

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞU KARADENİZ’DEKİ KARA MİDYE VE DENİZ
SALYANGOZUNDAN İZOLE EDİLEN *Escherichia coli*’LERDE
ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN BELİRLENMESİ

HASAN İŞLER

TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ ERTUĞRUL TERZİ
TEZ JÜRİLERİ
PROF. DR. ŞEVKİ KAYIŞ
DOÇ. DR. ADEM YAVUZ SÖNMEZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

RİZE-2019
Her Hakkı Saklıdır

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DOĞU KARADENİZ'DEKİ KARA MİDYE VE DENİZ SALYANGOZUNDAN
İZOLE EDİLEN *Escherichia coli*'LERDE ANTİBİYOTİK DİRENÇ
GENLERİNİN BELİRLENMESİ**

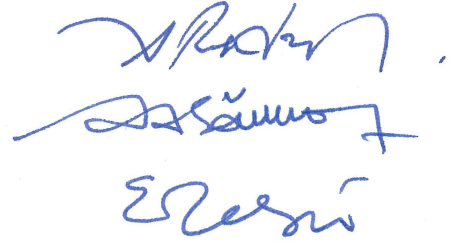
Dr. Öğr. Üyesi Ertuğrul TERZİ danışmanlığında, Hasan İŞLER tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 12/07/2019 tarihinde Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

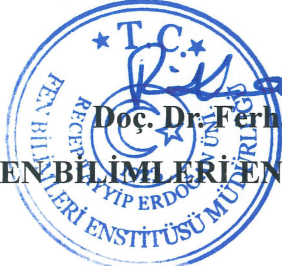
Jüri Üyeleri

Unvanı Adı Soyadı

İmzası

Başkan : Prof. Dr. Şevki KAYIŞ
Üye : Doç. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ
Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ertuğrul TERZİ




Doç. Dr. Ferhat KALAYCI
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

ÖNSÖZ

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanan bu çalışmada; Doğu Karadeniz Bölgesi'nde bulunan Artvin, Rize, Trabzon ve Giresun illerinin kıyısız alanlarında serbest dalış yöntemiyle toplanan kara midye ve deniz salyangozu örneklerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında antimikrobiyal maddelere karşı hassasiyet durumları araştırılmış. İzolatlarda antibiyotik direnç genlerinin varlığı ve aktarılabılır direnç genlerinin varlıkları da ayrıca ortaya koyulmuştur.

Tez çalışmamın konusunun belirlenmesinden tez verilerinin değerlendirilmesine kadar öğrenimimin her aşamasında bana destek olan ve benimle bilgi birikimini paylaşan tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ertuğrul TERZİ' ye öncelikle teşekkür ederim.

Örnekleme ve laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Serkan KORAL'a, Öğr. Gör. Dr. İsmail AKSU'ya, Yüksek Mühendis Altan KIRAN ve Yüksek Mühendis Bahtiyar SÜLEYMAN' a teşekkür ederim.

Ayrıca bu günlere gelmemde, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan saygıdeğer aileme de sonsuz şükranlarımı sunarım.

Hazırlanan bu Yüksek Lisans Tezi Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2015.53006.103.02.04 nolu proje ile desteklenmiştir.

Hasan İŞLER

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan “Doğu Karadeniz’deki Kara Midye ve Deniz Salyangozundan İzole Edilen *Escherichia coli*’lerde Antibiyotik Direnç Genlerinin Belirlenmesi” başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim. 12/07/2019



Hasan İŞLER

Uyarı: Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

DOĞU KARADENİZ'DEKİ KARA MİDYE VE DENİZ SALYANGOZUNDAN İZOLE EDİLEN *Escherichia coli*'LERDE ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN BELİRLENMESİ

Hasan İŞLER

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Ertuğrul TERZİ

Bu çalışmada Doğu Karadeniz'den toplanan deniz salyangozu (*Rapana venosa*) ve kara midyeden (*Mytilus galloprovincialis*) izole edilen *Escherichia coli*'lerde antibiyotik direnç seviyesi, direnç geni bulundurma durumları ve direncin aktarılabilir boyutu geleneksel ve moleküler yöntemlerle araştırılmıştır. Bakterilerde test edilen antibiyotiklere karşı en yüksek direnç sulfametaksazol antibiyotiğine karşı tespit edilirken en düşük direnç florfenikole karşı belirlenmiştir. Bakterilerin çoğul antibiyotik direnç (MAR) indeksi tüm izolatlar için ortalama 0,28 olarak hesaplanmıştır. İstasyonlar arasında en yüksek MAR değeri 0,34 ile Trabzon istasyonlarında tespit edilirken en düşük 0,18 ile Artvin istasyonlarından izole edilen bakterilerde tespit edilmiştir. İzole edilen toplam 54 izolatta test edilen genlerden en yüksek % 98,1 oranında *ampC* geni tespit edilirken en düşük *sul3* geni % 3,7 oranında tespit edilmiştir. Yapılan konjugasyon deneyleri kapsamında plazmit içeren toplam 24 bakterinin 10 tanesi plazmitlerini alıcı suşa aktarabilme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen transkonjugant bakterilerde orjinal suşta bulunan direnç genlerinin varlığı araştırılmıştır. Tespit edilen bazı genler DNA dizi analizi ile doğrulanmıştır. Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç durumu dünya çapında ekolojik öneme sahiptir. Bu direnç geni bulunduran bakterilerin patojen ve/veya patojen olmayan bakteriler arasında direnç genlerinin yayılmasında önemli rol oynadığı bilinmektedir.

2019, 55 sayfa

Anahtar Kelimeler: Deniz Salyangozu, Kara Midye, Doğu Karadeniz, Antibiyotik, Direnç.

ABSTRACT

DETERMINATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES IN *Escherichia coli* ISOLATED FROM MEDITERRANEAN MUSSEL AND SEA SNAIL IN EASTERN BLACK SEA

Hasan İŞLER

Recep Tayyip Erdogan University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Fisheries
Master Thesis
Supervisor: Asst. Prof. Dr. Ertuğrul TERZİ

In this study, antibiotic resistance level, resistance gene presence and transferable of resistance in *Escherichia coli* isolated from sea snail (*Rapana venosa*) and Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*) collected from Eastern Black Sea were investigated by conventional and molecular methods. The highest resistance in bacteria to tested antibiotics was determined as sulfamethoxazole and the lowest resistance to florfenicol. The multiple antibiotic resistance (MAR) index of bacteria was calculated as 0.28 for all isolates. The highest MAR value was calculated in Trabzon stations with 0.34 and the lowest value was 0.18 with bacteria isolated from Artvin stations. While 98.1% *ampC* gene was detected in 54 isolates, the lowest *sul3* gene was found to be 3.7% among tested genes. Conjugation experiments have shown that 10 of 24 plasmid-containing bacteria are capable of transferring their plasmids to the recipient strain. The presence of resistance genes in the original strain was investigated in the obtained transconjugant bacteria. Some of the detected genes were confirmed by DNA sequence analysis. Resistance to antibiotics in bacteria is of ecological importance worldwide. It is known that bacteria containing this resistance gene play an important role in spreading resistance genes between pathogen and/or non-pathogenic bacteria.

2019, 55 pages

Keywords: Sea Snail, Mediteranean Mussel, Black Sea, Antibiotic, Resistance.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ	II
ÖZET	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ	VIII
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ	IX
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Kara Midye ve Deniz Salyangozu	4
1.2.1. Kara Midye	4
1.2.2. Deniz Salyangozu	5
1.3. Deniz Suyu Kalitesinin İzlenmesinde İndikatör Bakteriler	6
1.4. Su ürünleri Kalitesini Bozan Faktörler	7
1.4.1. Kimyasal Etmenler.....	7
1.4.2. Mikrobiyolojik Etmenler.....	8
1.5. Antimikrobiyal Maddeler ve Direnç Mekanizmaları.....	9
1.6. Bakterilerde Antibiyotik Direncinin Gelişimi.....	12
1.6.1. Doğal (İntrinsik) Direnç.....	13
1.6.2. Kazanılmış Direnç.....	14
1.7. Antibiyotik Direncinin Yayılmasında Kirliliğin Rolü.....	14
1.8. Önceki Çalışmalar.....	18
1.9. Çalışmanın Amacı ve Gerekçesi	22
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	24
2.1. Materyal	24
2.2. Antimikrobiyal Hassasiyet Testi	25
2.3. Çoğul Antibiyotik Direnç İndeksi	26
2.4. DNA ve Plazmit DNA İzolasyonu	26
2.5. Antibiyotik Direnç Genlerinin PCR ile Tespiti.....	27
2.6. Agaroz Jel Elektrophorezi	29

2.7.	Gen Transferi (Konjugasyon).....	31
2.8.	DNA Dizi Analizi.....	31
3.	BULGULAR.....	32
3.1.	Antibiyotik Dirençliliği.....	31
3.2.	Çoğul Antibiyotik Direnç İndeksi.....	33
3.3.	Antibiyotik Direnç Genlerinin Dağılımı.....	33
3.4.	Plazmit Varlığı.....	35
3.5.	Gen Transferi (Konjugasyon).....	36
3.6.	DNA Dizi Analizi Sonuçları.....	36
4.	TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	37
5.	ÖNERİLER.....	43
	KAYNAKLAR.....	44
	ÖZGEÇMİŞ.....	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Midyelerin dağılım alanları	4
Şekil 2.	Deniz salyangozunun dağılım alanları	5
Şekil 3.	Antibiyotik direncinin oluşması	10
Şekil 4.	Antibiyotiklerin sucul çevreye ve içme suyuna karışma yolları	16
Şekil 5.	Antibiyotik direncinin insan ve hayvanlar yoluyla çevreye yayılması	18
Şekil 6.	Kara midye ve deniz salyangozu örneklerinin toplandığı istasyonlar.....	24
Şekil 7.	Antibiyogram testinde zon çaplarının görüntüsü	26
Şekil 8.	Santrifüj işlemlerinde kullanılan cihaz.....	27
Şekil 9.	PCR işlemlerinde kullanılan thermal cyclor cihazı	29
Şekil 10.	Yatay elektroforez ünitesi ve vorteks karıştırıcı	30
Şekil 11.	Jel görüntüleme ve kayıt sistemi	30
Şekil 12.	İzolatlara ait çoğul antibiyotik direnç indeksi değerleri	33

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Araştırma için numune alınan yerler ve koordinatlar	25
Tablo 2. Antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesinde kullanılan primerler.....	28
Tablo 3. Antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesinde uygulanan PCR protokolü.....	29
Tablo 4. Antimikrobiyal hassasiyet sonuçları	32
Tablo 5. Antibiyotik direnç genlerinin varlığı.....	34
Tablo 6. İzole edilen mevsime göre antibiyotik direnç genlerinin dağılımı.....	35
Tablo 7. İzole edilen bakterilerde plazmit bulundurma durumları.....	36



SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Derece Santigrat
g	Gram
mg	Miligram
L	Litre
D	Dirençli
H	Hassas
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DNA	Deoksiribonükleik Asit
Gr(-)	Gram Negatif
Gr(+)	Gram Pozitif
LB	Luria Bertani
EMB	Eozin Metilen Blue
TSB	Triptik Soy Broth

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Su kirliliği, insan kaynaklı doğrudan veya dolaylı olarak evsel ve endüstriyel kullanım sonucu meydana gelen atıkların alıcı suya ulaşmasıyla doğal ekolojik dengeyi bozan günümüzü ve yarınımızı tehlike altında bırakan kalite değişimidir (Sönmez vd., 2008). Su, dünya üzerinde yüksek seviyede antropojenik etkilere maruz kalmaktadır (Halpern vd., 2008). Şehirleşme, endüstriyel ve tarımsal faaliyetler sonucu gübreler, organik bileşikler, ağır metaller ve tüm atık su kaynakları gerekli arıtma yapılmaksızın alıcı ortamlara karışmaktadır ve bu durum ötrofikasyon, hipoksia, toksisite, biyobirikim ve patojen bakterilerin gelişmesine neden olabilmektedir (Nogales vd., 2011).

Oluşan su kirliliği sonucu; ekolojik dengelerin bozulmasıyla beraber hastalık etkenleri, insan sağlığı için gerekli olan su parametrelerindeki bozulma ve sosyal yaşam alanlarını olumsuz şekilde etkileyecek sorunları meydana getirmektedir. Oluşan bu sorunlar karşısında ise zorunlu olarak veya olmayarak ortamın iyileştirilmesi ve tedavi amaçlı bakteriler üzerinde antibiyotiklerin kullanılması kaçınılmaz bir hal almaktadır (Kum vd., 2004). Toplum nüfusunun hızlı bir şekilde artması ve buna bağlı olarak oluşan çevre kirliliği hakkında yetersiz eğitimlerin verilmesi, toplumun bilinçsizliği ve alıcı ortama gelen atıkların geri dönüşüm olarak altyapısının olmaması veya yetersiz olması yüzünden biyolojik kirlenmenin önüne geçilememektedir (Çolakoğlu, 2007). Ayrıca sular, toprakta veya bitkilerde bulunan bakterilerle etkileşim halinde bulunabilirler. Bu bakteriler direkt olarak hastalığa neden olmayabilirler fakat fırsatçı enfeksiyonlar için ortam oluşturlar (Willke Topçu vd., 2017).

Doğu Karadeniz bölgesinde su ürünleri sektörü avcılık ve yetiştiricilik bakımından ekonomik olarak önemli bir noktada bulunmasına rağmen son yıllarda bilinçsiz avcılık ve kontrol noktalarının yetersiz olmasından dolayı etkilenmektedir. Bu sektörü desteklemek amacıyla pazarda ekonomik değeri olan kara midye ve deniz salyangozu üzerine çalışmalar başlatılmıştır. İstilacı bir tür olan deniz salyangozu (*Rapana venosa*) Karadeniz'e giriş biçimleri balans suları veya gemilerin gövdelerine yumurtaların tutulmasıyla oluşmuştur. Bu türün güneydoğu Karadeniz'e 1962 tarihinde

girdiği rapor edilmiştir (Bilecik, 1990; Knudsen vd., 2010). Deniz salyangozları diğer bentik canlıları olan istiridye ve midye gibi canlıların yaşam alanlarını işgal edip bu canlılar ile beslenerek, bölgeye uyum sağlamış ve hızlı bir şekilde çoğalmışlardır (Sağlam, 2007). Doğu Karadeniz Bölgesi'nde baskın hale gelmesinden dolayı diğer canlıların yok olmasına neden olmuştur. Popülasyonunu kontrol edebilecek şekilde deniz yıldızlarından başka doğal avcısı yoktur. TÜİK verilerine göre Türkiye'de 2012'de üretimi yapılan 9600 tonun %70'i Doğu Karadeniz'de yapılmıştır (TÜİK, 2012).

Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yetiştiriciliği yapılmamasına rağmen Ülkemizde bir diğer ticari öneme sahip olan çift kabuklu yumuşakça türü kara midyedir. Ekonomik değeri oldukça yüksek olan kara midye kıyı sularının su kalitesini belirlemek için yapılan çalışmalar için de kullanılmaktadır (Karayücel vd., 2003). Ülkemiz ve Karadeniz için önemli bir ekonomik getirisi olan bu iki tür yaşadıkları bölgedeki mevcut durumun analiz edilmesin de oldukça önemlidir. Besinleri süzerek almalarından dolayı beslenme alanlarında bulunan ağır metal ve pestisit gibi kimyasal etmenleri dokularında biriktirmesi sonucu çalışmalarda biyolojik indikatör görevi üstlenmişlerdir. Kimyasal etmenlerin yanı sıra deniz salyangozu ve kara midye bünyesinde bakteri bulundurabilirler. Kendileri için hastalık etkeni bakteri olmamasına rağmen insanlar için son derece ciddi sağlık sorunları oluşturabilecek patojen bakteriler taşıyabilirler. İnsan sağlığı için patojenik olan bir çok bakteri yapılan çalışmalar sonucu rapor edilmiştir. Rapor edilen bakteriler başında ise *Salmonella*, *E. coli*, *Campylobacter* ve *Vibrio* gibi bakteriler gelmektedir.

Tarım arazileri için kullanılan kimyasallar ve insan aktiviteleri sonucu çevre sorunlarıyla beraber oluşan atık sular, yüzey suları olan açık ve kapalı havzalarda bakteriyolojik kontaminasyona davetiye çıkarmaktadır. Bu suların kirlenmesine sebep olan mikroorganizmalar alıcı suşa ulaşan insan ve hayvanların dışkılarından kaynaklanmaktadır. Bu bakteriler üzerinde dezenfeksiyon işlemleri önemli bir yol oynasa da yok edilmesinde yetersiz kalmaktadır. Böylece bu döngü devam ederek insan sağlığını her zaman risk altında bırakmaktadır (Berberoğlu, 2012).

Çevre kirliliği, mikrobiyal çevreyi birçok şekilde etkilemektedir. Ekosistem dinamikleri ile beraber kirleticilerin kaynağı ve miktarı mikroorganizmaların

antropojenik etkilere karşı göstermiş olduğu tepkiyi değiştirmektedir (Cardoso vd., 2012). Mikroorganizma toplulukları; ekosistem modellemesinde, tür kompozisyonunda ve tür bolluğunda etkili rol oynamaktadırlar (Nogales vd., 2011; Vieria vd., 2008). Kirlilik ile potansiyel patojenik bakteriler canlıların sağlığı açısından olumsuz bir etkiye sahiptir (Nogales vd., 2011).

Antibiyotik direnç genlerinin sucul ekosisteme atık su arıtma tesisleri tarafından aktarılması ile oluşan antibiyotik direnci tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çok önemli bir çevresel kirlilik problemidir. Atık su arıtma tesislerinin dizayn ve işleyişlerindeki farklılıklar atık sulardaki dirençli genlerin ve dirençli bakterilerin sucul ortamda bulunuşuna etki edebilmektedir. Atık sularda bulunan bakterilerde, yoğun antibiyotik kullanımına bağlı olarak meydana gelen antibiyotik direnç çeşitliliği ve atık su arıtma tesislerinde farklı arıtma prosedürlerinin uygulanması sonucunda bölgeye ve ülkeye özel direnç tabloları gelişebilmektedir (Rysz vd., 2004). Deniz suyundan kaynaklanan bakteriyel suşların %90'ı bir antibiyotiğe direnç sağlarken, %20 den fazlası ise en az beş değişik antibiyotik karşısında direnç göstermektedir (Baquero vd., 2008).

Midyeler beslenmelerini suda bulunan fitoplankton ve asılı haldeki organik maddeleri solungaçları sayesinde filtre ederek sağlarlar. Sudaki bulunan maddeleri dokularında biriktirirler, bu sebeple de kirlilik araştırmaları ve antibiyotik direnç gen belirlemesi gibi çalışmalarda Türkiye de ve diğer ülkelerde öncelikli seçilen bir tür olmaktadır (Uysal, 1970).

Yapılan araştırmalar incelendiğinde sucul ortamlardan izole edilen bakterilerin antibiyotiklere karşı sergiledikleri direnç mekanizmaları ve bu genlerinin fazlalığı bu ortamlarda daha önceden doğrudan veya dolaylı olarak bilinçsiz bir şekilde antibiyotik kullanıldığının işareti olabilir. Bu bilgiler ekseninde yapılan bu araştırmada kara midye ve deniz salyangozundan elde edilen *E.coli* bakterilerinin istasyonel ve konak bakımından farklılıklarının gösterilmesi, bakterilerin antimikrobiyal hassasiyetlerinin belirlenmesi, çoğul antibiyotik direnç (MAR) indekslerinin belirlenmesi, antibiyotik direnç genlerinin dağılımı, plazmit varlığının araştırılması ve tespit edilen direnç genlerinden aktarılabilir olanlarının gen transferi (konjugasyon) deneyleri ile tespit edilmesi bakımından önem arz etmektedir.

Yapılan önceki çalışmalar, sucul ekosistemde antibiyotiklere direncin evrimi ve hareketli antibiyotik direnç determinantlarının moleküler epidemiyolojisi gibi konuların yeni olduğunu ve araştırmaların belirli bir bölge ile sınırlı kaldığını göstermektedir. Dolayısıyla sucul ekosistemlerdeki bakteriyel popülasyonlarda yapılacak antibiyotik direnç profili ile ilgili daha kapsamlı ve çeşitli moleküler çalışmalara ihtiyaç olduğu açıkça görülmektedir.

1.2. Kara Midye ve Deniz Salyangozu

1.2.1. Kara Midye

Kara Midye (*Mytilus galloprovincialis* Lam. 1819) Mollusca filumunun Bivalvia sınıfı içinde yer alan Mytilidae familyasına mensup çift kabukludur. Kara midye kıyı bölgelerde suyu süzerek yaşayan canlılardır (Stabili vd., 2004). Midyeler, deniz ortamında ve acı sularda koloniler halinde kayalıklarda yaşamlarını sürdürürler. Ilıman deniz ortamlarında istilacı tür olarak bulunurlar. Ülkemizde Doğu Akdeniz kıyıları dışında tüm kıyılarda görülmektedir (Şekil 1).



Şekil 1. Midyelerin dağılım alanları (URL-1).

Denizlerde litoral ve sublitoral bölgede derinlere doğru, sıcaklık ve tuzluluk değişimine bağlı olarak çok büyük varyasyonlar gösterirler. Kümeler halinde yaşayan midyeler satıha doğru küçük derine doğru daha büyük boydadırlar. Kara midye için optimum su sıcaklığı 14-20 °C'dir. 30 °C'ye kadar olan su sıcaklığındaki değişikliklere dayanabilirler. Optimum tuzluluk değeri ‰ 20-25'tir.

1.2.2. Deniz Salyangozu

Latincesi *Rapana venosa* olan deniz salyangozu Mollusca (yumuşakçalar) filumunun, Gastropoda (karından bacaklılar) sınıfının Muricidae familyasındandır. İlk olarak 1758'de Linne tarafından *Rapana bezoar* (L, 1758) olarak isimlendirilmiş olup daha sonra bu türün tropikal form olduğu, bu nedenle Karadeniz'de yaşayan formun *Rapana thomasi* olduğu ileri sürülmüştür. 1987 yılında FAO tarafından hazırlanan yayında Karadeniz'de ve Marmara Denizi'nde yayılış gösteren bu gastropod, *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2).



Şekil 2. Deniz salyangozunun dağılım alanları (URL-2).

Deniz salyangozları karnivor veya herbivor beslenme özelliği gösterirler. Karnivor beslenme özelliğine sahip olan deniz salyangozları genellikle midye ve istiridye gibi sesil canlılarla beslenir (Ünsal, 1987).

Genellikle karanlık koşullarda avlanırlar, avlarını ayakları yardımıyla tutar ve radula (dişli dil) ile parçalarlar. Bazı karnivor türler avlarının kabuklarını radula ile

deler, delme işleminde önce ayak veya ayak üzerindeki sindirim enzimleri yardımıyla kabuğun yumuşatılması sağlanır. Bu arada av, emme borusuyla vantuzlanarak tutulur. Direnci kaybolan, sinir sistemi felç olan av hareketsiz kalır ve radula vasıtasıyla yutulur (Demirsoy, 1982).

1.3. Deniz Suyu Kalitesinin İzlenmesinde İndikatör Bakteriler

Suyun sağlık açısından kalitesinin değerlendirilmesinde en etkili yol, suya enterik bakterilerin karıştığını gösteren mikroorganizmaları araştırmaktır. Koliform bakteriler suda kolay ve hızlı bir şekilde tespit edilebildikleri, çevre koşullarına dirençli oldukları, patojen bakterilerle bir arada yaşayabildikleri, bağırsak kökenli oldukları ve dışkıda yüksek miktarda bulunduklarından laboratuvar çalışmalarında suyun değerlerini tayin etmek için kullanılan en elverişli yöntem olarak kabul edilmiştir (Öztürk ve Güven, 2005).

Fekal kirlilik indikatörü olarak, koliform bakteriler içinde en fazla *Escherichia coli* bakterisi kullanılmaktadır. *E.coli*, *Enterobacteriaceae* ailesine ait, 2-6 µm uzunluğunda ve 1.0-1.5 µm çapında, düz ve yuvarlak çomakçık şeklinde olabilen, spor oluşturmeyen gram negatif bakterilerdir. Sıcaklığın 37-40 °C ve pH derecesinin 5 ile 9 aralığında olduğu ortamlar en uygun yaşam koşullarıdır. *E.coli*; insanlarda, sıcak kanlı hayvanlar ve kuşların bağırsak floralarında bol miktarda bulunur ve çok seyreltik atık sularla bulaşmasında bile saptanabilir. Dolayısıyla fekal koliform bakteriler içinde yer alan *E.coli*, fekal kirlilik ile bağırsak hastalıkları arasındaki bağlatıyı göstermektedir (Geissler vd., 2000).

E.coli fekal indikatör bakteri olmasının yanı sıra genetik yapısı en iyi bilinen mikroorganizmadır. Diğer mikroorganizmaların aksine kolayca direnç kazanabilmektedir ve bu özelliği ile *E.coli* antibiyotik direncinin araştırılmasında iyi bir indikatördür. Bağırsak bakterilerinin yer aldığı sular kullanıldıkça, bu bakteriler insanlar arasında yayılacaktır. Antibiyotiklere direnç genlerinin bu bakteriler sayesinde yayılmasıyla beraber insan sağlığını ciddi anlamda tehlikeye sokan koliform bakteri *E.coli* taşınıp dirençli suş oranını çoğaltmaktadır (Danishta vd., 2010).

Bir örnekte *E.coli* veya fekal koliform bakterilerin görülmesi, o örneğe dışkı bulaştığının göstergesi sayılabilmektedir. Bu durumdaki örnekte *Salmonella* ve *Shigella* gibi primer patojenlerinde rastlanabileceği bilinmelidir. Bir ortama bağırsaklarda yaşayan bakterilen bulaşıp bulaşmadığı incelenirken indikatör olarak kullanılan *E.coli*, genetik yapısı en iyi bilinen canlılardan biridir. Pek çok suşu zararsız olsa da konak olduğu canlıların ölümüne neden olabilecek kadar ciddi enfeksiyonlara ve çeşitli hastalıklara davetiye çıkarmaktadır (Chaslus Dancla vd.,1980).

1.4. Su ürünleri Kalitesini Bozan Faktörler

Sanayileşme sonucunda nüfus yoğunluğunda kentleşme oranının artması, dengesiz nüfus artışı ve bunun sonucunda altyapının yetersiz kalması, fabrikaların oluşan atıkları arıtma konusunda yetersizliği çevre kirliliğinin en önemli nedenleri arasındadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde gerek evsel gerekse endüstriyel atıkların yeterli arıtım olmadan sucul ortamlara atılması ekolojik sistem için ciddi tehdit oluşmasına neden olmaktadır (Türk ve Yabancı, 2006).

Yeterli muhafaza ve saklama koşulları sağlanmadan elde edilen su ürünleri tüketiciye ulaştırılana kadar mikroorganizmaların, enzimlerin ve dış faktörlerin etkisiyle kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik değişikliğe uğrayarak tazeliğini ve kalitesini kaybetmektedir. Özellikle sucul ortamlara bulaşan petrol ve endüstriyel atıkların kalitesinin bozulmasına neden olduğu su ürünleri insan sağlığını tehdit eden bir etmen haline gelmektedir.

1.4.1. Kimyasal Etmenler

Dünya nüfusunun giderek artması ve buna bağlı olarak üretim ve tüketim dengelerinin değişmesine sebebiyet vermekte olup birçok sorunu oluşturmaktadır. Protein kaynağı olan balık etinin kalitesi; giderek yoğunlaşan üretim neticesinde yem üretiminde ve korunmasında kullanılan kimyasal maddeler, denizlere atılan evsel ve endüstriyel atıklar, petrol kazaları gibi pek çok nedenle kirlenen sular nedeniyle bozulmaktadır.

Özellikle gelişmemiş ülkelerde arıtılmadan alıcı ortama dökülen kanalizasyonların kirlettiği kıyı deniz suları ciddi sağlık problemlerine yol açmaktadır (Barua, 1992). Sadece yeterli arıtım tesislerinin olmamasından değil, toplumun bu konuda yeteri kadar eğitilmemesi, endüstri ve tarımda kullanılan kimyasal maddelerin akarsulara karışması da bu kirlenmenin önemli nedenlerinden birisidir (Balcı, 2007).

Sucul ortamları tehdit eden bir diğer husus da jeokimyasal yapı ve maden çalışmaları sonucunda ortaya çıkan ağır metal kirliliğidir (Perçin vd., 2007). Bu şekilde sulara ulaşan bakır, çinko, kurşun gibi bir çok ağır metal bu yaşam alanında yaşayan su ürünleri için hayati bir problem oluşturmaktadır. Sularda biriken bu ağır metaller geri dönüşümü zor olan ekolojik zararlara neden olmaktadır (Türkmen vd., 2005).

1.4.2. Mikrobiyolojik Etmenler

İnsanlar vücutlarının ihtiyaç duyduğu proteinin önemli kısmını su ürünlerinden karşılamaktadırlar. Barındırdığı protein'in yanı sıra önemli miktarda vitamin ve mineral barındıran su ürünleri insan sağlığı için önemli bir besin maddesini oluşturmaktadır. Günümüzde bu ürünler hayvansal protein gereksinimi destekler nitelikte değilde tek başına başlıca üstlenmiş durumdadırlar. Avcılığı ve yetiştiriciliği yapılarak insan tüketimine sunulan su ürünleri uygun saklama koşulları sağlanamaz ise mikrobiyal bozulmalar sonucu değerini kaybedecektir (Gorga ve Ronsivalli, 1988).

Arıtılmadan su kaynaklarına gönderilen atık sular, mikropların yayılmasına zemin hazırlamasının yanı sıra içerdiği organik maddelerin mikroorganizmalar tarafından parçalanması sonucu su kaynaklarının doğal yaşam şartlarının bozulmasına da neden olmaktadır (Gil vd., 2004). Bütün bunların sonucunda ülkemizde balıkçılar tarafından avlanan ve alıcı ortamlarda kültür balıkçılığı yapılan su ürünlerinde Risk Analizi Kritik Kontrol Noktaları (HACCP) şartlarını içeren bölgelerde hasat yapıldıktan sonra hijyenik bir şekilde tüketiciye ulaştırılmamasından ve bulunduğu ortamda soğuk bir şekilde muhafaza depolama yapılmadığından dolayı halk sağlığını ciddi anlamda tehdit etmektedirler (Hoşsucu vd., 2001).

1.5. Antimikrobiyal Maddeler ve Direnç Mekanizmaları

Antimikrobiyal maddeler özellikle antibiyotikler penisilin gibi bakteri gelişimini engelleme (inhibe etme) yeteneğine sahip olan serbest yaşayan organizmalardan üretilen maddelerin keşfi ile üretilmeye başlanmıştır (Wright, 2007). Antibiyotikler düşük konsantrasyonlarda dahi mikroorganizmaları öldüren veya üremelerini engelleyen maddelerdir. Bakteri üzerine seçici toksisite gösteren antibiyotikler konak organizmanın hücrelerine zarar vermeden, enfeksiyon etkeni bakteri hücresinin gelişmesi ve üremesini önleyerek (bakteriyostatik) ya da bakteri hücrelerini doğrudan öldürerek (bakterisid) etki ederler (Scholar ve Pratt, 2000).

Tıp dünyasının çok uzun olmayan bir geçmişinde insanoğlunun hizmetine sunduğu antibiyotikler ile ilgili kısa sürede önemli gelişmeler gerçekleşmesine rağmen; başta antibiyotiklere karşı gelişen bakteriyel direnç savunma mekanizmaları olmak üzere bir çok önemli sorunlar da meydana getirmiştir (Altuğ vd., 2005).

Yarım yüzyıldır başta insanlarda oluşan enfeksiyonların tedavisinde olmak üzere tarım, hayvan yetiştiriciliği ve balık çiftliklerinde de kullanılan antibiyotiklerin yoğun kullanımı bir yandan başarı sağlarken bir yandan da enfeksiyona neden olan bakterilerin hızla direnç geliştirmesine neden olmuştur. Bakterilerde oluşan antibiyotik direncinin hızla yayılmasının nedenlerinden biri de kullanılan geniş spektrumlu antibiyotiklerin akarsular aracılığıyla denizlere ulaşması ve gemilerin balans suları ve deniz canlıları aracılığıyla daha geniş alanlara yayılması ve bu bölgede çoğalarak dirençliliğin yayılmasına neden olmuşlardır. Sucul ortamda hassas olan bakterilerin daha sonra antibiyotiklere karşı dirençli olmaları evsel atıklar olarak nitelendirilen deterjanlar ve lağım suları gibi atık maddelerin doğal ortama girmesiyle ilgilidir (Karayakar vd., 2006).

Antibiyotiklerin tedavide kullanılmasından sonra direnç sorunu ortaya çıkmıştır. Bu konuda ilk bulgu, 1940 yılında Penisilin'e dirençli suşların bulunması ile olmuştur. Daha sonra Sulfonamid'lerin etkinliklerini kaybettikleri gözlenmiştir. 1950'lerden sonra Sulfonamidler'in yerine kullanılan tetrasiklin, kloramfenikol ve streptomisin zamanla etkinliklerini kaybetmişlerdir. Örneğin; bir bakteri oksitetrasiklin antibiyotiğine direnç

gösterirken bu antibiyotiğe benzer olan tetrasiklin, klortetrasiklin ve dimetilklortetrasikline karşı da direnç kazanabilir. Tekrasiklinlere direnç kazanmış Gr(-) bakteriler genellikle kloramfenikol antibiyotiğine de direnç gösterirler (Akman ve Gülmezoğlu, 1976).

Dünya genelinde piyasaya sürülen antibiyotik oranlarına bakıldığında büyük rakamlar gözükmemektedir. Örnek olarak, gelişmiş ülkelerin başında gelen Amerika Birleşik Devletleri'nde her sene üretilen antibiyotik yaklaşık olarak 22.000 ton iken (Levy vd., 1999), bu rakam Almanya'da 2.000 ton'dur (Hirsch vd., 1998). Ülkemizde 2003 ve 2006 tarihlerinde kullanılan ilaçlara baktığımızda ise ilk sıraları antibiyotikler aldığı görülmektedir (Karabay ve Hosoglu, 2008). Yapılan sınırlamalara rağmen halen en çok tüketilen ilaç grubu antibiyotiklerdir. Tedavi amacı dışında da büyük miktarlarda kullanılan antibiyotikler sadece Amerika Birleşik Devletlerinde üretilen antibiyotiklerin (15-25 bin ton) yaklaşık %70'i tedavi dışı amaçla kullanılmaktadır. Antibiyotikler üzerine yapılan çalışmalar sonucu antibiyotikleri; kimyasal yapı, metabolik mekanizma ve protein sentezi gibi mikrobiyolojik işlemlerine göre gruplara ayrılmaktadır (Levy ve Marshall, 2004; Tenover, 2006; Şekil, 3).



Şekil 3. Antibiyotik direncinin oluşması (URL-3).

Hastalık etkeni bakterilerin üremesinin engellenmesinde önemli bir role sahip olan antibiyotikler, bu tür bakterilerin yol açtığı hastalıkların tedavisinde tüm Dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır (Kümmerer, 2009). Son yıllarda yapılan araştırmalara göre birbirinden farklı birçok antibiyotik kullanıldığı görülmektedir. Antibiyotikler her ne kadar hastalıkların tedavisinde ve bakterilerin yok edilmesinde önemli bir etkiye

sahip olmasına rağmen bilinçsiz antibiyotik kullanımı ve gereksiz kullanım sonucu alıcı suşların çevre kaynaklı zarar görmesinden dolayı direnç genlerinin çoğalmasına ve yayılmasına ortam sağlayarak antibiyotiklerin bakteriler üzerinde etkisini azaltmaktadır (Andersson ve Levin, 1999).

Antibiyotik ve benzeri türdeki ilaç kullanımından kaynaklanan baskı özelliği duyarlı organizmalar üzerinde olumlu sonuç sağlarken bir yandan da dirençli bakterilerin bağışıklık sistemlerini daha dirençli hale getirerek ortamda çoğalmasını ve yayılmasına neden olmaktadır. Bakteriler mikrobiyal yapısı bakımından antibiyotiklere karşı direnç sergileyebilir veya dışarıdan gen transferi yaparak savunma mekanizması oluşturabilirler (Hernandes Coutinho vd., 2013).

Bu tür sonuçların meydana gelmesinden dolayı bilim adamları antibiyotik dirençli bakteriler ve direnç genleri üzerine yoğunlaşmış bu konu hakkında araştırmalarda bulunmuşlardır (Pruden vd., 2006; Wright, 2010). Bu tür olayların önem sarf etmesi diğer kirleticilere göre çevrede var olma, üreme ve diğer bölgeleri istila etme gibi özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Pruden vd., 2006). İnsanoğlu yaşamı boyunca sucül çevreye bağımlı ve etkileşim halinde olduğu için bu ekosistemde oluşmuş dirençli bakterilerin ve genlerin insan sağlığına birinci dereceden olumsuz etkisi olmaktadır (Jalal vd., 2012). Bu nedenle bu çalışmaların yapılması dirençli bakterilerin gelişimi ve ekolojisinin bilinmesini sağlayacak bundan sonra yapılacak olan çalışmalara yol gösterecektir (Martinez, 2012).

Bakteriyel enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotikler zamanla bakteriye karşı etkilerini kaybederek etkisiz hale gelirler. Bunun nedeni ise bu antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin oluşması ve ortamda yayılarak antibiyotiklerin toksik konsantrasyonlarda bile sürekli üreme yeteneğine sahip olmalarıdır. Dirençli olan bakteriler canlıların sağlığının tehdit ettiklerinden dolayı, küresel anlamda Dünyada ciddi bir sağlık problemi haline gelmiştir (Levy ve Marshall, 2004). Bu sorun tüm antibiyotikler için geçerli olduğundan önem arz etmektedir (D'Costa vd., 2006). Hatta, geçmişte bazı bakteriyel hastalıkların iyileştirilmesi (tifo) ya da kontrol altına alınması (tüberküloz) sağlanırken dirençli genlerin oluşmasıyla bu olay tekrardan tehlike haline gelmiştir (Pruden vd., 2006).

1.6. Bakterilerde Antibiyotik Direncinin Gelişimi

Diğer canlılara nazaran daha kısa hayat döngüsüne sahip olan bakteriler; bu özelliğinden dolayı yeni ortamlara daha kolay uyum sağlayıp, daha hızlı çoğalabilmektedirler. Bakteriler yaşam ortamlarında, direncinin olmadığı olumsuz değişimler meydana geldiği zaman mutasyon ve direnç genleri edinerek dirençli hale gelebilmektedirler. Ortamda antibiyotik bulunduğu mikrobiyal populasyonlar arasında direnç özelliklerinin yayılması çok hızlı olmaktadır (Zhang vd., 2011).

Antibiyotiklerin bakteriler üzerinde direnç geni oluşturma gibi direk bir rolü yoktur. Bakteriler üzerinde oluşan direnç genleri, bakterinin bulundurduğu yapı molekülleri veya enzimlerini kodlayarak meydana gelen DNA eşleşmesi sonucunda oluşan mutasyonlarla belirli olan enzimlerin genlerini taşıyan plazmit, transpozonlar ve integronlar gibi genetik olayların gerçekleşmesiyle meydana çıkmaktadır (Töreci, 1999).

Direnç mekanizmasını bakteriler üç farklı yöntem ile kazanırlar. Bu yöntemlerden ilki bakterilerin yapısal ve işlemsel özelliklerini sağlayan hücrelerinde görülmektedir. Bu dirence örnek olarak; *Pseudomonas aeruginosa* türünün penisiline, gram negatifin vanakomisin'e, anaerob bakteride elektron transport bulunmadığı halde aminoglikozide karşı sergilediği direnç bu örneklerden bazılarıdır. Diğer bir yöntem ise uzun ve uygunsuz bir şekilde antibiyotik kullanım sonucu oluşan primer dirençtir. Son direnç mekanizması ise sekonder olarak ifade edilen dirençtir. Bu savunma mekanizması direnç geni taşıyan bakterilerin transdüksiyon ve konjugasyon sonucu oluşan mutasyonlarla bakterilerin antibiyotiğe karşı permeabilitesi azalabilir ve dirençli hale gelebilir. Bu direnç mekanizmasının gerçekleşmesinde kromozomal plazmit köprü görevi görebilir.

Çok hücreli organizmalar antibiyotik etkisine maruz kaldıklarında yaşadıkları toplulukta büyük değişiklikler meydana gelmektedir. Bu süreçte mikrobiyal çeşitlilik sayısında azalma meydana gelmektedir (Dethlefsen vd., 2008). Sonuç olarak, az miktarda organizmaya sahip olan taksonlar elemine edilebilmektedir (Jernberg vd.,

2007). Buna rağmen, toplam bakteri miktarındaki direncin zamanla çeşitlenmesi de meydana gelmektedir (Dethlefsen vd., 2008).

Hücre duvarı geçirgenliğini değiştiren mutasyon nedeniyle direnç geni oluşturan bakterilerin çoğalma hızı ortamda bulunan antibiyotik ile doğru orantılıdır. Ortamda antibiyotik bulunmadığı zaman üreme yönünden duyarlı bakteriler, dirençli bakterilere nazaran daha hızlı üreyeceğinden süreç sonunda dirençli bakteriler yok olacaktır. Fakat ortama antibiyotik girmesiyle beraber bu süreç değişecek, antibiyotiğe karşı hassas olan bakteriler yok olurken dirençli bakteriler çoğalacaktır.

1.6.1. Doğal (İntrinsik) Direnç

Antibiyotiklere karşı bakterilerin direnç oluşturmaları doğal yapıları olarak önemli ve güncel bir olay olarak gösterilebilir. Bu durum bakterilerin genel özelliği olup, direnç mekanizması sergilemesinin antibiyotik kullanımı ve genetik ile ilişkisi yoktur. Bu durum bakterilere has bir özellik olarak verilen antibiyotiğin hedefine ulaşmamasına veya antibiyotiğin kendi yapısından kaynaklanan bir durum yüzünden hedefine idrak edememesinin bir sonucudur. Örnek olarak; rifampisin antibiyotiği hidrofobik olduğundan gram-negatif bakteri duvarını geçemez ve doğal direnç ortaya çıkar (Çiftçi ve Aksoy, 2015).

Antibiyotiklerin mikroorganizmalara etki edebilmesi için canlının aktif üreme döneminde olması gerekmektedir. Metabolik olarak hareketli olan mikroorganizmalar antibiyotiklere fenotipik olarak dirençli olabilirler fakat bunlardan oluşan yeni nesiller antibiyotiklere duyarlıdır. Örneğin; penisilinlere duyarlı olan bakterilerin herhangi bir nedenle hücre duvarını kaybederek bakterinin L formuna dönüşmeleri sonucunda bakteriler hücre duvarı inhibitörü antibiyotiklere dirençli olurlar. Birkaç nesil sonra bakteri hücreleri hücre duvar üretimine devam ederek bakteriyel öncüllerinin formuna dönuştüklerinde tekrar hücre duvarını kazanacaklarından penisiline duyarlılık kazanabilirler (Öztürk, 2002).

1.6.2. Kazanılmış Direnç

Kazanılmış direnç, antibiyotiğe karşı hassas olan bir bakterinin doğrudan veya dolaylı olarak bu antibiyotik karşısında sergilediği direnç mekanizmasıdır. Antibiyotik, bakteri ile ilk temas kurduklarında etkin bir haldedir, fakat tekrarlanan süreçte bakteriler antibiyotik karşısında direnç mekanizması sergileyerek etkisini azaltacaktır. Bu mekanizma bakterilere göre farklılık gösterebilir. Bu direnç biyokimyasal ve genetik olmak üzere iki grupta incelenmektedir. Biyokimyasal mekanizmalar ise kendi içerisinde dört farklı gruba ayrılmaktadır. Bakteri, direnç mekanizmalarından birini, bazen de birden fazla direnç mekanizması kullanarak antibiyotiklere karşı direnç kazanabilmektedir. Bu tür kazanımların nedeni ise antibiyotığın özelliğine, amacına, etki ettiği bakterinin türüne ve plazmit varlığına göre değişmektedir (Çiftci ve Aksoy, 2015).

1.7. Antibiyotik Direncinin Yayılmasında Kirliliğin Rolü

Ekosistem birbiri ile etkileşim halinde olduğu için tıp, veterinerlik, zirai alanlarda oluşan hastalıkların tedavisinde kullanılan antibiyotikler bilinçsiz, uzun süreli ve düzensiz kullanım sonucu bakteriler karşısında etkisiz olarak direnç oluştururlar (Al-Jebouri, 1985; Col ve O'Connor, 1987; DuPont ve Steele, 1987). Antibiyotiğe dirençli olan bakteriler diğer ortamlara taşınarak buradaki bakteriler üzerinde baskın hale gelirler. Ortamda bulunan bakteriler baskıya karşı kendi savunma mekanizmalarını oluşturarak kendilerini kontrol altına alırlar. Plazmit gibi hareketli genetik elemanlar aracılığıyla da antibiyotik direnç genleri birbiriyle ilişkili olan bakteri türleri arasında kolayca paylaşılmaktadır (Davidson, 1999).

Bakteriler karşısında kullanılan antibiyotikler sonucu oluşan antibiyotik direnç genleri doğal ortamlarda bulunan diğer mikroorganizmalar ile insan ve hayvan kaynaklı bakteriler arasında direnç genlerini aktarımına neden olmaktadır (Baquero vd., 2008). Bu aktarım sonrasında ise bakterilerin gen havuzunda değişikliklere rastlanır. Bu değişiklikler sonucu ekolojik dengenin zarar görmesi ve ortamda bulunan bakteriler doğal seleksiyona uğrayarak daha güçlü bir halde direnç genlerine sahip olmaktadır (Jorgensen ve Halling-Sorensen, 2000; Levy ve Marshall, 2004). Böylelikle suçul

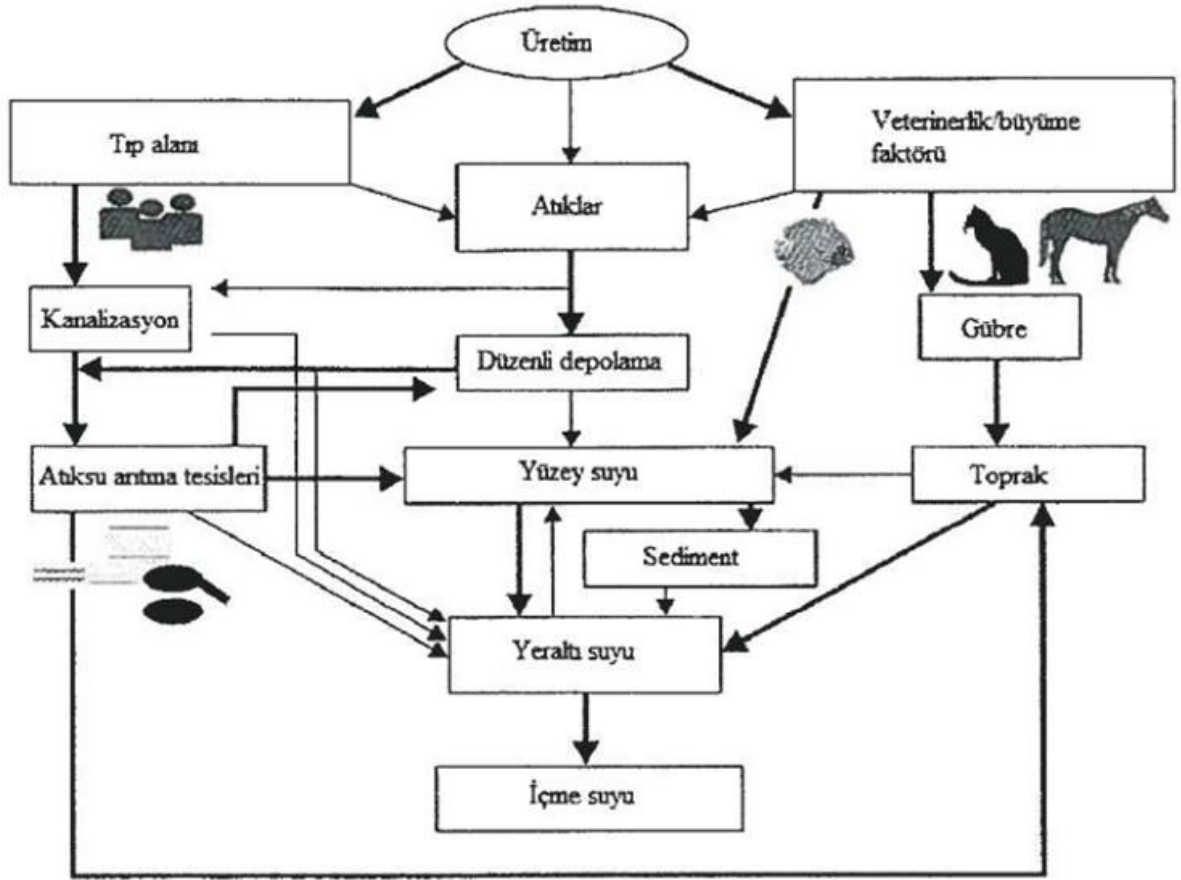
Çevrede direnç genleri her geçen gün artarak ekosistem için bir tehdit oluşturmaktadır (Kümmerer, 2004).

Bakterilerin yeni bir ortama adapte olmaları ve yeni seçici baskılara cevap verebilme yetenekleri yatay transfer ile açıklanabilir. Yatay transfer mutasyonla uyum sağlamaktan daha hızlı meydana gelmektedir (Lawrence, 1997). Örneğin antibiyotik direnç genlerinin yayılması çevrede bulunan bu antibiyotiklerin miktarlarındaki artıştan dolayı oluşan seçici baskıdan dolayı bakteriler arasında yatay gen transferleri meydana gelmektedir (Salyers ve Shoemaker, 1996).

E. coli suşları arasındaki gen rekombinasyonu tanımlandığı 1946 yılından itibaren (Lederberg ve Tatum, 1946), DNA'nın transferi, alımı ve entegrasyonu detaylı olarak araştırılmaktadır. Bakterilerdeki gen transferinin 3 farklı mekanizma ile meydana geldiği belirlenmiştir. Bunlar; transformasyon, transdüksiyon ve konjugasyondur. Transformasyon, ift sarmal DNA parçalarının kompetent bakteri hücre tarafından alınması işlemidir. Yeni DNA bakteriyel kromozomun içine yerleşip ve sonrasında alıcı hücre ile kendisini yenileyebilir. Transdüksiyon ise enfeksiyon aşamasında verici DNA gen aktarıcı bakteriyofaja girdiğinde ve alıcı hücreye enjekte edildiğinde transdüksiyon olmaktadır. Konjugasyon vericideki plazmitin alıcıya aktarılması ile meydana gelir. DNA transfer yöntemleri bakteriyel moleküler genetiği anlamamıza katkı sağlamakta ve genetik mühendisliği teknolojisinin gelişiminde önemli faktör olarak karşımıza çıkmaktadır.

Araziye yayılmış olan arıtma çamurlarında ve çiftlik hayvanı yetiştiriciliğinden elde edilen gübrede bulunan antibiyotik aktif maddeleri sızıntı ile yer altı sularına ve sucul çevreye ulaşırlar. Balık iftliklerinde kullanılan antibiyotikler ise doğrudan sucul çevrede birikirler (Halling-Sorensen vd., 1998, Kümmerer, 2004). Çeşitli yollarla çevreye giren antibiyotik aktif maddeleri hastane atık sularında (Brown vd., 2006), arıtma tesisi çıkışında (Hirsch vd., 1999), kentsel atık sularda (Golet vd., 2001), yeraltı ve yüzey sularında (Hirsch vd., 1999), sedimentte ve nehir sularında (Halling-Sorensen vd., 1998) ok düşük konsantrasyonlarda bulunabilmektedir.

İnsani tüketim ve boşaltımdan sonra antibiyotikler ve antibiyotik kalıntıları alıcı ortamlara karışmaktadırlar. Suni gübre olarak toplama tanklarında saklanan hayvan atıklarındaki antibiyotik kalıntıları toprağa ve daha sonra alıcı sulara karışmaktadır. Ayrıca bu kalıntılar yağışlarla birlikte yüzey sularına karışmaktadır. Hayvan üretim çiftliklerine yakın yerlerdeki yüzey ve yer altı sularının 10 µg/l ye kadar antibiyotiklerle kontamine olduğu belirtilmiştir (Campagnolo vd., 2002). Antibiyotiklerin sucül çevreye karışmasında olası yollar Şekil 4’te gösterilmiştir.



Şekil 4. Antibiyotiklerin sucül çevreye ve içme suyuna karışma yolları (Ternes, 1998).

Hedef organizması bakteriler olan antibiyotiklerin çok düşük konsantrasyonlarda atık su arıtma tesislerinden alıcı ortama sürekli olarak deşarj edilmesi, mikrobiyal ekoloji üzerinde olumsuz etki meydana getirdiği gibi mikroorganizmaların antimikrobiyal ilaçlara karşı direnç geliştirmesine de neden olabilmektedir (Jorgensen ve Halling-Sorensen, 2000; Costanzo vd., 2005; Sungpyo ve Diana, 2007).

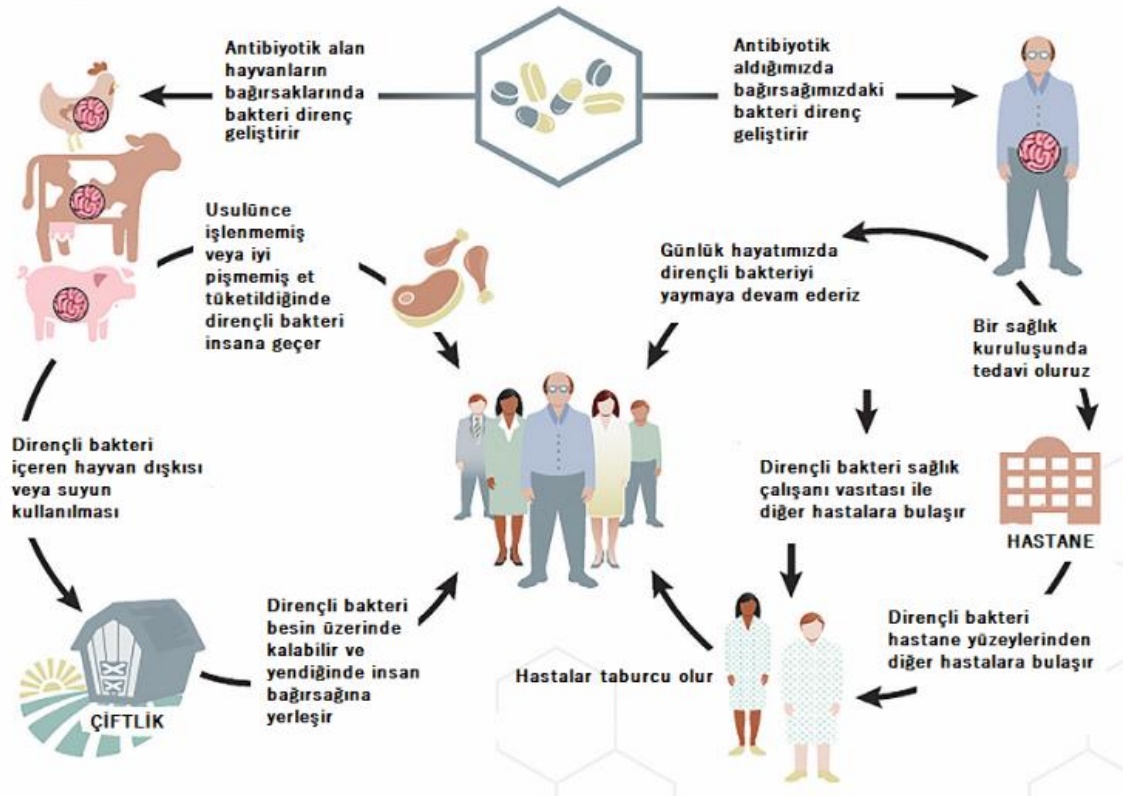
Antibiyotiklerin üretim ve tüketimindeki artışa bağlı olarak gelişen antibiyotik direnci sucul çevrede doğal olarak bulunan mikroorganizmalar ile insan ve hayvan kaynaklı mikroorganizmalar arasında direnç genlerinin aktarımına neden olur (Baquero vd., 2008). Bu aktarım sonucunda mikroorganizmaların gen havuzunda önemli değişiklikler gözlenir. Bu uzun vadeli ve geri dönüşümsüz etkiler sonucunda ekolojik dengenin bozulması, bakterilerin içinde bulunduğu ortamda doğal seleksiyon geçirerek antibiyotiklere karşı direnç genleri oluşturmaya ortam sağlamaktadır (Jorgensen ve Halling-Sorensen, 2000; Levy ve Marshall, 2004). Bu şekilde sucul çevrede direnç genlerinin gittikçe artışı ekolojik bir problem olarak ortaya çıkmaktadır (Kümmerer, 2004).

Antibiyotik direnç genlerinin sucul ekosisteme atıksu arıtma tesisleri tarafından aktarılması ile oluşan antibiyotik direnci toplumun ve ülkelerin önemli bir sorunu haline gelmiş olup ülkemizde de çok ciddi bir “çevresel kirlilik” problemidir (Rysz vd., 2004).

Özgümüş vd. (2007), Rize’de halkın kullandığı içme sularından (musluk ve pınar suları) izole ettikleri çoğul antibiyotik dirençli fekal koliform bakterilerdeki antibiyotik direncinin hareketli genetik elemanlar olan konjugatif R plazmitleri, transpozonlar ve integronlar tarafından taşındığını tespit etmişlerdir. İçme sularında bulunan fekal kökenli 117 *E.coli* suşundan üçünde *dhfr1-aadA1* (1586 bç) ve *dfrA17-aadA5* (1683 bç) gen kasetlerini içeren sınıf 1 integronları belirlemişlerdir. Tetrasiklin direncinin moleküler mekanizmasını da inceledikleri çalışmalarında, tetrasikline dirençli 8 *E.coli* suşundan dördünde *tet(A)* genini, ikisinde *tet(B)* genini, birinde hem *tet(A)* hem de *tet(B)* genini saptamışlar fakat *tet(C)* genini tespit edememişlerdir.

Çolakoğlu vd. (2010), Rize deniz suyu örneklerinden izole ettikleri koliform bakterilerde, tetrasikline dirençli suşlar arasında *tet(B)* geninin yaygın olduğunu fakat *tet(A)* ve *tet(C)* genlerinin bulunmadığını tespit etmişlerdir. Ayrıca bir *E. coli* suşunun sınıf 1 integron (2.0 kb), diğer bir *E. coli* suşunun ise sınıf 2 integron (2.2 kb) taşıdığını ve DNA dizi tahlili ile *class 1* ve *class 2* integronların sırasıyla *bla_{OXA-30}-aadA1* ve *dfrA1-sat2-aadA* gen kasetlerini içerdiğini göstermişlerdir.

Çiftçiler çiftliklerde yetiştirdikleri hayvanlarda büyümeyi hızlandırmak, hastalık öncesi profilaktik hem de hastalık sonrası terapötik amaçlı olarak yüksek dozlarda antibiyotik kullanmaktadırlar. Bu maddelere maruz bırakılan hayvanlar diğer bir taraftan dirençli bakterilerle yüz yüze gelmektedirler. Dirençli bakteriler içeren hayvan dışkılarının gübre olarak kullanıldığı topraklarda antibiyotik direnci yetiştirilen bitkilere bulaşmasıyla antibiyotik direnç genleri kontrolsüz bir şekilde tüm yaşam alanlarına yayılmaktadır (Pruden vd., 2006; Şekil 5). Çok hücreli canlılar bünyelerinde bulunan mikroorganizmaları çevresindekilerle değiştirmek zorunda kalmaktadır. Bundan dolayı, insanlar ve hayvanlar da antibiyotik dirençli bakterilerin yayılmasında etkin rol oynamaktadırlar (Allen vd., 2010).



Şekil 5. Antibiyotik direncinin insan ve hayvanlar yoluyla çevreye yayılması (URL-4).

1.8. Önceki Çalışmalar

Canlılar tarafından doğrudan veya dolaylı olarak nehir, göl ve deniz çevresine, bilinçsiz bir şekilde bırakılan atıkların geri dönüşüm olarak değerlendirilmemesi ya da bu arıtım işlemlerinin yetersiz oluşundan ötürü biyolojik hayatın sürekliliği ve verimliliği sürekli risk altındadır. Bu ortamlardaki kirlilik oranının artması o suların

bulunduğu çevreyi de olumsuz etkilemektedir. Birçok nedenden dolayı gerçekleşen bu kirlilik, yaşam kalitesini ve insanların hayatını devam ettirebilmesi için gerekli olan doğal kaynakların varlığını olumsuz bir şekilde etkilemekte olup büyük önem taşımaktadır. Bununla beraber tarım arazilerinde ve balık çiftliklerinde bilinçsiz ve kontrolsüz bir şekilde kullanımı yapılan antibiyotikler alıcı suşlara karıştıklarında buradaki mikroorganizmalarda direnç geni oluşturarak antibiyotiklere karşı savunma sergiledikleri bilinmektedir. Son zamanlarda yapılan araştırmalar sonucu kültür balıkçılığı yapılan işletmelerde kullanılan antibiyotikler sucul ekosisteme zarar vermekte ve dirençli bakterilerin çoğalmasına neden olmaktadır (Kümmerer, 2009). Bu tür olaylar sonucu ortamda bulunan dirençli mikroorganizmalar direnç genlerini hastalıklı olan veya olmayan bakterilere aktarmasıyla sorun daha da büyümektedir.

Literatürde denizel ortamlarda, lagün, göl, deniz, dere, nehir ve içme sularından izole edilen bakterilerin antibiyotiklere karşı göstermiş oldukları direnç veya hassasiyetler ile ilgili birçok çalışma mevcuttur (Toroglu vd., 2005; Yardımcı, 2009; Su vd., 2011; Shah vd., 2012). Bu çalışmalar incelendiğinde bakterilerin izole edildikleri yer, zaman ve test edilen antibiyotiklerin ve konsantrasyonlarındaki farklılıklardan dolayı bakteriler arasında direnç farklılıkları gözlemlenmektedir.

Çardak ve Altuğ (2010), İstanbul Boğazı'nda *Enterobacteriaceae* ailesinin tür dağılımını detaylı bir biçimde araştırdıkları çalışmalarında en yaygın türün *E.coli* (%28) olduğunu ortaya koymuşlardır. Güneybatı sahilinde yapılan bir diğer çalışmada enterik bakteriler içerisinde en sık *E.coli* (%36,7) türünün bulunduğu bildirilmiştir. Bu sahilde alınan numuneler izole edilerek yapılan çalışmalar sonucu enterik bakterilerde en yüksek direnç oranı ampisilin antibiyotiğine (%100) karşı saptanırken imipenem antibiyotiğine direnç saptanmamıştır (Sivri ve Şeker, 2010).

Matyar (2012), Doğu Akdeniz kıyılarında yaptığı çalışmada ise deniz suyundan izole edilen bakterilerde en yaygın türün *E.coli* (%8,2) olduğunu rapor etmiştir. Ayrıca, Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki tatlı su ortamlarından izole edilen *Enterobacteriaceae* üyesi olan koliform bakterilerde en fazla direncin sulfametaksazol ve ampisilin antibiyotiklerine karşı olduğu bildirilmiştir (Terzi, 2013; Capkin vd., 2015).

Başka bir çalışmada Rize ve Trabzon'daki bazı derelerden izole edilen bakterilerde bakterilerin ampisilin, streptomisin, trimetoprim ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı direnci sırasıyla %58, %52, %24 ve %28,4 olduğu bildirilmiştir (Ozgumus vd., 2009).

Diğer bir çalışmada ise Trabzon'daki derelerden izole edilen fekal koliform bakterilerde bakterilerin hepsinin en az bir antibiyotiğe dirençli olduğu ve bakterilerin en fazla ampisilin antibiyotiğine (%73) karşı direnç sergilediği tespit edilmiştir (Sevim, 2005).

Vural ve Akçin (2011), İzmit Körfezi'nde yaptıkları çalışmada *E.coli* suşlarının antibiyotiklere dirençliliklerini tetrasikline (%50), sulbaktam-ampisiline (%62,5), penisiline (%62,5), amikasinine (%12,5), kloromfenikole (%37,5) ve trimetoprim/sulfametaksazole (%62,5) olarak tespit etmişlerdir.

Kacar (2011), İzmir kıyı bölgeleri dâhilinde 4 istasyondan aldığı *M. galloprovincialis*'in bazı mikrobiyal karakteristiklerini belirlemek için yapmış olduğu bir çalışmada, tüm istasyonlarda maksimum fekal koliform sayısını Mart, Mayıs ve Kasım aylarında $2,4 \times 10^5$ MPN/100 g olarak tespit etmiştir.

Croci vd. (2002), *Mytilus galloprovincialis*'in tüketim için uygunluğunun bir indikatörü olarak kullanılan *E. coli*'nin indikatör olarak yeterli olup olmadığını belirlemek amacıyla temsilci olarak iki patojenik vibrio (*V. cholerae* O1 ve *V. parahaemolyticus*)'nun davranışlarını araştırmışlardır. *M. galloprovincialis*'i her üç bakteriyle kontamine ettikten sonra sayılarını belirlemek için En Muhtemel Sayı (EMS) metodunu kullanmışlar ve sonuç olarak, yumuşakçalar diğer mikroorganizmalardan arındığında indikatör olarak kullanılan *E. coli*'nin yetersiz olduğunu saptamışlardır.

Kamruzzaman vd. (2013) nehir ve göllerin yüzey sularından izole edilen *E.coli* suşlarında ampisilini en dirençli, imipenem ve meropenem antibiyotiklerini ise en duyarlı antibiyotikler olarak rapor etmişlerdir.

Kaşgar (1992), İstanbul boğazının Rumeli Kavağı bölgesinden çıkarılan midyeler ve onların yaşadığı ortam olan deniz suyundaki fekal koliform bakterileri incelemiştir. Topladığı midyelerden izole ettiği *E. coli* suşlarının biyokimyasal ve üreme özellikleri üzerine yapmış olduğu çalışmada, gerek midye, gerekse deniz suyunda saptanan fekal koliform sayısının standart değerlerin çok üzerinde olduğunu saptamıştır. Ayrıca, yapılan değerlendirmelerde bu sayıların özellikle yaz aylarında arttığı kış aylarında ise azaldığını tespit etmiştir.

Phuong Hoa vd. (2008) Kuzey Vietnam'da yapmış oldukları bir araştırmada atık su ve karideslerden izole edilen bakterilerde sulfonamid dirençli genlerde en fazla *sul1* geni olmak üzere sırasıyla *sul2* ve *sul3* genini belirlemişlerdir. Araştırma sonucu bulunan bu genlerin sadece %2 sinde üç gene rastlanmıştır. Bu çalışma sonucunda atık su ve karideslerden izole edilen bakterilere bakılarak numune alınan yerlerin sulfonamid genlerine ortam sağladığı ve bakteriler arasında plazmit bakımından gen aktarımına uygun olduğu belirtilmiştir.

Marisol vd. (2000) nehir sularından izole ettikleri *Enterobacteriaceae* (110) ve *Aeromonas* (118) bakterileri üzerine yaptıkları çalışma sonucu *Enterobacteriaceae* ve *Aeromonas*'ın nalidik asite sırasıyla %20 ve %72'den fazlasının dirençli olduklarını belirtmişlerdir.

Mudryk vd. (2010) Baltık Denizi'nin güney kıyılarında deniz suyundan izole ettikleri bakteriler üzerine yapmış oldukları çalışmada 49 bakteri türünden 19 tanesinin test edilen antibiyotiklere karşı duyarlı olduğu, 30 bakteriden ise en az bir tanesinin direnç geni taşıdığı raporlanmıştır. Raporlanan 30 izolatın direnç düzeylerine bakıldığında değerler sırasıyla AM %12, C %8,3, CIP %4,2, E %6,3 ve CXM %8 olarak gösterilmiştir.

Muirhead vd. (2004) yürüttükleri bir çalışmada, bir deredeki *E. coli* yoğunluğunun, sel veya yağmur olaylarından sonra %59 oranında azaldığını belirtmektedirler. Sullivan vd. (2005) su sınırları; insanlar, süt inekleri ve tarımsal alanların bulunduğu bölgelere yakın olan akıntılarda fekal koliform bakterilerin oldukça fazla olduğunu belirtmişlerdir.

Keban Baraj Gölü'nün Koç kale bölgesinde yapılan bir çalışmada 203 tane canlı su midyesi ve 10 tane su örneği bakteriyolojik yönden incelenmiş, yapılan araştırmalar sonucu bölgede fekal kirlenmenin olduğu ve bölgede bulunan midyelerin insan sağlığı için tehlike arz ettiği ancak suların kirliliğini temizleyici görevi üstlendiği bildirilmiştir (Şeker, 1997).

Matyar vd. (2008) İskenderun Körfezi'nde yapmış oldukları bir araştırmada deniz suyu, sediment ve karideslerden alınan 31 farklı (236) suş Gr(-) bakteri izole etmişlerdir. Disk difüzyon yöntemi ile izole ettikleri bu bakterilerin 16 farklı antibiyotiğe karşı direnç seviyeleri test edilmiş ve en yüksek direnç %93,2 ile ampsilin bulunmuştur. Bunu sırasıyla streptomisin (%90,2) ve cefazolin (%81,3) izlemiştir. Bakterilerin %56,8'i 7 ve daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli olduğu raporlanmıştır.

1.9. Çalışmanın Amacı ve Gerekçesi

Ülkemizde sucul çevrede bulunan fekal koliformların antibiyotik direnç fenotipi ve genotipi ilgili çalışmalar rapor edilmesine rağmen, antibiyotik direncinin moleküler mekanizmaları ve ekolojileri üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Özgümüş vd., 2007; Çolakoğlu vd., 2010; Sandallı vd., 2010). Önceki çalışmalar, sucul ekosistemde antibiyotiklere direncin evrimi ve hareketli antibiyotik direnç determinantlarının moleküler epidemiyolojisi gibi konuların yeni olduğunu ve araştırmaların belirli bir bölge ile sınırlı kaldığını göstermektedir. Dolayısıyla sucul ekosistemlerdeki bakteriyel popülasyonlar da yapılacak antibiyotik direnç profili ile ilgili daha kapsamlı ve çeşitli moleküler çalışmalara ihtiyaç olduğu açıkça görülmektedir. Bu bağlamda, yapmış olduğumuz çalışmamızda antibiyotiklere dirençli bakterilerin atık sular, dereler veya diğer su akımları vasıtasıyla denizlere ulaşarak rekreasyon ve balıkçılık aktiviteleri amaçlı kullanılan deniz ekosistemlerine yayılmasında rol oynayan integronlar ve direnç genleri araştırılmıştır.

Çevrenin insan sağlığını tehdit eden direnç özelliklerinin potansiyel kaynakları olduğunun belirlenmesi bakteriyel hastalıklarla mücadele etmek için son derece önemlidir (Martinez, 2012). Bu riskleri arttıran kirleticilerin belirlenmesinin de ayrı bir önemi vardır. Bakterilerin antibiyotiklere karşı sergilemiş oldukları direnç o ortam

hakkında antibiyotiklere maruz kalma açısından bilgi verebilmektedir. Canlıların bakteriyel hastalık tedavisinde kullanılan antibiyotikler en son alıcı ortam olan denizlere ulaştıklarında bu ortamlarda bulunan bakterilerde direnç seviyelerinde artışlara sebep olmaktadır. Yapılacak olan bu çalışmada *E.coli* izolatlarında oluşan direncin seviyesi, türü ve bu dirençten meydana gelen genetik elemanların aktarılabiliirliğinin takip edilmesi gerekmektedir.

Bu çalışma kapsamında Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki kabuklu türlerinden deniz salyangozu ve kara midyeden izole edilen *E.coli* bakterilerinde antibiyotik direnç durumu, bakterilerde direnç geni bulundurma durumları moleküler biyolojik yöntemlerle analiz edilecektir. Direnç genlerini bir havuzda toplayarak suşların çoğul antibiyotik dirençli olmasına neden olan ekstrakromozomal elemanların moleküler yapıları ile direnç seviyesi araştırılacak ve incelenecektir. Direncin ortaya çıkma zamanı, midye ve salyangozdan izole edilen bakterilerde direnç geni farklılıkları, direncin aktarılabiliir boyutu konjugasyon deneyleri ile gerçekleştirilecektir. Ülkemizde böyle çalışmalara son yıllarda ağırlık verilmeye başlanmış olmasından dolayı bahsi geçen ortamlardan izole edilen bakterilerle ilgili çalışmalara rastlanmadığından söz konusu alanın hem antibiyotik direnci fenotipik bakımdan durumu ortaya koyulacak hem de bu direnci sağlayan antibiyotik direnç genlerinin varlığı da moleküler teknikler kullanılarak genotipik olarak ortaya koyulmuştur.

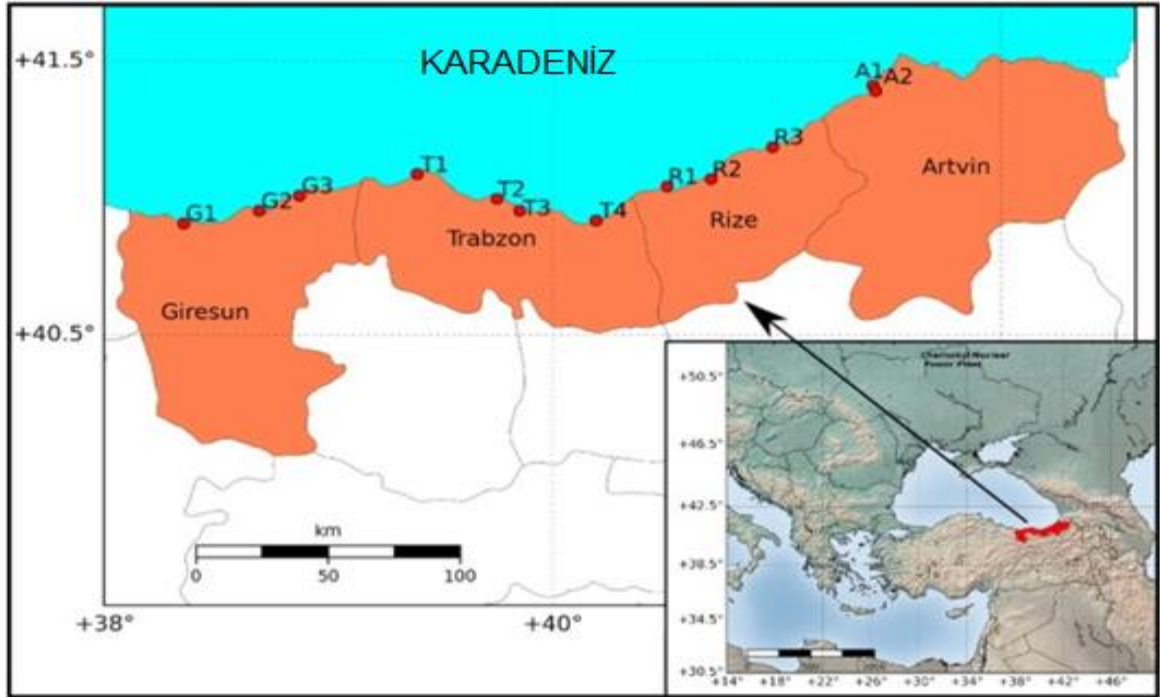
Doğu Karadeniz Bölgesi'nden toplanan kara midye ve deniz salyangozlarından izole edilen *E.coli* izolatlarında;

- İzole edilen izolatların mevcut antimikrobiyal hassasiyet seviyelerinin belirlenmesi,
- İki veya daha fazla antibiyotiğe direnç gösteren suşların ortaya koyulması,
- İzolatların MAR indekslerinin belirlenerek izole edildikleri ortamın kontaminasyon durumunun ortaya koyulması,
- Antibiyotik direnç genlerinin ve dirençten sorumlu genlerin hangilerinin plazmitler aracılığıyla aktarılabiliirliğinin araştırılması ve bunun sonucunda da direnç oluşturan bakterilerin ve direnç kazanılan antibiyotiklerin genetik profilinin çıkarılması amaçlanmıştır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal ve Metot

Doğu Karadeniz Bölgesi'nin tamamının örneklenebilmesi için bölgede bulunan Giresun, Trabzon, Rize ve Artvin sahillerinden toplam 12 istasyon seçilmiş ve bu istasyonlardan kara midye (*Mytilus galloprovincialis*) ve deniz salyangozu (*Rapana venosa*) örnekleri toplanmıştır. Örnekler 2 ile 10 metre arasındaki derinliklerde tüplü ve serbest dalış tekniğiyle temin edilmiştir. Örneklerin işlenmesi ve bakteriyel izolasyon ve identifikasyon işlemleri Civelek (2019) tarafından ayrıntılı olarak verilmiştir. Örnekleme alanı ve koordinatları Şekil 6 ve Tablo 1'de gösterilmiştir.



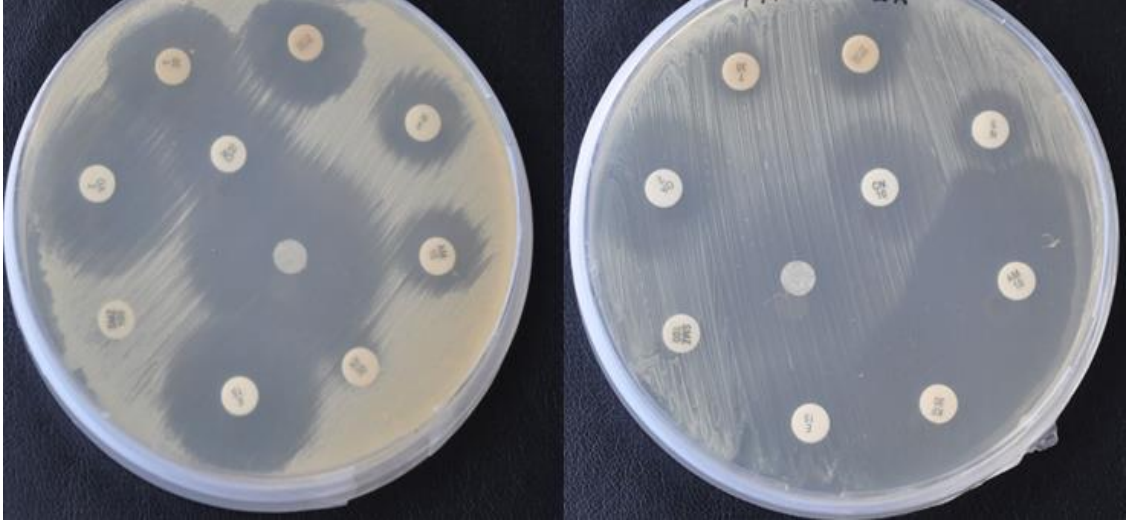
Şekil 6. Kara midye ve deniz salyangozu örneklerinin toplandığı istasyonlar.

Tablo 1. Araştırma için numune alınan yerler ve koordinatlar.

İl/İstasyon	İstasyon 1	İstasyon 2	İstasyon 3	İstasyon 4
Giresun	Batlama Deresi	Yağlıdere	Harşit Çayı	
	40°54'34.4"N	40°56'49.1"N	41°00'32.5"N	
	38°21'22.2"E	38°41'30.9"E	38°50'47.8"E	
Trabzon	Çarşıbaşı	Değirmendere	Yomra Deresi	Sürmene Tersanesi
	41°05'06.8"N	41°00'08.2"N	40°57'20.0"N	40°55'17.9"N
	39°22'45.0"E	39°45'25.7"E	39°52'05.2"E	40°11'15.4"E
Rize	Rize Limanı	Çayeli Limanı	Ardeşen Limanı	
	41°02'15.9"N	41°05'27.1"N	41°11'24.0"N	
	40°30'34.3"E	40°43'29.5"E	40°57'43.8"E	
Artvin	Hopa Çayı	Hopa Limanı		
	41°23'32.6"N	41°24'39.5"N		
	41°25'03.8"E	41°25'50.5"E		

2.2. Antimikrobiyal Hassasiyet Testi

İzole edilen ve stoklanan bakterilerin antimikrobiyal hassasiyet testleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018) kitapçığında belirtilen standart disk difüzyon metodu ile yapılmıştır. Antimikrobiyal hassasiyet testlerinde Ampisilin (AM; 10µg), Aztreonam (ATM-30µg), Kloramfenikol (C-30µg), Florfenikol (F-30 µg), Trimetoprim/Sulfametaksazol (SXT-25µg), Kanamisin (K-30µg), Sulfametaksazol (SMZ-100µg), Gentamisin (CN; 10µg), Oksitetrasiklin (T-30µg), Tetrasiklin (TE-30µg), diskleri kullanılmıştır. Diskler Mueller Hinton Agar besiyerine yerleştirildikten sonra plaklar 35 °C'de 18-36 saat inkübasyona bırakılarak ve inkübasyondan sonra inhibisyon zon çapları ölçülerek bakterilerin bu antibiyotiklere karşı direnç ve hassasiyetleri CLSI (2018) kitapçığındaki kriterlere göre dirençli (R) ve hassas (S) olarak kaydedilmiştir (Şekil 7). Antimikrobiyal hassasiyet testi yapılırken kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 kullanılmıştır.



Şekil 7. Antibiyogram testinde zon çaplarının görüntüsü.

2.3. Çoğul Antibiyotik Direnç İndeksi

Tüm izolatlar için Çoğul Antibiyotik Direnç (MAR) indeksi değerleri hesaplanmıştır (Krumperman, 1983). İzolatın dirençli olan antibiyotik sayısının, izolatın toplam antibiyotik sayısına oranı ile hesaplanan MAR indeksi ($MAR=a/b$); 0,2'den büyük olursa risk yüksek iken, 0,2'den küçük veya eşit olduğu ortamlarda ise antibiyotik ya nadirdir ya da hiç bulaşmamıştır (Krumperman, 1983). a: Bakterinin dirençli olan antibiyotik sayısını, b: Test edilen antibiyotik sayısını göstermektedir.

2.4. DNA ve Plazmit DNA İzolasyonu

Luria Bertani (LB) Broth besiyerinde üretilen bakteriler DNA izolasyonları için kaynatma yöntemi kullanılarak PCR işlemlerinde örneğe ait kalıp DNA hazır hale getirilmiştir. Kısaca LB Broth besiyerinde üretilen bakteriler 3000 x g'de 5 dk santrifüj (Şekil 8) yapıldıktan sonra üst kısım tüpten atılmıştır. Ardından üzerine 0,5 ml steril saf su (RNase ve DNase içermeyen) eklenerek homojen hale getirilmiştir. Ardından 10 dakika kaynatılmış ve soğutulmuştur. Numuneler tekrardan 1700 x g'de 5 dk santrifüj edilerek çöktürülmüştür. PCR işlemlerinde örneğe ait kalıp DNA üst kısımda bulunan sıvı kısımdan kullanılmıştır (Boran vd., 2013).



Şekil 8. Santrifüj işlemlerinde kullanılan cihaz.

Bakterilerden plazmit DNA izolasyonu QIAGEN plazmit izolasyon kiti (QIAGEN Inc., Chatsworth) kullanılarak yapılmıştır. LB besiyerinde 12-16 saatlik kültürü yapılan bakteriler (200-250 rpm) 1,5 ml lik ependorf tüplerine aktarıldıktan sonra 6500 x g’de santrifüj işlemi uygulanarak çöktürülmüştür. Üst kısım atıldıktan sonra kalan bakteri peletinin üzerine (200) Resuspension Solution eklenerek vortekslenmiştir. Ardından üzerine 200 µl Lysis Solution eklenerek 4-5 kez ters-düz edilerek karıştırılmıştır. Daha sonra 280 µl Neutralization Solution eklenerek hemen tüplerin ağzı kapatılıp 4-5 kez ters-düz edilmiştir. Tüpler santrifüje yerleştirilerek 14000 x g’de 5 dk santrifüj edilmiş, ardından süpernatantı spin kolona aktararak tekrardan 1 dk santrifüj edilerek tüplere koyulmuştur. Alınan kısma 400 µl Wash Solution eklenerek 1 dk santrifüj edilmiştir. Ardından alt kısma zarar verilmeden 1.5 ml ependorf tüplerine boşaltılmıştır. Daha sonra üzerlerine 50 µl elution buffer eklenip hafifçe çalkalanarak çözünmeye bırakılmıştır. Elde edilen plazmit elektroforez işlemine kadar 20°C’de saklanmıştır.

2.5. Antibiyotik Direnç Genlerinin PCR ile Tespiti

DNA izolasyonu ve plazmit izolasyonu sonucu elde edilen bakterilerde antibiyotik direnç genlerinin (sulfonamid; *sul1*, *sul2* ve *sul3*, beta laktam; *ampC*, *bla*_{CTX-M1}, amfenikol; *cmlA*, *floR*, kinolon; *qnrS*, aminoglikozit; *aadA* ve *Class 1* ve *Class 2* integron) varlığı Tablo 2’de gösterilen primerler kullanılarak PCR ile belirlenmiştir. PCR işlemlerinde ekstrakt edilen genomik DNA kalıp DNA olarak kullanılmıştır. PCR

karışımları (buz içerisinde) 25 µl'lik hacimlerde hazırlanmış olup içerisine 100ng kalıp DNA, 12,5 µl 2X Master Mix PCR karışımı (NEB, New England Biolab Master PCR kit), 100ng her primer ve 25 µl steril saf su koyulmuştur. Tüpler PCR işlemi için Thermal Cycler'a konmadan önce karışımın homojen hale gelmesi için karıştırıcılı santrifüjde ilk önce karıştırılıp ardından santrifürlenerek tüpün dibinde biriktirilmiştir.

Örneklerin antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesinde Biorad Thermal Cycler T100 cihazı kullanılmıştır (Şekil 9). PCR işleminde örnek DNA'sı içermeyen reaktif negatif kontrol kullanılmıştır. Reaksiyon toplamda 35 döngüde tamamlanmış olup, döngüler 95°C'de 30 sn denaturasyon, 48-59°C'de 45 sn tutunma ve 68°C'de 45 sn uzama şeklinde gerçekleşmiştir. Reaksiyon ilk döngüye başlamadan önce 95°C'de 30 sn ve son döngüden sonra 68°C'de 1,5 dk bekletilmiştir (Tablo 3).

Tablo 2. Antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesinde kullanılan primerler.

Sekans (5' - 3')	Hedef Gen	PCR Ürünü Boyut	Tutunma Sıcaklığı (°C)	Kaynaklar
CGGCGTGGGCTACCTGAACG GCCGATCGCGTGAAGTTCCG GCGCTCAAGGCAGATGGCAT	<i>sul1</i>	433	59	Kern vd., 2002
GCGTTTGATACCGGCACCCGT TCAAAGCAAAATGATATGAGC TTTCAAGGCATCTGATAAAGA	<i>sul2</i>	293	59	Kern vd., 2002
TTCTATCAAMACTGGCARCC CCYTTTTATGTACCCAYGA TGTCATTACGGCATACTCG	<i>sul3</i>	787	48	Heuer ve Smalla, 2007
ATCAGGCATCCCATTCCCAT CACGTTGAGCCTCTATATGG ATGCAGAAGTAGAACGCGAC	<i>ampC</i>	550	48	Schwartz vd., 2003
GCAAGTTCATTGAACAGGGT TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG TGATTGCTGGTTACGGTGAC	<i>cmlA</i>	455	52	Sáenz vd., 2004
CGCTATGTTCTCTTGCTTTTG GGTTAAAAAATCACTGCGTC TTGGTGACGATTTTAGCCGC	<i>floR</i>	888	55	Boyd vd., 2002
GGCATCCAAGCAGCAAG AAGCAGACTTGACCTGA GATGCCATCGCAAGTACGAG	<i>qnrS</i>	428	57	White vd., 2000
CGGGATCCCGGACGGATGCA CGATTTGTA	<i>aadA</i>	284	52	Van vd., 2008
	<i>bla_{CTX-M1}</i>	863	49	Saladin vd., 2002
	<i>Class 1</i>	değişken	50	Lévesque vd., 1995
	<i>Class 2</i>	değişken	55	White vd., 2001

Tablo 3. Antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesinde uygulanan PCR protokolü.

PCR Basamakları	Sıcaklık (°C)	Süre (sn)	Döngü Sayısı
Birinci denaturasyon	95	30	1
Denaturasyon	95	30	35
Tutunma	Tablo 2	45	35
Uzama	68	45	35
Son uzama	68	90	1

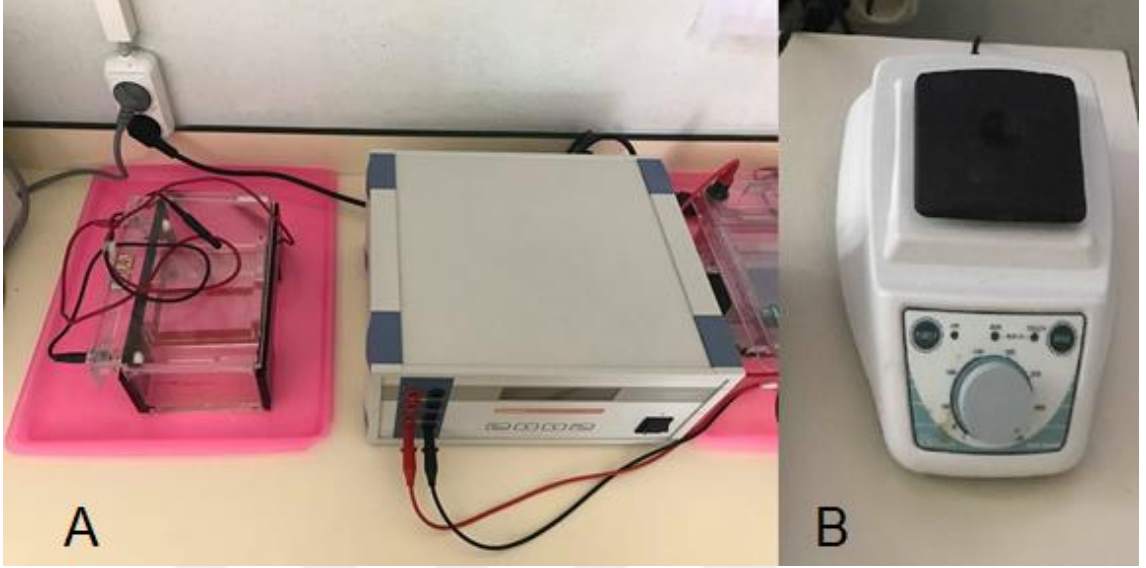


Şekil 9. PCR işlemlerinde kullanılan thermal cyler cihazı.

2.6. Agaroz Jel Elektroforezi

Yapılan PCR işleminden sonra izole edilen plazmit ve genomik DNA agaroz jel elektroforezinde yürütülerek UV ışık sistemi altında incelenmesi yapılarak kayıt altına alınmıştır. Kısaca 0,5 x TAE buffer kullanılarak %1 lik agaroz çözeltisi hazırlanmıştır. Çözelti mikro dalga fırında kaynatılıp iyice çözüldükten sonra soğumaya alınmış ve 0,5 µl/mL etidyum bromür eklenerek karıştırılmıştır. Hazırlanan jel tank içine homojen olarak döküldükten sonra taraklar yerleştirilerek 25 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çözeltinin jelleşmesini takiben taraklar çıkartılıp elektroforez tankı cihaza yerleştirilerek üzerini örtecek kadar 0,5 x TAE buffer eklenmiştir. Örnekler yükleme boyası ile karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklenmiştir. Örnekler yüklendikten sonra jel elektroforez cihazına bağlanarak 100V'da 45 dakika yürütülmüştür (Şekil 10). Bantlar jel görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat Quantum

Capt Software Görüntüleme Sistemi) kullanılarak kayıt edilmiştir (Sambrook ve Russell, 2001; Şekil 11).



Şekil 10. Yatay elektroforez ünitesi (A) ve vorteks karıştırıcı (B).



Şekil 11. Jel görüntüleme (A) ve kayıt sistemi (B).

2.7. Gen Transferi (Konjugasyon)

Örneklenen kara midye ve deniz salyangozlarından izole edilen bakterilerin antibiyotik direnç genlerinin aktarılıp aktarılmadığını belirlemek amacıyla gerçekleştirilen konjugasyon deneyinde Rice vd. (1990) tarafından yapılan broth mating yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Özetle, izole edilen bakteriler verici olarak kullanılırken alıcı olarak *E.coli*'nin K-12J53-2 (Rifampisin dirençli) suşu kullanılmıştır (Ozgumus vd., 2007). Verici ve alıcı hücreler ayrı ayrı antibiyotik içermeyen 3ml LB Broth besiyerinde logaritmik fazda çoğaltıldıktan sonra eşit hacimde karıştırılarak bir gece inkübatörde 35°C'de 10-12 saat atmosferik ortamda üretilmiştir. Transkonjugantların seçimi için 150 µg/ml rifampisin ve verici bakterinin dirençli alıcı bakterinin duyarlı olduğu antibiyotik konsantrasyonunu içeren LB agar besiyeri kullanılmıştır (Rice vd., 1990). Konjugasyon deneylerinde her bir suşun taşıdığı direnç genleri açısından direnç genlerinin aktarılabilirliği ayrı ayrı belirlenmiştir. Elde edilen *E. coli* transkonjugantları -70 °C'de %15 gliserollü ortamda stoklanmıştır.

2.8. DNA Dizi Analizi

Bakterilerde ve transkonjugant bakterilerde bulunan direnç genlerinin PCR ürünlerinin sekansı öncesinde bazı örneklerle PCR primerleri kullanılarak istenilen gen bölgesi çoğaltılmıştır. Daha sonra son ürün ile birlikte primerler Macrogen Europe'a gönderilerek dizi analizleri yaptırılmıştır. "National Center for Biotechnology Information" veri tabanları kullanılarak sekanslar karşılaştırılmıştır.

3. 3. BULGULAR

Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki Artvin, Rize, Trabzon ve Giresun illerinden toplam 12 istasyondan yapılan mevsimlik örneklemeler sonucu toplamda 54 adet *E. coli* izolatu elde edilmiştir. Bu 54 adet izolatu 35 tanesi kara midyeden izole edilirken 19 tanesi de deniz salyangozundan izole edilmiştir.

3.1. Antibiyotik Dirençliliği

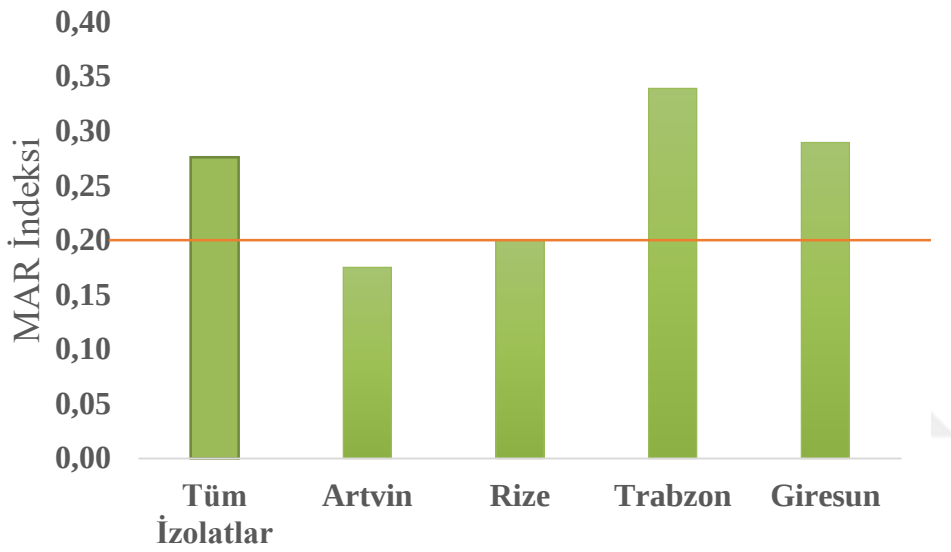
Farklı bölge ve farklı zamanlarda izole edilen bakterilerde antibiyotiklere karşı göstermiş oldukları direnç/hassasiyet durumları farklılık göstermektedir. Yapılan bu çalışmada bakterilerin %83,3 ü Sulfametaksazola karşı direnç sergilemiştir. Ardından en yüksek direnç %66,7 ile ampisiline karşı iken bunu %37 ile aztreonam antibiyotiği takip etmektedir. Florfenikol antibiyotiğinin ise test edilen antibiyotikler arasında en az direnç gösterilen antibiyotik olduğu belirlenmiştir. İzole edilen *E.coli* izolatlarının antimikrobiyal maddelere karşı sergilemiş oldukları direnç/hassasiyet seviyelerinin belirlendiği antibiyogram test sonuçları Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Antimikrobiyal hassasiyet sonuçları.

Antimikrobiyaller	Dirençli (R)		Duyarlı (H)	
	n	%	n	%
Oksitetrasiklin T30	10	18,5	44	81,5
Ampisilin AM10	36	66,7	18	33,3
Aztreonam ATM30	20	37,0	34	63,0
Tetrasiklin TE30	10	18,5	44	81,5
Kloramfenikol C30	3	5,6	51	94,4
Kanamisin K30	13	24,1	41	75,9
Florfenikol FFC30	1	1,9	53	98,1
Trimetoprim/Sulfametaksazol STX25	6	11,1	48	88,9
Sulfametaksazol SMZ100	45	83,3	9	16,7
Gentamisin CN10	7	12,9	47	87,1

3.2. oğul Antibiyotik Direnç İndeksi

İzole edilen 54 bakteri türüne 10 farklı antibiyotik uygulanarak oğul Antibiyotik Direnç (MAR) indeksi belirlenmiştir. Bakterilerin antibiyotiklere karşı MAR indeksi değerleri bakıldığında tüm izolatlar için MAR indeksi 0,28 olarak bulunmuştur. İstasyonlar arasında MAR indeks değeri en yüksek 0,34 ile Trabzon'da hesaplanırken bu değer Giresun'da 0,29, Rize'de 0,20 ve Artvin'de 0,18 olarak hesaplanmıştır. İzolatlara ait MAR indeks değerleri şekil 12'de gösterilmiştir.



şekil 12. İzolatlara ait çoğul antibiyotik direnç indeksi değerleri.

3.3. Antibiyotik Direnç Genlerinin Dağılımı

Doğu Karadeniz Bölgesindeki yapılan bu çalışmada Artvin, Rize, Trabzon ve Giresun illerine ait kıyı kesimden toplanan kara midye ve deniz salyangozlarından alınan örneklerden izole edilen *E.coli* izolatlarında sulfonamid grubuna ait 3 gen (*sul1*, *sul2* ve *sul3*), beta laktam gurubuna ait 2 gen (*ampC* ve *bla_{CTX-M1}*), amfenikol grubuna ait *cmlA* ve *floR* genleri, aminoglikozit grubuna ait *aadA* geni, kinolon grubuna ait *qnrS* geni ile birlikte *Class 1* ve *Class 2* integronların varlığı moleküler yöntemlerle araştırılmıştır. Bakterilere ait direnç geni bulundurma Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Antibiyotik direnç genlerinin varlığı.

	Toplam (%)	Artvin (%)	Rize (%)	Trabzon (%)	Giresun (%)
n	54	4	13	18	19
<i>sul1</i>	35,2	25	30,8	27,8	47,4
<i>sul2</i>	16,7	-	15,4	16,7	21,1
<i>sul3</i>	3,7	-	-	11,1	-
<i>ampC</i>	98,1	100	100	100	94,7
<i>cmlA</i>	72,2	50	53,8	83,3	78,9
<i>floR</i>	18,5	50	23,1	16,7	10,5
<i>qnrS</i>	5,6	50	0,0	5,6	0,0
<i>aadA</i>	16,7	25	15,4	16,7	15,8
<i>bla_{CTX-M1}</i>	88,9	75	92,3	88,9	89,5
<i>Class I</i>	42,6	100	38,5	33,3	42,1
<i>Class II</i>	-	-	-	-	-

Yapılan bu araştırmada farklı istasyonlardan kara midye ve deniz salyangozlarından izole edilen bakterilerde en yüksek direnç geni %98,1'lik oran ile *ampC* geni olmuştur. *ampC* geninden sonra bakterilerde bulunan en fazla gen %88,9 ile *bla_{CTX-M1}* genidir. Sulfanomid grubunda ise en fazla %35,2 ile *sul1* geni olmuştur. *Sul1*'i takiben sırasıyla %16,2 ve %3,7 oranlarıyla *Sul2* ve *Sul3*'te tespit edilmiştir. Beta laktam grubunda ise *ampC* geninden sonra *bla_{CTX-M1}* (%88,9) yine en fazla tespit edilen gen olmuştur. Amfenikol grubunda ise en yüksek gen %72,2 ile kloramfenikol (*cmlA*) direnç geni ve %18,5 oran ile florfenikol (*floR*) direnç geni bulunmuştur. Kinolon direnç geni olan *qnrS* geni ise toplam bakterilerin sadece %5,6'sında tespit edilmiştir. Artvin, Rize ve Giresun'da *sul3* geni hiç tespit edilemezken Trabzon ilindeki noktalardan izole edilen bakterilerin %11,1'inde tespit edilmiştir. Bunun yanında Artvin ilindeki numune alınan noktalarda *sul3* geni tespit edilirken *sul2* geni tespit edilmemiştir. Mevsim bazında izole edilen suşlardaki antibiyotik direnç genlerinin dağılımlarına bakıldığında ise beta

laktam direnç genlerinin neredeyse her mevsim tespit edilmiştir. Bunun yanında *flor* ve *cmlA* genler de ilkbahar ve yaz mevsimlerinde daha yüksek oranda tespit edilmiştir. Farklı mevsimlerde izole edilen bakterilerin izole edildiği mevsime göre antibiyotik direnç geni bulundurma durumları Tablo 6’da gösterilmiştir.

Tablo 6. İzole edilen mevsime göre antibiyotik direnç genlerinin dağılımı.

	İlkbahar (%)	Yaz (%)	Sonbahar (%)	Kış (%)
n	15	17	14	8
<i>sul1</i>	33,3	29,4	28,6	62,5
<i>sul2</i>	26,7	11,8	7,1	25,0
<i>sul3</i>	6,7	5,9	-	-
<i>ampC</i>	100	94,1	100	100
<i>cmlA</i>	80,0	76,5	78,6	37,5
<i>flor</i>	6,7	35,3	21,4	-
<i>qnrS</i>	-	11,8	7,1	-
<i>aadA</i>	6,7	17,6	21,4	25,0
<i>bla_{CTX-M1}</i>	93,3	76,5	100	87,5
<i>Class I</i>	26,7	58,8	35,7	50,0
<i>Class II</i>	-	-	-	-

3.4. Plazmit Varlığı

Doğu Karadeniz bölgesindeki istasyonlarda yapılan bu çalışmada kara midye ve deniz salyangozu örneklerinden izole edilen toplam 54 adet bakterinin plazmid bulundurup bulundurmadıkları araştırılmıştır. Bu amaçla plazmid izolasyonu yapılmıştır. İzolasyon sonucu ise 54 adet bakteriden 24 tanesinde (%44,4) plazmit tespit edilmiştir. İstasyon olarak izole edilen bakterilerde en fazla plazmid varlığı örnekleme yüzdesi olarak en fazla (%75,0) Artvin ilinde tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla Trabzon,

Giresun ve Rize (%50,0), (%42,1) ve (%30) takip etmiştir. İzole edilen bakterilerden plazmid tespit edilenlerin bakterilerin izole edildiği yere göre sayısı ve yüzdeleri Tablo 7'de gösterilmiştir. Tespit edilen plazmidlerin molekül büyüklüklerinin 2-10 kb arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Tablo 7. İzole edilen bakterilerde plazmit bulundurma durumları.

İstasyon	n	Plazmit varlığı (n)	Plazmit varlığı (%)
Artvin	4	3	75,0
Rize	13	4	30,8
Trabzon	18	9	50,0
Giresun	19	8	42,1
Toplam	54	24	44,4

3.5. Gen Transferi (Konjugasyon)

Çalışmada izole edilen bakterilerin plazmid profilleri belirlendikten sonra alıcı suş olarak kullanılan *E.coli* K12 J53-2 suşu ile verici olarak plazmid içeren bakterilerle konjugasyon (gen aktarımı) deneyleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan konjugasyon deneyleri kapsamında plazmid içeren toplam 24 bakterinin 10 tanesi plazmidlerini alıcı suşa aktarabilme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen transkonjugant bakterilerde orijinal suşta varlığı daha önceden tespit edilen antibiyotik direnç genlerinin varlığı araştırılmıştır. Kış ve ilkbahar mevsiminde Giresun istasyonundan toplanan kara midyeden izole edilen *E.coli* izolatlarında *cmlA* geni transfer edemediği tespit edilmiştir. Bunun haricinde plazmitini aktarabilen suşlardaki direnç genlerinin hepsi alıcı suş olan K12 J53-2 suşuna aktardığı tespit edilmiştir.

3.6. DNA Dizi Analizi Sonuçları

Doğu Karadeniz bölgesindeki istasyonlardan temin edilen kara midye ve deniz salyangozlarından izole edilen *E.coli* suşlarının bazılarında ve konjugasyon işlemlerinden sonra elde edilen transkonjugant bazı bakterilerin taşıdığı oldukları antibiyotik direnç genlerinin dizin analizleri veritabanındaki sekanslar ile karşılaştırılmış ve sekansı gen bölgeleri için %90-99 arasında benzerlik bulunmuştur.

4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Bu çalışmada Doğu Karadeniz'de 12 farklı istasyondan toplanan kara midye ve deniz salyangozu örneklerinde *E.coli* bakterilerinin antibiyotik direnci ve direnç genlerinin varlığı araştırılmıştır. Kara midye ve deniz salyangozu örnekleri laboratuvara getirildikten sonra örneklerde bakteri izolasyonu işlemleri gerçekleştirilmiş ve izole edilen bakterilerin tür teşhisi yapılmıştır. Örneklerden 35 tanesi kara midyeden 19 tanesi deniz salyangozundan olmak üzere 54 *E.coli* izolatu izole edilmiştir.

Doğu Karadeniz hem konumu hem de sanayinin gelişmesi ile yoğun kirliliğe maruz kalmaktadır. Bu kirlilik kaynakları su taşınım durağı olan denizlerdeki canlıları etkilemektedir. Sucul ortamlardaki bakteriyolojik kirlenmeler, yerleşim birimlerindeki yüksek nüfus artış oranı ve buna bağlı olarak denizlerin bilinçsizce atıklarla kirlenmesi, altyapı konusundaki eksikliklerden dolayı kanalizasyonların yetersiz olması ve hiç olmaması gibi nedenlerle giderek artmaktadır (Çolakoglu, 2007). Dünya literatüründe denizel ortamlardaki birikiminin en iyi gözlemlendiği canlıların çift kabuklular olduğu bilinmektedir. Bu canlıların insanlar için önemli besin kaynağı olması ve su ürünleri sektöründe önemli bir paya sahip olması, yapılan çalışmaları önemli kılmaktadır.

Çalışmada kirlilik indikatörü olarak koliform bakterinin tercih edilmesinin nedenleri arasında, koliformların yakın zamanda gerçekleşen çevresel kontaminasyonu işaret etmeleri ve diğer kirlilik indikatörleriyle iyi bir kolerasyon gösteriyor olmalarıdır. Sularda biyolojik kirliliğin bir göstergesi olan koliform bakteriler insanların ve hayvanların bağırsaklarında bulunmakta ve fekal olarak alıcı ortama ulaşmaktadır (Alemdar vd., 2009).

Yapılan çoğu çalışmada midyelerin ve deniz salyangozlarının mikrobiyal karakteristiklerinin ortaya koyulmasının amaçlandığı görülmektedir (Altuğ ve Güler, 2002; Kacar, 2011; Avşar ve Berber, 2014). Bazı çalışmalarda da *E. coli*'nin doğal ortamlarda çeşitli antibiyotik sınıflarına karşı direnç artışının olduğu bildirilmektedir (Rees vd., 2015). Midye ve salyangoz gibi su ürünlerindeki antibiyotik dirençli fekal bakteriler insanlara su veya gıda yoluyla bulaşabilmektedir. Bu durum da bilim

adamlarının ilgisini arttırmış ve insanlara bulaşma durumlarının tespiti için çalışmalar bu yönde ağırlık kazanmıştır.

Bu tür çalışmalar incelendiğinde bakterilerin izole edildikleri yer, zaman ve test edilen antibiyotiklerin ve konsantrasyonlarındaki farklılıklardan dolayı bakteriler arasında direnç farklılıkları gözlemlenmektedir. Bunun yanında yapılan çalışmalar da bakterilerin çoğunlukla birden fazla antibiyotiğe dirençli olduklarından bahsedilmektedir (Matyar, 2012; Sivri vd., 2012).

Yapılan bu çalışmada ise elde edilen *E. coli* suşlarında en fazla direncin sulfametaksazol antibiyotiğine karşı olduğu belirlenmiştir. Sulfametaksazol direncinden sonra bakterilerde gözlenen en yüksek direnç ampicilin antibiyotiğine karşı olmuştur. Test edilen antibiyotikler arasında en etkili antibiyotiğin florfenikol antibiyotiği olduğu belirlenirken bunu yine aynı grup antibiyotik olan kloramfenikol takip etmiştir. Karadeniz Bölgesinde su ürünleri yetiştiriciliği alanında tetrasiklin grubu antibiyotiklerin yoğun olarak kullanıldığı bildirilmesine rağmen (Kayış, 2009) bu çalışma kapsamında denizel ortamlardaki kara midye ve deniz salyangozlarından izole edilen *E. coli*'lerde oksitetrasiklin ve tetrasikline karşı direnç düşük (%18,5) bulunmuştur. Bu durum, tetrasiklin grubu antibiyotiklerin derin olmayan sahil sularında fotolizden (baskın degradasyon yolu) dolayı antibiyotiğin daha hızlı degrade olması ve ayrıca antibiyotiğin deniz suyundaki kalsiyum ve magnezyum ile birleştiğinde şelat oluşturmamasından kaynaklandığı söylenebilir (Xuan vd., 2009). Bakterilerde florfenikol antibiyotiğine karşı direncin az olması bu antibiyotiğin yeni geliştirilen bir antibiyotik olmasına bağlanabilir. Bu çalışmada kara midye ve deniz salyangozlarından izole edilen *E. coli* bakterilerinin antibiyotiklere karşı durumları hem Karadeniz Bölgesi'nde yapılan çalışmalarla hem de diğer bölgelerde yapılan çalışmalarla benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Çoğul antibiyotik direnç (MAR) indeksi Krumperman (1983) tarafından geliştirilmiş bir kriter olup, sucul çevrenin antibiyotiklere maruz kalmaları neticesinde ortamdaki bakterilerin direnç geliştirmelerini ifade eder ve indeks değerinin 0,2'den yüksek olması ortamdaki bakterilerin aşırı bir kirliliğe maruz kaldığını gösterir. Yapılan birçok çalışmada MAR indeksi 0,2'den yüksek değerlerde bulunmuştur. Matyar (2012)

Doğu Akdeniz sahillerinde yapmış oldukları çalışmada bu değerin 0,2 ve 0,75 arasında değiştiğini belirtirken, Su vd. (2011) Çin'in güneyindeki kültür balıkçılığı yapılan işletmelerden izole ettikleri *Enterobacteriaceae* bakterisinde bu oran 0,56 olarak belirtilmiştir. Ayrıca, yayın balığı yetiştirilen üç çiftlikten izole edilen isolatlar da MAR indeksi değerinin 0,36 ve 0,62 değerlerinde olduğu bildirilmiştir (Sarter vd., 2007). Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yürütülen başka bir çalışmada ise alabalık işletmelerinin su ve sedimentlerinden alınan örneklerden izole edilen koliform isolatlarında MAR indeksi değeri 0,19-0,83 arasında değişiklik gösterirken balıklardan alınan bakterilerde ise bu değer 0,42-0,83 arasında olduğu bildirilmiştir (Terzi, 2013; Capkin vd., 2015). Yürütülen bu çalışmada ise MAR indeksi değerleri 12 istasyondan izole edilen toplam 54 bakteri için 0,28 olarak belirlenmiştir. MAR indeksi değeri istasyonlar açısından değerlendirildiğinde en yüksek MAR indeksi değeri Trabzon'daki istasyonlardan toplanan kara midye ve deniz salyangozlarından izole edilen *E. coli* bakterilerinde tespit edilmiştir. Bu durum Karadeniz'in Trabzon sahillerinin daha çok kirliliğe maruz kaldığını gösterebilir. Bunun yanında MAR indeks değeri açısından en yüksek ikinci değer Giresun istasyonlarında hesaplanırken bunu Rize ve Artvin takip etmiştir. Bu değerler incelendiğinde, MAR değerlerinin ne kadar yüksek olduğu görülmektedir. Sadece Artvin istasyonlarından izole edilen *E. coli* isolatlarında MAR değeri kritik değer olan 0,2'den düşük hesaplanmıştır. Diğer istasyonların hepsinde bu değer 0,2 ve üzerinde hesaplanmıştır. Bu durum bu bakterilerin izole edildiği ortamların insani ve hayvansal yönden bir kirliliğe maruz kaldığının bir göstergesi olarak düşünülmektedir. Son alıcı ortam olan denizel ortamlar evsel kökenli antibiyotik kullanımının, hastane kaynaklı antibiyotik deşarjlarının hem sucul hem de karasal hayvanlarda kullanılan antibiyotik ve kalıntılarının bir şekilde denizlere ulaşması sonucu MAR indeks değerlerin denizel ortamlarda yüksek hesaplanmaktadır.

Antibiyotiklerin dünya çapında bakteriyel hastalıklarla mücadele etmek için kullanıldığı bilinmektedir. Bu maddeler tedavi etme amaçlarının yanında antibiyotik dirençli bakterilerin ve doğal olarak antibiyotik direnç genlerinin yayılmalarına da sebep olmaktadır. Fakat antibiyotik dirençli bakteriler ve bunlara direnci sağlayan direnç genlerinin yayılmasında çevredeki bakterilerin önemi tam anlamıyla bilinmemektedir. Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç seviyelerinin klasik yöntemlerle belirlendiği bu çalışmada, moleküler genetik testler kullanılarak

bakterilerin antibiyotik direnç genleri de belirlenmiştir. Literatürdeki son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde bakterilerin antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesine yönelik çalışmaların yoğunluk kazandığı görülmektedir (Phuong Hoa vd., 2008).

Sulfanomid grubu olan bu antibiyotikler sistemik kullanıma giren ilk antibiyotiklerdir (Sköld, 2001). Bakteri direncinin artması, penisilinlerin bulunması ve daha az toksik antibiyotiklerin üretilmesinden dolayı sulfanomidlere gereksinim azalmıştır. Phung Hoa vd. (2008) Kuzey Vietnam'da atık su ve karidesler üzerine yapmış oldukları bir araştırmada en fazla *sul1* genini bulduklarını rapor etmişlerdir. *sul1* geninden sonra sırasıyla *sul2* ve *sul3* tespit etmişlerdir. Atık su ve karideslerden izole edilen bakterilerin sadece %2'sinde üç genin aynı anda bulunduğu bildirilmiştir.

Terzi (2013) yapmış olduğu çalışmada balık işletmelerindeki su ve sediment numunelerinden izole ettiği bakterilerde en çok *sul2* (%18,2) geni tespit etmiş ve bunu %3,77 ve %3,14'lük oranlarla *sul1* ve *sul3* genlerinin takip ettiğini bildirmiştir. Sadece 2 adet *E. coli* izolatında *sul2* ve *sul3* genlerinin ikisini tespit etmiştir. Yapılan bu çalışmada izole edilen toplam 54 bakteride taranan *sul* genleri arasında en fazla %35,2 oranında *sul1* genine rastlanırken bunu %16,7 ile *sul2* takip etmiştir. En az tespit edilen *sul* geni ise %3,7 ile *sul3* geni olmuştur. Bu sonuçlara göre bakterilerde sulfonamid genlerinin bu kadar fazla tespit edilmesi bakterilerin sulfonamid antibiyotiklerine aşırı maruz kaldığını veya diğer bakterilerden direnci sağlayan genleri edinmiş olabileceği kanısına varılmıştır. Ayrıca bu bakterilerin bulundukları ortamlarda bu genlerin yayılması açısından risk oluşabileceğinden de söz edilebilir.

Betalaktamlar geniş spektrumlu antibiyotiklerdir ve canlı organizmalarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Yaygın ve bilinçsiz bir şekilde kullanım sonucu alıcı ortamlara ulaşması sonucu betalaktam grubu antibiyotiklere karşı bakterilerin dirençli oldukları bilinmektedir. Brinas vd. (2002) yapmış oldukları araştırmada *E. coli* izolatlarının *bla*_{TEM} genleri bakımından pozitif, SHV ve OXA yönünden negatif olduklarını bildirmişlerdir. Terzi (2013) yaptığı çalışmada su ve sediment örneklerinden izole edilen bakterilerde beta laktam direnci sağlayan genlerden en fazla *ampC* (%37,3) genine rastladığını bildirirken bunu *bla*_{CTX-M1} (%17), *bla*_{TEM-OT12} (%14,5), *bla*_{TEM-OT34}

(%6,3) ve *bla_{PSE}* (%1,3)'nin takip ettiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar ile çalışmamızda elde edilen bulgular kıyaslandığında bu çalışmada bakterilerin %98,1'inde *ampC* geni tespit edilmiştir. *bla_{CTX-M1}* geni ise yine çok yüksek bir oranda tespit edilmiştir (%88,9). Bu sonuçlar literatürdeki verilerle uyum halinde olup denizel ortamların daha fazla betalaktam grubu genleri içerdiği saptanmış olup bu ortamların direnç genlerinin yayılması ve bulaşması bakımından risk faktörü olarak karşımıza çıkabileceği kanısına varılmıştır. İzole edilen bakterilerde *ampC* geninin en yüksek olarak tespit edilmesi sucül ortamlara hastanelerde, evlerde ve işletmelerde kullanılan antibiyotiklerin bulaşmaları ile bakterilerin direnç geni geliştirdiklerinin veya kazandıklarının bir göstergesi olabileceği söylenebilir.

Amfenikol grubu antibiyotiklerin su ürünlerinde diğer antibiyotiklerin kullanımı gibi son yıllarda yaygınlaştığı gözükmemektedir (Kayış, 2009). Yapılan bu çalışmada izole edilen bakterilerin kloramfenikol ve florfenikol antibiyotiklerine karşı direnç genleri bulunmuş ve sırasıyla bu değerler *floR* geni %18,5, *cmlA* geni ise %72,2 rapor edilmiştir. Bu raporlara göre florfenikol antibiyotiği son yıllarda geliştirilmesi ve kullanılmaya başlanmasından dolayı bakterilerde henüz direnç gelişmediği söylenebilir. Sonuç olarak izole edilen bakterilerin bu antibiyotikler karşısında yeterli direnç oluşturamadıkları düşünülmektedir.

Plazmitler bakterilerde kromozomal DNA'dan bağımsız replike olabilen ve bünyesinde antibiyotik ve ağır metal gibi direnç genlerini taşıyan ekstrakromozomal DNA parçalarıdır. Ozgumus vd. (2009) Doğu Karadeniz'deki derelerden izole ettikleri bakteriler üzerine yapmış oldukları çalışmada 2,6 ile 147 kb aralığında değişen plazmid varlığını bildirmişler ve bu değişken plazmitlerin aracılığıyla ampisilin, tetrasiklin, streptomisin ve nalidiksik asitin bakteriler arasında aktarılabilir olduğunu tespit etmişlerdir. Bir diğer çalışmada ise izole edilen 13 bakteriden 8 tanesinin plazmit içerdiği, izole edilen bakterilerden bir *A.hydrophila* suşunun 1,3 ile 21,2 kb arasında değişen büyüklükte 3 plazmit içerdiği rapor edilmiştir (Diab ve Selim, 2002). Literatürdeki diğer çalışmalara bakıldığında izole edilen bakterilerde değişik aralıklarda ve sayıda plazmit bulundurdıkları bildirilmektedir (Ash vd., 2002; Aktan vd., 2013; Korun vd., 2013). Doğu Karadeniz bölgesinde yapılan bu çalışmada ise bakterilerin %44,4'ünün plazmit taşıdığı rapor edilmiştir. İstasyon bazında bakıldığında en yüksek

plazmit varlığı Trabzon'daki istasyonlardan izole edilen 18 *E. coli* izolatının 9 tanesinde plazmit tespit edilmiştir. Plazmid varlığı örnekleme yüzdesi olarak %75,0 ile Artvin istasyonunda tespit edilmiştir. Plazmitlerin büyüklükleri 2 ile 10 kb arasında değişiklik göstermiştir. Plazmit tespit edilen bakterilerden 24 adet *E. coli* suşundan 10 tanesinin konjugasyon deneyleri sonucunda plazmitlerini alıcı suş olan *E. coli* K12 J53-2 aktarabildikleri tespit edilmiştir. Bu çalışmada izole edilen bakterilerdeki plazmitlerin varlığı bakterilerin diğer bakterilerden plazmit edindikleri anlamına geldiği düşünülmektedir. Aynı zamanda *E. coli* gibi insan sağlığında önemli bir yere sahip olan bakteri türlerinde plazmitlerin varlığı plazmitlerin bakteriye direnç kazandırma özelliğinden dolayı bakteriyel hastalıkların antibiyotiklerle tedavilerinin zorlaşacağı anlamına gelebilir. Ayrıca bakteriler arasında gen alışverişi hem sucul ortamlarda hem de özellikle balık yetiştiriciliği gibi üretim çiftliklerinde dirençli bakterilerin artmasına ve antibiyotik tüketiminin artarak daha masraflı bir üretim söz konusu olabileceği düşünülmektedir.



5. ÖNERİLER

Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yapılan bu çalışmada kara midye ve deniz salyangozlarından izole edilen *E. coli* izolatlarında antibiyotik direnç genlerinin tespit edilmesi bu ortamların antibiyotik kirliliğine maruz kaldığının göstergesidir. Ayrıca, bakterilerde aktarılabılır direnç genlerinin varlığı bakterilerde arasında yatay gen transferinin göstergesidir. Hem patojen hem de patojen olmayan bakterilerin özellikle su ürünleri yetiştiriciliği yapılan yerlerde görülen bakteriyel balık hastalığı etmenlerine gen transferleri sonucunda da olası bir bakteriyel hastalığın tedavisinde başarısızlığa sebep olabilecektir. Bu yüzden hem insan sağlığında hem de hayvan sağlığında anibiyotik kullanımının kontrol edilip gereksiz antibiyotik kullanılmasının önüne geçilmelidir. Ayrıca bu tip çalışmaların daha da genişletilip ilerleyen dönemlerde tüm Türkiye kıyıları boyunca yapılması durum tespiti açısından faydalı olacaktır.

Sucul ortamlardan izole edilen bakterilerde plazmit varlığı ve antibiyotik direnç genlerinin tespit edilmesi o ortamların riskli olduğunu gösterebilir. Bakteriler arasında plazmit transferleriyle birlikte verici bakterinin plazmitinde bulunan antibiyotik direnç genleri de diğer bakterilere aktarılabilmektedir. Özellikle bu ortamlarda kafes sistemlerinde su ürünleri tesisi kurmayı planlayan işletmecilerin bölgenin bakterilerinin direnç geni bulundurma durumlarının tespit ettirmesi ileride olası bakteriyel hastalıkların önüne geçmede yardımcı olacaktır.

Kara midye çoğu insan tarafından tüketildiği için bu canlılarda gıda güvenliği açısından *E. coli*'nin olmaması bildirilmektedir. *E. coli* ile temas etmiş midyelerin tüketimi esnasında insan sağlığının tehlikeye girebileceği unutulmamalıdır.

Antibiyotik direnci hakkında insanların eğitilmeleri en önemli stratejilerden biri olmalıdır. Ayrıca canlılar için türe özel antibiyotiklerin geliştirilmesine destek verilmeli ve lisanslı ilaçlar piyasaya sürülmelidir.

Buradan hareketle antibiyotik direnç sorununu lokal bir sorun olarak değil de küresel bir sorun olduğu farkındalığının oluşturulması ve küresel işbirliği sağlanarak bu sorunun çözümüne yönelik gerekli adımlar atılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Akman, M. ve Gülmezoğlu, E., 1976.** Tıbbi Mikrobiyoloji. Hacettepe Üniversitesi yayınları, 64-96.
- Aktan, Y., Tan, S. and Içgen, B., 2013.** Characterization of lead-resistant river isolate *Enterococcus faecalis* and assessment of its multiple metal and antibiotic resistance. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185, 5285-5293.
- Alemdar, S., Kahrama, T., Ağaoğlu, S. ve Alişarlı, M., 2009.** Bitlis ili içme sularının bazı mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özellikleri, *Ekoloji ve Çevre Koruma*, 19, 29-38.
- Al-Jebouri, M.M.A., 1985.** Note on antibiotic resistance in the bacterial flora of raw sewage and sewage-polluted river Tigris in Mosul, Iraq, *Journal of Applied Bacteriology*, 58, 400-405.
- Allen, H.K., Donato, J., Wang, H.H., Cloud-Hansen, K.A., Davies, J. and Handelsman, J., 2010.** Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments, *Nature Reviews Microbiology*, 8, 251-259.
- Altuğ, G. and Güler, N., 2002.** Determination of the levels of indicator bacteria, *Salmonella* spp. and heavy metals in sea snails (*Rapana venosa*) from the Northern Marmara Sea, Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2, 141-144.
- Altuğ, G., Yardımcı, C.H. ve İçöz, I.O., 2005.** Haliç yüzey sularında *Enterobacteriaceae* üyelerinin bazı beta-laktam antibiyotiklerine dirençlilik frekansı. *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 3, 4, 258-264.
- Andersson, D.I. and Levin, B.R., 1999.** The biological cost of antibiotic resistance. *Current Opinion in Microbiology*, 2, 489-493.
- Ash, R.J., Mauck, B. and Morgan, M., 2002.** Antibiotic resistance of Gram-Negative bacteria in rivers, United States, *Emerging Infectious Diseases*, 8, 713-716.
- Avşar, C. and Berber, İ., 2014.** Plasmid profiling and antibiotics resistance of *Escherichia coli* strains isolated from *Mytilus galloprovincialis* and seawater. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2, 689-693.
- Balcı, R.S., 2007.** Seyhan Baraj Gölünün Bakteriyolojik Kirlilik Düzeyinin Belirlenmesi ve *Enterobacteriaceae* Üyelerinde Antibiyotik Dirençliliği. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye, 87 s.
- Baquero, F., Martinez, J.L. and Canto, R. 2008.** Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*, 19:260-265.
- Barua, D., 1992.** History of Cholera. New York: Plenum Publishing. 1-35.

- Berberoğlu, U., 2012.** Su Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları El Kitabı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu yayınları, Ankara.
- Bilecik, N., 1990.** Distribution of Sea Snail *Rapana venosa* (V.) in the Turkish Coast of Black Sea and its impact on Black Sea fisheries. Bodrum Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Yayınları. No. 1.Seri B. Bodrum, Turkey.
- Boran, H., Terzi, E., Altinok, I., Capkin, E. and Bascinar, N., 2013.** Bacterial diseases of cultured Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) in sea cages. Aquaculture, 396,399, 8-13.
- Boyd, D., Cloeckaert, A., Chaslus-Dancla, E. and Milvey, M.R., 2002.** Characterization of variant *Salmonella* genomic island 1 multidrug resistance regions from serovars Typhimurium DT104 and Agona. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 46, 1714-1722.
- Brinas, L., Zarazaga, M., Saenz, Y., Ruiz-Larrea, F. and Torres, C., 2002.** Betalactamases in Ampicillin-resistant *Escherichia coli* isolates from foods, humans and healthy animals. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 46,10, 3156-3163.
- Brown, D.K., Kulis, J., Thomson, B., Chapman, T.H. and Mawhinney, D.B., 2006.** Occurrence of antibiotics in hospital, residential and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico, Science of the Total Environment, 366, 772 783.
- Campagnolo, E.R., Johnson, K.R., Karpati, A., Rubin, C.S., Kolpin, D.W., Meyer, M.T., Esteban, J.E., Currier, R.W., Smith, K., Thu, K.M. and McGeehin, M., 2002.** Antimicrobial residues in animal waste and water resources proximal to large-scale swine and poultry feeding operations. Science of the Total Environment, 299, 89-95.
- Capkin, E., Terzi, E. and Altinok, I., 2015.** Occurrence of antibiotic resistance genes in culturable bacteria isolated from Turkish trout farms and their local aquatic environment. Diseases of Aquatic Organisms, 114,2, 127-137.
- Cardoso, A.M., Coutinho, F.H., Silveira, C.B., Ignacio, B.L. and Vieira, R.P., 2012.** Metagenomics in Polluted Aquatic Environments, In: Water Pollution, InTech, China, 89-104.
- Chaslus Dancla, E., Lafont, J.P. and Guillot, J.F., 1980.** Inc groups among plasmids harbored by *Escherichia coli* of avian origin. Annales de Microbiologie, 131, 2, 203-206.
- Civelek, F., 2019.** Doğu Karadeniz'deki Kara Midye ve Deniz Salyangozundan İzole Edilen *Escherichia coli*'lerde Ağır Metal Direnç Seviyelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, Türkiye, 35 s.

- CLSI, 2018.** Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, 11. Baskı, Standard M07, Wayne, PA, USA, 112 s.
- Col, N.F. and O'Connor, R.W., 1987.** Estimating Worldwide current antibiotic usage: Report of task force 1. Reviews of Infectious Diseases, 9, 232-243.
- Costanzo, S.D., Murby, J. and Bates, J., 2005.** Ecosystem response to antibiotics entering the aquatic environment., Marine Pollution Bulletin, 51, 218-223.
- Croci, L., Suffredini E., Cozzi, L. and Toti, L., 2002.** Effects of depuration of molluscs experimentally contaminated with *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* O1 and *Vibrio parahaemolyticus*. Journal of Applied Microbiology, 92, 460-465.
- Çardak, M. and Altuğ, G., 2010.** Distribution of members of the family Enterobacteriaceae in the Istanbul Strait. Journal of the Black Sea / Mediterranean Environment, 16, 3, 295-310.
- Çiftci, A. ve Aksoy, A., 2015.** Antibiyotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları - Türkiye Klinikleri Veterinary Sciences Pharmacology and Toxicology, 1, 1-10.
- Çolakoğlu, F., 2007.** Rize Şehir Sahilinde Deniz Suyundan İzole Edilen Enterik Bakterilerde Antibiyotik Direncinin Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Kaadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye, 51 s.
- Çolakoğlu, F., Özgümüş, O.B., Sandallı, C., Sevim, E.Ç. ve Karaoğlu, Ş.A., 2010.** Deniz suyu kökenli koliformlarda Sınıf 1 ve Sınıf 2 integron gen kasetleri ve antibiyotik direncinin karakterizasyonu. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 40, 97-108.
- D'Costa, V.M., McGrann, K.M., Hughes, D.W. and Wright, G.D., 2006.** Sampling the Antibiotic Resistome. Science, 311, 374-377.
- Danishta, I., Ismet, M., Sonatun, D. and Jaufeerally-Fakim, Y., 2010.** Antibiotic resistance of *Escherichia Coli* isolates from environmental and waste water samples in Mauritius. Advances in Environmental Biology, 4, 1, 1-9.
- Davidson, J., 1999.** Genetic exchange between bacteria in the environment. Plasmid, 42, 73-91.
- Demirsoy, A., 1982.** Yaşamın Temel Kuralları: Omurgasızlar. Hacettepe Üniversitesi yayınları, Ankara, 886 s.
- Dethlefsen, L., Huse, S., Sogin, M.L. and Relman, D.A., 2008.** The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. PLoS Biology, 6, 11, e280.

- Diab, A.M. and Selim, S.A., 2002.** Plasmid-encoded transferable antibiotic resistance in Gram-Negative bacteria, isolated from drinking water in Ismailia city. *Pakistan Journal of Biological Science*, 5, 7, 774-779.
- DuPont, H.L. and Steele, J.H., 1987.** Use of antimicrobial agents in animal feeds: Implications for human health. *Reviews of Infectious Diseases*, 9, 447-460.
- Geissler, K., Manafi, M., Amoros, I. and Alonso, J.L., 2000.** Quantitative determination of total coliforms and *Escherichia coli* in marine waters with chromogenic and fluorogenic media. *Journal of Applied Microbiology*, 88,2, 280-285.
- Gil, I.A., Louis, V.R., Rivera, I.N.G., Lipp, E., Huq, A., Lanata, C.F., Taylor, D.N., Cohen, E.R.C., Choopun, N., Sack, R.B. and Colwell, R.R., 2004.** Occurrence and distribution of *Vibrio cholerae* in the coastal environment of Peru. *Environmental Microbiology*, 6, 699-706.
- Golet, E.M., Alder, A.C., Hartmann, A., Ternes, T.A. and Giger, W., 2001.** Trace determination of fluoroquinolone antibacterial agents in urban wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography with fluorescence detection. *Analytical Chemistry*, 73, 3632-3638.
- Gorga, C. and Ronsivalli, L.J., 1988.** *Quality Assurance of Seafood*. van Nostrand Reinhold publishing, New York, ISBN: 978-0442230531, 245 s.
- Halling-Sorensen, B., Nors N.S., Lanzky, P.F., Ingerslev, F., Holten Lützhof, H.C. and Jorgensen, S.E., 1998.** Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-A review. *Chemosphere*, 36, 357-93.
- Halpern, B.S., Walbridge, S., Selkoe, K.A., Kappel, C.V. and Micheli, F., 2008.** A global map of human impact on marine ecosystems. *Science*, 319, 5865-948.
- Hernandes Coutinho, F., Pinto, L.H., Vieira, R.P., Martins, O.B., Salloto, G.R.B., Santoro, D.O., Clementino, M.M. and Cardoso, A.M., 2013.** Antibiotic Resistance in Aquatic Environments of Rio de Janeiro, Brazil, in *Perspectives in Water Pollution*, InTech, China, 1-22.
- Heuer, H. and Smalla, K., 2007.** Manure and sulfadiazine synergistically increased bacterial antibiotic resistance in soil over at least two months. *Environmental Microbiology*, 9, 657-666.
- Hirsch, R., Ternes, T., Haberer K. and Kratz K.L., 1999.** Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *The Science of the Total Environment*, 225, 109-118.
- Hirsch, R., Ternes, T.A., Haberer, K., Mehlich, A., Ballwanz, F. and Kratz, K.L., 1998.** Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 815, 213-223.

- Hoşsucu, H., Kınacıgil, T., Kara, A., Tosunoğlu, Z., Akyol, O., Ünal, V. ve Özekinci, U., 2001.** Türkiye balıkçılık sektörü ve 2000’li yıllarda beklenen gelişmeler. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 18, 593-601.
- Jalal, K.C.A., Akbar John, B., Kamaruzzaman B.Y. and Kathrisean, K., 2012.** Antibiotic Resistant Bacteria from Coastal Environment- A Review, In: Antibiotic Resistant Bacteria-A Continuous Challenge in the New Millennium, Rijeka, InTech, China, 143-158.
- Jernberg, C., Löfmark, S., Edlund, C. and Jansson, J.K., 2007.** Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. The ISME Journal, 1, 56-66.
- Jørgensen, S.E. and Halling-Sorensen, B., 2000.** Drugs in the environment. Chemosphere, 40,7, 691-699.
- Kacar, A., 2011.** Some microbial characteristics of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in coastal city area. Environmental Science and Pollution Research, 18,8, 1384-1389.
- Kamruzzaman M., Shoma S., Bari S.M., Ginn A.N., Wiklendt A.M., Partridge S.R., Faruque S.M. and Iredell J.R., 2013.** Genetic diversity and antibiotic resistance in *Escherichia coli* from environmental surface water in Dhaka City, Bangladesh. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 76,2, 222-226.
- Karabay, O. and Hosoglu, S., 2008.** Increased antimicrobial consumption following reimbursement reform in Turkey. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 61,5, 1169-1171.
- Karayakar, F. ve Ay, Ö., 2006.** Mersin balıkçı barınaklarından yakalanan *Sparus aurata* (Linnaeus 1758)'dan izole edilen *Enterobacteriaceae* grubu bakterilerin bazı III. kuşak sefalosporinlere karşı plasmid kökenli dirençliliğin saptanması. Çevre Koruma ve Araştırma Vakfı Ekoloji Dergisi, 15,59, 32-36.
- Karayücel, S., Kaya, Y. ve Karayücel, İ., 2003.** Sinop bölgesinde akdeniz midyesinin (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck, 1819) kondisyon ve biyokimyasal kompozisyonu üzerine çevresel faktörlerin etkisi. Türk Veteriner ve Hayvancılık Dergisi, 27, 1391-1396.
- Kaşgar, H.S., 1992.** İstanbul Boğazının Deniz Suyu ve Midyelerinin Fekal Koliform Bakteriler Bakımından İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 46 s.
- Kayış, Ş., 2009.** Trabzon ve Rize İllerinde Bulunan Bazı Alabalık İşletmelerinde Görülen Bakteriyel Hastalıkların Tespiti ve Bazı Etkenlerinin Çoklu PCR ile Teşhisi. Doktora Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye, 73 s.

- Kern, M.B., Klemmensen, T., Frimodt-Møller, N. and Espersen, F., 2002.** Susceptibility of Danish (*Escherichia coli*) strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia, and distribution of *sul* genes conferring sulphonamide resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50, 513- 516.
- Knudsen, S., Zengin, M. and Koçak, M.H., 2010.** Identifying drivers for fishing pressure. A multidisciplinary study of trawl and sea snail fisheries in Samsun, Black Sea coast of Turkey. *Ocean and Coastal Management*, 53, 252-269.
- Korun, J., Ince, A.G. and Karaca, M., 2013.** Antibiotic resistance and plasmid profile of *Vibrio alginolyticus* strains isolated from cultured European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 57,2, 173-177.
- Krumperman, P.H., 1983.** Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 46, 165-170.
- Kum, C., Gökbulut, C., Akar, F., Kırcan, Ş. and Sekkin, S., 2004.** Gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Enterococcus seriolicida* izolasyonu ve etkili antibakteriyel sağaltım seçeneğinin belirlenmesi. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 75, 47-53.
- Kümmerer, K., 2004.** Resistance in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54, 311-320.
- Kümmerer, K., 2009.** Antibiotics in the aquatic environment-A review. *Chemosphere*, 75, 417-434.
- Lawrence, J.G., 1997.** Shelfish operons and speciation by gene transfer. *Trends in Microbiology*, 5, 355-359.
- Lederberg, J. and Tatum, E.L., 1946.** Gene Recombination in *Escherichia coli*. *Nature*, 158, 558-560.
- Levy, S.B. and Marshall, B., 2004.** Antibacterial resistance worldwide: Causes, challenges and responses. *Nature Medicine*, 10, 122-129.
- Levy, S.B., McMurry, L.M. and Barbosa, T.M., 1999.** Nomenclature for new tetracycline resistance determinants. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43, 1523-1524.
- Marisol, G.U., Capdepuy, M., Arpin, C., Raymond, N., Caumette, P. and Quentin, C., 2000.** Impact of an urban effluent on antibiotic resistance of riverine *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 66,1, 125-132.

- Martinez, J.L., 2012.** Natural antibiotic resistance and contamination by antibiotic resistance determinants: The two ages in the evolution of resistance to antimicrobials. *Frontiers in Microbiology*, 3,1, 1-3.
- Matyar, F., 2012.** Antibiotic and heavy metal resistance in bacteria isolated from the Eastern Mediterranean Sea Coast. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89, 551-556.
- Matyar, F., Kaya, A. and Dinçer, S., 2008.** Antibacterial agents and heavy metal resistance in Gram-negative bacteria isolated from seawater, shrimp and sediment in Iskenderun Bay, Turkey. *Science of the Total Environment*, 407, 279-285.
- Mudryk, Z., Perlinski, P. and Skórczewski, P., 2010.** Detection of antibiotic resistant bacteria inhabiting the sand of non-recreational marine beach. *Marine Pollution Bulletin*, 60, 207-214.
- Muirhead, R.W., Littlejohn, R.P. and Bremer, P.J., 2004.** Evaluation of the effectiveness of a commercially available defined substrate medium and enumeration system for measuring *Escherichia coli* numbers in faeces and soil samples. *Letters in Applied Microbiology*, 39, 383-387.
- Nogales, B., Lanfranconi, M.P., Pina-Villalonga, J.M. and Bosch, R., 2011.** Anthropogenic perturbations in marine microbial communities, *FEMS Microbiology Reviews*, 35, 275-298.
- Ozgumus, O.B., Sandalli, C., Sevim, A., Celik Sevim, E. and Sivri, N., 2009.** Class 1 and Class 2 integrons and plasmid-mediated antibiotic resistance in coliforms isolated from ten rivers in northern Turkey. *The Journal of Microbiology*, 47,1, 19-27.
- Özgümüş O.B., Celik-Sevim, E., Alpay-Karaoglu, S., Sandalli, C., and Sevim, A., 2007.** Molecular characterization of antibiotic resistant *Escherichia coli* strains isolated from tap and spring waters in a coastal region in Turkey. *The Journal of Microbiology*, 45,5, 379-387.
- Öztürk, B. ve Güven, K.C., 2005.** Deniz kirliliği, temel kirleticiler ve analiz yöntemleri. *Türk Deniz Araştırmaları Vakfı yayınları*, No: 21, İstanbul.
- Öztürk, R., 2002.** Antimikrobik ilaçlara karşı direnç gelişme mekanizmaları ve günümüzde direnç durumu, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi, 31, 83-100.
- Perçin, M., Olgunoğlu, P. and Polat, S., 2007.** İskenderun Körfezi'nde dağılım gösteren iki makroalg türünde [*Cystoseira corniculata* (Phaeophyta), *Laurencia papillosa* (Rhodophyta)] ağır metallerin mevsimsel değişimi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 24, 25-30.

- Phuong Hoa, P.T., Nonaka, L., Hung Viet, P. and Suzuki, S., 2008.** Detection of the *Sul1*, *Sul2*, and *Sul3* Genes in sulfonamide-resistant bacteria from wastewater and shrimp ponds of North Vietnam. *Science of the Total Environment*, 405, 377-384.
- Pruden, A., Pei, R., Storteboom, H. and Carlson, K.H., 2006.** Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: Studies in Northern Colorado. *Environmental Science and Technology*, 40,23, 7745-7750.
- Rees, E.E., Davidson, J., Fairbrother, J.M., St Hilaire, S., Saab, M. and McClure, J.T., 2015.** Occurrence and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* in oysters and mussels from Atlantic Canada. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12,2, 164-169.
- Rice, L.B., Willey, S.H., Papanicolaou, G.A., Medeiros, A.A., Eliopoulos, G.M., Moellering, R.C. and Jacoby, G.A., 1990.** Outbreak of ceftazidime resistance caused by extended-spectrum beta-lactamases at a Massachusetts chronic-care facility. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 34, 2193-2199.
- Rysz, M., Pedro J.J. and Alvarez, P.J.J., 2004.** Amplification and attenuation of tetracycline resistance in soil bacteria: Aquifer column experiments. *Water Research*, 38, 3705-3712.
- Sáenz, Y., Briñas, L., Domínguez, E., Ruiz, J., Zarazaga, M., Vila, J. and Torres, C., 2004.** Mechanisms of resistance in multiple-antibiotic resistant (*Escherichia coli*) strains of human, animal, and food origins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48, 3996-4001.
- Sağlam, H., 2007.** Son 20 yılda salyangoz avcılığı. *Yunus Araştırma Bülteni*, 7,1, 8-9.
- Salysers, A.A. and Shoemaker, N.B., 1996.** Resistance gene transfer in Anaerobes: New insights. new problems. *Clinical Infectious Diseases*, 23, 36-43.
- Sambrook, J. and Russell, D.W., 2001.** *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York, 545 s.
- Sandallı, C., Özgümüş, O.B. and Sevim, A., 2010.** Characterization of tetracycline resistance genes in tetracycline-resistant Enterobacteriaceae obtained from a coliform collection. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26,11, 2099-2103.
- Sarter, S., Nguyen, H.N.K., Hung, L.T., Lazard, J. and Montet, D., 2007.** Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. *Food Control*, 18,11, 1391-1396.
- Scholar, E.M. and Pratt, W.B., 2000.** *The Antimicrobial Drugs*, Oxford University Press, USA, ISBN: 9780195125290, 624 s.

- Schwartz, T., Kohnen, W., Jansen, B. and Obst, U., 2003.** Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. *FEMS Microbiology Ecology*, 43, 325-335.
- Sevim, A., 2005.** Trabzon'daki Derelerin Fekal Koliform Kirliliği ve Koliform Bakterilerin Antibiyotik Direnç Profillerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye, 94 s.
- Shah, S.Q.A., Colquhoun, D.J., Nikuli, H.L. and Sorum, H., 2012.** Prevalence of antibiotic resistance genes in the bacterial flora of integrated fish farming environments of Pakistan and Tanzania. *Environmental Science and Technology*, 46,16, 8672-8679.
- Sivri, N. and Şeker, D.Z., 2010.** Investigation of enteric bacteria of surface waters in the Southwestern Coast of Istanbul by means of GIS. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10,4, 505-511.
- Sivri, N., Sandalli, C., Ozgumus, OB., Colakoglu, F. ve Dogan, D., 2012.** Antibiotic resistance profiles of enteric bacteria isolated from Kucukcekmece Lagoon (Istanbul-Turkey). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 12, 699-707.
- Sköld, O., 2001.** Resistance to trimethoprim and sulfonamides. *Veterinary Research*, 32, 261-273.
- Sönmez, A.Y., Hisar, O., Karataş, M., Arslan, G. ve Aras, M.S., 2008.** Sular Bilgisi. Nobel Yayın Dağıtım, 1. Baskı, ISBN: 978-605-395-054-7, 201 s.
- Stabili, L., Immacolata-Acquaviva, M.I. and Cavallo, R.A., 2004.** *Mytilus galloprovincialis* filter feeding on the bacterial community in a Mediterranean coastal area (Northern Ionian Sea, Italy). *Water Research*, 39, 469-477.
- Su, H.C., Ying, G.G., Tao, R., Zhang, R.Q., Fogarty, L.R., Kolpin, D.W., 2011.** Occurrence of Antibiotic Resistance and Characterization of Resistance Genes and Integrins in *Enterobacteriaceae* Isolated from Integrated Fish Farms in South China, *Journal of Environmental Monitoring*, 13,11, 3229-3236.
- Sullivan, T.J., Snyder, K.U., Gilbert, E., Bischoff, J.M., Wustenberg, M., Moore, J. and Moore, D., 2005.** Assessment of water quality in association with land use in the Tillamook bay watershed, Oregon, USA. *Water Air & Soil Pollution*, 161, 3-23.
- Sungpyo, K. and Diana S.A., 2007.** Potential ecological and human health impacts of antibiotics and antibiotic-resistant bacteria from wastewater treatment plants., *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 10,8, 559-573.
- Şeker, E., 1997.** Keban Baraj Gölünün Koçkale Bölgesinden Toplanan Su Midyesinden Mide ve Bağırsakların Fekal Koliformlar Yönünden İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, Türkiye, 32 s.

- Tenover, F.C., 2006.** Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. American Journal of Infection Control, 34,5, 3-10.
- Ternes T., 1998.** Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. Water Research, 32, 3245-3260
- Terzi, E., 2013.** Alabalık İşletmelerinden İzole Edilen Bakterilerde Antibiyotik Direnç Genlerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye, 115 s.
- Toroglu, S., Dincer, S. and Korkmaz, H., 2005.** Antibiotic resistance in Gram negative bacteria isolated from Aksu River in Turkey. Annals of Microbiology, 55, 229-233.
- Töreci, K., 1999.** Bakterilerde antibiyotik direnci ve hastane infeksiyonları ile ilişkisi. Hastane İnfeksiyonları Dergisi, 3, 117-125.
- TÜİK, 2012.** Türkiye İstatistik Kurumu. Su Ürünleri İstatistikleri. Ankara.
- Türk, N. ve Yabanlı, M., 2006.** Balık, balıkçılık ürünleri ve insan sağlığı. I. Türkiye Zoonotik Hastalıkları Sempozyumu, Ankara, 14-15 Kasım, 151-161.
- Türkmen, A., Türkmen, M., Tepe, Y. and Akyurt., İ., 2005.** Heavy metals in three commercially valuable fish species from İskenderun Bay, Northern East Mediterranean Sea, Turkey. Food Chemistry, 91, 167-172.
- URL-1, 2016.** http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mytilus_galloprovincialis/en (29 Şubat 2016).
- URL-2, 2019.** <https://www.discoverlife.org/mp/20m?map=Rapana+venosa> (16 Haziran 2019).
- URL-3, 2019.** <https://www.onurozturk.com/antibiyotik-kullanimi-direnc/> (16 Haziran 2019).
- URL-4, 2019.** <https://www.herkesebilimteknoloji.com/haberler/saglik/bakteriler-direnc-kazaniyor-antibiyotigin-etkisi-azaliyor> (16 Haziran 2019).
- Uysal, H., 1970.** Türkiye sahillerinde bulunan midyeler “*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck” üzerinde biyolojik ve ekolojik araştırmalar. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi İlmi Raporlar Serisi, 79 s.
- Ünsal, S., 1987.** Karadeniz’de kirlilik kriteri olabilecek bir gastropoda türü *Rapana venosa* üzerine araştırmalar. Çevre ’87 Sempozyumu, İzmir, 14-16 Ekim 1987.
- Vieira, R.P., Gonzalez, A.M., Cardoso, A.M., Oliveira, D.N. and Albano, R.M., 2008.** Relationships between bacterial diversity and environmental variables in a tropical marine environment, Rio de Janeiro. Environmental Microbiology, 10,1, 189-199.

- Vural H.Ç. and Akçin A., 2011.** İzmit Körfezinden izole edilen *Escherichia coli*'lerde R plazmidlerine bağlı "bulaşıcı tipte antibiyotik direnç özelliğinin" belirlenmesi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 17, 23-30.
- White, D.G., Hudson, C., Maurer, J.J., Ayers, S., Zhao, S., Lee, M.D., Bolton, L., Foley, T. and Sherwood, J., 2000.** Characterization of chloramphenicol and florfenicol resistance in (*Escherichia coli*) associated with bovine diarrhea. Journal of Clinical Microbiology, 38, 4593-4598.
- White, P.A., McIver, C.J. and Rawlinson, W.D., 2001.** Integrons and gene cassettes in the *Enterobacteriaceae*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45, 2658-2661.
- Willke Topçu, A., Söyletir, G. ve Doğanay, M., 2017.** Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, ISBN: 9786-0533-52655.
- Wright, G.D., 2007.** The antibiotic resistome: The nexus of chemical genetic diversity. Nature Reviews Microbiology, 5,3, 175-186.
- Wright, G.D., 2010.** Antibiotic resistance in the environment: A link to the clinic. Current Opinion in Microbiology, 13,5, 589-594.
- Xuan, R., Arisi, L., Wang, Q., Yates, S. R. and Biswas, K.C., 2009.** Hydrolysis and photolysis of oxytetracycline in aqueous solution. Journal of Environmental Science and Health Part B, 45,1, 73-81.
- Yardımcı, C.H., 2009.** Sapanca Gölü Bakteriyolojik Kirlilik Düzeyi ile *Enterobacteriaceae* Üyelerinde Beta-Laktam Antibiyotik Dirençlilik Frekansının Araştırılması. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 107 s.
- Zhang, Q., Lambert, G., Liao, D., Kim, H., Robin, K., Tung, C.K., Pourmand, N. and Austin, R.H., 2011.** Acceleration of emergence of bacterial antibiotic resistance in connected microenvironments. Science, 333, 1764-1767.

ÖZGEÇMİŞ

Hasan İŞLER 29/08/1989 tarihinde Rize'de doğdu. İlköğretimini 2003 yılında Rize Denizciler İlköğretim Okulu'nda ve Ortaöğretimini 2007 yılında Rize Anadolu Öğretmen Lisesi'nde tamamladı. 2012 yılında başladığı lisans eğitimini 2015 tarihinde Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü'nde tamamladı. 2010 yılında başladığı Anadolu Üniversitesi İktisadi İdari Bilimler Fakültesi, Kamu Yönetimi Bölümünü 2015 yılında tamamladı. 2015 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda başladığı yüksek lisans öğrenimini halen devam ettirmektedir. Orta seviyede İngilizce ve Almanca bilmektedir.

Bilimsel Çalışmaları ve Yayınları;

Terzi, E. and Isler, H., 2019. Antibiotic Resistance Genes of *Escherichia coli* in Coastal Marine Environment of Eastern Black Sea, Turkey. Fresenius Environmental Bulletin, 28, 1594-1601.