklıklar, yer altı su kaynakları, içme suları, atık sular ve kanalizasyon sularından izole edilmiştir. (Janda ve Abbot, 1996).

*Aeromonas* türlerinin virulensi, infeksiyon oluşumuna katkı sağlayan birçok faktörün etkisi sebebiyle karmaşık olarak tanımlanmaktadır. Bu faktörler arasında dış yapılar, toksinler ve hücre dışı ürünler bulunmaktadır ve bunlar bağışıklık sistemine karşı tek tek veya birlikte etki ederek infeksiyon oluşumuna katkı sağlayabilmektedirler (Igbinsa ve diğ., 2017, Beaz-Hidalgo ve Figueras 2013). Virulensi belirleyen etkenlerden olan dış yapılar, infeksiyon gelişmesini etkileyen önemli faktörlerden biridir. Flagella, pili, protein ve membran antijenlerinin bakteriye hareket, konakçı dokusuna adhezyon, bağışıklık sistemi hücrelerine ve bakterisidal etkenlere karşı koruma gibi avantajlar sağladığı yapılan araştırmalar ile ortaya koyulmuştur (Rasmussen-Ivey ve diğ., 2016, Tomas, 2012). Flagella bakteri hareketini sağlayan temel yapısal dış elemanlardan biri olmakla birlikte aynı zamanda sıvı ortamlarda hareketi sağlarken, katı ortamlarda süzülme hareketi (swarming) için elzem bir yapıdır. Birçok mezofilik *Aeromonas* türünde polar ve lateral olmak üzere iki flagella tipi bulunmakta ve bunlar sıvı ve katı yüzeylerde hareket haricinde hücre adhezyonu ve infeksiyöz sürecin devamına da katkıda bulunmaktadır (Ottaviani ve diğ., 2011, Lowry ve diğ., 2014).

Pili, diğer adıyla fimbria flagelladan daha küçük yapıda ve temel görevi konakçı dokusuna veya diğer katı yüzeylere bakteriyel hücre adhezyondan sorumludur. Gram negatif bakterilerde dört farklı pili bulunabilmektedir. *Aeromonas* türlerinde I ve IV tipleri tespit edilmiştir (Beaz-Hidalgo ve Figueras, 2013). Tip I pili kısa ve sert yapıdadır, bakteriyel patojenite ile ilişkilendirilmemekte, genelde çevresel numunelerden izole edilen türlerde saptanmaktadır (Lowry ve diğ., 2014). Tip IV flagella ise uzun, esnek yapıdadır ve bakteriyel patojenite ile ilişkilendirilmiştir. Bu tip flagellaya sahip *Aeromonas* izolatları genellikle klinik numunelerden izole edilen *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. veronii* ve *A. trota* suşları olarak saptanmıştır (Beaz-Hidalgo ve Figueras, 2013; Liu, 2015; Lowry ve diğ., 2014).

Dış membran proteinleri *Aeromonas* virulensinde önemli rol almaktadır. Membranda dörtgen prizma şeklinde sıralanan proteinler, konak hücrelerine tutunarak infeksiyon gelişimini etkilemektedirler (Lowry ve diğ., 2014).

*Aeromonas* türlerinde saptanmış toksinler sitotoksik ve sitotonik olmak üzere iki başlıkta incelenmektedir. Enterotoksin olan aerolysin, sitotoksin olan Act ve sitotonik yapıda olan Alt ve Ast, *A. hydrophila* izolatlarında bulunmuştur. Chakraborty ve diğ., (1987) aerolysin cins spesifik bir toksin olabileceğini belirtmişlerdir. Aerolysin, membran proteinlere benzer yapıya

sahiptir. Hücre dışına salındığında, konakçı hücrenin zarına bağlanarak 1-2 nm genişliğinde bir kanal oluşturmakta ve böylece konakçı hücrenin geçirgenliğinin artmasına, stabilite kaybetmesine ve sonuç olarak hücre yıkıma sebep olmaktadır (Howard ve Buckley, 1985).

Başka bir virulens faktörü olan gliserofosfolipid kolesterol asetiltransferaz (GCAT) lipaz yapıda bir ekzoenzimdir. GCAT, hücre dışında fosfolipaz olarak görev yaparak konakçı hücre zarının parçalanmasına neden olduğu saptanmıştır (Buckley ve diğ., 1981).

*Aeromonas* türleri hem insanlarda hem de hayvanlarda çok çeşitli infeksiyonlara sebep olabileceğine sahiptirler. Bu infeksiyonlar akut gastroenterit gibi hafif olgulardan hayatı tehlikeye atan septisemi, nekrotizan fasiit ve myonekroze kadar değişiklik gösterebilmektedir (Janda ve Abbot, 2010). Her ne kadar *Aeromonas* cinsine ait türler memelilerin bağırsaklarında kolonize olup gastrointestinal hastalıklar oluşturabilirler de, gerçek bir gastrointestinal patojen olarak tanımlanmamışlardır. Bu durumun sebepleri *Aeromonas* türlerinin asemptomatik taşıyıcı bireylerin dışkılarında %1-4 oranında bulunabiliyor olmaları (Holmberg ve Farmer, 1984) ve kolon kaynaklı diare salgınlarının raporlanmamış olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür (Janda ve Abbot, 2010). Literatüre bakıldığında, diare salgınları daha çok deniz ürünlerinin (karides, midye ve sashimi) tüketilmesi ile ilişkilendirilmiştir (Edberg ve diğ., 2007).

İnsanlarda *Aeromonas* kaynaklı infeksiyonlar deri, yumuşak doku infeksiyonları, gastrointestinal hastalıklar ve septisemi olarak tanımlanmıştır. Myonekrozis ve nekrotizan fasiit gibi ciddi infeksiyonlarda hastalarda genellikle bağışıklık sistemi yetersizliği sağlayan başka sendromlar görülmektedir (Cui ve diğ., 2007, Lee ve diğ., 2008). Septisemi görülen *Aeromonas* infeksiyonlarında, vakalarının %95'inden fazlasına *A. hydrophila*, *A. caviae* ve *A. veronii* by. *sobria*'nın neden olduğu bildirilmiştir (Janda ve diğ., 1994). Ayrıca alternatif tıpta kullanılan tıbbi sülükler (*Hirudo medicinalis*) *Aeromonas* septisemi vakalarının bir diğer kaynağı olarak bildirilmiştir (Evans ve diğ., 1990, Fenollar ve diğ., 1999). Zoonotik kaynaklı *Aeromonas* deri infeksiyonlarının çeşitli hayvan ısırıkları ile geliştiği bildirilmiştir. Sürüngenlerin, özellikle de yılanların orofaringeal mikroflorasında *Aeromonas* türleri bulunabilmektedir. Su mokaseni (*Agkistrodon piscivorus*), kobra (*Naja* spp.) ve engerek (*Viperidae*) türü yılanların ısırıkları sonucunda selülitisten nekrotizan fasiitise ulaşabilen ciddi infeksiyonların geliştiği bildirilmiştir (Angel ve diğ., 2002, Jorge ve diğ., 1998, Mukhopadhyay ve diğ., 2008).

Hayvanlarda *Aeromonas* infeksiyonlarının balık, kurbağa, yılan, kertenkele gibi soğukkanlılarda septisemi ile birlikte gözlemlendiği bildirilmiştir (Rahman, 2005). *Aeromonas*

türlerinin hem klinik olarak sağlıklı hem de infeksiyon semptomları gösteren sürüngenlerden sıklıkla izole edildiği belirtilmiştir (Chinnadurai ve DeVoe, 2009; Colinon ve diğ., 2010; Foti ve diğ., 2013; Lam ve diğ., 2011; Orozova ve diğ., 2012; Pawlak ve diğ., 2020).

Yarı sucul *Ocadia sinensis* ve *Cuora flavomarginata* kaplumbağalarında *Aeromonas hydrophila* kaynaklı keratitits gelişebileceği bildirilmiştir (Musgrave ve diğ., 2016). Cooper ve diğ. (1980) laboratuvar ortamında kullanılan *Lacertidae* familyasına ait üç kertenkelede şeffaf göz akıntısı, göz kapaklarının tamamen kapanması ve orbitanın sıvı ile dolması gibi semptomlar saptamışlardır. Gözleri kapalı olduğundan beslenemeyen kertenkelelerin bir hafta içinde öldüklerini ve post mortem muayenede akciğerlerin de enfekte olduğunu saptamışlardır. Lezyonlu organlardan ve orbitadan gerçekleştirilen ekim sonucunda kültürlerde saf *A. liquefaciens* izole edildiğini bildirmişlerdir (Cooper ve diğ., 1980).

*Aeromonas* kaynaklı infeksiyonların süs balığı yetiştiriciliğinde ciddi maddi kayıplara yol açtığı bildirilmiştir. Süs balıklarında *Aeromonas* türleri ülser hastalığı, hareketli *Aeromonas* septisemisi ve frunkulozis olmak üzere üç önemli hastalığa neden olmaktadır (Soni ve diğ., 2021, Erikarjahu ve diğ., 2021, Hossain ve Heo 2021,). Balıklarda görülen üç farklı tip hastalıkta da, enfekte balıkların aynı hastalığı ortamda bulunan diğer balıklara bulaştırabildiği, ve hastalığın ilerleyen safhalarında sistemik infeksiyon sonucunda mortalite yol açtığı saptanmıştır (Lewbart, 2001, Roberts, 2012, Mazumder ve diğ., 2021)

Kwon de diğ. (2019) ticari olarak doğadan yakalanan on adet kırmızı gözlü timsah skinklerinin (*Tribolonotus gracilis*) ithalatı takip eden 2-7. günde aniden öldüklerini, yapılan incelemeler sonucunda iç organlarda saf olarak *A. hydrophila* izole edildiğini bildirmişlerdir. Saptadıkları bu vakanın Kore'de raporlanmış ilk *Aeromonas* kaynaklı sürüngen infeksiyonu olduğunu ifade etmişler, insan sağlığı ve *Aeromonas* izolatlarının öneminden bahsetmişlerdir (Kwon ve diğ., 2019).

Ülkemizde *Aeromonas* kaynaklı infeksiyonlarla ilgili yayınlar sınırlı sayıda kalmıştır. Yayınlanmış vakalar genellikle sporadik olarak görülen mortalite sonrası testpit edilen infeksiyonlar, göllerde veya balık çiftliklerinde rastlanılan balık ölümlerini takiben gerçekleştirilen analizler sonucunda saptanmıştır.

Sivas, Zara bölgesinde yer alan Tödürge gölünde doğal olarak yaşayan sazanlar (*C. carpio*) üzerine gerçekleştirilen çalışmada 1488 sazandan 252 (%17)'sinde dermal nekroz, omurgaya uzanan kas nekrozu, ekzoftalmus, şişkin abdomen gibi morfolojik ve anatomik deformasyonlar saptanmış, bu balıklardan alınan 60 örneğin sekizinden *A. sobria* saf olarak izole etmişlerdir. (Ünver ve Bakıcı, 2021).

Öztürk ve diğ. (2007) sazan üretim çiftliğinde bulunan yavru balıklarda dermal ülserler ve hemorajiler saptamışlar, havuzlarda bulunan balıklarda mortalite saptanmadığı ancak morbiditenin %20'lere ulaştığını bildirmişlerdir. İnfeksiyon etkenini bulabilmek amacıyla semptom görülen balıklardan yaptıkları incelemeler sonucunda hepsinden *Aeromonas hydrophila* izole etmişlerdir. Antibiyotik duyarlılık testinde *A. hydrophila* izolatu danofloksasin, enrofloksasin, siprofloksasin, gentamisin, neomisin ve trimetoprim-sulfametoksazole duyarlı olarak, amoksisilin, amoksisilin-klavulanik asit, oksitetrasiklin ve streptomisine dirençli olarak saptamışlardır (Öztürk ve diğ., 2007).

Antalya'da zoolojik parkta barındırılan Nil timsahının (*Crocodylus niloticus*) aniden ölmesi sonucunda Türütoğlu ve diğ., (2005) gerçekleştirdiği araştırmada timsahın derisinde kahverengi-kırmızı ve değişen büyüklüklerde lezyonlar saptamışlardır. Lezyonlar iç organlar ve kandan gerçekleştirilen ekim sonucunda kültürlerde saf olarak üreyen izolatu *Aeromonas hydrophila* olduğunu bildirmişlerdir. İzolatu seftiofur, amoksisilin-klavulanik asit, oksitetrasiklin, enrofloksasin, danofloksasin, gentamisin, linkomisin ve neomisine duyarlı olarak saptadıklarını bildirmişlerdir.

Kapalı alanlarda barındırılan ve doğada yaşayan yılanlar üzerine *Aeromonas* spp. prevalans çalışmaları dünya çapında oldukça kısıtlıdır. Çalışmalar genellikle diğer sürüngen türlerini de içeren prevalans ve antibiyotik duyarlılık çalışmalarını kapsamaktadır.

*Aeromonas* cinsinin farklı yılan türlerinde infeksiyon sonucunda ölüme neden olduğu raporlanmıştır. Orozova ve diğ., (2012) kapalı alanlarda barındırılan bir sarı anakonda (*Eunectus noteus*), bir mısır yılanı (*Pantherophis guttatus*) ve bir Jamaika boa yılanının (*Epicrates subflavus*) gingiva ve ağız mukozasında bakteriyemi belirtileri olan peteşiyal kanamalar ile seyreden infektif bir hastalık sonucunda öldüklerini bildirmişlerdir. Bu hayvanların yapılan nekropsilerinde, bağırsak, dalak ve akciğerlerinde kanamalar saptanmış, üç yılanın kolonunun kanlı ve mukuslu eksudat ile dolu olduğu, sölomun ve kloakanın ise hacimsel olarak büyüdüğü gözlemlenmiştir. Üç yılanın da iç organlarından saf olarak *Aeromonas hydrophila* izole etmişlerdir.

Orozova ve diğ. (2012), Bulgaristan'da bulunan hayvanat bahçesinde, yılanlarda gözlenen bir salgın sonucunda birçok yılanın öldüğünü, nekropsi sonrası iç organlardan yapılan bakteriyolojik inceleme sonucunda *A. hydrophila*'yı saf olarak izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Artavia- León ve diğ., (2014) Kosta Rika'da doğada serbest yaşayan ve tesadüfen yakalanan yılanların ağız boşluğu ve kloakalarında bulunan bakteri topluluğunun çeşitliliğini

tanımlamayı, amaçlayan bir çalışma gerçekleştirilmişlerdir. *Viperidae* ve *Colubridae* familyalarına ait 16 yılan toplam 120 adet oral ve kloakal sürüntü alınmış ve 90 bakteri izolatından hem oral hem de kloakal sürüntülerden 40 farklı bakteri türü tanımlandığını bildirmişlerdir. Çalışmada bir adet *A. hydrophila* saptadıklarını bildirmişlerdir. *A. hydrophila* türünün ampisilin ve ampisilin-sülbaktama dirençli olarak saptamışlardır.

Cushing ve diğ. (2011) 94 yılan örneğinin %2,94'ünden *A. hydrophila* saptamışlardır. İzolatların %75'inin ile amikasin, %25'inin ise seftazidim, sefotan, amikasin ve doksisisikline dirençli olduğunu olarak belirlemişler, enrofloksasin ve marbofloksasine karşı direnç saptamadıklarını bildirmişlerdir (Cushing ve diğ., 2011).

İtalya'da Dipineto ve diğ. (2014) üretim çiftliklerinde ve kapalı alanlarda barındırılan 60 adet kraliyet pitonunun (*Python regius*) oral mukozasından alınan örneklerde *Aeromonas hydrophila* prevalansını %30 olarak saptamışlardır. İzolatların seftazidim ve trimetoprim-sulfamethoksazol'e %90; doksisisikline %85; karbenisilin, gentamisin ve siproloksasine %70; enrofloksasin ise %65 oranlarında duyarlı olduklarını saptamışlardır (Dipineto ve diğ., 2014).

Schmidt ve diğ.(2014) serbest yaşayan yılanlarda gerçekleştirdikleri bir çalışmada 56 yılanın kloakal örnek topladıkları ve 1 *Aeromonas* spp. izole ettiklerini belirtmişlerdir (Schmidt ve diğ., 2014). Lukac ve diğ. (2017) Hırvatistan'da serbest yaşayan 20 adet çizgili yılan (*Elaphe quatuorlineata*) gerçekleştirdikleri çalışmada 4 adet *A. hydrophila* izole ve tanımlanmışlardır (Lukac ve diğ., 2017).

Polonya'da serbest yaşayan ancak çalışma için doğadan toplanıp bireysel yaşam alanlarında barındırılan 45 çimen yılanından (*Natrix natrix*) kloakal sürüntü örneklerinden 17 adet *Aeromonas hydrophila* (%37,8), 4 *Aeromonas veronii* (%8,9) saptanmıştır (Pawlak ve diğ., 2020).

#### 2.4. *Pseudomonas* CİNSİ VE OLUŞTURDUĞU İNFEKSİYONLAR

*Pseudomonas* terimi Yunanca gerçek olmayan anlamına gelen "*Pseudes*" ve birimler anlamına gelen "*Mona*" kelimelerinin birleştirilmesiyle oluşturulmuştur. *Gammaproteobacteria* sınıfı, *Pseudomonales* takımı, *Pseudomonaceae* familyası ve *Pseudomonas* cinsine tanımlanmış 255 tür ve 19 alttür tanımlanmıştır ([www.bacterio.net/genus/pseudomonas](http://www.bacterio.net/genus/pseudomonas), Erişim tarihi: 06.12.2023). Gelişen identifikasyon teknikleri ve moleküler çalışmalar sonucunda daha önce *Pseudomonas* cinsine ait olduğu düşünülen türler günümüzde *Burkholderia*, *Ralstonia*, *Comamonas*, *Acidovorax*, *Delftia*, *Hydrodenophaga*, *Brevundimonas*, *Stenotrophomonas* ve *Xanthomonas* cinslerine bölünmüşler

ve isimlendirilmeleri bu cinsler altında yenilenmiştir (Parte ve diğ., 2020). *Pseudomonas* cinsi genetik ve fizyolojik çeşitliliği içinde barındırmaktadır ve bu cinsin son derece heterojen yapıda olması sebebiyle halen yeni türler tanımlanmaktadır (Quinteri ve diğ., 2015).

*Pseudomonas* türleri mikroskopik morfolojilerinde Gram negatif, 1.5-3 µm uzunlukta düz veya hafif kıvrımlı çomak şekilli yapıya sahiptirler. Tüm türleri tek polar flagellaya sahipken, bazı türlerinde iki ya da üç flagella da tespit edilmiştir. Spor oluşturmeyen oksidaz pozitif, katalaz pozitif, aerob özelliğe sahiptirler. *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) solunum konusunda bir istisna olarak nitrata kullanabilmekte ve anaerob ortamlarda üreyebilmektedir (Scriber ve diğ., 2017, Novik ve diğ., 2015). Optimum üreme ısılarına göre *Pseudomonas* türleri psikotolerant ve termofilik olarak iki grupta incelenmişlerdir. Buna göre psikotolerant grubunda bulunan *Pseudomonas putida* (*P. putida*) ve *Pseudomonas fluorescens* (*P. fluorescens*) gibi türler 25-30 °C’de optimum koşullarda ürer ve bu izolatlar genelde çevresel etkenlerden izole edilen, memelilerde patojen olmayan türlerdir. Termofilik grupta yer alan *P. aeruginosa* gibi türlerin ise optimum üreme ısıları 34-37 °C olarak belirtilmiş ancak bu türlerin 42 °C’de üreyebildiği bildirilmiştir (Quintieri ve diğ., 2019).

*Pseudomonas* türlerinin kolonileri renksiz, beyaz, açık beyaz, krem renkli ve sarı renkli, S veya R formunda görülebilirler. Nadiren *Pseudomonas* izolatlarında mukoid koloniler de saptanmaktadır. Mukoid koloni oluşumunun suşlarda nokta mutasyonu sebebiyle geliştiği bildirilmiştir (Govan ve Deretic, 1996). Owlia ve diğ. (2014), mukoid koloni oluşturmeyen suşların, mukoid suşlara göre β-laktam, aminoglikozid ve kinolon grubu antibiyotiklere daha dirençli olduğunu saptamışlar ve mukoid olmayan koloni oluşturan izolatların nazokomiyal patojenitelerinin daha yüksek olabileceği fikrini öne sürmüşlerdir.

*Pseudomonas* cinsine ait türleri diğer türlerden farklı kılan özelliklerden biri de suda çözünebilir pigment üretmeleri ve bu pigmentlerin identifikasyon aşamasında kullanılabilmesidir. *Pseudomonas* izolatları pyocyanin, pyoverdin, pyorubin ve pyomelanin olmak üzere suda çözünebilir dört farklı pigment üretmektedirler. Pyocyanin mavimsi-yeşil renktedir ve bu pigment *P. aeruginosa* için spesifiktir, identifikasyon aşamasında kültürlerde pyocyanin pigmentinin görülmesi, izolatın *P. aeruginosa* olduğunu düşündürmektedir. Pyoverdin pigmenti yeşilimsi-sarı, pyorubin kırmızımsı-kahverengi renkte, pyomelanin ise siyah renkte bir pigmenttir (Abdelaziz ve diğ., 2023). Finlayson ve Brown’un (2011) gerçekleştirdiği çalışmada *P. aeruginosa*’nın pigment varlığında virulens faktörlerinin daha güçlü olduğunu ve pyocyanin üreten suşların, üretmeyen suşlara göre antibiyotiklere daha fazla direnç gösterdiğini saptamışlardır (Finlayson ve Brown, 2011).



**Şekil 2-1: Tryptic soy agarda (TSA) pyoverdin pigmentli bir *P. aeruginosa* izolatu**

Virulens faktörleri memeli patojeni olan *Pseudomonas* türleri için son derece önemlidir. Cins içerisinde heterojenite ve çeşitlilik çok fazla olduğundan, *Pseudomonas* türleri arasında hücre dışı ve hücre aracılı virülens farklılıkları bulunmaktadır. Temel olarak *Pseudomonas* türleri hücre yoğunluğuna bağlı quorum sensing vasıtası ile aktive edilir (Wagner ve diğ., 2008). Elastaz, lipopolisakkarit, proteaz, flagella, Tip IV pili, ekzotoksin A, aljinat, Tip III ve IV sekresyon sistemleri ve birkaç sitotoksin *Pseudomonas* türlerinin virulens faktörleri için örnek olarak verilebilir. Elastaz ve alkalın yapıda olan proteaz, bağ doku ve protein yapıdaki dokular gibi çok çeşitli dokularda yıkım gerçekleştirerek ve nötrofillerin hücre zarı dışı reseptörlerini uzaklaştırarak patojenitede önemli rol oynarlar (Lomholt ve diğ., 2001).

*Pseudomonas* türleri tatlı sularda, saprofit olarak topraklarda, deniz ekosistemlerinde ve birçok doğal materyalde yüksek sayıda bulunurlar ve bununla birlikte bitkiler ve hayvanlarda hastalığa sebep olmaktadır. *Pseudomonas* türlerinin en dikkat çekici özelliklerinden biri oldukça basit olan besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilmeleri ve çevre şartlarına oldukça dayanıklı olmalarıdır (Palleroni, 1981). *Pseudomonas* türlerinin hızlı üremeleri ve toksik organik kimyasallar gibi birçok substratı metabolize edebilme yetenekleri ile antibiyotik, dezenfektan, deterjan, ağır metal ve organik çözücülere olan dirençleri bu cinsi diğer bakteri cinsleri arasında özel kılmaktadır (Moore ve diğ., 2006).

*Pseudomonas* cinsi içerisinde insanlarda ve hayvanlarda en sık hastalık yapan etken aynı zamanda yılanlar ve sürüngenler de dahil olmak üzere birçok omurgalı hayvanın normal bağırsak mikrobiyotasının bir parçası olan ve fırsatçı bir patojen olan *P. aeruginosa*'dır. *P. aeruginosa* normalde nemli ortamlarda yaşayan, non-fermentatif, aerobik, Gram negatif çomak şekle sahip bir bakteri türüdür. Bu tür büyüme ve çoğalma için birkaç organik bileşik kullanabilmekle birlikte, diğer bakterilere kıyasla minimum beslenme gereksinimine sahiptir (Frimmersdorf ve diğ., 2010). *P. aeruginosa*, yılanlar ve sürüngenler de dahil olmak üzere birçok omurgalı hayvanın normal bağırsak mikrobiyotasının bir parçası olan ve fırsatçı bir patojendir. Yılanlar için olumsuz çevre koşulları gibi immun sistemi zayıflatıcı faktörlerin varlığında, *P. aeruginosa* patojen olarak davranabildiği ve birçok dokuda sekonder enfeksiyona neden olabildiği bildirilmiştir (Chinnadurai ve DeVoe, 2009).

Aynı zamanda *P. aeruginosa*'nın kolay bir şekilde antibiyotik direnci geliştirme yeteneği, kapalı alanlarda barındırılan yılanların terraryumlarında minimum besin kaynakları ile üreyebilmesi ile birleştiğinde; bu etkenin yılanlar ve bu hayvanlarla ilgilenen insanlar için bir risk faktörü haline getirdiği bildirilmiştir (Breidenstein ve diğ., 2011, Schmidt-Ukaj ve diğ., 2017). Sağlıklı ve hastalık semptomları gösteren sürüngenlerden *P. aeruginosa*'nın sıklıkla izole edildiği ve sağlıklı yılanlar ile bakıcıları arasında çapraz kontaminasyonun görüldüğü yapılan çalışmalar sonucunda bildirilmiştir (Colinon ve diğ., 2010).

Ebani ve diğ., (2008), sürüngenlerde *Pseudomonas* spp. prevalansını %27,52 olarak bildirmişlerdir. İzole edilen *Pseudomonas* izolatlarında en yüksek antibiyotik direnci amoksisilin, nitrofurantoin ve sulfisoksazol antibiyotiklerine karşı, en yüksek duyarlılığın ise gentamisin ve amikasine karşı saptamışlardır.

Fransa ve Gine'de ev ve hayvanat bahçeleri gibi kapalı alanlarda barındırılan yılanların fekal taşıyıcılığını araştırılmıştır. Çalışma sonucuna göre örnek alınan yılanlardan 75 adet *P. aeruginosa* izole edilmiş ve prevalansı %71 olarak saptanmıştır. İzolatların hepsinin minosiklin ve trimetoprim sülfametoksazole dirençli oldukları belirtilmiş, aynı zamanda %87 ile tikarsilin, %54 ile tikarsilin/klavulanat, %23 ile aztreonam ve %1 ile seftazidim olmak üzere bazı izolatların  $\beta$ -laktamlara karşı orta duyarlı oldukları bildirilmiştir. Beş izolatta ise tobramisin ve gentamisine karşı atipik direnç saptamışlardır (Colinon ve diğ., 2010).

Cushing ve diğ. (2011) 54 kertenkele, 103 kaplumbağa ve 94 yılan örneğini inceledikleri çalışmalarında yılan örneklerinden en sık *P. aeruginosa* (%8.09) izole etmişlerdir. İzolatların antibiyotik direnç oranlarını; %82 enrofloksasin, %36 marbofloksasin, %9 seftazidim olarak belirlemişler, amikasin ve sefotan a direnç saptamamışlardır (Cushing ve diğ., 2011).

İtalya'da gerçekleştirilen bir çalışmada 15 farklı sürüngen türünde *P. aeruginosa* prevalansını %70.8 olarak bulunmuştur. En yüksek antibiyotik direnç oranları imipenem silastatin (%100), penisilin-G (%95.6), ve sülfametoksazol (%93,5) olarak saptanmışken, bunları eritromisin ve vankomisin (%91,3), doksisiklin (%85,3) ve tetrasiklin (%80,4) izlediğini belirtmişlerdir. Sefaleksim, sefalotin ve rifampisin (%78.3)'e karşı da yaygın olarak direnç gözlemişlerdir. *P. aeruginosa* izolatlarının, test edilen antimikrobiyal ilaçların küçük bir kısmına duyarlı olduğunu belirtmişler, izolatların en sık gösterdiği duyarlılıkları ise siprofloksasin (%93,5), norfloksasin ve amikasin (%91,3), tobramisin (%84,8), sefoperazon ve gentamisin (%85,3), seftazidim (%78,3) ve aztreonam (%69,6) olarak sıralamışlardır. Tikarsilin-klavulanik asit (%70,6) ve difloksasin ve piperasilin (%56,5) için daha düşük seviyelerde antibiyotik duyarlılığı bildirilmiştir (Foti ve diğ., 2013).

Artavia-León ve diğ. (2014) Kosta Rika'da doğada serbest yaşayan ve tesadüfen yakalanan zehirli ve zehirsiz yılanların ağız boşluğu ve kloakalarında bulunan bakteri topluluğunun çeşitliliğini tanımlamışlardır. *Viperidae* ve *Colubridae* familyalarına ait 16 yilandan toplam 120 adet oral ve kloakal sürüntü alınmış ve 90 bakteri izolatından, hem oral hem de kloakal sürüntülerden 40 farklı bakteri türü tanımlandığını bildirmişlerdir. Çalışmada birer adet *P. putida* ve *P. fluorescens* izole ve identifiye edildiği bildirilmiştir. Sonuçların mevcut fırsatçı patojenlerin çeşitliliğini ve bunların insanlarda infeksiyon ve zoonoz oluşturma potansiyellerini gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmada direnç profilleri; *P. putida* ampisilin, ampisilin sülbaktam, nalidiksik asit ve nitrofurantoine dirençli, *P. fluorescens* ise ampisilin, ampisilin sülbaktam, nalidiksik asit ve trimetoprim sulfametoksazole dirençli olarak bildirilmiştir.

Sala ve diğ., (2019) kapalı alanlarda barındırılan sağlıklı yılanlarda *P. aeruginosa* prevalansını ve antibiyotik direncini araştırmışlardır. *P. aeruginosa* prevalansı %59,9; çoklu antibiyotik dirençli *P. aeruginosa* prevalansı ise %35,5 olarak bildirilmiştir (Sala ve diğ., 2019). Enrofloksasin direnci ise %10 olarak bildirilmiştir. Çoklu antibiyotik dirençli *P. aeruginosa* prevalansının yetişkin örneklerde genç örneklerle göre önemli ölçüde daha yüksek olduğunu ve sefalosporinler, polimiksinler ve sülfonamidlere karşı yaygın direnç gözlendiğini belirtmişlerdir. Çalışmanın sonuçları incelendiğinde, yılanların beslenmesinde dondurulmuş ve çözülmüş yemler (fare, sıçan, kanatlı vb.) ile beslenmesi, daha yüksek bir *P. aeruginosa* ve çoklu antibiyotik dirençli *P. aeruginosa* prevalansı ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, evde yetiştirilen yemlerle (fare, sıçan vb.) beslenen yılanlar, ticari olarak temin edilebilen yemlerle beslenen yılanlara göre önemli ölçüde daha yüksek çoklu antibiyotik dirençli *P. aeruginosa*

prevalansına sahip olduğu bildirilmiştir. Daha seyrek yaşam alanı temizliği, daha yüksek çoklu dirençli *P. aeruginosa* prevalansı ile ilişkilendirilmiştir. Öte yandan, yılan üreme durumunun, *P. aeruginosa* veya çoklu antibiyotik dirençli *P. aeruginosa* prevalansı ile anlamlı bir şekilde ilişkili olmadığını belirtmişlerdir.

Pawlak ve diğ., (2020) Polonya’da serbest yaşayan ancak çalışma için doğadan toplanıp bireysel yaşam alanlarında barındırılan 45 çimen yılanından (*Natrix natrix*) kloakal sürüntü örnekleri alıp Gram negatif kolikal mikrobiyotayı araştırmışlardır. Doğadan toplanan yılanları bireysel olarak yaşam alanlarına yerleştirmişler ve yılanların adaptasyon için bekledikleri sürede haftada bir dondurulmuş-çözülmüş kemirgenlerle beslemişlerdir. Kloakal sürüntü örneklerinin incelenmesi sonucunda 5 adet *P. putida* (%11,1) saptamışlardır.

*P. aeruginosa*, birçok  $\beta$ -laktam, kinolonlar, kloramfenikol, tetrasiklin, makrolidler, trimetoprim-sülfametoksazol ve rifampisin dahil olmak üzere birçok antimikrobiyal ajana doğal olarak dirençli olduğu bildirilmiştir (Ebani, 2017). Bu sebeple *P. aeruginosa* infeksiyonlarını tedavi etmek amacıyla kullanılan antibiyotikler sınırlıdır. Genel olarak  $\beta$ -laktam grubu (tikarsilin, aztreonam, üreidopenisilin, piperasilin, sefaperazon, seftazidim, sefepim, imipenem ve meropenem), aminoglikozitler (gentamisin, tobramisin, netilmisin ve amikasin) ve florokinolon grubu (siprofloksasin) antibiyotikler tercih edilmektedir (Rossolini ve Mantengoli, 2005). Polimiksin grubu antibiyotiklerin *P. aeruginosa* için daha etkili sonuç verdiği ancak konakçı organizmasına verdikleri zarardan dolayı yalnızca tedavisi son derece zor olan *P. aeruginosa* izolatları için kullanıldıkları belirtilmiştir (Rossolini ve Mantengoli, 2005; Sonbol ve diğ., 2015). Sürünge hastalıklarında geniş spektrumlu antibiyotiklerle tedavinin tercih edilmesi, dirençli bakteri suşlarının gelişmesine sebep olabilmektedir. Kolayca antibiyotik direnci geliştirebilen *P. aeruginosa* için ise bu durum risk faktörü olarak değerlendirilmektedir (Colinon ve diğ., 2010; Cushing ve diğ., 2011).

### 3. YÖNTEM

#### 3.1. GEREÇ

##### 3.1.1. Örnekler

Bu çalışmada, İstanbul ili ve çevresinde bulunan hayvanat bahçelerinde barındırılan 13 farklı türde 100 yilandan, Mart 2021 ve Ocak 2022 tarihleri arasında, kloakal sürüntü örneği, anestezi ve sedasyon uygulanmadan uygun zapt-ı rapt koşulları altında alındı. Örnek alınan yılanların türleri, yaşları, cinsiyetleri ve vücut ağırlıkları kaydedildi.

Çalışma kapsamında kloakal sürüntü örneklerinden *Aeromonas* spp. ve *Pseudomonas* spp. olmak üzere iki farklı cins araştırıldığından ve bu etkenlerin izolasyonu için seçici besiyeri kullanıldığından, her yilandan ikişer sürüntü örneği alındı. Alınan sıvab örneklerinin laboratuvara taşınmasında, araştırılan etkenler için en uygun taşıyıcı besiyeri seçildi. Buna göre *Pseudomonas* türleri için Stuart taşıyıcı besiyerli sıvab, *Aeromonas* türleri için de Cary-Blair taşıyıcı besiyerli sıvab kullanıldı. Alınan kloakal sürüntü örnekleri, *Aeromonas* türleri için optimum olan oda ısısı koşullarında 24 saat içerisinde İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına ulaştırıldı ve ekimleri bekletilmeden hemen gerçekleştirildi.

Örneklerin alındığı yılanlar 43 kraliyet pitonu (*Python regius*), 17 kırmızı kuyruklu boa (*Boa constrictor*), 11 mısır yılanı (*Pantherophis guttata*), 7 Burma pitonu (*Python bivittatus*), 7 Kaliforniya kral yılanı (*Lampropeltis getula*), 3 gökkuşağı boa (*Epicrates cenchria*), 3 domuz burunlu yılan (*Heterodon platyrhinos*), 2 ağılı piton (*Python reticulatus*), 1 Amazon ağaç boası (*Corallus hortulana*), 2 sarı anakonda (*Eunectus notaeus*), 1 yeşil anakonda (*Eunectus murinus*), 1 halı pitonu (*Morelia spilota*), 1 kan pitonu (*Python bongersmai*), 1 Meksika siyah kral yılanı (*Lampropeltis getula nigrita*) olarak listelendi. Ek.1’de alınan örnekler ve örneklerin alındığı hayvanların bilgileri belirtildi.



**Şekil 3-1: Burma pitonundan (*Python bivittatus*) örnek alınması**

### **3.1.2. Besiyerleri**

#### **3.1.2.1. *Pseudomonas* Agar (CONDALAB CAT:1356.00, Batch: 803232, 500G)**

İçerik: Peptone 16.0 g/l, Enzymatic digest of casein 10.0 g/l, Potassium sulfate 10.0 g/l, Magnesium chloride 1.4 g/l, Bacteriological agar 13.0 g/l. (Final pH 7.1±0.2, 25°C).

Hazırlanışı: Toz besiyerinden 25.2 gr tartıldı ve 500 ml distile su içerisinde eritildi. 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Besiyeri 45 °C'ye soğutuldu ve içerisinde CFC supplement eklendi. Steril besiyeri petrilere 25'er ml dağıtıldı. Oda ısısında bekletilen petrilere, besiyeri katıldıktan sonra kullanılıncaya kadar +4°C'de muhafaza edildi.

#### **3.1.2.1.1. CFC Supplement (CONDALAB CAT:6036, Batch: 112594)**

İçerik: Cetrimide 5.0 mg, Fucidate sodium 5.0 mg, Cephalothin sodium salt 25.0 mg.

Hazırlanışı: 6 ml hacimde steril distile su, aseptik koşullarda etken maddelerin içinde bulunduğu şişeye eklendi, yavaşça çalkalandı, homojenizasyon sağlandıktan sonra 45°C'ye soğutulmuş steril besiyeri içerisine aseptik koşullarda eklendi.

### **3.1.2.2. *Aeromonas Agar Base (CONDALAB CAT: 1370.00, Batch: 112143, 500G)***

İçerik: Bromthymol blue 0.04 g/l, Bacteriological agar 12.5 g/l, Bile salts No:3 3 g/l, Ferric ammonium citrate 0.8 g/l, Inositol 2.5 g/l, Lactose 1.5 g/l, L-Arginine hydrochloride 2 g/l, L-Lysine hydrochloride 3.5 g/l, Proteose peptone 5 g/l, Sodium chrolide 5 g/l, Sodium thiosulfate 10.67 g/l, Sorbitol 3 g/l, Thymol blue 0.04 g/l, Xylose 3.75 g/l, Yeast extract 3 g/l (Final pH 8.0 ± 0.2, 25°C).

Hazırlanışı: Toz besiyerinden 28.1 gr tartıldı ve 500 ml distile su içerisinde eritildi. Isıtıcı blok üzerine alınan çözelti, karıştırılarak kaynayana kadar ısıtıldı. Bir dakika kaynayan çözelti buradan alınarak 45 °C'ye soğutuldu ve içerisine bir şişe *Aeromonas* supplementi aseptik olarak eklendi. Takiben, her petriye 25 ml olacak şekilde tek kullanımlık plastik petrilere dağıtıldı. Oda ısısında bekletilen petrilere, besiyeri katıldıktan sonra kullanılıncaya kadar +4°C'de muhafaza edildi.

### **3.1.2.2.2. *Aeromonas Supplement (CONDALAB CAT: 6052, Batch: 112778)***

İçerik: Sodium ampicillin 2.5 mg/l.

Hazırlanışı: 6 ml hacimde steril distile su, etken maddenin içinde bulunduğu şişe aseptik koşullarda eklendi, yavaşça çalkalandı, homojenizasyon sağlandıktan sonra 45 °C'ye soğutulmuş besiyeri karışımına aseptik olarak eklendi.

### **3.1.2.3. *Tryptic Soy Broth (MERCK 1.054459.0500)***

İçerik: Peptone from casein 17.0 g/L, Peptone from soymeal 3.0 g/L; D(+) Glucose 2.5 g/L; Sodium chloride 5.0 g/L; di-Potassium hydrohen phosphate 2.5 g/L. (pH 7.3±0.2, 25°C).

Hazırlanışı: Toz besiyerinden 2.8 gr tartıldı ve 100 ml distile su içerisinde eritildi. 4'er ml steril cam tüplere dağıtılarak, 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Besiyerleri kullanılıncaya kadar +4°C'de muhafaza edildi.

### **3.1.2.4. *Tryptic Soy Agar (OXOID LOT: 657873)***

İçerik: Tryptone 15,0 g/l, soya peptone 5,0 g/l, sodium chloride 5.0 g/l, agar 15.0 g/l. (pH 7.3 ± 0.2, 25°C).

Hazırlanışı: Toz besiyerinden 20 gr tartıldı ve 500 ml distile su içerisinde eritildi. 121°C' de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Sterilizasyon sonrası besiyeri, her petriye 25

ml olacak şekilde tek kullanımlık plastik petrilere dağıtıldı. Oda ısısında bekletilen petrilere, besiyeri katıldıktan sonra kullanılmaya kadar +4°C’de muhafaza edildi.

#### **3.1.2.5. Mueller-Hinton Agar (HIMEDIA LOT: 0000301600)**

İçerik: Casein acid hydrolysate 17.50 g/l, Meat infusion solids 2 g/l, Soluble starch 1.5 g/l, Agar 17.0 g/l. (Final pH 7.3 ± 0.1, 25°C).

Hazırlanışı: Toz besiyerinden 19 gr tartıldı ve 500 ml distile su içerisinde eritildi. 121°C ‘de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Sterilizasyon sonrası besiyeri, her petriye 25 ml olacak şekilde tek kullanımlık plastik petrilere dağıtıldı. Oda ısısında bekletilen petrilere, besiyeri katıldıktan sonra kullanılmaya kadar +4°C’de muhafaza edildi.

#### **3.1.2.6. Nutrient Agar (LABM Batch: 129858/022)**

İçerik: Peptone 5 g/l, Beef extract 3.0 g/l, Sodium chloride 8.0 g/l, Agar 12 g/l (Final pH 7.3 ± 0.2)

Hazırlanışı: Toz besiyerinden 14 gr tartıldı ve 500 ml distile su içerisinde eritildi. 121 °C’de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Sterilizasyon sonrası besiyeri, her petriye 25 ml olacak şekilde tek kullanımlık plastik petrilere dağıtıldı. Oda ısısında bekletilen petrilere, besiyeri katıldıktan sonra kullanılmaya kadar +4°C’de muhafaza edildi.

### **3.1.3. Ayraçlar ve Kimyasallar**

#### **3.1.3.1. Stuart Taşıyıcı Besiyerli Tüp (GÜL-KA BTR, LOT: BTR0051)**

*Pseudomonas* spp. izolasyonu için nazofaringeal sıvablarla alınan örneklerin laboratuvara taşınması amacıyla kullanıldı.

#### **3.1.3.2. Cary-Blair Taşıyıcı Besiyerli Tüp (GÜL-KA BTR, LOT: BTR0040)**

*Aeromonas* spp. izolasyonu için nazofaringeal sıvablarla alınan örneklerin laboratuvara taşınması amacıyla kullanıldı.

#### **3.1.3.3. Oksidaz İdentifikasyon Stikleri (Diagnostics, LOT: 201912022)**

İzolatlarda oksidaz enzimi varlığını tespit etmek amacıyla kullanıldı.

#### **3.1.3.4. %3 Hidrojen Peroksit Solüsyonu**

İzolatlarda katalaz enzimi varlığını tespit etmek amacıyla kullanıldı.

#### **3.1.3.5. Gram Boya Kiti (HIMEDIA LOT: 0000422850)**

İzolatların Gram özelliğinin belirlenmesi amacıyla kullanıldı.

### 3.1.3.6. Gliserol (Reidel-de Haen LOT: 61090)

%50 Gliserol; Stok gliserolden 50 ml alındı ve 50 ml dH<sub>2</sub>O ilave edildi, ardından 121°C’de 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Kullanıma kadar +4°C’de muhafaza edildi. İzole edilen bakterilerin -20°C’de saklanması aşamasında kullanıldı.

### 3.1.3.7. BD Phoenix NMIC/ID-433 (BD, LOT: 0161577)

*Pseudomonas* spp. ve *Aeromonas* spp. olarak saptanan izolatların tür düzeyinde identifikasyonlarının gerçekleştirilmesi ve eş zamanlı olarak antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması için kullanıldı. BD Phoenix ID Broth (BD, LOT: 0324007)

İçerik: Potassium chloride 7.5 g/l, Calcium chloride 0.5 g/l, Tricine glycine 0.895 g/l, Polysorbate 80 0.025%. İzolatların identifikasyonu için kullanıldı.

BD Phoenix AST Broth (BD, LOT: 0324007)

İçerik: Mueller-Hinton broth 22g/l, Polysorbate 80 0.01%. İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının saptanması amacıyla kullanıldı. BD Phoenix AST İndikatör Solüsyonu (BD, LOT: 040320064)

### 3.1.3.8. Enrofloksasin E-Test Strip (LIOFILCHEM, LOT: 0403220064)

İçerik: 0.002 mg/l ile 32 mg/l arasında değişen miktarda enrofloksasin. İzolatların enrofloksasin duyarlılığını belirlemek amacıyla kullanıldı.

## 3.1.4. Moleküler Çalışmalar

### 3.1.4.1. DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu için %5’lik Chelex solüsyonu kullanıldı. Bu amaçla 100 ml distile suya 5 gr Chelex Moleculer Biology Grade Resin (Bio-Rad Cat: 142-1253 LOT: 64290231) eklenerek %5’lik solüsyon hazırlandı.

### 3.1.4.2. Primerler

*Pseudomonas* şüpheli izolatların cins düzeyinde identifikasyonu amacıyla cins spesifik *PA-GS-F* ve *PA-GS-R* primerleri kullanıldı (Spilker ve diğ., 2004). *PA-GS-F*; 5’-GACGGGTGAGTAATGCCTA-3’ ve *PA-GS-R*: 5’-CACTGGTGTTCCTTCCTATA-3’ dizilimleri temin edildi. Primerlerin sulandırılması ve 100 µM konsantrasyonda stok hazırlamak amacıyla üretici firmanın belirttiği şekilde *PA-GS-F* için 430.9 µl, *PA-GS-R* için 459.8 µl TE Buffer (A.B.T. 1 X TE Buffer, Cat: B05-01-01) kullanıldı. Stok primerlerden son konsantrasyon olan 10 pmol/µl olacak sulandırma için moleküler grade steril distile su (Multicell, Cat: 809-115-CL, LOT: 809115030) kullanıldı. Hem stok primerler, hem de son konsantrasyona göre dilüe edilmiş primerler kullanım aşamasına kadar -20°C’de saklandı.

*Aeromonas* şüpheli izolatların cins düzeyinde identifikasyonu amacıyla cins spesifik olarak *gyrB\_F* ve *gyrB\_R* primerleri kullanıldı (Tacao ve diğ., 2005). *gyrB\_F*; 5'-GAAGGCCAAGTCGGCCGCCAG-3' ve *gyrB\_R*: 5'-ATCTTGGCATCGCCCGGGTTTTC-3' dizilimleri temin edildi. Primerlerin sulandırılması ve 100 µM konsantrasyonda stok hazırlamak amacıyla üretici firmanın belirttiği şekilde *gyrB\_F* için 418.9 µl, *gyrB\_R* için 451.9 µl TE Buffer (A.B.T. 1 X TE Buffer, Cat: B05-01-01) kullanıldı. Stok primerlerden son konsantrasyon olan 10 pmol/µl olacak sulandırma için moleküler grade steril distile su (Multicell, Cat: 809-115-CL, LOT: 809115030) kullanıldı. Hem stok primerler, hem de son konsantrasyona göre dilüe edilmiş primerler kullanım aşamasına kadar -20°C'de saklandı.

#### 3.1.4.3. DNA amplifikasyonu

**Mastermix 2X (Thermoscientific PCR Mastermix 2X, LOT:01179822)** PCR'ın gerçekleştirilmesi amacıyla Taq DNA polimeraz 0.05 U/ul, reaction buffer, 4 mM MgCl<sub>2</sub> ve her nükleotitten 0.4 mM] içeren hazır karışım kullanıldı.

**Moleculer Grade Water, Nuclease Free (Thermoscientific, LOT: 00858054)** PCR'ın gerçekleştirilmesi için istenilen molariteye ve son hacme ulaşmak amacıyla kullanıldı.

#### 3.1.4.4. Agaroz Jel Elektroforez

Elde edilen amplikonların agaroz jel elektroforezi için %1 oranında hazırlanan jel kullanıldı. 100 ml 1X TAE (Invitrogen Ultrapure 10 X TAE Buffer) içerisinde 1 gr tartılan agaroz (Invitrogen UltraPure Agarose) eklendi ve homojenizasyon sağlanıncaya kadar karışım çalkalandı. Mikrodalgada ısıtılarak çözdürüldükten sonra oda ısısında 60 °C'ye soğutululan karışım içerisinde 8 µl ethidium bromide (SIGMA E-1385) eklendi. Karışım içerisinde ethidium bromide homojenizasyonunu sağlamak amacıyla shot içerisindeki agaroz yavaşça çalkalandı. Takiben, PCR amplikon sayısına uygun büyüklükteki kalıp tepsisi içerisine dökülen agaroz, tepsiye taraklar da eklendikten sonra donması için bekletildi. Jel tamamen donduktan ve katılaştıktan sonra taraklar çıkarılarak, içerisine 1X TAE doldurulmuş elektroforez tankına alındı ve yükleme aşamasına hazır hale getirildi. Amplikonların yürütülmesi sonucunda oluşan bantların bp uzunluklarını saptamak amacıyla GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (Thermoscientific, LOT: 01028183) kullanıldı Amplikonların, pozitif ve negatif kontrollerin agaroz jel kuyucuklarına yüklenmesi amacıyla Loading Dye (Thermoscientific, 6X DNA Loading Dye, LOT: 00708110) kullanıldı.

### 3.1.4.5. Referans Suş

Kültür ve moleküler çalışmalarda kontrol olarak İzmir Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü, Bakteriyoloji Bölümü'nden temin edilen *A. hydrophila* suşu ve İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan *P. aeruginosa* saha izolatu kullanıldı.

### 3.1.5. Diğer Gereçler

Yılanlardan kloakal sıvab örneklerinin alınması için Nasopharingeal Culture Collecting Device (LABORANT, LOT: 200939) kullanıldı. Etkenlerin izolasyonu ve identifikasyonu için İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında bulunan etüv (Nuve), otoklav (Nuve), biyogüvenlik kabini, insineratör, bunsen beki, mikroskop (Canon), BD Phoenix otomatize mikrobiyoloji cihazı, BD PhoenixSpec nephelometer, +4°C buzdolabı, -20°C ve -80°C derin dondurucular, titanyum uçlu iğne ve halka özeler, tek kullanımlık plastik özeler, ısıtıcı blok kullanıldı.

İzolatların cins düzeyinde identifikasyonlarının gerçekleştirildiği moleküler çalışmalarda; kuru ısıtıcı blok (Biosan, Bio TDB- 100), santrifüj Cihazı (Denville 260 D), PCR Thermal Cyler (Runik Thermal Cyler, SACEM Life Technologies), otomatik pipetler (Eppendorf Research Plus, 0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl hacimli) mini spin santrifüj (Eppendorf), UV Transilluminator (Infinity, Vilber Lourmat), PCR tüpleri (AXYGEN, 0.2 ml RNase, DNase Free, LOT: 15216382), mikrosantrifüj tüpü (ISOLAB), mikrodalga ısıtıcı (Vestel), pipet uçları ( ISOLAB) kullanıldı.

## 3.2. YÖNTEM

### 3.2.1. İnceleme örneklerinden *Pseudomonas* spp. izolasyonu ve identifikasyonu

#### 3.2.1.1. *Pseudomonas* spp. izolasyonu için ekim yapılması

Stuart taşıyıcı besiyeri içerisinde getirilen kloakal sürüntü örneklerinden *Pseudomonas* Agar (PA)'a ekimleri yapıldı. Ekim yapılan petriyerler aerob koşullarda 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda petriyerlerde bulunan koloni tipleri morfolojik özelliklerine göre değerlendirildi. Aynı petride bulunan farklı morfolojiye sahip koloniler pasajlanarak saflaştırıldı. Saf kültürlerde bulunan koloniler Gram boyama yöntemi ile boyandıktan sonra immersiyon yağı ile mikroskopta 100x büyütmede incelendi. İnceleme sonucunda Gram negatif çomak morfolojisi gösteren izolatlarla, katalaz ve oksidaz testleri yapıldı.

### 3.2.1.2. Katalaz Testi

Lam üzerinde damlatılan %3 hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) içerisine saf kültürlerden birkaç koloni alınarak bırakıldı ve gaz oluşumu gözlemlendi. Katalaz enzimi varlığında serbest hidrojen oluşumunun göstergesi olan kabarcıkların gözlemlendiği testler ve testlerin ait olduğu izolatlar katalaz pozitif olarak değerlendirildi (Struthers, 2017).

### 3.2.1.3. Oksidaz Testi

Saf kültürlerden tek kullanımlık, steril cam pastör pipeti yardımı ile birkaç koloni alındı ve oksidaz sticklerinin üzerine bırakılarak bir dakika bekletildi. Süre bitiminde oksidaz stickleri üzerinde koyu mavi, mor renk değişiminin görülmesi ile izolatlar oksidaz pozitif, renk değişimi oluşturmeyen izolatlar ise oksidaz negatif olarak değerlendirildi (Struthers, 2017).

Katalaz ve oksidaz pozitif olan izolatlar, Tryptic Soy Broth (TSB) ve Tryptic Soy Agar (TSA)'a pasajlandı ve aerob ortamda 30°C'de 24 saat inkübe edildi. TSB'de üreyen kültürler, ileriki aşamalarda kullanılmak amacıyla %20 gliserol eklenerek, vida kapaklı steril cryo tüplerde -20°C'de saklandı.

### 3.2.1.4. *Pseudomonas spp.* şüpheli izolatların PCR ile identifikasyonu

DNAaz ve RNAaz içermeyen mikrosantrifüj tüplerine 400 µl %5 Chelex solusyonu ilave edildi. Üzerine DNA ekstraksiyonu yapılmak üzere, şüpheli izolatların TSA'daki kolonilerinden birkaç koloni ilave edildi ve karışım vortex ile homojen hale getirildi. 100°C'de 10 dakika kuru ısıtıcı blok içerisinde bekletilen karışım, 12.500 rpm hızında 3 dakika santrifüje edildi ve santrifüj sonrasında süpernatant alınarak -20 °C'de saklandı (Kariyama ve diğ., 2000).

Şüpheli izolatların cins düzeyinde identifikasyonu amacıyla *PA-GS-F* ve *PA-GS-R* primer dizilimleri kullanılarak PCR yapıldı (Spilker ve diğ., 2004). PCR karışımı son hacim 25 µl olacak şekilde, her primerden 10 pmol konsantrasyonda 1 µl, mastermix karışımından 12.5 µl, DNaz, RNaz'dan arındırılmış moleküler grade distile su 8.5 µl hacimde olacak şekilde hazırlandı. Her izolat için DNA ekstraktı 2 µl hacminde eklendi ve böylece son hacim 25 µl'ye tamamlandı.

Hazırlanan karışım amplifikasyon amacıyla PCR cihazına yerleştirildi. Amplifikasyon, 95°C'de 2 dakika ilk denatürasyon ve ardından 25 siklus boyunca 94°C'de 20 saniye, 54°C'de 20 saniye, 72°C'de 40 saniye ve son uzama için ise 72°C'de 1 dakika olacak şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen amplifikasyon ürünleri agaroz jelde yürütülünceye kadar +4°C'de bekletildi.

Amplikonların yürütülmesi %1 agaroz jel kullanılarak gerçekleştirildi. Agaroz jel üzerindeki sırasıyla ilk kuyucuğa 5 µl DNA marker (100 bp), pozitif ve negatif kontrol ve şüpheli izolatlara ait amplikonlar eklendi. DNA marker 5 µl hacimde eklenirken, her amplikondan 10 µl alındı ve 6X loading diye ile karıştırılıp (2 µl loading dye ile 10 µl amplikon) jele yüklendi. Yükleme yapılan jelin elektroforezi 100 volt elektrik akımında 30 dakika sürede gerçekleştirildi. Süre bitiminde jel transillüminatöre alındı ve UV ışık altında var olan bantlar değerlendirildi. 618 bp bant oluşturan izolatlara *Pseudomonas* spp. olarak identifiye edildi (Spilker ve diğ., 2004).

### **3.2.1.5. *Pseudomonas* spp. izolatlarının tür düzeyinde identifikasyonu**

PCR ile *Pseudomonas* spp. olarak identifiye edilen izolatların tür düzeyinde identifikasyonları, BD Phoenix otomatize mikrobiyoloji sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. Üreticinin direktifleri doğrultusunda; *Pseudomonas* spp. olarak identifiye edilmiş izolatların saf kültürlerinden, kite ait ID solüsyonu içerisinde 0.5 McFarland yoğunluğunda bakteri süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyondan 25 µl hacimde alınarak AST solüsyonu içerisine eklendi. Hazırlanan karışımlar cihaza ait kitlere yüklendi ve kitler cihaza yerleştirildi. İdentifikasyon sonuçları 24 saat içerisinde elde edildi.

## **3.2.2. İnceleme örneklerinden *Aeromonas* spp. izolasyonu ve identifikasyonu**

### **3.2.2.1. *Aeromonas* spp. izolasyonu için ekim yapılması**

Cary-Blair besiyeri içerisinde laboratuvara getirilen sıvab örneklerinden *Aeromonas* Agar (AA)'a ekimleri yapıldı. Ekim yapılan petripler aerob koşullarda 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda koloni tipleri morfolojik özelliklerine ve yeşil renge sahip olup olmamalarına göre değerlendirildi. Aynı petride bulunan farklı morfolojiye sahip koloniler pasajlanarak saflaştırıldı. Saf kültürlerden yapılan Gram boyama sonucunda Gram negatif çomak morfolojisi gösteren izolatlara, katalaz ve oksidaz testleri yapıldı. Katalaz ve oksidaz pozitif olan izolatlar, Tryptic Soy Broth (TSB) ve Tryptic Soy Agar (TSA) ve Nutrient Agar (NA)'a pasajlandı ve aerobik ortamda 30°C'de 24 saat inkübe edildi. TSB'de üreyen kültürler, moleküler çalışmalar gibi ileriki aşamalarda kullanılmak üzere %20 gliserol eklenerek, steril cryo tüplerde -20°C'de saklandı. NA'da üreyen kültürler ise *Aeromonas* izolatlarının dondurulmaya karşı hassas olmaları, izolat kaybının önlenmesi ve E-test uygulaması için korunmaları için +4 °C'de saklandı.

### **3.2.2.2. *Aeromonas* spp. şüpheli izolatların PCR ile identifikasyonu**

İzolatların DNA ekstraksiyonu 3.2.1.3'de belirtildiği gibi Kariyama ve diğ.'nin yöntemine gerçekleştirildi (Kariyama ve diğ., 2000).

Şüpheli izolatların *Aeromonas* spp. olarak cins düzeyinde identifikasyonu (amacıyla *gyrB\_F* ve *gyrB\_R* primer dizilimleri kullanılarak PCR yapıldı (Tacao ve diğ., 2005).

PCR karışımı son hacim 25 µl olacak şekilde, her primerden 10 pmol konsantrasyonda 1 µl, mastermix karışımından 12.5 µl, DNaz, RNaz'dan arındırılmış moleküler grade distile su 8.5 µl olacak şekilde hazırlandı. Her izolat için DNA ekstraktı 2 µl hacminde eklendi ve böylece son hacim 25 µl'ye tamamlandı.

Hazırlanan karışım amplifikasyon amacıyla thermal cycler cihazına yerleştirildi. Amplifikasyon, 94°C'de 9 dk ilk denatürasyon ve takiben 30 siklus olacak şekilde 94°C'de 30 sn, 60°C'de 30 sn, 72°C'de 30 sn ve son uzama için ise 72°C'de 30 dakika olacak şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen amplifikasyon ürünleri agaroz jelde yürütülünceye kadar +4°C'de bekletildi.

Amplikonların yürütülmesi, elektroforez işlemi ve bantların değerlendirilmesi 3.2.1.4.'de belirtildiği şekilde yapıldı ve 198 bp bant oluşturan izolatlar *Aeromonas* spp. olarak identifiye edildi (Tacao ve diğ., 2004).

### 3.2.2.3. *Aeromonas* spp. izolatlarının tür düzeyinde identifikasyonu

PCR ile *Aeromonas* spp. olarak identifiye edilen izolatların tür düzeyinde identifikasyonları 3.2.1.5.'de belirtildiği gibi BD Phoenix otomatize mikrobiyoloji sistemi kullanılarak gerçekleştirildi.

### 3.2.3. İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının saptanması

PCR ile *Pseudomonas* spp. ve *Aeromonas* spp. olarak identifiye edilen tüm izolatların tür bazında identifikasyonları yapılırken eş zamanlı olarak antibiyotik duyarlılık testleri de BD Phoenix ile gerçekleştirildi. İzolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesinde amikasin, gentamisin, ertapenem, imipenem, meropenem, sefazolin, seftazidim, sefuroksim, seftriakson, sefepim, seftriakson-tazobaktam, ampisilin, amoksisilin-klavulanat, ampisilin-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam, kolistin, trimetoprim-sulfametoksazol, siprofloksasin levofloksasin, ve tigesiklin kullanıldı.

Otomatize sistemin yanında, yılanlarda en sık kullanılan antibiyotiklerden biri enrofloksasin otomatize sisteme ait panel içerisinde bulunmadığından, enrofloksasin duyarlılığını saptamak amacıyla E-test yöntemi kullanıldı. İzolatlardan steril FTS (% 0.9'luk fizyolojik tuzlu su) içerisinde 0.5 McFarland standartında süspansiyon hazırlandı. Steril pamuklu eküvyon çubuğu bu solüsyon içerisine daldırılarak pamuğun optimum miktarda sıvı alması sağlandı ve eküvyon çubuğu ile Müller-Hinton agar üzerine yayma ekim

gerçekleştirildi. Yayma ekimin yapıldığı besiyerleri üzerine enrofloksasin E-test stripleri yerleştirilerek 30°C'de 24 saat inkübasyonları gerçekleştirildi. E-test sonuçlarının değerlendirilmesi CLSI standartlarına göre gerçekleştirildi (CLSI, 2023).

#### 3.2.4. İstatistiksel Analiz

Örnek alınan yılanların demografik verileri kullanılarak cinsiyet ve *Pseudomonas* varlığı, yaş ve *Pseudomonas* varlığı, cinsiyet ve *Aeromonas* varlığı, yaş ve *Aeromonas* varlığı arasındaki ilişki incelendi (Tablo 3-1). Bütün analizlerde güven aralığı %95 olarak kullanıldı. Bulguların analizi (SPSS for Windows, Version 17.0. (SPSS Inc. Chicago, USA, Released 2008) programı kullanılarak gerçekleştirildi. Değişkenlerin değerlendirilmesinde T test ve Chi Square testi kullanıldı. Gerçekleştirilen tüm istatistik analizlerinde P değeri <0.05 sonucuna ulaşıldığında iki değişken arasındaki ilişki anlamlı olarak değerlendirildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. *Pseudomonas* spp. İZOLASYONU

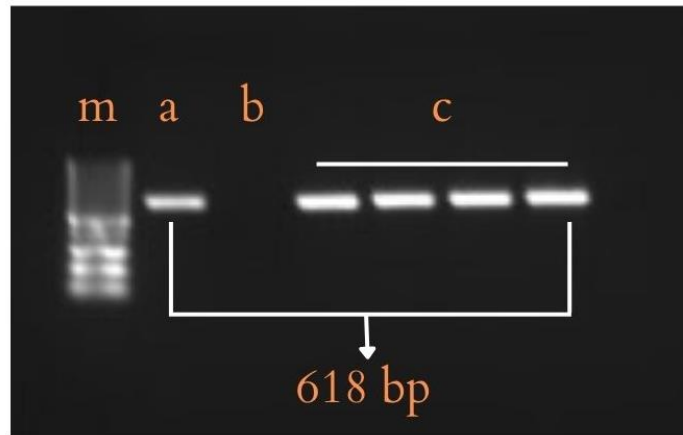
Toplam 100 yıldan alınan kloakal sürüntü örneklerinin *Pseudomonas* agara ekimleri sonucunda 127 şüpheli izolat elde edildi. Bu izolatlardan katalaz pozitif ve oksidaz pozitif olan 79 izolat *Pseudomonas* spp. şüpheli olarak değerlendirildi.



Şekil 4-1: *Pseudomonas* agarda (PA) *P. aeruginosa* kolonileri

Şüpheli izolatların cins düzeyinde identifikasyonlarının gerçekleştirilmesi için *Pseudomonas* spp. spesifik primerler ile yapılan PCR sonucunda 79 şüpheli izolatın 47'sinde 618 bp bant görüldü ve bu izolatlar *Pseudomonas* spp. olarak değerlendirildi (Şekil 4.2).

Örneklerinin alındığı yılan türlerine göre *Pseudomonas* spp. izolasyon oranları;



Şekil 4-2: *Pseudomonas* spp. olarak saptanan izolatların agaroz jel elektroforez görüntüsü (m: marker, a: pozitif kontrol, b: negatif kontrol, c: izolatlara ait bantlar).

kraliyet pitonlarında %51.1 (22 izolat), kırmızı kuyruklu boalarda %41.1 (7 izolat) mısır yılanlarında %36.3 (4 izolat), Burma pitonlarında %28.5 (2 izolat), Kaliforniya kral yılanlarında %28.5 (2 izolat), gökkuşuğu boalarda %33.2 (1 izolat) olarak bulundu. Meksika kral yılanında, kan pitonunda, halı pitonunda ve yeşil anakondada, domuz burunlu yılanlarda, ağılı pitonlarda ise örnek alınan her yılanda *Pseudomonas* spp. izolatı saptandı (Tablo 4-1). Farklı yılan türlerinde *Pseudomonas* spp. izolasyon oranı %47 olarak saptandı.

*Pseudomonas* spp. olarak saptanan izolatların tür düzeyindeki identifikasyonları BD Phoenix 100 otomatize mikrobiyoloji identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık test sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. İzolatların 22 (%46.8)'si *P. aeruginosa*, 23 (%48.9)'ü *P. putida* ve 2 (%4.2)'si de *Pseudomonas* spp. olarak tanımlandı.

*Pseudomonas* izolasyonu ve örneklerin alındığı yılanların demografik bilgileri (Tablo 4-2) istatistik analizlerle değerlendirildi ve SPSS for Windows, Version 17,0 (SPSS Inc. Chicago, USA, Released 2008) programı ile incelendi. Örnek alınan yılanların cinsiyeleri ve *Pseudomonas* türlerinin varlığı (Chi square  $p= 0.971179$ ) ve yılanların yaşları ile *Pseudomonas* türlerinin bulunması (Chi square  $p= 0.58028$ ) arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

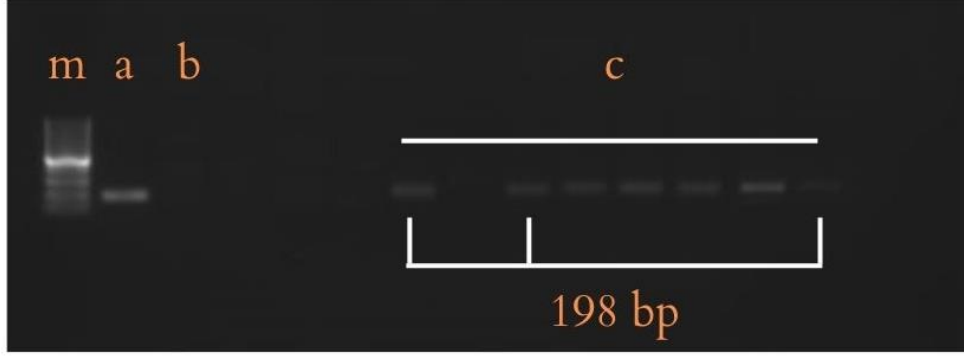
#### 4.2. *Aeromonas* spp. İZOLASYONU

Kloakal sürüntü örneklerinin *Aeromonas* agara ekimleri sonucunda 51 izolatın yeşil renkli, S formda, parlak ve konkav koloniler oluşturduğu saptandı. Yapılan testler sonucunda katalaz ve oksidaz pozitif 37 izolat *Aeromonas* spp. şüpheli olarak değerlendirildi.



Şekil 4-3: *Aeromonas* agarda (AA) *A. hydrophila* kolonileri

Şüpheli izolatların cins düzeyinde identifikasyonlarının gerçekleştirilebilmesi için *Aeromonas* spp. spesifik primerler ile yapılan PCR sonucunda 37 izolattan 7'si 198 bp bant oluşturdu ve bu izolatlar *Aeromonas* spp. olarak değerlendirildi (Şekil 4.4).



**Şekil 4-4: *Aeromonas* spp. olarak saptanan izolatların agaroz jel elektroforez görüntüsü (m: marker, a: pozitif kontrol, b: negatif kontrol, c: izolatlara ait bantlar).**

PCR ile *Aeromonas* spp. olarak tanımlanan izolatların farklı yılan türlerinde izolasyon oranları %7 olarak saptandı. Örneklerinin alındığı yılan türlerine göre *Aeromonas* spp. izolasyon oranları; kraliyet pitonunda %11.6 (5 izolat), kırmızı kuyruklu boalarda %5.8 (1 izolat), Kaliforniya kral yılanlarında ise %33.3 (1 izolat) olarak saptandı (Tablo 4-1). Farklı yılan türlerinde *Aeromonas* spp. izolasyon oranı ise %7 (7 izolat) olarak bulundu.

*Aeromonas* spp. olarak tanımlanan izolatların tür düzeyinde identifikasyonları amacıyla yapılan test sonucunda, 3 (%42,8) *A. veronii*, 3 (%42,8) *A. caviae* ve 1 (%14,2) *A. hydrophila* tanımlandı.

*Aeromonas* izolasyonu ve örneklerin alındığı yılanların demografik bilgileri (Tablo 4-2) istatistik analizlerle değerlendirildi ve 4.1.'de olduğu gibi incelendi. Örnek alınan yılanların cinsiyetleri ve *Aeromonas* türlerinin varlığı (Chi square  $p= 0.819856$ ) ve yılanların yaşları ile *Aeromonas* türlerinin varlığı (Chi square  $p= 0.09106$ ) arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Yılan Türleri (n)	<i>Pseudomonas</i> türü (n)	<i>Aeromonas</i> türü (n)
Kraliyet Pitonu (43)	<i>P. aeruginosa</i> (10) <i>P. putida</i> (10) <i>Pseudomonas</i> spp. (2)	<i>A. veronii</i> (3) <i>A. caviae</i> (2)
Kırmızı Kuyruklu Boa (17)	<i>P. aeruginosa</i> (4) <i>P. putida</i> (3)	<i>A. hydrophila</i> (1)
Mısır Yılanı (11)	<i>P. aeruginosa</i> (3) <i>P. putida</i> (1)	-
Burma Pitonu (7)	<i>P. putida</i> (2)	-
Domuz Burunlu Yılan (3)	<i>P. aeruginosa</i> (3)	-
Kaliforniya Kral Yılanı (7)	<i>P. putida</i> (2)	<i>A. caviae</i> (1)
Ağlı Piton (2)	<i>P. putida</i> (2)	-
Meksika Kral Yılanı (1)	<i>P. aeruginosa</i> (1)	-
Halı Pitonu (1)	<i>P. aeruginosa</i> (1)	-
Gökkuşuğu Boa (3)	<i>P. putida</i> (1)	-
Yeşil Anakonda (1)	<i>P. putida</i> (1)	-
Kan Pitonu (1)	<i>P. putida</i> (1)	-

**Tablo  
4-1:**

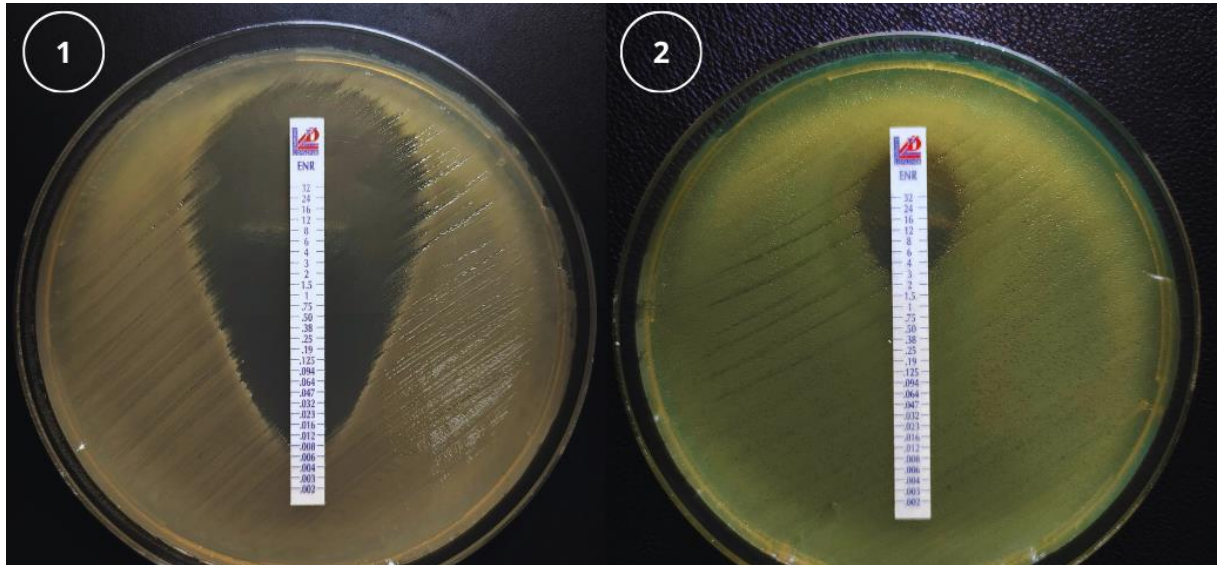
**Yılanlardan elde edilen *Pseudomonas* ve *Aeromonas* izolatların dağılımları**

Değişkenler	Toplam (n, %)	<i>Pseudomonas</i> spp. pozitif (n, %)	<i>Pseudomonas</i> spp. negatif (n, %)	<i>Aeromonas</i> spp. pozitif (n, %)	<i>Aeromonas</i> spp. negatif (n, %)
Cinsiyet					
Erkek	53, %53	25, %47,1	28, %52,8	4, %7,5	49, %92,4
Dişi	47, %47	22, %46,8	25, %53,1	3, %6,3	44, %93,6
Yaş					
<1 yaş	16, %16	7, %43,7	9, %56,2	3, %18,7	13, %81,2
1-10 yaş	80, %80	38, %47,5	42, %52,5	4, %5	76, %95
>10 yaş	4, %4	2, %50	2, %50	-	4, %100

**Tablo 4-2 Yılanlara ait bilgiler ve izolatların pozitiflik oranları**

### 4.3. İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

İzolatların antibiyotik duyarlılık profilleri BD Phoenix 100 otomatize mikrobiyoloji sistemi ile NMIC/ID-433 paneli kullanılarak gerçekleştirildi. Bu panelde enrofloksasin bulunmadığından, izolatların enrofloksasin duyarlılığını saptamak için E-test yöntemi



**Şekil 4-5: Enrofloksasine duyarlı (1) ve orta duyarlı (2) izolatların E-test görüntüleri**

kullanıldı.

Duyarlılık testi sonuçlarına göre enrofloksasin ve meropenem etken maddelerine değişen oranlarda direnç saptandı.

Enrofloksasin duyarlılık test sonuçlarına göre *P. aeruginosa* izolatlarının 13 (%59)'ü duyarlı, 9 (%40.9)'u orta duyarlı; *P. putida* izolatlarının 13 (%56.5)'ü duyarlı, 10 (%43.4)'u orta duyarlı; *Pseudomonas* spp. izolatlarının 2 (%100)'si duyarlı; *A. caviae* izolatlarının 1 (%33.3)'i duyarlı, 2 (%66.6)'si orta duyarlı; *A. veronii* izolatlarının 3 (%100)'ü ve 1 *A. hydrophila* izolatının 1 (%100)'i duyarlı olarak saptandı (Tablo 4.2).

Meropenem duyarlılık test sonuçlarına göre ise *P. aeruginosa* izolatlarının 21 (%95,4)'i duyarlı, 1 (%4.5)'i orta duyarlı; *P. putida* izolatlarının 15 (%65.2)'i duyarlı, 8 (%34.7)'i orta duyarlı olarak saptandı. *Pseudomonas* spp. olarak tanımlanan 2 izolat ve *Aeromonas* izolatlarının hepsi meropeneme duyarlı olarak saptandı.

BD Phoenix NMIC-433 kiti içerisinde bulununan diğer antibiyotiklere (amikasin, gentamisin, ertapenem, imipenem, meropenem, sefazolin, seftazidim, sefuroksim, seftriakson, sefepim, seftriakson-tazobaktam, ampisilin, amoksisilin-klavulanat, ampisilin-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam, kolistin, trimetoprim-sulfametoksazol, siprofloksasin, levofloksasin ve tigesiklin) herhangi bir direnç saptanmadı.

Enrofloksasin Duyarlılığı	<i>P. aeruginosa</i> (n, %)	<i>P. putida</i> (n, %)	<i>Pseudomonas</i> spp. (n, %)	<i>A. veronii</i> (n, %)	<i>A. caviae</i> (n, %)	<i>A. hydrophila</i> (n, %)
ENR (S)	13, %59,09	13, %56,5	2, %100	3, %100	1, %33	1, %100
ENR (O)	9, %40,9	10, %43,4	-	-	2, %66	-
ENR (R)	-	-	-	-	-	-
Meropenem Duyarlılığı						
MRP (S)	21, %95,4	15 %65,2	2, %100	3, %100	3, %100	1, %100
MRP (O)	1, %4,6	8 %34	-	-	-	-
MRP (R)	-	-	-	-	-	-
Antibiyotik Duyarlılık Tipleri						
ENR ve MRP (O)	1, %10	7, %36,8	-	-	-	-
ENR ve MRP (S)	9, %90	12, %63,1	2, %100	3, %100	2, %66	1, %100

**Tablo 4-3: İzolatların antibiyotik dirençleri ve prevalansları (ENR: Enrofloksasin; MRP: Meropenem, S: Duyarlı O: Orta duyarlı, R: Dirençli)**

## 5. TARTIŞMA

Hayvanat bahçesi gibi kapalı alanlarda ve eşlikçi hayvan olarak evlerde bakılan sürüngenlerin popülaritesi son yıllarda büyük ölçüde artmıştır. Evcil sürüngenlere artan talep, bu hayvanların organizmalarında doğal olarak bulundurduğu etkenler ile gelişebilen infeksiyöz hastalıkların ortaya çıkma riskini arttırmaktadır. Evcil hayvan olarak satılan bazı sürüngenler esaret altında üretilmişken, çoğunluğu doğadan yakalanmakta veya yabani yakalanmış ebeveynlerin yavruları olarak satılmaktadır. Ne yazık ki, evcil sürüngenleri başarılı bir şekilde beslemek için doğru yönetim ve yetiştirme uygulamalarından habersiz olan evcil hayvan sahiplerinin yüzdesi de büyüktür. Çoğu tür için beslenme ve barınma gereksinimleri bilinmemekte veya uygulanamamaktadır. Doğada sürüngenler nadiren kendi atıklarıyla veya sindirilmemiş yiyeceklerle temasa halindedirler. Ancak terrarium gibi sınırlı alanlarda atıklarla temas sürekli gerçekleşmektedir. Bu faktörler, sürüngenlerde bağışıklık sisteminin baskılanmasına ve dolayısıyla daha yüksek bir infeksiyon olasılığına neden olmaktadır (Wilkinson, 2015).

Sürüngenler doğada birçok farklı yaşam alanına uyum sağlamışlardır. Adaptasyon için farklı davranış şekilleri geliştirmişler ve diyetleri de çeşitlilik göstermiştir. Bu etkenler sonucunda sürüngenlerin doğal mikroflorasında bulunan mikroorganizmalar da çeşitlilik göstermektedir. Mikroflorada bulunan bazı etkenler patojen veya fırsatçı patojen olabilmekte, sürüngenler bu etkenleri vücutlarında asemptomatik olarak taşıyabilmekte ve insanlarda infeksiyonlara neden olabilecek bu etkenleri çevreye saçabilmektedirler (Ebani, 2017, Cushing ve diğ., 2011, Pawlak ve diğ., 2020).) Çocuklar, yaşlılar ve hamile kadınlar ve immun sistemi baskılanmış bireylerin, sürüngenlerle bulaşan zoonozlara karşı daha dikkatli olması gerektiğini vurgulamıştır (Ebani, 2017). Sürüngenlerle doğrudan veya dolaylı olarak temas eden herhangi bir kişi, zoonoz patojenler tarafından etkilenebilmektedir. Bu durum değerlendirildiğinde, hayvanat bahçesi personeli, hayvan bakıcıları ve veteriner hekimler sürüngenlerden bulaşan patojen etkenlerin sebep olduğu infeksiyonlar için en riskli grupları oluşturmaktadır. Ülkemizde kapalı alanlarda barındırılan sürüngenler ve özellikle yılanlarda antibiyotik direnci ile ilgili geniş kapsamlı bir tarama çalışması bulunmamaktadır. Bu durum günümüz ve gelecek için son derece önemli olan antibiyotik direnci konusunda bu alanda fikir sahibi olunamamasına neden olmaktadır. Bu tez çalışmasında kapalı alanlarda barındırılan

yılanlarda zoonoz infeksiyonlara sebep olabilen *Pseudomonas* ve *Aeromonas* türlerinin izolasyon oranlarının saptanması ve bu etkenlerin antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Ülkemizde kapalı alanlarda barındırılan yılanlarda *Pseudomonas* ve *Aeromonas* türlerinin saptanması ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak doğada serbest yaşayan yılanlarda yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Doğru ve diğ., (2021) Çanakkale’de bir sulak alandan yakaladıkları kum boası (*Eryx jaculus*) ve şeritli engerekte (*Montivipera xanthina*) mikrobiyota çalışması sonucunda bu yılanlardan *P. aeruginosa* ve *A. hydrophila* saptadıklarını bildirmişlerdir. Örneklemenin sadece iki yılanla sınırlı kalması ve bu yılanların farklı türlere ait olması prevalans hesaplaması için yeterli olmamıştır. Hacıoğlu ve Tosunoğlu (2014), Kavak deltasında bulunan amfibi ve sürüngenlerde gerçekleştirdikleri çalışmada, 5 adet küpeli su yılanında (*Natrix natrix*) *Pseudomonas* ve *Aeromonas* türlerini saptadıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmalarda incelenen örnek sayısı az olduğundan herhangi bir prevalans bildirilmemiştir.

Ebani ve diğ., (2008) 218 sağlıklı yılan, kertenkele ve kaplumbağanın dışkı örneklerini incelenmiş, *Pseudomonas spp.* izolasyon oranını %10, *Aeromonas spp.* için ise %6,4 olarak saptamışlardır. Aynı çalışmada, 16 yılandan bir adet *Pseudomonas spp.* izole ettiklerini bildirmişler ancak tür bazında identifikasyon yapmamışlardır. Foti ve diğ., (2013) sağlıklı olan ve bir fuarda eşlikçi hayvan olarak satılan 20 kertenkele ve 45 yılanda *P. aeruginosa* izolasyon oranlarını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda yılanlarda *P. aeruginosa* izolasyon oranını %78,3 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Kosta-Rika’da gerçekleştirilen bir çalışmada ise doğada serbest yaşayan yılanların oral ve kloakal mikrofloraları araştırmışlar ve 16 farklı yılandan toplam 120 kloakal sürüntü almışlardır. Örneklerden birer adet *P. putida* ve *P. fluorescens* izole edildiği bildirmiş ve izolasyon oranını %12,5 olarak saptamışlardır (Artavia-León ve diğ. 2014). Colinon ve diğ., (2010) Fransa ve Gine’de bulunan yılanlarda *P. aeruginosa* taşıyıcılığını araştırmışlar ve 105 yılandan 75 izolat elde etmişler ve izolasyon oranını %71 olarak bildirmişlerdir. Çalışmalarında hem kapalı alanlarda barındırılan hem de doğada serbest yaşayan yılanlar incelenmiş ve izolasyon oranları arasında farklılıklar saptamışlardır. Buna göre doğada yaşayan yılanlarda izolasyon oranı %12 olarak saptanırken, kapalı alanlarda barındırılan yılanlarda %87 olarak bildirmişlerdir. Yazarlar bu farklılığın yılanların insanlarla olan temas ile ilgili düşünmüşlerdir. Cushing ve diğ., (2014) veteriner mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen sürüngen örneklerinden gerçekleştirdikleri retrospektif çalışmada, yılan, kertenkele ve kaplumbağalarda *P. aeruginosa* izolasyon oranını

%8 olarak saptamışlardır. Ancak çalışmalarında yılanlar ayrı bir grup olarak belirtilmediğinden ve spesifik olarak yılanlarda *P. aeruginosa* izolasyon oranı araştırılmadığından bu konu ile ilgili veri paylaşmamışlardır. Pawlak ve diğ. (2020) doğada serbest olarak yaşayan küpeli su yılanlarından (*Natrix natrix*) kloakal sıvab örnekleri alarak Gram negatif mikroflorayı araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucu olarak 5 *P. putida* saptamışlar ve izolasyon oranını %11 olarak bildirmişlerdir.

Sala ve diğ., (2019) on beş farklı yılan üretim çiftliğinde barındırılan 419 yılanın kloakal sıvab örneği almışlar ve bu yılanlarda *P. aeruginosa* izolasyon oranını araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda izolasyon oranını %59,9 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Ancak çiftlikler arasında izolasyon oranlarında farklılıklarının olduğunu ve bu oranların büyük çiftliklerde %73, orta çiftliklerde %68,9 ve küçük çiftliklerde ise %54,4 olarak değiştiğini gözlemlemişlerdir. İzolasyon oranlarındaki değişiminin bakım koşulları ile değişebildiği fikrini öne sürerek, örnekleme yaptıkları çiftliklerin temizlik periyotlarına göre farklılık gösterebileceğini düşünmüşlerdir. Çiftliklerin temizlik periyotlarının değerlendirilmesi sonucunda, haftalık temizlik yapılan çiftliklerde izolasyon oranının %57,4, ayda iki kez yapılan çiftliklerde %66,1, aylık temizlik yapılan çiftliklerde ise %83,3 olduğunu saptamışlardır. Bu sonuçlar yaşam alanı temizliğinin, yılanlarda bakteriyel yükü ciddi ölçüde etkilediğini göstermektedir.

Bu tez çalışmasında kapalı alanlarda barındırılan çok sayıda yılan taranmış ve *P. aeruginosa*'nın incelediğimiz yılan türlerinde en sıklıkla izole edilen *Pseudomonas* türü olduğu gözlenmiştir. Bu bulgu daha önce yapılan çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (Colinon ve diğ., 2010, Foti ve diğ., 2013, Sala ve diğ., 2019). Bu nedenle *P. aeruginosa*, sağlıklı yılanların bağırsak mikrobiyotasının bir parçası olarak kabul edilebileceği düşünülmüştür.

Örnek alınan yılanlarda cinsiyet ve *Pseudomonas* türlerinin varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmaması ( $p= 0.971179$ ), aynı zamanda yaş ve *Pseudomonas* türleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmaması ( $p= 0,58028$ ) daha önce yapılan çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (Dipineto ve diğ., 2014, Sala ve diğ. 2019).

Bu çalışmada kapalı alanlarda barındırılan yılanlarda 22 *P. aeruginosa* (%22), 23 *P. putida* (%23) izole edilmiş, ayrıca tür bazında identifikasyonu yapılamayan 2 adet *Pseudomonas* spp (%2). izolasyonu da yapılmıştır. Toplam %47 olarak saptanan *Pseudomonas* izolasyon oranı, daha önce yapılan çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur. Literatürde yılanlarda yapılan çalışmaların oldukça az olması ve izolasyon oranlarının saptanmasına yönelik çalışmalarında kertenkele ve amfibi gibi familyaların da dahil edilmesi

ve bakteriyel yükün temizlik gibi çevre koşullarından etkilenmesi, kesin bir izolasyon oranı saptamayı oldukça zorlaştırmaktadır. Bunun yanında yılanların birçok türü bulunmakla birlikte, farklı türler farklı ortam koşullarına ve diyete sahip olabilmektedir. Bu sebeple değişen izolasyon oranlarını saptamak ve bunları tür bazında değerlendirmek için daha fazla çalışma yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Yılanlarda *Aeromonas* cinsine ait bakterilerin saptanmasını konu alan spesifik bir tarama çalışması bulunmamaktadır. *Aeromonas* türlerinin yılanlarda saptandığı ve yayımlandığı araştırmalar daha çok post mortem vaka raporlarını ve yılanlarda gerçekleştirilen mikrobiyoloji çalışmaları gibi nonspesifik çalışmaları kapsamaktadır. Bu durum yılanlarda *Aeromonas* izolasyon oranlarının sağlıklı olarak değerlendirilememesine neden olmakta ve bu konu ile ilgili daha fazla araştırma yapılması gerektiği düşünülmüştür.

Artavia-Leon ve diğ., (2014) Kosta Rika'da doğada serbest olarak yaşayan 16 yılandan oral ve kloakal sürüntü örnekleri almış ve bir *A. hydrophila* saptadıklarını bildirmişlerdir. Cushing ve diğ., (2011) hasta yılanlardan laboratuvara gönderilen 94 sıvab örneğinin %2,94'ünden *A. hydrophila* izole ettiklerini raporlamışlardır. Schmidt ve diğ., (2014) serbest yaşayan 56 yılandan aldıkları kloakal sıvab örneklerinde bir adet *Aeromonas* spp. saptadıklarını bildirirken, Lukac ve diğ., (2017) doğada serbest yaşayan 20 yılanın kloakal sürüntü örneklerinden 4 adet *A. hydrophila* izole ettiklerini ve izolasyon oranını %20 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Polonya'da doğada serbest olarak yaşayan 45 küpeli su yılanından (*Natrix natrix*) kloakal sürüntü örneklerinin alındığı bir çalışmada *A. hydrophila* izolasyon oranını %37,8, *A. veronii* izolasyon oranını ise %8,9 olarak bildirilmiştir (Pawlak ve diğ., 2020). İtalya'da Dipineto ve diğ., (2014) üretim çiftliklerinde ve kapalı alanlarda barındırılan 60 kraliyet pitonundan (*Python regius*) oral mukozalarından alınan örneklerde *A. hydrophila* izolasyon oranını %30 olarak saptamışlardır. Tayvan'da yabancı zehirli yılanların oral mikrobiyolojilerini araştırmak için gerçekleştirilen bir çalışmada 127 yılandan alınan örneklerden 20 *A. hydrophila* izolatu elde edildiği ve izolasyon oranının %15,7 olduğu bildirilmiştir (Chuang ve diğ., 2022). Kore'de bir hayvanat bahçesinde Jho ve diğ. (2011) bulunan 20 yılandan oral ve kloakal sıvab örnekleri almışlar ve oral ve kloakal sıvablardan birer adet *A. hydrophila* (%5) izole ettiklerini bildirmişlerdir. Resiere ve diğ. (2018) Martinik adasında doğal olarak yaşayan 26 zehirli yılandan oral sıvab örnekleri almış ve *A. hydrophila* izolasyon oranını %50 olarak saptadıklarını raporlamışlardır. Lam ve diğ. (2010) serbest yaşayan zehirli yılanlarda *A. hydrophila* izolasyon oranını %18, *A. caviae* oranını ise %3 olarak saptadıklarını belirtmişlerdir.

Diğer araştırmacılarından (Jho ve diğ., 2011; Lukač ve diğ., 2017; Schmidt ve diğ., 2014) farklı olarak Pawlak ve diğ. (2020), çalışmalarında kloakal mikroflorada %37,8 ile en yüksek izolasyon oranının saptandığı etken olarak *A. hydrophila*'yı bildirmişlerdir. Ayrıca Pawlak ve diğ., önceki çalışmalarla arasında yöntemsel olarak bir fark bulunduğunu ve bu durumun sonuçlarını etkilemiş olabileceğini düşündüğünü bildirmiştir. Serbest gezen yılanlarla gerçekleştirilen önceki çalışmalarda araştırmacılar yılanlardan yakalanır yakalanmaz örnek aldıklarını belirtmişler; Pawlak ve diğ. ise yılanlardan örnek alınmadan önce laboratuvarında beklettiklerini ve ortama uyumlanmalarını sağladıkları bu durumun mikrobiyotada gözledikleri farklılıkları oluşturabileceğini düşündüklerini bildirmişlerdir.

Yılanlarda yapılan bu çalışmalar sonucunda *Aeromonas* izolasyon oranı %2,94 ve %50 arasında değişim gösterdiği görülmektedir. Bu değişikliğin sebebi tıpkı *Pseudomonas* izolasyon oranlarında olduğu gibi doğada serbest yaşayan ve kapalı alanlarda barındırılan yılanlar arasındaki farklılık ve buna ek olarak kapalı alanlarda barındırılan yılanların bakım koşulları ve çevresel şartlarının getirdiği faktörler şeklinde düşünülebilir (Jho ve diğ., 2011; Artavia-Leon ve diğ., 2014; Lukač ve diğ., 2017; Pawlak ve diğ., 2020). Schmidt ve diğ. (2014) çevre ve mevsim şartlarının kurak dönem, ortam ısısı, sucul ortamda bulunma benzeri yaşam şartlarının kloakal mikroflora üzerine etkisi olduğunu ve *Aeromonas* türleri gibi sucul ortamları seven bakterilerin uygun koşullarda barınan sürüngenlerde izolasyon oranının daha yüksek olabileceğini bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında kapalı alanlarda barındırılan yılanlarda *Aeromonas* türlerinin izolasyon oranı %7 olarak saptanmıştır ve bu oran literatürle uyumlu bulunmuştur. Elde edilen izolatlar tür düzeyinde *A. hydrophila* %1, *A. veronii* %3, *A. caviae* %3 olarak saptanmıştır ve örnek alınan yılanların çoğunun sucul olmaması sebebiyle izolasyon oranının düşük olduğu düşünülmüştür.

Örnek alınan yılanlarda cinsiyet ve *Aeromonas* türlerinin varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmaması ( $p= 0.971179$ ), aynı zamanda yaş ve *Aeromonas* türleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmaması ( $p= 0,58028$ ) literatürde bulunan diğer çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (Dipineto ve diğ., 2014, Sala ve diğ., 2019)

Küresel olarak ciddi bir halk sağlığı problemi haline gelen antibiyotik direnci sadece beşeri tıpta değil; veteriner tıp, hayvancılık, tarım endüstrileri, gıda güvenliği, çevre ve su kaynakları için de önemi gün geçtikçe artmaktadır (Uddin ve diğ., 2021). Özellikle orta sosyo-ekonomik sınırlara sahip olan ülkelerde antibiyotik kullanımının gelişigüzel gerçekleştirilmesi, antibiyotik direnci ve çoklu direnci arttırmakta ve dirençli etkenler sebebiyle ölümlerin gelişmesine sebep olmaktadır (Allel ve diğ., 2023). Bunun yanı sıra Covid-19

pandemisi gibi küresel sağlık sorunlarının ve salgınların yaşandığı durumlarda antibiyotik kullanımı ciddi derecelerde artmış ve bu durum antibiyotik direnci önlemek için gerçekleştirilen çalışmaları sekteye uğratmıştır (Nandi ve diğ., 2023). Çoklu direnç profiline veya tam dirence sahip olan suşlar sebebiyle gelişen infeksiyonlar hastanede kalış sürelerini uzatmakta iken aynı zamanda ekonomik ve sosyal zararların yanında bu etkenler ile gelişen hastane infeksiyonlarının da sayıca artmasına sebep olmaktadır. Balasubramanian ve diğ. (2023) gerçekleştirdiği çalışmada 99 ülkenin raporları değerlendirilmiş ve 136 milyon insanın çoklu dirence sahip olan *Pseudomonas* spp., *E. coli*, *Acinetobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter* spp., etkenleri ile gelişen hastane kaynaklı infeksiyon yaşadığını bildirmiştir. Bu ciddi tablo karşısında Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) verilerine göre her yıl 700.000 insan hastane kaynaklı infeksiyonlar ve antibiyotik direnç sonucunda hayatını kaybetmektedir. WHO öngörülerine göre bu sayının 2050 yılında 10 milyona ulaşacağı düşünülmektedir (WHO, 2019).

Sürüngeçenler hem anatomik hem de ektotermik yapıları gereği antibiyotiklerin kullanılması ve başarılı antibiyoterapi çalışmaları sıcak kanlı hayvanlar ile farklılık göstermektedir (Eatwell, 2007). Yılanlarda uygulama dozları belirlenmiş ve klinik çalışmaları gerçekleştirilmiş antibiyotik preparatlarının kısıtlı olması, bu türler için gerçekleştirilecek antibiyotik tedavilerini zorlaştırmaktadır (Hyndman, 2017). İnfektif hastalıklarda yılanların da diğer sürüngeçen türlerinde olduğu gibi, hastalığın son safhalarında semptom gösteriyor oluşu antibiyotik tedavilerinden başarılı yanıtların alınamamasına sebep olmakta ve başarısız tedaviler antibiyotik direnç gelişimini ortaya çıkarmaktadır (Schumacher 2003).

Ülkemizde yılanların eşlikçi hayvan olarak barındırılması yasal değildir. Bu nedenle yılanlar hayvanat bahçeleri gibi kapalı ortamlarda, kendileri için düzenlenmiş olan koşullarda bakılırlar. Yılanlarda infektif hastalıkların tedavileri son derece zor olduğundan, hayvanat bahçeleri koruyucu hekimlik çalışmalarına odaklanmayı tercih eder. Bu durum hastalıkların önüne geçmek, hayvan kayıplarını azaltmak için uygulanacak en optimal stratejidir. Bu strateji ile aynı zamanda dirençli bakteriyel suşlarının gelişmesinin önüne geçilmektedir.

Literatürde yılanlardan izole edilen *Pseudomonas* ve *Aeromonas* izolatlarının antibiyotik direnç çalışmaları oldukça sınırlıdır. Yapılan tarama çalışmaları ve vaka raporlarında enrofloksasine karşı değişen oranlarda direnç saptanmıştır (Cuhsing ve diğ., 2011, Foti ve diğ., 2013, Dipineto ve diğ., 2014., Grego ve diğ., 2017, Sala ve diğ., 2019, Tang ve diğ., 2020, Marques ve diğ., 2023).

Sala ve diğ. (2019) kapalı alanlarda barındırılan sağlıklı yılanlardan elde ettikleri *P. aeruginosa* izolatlarında enrofloksasin direncini %10 olarak bildirmişlerdir. Cushing ve diğ.(2011) tedavi uygulanan hasta yılanlarda bulunan *P. aeruginosa* izolatlarında enrofloksasin direncini %82 olarak saptamışlardır. Yazarlar dirençli izolatların yüksek oranda olmasına dikkat çekmiş ve bu durumun örneklerin daha önce tedavi görmüş ve hasta hayvanlardan alınmış olması ile ilişkilendirmişlerdir. Foti ve diğ. (2013) *P. aeruginosa* izolatlarında enrofloksasine karşı %28,3 dirençli, %19,6 orta duyarlı ve %52,2 duyarlı olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. İzolatlarda saptadıkları direnci yılanlara geniş spektrumlu antibiyotiklerle uygulanan ampirik tedaviler ile ilişkilendirmişlerdir. Napoli'de Dipineto ve diğ. (2014) kraliyet pitonlarından (*Python regius*) alınan oral sıvablardan elde ettikleri 42 *P. aeruginosa* ve 9 *P. putida* izolatının hepsini enrofloksasine duyarlı olarak saptamışlardır. Grego ve diğ. (2017) stomatit saptanan üç kırmızı kuyruklu boa yılanından (*Boa constrictor*) iki *P. aeruginosa* izolatı saptamışlar ve bu izolatların enrofloksasine karşı dirençli olduklarını belirlemişlerdir.

Yılanlarda *Aeromonas* izolatlarının enrofloksasin duyarlılıkları ile ilgili spesifik bir çalışma bulunmamaktadır. *Aeromonas* izolatlarının duyarlılık profilleri genel olarak diğer etkenlerle birlikte yapılan çalışmalarda raporlanmıştır. Dipineto ve diğ. (2014) kraliyet pitonlarından izole ettikleri *A. hydrophila* izolatlarının enrofloksasin direncini %35 dirençli, %65 duyarlı olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Cushing ve diğ. (2011) ise enrofloksasine karşı direnci *A. hydrophila* izolatlarında %17 olarak saptamıştır. Artavia-Leon ve diğ. (2017) serbest yaşayan yılanlardan elde ettikleri bir *A. hydrophila* izolatında enrofloksasin duyarlılığını incelememiş ancak enrofloksasin ile aynı grupta olan moksifloksasin, marbofloksasin ve siprofloksasine karşı duyarlı olduğunu saptamışlardır. Benzer şekilde Lam ve diğ. (2010) serbest yaşayan yılanlardan alınan oral sıvablardan elde ettikleri *A. hydrophila* izolatlarının levofloksasine karşı %100 duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. Ebani ve diğ. (2008) yılan, kaplumbağa ve kertenkelelerden elde ettikleri 14 *A. hydrophila* izolatının enrofloksasine karşı %27,2 dirençli, %85,7 orta duyarlı ve %7,1 duyarlı olarak bildirmişlerdir.

Bu çalışmada *Pseudomonas* ve *Aeromonas* izolatlarının hiçbirinde enrofloksasin direnci saptanmamıştır. İzole edilen *P. aeruginosa* izolatlarının %40,9'u orta duyarlı, %59'u duyarlı olarak saptanmıştır. *P. putida* izolatları ise enrofloksasine %43,4'ü orta duyarlı, %56,5'i ise duyarlı olarak saptanmıştır. İki *Pseudomonas* spp. izolatı ise enrofloksasine duyarlı bulunmuştur. *A. caviae* izolatlarının 1 (%33.3)'i duyarlı, 2 (%66.6)'si orta duyarlı; *A. veronii* izolatlarının 3 (%100)'ü ve *A. hydrophila* izolatlarının 1 (%100)'i duyarlı olarak

saptanmıştır. Literatürde bulunan antibiyotik duyarlılık araştırmalarına bakıldığında yılanlarda *Pseudomonas* ve *Aeromonas* izolatlarının enrofloksasine direnci değişken olarak görülmekte ve direncin multifaktöriyel olarak değiştiği gözlenmektedir. İzolatların elde edildiği yılanların doğada veya kapalı alanlarda yaşıyor olmaları, örneklerin sağlıklı veya hasta/tedavi gören yılanlardan elde edilmesi ve yılanların bakım ve hijyen koşullarına göre antibiyotik direnç profilleri farklılık göstermiştir. Bu çalışmada izolatların bir kısmının ise enrofloksasine orta duyarlı olarak saptanmış olması yılanlarda görülen solunum sistemi ve yumuşak doku infeksiyonlarında en sık kullanılan etken maddenin enrofloksasin olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Enrofloksasine karşı dirençli izolatların saptanmamış olması, kloakal sıvab örneklerinin koruyucu hekimlik çalışmalarını gerçekleştiren ve ampirik antibiyotik tedavileri uygulamayan hayvanat bahçelerinden alınması ile ilişkilendirilmiştir.

Meropenem ve diğer karbapenem grubu antibiyotiklerin uygulama yolu nedeniyle yılanlar ve diğer sürüngenlerde infeksiyon tedavilerinde oldukça sınırlı olarak kullanılırlar. Karbapenem grubu antibiyotikler oral yolla alındıklarında emilimleri gerçekleşmemekte ve özellikle meropenem intravenöz yol ile kullanıldığında efektif olmaktadır (Craig, 1997). Sürüngenlerin anatomik yapıları gereği intravenöz uygulamalar tedavilerde ilk tercih olarak değerlendirilmemektedir (Sykes ve Greenacre 2006). Tüm bu sebeplerden dolayı literatürde sürüngenlerden elde edilen izolatların meropenem duyarlılık çalışmaları sıklıkla görülmemektedir. Aynı zamanda meropenem beşeri tıpta karbapenem antibiyotik sınıfının kritik öneme sahip bir üyesi olarak değerlendirilmektedir. Meropenem, direnç gelişimini önlemek amacıyla insan tıbbında dirençli olmayan izolatlarda kesinlikle kullanılmayan, sadece çoklu veya tam dirençli izolatlarla gelişen infeksiyonlarda tercih edilen bir antibiyotiktir. Dünya çapında hastanelerde karbapenemlerin artan kullanımı, hem klinik hem de toplum ortamlarında dirençli *Pseudomonas* spp. klonlarının ortaya çıkmasını sağlamaktadır. Meropenemin yaban hayatı, çevre bu antibiyotiğin kullanılmadığı hayvanlarda saptanması, insanlarda gelişen dirençli suşların çevreye saçılabilirdiğini düşündürmektedir.

Yılanlar için tasarlanmış nadir meropenem araştırmasını gerçekleştiren Lui ve diğ. (2017), Tayvan'da kapalı alanlarda barındırılan ve doğada serbest olarak yaşayan yılanlardan 58 adet *P. aeruginosa* izolatu elde etmişlerdir. Bu izolatların meropeneme karşı 57 (%98) izolatu duyarlı, 1 (%2) izolatu ise orta duyarlı olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Fenotipik olarak meropeneme orta duyarlı saptanan bu izolatu genotipik direnci ile ilgili çalışma yapamadıklarını ve bu konu ile ilgili literatürde eksiklikler bulunduğunu belirtmişlerdir. İngiltere'de Rodrigues ve diğ. (2021) sulak alanlarda bulunan yabancı kuşların dışkılarından

gerçekleştirdiği çalışmalarında 24 *Pseudomonas* spp. izolatından 1 (%4)'ünün meropenem dirençli olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar, yabani kuşlarda meropenem direncinin yaygın olmadığını ancak dirençli izolatın saptanmasının dikkat çekici olduğunu bildirmişlerdir.

İspanya'da Ruiz-Roldan ve diğ. (2020) doğada ve çiftliklerde bulunan 704 hayvandan örnekleme yaparak 133 *Pseudomonas* spp. izolatı elde etmişler ve bu izolatlardan %12'sinin meropenem dirençli olduklarını saptamışlardır. *Pseudomonas* etkenlerinin birçok tür hayvanda yaygın olarak bulunduğunu ve meropenem dirençli klonlarının çevreye saçılmasının insan sağlığını etkileyebileceğini belirtmişlerdir. Torres ve diğ. (2022) Portekiz'de yabani avlanan çift tırnaklılarda karbapenem dirençli *Pseudomonas* türlerini araştırmışlar ve kızıl geyiklerde (*Cervus elaphus*) bir meropenem ve doripenem orta dirençli izolatın bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu hayvanların insan tüketimine sunulduğunu ve karbapenem dirençli izolatın insanlar için ciddi bir risk faktörü olduğuna dikkat çekmişlerdir.

Guz ve diğ. (2021) Polonya'da gerçekleştirdikleri çalışmada, su kaynakları ve göletlerde bulunan su kaplumbağalarından (*Emys orbicularis*) aldıkları örneklerden 32 *Aeromonas* izole etmişlerdir. Bu izolatlardan %14,3'ünün meropenem karşı orta duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Wimalasena ve diğ. (2017) yılında eşlikçi hayvan olarak satılan su kaplumbağalarından 102 *Aeromonas* izole etmişler ve tüm izolatların meropenem duyarlı olduğunu saptamışlardır. Kore'de Lim ve diğ. (2019) yabani koypularda (*Myocaster coypu*) *Aeromonas* varlığını ve karbapenem duyarlılık profillerini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda bir *Aeromonas* izolatının meropenem dirençli olduğunu saptamışlar ve meropenem direncinin insan ve hayvan sağlığına etkileri konusuna dikkat çekmişlerdir.

Bu çalışmada 8 (%34,7) *P. putida* ve 1 (%4,5) *P. aeruginosa* izolatı meropenem orta duyarlı olarak saptanmıştır. Orta duyarlı izolatların toplam izolatlara oranı %19 olarak saptanmıştır. Meropenem orta duyarlı olan bu izolatların aynı hayvanat bahçesinde barındırılan yılanlardan elde edilmiş olması da dikkat çekici bulunmuştur. *P. putida* izolatlarında saptanan yüksek oranın, orta duyarlı olan bir klon tarafından farklı yılanlara insan eliyle taşınması sonucu gerçekleştiği düşünülmüştür. Ancak bu hipotezi değerlendirmek için gerekli çalışmalar yapılamamıştır. Aynı zamanda yılanlarda infeksiyon tedavilerinde tercih edilmeyen meropenem karşı orta duyarlılık saptanmış olması, klon olduğundan şüphelenilen bu izolatın insan tarafından yılanlara aktarılmış olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışmada elde edilen *Pseudomonas* ve *Aeromonas* izolatlarında daha önceki çalışmalarda gözlenen antibiyotik direnci prevalanslarının saptanmamış olmaması ilgi çekicidir. Bu durumun örneklerin toplandığı sürüngenlerin birçok jenerasyon boyunca insan

elinde yetişmesi, pelet yem veya sadece yetiştirilmiş canlı fare ile beslenen hayvanlar olması sonucuna bağlanmıştır. Bakıcıları dışında herhangi bir insan kaynaklı bulaşmanın jenerasyonlardır gerçekleşmediği, terraryumlarda bireysel olarak barınan ve terraryum temizliği düzenli ve etkili gerçekleştirilen sürüngenlerden örnek toplanmıştır. Bu etkiler işığında izolatlarda önceki çalışmalarda gözlenen direnç prevalanslarına sahip olmaması beklenen bir bulgudur.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Fırsatçı patojenlere ilişkin yukarıdaki bulgular, kapalı alanlarda veya eşlikçi hayvan olarak barındırılan sürüngenlerde bulunan bakterileri, en önemlisi de aynı ortamda yaşayan diğer hayvanların veya insanların bakış açısından izlemenin önemini vurgulamaktadır. Ayrıca, bu verilerin doğal ekosistemlerde su ve gıda kontaminasyonu açısından bakıldığında epidemiyolojik önemi de olabilmektedir.

Yılan, kertenkele ve kaplumbağa türlerinden izole edilen *P. aeruginosa* izolatlarında daha önceki çalışmalarda çoklu ilaç direnci bildirilmiştir (Colinon ve diğ., 2010; Ebani, 2017). Sonuç olarak sürüngenler, insanlara olası bir bulaşma riskiyle dirençli bakterilerin taşıyıcıları olabilmektedirler. İnsanlar, yılanların saçtığı etkenleri doğrudan temas yoluyla veya ısırık yaraları veya sıyrıklarla alabilirler. Kapalı alanlarda barındırılan veya eşlikçi olarak bakılan yılanlar ve sahipleri arasında *P. aeruginosa* izolatlarının çapraz kontaminasyonuna ilişkin yayınlanmış raporlar vardır (Colinon ve diğ., 2010).

Veteriner hekimler tarafından sürüngenlerin tedavisi için ampirik geniş spektrumlu antibiyotik tedavisinin uygulanması, bu tür dirençli suşların gelişimini destekleyebilmekte ve tedavinin tamamlanamaması ile sonuçlanabilmektedir. Bu riski en aza indirmek için bakteri kültürü ve antimikrobiyal duyarlılık testleri şiddetle tavsiye edilmektedir. Günümüzde doğada bulunan, kapalı alanlarda barındırılan veya eşlikçi hayvan olarak bakılan yılanlar ile *Pseudomonas* ve *Aeromonas* türlerinin bu hayvanlarla ilişkisi konusunda veri eksikliği bulunmaktadır. Bu nedenle potansiyel zoonoz önemi sebebiyle, gerçekleştirilen çalışmaların bulgularının klinik önemine ilişkin bilgi birikimini arttırmak adına ek çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Ek olarak, insanların maruz kalma olasılığını en aza indirmek için sürüngenler dahil tüm hayvanlarla çalışırken sıkı hijyen standartları benimsenmelidir. *Aeromonas* ve *Pseudomonas* türleri hayvan hastalığı ve zoonoz infeksiyon için önemli bir risk faktörü olarak değerlendirilip eşlikçi olarak barındırılan sürüngenler infeksiyon gelişme riskine karşı sürekli gözetimi garanti altında tutulmalıdır.

## KAYNAKLAR

Abdelaziz, A. A., Kamer, A. M. A., Al-Monofy, K. B., & Al-Madboly, L. A. (2023). *Pseudomonas aeruginosa*'s greenish-blue pigment pyocyanin: its production and biological activities. *Microbial Cell Factories*, 22(1), 110.

Abrahamian, F. M., & Goldstein, E. J. C. (2011). Microbiology of animal bite wound infections. *Clinical microbiology reviews*, 24(2), 231-246.

Allel, K., Day, L., Hamilton, A., Lin, L., Furuya-Kanamori, L., Moore, C. E., ... & Yakob, L. (2023). Global antimicrobial-resistance drivers: an ecological country-level study at the human–animal interface. *The Lancet Planetary Health*, 7(4), e291-e303.

Altwegg, M. 1990. Taxonomy and epidemiology of *Aeromonas* species: the value of new typing methods, Thesis, Univeristy of Zurich.

Angel, M. F., Zhang, F. E. N. G., Jones, M. A. T. T. H. E. W., Henderson, J. A. M. E. S., & Chapman, S. W. (2002). Necrotizing fasciitis of the upper extremity resulting from a water moccasin bite. *Southern medical journal*, 95(9), 1090-1095.

Anonim, 2019, *Türkiye Tür Listeleri*, [www.bilimteknik.tubitak.gov.tr](http://www.bilimteknik.tubitak.gov.tr), [Ziyaret tarihi: 09.12.2023].

Anonim, 2023, Genus *Pseudomonas*, [www.bacterio.net/genus/pseudomonas](http://www.bacterio.net/genus/pseudomonas) [Ziyaret tarihi: 06.12.2023].

Artavia-León, A., Romero-Guerrero, A., Sancho-Blanco, C., Rojas, N., & Umaña-Castro, R. (2017). Diversity of Aerobic Bacteria Isolated from Oral and Cloacal Cavities from Free-Living Snakes Species in Costa Rica Rainforest. *International Scholarly Research Notices*, 2017, 1-9.

Balasubramanian, R., Van Boeckel, T. P., Carmeli, Y., Cosgrove, S., & Laxminarayan, R. (2023). Global incidence in hospital-associated infections resistant to antibiotics: An analysis of point prevalence surveys from 99 countries. *Plos Medicine*, 20(6), e1004178.

Barazorda Romero, S., Čížek, A., Masaříková, M., & Knotek, Z. (2015). Choanal and cloacal aerobic bacterial flora in captive green iguanas: a comparative analysis. *Acta Veterinaria Brno*, 84(1), 19-24.

Barrows, M., Killick, R., Saunders, R., Tahas, S., Day, C., Wyatt, K., ... & Cook, J. (2017). Retrospective analysis of elective health examinations as preventative medicine interventions at a zoological collection. *Journal of Zoo and Aquarium Research*, 5(1), 25-32.

- Beaz-Hidalgo, R., & Figueras, M. J. (2013). *Aeromonas* spp. whole genomes and virulence factors implicated in fish disease. *Journal of fish diseases*, 36(4), 371-388.
- Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., & Larsson, D. G. J. (2018). Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS microbiology reviews*, 42(1), 053.
- Blaylock, R. (2001). Normal oral bacterial flora from some southern African snakes. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 68, 175-182.
- Brenden, R., & Janda, J. M. (1987). Detection, quantitation and stability of the  $\beta$  haemolysin of *Aeromonas* spp. *Journal of medical microbiology*, 24(3), 247-251.
- Buckley, J. T., Halasa, L. N., Lund, K. D., & MacIntyre, S. (1981). Purification and some properties of the hemolytic toxin aerolysin. *Canadian journal of biochemistry*, 59(6), 430-435.
- Carnahan, A. M., & Joseph, S. W. (1993). Systematic assessment of geographically and clinically diverse aeromonads. *Systematic and Applied Microbiology*, 16(1), 72-84.
- Chakraborty, T., Huhle, B., Hof, H., Bergbauer, H., & Goebel, W. (1987). Marker exchange mutagenesis of the aerolysin determinant in *Aeromonas hydrophila* demonstrates the role of aerolysin in *A. hydrophila* associated systemic infections. *Infection and Immunity*, 55(9), 2274-2280.
- Chinnadurai, S., & DeVoe R. S. (2009). Selected infectious diseases of reptiles. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 12(3), 583-596.
- Chuang, P. C., Lin, W. H., Chen, Y. C., Chien, C. C., Chiu, I. M., & Tsai, T. S. (2022). Oral bacteria and their antibiotic susceptibilities in Taiwanese venomous snakes. *Microorganisms*, 10(5), 951.
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 33rd ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2023
- Colinon, C., Jocktane, D., Brothier, E., Rossolini, G. M., Cournoyer, B., & Nazaret, S. (2010). Genetic analyses of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from healthy captive snakes: evidence of high inter- and intrasite dissemination and occurrence of antibiotic resistance genes. *Environmental Microbiology*, 12(3), 716-729.
- Corrente, M., Sangiorgio, G., Grandolfo, E., Bodnar, L., Catella, C., Trotta, A., ... & Buonavoglia, D. (2017). Risk for zoonotic *Salmonella* transmission from pet reptiles: A survey on knowledge, attitudes and practices of reptile-owners related to reptile husbandry. *Preventive veterinary medicine*, 146, 73-78.
- Craig, W. A. (1997). The pharmacology of meropenem, a new carbapenem antibiotic. *Clinical Infectious Diseases*, 24(Supplement\_2), S266-S275.

- Cui, H., Hao, S., & Arous, E. (2007). A distinct cause of necrotizing fasciitis: *Aeromonas veronii* biovar *sobria*. *Surgical infections*, 8(5), 523-528.
- Cushing, A., Pinborough, M., & Stanford, M. (2011). Review of bacterial and fungal culture and sensitivity results from reptilian samples submitted to a UK laboratory. *Veterinary Record*, 169(15), 390-390.
- Dipineto, L., Russo, T. P., Calabria, M., De Rosa, L., Capasso, M., Menna, L. F., Borrelli, L., & Fioretti, A. (2014). Oral flora of *Python regius* kept as pets. *Letters in applied microbiology*, 58(5), 462-465.
- Doğru, N. H., Gül, Ç., & Tosunoğlu, M. (2021). First record of the two snakes microbiota from Çanakkale (Turkey). *Mathematics and Natural Sciences*, 21.
- Draper, C. S., Walker, R. D., & Lawler, H. E. (1981). Patterns of oral bacterial infection in captive snakes. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 179(11), 1223-1226.
- Ebani, V. V., Bertelloni, F., Pinzauti, P., & Cerri, D. (2012). Seroprevalence of *Leptospira* spp. and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Italian horses. *Ann Agric Environ Med*, 19(2), 237-240.
- Ebani, V. V. (2017). Domestic reptiles as source of zoonotic bacteria: A mini review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(8), 723-728.
- Ebani, V., Fratini, F., Ampola, M., Rizzo, E., Cerri, D., & Andreani, E. (2008). *Pseudomonas* and *Aeromonas* isolates from domestic reptiles and study of their antimicrobial in vitro sensitivity. *Veterinary Research Communications*, 32(SUPPL. 1), 195-198.
- Edberg, S. C., Browne, F. A., & Allen, M. J. (2007). Issues for microbial regulation: *Aeromonas* as a model. *Critical reviews in microbiology*, 33(1), 89-100.
- Eatwell, K. (2007). Antibiotic therapy in reptiles. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 17(2), 42-49.
- Erkinharju, T., Dalmo, R. A., Hansen, M., & Seternes, T. (2021). Cleaner fish in aquaculture: Review on diseases and vaccination. *Reviews in aquaculture*, 13(1), 189-237.
- Estevão-Costa, M. I., Sanz-Soler, R., Johanningmeier, B., & Eble, J. A. (2018). Snake venom components in medicine: From the symbolic rod of Asclepius to tangible medical research and application. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 104, 94-113.
- Evans, J., Lunnis, P. J., Gaunt, P. N., & Hanley, D. J. (1990). A case of septicaemia due to *Aeromonas hydrophila*. *British journal of plastic surgery*, 43(3), 371-372.

Fenollar, F., Fournier, P. E., & Legre, R. (1999). Unusual case of *Aeromonas sobria* cellulitis associated with the use of leeches. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 18(1), 72.

Figueras, M. J., Latif-Eugenín, F., Ballester, F., Pujol, I., Tena, D., Berg, K., ... & Liles, M. R. (2017). 'Aeromonas intestinalis' and 'Aeromonas enterica' isolated from human faeces, 'Aeromonas crassostreae' from oyster and 'Aeromonas aquatilis' isolated from lake water represent novel species. *New microbes and new infections*, 15, 74-76.

Finlayson, E. A., & Brown, P. D. (2011). Comparison of antibiotic resistance and virulence factors in pigmented and non-pigmented *Pseudomonas aeruginosa*. *West Indian Medical Journal*, 60(1), 24-32.

Frimmersdorf, E., Horatzek, S., Pelnikevich, A., Wiehlmann, L., & Schomburg, D. (2010). How *Pseudomonas aeruginosa* adapts to various environments: a metabolomic approach. *Environmental microbiology*, 12(6), 1734-1747.

Gartner, G. E. A., & Greene, H. W. (2008). Adaptation in the African egg-eating snake: a comparative approach to a classic study in evolutionary functional morphology. *Journal of Zoology*, 275(4), 368-374.

GC Rodrigues, J., Nair, H. P., O'Kane, C., & Walker, C. A. (2021). Prevalence of multidrug resistance in *Pseudomonas* spp. isolated from wild bird feces in an urban aquatic environment. *Ecology and Evolution*, 11(20), 14303-14311.

Gilbert, M. J., Kik, M., Timmerman, A. J., Severs, T. T., Kusters, J. G., Duim, B., & Wagenaar, J. A. (2014). Occurrence, Diversity, and Host Association of Intestinal *Campylobacter*, *Arcobacter*, and *Helicobacter* in Reptiles. *PLOS ONE*, 9(7), e101599.

Gonçalves Pessoa, R. B., de Oliveira, W. F., Marques, D. S. C., dos Santos Correia, M. T., de Carvalho, E. V. M. M., & Coelho, L. C. B. B. (2019). The genus *Aeromonas*: A general approach. *Microbial Pathogenesis*, 130, 81-94.

Govan, J. R., & Deretic, V. (1996). Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. *Microbiological reviews*, 60(3), 539-574.

Grego, K.F., Marcelo P. N., Marcos P. V. C., Terezinha K., Fabio C. P., José L. C., Sávio S. S., Martha S. R. and Fábio P. S. "Antimicrobial photodynamic therapy for infectious stomatitis in snakes: Clinical views and microbiological findings." *Photodiagnosis and photodynamic therapy* 20 (2017): 196-200.

Griffin, P. J., Snieszko, S. F., & Friddle, S. B. (1953). A more comprehensive description of *Bacterium salmonicida*. *Transactions of the American Fisheries Society*, 82(1), 129-138.

Guz, L., Nowakiewicz, A., Puk, K., Zięba, P., Gnat, S., & Matuszewski, Ł. (2021). Virulence and Antimicrobial Resistance Pattern of *Aeromonas* spp. Colonizing

- European Pond Turtles *Emys orbicularis* and Their Natural Environment. First Study from Poland. *Animals*, 11(10), 2772.
- Hacioglu, N., & Tosunoglu, M. (2014). Determination of antimicrobial and heavy metal resistance profiles of some bacteria isolated from aquatic amphibian and reptile species. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186, 407-413.
- Hossain, S., & Heo, G. J. (2021). Ornamental fish: a potential source of pathogenic and multidrug-resistant motile *Aeromonas* spp. *Letters in Applied Microbiology*, 72(1), 2-12.
- Howard, S. P., & Buckley, J. T. (1985). Activation of the hole-forming toxin aerolysin by extracellular processing. *Journal of Bacteriology*, 163(1), 336-340.
- Hyndman, T. (2017). Reptile pharmacology. *Reptile Medicine and Surgery in Clinical Practice*, 175-184.
- Igbinsosa, I. H., Igumbor, E. U., Aghdasi, F., Tom, M., & Okoh, A. I. (2012). Emerging *Aeromonas* species infections and their significance in public health. *The Scientific World Journal*, 2012.
- Jajere, S. M. (2019). A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and adaptation and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Veterinary World*, 12(4), 504-521.
- Janda, J. M., & Abbott, S. L. (1996). The ecology of mesophilic *Aeromonas* in the aquatic environment. *The Genus Aeromonas*. John Wiley & Sons. Chichester New York Brisbane Toronto Singapore, 151-173.
- Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2010). The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clinical microbiology reviews*, 23(1), 35-73.
- Janda, J. M., Guthertz, L. S., Kokka, R. P., & Shimada, T. (1994). *Aeromonas* species in septicemia: laboratory characteristics and clinical observations. *Clinical Infectious Diseases*, 19(1), 77-83.
- Jho, Y., Park, D., Lee, J., & Lyoo, Y. (2011). Aerobic bacteria from oral cavities and cloaca of snakes in a petting zoo. *Korean Journal of Veterinary Research*, 51(3), 243-247.
- Jorge, M. T., Nishioka, S. D. A., De Oliveira, R. B., Ribeiro, L. A., & Silveira, P. V. P. (1998). *Aeromonas hydrophila* soft-tissue infection as a complication of snake bite: report of three cases. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 92(2), 213-217.
- Kariyama, R., Mitsuhata, R., Chow, J. W., Clewell, D. B., & Kumon, H. (2000). Simple and reliable multiplex PCR assay for surveillance isolates of vancomycin-resistant enterococci. *Journal of clinical microbiology*, 38(8), 3092-3095.

- Kwon, J., Kim, S. G., Kim, S. W., Yun, S., Kim, H. J., Giri, S. S., ... & Park, S. C. (2019). A case of mortality caused by *Aeromonas hydrophila* in wild-caught red-eyed crocodile skinks (*Tribolonotus gracilis*). *Veterinary Sciences*, 7(1), 4.
- Lam, K. K., Crow, P., Ng, K. H. L., Shek, K. C., Fung, H. T., Ades, G., Grioni, A., Tan, K. S., Yip, K. T., & Lung, D. C. (2011). A cross-sectional survey of snake oral bacterial flora from Hong Kong, SAR, China. *Emergency Medicine Journal*, 28(2), 107-114.
- Lee, C. C., Chi, C. H., Lee, N. Y., Lee, H. C., Chen, C. L., Chen, P. L., ... & Ko, W. C. (2008). Necrotizing fasciitis in patients with liver cirrhosis: predominance of monomicrobial Gram-negative bacillary infections. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 62(2), 219-225.
- Lewbart, G. A. (2001, January). Bacteria and ornamental fish. In *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* (Vol. 10, No. 1, pp. 48-56). WB Saunders.
- Liu, D. (2015). *Aeromonas*. In *Molecular Medical Microbiology* (pp. 1099-1110). Academic Press.
- Lim, S. R., Lee, D. H., Park, S. Y., Lee, S., Kim, H. Y., Lee, M. S., ... & Kim, J. H. (2019). Wild nutria (*Myocastor coypus*) is a potential reservoir of carbapenem-resistant and zoonotic *Aeromonas* spp. in Korea. *Microorganisms*, 7(8), 224.
- Lowry, R., Balboa, S., Parker, J. L., & Shaw, J. G. (2014). *Aeromonas* flagella and colonisation mechanisms. *Advances in microbial physiology*, 65, 203-256.
- Lukač, M., Horvatek Tomić, D., Mandac, Z., Mihoković, S., Prukner-Radovčić, E., Horvatek Tomić, D., Mandac, Z., Mihoković, S., & Prukner, E. (2017). Oral and cloacal aerobic bacterial and fungal flora of free-living four-lined snakes (*Elaphe quatuorlineata*) from Croatia. *Veterinarski Arhiv*, 87(3), 351-361.
- Marin, C., Lorenzo-Rebenaque, L., Laso, O., Villora-Gonzalez, J., & Vega, S. (2021). Pet reptiles: a potential source of transmission of multidrug-resistant *Salmonella*. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 613718.
- Martin-Carnahan, A., & Joseph, S. W. (2005). *Aeromonadales* ord. nov. In *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology* (pp. 556-587). Springer, Boston, MA.
- Mendoza-Roldan, J. A., Mendoza-Roldan, M. A., & Otranto, D. (2021). Reptile vector-borne diseases of zoonotic concern. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 15, 132-142.
- Mazumder, A., Choudhury, H., Dey, A., & Sarma, D. (2021). Isolation and characterization of two virulent *Aeromonads* associated with haemorrhagic septicaemia and tail-rot disease in farmed climbing perch *Anabas testudineus*. *Scientific reports*, 11(1), 5826.

- Mukhopadhyay, C., Chawla, K., Sharma, Y., & Bairy, I. (2008). Emerging extra-intestinal infections with *Aeromonas hydrophila* in coastal region of southern Karnataka. *Journal of postgraduate medicine*, 54(3), 199.
- Moore, Edward RB, Brian J. Tindall, Vitor AP Martins Dos Santos, Dietmar H. Pieper, Juan-Luis Ramos, and Norberto J. Palleroni. "Nonmedical: *Pseudomonas*." *The prokaryotes* 6 (2006): 646-703.
- Mukhopadhyay, C., Chawla, K., Sharma, Y., & Bairy, I. (2008). Emerging extra-intestinal infections with *Aeromonas hydrophila* in coastal region of southern Karnataka. *Journal of postgraduate medicine*, 54(3), 199.
- Nandi, A., Pecetta, S., & Bloom, D. E. (2023). Global antibiotic use during the COVID-19 pandemic: Analysis of pharmaceutical sales data from 71 countries, 2020–2022. *Eclinicalmedicine*, 57.
- Nankivell, J. H., Goiran, C., Hourston, M., Shine, R., Rasmussen, A. R., Thomson, V. A., & Sanders, K. L. (2020). A new species of turtle-headed sea snake (Emydocephalus: *Elapidae*) endemic to Western Australia. *Zootaxa*, 4758(1), 141-156.
- Novik, G., Savich, V., & Kiseleva, E. (2015). An insight into beneficial *Pseudomonas* bacteria. *Microbiology in agriculture and human health*, 1(5), 73-105.
- Oliveira, A. L., Viegas, M. F., da Silva, S. L., Soares, A. M., Ramos, M. J., & Fernandes, P. A. (2022). The chemistry of snake venom and its medicinal potential. *Nature Reviews Chemistry*, 6(7), 451-469.
- Oppenheim, A., Arnold, D., Arnold, D., & Yamamoto, K. (2015). *Ancient Egypt Transformed: The Middle Kingdom*. Metropolitan Museum of Art.
- Orozova, P., Sirakov, I., Petkov, I., Crumlish, M., & Austin, B. (2012). Recovery of *Aeromonas hydrophila* associated with bacteraemia in captive snakes. *FEMS Microbiology Letters*, 334(1), 22-26.
- Ottaviani, D., Parlani, C., Citterio, B., Masini, L., Leoni, F., Canonico, C., ... & Pianetti, A. (2011). Putative virulence properties of *Aeromonas* strains isolated from food, environmental and clinical sources in Italy: a comparative study. *International journal of food microbiology*, 144(3), 538-545.
- Owlia, P., Nosrati, R., Alaghebandan, R., & Lari, A. R. (2014). Antimicrobial susceptibility differences among mucoid and non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *GMS hygiene and infection control*, 9(2).
- Öztürk, D., Adanır, R., & Türütoğlu, H. (2007). Isolation and antibiotic susceptibility of *Aeromonas hydrophila* in a carp (*Cyprinus carpio*) hatchery farm.

- Palleroni, N. J. (1981). Introduction to the family *Pseudomonadaceae*. *The prokaryotes: a handbook on habitats, isolation, and identification of bacteria*, 655-665.
- Parker, J. L., & Shaw, J. G. (2011). *Aeromonas* spp. clinical microbiology and disease. *Journal of Infection*, 62(2), 109-118.
- Parte, A.C., Sardà Carbasse, J., Meier-Kolthoff, J.P., Reimer, L.C. and Göker, M. (2020). List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **70**, 5607-5612
- Pawlak, A., Morka, K., Bury, S., Antoniewicz, Z., Wzorek, A., Cieniuch, G., Korzeniowska-Kowal, A., Cichoń, M., & Bugla-Płoskońska, G. (2020). Cloacal Gram-Negative Microbiota in Free-Living Grass Snake *Natrix natrix* from Poland. *Current Microbiology*, 77(9), 2166.
- Quintieri, L., Fanelli, F., & Caputo, L. (2019). Antibiotic resistant *Pseudomonas* spp. spoilers in fresh dairy products: An underestimated risk and the control strategies. *Foods*, 8(9), 372.
- Rasmussen-Ivey, C. R., Figueras, M. J., McGarey, D., & Liles, M. R. (2016). Virulence factors of *Aeromonas hydrophila*: in the wake of reclassification. *Frontiers in microbiology*, 1337.
- Retief, F. P., & Cilliers, L. (2006). Snake and staff symbolism in healing. *Acta Theologica*, 26(2), 189-199.
- Résièrè, D., Olive, C., Kallel, H., Cabié, A., Névière, R., Mégarbane, B., ... & Mehdaoui, H. (2018). Oral microbiota of the snake *Bothrops lanceolatus* in Martinique. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(10), 2122.
- Roberts, R. J. (2012). *Fish pathology*. John Wiley & Sons.
- Rossolini, G. M., & Mantengoli, E. (2005). Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Microbiology and Infection*, 11(4), 17-32.
- Sala, A., Di Ianni, F., Pelizzone, I., Bertocchi, M., Santospirito, D., Rogato, F., Flisi, S., Spadini, C., Iemmi, T., Moggia, E., Parmigiani, E., Cavarani, S., Taddei, S., & Cabassi, C. S. (2019). The prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* and multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in healthy captive ophidian. *PeerJ*, 7, e6706.
- Schmidt, V., Mock, R., Burgkhardt, E., Junghanns, A., Ortlieb, F., Szabo, I., Marschang, R., Blindow, I., & Krautwald-Junghanns, M. E. (2014). Cloacal Aerobic Bacterial Flora and Absence of Viruses in Free-Living Slow Worms (*Anguis fragilis*), Grass Snakes (*Natrix natrix*) and European Adders (*Vipera berus*) from Germany. *EcoHealth*, 11(4), 571-580.

- Schumacher, J. (2003). Reptile respiratory medicine. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 6(1), 213-231.
- Shine, R., Harlow, P. S., & Keogh, J. S. (1998). The influence of sex and body size on food habits of a giant tropical snake, *Python reticulatus*. *Functional Ecology*, 12(2), 248-258.
- Sonbol, F. I., Khalil, M. A. E. F., Mohamed, A. B., & Ali, S. S. (2015). Correlation between antibiotic resistance and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 45(3), 568-577.
- Soni, M., Qureshi, Q. A., Mishra, M., Nishad, C. S., Chhaba, B., & Das, S. A. (2021). Common *Aeromonas* infections in ornamental fishes: a review. In *Biol. Forum* (Vol. 13, pp. 433-439).
- Spilker, T., Coenye, T., Vandamme, P., & LiPuma, J. J. (2004). PCR-based assay for differentiation of *Pseudomonas aeruginosa* from other *Pseudomonas* species recovered from cystic fibrosis patients. *Journal of clinical microbiology*, 42(5), 2074-2079.
- Struthers, J. K. (2017). *Clinical Microbiology*. The Microbiology Laboratory, Chapter 5 CRC Press, 104-105
- Sykes IV, J. M., & Greenacre, C. B. (2006). Techniques for drug delivery in reptiles and amphibians. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 15(3), 210-217.
- Tacão, M., Moura, A., Alves, A., Henriques, I., Saavedra, M. J., & Correia, A. (2005). Evaluation of 16S rDNA-and gyrB-DGGE for typing members of the genus *Aeromonas*. *FEMS microbiology letters*, 246(1), 11-18.
- Tang, P. K., Divers, S. J., & Sanchez, S. (2020). Antimicrobial susceptibility patterns for aerobic bacteria isolated from reptilian samples submitted to a veterinary diagnostic laboratory: 129 cases (2005–2016). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 257(3), 305-312.
- Tomás, J. M. (2012). The main *Aeromonas* pathogenic factors. *International Scholarly Research Notices*, 2012.
- Torres, R. T., Cunha, M. V., Ferreira, H., Fonseca, C., & Palmeira, J. D. (2022). A high-risk carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clone detected in red deer (*Cervus elaphus*) from Portugal. *Science of the Total Environment*, 829, 154699
- Turutoglu, H., Ercelik, S., & Corlu, M. (2005). *Aeromonas hydrophila*-associated skin lesions and septicaemia in a Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*): clinical communication. *Journal of the South African Veterinary Association*, 76(1), 40-42.
- Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khusro, A., Zidan, B. R. M., Mitra, S., Emran, T. B., ... & Koirala, N. (2021). Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms,

therapeutic strategies and future prospects. *Journal of infection and public health*, 14(12), 1750-1766.

Uetz, P. (editor). (2023). *The Reptile Database*, <http://www.reptile-database.org>. <http://www.reptile-database.org/db-info/SpeciesStat.html> (Ziyaret: 07.12.2023)

Ünver, B., & Bakıcı, M. Z. (2021). Motile aeromonad septicemia (MAS) at *Cyprinus carpio* L., 1758 (*Actinopterygii: Cyprinidae*) in Lake Tödürge (Sivas/Turkey). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 73, 320-326.

Wagner, V. E., Filiatrault, M. J., Picardo, K. F., & Iglewski, B. H. (2008). *Pseudomonas aeruginosa* virulence and pathogenesis issues. *Pseudomonas genomics and molecular biology*, 1, 129-158.

Wallach, V., Williams, K. L., & Boundy, J. (2014). Snakes of the world: a catalogue of living and extinct species. *CRC press*.

WHO, 2019. <https://www.who.int/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis> (Ziyaret: 06.12.2023)

Williams, C., & Lawton, G. (2009). Late arrivals. *New Scientist*, 202(2708), 34-38.

Wilkinson, S. L. (2015). Reptile wellness management. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 18(2), 281-304.

Wimalasena, S. H. M. P., Shin, G. W., Hossain, S., & Heo, G. J. (2017). Potential enterotoxicity and antimicrobial resistance pattern of *Aeromonas* species isolated from pet turtles and their environment. *Journal of Veterinary Medical Science*, 79(5), 921-926.

## EKLER

### EK 1. Kloakal sıvab örneklerinin alındığı yılanlara ait bilgiler

Örnek No	Tür	Yaş	Cinsiyet	Ağırlık
1	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	10 yaş	Erkek	1,2 kg
2	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	8 yaş	Dişi	1,8 kg
3	Amazon ağaç boası ( <i>Corallus hortulana</i> )	14 yaş	Dişi	900 gr
4	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	8 yaş	Erkek	1,4 kg
5	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	6 yaş	Erkek	1,2 kg
6	Burma pitonu ( <i>Python bivittatus</i> )	6 ay	Erkek	600 gr
7	Burma pitonu ( <i>Python bivittatus</i> )	7 ay	Dişi	800 gr
8	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	8 yaş	Dişi	1,8 kg
9	Kaliforniya Kral Yılanı ( <i>Lampropeltis getula</i> )	8 ay	Erkek	300 gr
10	Mısır Yılanı ( <i>Pantherophis guttata</i> )	1 yaş	Dişi	450 gr
11	Kaliforniya Kral Yılanı ( <i>Lampropeltis getula</i> )	7 yaş	Dişi	650 gr
12	Mısır Yılanı ( <i>Pantherophis guttata</i> )	10 yaş	Erkek	1,1 kg
13	Domuz burunlu yılan ( <i>Heterodon platyrhinos</i> )	5 yaş	Dişi	500 gr
14	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	6 ay	Dişi	350 gr
15	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	6 ay	Erkek	320 gr
16	Mısır Yılanı ( <i>Pantherophis guttata</i> )	1 yaş	Dişi	1,2 kg
17	Meksika kral yılanı ( <i>Lampropeltis getula nigrita</i> )	1 yaş	Dişi	1,2 kg
18	Domuz burunlu yılan ( <i>Heterodon platyrhinos</i> )	1 yaş	Erkek	350 gr
19	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	6 ay	Erkek	300 gr
20	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	6 ay	Erkek	310 gr

Örnek No	Tür	Yaş	Cinsiyet	Ağırlık
21	Kan pitonu ( <i>Python bongersmai</i> )	8 ay	Erkek	400 gr
22	Ağlı piton ( <i>Python reticulatus</i> )	1.5 yaş	Dişi	3 kg
23	Halı pitonu ( <i>Morelia spilota</i> )	8 yaş	Dişi	4 kg
24	Sarı Anakonda ( <i>Eunectus murinus</i> )	1.5 yaş	Dişi	5 kg
25	Burma pitonu ( <i>Python bivittatus</i> )	8 yaş	Dişi	50 kg
26	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	3 yaş	Erkek	4 kg
27	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	4 yaş	Erkek	4,5 kg
28	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	1.5 yaş	Dişi	2 kg
29	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	1 yaş	Erkek	900 gr
30	Gökkuşığı boa ( <i>Epicrates cenchria</i> )	1 yaş	Erkek	450 gr
31	Gökkuşığı boa ( <i>Epicrates cenchria</i> )	8 ay	Erkek	400 gr
32	Gökkuşığı boa ( <i>Epicrates cenchria</i> )	8 ay	Dişi	500 gr
33	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	5 ay	Erkek	400 gr
34	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	8 ay	Dişi	500 gr
35	Domuz burunlu yılan ( <i>Heterodon platyrhinos</i> )	2 yaş	Erkek	560 gr
36	Mısır Yılanı ( <i>Pantherophis guttata</i> )	5 yaş	Erkek	1,3 kg
37	Kaliforniya Kral Yılanı ( <i>Lampropeltis getula</i> )	2 yaş	Dişi	1,4 kg
38	Burma pitonu ( <i>Python bivittatus</i> )	10	Erkek	15 kg
39	Yeşil Anakonda ( <i>Eunectus murinus</i> )	12	Erkek	18 kg
40	Kaliforniya Kral Yılanı ( <i>Lampropeltis getula</i> )	8 yaş	Erkek	1 kg
41	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	10 yaş	Erkek	2 kg
42	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	8 yaş	Dişi	4 kg
43	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	3 yaş	Erkek	2,3 kg
44	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	4 yaş	Dişi	3,5 kg
45	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	4 yaş	Dişi	3 kg
46	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	2 yaş	Erkek	1,9 kg
47	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	5 yaş	Dişi	3,5 kg
48	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	5 yaş	Erkek	1,9 kg

Örnek No	Tür	Yaş	Cinsiyet	Ağırlık
49	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	1 yaş	Dişi	1,2 kg
50	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	1 yaş	Erkek	800 gr
51	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	2 yaş	Erkek	1,5 kg
52	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	2 yaş	Dişi	3 kg
53	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	4 yaş	Dişi	2 kg
54	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	5 yaş	Dişi	3,5 kg
55	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	1.5 yaş	Erkek	1,2 kg
56	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	1.5 yaş	Erkek	800 gr
57	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	7 yaş	Dişi	3,5 kg
58	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	6 yaş	Erkek	1,8 kg
59	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	1 yaş	Dişi	1,4 kg
60	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	9 ay	Erkek	600 gr
61	Burma pitonu ( <i>Python bivittatus</i> )	1.5 yaş	Dişi	900 gr
62	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	10 ay	Erkek	600 gr
63	Mısır Yılanı ( <i>Pantherophis guttata</i> )	4 yaş	Dişi	1,2 kg
64	Mısır Yılanı ( <i>Pantherophis guttata</i> )	3 yaş	Erkek	1 kg
65	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	5 yaş	Dişi	1,9 kg
66	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	1 yaş	Erkek	700 gr
67	Kaliforniya Kral Yılanı ( <i>Lampropeltis getula</i> )	6 ay	Dişi	350 gr
68	Kaliforniya Kral Yılanı ( <i>Lampropeltis getula</i> )	10 ay	Dişi	550
69	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	1.5 yaş	Erkek	1 kg
70	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	7 yaş	Erkek	2,3 kg
71	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	10 yaş	Erkek	2,1 kg
72	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	1 yaş	Dişi	1,1 kg
73	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	1.5 yaş	Erkek	1,3 kg
74	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	2 yaş	Erkek	1,4 kg
75	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	2 yaş	Erkek	1,8 kg
76	Mısır Yılanı ( <i>Pantherophis guttata</i> )	3 yaş	Erkek	950 gr

Örnek No	Tür	Yaş	Cinsiyet	Ağırlık
77	Mısır Yılanı ( <i>Pantherophis guttata</i> )	3 yaş	Dişi	1,7 kg
78	Sarı Anakonda ( <i>Eunectus notaeus</i> )	1.5 yaş	Erkek	1,9 kg
79	Ağlı piton ( <i>Python reticulatus</i> )	2 yaş	Erkek	2,7 kg
80	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	1 yaş	Erkek	700 gr
81	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	2 yaş	Erkek	1,4 kg
82	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	1 yaş	Dişi	950 gr
83	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	3 yaş	Dişi	3,5 kg
84	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	4 yaş	Dişi	3,9 kg
85	Mısır Yılanı ( <i>Pantherophis guttata</i> )	2 yaş	Erkek	1,1 kg
86	Mısır Yılanı ( <i>Pantherophis guttata</i> )	2 yaş	Dişi	1,3 kg
87	Burma pitonu ( <i>Python bivittatus</i> )	13 yaş	Dişi	46 kg
88	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	6 yaş	Dişi	2,3 kg
89	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	5 yaş	Dişi	2,3 kg
90	Kaliforniya Kral Yılanı ( <i>Lampropeltis getula</i> )	3 yaş	Erkek	1,6 kg
91	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	4 yaş	Erkek	3,2 kg
92	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	3 yaş	Erkek	2,8 kg
93	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	1.5 yaş	Erkek	1 kg
94	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	2 yaş	Erkek	1,5 kg
95	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	4 yaş	Dişi	3,6 kg
96	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	7 yaş	Erkek	3,1 kg
97	Burma pitonu ( <i>Python bivittatus</i> )	12 yaş	Dişi	56 kg
98	Kırmızı kuyruklu boa ( <i>Boa constrictor</i> )	9 yaş	Dişi	12 kg
99	Kraliyet Pitonu ( <i>Python regius</i> )	10 yaş	Dişi	3,4 kg
100	Mısır Yılanı ( <i>Pantherophis guttata</i> )	8 yaş	Dişi	1,6 kg







## İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

### Yılan Türlerinden İzole Edilen Pseudomonas ve Aeromonas Türlerinin Dağılımı ve Antibiyotik Direnç Profillerinin Belirlenmesi

ORJİNALLİK RAPORU

% <b>15</b> BENZERLİK ENDEKSİ	% <b>14</b> İNTERNET KAYNAKLARI	% <b>4</b> YAYINLAR	% <b>7</b> ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
----------------------------------	------------------------------------	------------------------	--------------------------------

EŞLEŞEN KAYNAK

<b>1</b> ifrj.edu.br İnternet Kaynağı	% <b>4</b>
--	------------

%2

★ 0-www-mdpi-com.brum.beds.ac.uk  
İnternet Kaynağı

Alıntıları çıkart

Kapat

Eşleşmeleri çıkar

Kapat

Bibliyografyayı Çıkart

üzerinde

## KURUM İZİNİ YAZILARI

**Uyarı:** Canlı ve cansız deneklerle yapılan tüm çalışmalar için kurum izin belgelerinin eklenmesi zorunludur. Gizlilik ve mahremiyet içeren durumlarda kurum adı kapatılmalıdır.

- Kurum izni gerekmektedir.
- Kurum izni gerekmemektedir.

Burak ALABAŞ  
(İmza)



Tarih ve Sayı: 01/04/2020-14074



T.C.  
TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI  
Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü

Sayı :21264211-288.04-E.1049029  
Konu : Araştırma İzinleri(Arzu Funda  
BAĞCIGİL)

01.04.2020

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA REKTÖRLÜĞÜNE

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Arzu Funda BAĞCIGİL tarafından yürütülecek olan "**Yılan Türlerinden İzole Edilen Pseudomonas ve Aeromonas Türlerinin Dağılımı ve Antibiyotik Direnç Profillerinin Belirlenmesi**" başlıklı proje kapsamında araştırmacı personelin yürütmesi planlanan arazi çalışmaları ile ilgili Bilimsel Araştırma İzin Başvurusu Genel Müdürlüğümüz yetki ve sorumlulukları çerçevesinde incelenmiş olup, buna göre;

- Söz konusu proje kapsamında kesinlikle araziye çıkılmaması,
- Çalışmalar kapsamında izin dosyasında belirtilen bilgilerin dışına çıkılmaması ve üzerinde çalışılacak olan örneklerin yurtdışına çıkarılmaması,
- Araştırma ara ve sonuç raporlarının basılı ve dijital ortamda birer kopyasının Genel Müdürlüğümüze gönderilmesi,

şartıyla bahse konu çalışmaların yapılması Genel Müdürlüğümüzce uygun görülmüştür.  
Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Hasan KANCA  
Bakan a.  
Genel Müdür Yardımcısı V.

Ek : Rapor Genel Tanım Bilgileri (2 sayfa)

Not: 5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu gereği bu belge elektronik imza ile imzalanmıştır.

Evrak Doğrulama Kodu : UQWKAMZK Evrak Takip Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/tarim-ve-orman-bakanligi-ebys>  
Beştepe Mah. Alparslan Türkeş Cad. No:71 Yenimahalle/ANKARA  
Telefon: (0312) 207 50 00  
KEP: [tarimveormanbakanligi@hs01.kep.tr](mailto:tarimveormanbakanligi@hs01.kep.tr)

Bilgi için:Serkan ÇAMALAN  
Tarım ve Orman Uzmanı



## Onam Belgesi

Tarih: 18.04.2020

**İşletme ait bilgiler:**

Adı: Yusuf Oruc Tunzar

Adresi: Sağlık merkezi köyü Sakak

(Hayvanat bahçesi) Eyalet Sultan / is

Telefon Numarası:

**Veteriner Hekimin adı, soyadı ve diploma no:**

Burak ALABAŞ, Diploma No: 5466

Yukarıda bilgileri verilmiş olan işletmede barındırdığınız yılanlarda *Pseudomonas* spp. ve *Aeromonas* spp. varlığının araştırılması için, adı-soyadı ve diploma numarası belirtilen Veteriner Hekim'in önerisi doğrultusunda kloakal sıvab toplanmasına izin veriyor ve örnek toplama sırasında oluşabilecek her türlü komplikasyondan doğacak olumsuz sonuçları ve uygulanabilecek her türlü tedaviyi kabul ediyorum.

İşletme Yetkilisi  
Adı-Soyadı  
İmza

## Onam Belgesi

Tarih: 17.02.2020

**İşletme ait bilgiler:**

Adı: Faahk Jalrıın Hayvanat Bahçesi ve Babilik Parkı

Adresi: Tuzla yolu. cad. No: 297 Daire / Kocaeli

Telefon Numarası:

**Veteriner Hekimin adı, soyadı ve diploma no:**

Burak ALABAŞ, Diploma No: 5466

Yukarıda bilgileri verilmiş olan işletmede barındırdığım yıllarda *Pseudomonas* spp. ve *Aeromonas* spp. varlığının araştırılması için, adı-soyadı ve diploma numarası belirtilen Veteriner Hekim'in önerisi doğrultusunda kloakal sıvab toplanmasına izin veriyor ve örnek toplama sırasında oluşabilecek her türlü komplikasyondan doğacak olumsuz sonuçları ve uygulanabilecek her türlü tedaviyi kabul ediyorum.



