

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



DENİZ VE KÜLTÜR BALIKLARINDAN İZOLE EDİLEN
ENTEROBACTERIACEAE TÜRÜ SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ
SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ VE METALLO BETA-LAKTAMAZ
TİPİ DİRENÇLİK ENZİMLERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gamze BENLİKURT

Y1413.210007

Gıda Güvenliği ve Beslenme Ana Bilim Dalı

Gıda Güvenliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR

TEMMUZ - 2016



T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

Yüksek Lisans Tez Onay Belgesi

Enstitümüz Gıda Güvenliği Ana Bilim Dalı Gıda Güvenliği Tezli Yüksek Lisans Programı Y1413.210007 numaralı öğrencisi **Gamze BENLİKURT**'un “**DENİZ VE KÜLTÜR BALIKLARINDAN İZOLE EDİLEN ENRETOBACTERIACEAE TÜRÜ SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ VE METALLO BETA-LAKTAMAZ TİPİ DİRENÇLİK ENZİMLERİNİN İNCELENMESİ**” adlı tez çalışması Enstitümüz Yönetim Kurulunun 30.06.2016 tarih ve 2016/18 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından **Öğ. b. b. b. j.** ile Tezli Yüksek Lisans tezi olarak **. kabul.**.... edilmiştir.

Öğretim Üyesi Adı Soyadı

İmzası

Tez Savunma Tarihi :29/07/2016

1)Tez Danışmanı: Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR

2) Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Dilek DÜLGER ALTINER

3) Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Burcu ÇAKMAK

.....
.....
.....

Not: Öğrencinin Tez savunmasında **Başarılı** olması halinde bu form **imzalanacaktır**. Aksi halde geçersizdir.

YEMİN METNİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Deniz ve Kùltür Bahkılarından İzole Edilen *Enterobacteriaceae* Türü Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu beta-Laktamaz ve Metallo beta-Laktamaz tipi Dirençlilik Enzimlerin İncelenmesi**” adlı çalışmanın, tezin proje safhasından sonuçlanmasına kadar ki bütün süreçlerde bilimsel ahlak ve etik geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin bibliyografyada gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanmış olduğunu belirtir ve onurumla beyan ederim. (29.07.2016)

Gamze BENLİKURT





ÖNSÖZ

Bu çalışmada Türkiye’de bulunan deniz ve tatlı su balıklarında Genişletilmiş Spektrumlu Beta Laktamaz üreten *Enterobacteriaceae* türleri incelenmek istenmiştir. Yüksek lisans eğitimim boyunca benden bilgilerini, deneyimlerini ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Haydar Özpınar’a teşekkürlerimi sunarım. Deneysel çalışmam esnasında zaman zaman gerek duyduğumda beni destekleyen ve yardım eden Dr. İsmail Hakkı Tekiner, Çiğdem Sökmen ve diğer tüm Kişilere teşekkür ederim. Ayrıca hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, varlıklarıyla beni onurlandıran değerli aileme teşekkürlerimi sunarım.

Temmuz.2016

Gamze BENLİKURT



İÇİNDEKİLER

Sayfa

| | |
|---|-----------|
| ÖNSÖZ..... | vii |
| İÇİNDEKİLER | ix |
| SİMGELER VE KISALTMALAR | xi |
| ÇİZELGE LİSTESİ..... | xiii |
| ŞEKİL LİSTESİ..... | xv |
| ÖZET..... | xvii |
| ABSTRACT | xix |
| 1 GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2 LİTERATÜR BİLGİSİ | 3 |
| 2.1 Balık eti ve insan beslenmesindeki önemi..... | 3 |
| 2.2 Dünya’da balık üretimi ve tüketimi..... | 4 |
| 2.3 Türkiye’de balık üretimi ve tüketimi..... | 9 |
| 2.4 Balık ve balık ürünlerinde mikrobiyolojik riskler | 13 |
| 2.5 Balık ve balık ürünlerinde mikrobiyolojik kriterler | 13 |
| 2.6 Kültür balıkçılığı | 15 |
| 2.6.1 Dünya’da durumu..... | 15 |
| 2.6.2 Türkiye’de durumu..... | 17 |
| 2.7 Kültür balıkçılığında hastalıklar ve gıda güvenliği sorunları | 17 |
| 2.8 Balıkçılıkta antibiyotik kullanımı..... | 18 |
| 2.9 Antibiyotikler | 20 |
| 2.9.1 Beta-Laktam Antibiyotikler | 20 |
| 2.9.2 Geniş spektrumlu antibiyotikler..... | 22 |
| 2.10 Antibiyotik direnci..... | 22 |
| 2.10.1 Direnç tipleri | 22 |
| 2.10.1.1 Kazanılmış Dirençlilik | 22 |
| 2.10.1.2 Çoklu Dirençlilik..... | 22 |
| 2.10.2 Direnç Mekanizmaları..... | 23 |
| 2.10.2.1 Antibiyotiğin hedefi olan molekülün değişmesi | 23 |
| 2.10.2.2 Hücre duvarı geçirgenliğinin azalması..... | 23 |
| 2.10.2.3 Enzimatik yıkımdan kaynaklanan direnç | 23 |
| 2.10.2.4 beta-Laktamazlar..... | 24 |
| 2.10.2.5 Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) | 24 |
| 2.10.2.6 Metallo beta-Laktamazlar (MBL)..... | 25 |
| 2.11 Balıklarda GSBL ve MBL üreten <i>Enterobacteriaceae</i> | 27 |
| 3 GEREÇ ve YÖNTEM | 29 |
| 3.1 Gereç..... | 29 |
| 3.2 Besiyerleri ve Yöntemler..... | 31 |
| 3.2.1 Besiyerleri | 31 |
| 3.2.1.1 Enterobakteri ön zenginleştirme (EE) broth | 31 |
| 3.2.1.2 Kromojen GSBL seçici katı besiyeri | 32 |
| 3.2.1.3 Tryptic Soy Agar (TSA)..... | 32 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 3.2.1.4 | Mueller Hinton Agar (MHA) | 33 |
| 3.2.1.5 | Mueller Hinton Broth (MHB) | 33 |
| 3.2.2 | Yöntemler | 34 |
| 3.2.2.1 | Numune hazırlama ve ön zenginleştirme | 34 |
| 3.2.2.2 | Kromojen GSBL selektif besiyerine geçiş | 35 |
| 3.2.2.3 | Oksidaz testi | 36 |
| 3.2.2.4 | Vitek ® MS ile tiplendirme | 36 |
| 3.2.2.5 | Disk difüzyon tarama testi | 37 |
| 3.2.2.6 | Kombine disk difüzyonu testi | 38 |
| 3.2.2.7 | Antibiogram doğrulama ve MİK tespiti | 38 |
| 4 | BULGULAR | 41 |
| 4.1 | Mikrobiyolojik bulgular | 42 |
| 4.2 | GSBL- ve MBL- tipi beta-laktamazların tarama bulguları | 43 |
| 5 | TARTIŞMA VE SONUÇ | 47 |
| 6 | KAYNAKLAR | 53 |
| | ÖZGEÇMİŞ | 57 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|-------------|--|
| AB | :Avrupa Birliği |
| Bla | :beta-Laktamaz |
| °C | :Derece Santigrat |
| CAC | :Codex Alimentarius Commission |
| CAZ | :Ceftazidime |
| CDC | :ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri |
| CZC | :Ceftazidime Klavulanik Asitli |
| CLSI | :Klinik ve Laboratuvar Standartları Kurumu |
| CPD | :Cefpodoxime |
| CPC | :Cefpodoxime Klavulanik Asitli |
| CTX | :Cefotaxime |
| CTC | :Cefotaxime Klavulanik Asitli |
| ÇDYA | :Çoklu Doymamış Yağ Asitleri |
| DHA | :Dokosahekzaenoik asit |
| Dk | :Dakika |
| EC | :European Commission |
| EPA | :Eikozapentaenoik asit |
| EEB | : <i>Enterobacteriaceae</i> Enrichment Broth |
| EFSA | :European Food Safety Authority |
| FAO | :Dünya Gıda ve Tarım Teşkilatı |
| FDA | :Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi |
| g | :Gram |
| GSBL | :Genişlemiş-Spektrumlu beta-Laktamaz |
| L | :Litre |
| MBL | :Metallo Beta-laktamaz |
| MHA | :Mueller Hinton Agar |
| MHB | :Mueller Hinton Broth |
| MIK | :Minimal İnhibitör Konsantrasyonu |
| μ | :Mikron |
| μg | :Mikrogram |
| μL | :Mikrolitre |
| mL | :Mililitre |
| mm | :Milimetre |
| - | :Negatif |
| pH | :Asitlik değeri |
| + | :Pozitif |
| s | :Saat |
| TÜİK | :Türkiye İstatistik Kurumu |
| TSA | :Tryptic Soy Agar |
| TSB | :Tryptic Soy Broth |
| ω-3 | :Omega-3 |



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

| | |
|--|----|
| Çizelge 2.1: Bazı balıklardaki yağ miktarları | 3 |
| Çizelge 2.2: Omega-3 Çoklu doymamış yağ asitlerince zengin balıklar..... | 4 |
| Çizelge 2.3: Dünya su ürünleri üretimi | 5 |
| Çizelge 2.4: Dünya su ürünleri tüketimi | 5 |
| Çizelge 2.5: Balıklarda mikrobiyal hastalık kaynakları ve etkileri | 14 |
| Çizelge 2.6: Balıklarda patojen mikroorganizmaların kaynakları , hastalık dereceleri ve gıda güvenliği riskleri | 15 |
| Çizelge 2.7: Dünya ülkeleri kültür balıkçılığı üretimi | 16 |
| Çizelge 2.8: Beta-laktam grupları | 21 |
| Çizelge 2.9: Beta-laktamazların sınıflandırması | 26 |
| Çizelge 3.1: Örneklem | 29 |
| Çizelge 3.2: Enterobakteriler için referans zon ve MİK sınırları | 39 |
| Çizelge 4.1: Disk difüzyonu ve kombine disk difüzyonu bulguları | 43 |
| Çizelge 4.2: MİK bulguları..... | 44 |
| Çizelge 4.3: GSBL- ve MBL- pozitif izolatların tür bazında dağılımı..... | 45 |



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

| | |
|---|----|
| Şekil 2.1: Yıllar bazından gıda amaçlı balık üretimi | 7 |
| Şekil 2.2: Dünya’da kişi başına düşen du ürünleri tüketimi..... | 8 |
| Şekil 2.3: 2004-2013 dönemi su ürünleri üretimi..... | 10 |
| Şekil 2.4: Denizler ve iç sularda balık üretiminin dağılımı | 11 |
| Şekil 2.5: Su ürünleri üretim dağılımı | 12 |
| Şekil 2.6: Türkiye’nin 2013 yılı itibariyle su ürünleri ihracaatı | 17 |
| Şekil 2.7: Oksitetrasiklin antibiyotiğin kültür balığı larvası stress seviyeleri üzerine etkisi | 19 |
| Şekil 2.8: Beta-laktam halkası ve farklı beta-laktam antibiyotikler | 21 |
| Şekil 2.9: Beta-laktamaz etki mekanizması..... | 24 |
| Şekil 2.10: Bazı GSBL moleküler yapıları | 25 |
| Şekil 3.1: Örneklem dağılımı..... | 31 |
| Şekil 3.2: Balık örnekleri | 34 |
| Şekil 3.3: Numune hazırlama ve ön zenginleştirme | 35 |
| Şekil 3.4: GSBL kromojen besiyerinde gelişen koloniler | 36 |
| Şekil 3.5: Vitek ® MS ile identifikasyon hazırlıkları..... | 37 |
| Şekil 3.6: Kombine disk difüzyonu testi zon ölçümleri | 38 |
| Şekil 3.7: Antibiyogram doğrulama aşaması..... | 39 |
| Şekil 4.1: Balık türleri dağılımı | 41 |
| Şekil 4.2: Kesin GSBL ve MBL pozitif izolatların tür bazından grafiksel dağılımı . | 42 |
| Şekil 4.3: GSBL ve MBL pozitif izolatların av-kültür bazında dağılımı | 43 |
| Şekil 5.1: Dünya’da Metallo-beta-Laktamaz pozitif Pseudomonas görülme sıklıkları. | 50 |



DENİZ VE KÜLTÜR BALIKLARINDAN İZOLE EDİLEN ENRETOBACTERİACEAE TÜRÜ SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ VE METALLO BETA-LAKTAMAZ TİPİ DİRENÇLİK ENZİMLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Antibiyotikler bakteriyel hastalıkların tedavisinde tüm dünyada yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kültür balıkçılığının gelişmesi ile balıklarda bakteriyel enfeksiyonlar problem olmaya başlamıştır. Su ürünleri sektöründe patojen bakterilerin tedavisinde antibiyotiklerin kullanılmasıyla bakterilerin antibiyotiğe karşı direnç geliştirmesi ciddi bir sorun haline gelmiştir. *Enterobacteriaceae* suşları doğadaki geniş dağılımları, yüksek düzeyde antibiyotik dirençlilikleri ve neden oldukları enfeksiyonlarında yüksek mortalite oranları ile ilgi çeken mikroorganizmalardır. Bu çalışmada, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden alınan 55 adet deniz ve tatlı su av balığı ile 45 adet deniz ve tatlı su kültür balığı olmak üzere toplam 100 adet balık örneklerinden mikrobiyolojik yöntemle izole edilen enterobakterilerde CLSI talimatına göre GSBL ve MBL tipi enzimlerin varlıklarının araştırılması amaçlanmıştır. Balık örnekleri ön zenginleştirme, GSBL selektif zenginleştirme, Vitek MS kütle spektrometresi ile tiplendirme ve oksidaz testlerinden sonra, sefotaksim, seftazidim ve sefpodoksim antibiyotik ajanlara karşı disk difüzyonu, kombine disk difüzyonu ve MİK değeri tespit analizlerine tabi tutulmuştur. İnceleme sonucu 4 adet (3 *E. coli* ve 1 *E. cloacae/asburiae*) av balıklarından ve 2 adet (1 *E. coli* and 1 *C. freundii*) kültür balıklarından olmak üzere toplam 6 adet (4 *E. coli*, 1 *C. freundii* ve 1 *E. cloacae/asburiae*) GSBL-pozitif enterobakteri suş elde edilmiştir. Yalnızca deniz kültür balığı denizalısından izole edilen 1 adet *Pseudomonas putida* suşun metallo-beta-laktamaz varlığı bakımından pozitif olduğu belirlenmiştir. Tiplendirme sonucu izolatların tür dağılımı %57,1 *E. coli*, %14,3 *E. cloacae/asburiae*, %14,3 *C. freundii* ve %14,3 *P. putida* olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, deniz ve kültür balıklarında GSBL ve MBL pozitif enterobakterilerin varlıklarına rastlanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Antibiyotik direnci, balık, Enterobacteriaceae, GSBL, MBL*



EVALUATION OF EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE- AND METALLO-BETA-LACTAMASE- TYPE RESISTANCE ENZYMES IN *ENTEROBACTERIACEAE* FROM WILD AND FARMING FISHES

ABSTRACT

In the past years, the waterborne diseases caused by pathogens has yielded financial losses in the fishery sector. Therefore, antibiotics have been widely used against bacterial infections. However, antibiotic resistance against these therapeutic agents is increasingly becoming important for food safety and public health. The objective of this study was to investigate the presence of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) and metallo-beta-lactamase (MBL)-producing *Enterobacteriaceae* from both farmed and wild-fish from different regions in Turkey. In this study, a total of 100 samples (55 sea and 45 farming) from Turkish seas and lakes was collected. After pre-enrichment and inoculation on beta-lactamase selective media, presumptive isolates were characterized by Vitek® MS. Phenotypic Screening and MIC determination of β -lactamases were performed by disc-approximation testing and Micronaut-S beta-lactamase VII kit (Merlin) and Software (Sifin) according to the CLSI Guidelines. The results revealed that a total of 7 isolates was recovered. Of them, 4 ESBL-producers (3 *Eschericia coli* and 1 *Enterobacter cloacae/asburiae*) were obtained from wild-fish. On the other hand, a total of 2 ESBL-producers (1 *Eschericia coli* and 1 *Citrobacter freundii*) were from fish-farming. Also, 1 *Pseudomonas putida* from fish-farming was positive for MBL production. This study is the first report on the occurrence of ESBL and MBL-producing *Enterobacteriaceae* from wild and farmed-fish in Turkish sea-area and Sapanca Lake. In conclusion, wild and farmed-fish were contaminated with ESBL and MBL-producing enterobacteria, and presented a risk for the customers. Major reasons may possibly be due to contamination of environment with pollutants including resistant bacteria, and off-and excess use of antibiotic agents in fish-farming.

Keywords: *Antibiotic resistance, ESBL, Fish, Enterobacteriaceae, MBL*



1 GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda aqua-kültür dünyanın birçok ülkesinde hızlı gelişen bir endüstri haline gelmiştir. Bu yaşanan hızlı gelişimi sınırlayan en büyük faktör işletmelerde görülen enfeksiyöz hastalıklardır. Özellikle ekonomik kayıpların en önemli nedeni balık larvalarında görülen enfeksiyonların yüksek mortalite ile seyretmesidir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde patojen kaynaklı salgınlarının önlenmesinde ve tedavisinde antibakteriyel ajanlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Antibiyotikler, pek çok bakteriyel kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaya başlandığı 1940'lı yıllardan bu yana, m mikroorganizmalarda antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları da gelişmiştir. Bu durum gittikçe karmaşıklaşarak ve hızlanarak sürmektedir (Onuk ve Fındık, 2015).

Aşırı, sık ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı, değişik yollara dirençli bakteriler ve dirençten sorumlu genetik elemanların türler arasında hızla yayılmasına yol açmaktadır. Hayvansal atıklar, gıdalar, sular gibi çok sayıda ortam bu tip bakteriler için ideal rezervuar olmakta, vektör görevi görmektedirler. Antibiyotik içeren yemleri kullanan ülkelerde bu tip sorunun ciddi boyutlara ulaştığı görülmektedir. Türkiye'de balıkçılık önemli bir ekonomik öneme sahiptir. Türkiye, su ve su ürünleri yetiştiriciliğinde Dünya ülkeleri arasında 21.sırada gelmektedir. Deniz ve tatlı su kaynakları, şehir alt yapısındaki sorunlar, hastane ve evsel atıklar dirençli patojen bakterilerin barınmaları ve çevresel diğer kaynaklar ile canlılara ulaşmalarında etkin roller oynamakta ve görevler yapmaktadırlar (Matyar ve ark., 2009).

Bu sebeple, özellikle atık suların herhangi bir işlem görmeden doğal su kaynaklarına ulaşmaları durumunda insan sağlığı ve gıda güvenliği için tehdit oluşturmaları kaçınılmazdır (Garber 1987, Holmstörn ve ark. 2003).

Dünya Bankası'nın Balıkçılık-2030 Projeksiyonu Raporu No: 83177-GLB göre gıda amaçlı balık üretimi deniz balıkçılığı aleyhine azalış gösterirken, kültür balıkçılığı ciddi şekilde artışlar sergilemektedir. Balık yetiştiriciliği ve

üretimini sürdürülebilir boyutu önem taşıdığı gibi, tüketici açısından hijyen ve güvenliği ayrı bir tartışma boyutunu ortaya koymaktadır (www-wds.worldbank.org).

Bakteriler plazmid denilen mobil genetik elemanlara sahiptirler. Plazmid, kromozomdan farklı olup, konjugasyon mekanizması aracılığıyla antibiyotik dirençliliğinin taşınmasında rol oynar (Yagi ve Ark. 1997; Karayakar ve ark., 2004). Araştırmalar, su ortamında var olan bakteri kolonisinde farklı ve/veya türdeş bakteri türleri arasında dirençten sorumlu bu plazmid mobil elemanların aktarıldıklarını göstermiştir (Dahlberg ve Ark. 1998).

Bu çalışmada, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden alınan deniz, deniz çiflik, tatlı su ve kültür tatlı su balıklarından toplam 100 adet balık örneğinden izole edilen enterobakterilerde GSBL- ve MBL tipi direnç enzimlerinin varlıklarının araştırılması amaçlanmıştır.

2 LİTERATÜR BİLGİSİ

2.1 Balık eti ve insan beslenmesindeki önemi

Balık eti içerdiği yüksek ve kaliteli protein değeri, önemli aminoasitler oranlarının fazlalığı sebebiyle proteince zengin diğer gıdalardan çok daha önemlidir (Şen ve ark., 2008). Bu yağ asitleri vücut dokularının korunması ve gelişmesi için esansiyele aminoasitleri içerirler (Turan ve ark., 2006).

Balıklar insan sağlığı açısından hayati rolleri olan çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA) bakımından zengindirler. Bu yağ asitleri arasında özellikle en önemli omega-3 tipi yağ asitlerinden Eikozapentaenoik asit ve dokozahekzaenoik asitin bazı algerin balıklar tarafından tüketilmeleri ve depolanmaları yoluyla insan beslenmesinde esansiyel kaynak oluştururlar (Kaya ve ark., 2004).

Çizelge 2.1: Bazı balıklardaki yağ miktarları (*g/100 g tüketilebilir balık eti*) (Turan ve ark., 2006)

| <i>Tür</i> | <i>Yağ</i> | <i>Doymuş</i> | <i>Tekli Doymamış</i> | <i>Çoklu Doymamış</i> | <i>EPA</i> | <i>DHA</i> | <i>Kolesterol (mg)</i> |
|------------|------------|---------------|-----------------------|-----------------------|------------|------------|------------------------|
| Hamsi | 4,8 | 1,3 | 1,2 | 1,6 | 0,5 | 0,9 | - |
| Uskumru | 13,0 | 2,5 | 5,9 | 3,2 | 1,0 | 1,2 | 53 |
| Orkinos | 6,6 | 1,7 | 2,2 | 2,0 | 0,4 | 1,2 | 38 |
| Sazan | 5,6 | 1,1 | 2,3 | 1,3 | 0,2 | 0,1 | 67 |
| Yayın | 4,3 | 1,0 | 1,6 | 1,0 | 0,1 | 0,2 | 58 |
| Salmon | 10,4 | 2,5 | 4,5 | 2,1 | 0,8 | 0,6 | - |
| Alabalık | 3,4 | 0,6 | 1,0 | 1,2 | 0,1 | 0,4 | 57 |

Yapılan araştırmalar EPA ve DHA bakımından zengin ve dengeli beslenen kişilerde kardiyovasküler hastalıklar, nörobilişsel sorunlar, romatoid, diyabet, yüksek kolesterol, tansiyon, alerji ve kanser görölme sıklıklarının az olduğunu göstermektedir (Cevger ve ark., 2008).

Çizelge 2.2: Omega-3 Çoklu doymamış yağ asitlerince zengin balıklar (Turan ve ark., 2006)

| <i>Balık</i> | <i>Yağ miktarı (g)</i> | <i>n-3 PUFA (g)</i> | <i>n-3 PUFA (g)</i> |
|--------------|------------------------|---------------------|---------------------|
| Hamsi | 4,8 | 1,4 | 3,2 |
| Levrek | 2,3 | 0,8 | 1,8 |
| Lüfer | 6,5 | 1,2 | 2,7 |
| Uskumru | 13,9 | 2,5 | 5,7 |
| Ringa | 9,0 | 1,6 | 3,6 |
| Somon | 5,4 | 1,2 | 2,7 |
| Sardalye | 15,5 | 3,3 | 7,5 |
| Alabalık | 3,4 | 0,5 | 1,1 |
| Ton | 2,5 | 0,5 | 1,1 |

2.2 Dünya’da balık üretimi ve tüketimi

Dünya Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO) verilerine göre Dünya su ürünleri üretimi 154 milyon ton olup; %58,7’si denizlerden ve %41,3’ü kültür balıkçılığından karşılanmaktadır. Dünya Su Ürünleri Üretimi Çizelge 2.3 ve Dünya Su ürünleri Tüketimi istatistikleri Çizelge 2.4’te sunulmaktadır.

Özellikle deniz balıkçılığı üretiminde Dünya’nın önde gelen ülkeleri Çin, Endonezya, Amerika Birleşik Devletleri, Peru, Rusya Federasyonu, Japonya, Hindistan, şili, Vietnam, Myanmar, Norbeç, Filipinler, Güney Kore, Tayland, Malezya, Meksika, İzlanda ve Fas’tır. FAO raporunda Türkiye ile ilgili en

önemli veri kültür balıkçılığı istatistiklerinde Türkiye'nin kişi başı 25 ton üretim ile yükseliş eğiliminde olduğu, bu rakam ile Malezya, Çin, Tayland ve Endonezya'nın önlerinde yer aldığıdır (FAO, 2011).

Çizelge 2.3: Dünya su ürünleri üretimi (milyon ton) (FAO, 2011)

| Yıllar | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| Deniz Balıkçılığı | 90 | 90,3 | 89,7 | 89,6 | 88,6 | 90,4 |
| Kültür Balıkçılığı | 47,3 | 49,9 | 52,9 | 55,7 | 59,9 | 63,6 |
| Toplam Üretim | 137,3 | 140,2 | 142,6 | 145,3 | 148,5 | 154 |

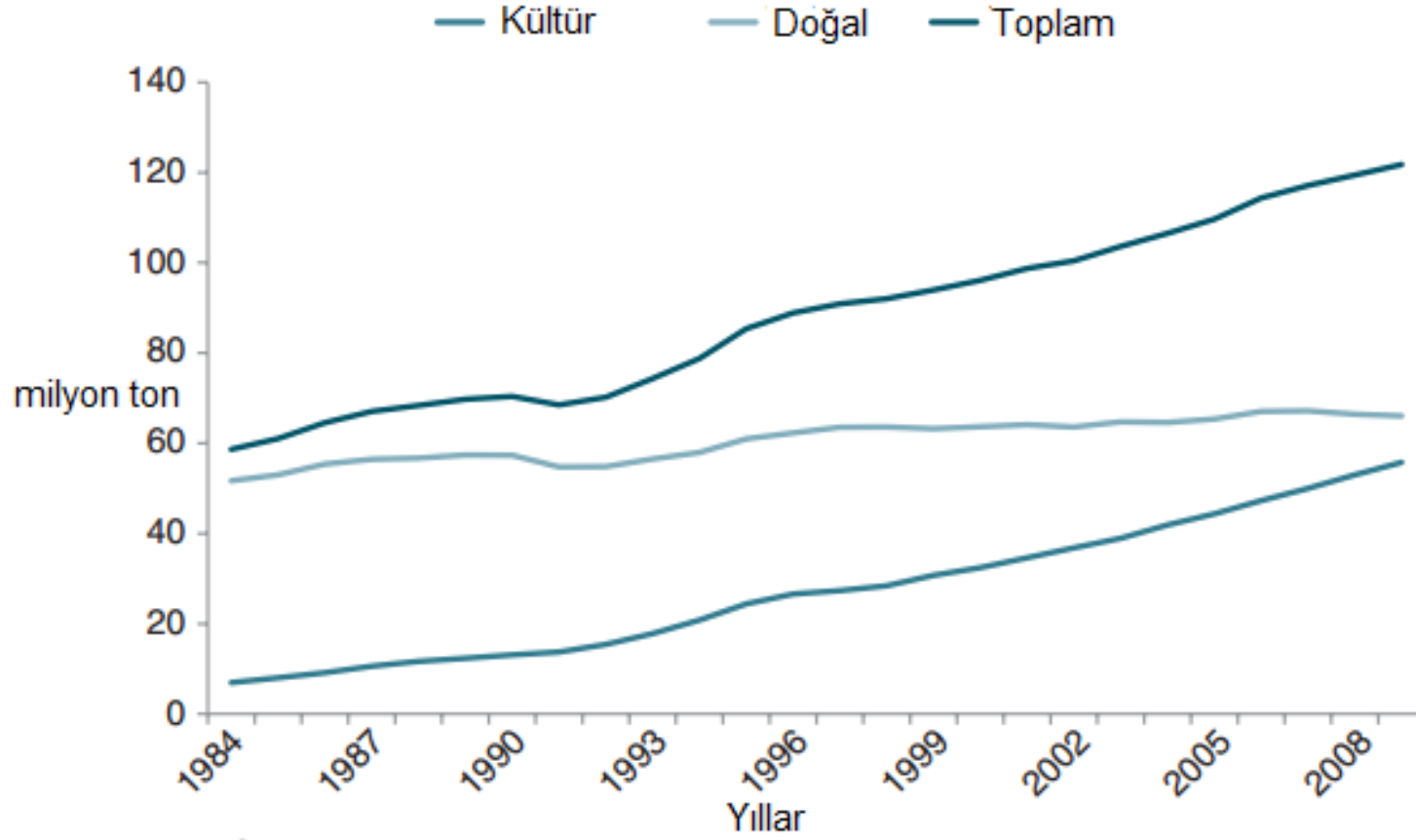
Çizelge 2.4: Dünya su ürünleri tüketimi (milyon ton) (FAO, 2011)

| Yıllar | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| İnsan Tüketimi | 114,3 | 117,3 | 119,7 | 123,3 | 128,3 | 130,8 |
| Gıda Dışı Kullanım | 23 | 23 | 22,9 | 21,8 | 20,2 | 23,2 |

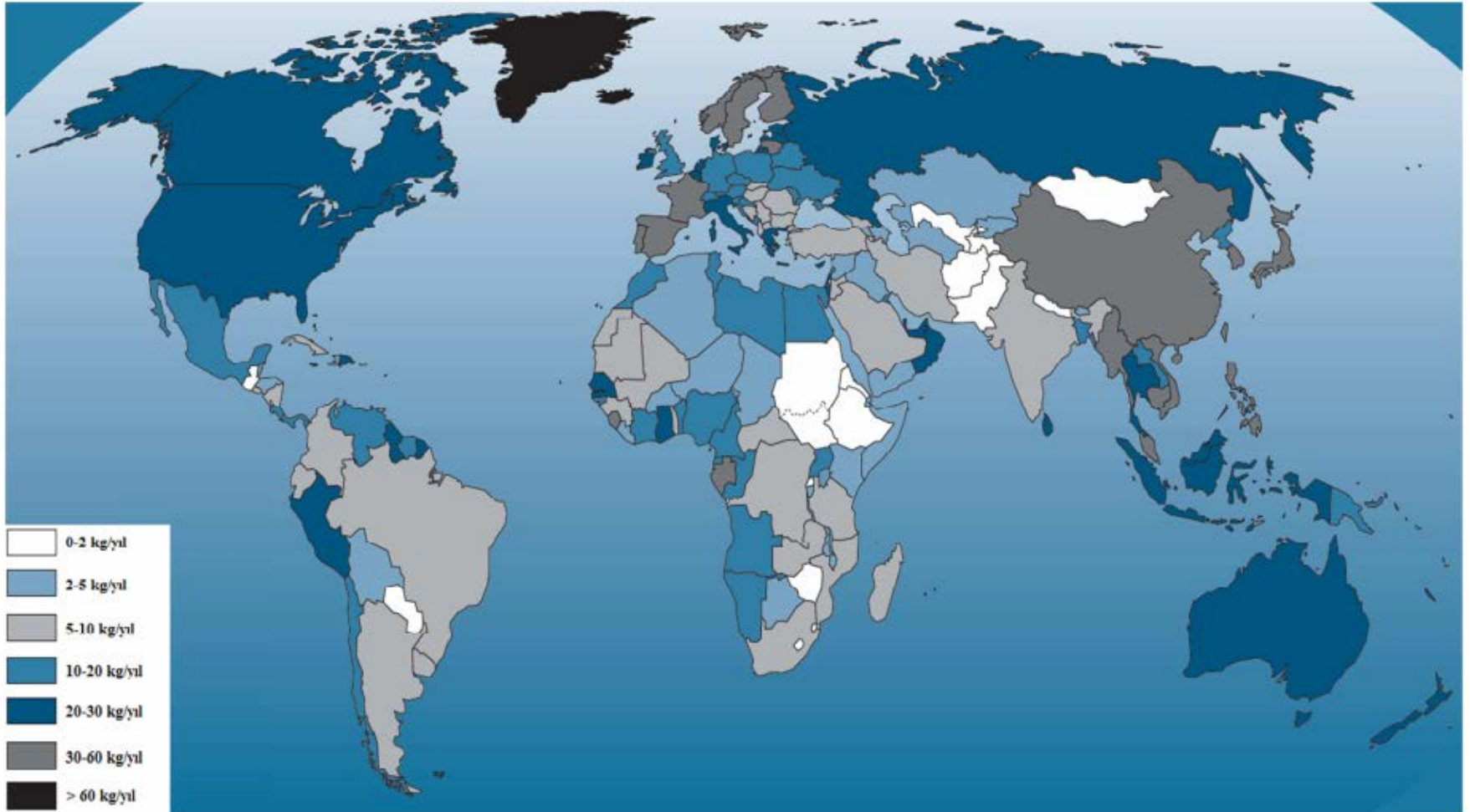
Dünya Bankası'nın Balıkçılık-2030 Projeksiyonu Raporu No: 83177-GLB göre; gıda amaçlı balık üretimi deniz balıkçılığı aleyhine azalış gösterirken, kültür balıkçılığı artış göstermektedir. Bu verilerin temel sebepleri arasında doğal kaynakların sürdürülebilir üretim, türlerin korunması, yasal kısıtlamalar yoluyla balık besillerinin korunması, iklim değişikliği sayılabilir. Sonuç olarak, uzmanlar açısından tartışıldığında balık yetiştiriciliği ve üretiminin sürdürülebilir boyutu önem taşıdığı gibi, tüketici açısından hijyen ve güvenliği

ayrı bir tartışma boyutunu ortaya koymaktadır. Bu durumla ilgili istatistik trend Şekil 2.1’de sunulmaktadır (Bkz: <http://www-wds.worldbank.org/>).





Şekil 2.1: Yıllar bazından gıda amaçlı balık üretimi (Dünya Bankası, 2013)



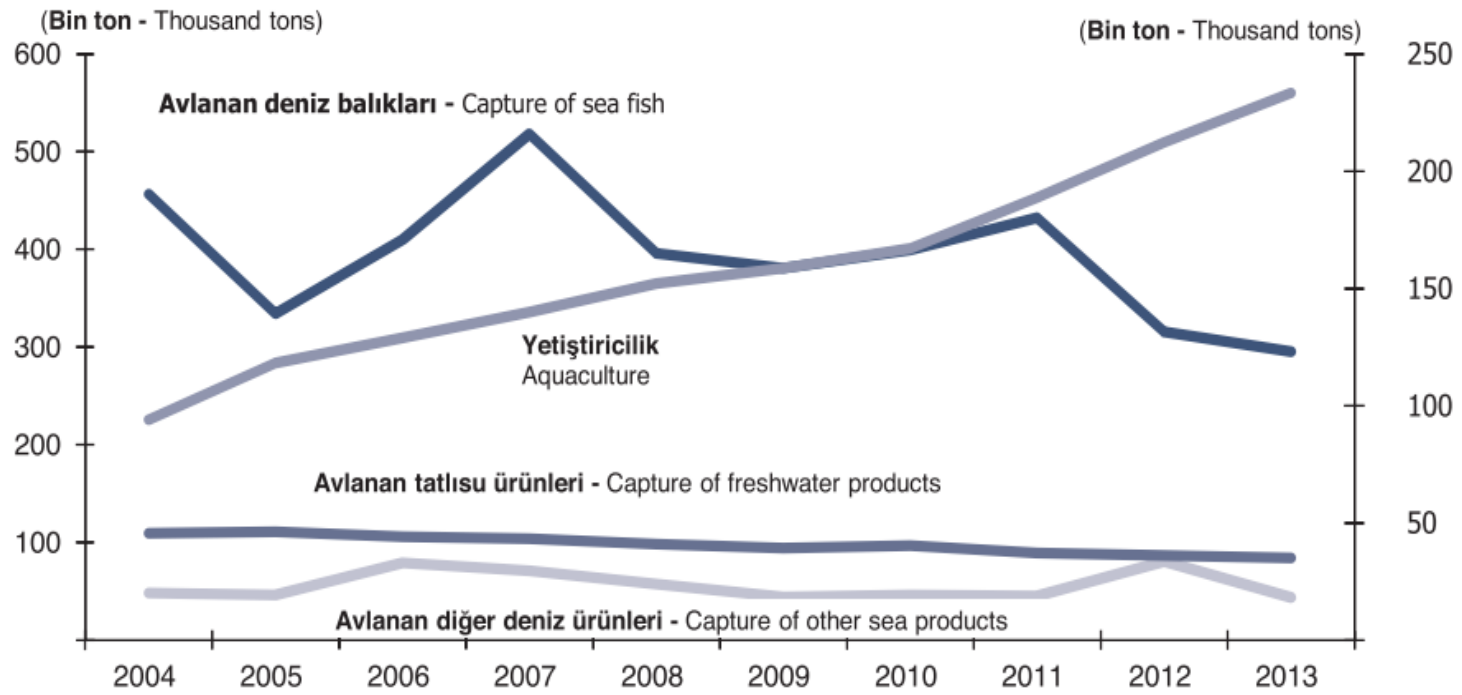
Şekil 2.2: Dünya’da kişi başına düşen du ürünleri tüketimi (FAO, 2014; Yılmaz, 2015)

2.3 Türkiye’de balık üretimi ve tüketimi

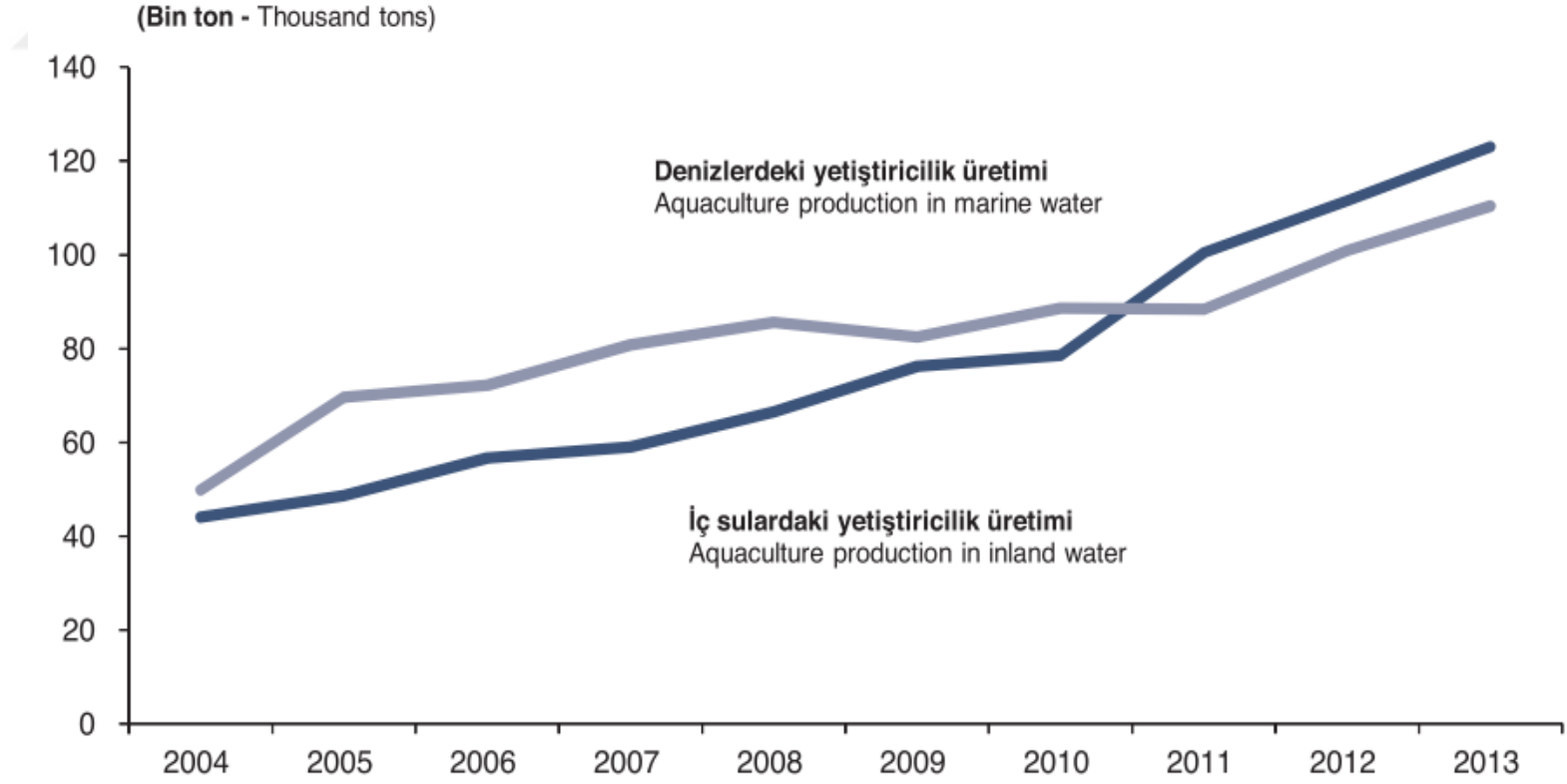
Türkiye, üç tarafı denizlerle çevrili, toplam kıyı uzunluğu 8.333 km olan, coğrafyasında çok sayıda iç deniz, akarsu, göl ve su kaynakları barındıran orta büyüklükte bir ülkedir. Türkiye İstatistik Kurumunun, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı ile ortaklaşa hazırladığı 2004-2013 yılları arası Su Ürünleri İstatistikleri Raporu’na göre, Türkiye’nin su ürünleri yetiştiriciliği bakımından ideal ülkelerden kabul edilmektedir. Bu rapora göre 2004-2013 dönemi su ürünleri üretimi Şekil 2.2; aynı dönem içinde denizlerde ve iç sulardaki yetiştiricilik üretiminin dağılımı ise Şekil 2.3’de sunulmaktadır (TÜİK, 2014).

Aynı rapora göre Türkiye’nin su ürünleri ithalatı yavaş şekilde yıllara göre artış gösterirken, yurtdışına ihracaatı daha dikkat çekilde yükseliş eğiliminde gerçekleşmiştir. Türkiye 2013 yılı sonu itibariyle; 608 bin ton üretim, 101 bin ton ihracaat, 67,5 bin ton ithalat yaparken; iç piyasada yıllık tüketim 480 bin ton ve kişi başına tüketim miktarı ise 6,3 kg olarak gerçekleşmiştir. Su ürünleri üretim dağılımına bakıldığında ilk iki sırayı %48,6 ile deniz balıkları ve %38,6 ile kültür (yetiştiricilik) balıkçılığı almaktadır (Şekil 2.4).

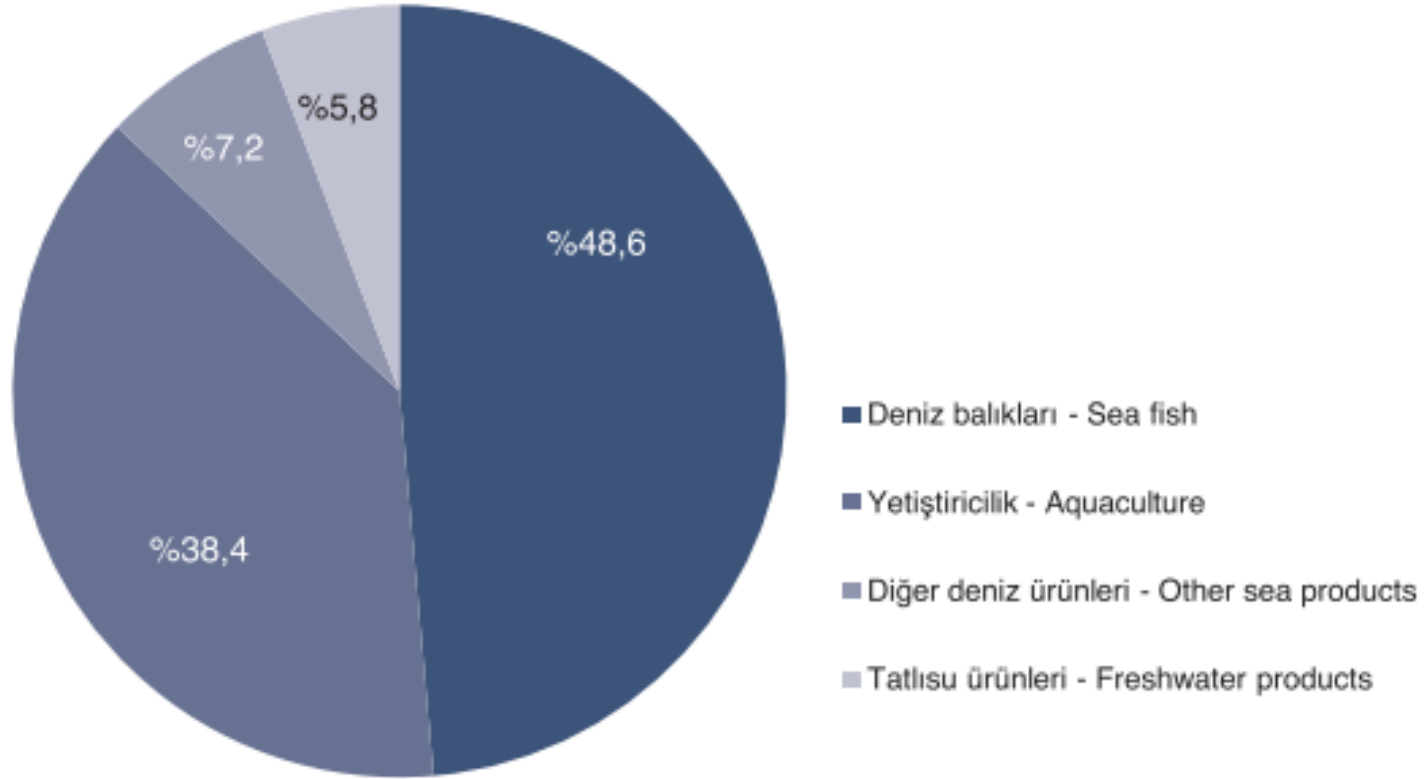
Deniz balıkçılığında avlanma oranı sıralaması %56,3 Doğu Karadeniz, %14,6 Batı Karadeniz, %13 Marmara, %10,2 Ege ve %5,9 Akdeniz’dir (TÜİK, 2014).



Şekil 2.3: 2004-2013 dönemi su ürünleri üretimi (TÜİK, 2014)



Şekil 2.4: Denizler ve iç sularda balık üretiminin dağılımı (TÜİK, 2014)



Şekil 2.5: Su ürünleri üretim dağılımı (TÜİK, 2014)

2.4 Balık ve balık ürünlerinde mikrobiyolojik riskler

Dünya’da balık kaynaklı hastalıkların rapor edilen tüm gıda kaynaklı hastalıkların %1’ini oluşturduğu bilinmektedir (Mossel, 1982).

ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (CDC), 1993-1997 yılları arasında A.B.D’de balık kaynaklı 140 salgın vak’ası olduğunu , bu tip vakaların toplam gıda kaynaklı salgınların %5,1’ini teşkil ettiğini, 696 kişinin etkilendiğini ve ölüm rapor edilmediğini bildirmiştir (Olsen ve ark., 2000).

Balık ve balık ürünlerinin Uluslararası ticaret boyutu düşünüldüğünde, A.B.D’nin Temmuz 2001 ve Haziran 2002 döneminde başka ülkelerden ithal ettiği toplam 1.684 parti balık ve balık ürünleri ithalatı içinde toplam 476 adet (%28,3) parti mikrobiyolojik açıdan sakıncalı bulunduğu için ret edilmiştir (FDA, 2002).

Benzer şekilde 1992-1997 yılları arasında İngiltere’de tespit edilen gıda kaynaklı salgınların yaklaşık %10’unun balık ve balık ürünleri yüzünden gerçekleştiği bildirilmiştir (Gillespie ve ark., 2001).

Balık ve balık ürünlerinde başlıca mikrobiyolojik ret kriterleri arasında *Vibrio spp.*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* ve aerobik mezofilik bakteriler gelmektedir. Avrupa Birliğinde 1999-2002 yılları arasında mikrobiyolojik açıdan toplam 208 adet ret edilen balık ve balık ürünleri partisininin %8,7’si *Enterobacteriaceae* kaynaklıdır (FAO, 2004).

2.5 Balık ve balık ürünlerinde mikrobiyolojik kriterler

Balık ve balık ürünlerinde mikrobiyolojik kriter yaklaşık 1990’lı yılların sonlarına doğru Avrupa Birliği (AB) üyesi bazı ülkeler tarafından gıda güvenliği standartı olarak getirilmiştir. Bu standartlar üye ülkeler arasında bazı farklılıklar göstermektedir (CAC, 1997).

Tüm kriterlerin ortak amacı tüketici sağlığını korumak olup, başlıca risk değerlendirme , örneklem planları ve mikroorganizmaların tespit yöntemleri üzerine kuruludur (EC, 1998).

Fransa’da balık ve balık ürünleri üzerine yaklaşık 80 adet kriter varken, AB Üyesi ve kurucu ülkesi Federal Almanya Cumhuriyeti herhangi bir kriter

uygulamamaktadır. Benzer şekilde, Norveç, İspanya, Danimarka ve Belçika kendi ulusal kriterlerine sahiptirler (Baird -Parker ve Tompkin 2000). Dünya Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO) AB üyesi ülkelerde balık ve balık ürünlerinde istenen temel mikrobiyolojik kriterleri bir araya getirmiştir. Bu kriterler Çizelge 2.5'te sunulmaktadır (FAO, 2004).

Çizelge 2.5: Balıklarda mikrobiyal hastalık kaynakları ve etkileri (FAO, 2014)

| Patojenin kaynağı | Hastalık durumu | | |
|--------------------------|--|--|--|
| | İnfeksiyon | | İntoksikasyon |
| | Yüksek risk | Düşük risk | |
| Su kaynaklı | <i>Vibrio spp.</i> (<i>Aeromonas</i>) (<i>Plesiomonas</i>) | | <i>Clostridium botulinum</i> Tip E (non-proteolitik) |
| Çevresel kaynaklı | <i>L. monocytogenes</i> | | <i>C. botulinum</i> Tip A,B (proteolitik) <i>C. perfringens</i> <i>B. cereus</i> |
| Hayvansal-İnsan kaynaklı | <i>Salmonella</i> <i>E.coli</i> (EPEC,ETEC) | <i>S. typhi</i> <i>Shigella</i> <i>E.coli</i> (EHEC) <i>Campylobacter</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| Önleyici tedbirler | Gelişmenin engellenmesi | Hijyen; GHP/GMP | Gelişmenin engellenmesi |

Çizelge 2.6: Balıklarda patojen mikroorganizmaların kaynakları , hastalık dereceleri ve gıda güvenliği riskleri (FAO, 2014)

| Patojen kaynağı | Durumu | Gıda güvenliği riski | | |
|-----------------------|---------|----------------------|-----|----------------------------|
| | | Taze balık | | Tüketime hazır balık ürünü |
| | | Piştirilmiş | Çiğ | |
| Su kaynaklı | Var | - | - | - |
| | Gelişme | - | (+) | + |
| Çevresel kaynaklı | Var | - | - | - |
| | Gelişme | - | (+) | + |
| Hayvan-İnsan kaynaklı | Var | - | + | + |
| | Gelişme | (+) | + | + |

2.6 Kültür balıkçılığı

2.6.1 Dünya’da durumu

FAO Dünya kültür balıkçılığı üretim miktarının 2013 yılı itibariyle 70 milyon tonu aştığını bildirmiştir. Bu miktarda bir üretimin ekonomik büyüklüğü 150 milyar \$ civarına karşılık gelmektedir.

Kültür balıkçılığı sektöründe en büyük üretici bölge %89,1 payı Asya’dır. Asya’yı %4,4 ile Amerika ülkeleri, %4 ile Avrupa ülkeleri, %2,3 ile Afrika ülkeleri ve %0,3 ile Okyanusya ülkeleri takip etmektedir.

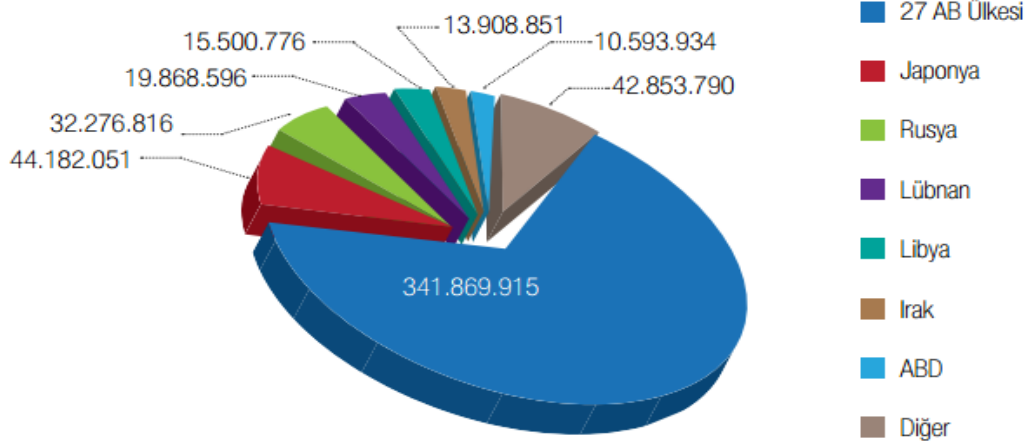
Türkiye, 2013 yılı itibariyle kültür balıkçılığı üretimi sıralamasından 21. Sıradadır. Dünya ülkeleri kültür balıkçılığı üretimi verileri Çizelge 2.7’de sunulmuştur (T. C. Brüksel Ticaret Müşavirliği, 2015).

Çizelge 2.7: Dünya ülkeleri kültür balıkçılığı üretimi (T. C. Brüksel Ticaret Müşavirliği, 2015)

| Sıra | Ülke | 2012 | 2013 |
|------|---------------|-------------------|-------------------|
| 1 | Çin | 41.110.864 | 43.551.730 |
| 2 | Hindistan | 4.209.478 | 4.549.607 |
| 3 | Endonezya | 3.084.911 | 3.848.823 |
| 4 | Vietnam | 3.085.500 | 3.207.200 |
| 5 | Bangladeş | 1.726.066 | 1.859.808 |
| 6 | Norveç | 1.321.119 | 1.247.865 |
| 7 | Mısır | 1.017.738 | 1.097.544 |
| 8 | Tayland | 1.272.100 | 1.056.944 |
| 9 | Şili | 1.071.421 | 1.033.206 |
| 10 | Myanmar | 885.169 | 929.180 |
| 11 | Filipinler | 790.894 | 815.008 |
| 12 | Japonya | 633.067 | 608.820 |
| 13 | Brezilya | 480.150 | 473.429 |
| 14 | ABD | 419.974 | 441.098 |
| 15 | G. Kore | 486.900 | 402.141 |
| 16 | Tayvan | 344.404 | 344.453 |
| 17 | Ekvador | 322.453 | 332.180 |
| 18 | İran | 296.575 | 325.325 |
| 19 | Nijerya | 253.898 | 278.706 |
| 20 | Malezya | 303.386 | 261.274 |
| 21 | Türkiye | 212.805 | 233.864 |
| | Diğer | 2.108.932 | 3.325.358 |
| | Toplam | 65.437.804 | 70.223.563 |

2.6.2 Türkiye’de durumu

Dünya kültür balıkçılığı üretimi sıralamasından 21. Sırada olan Türkiye, ürettiği ürünleri çok sayıda ülkeye ihraç etmektedir ((T. C. Brüksel Ticaret Müşavirliği, 2015). Türkiye İstatistik Kurumu’nun Su Ürünleri 2013 yılı verilerine göre en büyük alıcı AB üyesi ülkelerdir. AB’yi sırasıyla Uzakdoğu ve Orta Doğu ülkeleri izlemektedir.



Şekil 2.6: Türkiye’nin 2013 yılı itibariyle su ürünleri ihracaatı (TÜİK, 2013)

2.7 Kültür balıkçılığında hastalıklar ve gıda güvenliği sorunları

Kültür balıkçılığı üretimin sürdürülebilirliğinin oldukça zor olduğu bir sektördür. Bu tür yetiştiricilik sistemlerinde zoonotik hastalıklar görülebilmektedir. Bakteri, virus ya da parazit gibi mikrobiyel kaynaklı olabileceği gibi, tesislerin yetersiz olması ve hatta balıkların yetersiz beslenmeleri sektörün gelişimini etkilediği gibi, tüketici açısından son derece risklere yol açabilmektedir.

Bu faktörlerin dışında, su kaynaklarının temizliği, çevresel koşullar ve yetiştirme ortamında hayvansal ve/veya insan kaynaklı hastalık yapıcı mikrobiyal etmenlerden arı olması önemlidir.

Bu sebeple, kültür balıkçılığında görülen balık hastalıkları ya da balıkların hastalık yapıcı etmenler için uygun konak olması mültiperspektif bakış açısı ile irdelenmesi gereken bir husustur. Su ürünleri sektörünün gıda güvenliğine olan katkısının devamlılığı açısından tedbirlerinin alınması lazımdır (Yılmaz, 2015).

2.8 Balıkçılıkta antibiyotik kullanımı

Su ürünleri yetiştiriciliğinin gelişim hızı, tedavi amaçlı antibiyotik ve antimikrobiyal madde kullanımının son yıllarda artışı ile birlikte artış göstermiştir. Araştırmalar, kısıtlanmamış antibiyotik kullanımının balıklarda, insan sağlığında ve çevre üzerinde olumsuz etkileri olduğunu göstermekle birlikte, insan sağlığına yönelik risklerin azaltılması amacıyla, yetiştiriciliği yapılan türlerde kullanılan antibiyotik ve antimikrobiyal maddelerin kullanımının yayılımı ve gelişiminin önlenmesi gerektiğini ifade etmektedirler (Yılmaz, 2015).

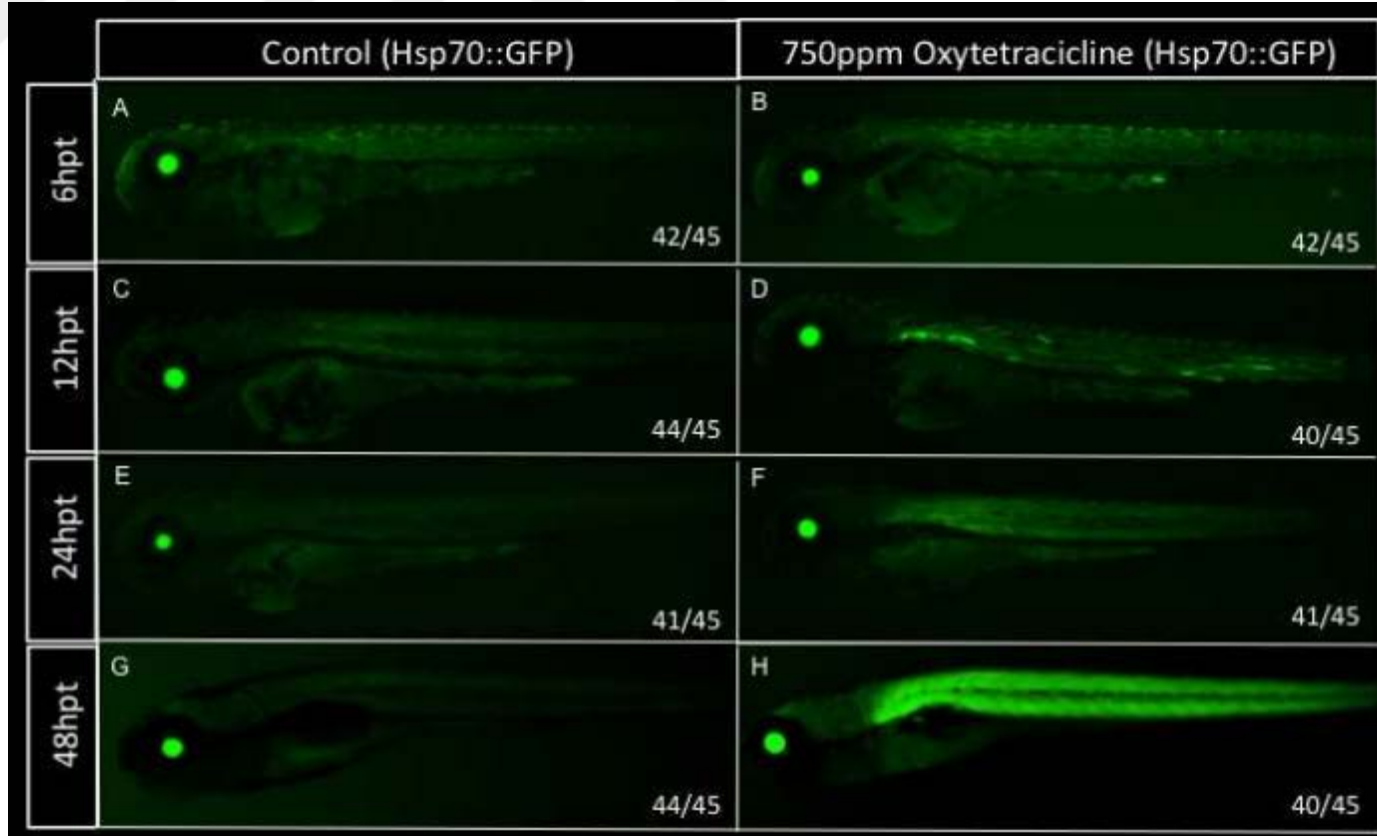
Su ürünlerinin ülke ekonomilerinde son derece önemli bir yeri olan pek çok Dünya ülkelerinde antibiyotik ajanların kullanımlarına ilişkin mevzuatlar bulunmaktadır. Örneğin, A.B.D ve Japonya'da antibiyotik kalıntıları maksimum sınırlarını belirleyen değerler bulunmaktadır.

Bu uygulama balıkçılık ve su ürünleri üreticiliğinde ilk sıralarda olan Japonya'da 2006 yılında oluşturulabilmiştir. Diğer taraftan, Türkiye'de su ürünlerinde antibiyotik kullanımını ve kullanılacak antibiyotik ajanları net şekilde ortaya koyan bir düzenleme henüz mevcut değildir (Işidan ve Kutlu 2007).

Türkiye ve Dünya genelinde kontrolü ve takibinde sıkıntılar olmakla birlikte balık hastalıklarının tedavisi ve değişik sebeplerle kullanılan başlıca antibiyotik ajanlar oksitetrasiklin, enroflaksin ve sülfonamidlerdir.

Ancak, bu ajanların aşırı ve bilinçsiz kullanımı dirençli bakterilerin ortaya çıkmalarına ve etkili antibiyotik sayısının azalmasına yol açmaktadır (Smith ve ark., 1994).

Bu durum balık tedavisinde artan başarısızlık ile sonuçlanmakta, maliyeti ve ekonomik riskleri yükseltmekte, dirençli bakterilerin çevre, türdeş ve farklı balık türlerinde yayılmalarına sebep olmakta ve sonuç olarak dirençli bakteriler ve dirençtem sorumlu genetik elemanların tüketici için sağlık riskleri doğurmaktadır (Colquhoun ve ark., 2007; Güralp, 2012).



Şekil 2.7: Oksitetrasiklin antibiyotiğın kültür balığı larvası stress seviyeleri üzerine etkisi (Romero ve ark., 2012)

2.9 Antibiyotikler

T. C. Sağlık Bakanlığı antibiyotikleri bakteriyel hastalıkların tedavisinde kullanılan, bakterilerin çoğalmalarını önleyen veya hedef bakteri popülasyonunu öldürme yeteneği olan kimyasal maddeler olarak tanımlamıştır. Bazı antibiyotik ajanlar yalnızca tek bir bakteri türüne karşı etki gösterirken, bazıları daha fazla bakteri türüne karşı etkilidirler. Bu gruba giren antibiyotiklere geniş spektrumlu antibiyotikler adı verilir (www.akilciilac.gov.tr/).

Antibiyotikler bakterilerde hücre duvarı sentezi, 50S ve 30S ribozomal yapı protein sentezi ve DNA/RNA sentezini inhibe ederek etki gösterirler (Durupınar 2001).

Antibiyotikler, bakteriyel infeksiyonların engellenmesini sağlamak için kullanılmakla birlikte, bilinen genel kanının tam tersi olacak şekilde veteriner amaçlı çok daha yüksek miktarlarda kullanılmaktadır (Can ve Çelik. 2008).

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) balıklarda kullanılmak için oldukça az sayıda antibiyotik ajana onay vermiştir. Başlıcaları penisilin, oksitetrasiklin, sülfadimetoksin-ormetoprim, sülfamerazin ve sülfadiazinormetoprimdir. Bazı ülkeler bu kimyasal maddelere ek olarak florfenikol, kloramfenikol, sarafloksasin, eritromisin, ampisilin kullanılmaktadırlar (Yanong, 2006; Boyacıoğlu, 2007).

2.9.1 Beta-Laktam Antibiyotikler

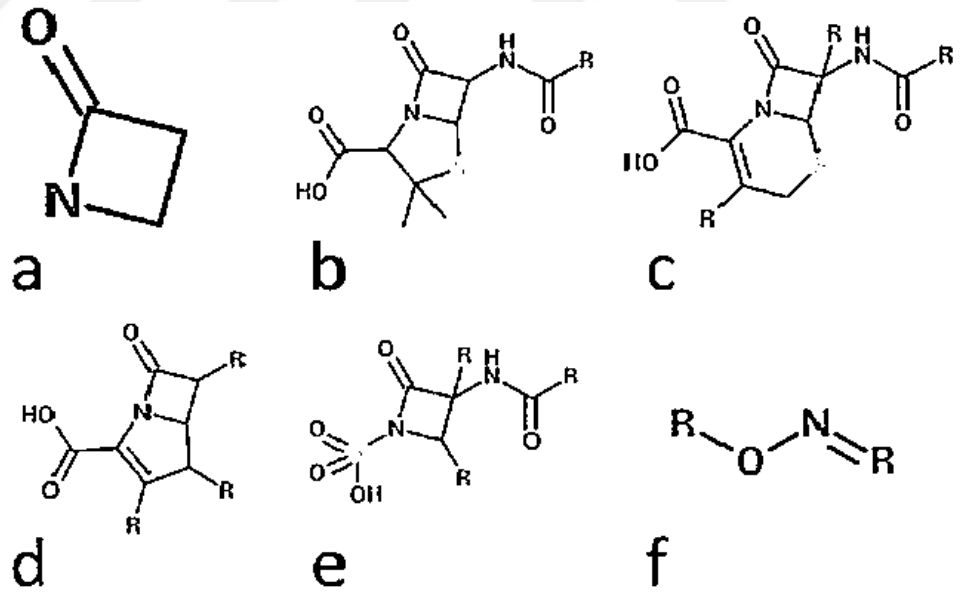
Beta-laktam antibiyotikler düşük yan etkileri olması ve bakterisid olmaları sebebiyle fazla tercih edilmektedirler. Bu antibiyotik grubu bakteri peptidoglikan tabakası sentezini bozarlar. Bakteri hücre duvarı peptidoglikan tabakası mikroorganizmaya bütünlük sağlamaktadır. Beta-laktam antibiyotikler başlıca 5 grupta toplanırlar: Çizelge 2.8. Beta-laktam grupları göstermektedir.

Çizelge 2.8: Beta-laktam grupları (Cevger, 2008)

| |
|-----------------|
| Penisilinler |
| Sefalosporinler |
| Karbapenemler |
| Monobaktamlar |

Beta-laktam antibiyotikler hücrede penisilin bağlayıcı proteinleri hedef alırlar. Bu tip antibiyotiklerin yapısı ve konfigürasyonları peptidoglukan molekülüne son derece benzerlik gösterirler. Bu benzerlik sayesinde penisilin bağlayıcı proteinler ile reaksiyona girerler ve peptidoglukan yapısının sentezini engellerler. Sonuç olarak hücre duvarı yapısı bozularak, ozmotik direnç kaybolur ve bakteri inaktif hale gelir (Güralp, 2012).

Beta-laktam antibiyotiklere 1990'lı yılların başından bu yana büyük önem verilmektedir (Kaya 2002).



Şekil 2.8: Beta-laktam halkası ve farklı beta-laktam antibiyotikler (Tärnberg 2012)

2.9.2 Geniş spektrumlu antibiyotikler

Bazı antibiyotiklerin geniş spektrumlu etkileri bulunmaktadır. Pek çok bakteri türüne karşı etki ederler ve bu sebeple “geniş spektrumlu” olarak adlandırılırlar. Bu antibiyotiklerin en büyük sakıncası zararlı bakterilerin yanında ayırt etmeksizin yararlı bakterileri de öldürmeleridir (Mertoğlu, 2011)

2.10 Antibiyotik direnci

Antibiyotik direnci bakteriin doğal bir mekanizması olduğu gibi, aşırı ve sık antibiyotik kullanımında bakterinin türünü devam ettirmek amacıyla sonradan kazandığı bir özellikte olmaktadır. Bazı mikroorganizmalar yapıları gereği antibiyotiklere karşı doğal dirençlidirler. Ancak, stres koşullarında bazı bakteriler başkalaşım ve özel mekanizmalar aracılığıyla türdeş ya da farklı cinslerden direnç kodlayan hareketli genetik elemanları alabilmekte, bu şekilde kazanılmış direnç özelliği gösterebilmektedirler.

Antimikrobiyal direnç; mikroorganizmaları engellemek ya da öldürmek için verilen antibiyotik ajan konsantrasyonuna karşı bakterinin canlılık fonksiyonlarını sürdürebilmesi ve üretkenliğinin devam etmesi şeklinde tanımlanmaktadır.

2.10.1 Direnç tipleri

2.10.1.1 Kazanılmış Dirençlilik

Antibiyotik ajan bazı durumlarda hedef aldığı bakteri popülasyonu içinde bazı dirençli ve başkalaşım geçirecek yeni türlerin ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Bu tip başkalaşım ilginçtir ki türdeş ya da farklı türler arasında son derece özel mekanizmalar aracılığıyla aktarılabilmektedir. Hatta kendiliğinden olan başkalaşım dikey şekilde transfer edilmektedir. Hareketli, küçük, kromozom dışı bu DNA materyaller, transpozonlar ve integronlar adı verilen elemanlar aracılığıyla yatay ve dikey şekilde transfer edilmektedir. Araştırmalar özellikle kazanılmış dirençliliğin sıklıkla plazmid aracılığı olduğunu göstermektedir.

2.10.1.2 Çoklu Dirençlilik

Bir bakteride aynı antibiyotik ajana karşı farklı direnç mekanizmaları olabileceği gibi, aynı andan farklı antibiyotik ajanlara karşı farklı direnç mekanizmaları da görülmektedir. Bu karmaşık ilişkiler çapraz bulaşma olarak

bilinirler. Örneğin, birbirlerine yakın farklı kimyasallar polimiksin B ve kolistin, neomisin ve kanamisin ile kimyasal yapı olarak birbirlerinden farklı eritromisin ve linkomisin iyi birer örnektirler (Mertoğlu, 2011).

2.10.2 Direnç Mekanizmaları

2.10.2.1 Antibiyotiğin hedefi olan molekülün değişmesi

Antibiyotikler bakteriye karşı etkilerini, bakteri hücre duvarı sentezini engelleme, sitoplazmik membranı bozma ve DNA fonksiyonlarını önleme şeklinde gösterirler. Birbirlerinden farklı antibiyotik etki mekanizmalarının temelinde antibiyotiğin bakteride bağlandığı hedefin farklı olması, bakterinin farklı mekanizmalar ile kendini savunmaya çalışması rol oynamaktadır (Somer, 2010; Taham, 2012).

2.10.2.2 Hücre duvarı geçirgenliğinin azalması

Bakteride hücre duvarı pek çok önemli roller yerine getirmektedir. Bu sebeple, antibiyotik ajanın bakteri hücre duvarını aşarak hücre içerisine girmesi gerekmektedir. BU duruma bakteri kendine özgü savunma mekanizmaları yoluyla yanıt verir. Aktif pompa sistemi buna iyi bir örnek teşkil eder. İlaveten, bakterinin salgıladığı ekzopolisakkaritler, bakteri kapsülü, pH ayarlama ile ortamın iyon derişiminin kontrolü başka savunma mekanizmalarındandır (Taneja ve Sharma 2008).

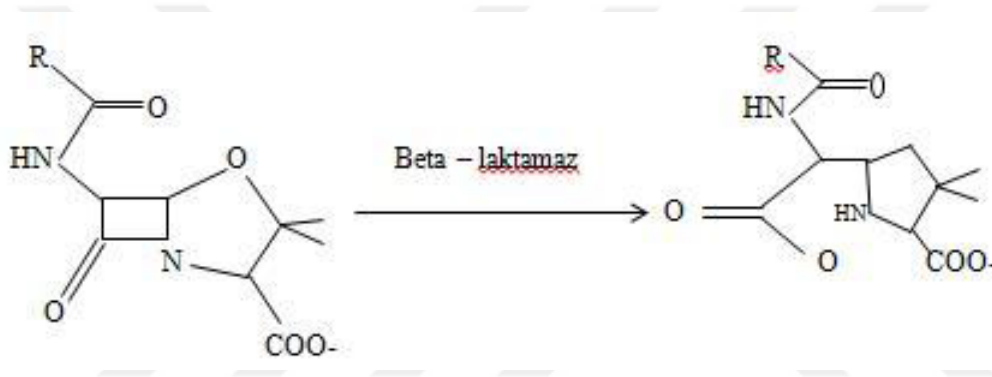
2.10.2.3 Enzimatik yıkımdan kaynaklanan direnç

Enzimatik inaktivasyon özellikle enterobakteri türleri arasında kendilerine etki edecek antibiyotik ajan olan beta-laktam antibiyotiklere karşı salgıladığı beta-laktamaz tipi enzimler aracılığıyla verilen bir mücadeledir. Bu tip direnç mekanizması ilk olarak 1944 yılında *S. aureus* suşunda tespit edilmiştir. Bu klinik kaynaklı suşun penisilini inaktive eden penisilinaz enzimi salgıladığı fark edilmiştir. Bu suşu *E. coli* ve diğer bakteriler takip etmişlerdir. Beta-laktamaz adı verilen enzim familyası hızla gelişmiş, hemen hemen her antibiyotik ilaca karşı farklı enzimlerin salgılandıkları anlaşılmıştır. Örneğin, penisiline karşı penisilinaz, sefalosporinlere karşı sefalosporinazda olduğu gibi. Beta-laktamaz ailesinin yeni kuşak geniş spektrumlu beta-laktam kimyasallara karşı başkalaşıma devam etmesiyle birlikte, ortaya genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) adı verilen çok daha geniş bir enzim ailesi çıkmıştır. Bu

değişim ve başkalaşım bugün de tüm hızıyla sürmektedir (Meral ve Korukluoğlu 2014; Culyba ve ark. 2015).

2.10.2.4 beta-Laktamazlar

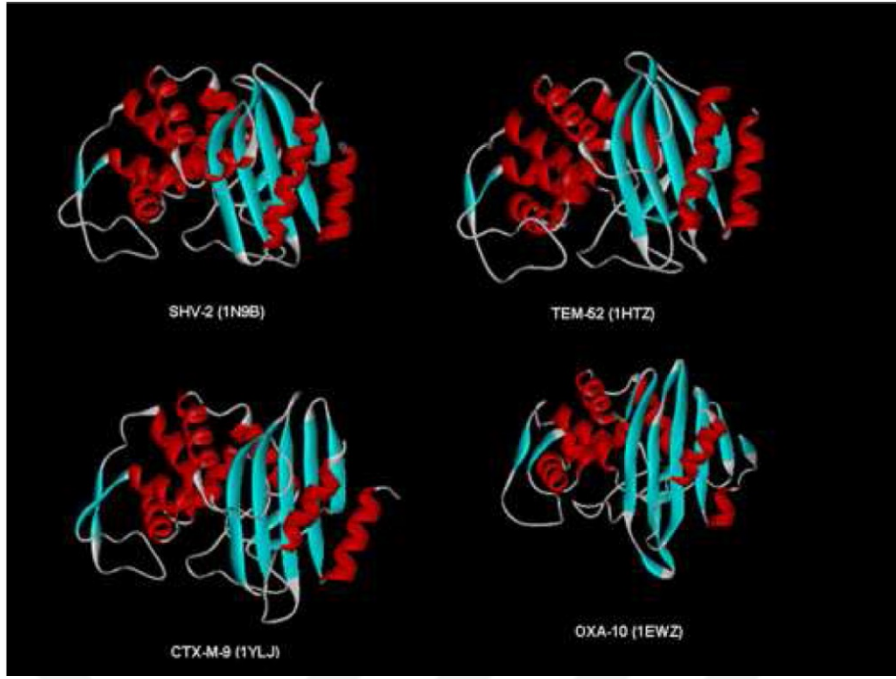
Beta-laktam grubu antibiyotikleri hidrolize ederek etkilerini engelleyen son derece geniş ve özellikle enterobakterilerde görülen bir gruptur. Bu tip enzimler bakterilerde plazmid üzerinde bulunan transpozon ve integron gibi mobil genetik elemanlar tarafından üretilmektedir. Bu mobil genetik elemanlar plazmid aracılı farklı ve türdeş bakteri türleri arasında son derece cözel mekanizmalar aracılığıyla rahatlıkla aktarılabilirler (Bonnet, 2004). Beta-laktamazlar; beta-laktam ajanın formülündeki amid bağı parçalarlar ve bu sayede ajanın etkisini önlerler (Chong, 2011).



Şekil 2.9: Beta-laktamaz etki mekanizması (Chong, 2011)

2.10.2.5 Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL)

Aşırı ve sık antibiyotik kullanımı bakterilerde zamanla mutasyona yol açmış, doğal olarak bu tip bakterilerin ürettikleri enzimler de değişmiştir. Bu durum beta-laktamazlar için de geçerlidir. Başkalaşıma uğramış ve aynı anda birden farklı tür bakteriye karşı etki göstermek için üretilmiş geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklere karşı genişlemiş spektrumu beta-laktamaz adı verilen enzimleri üretmeleriyle sonuçlanmıştır. Bu tür enzimler ilk olarak Federal Almanya Cumhuriyeti'nde 1980'li yılların ilk yarısında keşfedilmiştir (EFSA, 2011; Shaikh ve ark. 2015).



Şekil 2.10: Bazı GSBL moleküler yapıları (Perez ve ark., 2007)

GSBL tipi enzimler pek çok tür bakteride görülmektedir. Ancak, 1990'lı yıllardan bu yana özellikle enterobakter türleri arasında dikkat çekici bir hızla yayılmakta, korkutucu şekilde çeşitlenmekte ve birbirlerinden çok farklı vektörler, çevre ve koşullarda görülmektedirler. GSBL tipi enzimler TEM , SHV ve CTX-M alt grupları altında toplanmaktadır. CTX-M tipi GSBL'ler ise yine kendi aralarında beş alt grupta toplanmaktadır (Livermore 1997; Fernandes ve ark. 2014; Bonnet 2004).

2.10.2.6 Metallo beta-Laktamazlar (MBL)

Metallo-beta-laktamazlar (MBL) 1991 yılında ilk kez Japonya'da bir *P. aeruginosa* suşunda belirlenmiştir. Asya ve Avrupa ülkelerinde Gram negatif *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* suşlarında yeni MBL-tipleri görülmüştür. Dünya çapında hızlı yayılış göstermektedirler (Bulut ve Çağlar, 2013).

MBL-tipi enzimler çinko iyonu kullanarak beta-laktam antibiyotikleri etkisizleştirirler (Bulut ve Çağlar, 2013).

Beta-laktamazlar biyokimyasal ve fonksiyonel özelliklerine göre sınıflandırılırlar. Bu yöntemler Bush – Jacoby – Medeiros ve Ambler sınıflandırmalarıdır (Çizelge 2.9) (Güçlü ve ark. 2013).

Çizelge 2.9: Beta-laktamazların sınıflandırması (Güçlü ve ark. 2013)

| Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma | Ambler sınıflandırma | Substrat | İnhibitör | Enzim |
|---|-----------------------------|---------------------------------|---------------------|----------------------------------|
| 1 | C | Sefalosporin | - | AmpC |
| 2b | A | Penisilin, sefalosporin | Bla inhibitörler | TEM-1, TEM-2 TEM-13, |
| 2bc | A | GS sefalosporin ve aztreonam | Bla inhibitörler | TEM-3, SHV-2, CTX-M- 15 |
| 2d | D | Kloksasilin | Bla inhibitörler | OXA-1, OXA-10 |
| 2de | D | GS sefalosporin | Bla inhibitörler | OXA-11, OXA-15 |
| 2df | D | Karbapenem | Bla inhibitörler | OXA-23, OXA-18 |
| 2f | A | Karbapenem | Bla inhibitörler | KPC, IMI, SME, NMC |
| 3a | B | Karbapenem | EDTA | MBL |

2.11 Balıklarda GSBL ve MBL üreten *Enterobacteriaceae*

Avrupa Birliği Gıda Güvenliği Teşkilatı (EFSA) 2013 yılında yayımladığı raporunda deniz ve kültür balıklarının kıtaya ithal edilen önemli kalemler arasında olması sebebiyle, antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların takibi sistemi bağlamında diğer gıda ürünleri gibi kontrol edilmeleri gerektiğini bildirmiştir.

EFSA süt amaçlı yetiştirilen inek ve inek sütünde insan sağlığını tehdit eden dirençli *E. coli* ve *Salmonella* suşları izlemeye verdiği önemi, balıklar için de kabul etmiştir. Tehlikeli türler arasında ayrıca *Aeromonas spp.* ve *Vibrio spp.* türleri öne çıkmaktadır.

Özellikle kirli su kaynakları, nehir vb. ile yapılan kültür balıkçılığının dirençli suşların gelişmeleri ve yayılmalarında, balıkların bu tür bakteriler ile enfekte olarak insan sağlığı açısından risk teşkil edeceklerini kabul etmektedir (EFSA, 2013).

Peshattiar ve Peerapur (2011) yaptıkları çalışmada GSBL ve MBL'in ortak bulunmadığını rapor etmiştir. Balıklardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında çoklu antibiyotik direncine, özellikle MBL, rastlanmıştır. Bu çalışma özellikle Gram negatif basillerde MBL direnci görüldüğünü bildirmiştir (Khairnar ve ark., 2013).

Suudi Arabistan, Birleşik Arap Emirlikleri, Kuveyt, Karat, Umman ve Bahreyn'de 2013 yılında yürütülen geniş kapsamlı bir çalışma, toplanan balık örneklerinde ciddi şekilde antibiyotiklere dirençli bakteriler olduğunu, bu durumun çevresel kirlenmenin ulaştığı boyutu göstermesi bakımından önem taşıdığını göstermiştir. Bu araştırma, balıklarda sefalosporinlere direnç görülmemekle birlikte, naliksik asite dirençli suşların varlıklarını işaret etmesi açısından önemlidir (Zowawi ve ark., 2013)

Çin'de yetiştirilen çiftlik balıklarının gut örneklerinde GSBL üreten bakteriler (Jiang ve ark., 2012) ve İsviçre'de tatlı su kaynaklarından avlanan balıklarda yaklaşık %19 frekansında GSBL ve Amp-C tipi beta laktamaz pozitif bakteriler izole edilmiştir (Abgottspon ve ark., 2014)

Benzer şekilde, GSBL pozitif bakterilerin arasında en önemlilerinin *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* gibi enterobakteriler olduğu; bunun dışında MBL üreten enterobakterilerin tüm Dünya’da yükselişte oldukları, GSBL ve MBL birlikte üretebilen suşların başta Hindistan olmak üzere diğer Ülkelerde artış gösterdikleri belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2015).

Japonya Hükümetinin 2016-2020 dönemi antimikrobiyal direnç izleme Ulusal planı’nda kültür balıkçılığı ve antibiyotik kullanımının sıkı takibi üzerine değerlendirmeler yapılmıştır. Japon Hükümetinin bu konuya Ulusal boyutta verdiği öneme ayrıca dikkat çekicidir (The Government of Japan, 2016).



3 GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Gereç

İstanbul, Samsun, İzmir ve çevresindeki illerde bulunan semt pazarlarından ve balık hallerinden Mart – Temmuz 2015 tarihleri arasında alınan 55 adet av (44 deniz av ve 11 tatlı su av), 45 adet kültür (34 deniz kültür ve 11 adet tatlı su kültür) olmak üzere; 6 Çipura, 6 Levrek, 7 Barbun, 8 İstavrit, 7 Tekir, 4 Sardalya, 3 Dil, 2 Lüfer, 1 Mezgit, , 2 Karagöz, 1 Tırsi, 1 Lidaki, 1 İskorpit, 1 Tavuk balığı, 1 Hamsi, 1 Mercan, 1 Pulsuz Sazan, 19 Aynalı Sazan, 26 Deniz Alası (Alabalık) olmak üzere 100 adet numune (Çizelge 3.1) soğuk zincirle laboratuvara getirilmiş ve analizlere bekletilmeden başlanmıştır.

Çizelge 3.1: Örneklem

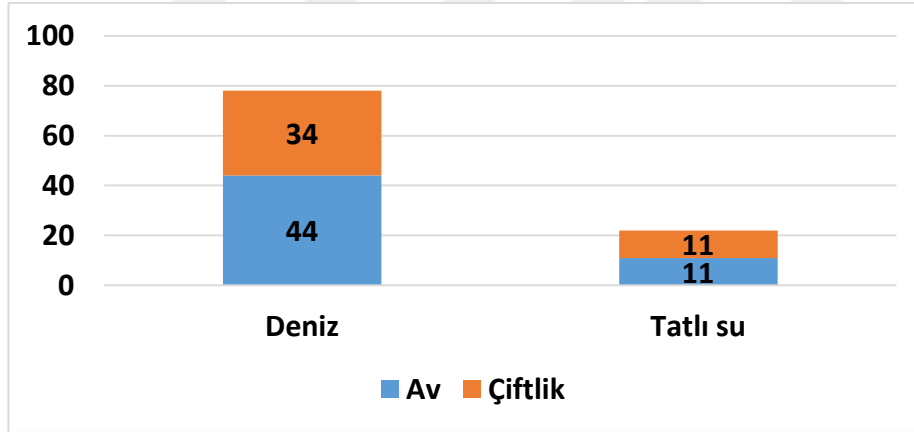
| N o | Örnek | Alındığı Yer | N o | Örnek | Alındığı Yer | N o | Örnek | Alındığı ı Yer |
|--------|--------|-----------------|--------|----------|--------------|--------|----------|-------------------|
| 1 | Çipura | Bakırköy | 37 | Dil | Güzelbahçe | 73 | A. Sazan | Sapanca |
| 2 | Levrek | Bakırköy | 38 | Alabalık | Bahçelievler | 74 | A. Sazan | Sapanca |
| 3 | Çipura | Bakırköy | 39 | İstavrit | Bahçelievler | 75 | A. Sazan | Sapanca |
| 4 | Levrek | Bakırköy | 40 | Çipura | İzmir | 76 | Alabalık | Samsun |
| 5 | Çipura | Bakırköy | 41 | Levrek | İzmir | 77 | Alabalık | Samsun |
| 6 | Levrek | Bakırköy | 42 | Levrek | Ordu | 78 | Alabalık | Samsun |
| 7 | Barbun | Beykoz | 43 | Çipura | İzmir | 79 | Alabalık | Samsun |
| 8 | Çipura | Bodrum | 44 | Hamsi | Şile | 80 | Alabalık | Samsun |
| 9 | Levrek | Beykoz | 45 | Sardalya | Çanakkale | 81 | Alabalık | Samsun |

Çizelge 3.1: (devam)Örneklem

| | | | | | | | | |
|----|----------|------------|----|----------|-------------|-----|----------|--------|
| 10 | Barbun | Paşabahçe | 46 | İstavrit | Beykoz | 82 | Alabalık | Samsun |
| 11 | İstavrit | Paşabahçe | 47 | Tekir | Samsun | 83 | Alabalık | Samsun |
| 12 | Sardalya | Bakırköy | 48 | İstavrit | Beykoz | 84 | Alabalık | Samsun |
| 13 | Mezgit | Bakırköy | 49 | İstavrit | Beykoz | 85 | Alabalık | Samsun |
| 14 | İstavrit | Bakırköy | 50 | Tekir | İzmir | 86 | Alabalık | Samsun |
| 15 | Barbun | Bakırköy | 51 | Sardalya | İzmir | 87 | Alabalık | Samsun |
| 16 | Sardalya | Çeşme | 52 | İstavrit | Kemerburgaz | 88 | Alabalık | Samsun |
| 17 | Barbun | Çeşme | 53 | Lüfer | Kemerburgaz | 89 | Alabalık | Samsun |
| 18 | İstavrit | Çeşme | 54 | Tekir | Kemerburgaz | 90 | Alabalık | Samsun |
| 19 | Barbun | Urla | 55 | P. Sazan | Sapanca | 91 | Alabalık | Samsun |
| 20 | Dil | Çeşme | 56 | A. Sazan | Sapanca | 92 | Alabalık | Samsun |
| 21 | Karagöz | Urla | 57 | A. Sazan | Sapanca | 93 | Alabalık | Samsun |
| 22 | İskorpit | Urla | 58 | A. Sazan | Sapanca | 94 | Alabalık | Samsun |
| 23 | Karagöz | Urla | 59 | A. Sazan | Sapanca | 95 | Alabalık | Samsun |
| 24 | Mercan | Urla | 60 | A. Sazan | Sapanca | 96 | Alabalık | Samsun |
| 25 | Tekir | Güzelbahçe | 61 | A. Sazan | Sapanca | 97 | Alabalık | Samsun |
| 26 | Barbun | Çeşme | 62 | A. Sazan | Sapanca | 98 | Alabalık | Samsun |
| 27 | Tekir | Çeşme | 63 | A. Sazan | Sapanca | 99 | Alabalık | Samsun |
| 28 | Barbun | Çeşme | 64 | A. Sazan | Sapanca | 100 | Alabalık | Samsun |
| 29 | Barbun | Urla | 65 | A. Sazan | Sapanca | | | |

Çizelge 3.1: (devam)Örneklem

| | | | | | |
|----|--------|------------|----|----------|---------|
| 30 | Lidaki | Urla | 66 | A. Sazan | Sapanca |
| 31 | Tekir | Urla | 67 | A. Sazan | Sapanca |
| 32 | Dil | Çeşme | 68 | A. Sazan | Sapanca |
| 33 | Tırsi | Üsküdar | 69 | A. Sazan | Sapanca |
| 34 | Lüfer | Karaburun | 70 | A. Sazan | Sapanca |
| 35 | Tekir | Güzelbahçe | 71 | A. Sazan | Sapanca |
| 36 | Tekir | Güzelbahçe | 72 | A. Sazan | Sapanca |



Şekil 3.1: Örneklem dağılımı

3.2 Besiyerleri ve Yöntemler

3.2.1 Besiyerleri

3.2.1.1 Enterobakteri ön zenginleştirme (EE) broth

E.E. broth *Enterobacteriaceae* familyasındaki mikroorganizmalar için Mossel ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (Mossel ve ark.,1963). EE broth kompozisyonu aşağıda sunulmuştur. Bu çalışmada EE broth üretici firma talimatına göre hazırlanmış ve kullanılmıştır.

| | |
|-----------------------------|-----------|
| • Kurutulmuş öküz safrası | 20 g/L |
| • Enzimatik jelatin | 10 g/L |
| • Sodyum fosfat dibazik | 8 g/L |
| • Dekstroz | 5 g/L |
| • Potasyum fosfat monobazik | 2 g/L |
| • Brilliant Green | 0.015 g/L |

Toz halindeki E.E. broth hassas terazide 45 g ölçülmüş, 1 L su içinde homojen oluncaya kadar karıştırılmış, 100 °C/30 dk su banyosunda ve sonrasında otoklavda 121°C/15 dk sterilize edilmiştir.

3.2.1.2 Kromojen GSBL seçici katı besiyeri

Kromojen GSBL seçici katı besiyeri dirençli *Enterobacteriaceae* suşların ön tespitinde kullanılan renk seçiciliğine dayanan özel amaçlı bir agardır. Bu agar üretici firma talimatına göre hazırlanmış ve sterilize edilmiştir. GSBL besiyeri ayrıca AmpC- tipi beta laktamazları üreten enterobakterilerin gelişmeleri için uygun bir ortamdır. Besiyerinin kompozisyonu aşağıda sunulmuştur.:

| | |
|-------------------|----------|
| • Pepton miks | 43,2 g/L |
| • Agar | 15 g/L |
| • Kromojenik miks | 1 g/L |
| • Selektif miks | 0,5 g/L |

Toz halinde bulunan agardan hassas terazide 59,2 g tartılarak 1 L suda süspansiyon edilmiş ve otoklavda 121 °C/15 dk steril edilmiştir. Sonra 50°C'ye soğutulmuş, içine GSBL+AmpC suplemanı eklenmiştir. Homojen karışım steril petri plaklarına dökülmüş ve analizlerde kullanmak için buzdolabına kaldırılmıştır.

3.2.1.3 Tryptic Soy Agar (TSA)

TSA, içeriğinde soya fasulyesi unu ve kazein olan ve kolay üremeyen mikroorganizmaların izolasyonu ve yetiştirilmesi için kullanılan bir besiyeridir. Bu agar üretici firma talimatına göre hazırlanmış ve sterilize edilmiştir. Besiyerinin kompozisyonu aşağıda sunulmuştur.:

- Peptonlu kazein 15 g/L
- Peptonlu soya fasülyesi 5 g/L
- Sodyum Klorür 5 g/L
- Agar-agar 15g/L

Hassas terazide 40 g tartılmış, süspansiyon edilmiş ve otoklavda 121°C/15 dk steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrası steril petrilere dökülmüş ve soğuk ortama kaldırılarak ileri analizler için saklamaya alınmıştır.

3.2.1.4 Mueller Hinton Agar (MHA)

Mueller Hinton Agar, Kirby-Bauer disk difüzyon yönteminde tercih edilen ve suşların antibiyotik direnç taramasının yapıldığı en temel gereçlerden birisidir. Rutin duyarlılık tarama/tespit amaçlı kullanılmaktadır. Bu agar üretici firma talimatına göre hazırlanmış ve sterilize edilmiştir. Besiyerinin kompozisyonu aşağıda sunulmuştur:

- Kazein hidrolizat 17,5g/L
- Agar-agar 13 g/L
- Sığır özü 2 g/L
- Nişasta 1,5 g/L

Hassas terazide ölçülen 34 g toz MHA 1 L saf suda çözündürülmüş ve çözelti 115 °C/10 dk otoklavda steril edilmiştir. Steril solüsyon aseptik koşullarda petri plaklarına dökülmüş ve ileri analizlerde kullanmak amacıyla buzdolabına kaldırılmıştır.

3.2.1.5 Mueller Hinton Broth (MHB)

Mueller Hinton Broth genel amaçlı sıvı besiyeridir. Aerobik ve fakültatif anaerobik bakterilerin rutin antimikrobiyal duyarlılık taraması için tercih edilmektedir. Bu agar üretici firma talimatına göre hazırlanmış ve sterilize edilmiştir. Besiyerinin kompozisyonu aşağıda sunulmuştur:

- Et infüzyonu 2.0 g
- Kazein hidrolizat 17.5 g
- Nişasta 1.5 g

Hassas terazide 34 g toz MHB 1 L saf suda çözdürülmüştür. Solüsyon 115 °C/10 dk otoklavda sterilize edilmiştir. İleri analizlerde kullanılmak için buzdolabında muhafazaya alınmıştır.

3.2.2 Yöntemler

Bu çalışmada; balık numunelerinde *Enterobacteriaceae* bakteri identifikasyonu için ISO/DIS 21528-2 ‘Gıda ve hayvan yemleri mikrobiyolojisi – *Enterobacteriaceae* tanımlama ve sayımı için yatay yöntemler ve CLSI (2013) talimatları takip edilerek disk difüzyonu, kombine disk difüzyonu ile doğrulama, ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile MİK değeri tespit yapılmıştır.

Çalışmada kontrol amaçlı olarak GSBL negatif *E. coli* ATCC 25922 ve GSBL pozitif *K. pneumoniae* ATCC 700603 suşları kullanılmıştır.

3.2.2.1 Numune hazırlama ve ön zenginleştirme

Balık örneklerinden 25 gr alınarak, AND GF-6100 hassas terazide (Japonya) tartılmıştır. Numune alma ve tartım işlemleri bek alevi ortamında yapılmış, olası bir bulaşmayı engellemek için kullanılan tüm alet ve araçlar %96’lık etanol (Merck 100967, Almanya) çözeltisine batırılıp bek alevinde steril edilmiştir. Tartılan miktar darası alınmış blender torbasına konulmuştur. Tartımı tamamlanan torba içine steril mezür yardımıyla kullanım talimatına göre hazırlanmış EE brohtan 225 ml eklenmiştir. Blender torbası ağzı dikkatlice kapatılmış ve homojenizatörde (EasyMix, AES Chemunex, Bruz Fransa) 2 dk homojenize edilmiştir.



Şekil 3.2: Balık örnekleri

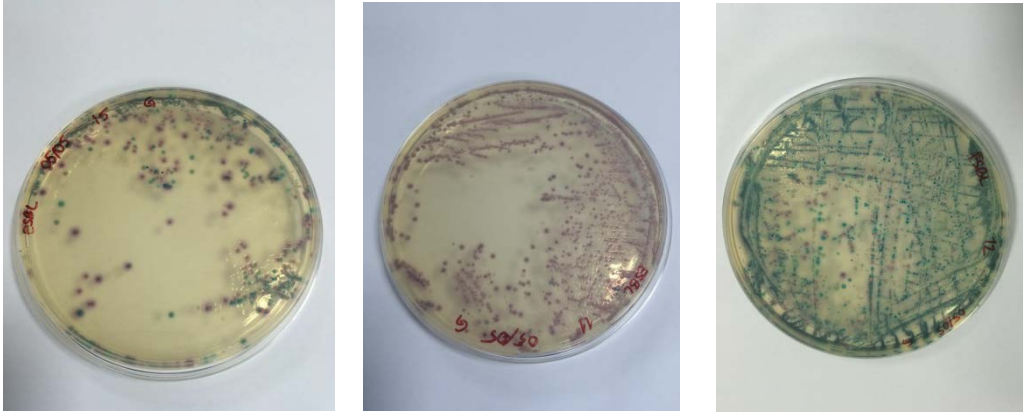


Şekil 3.3: Numune hazırlama ve ön zenginleştirme

3.2.2.2 Kromojen GSBL selektif besiyerine geçiş

Ön zenginleştirilmesi yapılmış süspansiyonlardan steril öze kullanarak bir loop dolusu miktar kromojen GSBL selektif besiyerine (LiofilChem, Türkiye) sürme yöntemiyle ekilmiştir.

Ekimi yapılmış ve ters çevrilmiş petri plakları 18 saat/36-38°C aerobik koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petri plaklarında gelişen 1-2 mm çapında yeşil, pembe ve opak renkli koloniler öze yardımı ile kullanım talimatına göre hazırlanmış TSA (LABM /UK) besiyerine pasaj edilmiştir. Pasaj edilen koloniler 36-38°C/18-48 s inkübasyona konulmuştur. GSBL şüpheli koloniler saflaşana ve tek koloni şeklinde düşene kadar gerekirse bu işlem tekrar edilmiştir. Saflaştırması tamamlanmış olan koloniler oksidaz testine alınmıştır.



Şekil 3.4: GSBL kromojen besiyerinde gelişen koloniler

3.2.2.3 Oksidaz testi

Saflaştırılan ve tek düşen GSBL şüpheli izolatların oksidaz testleri Bactident Oxidase test kiti (Merck, Almanya) takip edilerek yapılmıştır.

Oksidaz çubuğu üzerinde sarı-kahverengi renk dönüşümü veren izolatlar Oksigaz negatif; mor ve menekşe renk dönüşümü veren izolatlar ise oksidaz pozitif olarak kabul edilmişlerdir.

Oksidaz testi yapılan izolatlar tiplendirme için Vitek MS kütle spektrometresi ile ileri analize alınmıştır.

3.2.2.4 Vitek ® MS ile tiplendirme

Oksidaz testi yapılan izolatların tiplendirmesi VITEK® MS kütle spektrometresi ile yapılmıştır (bioMerieux, Fransa). Saf kültürlerden steril öze kullanarak MS slaytındaki hazır kuyucuklara bulaştırılmıştır.

Üzerlerine 1 µL CHCA matriks solüsyonu ipetlenmiş ve kuruyuncaya kadar beklenmiştir. Referans suş olarak platete uygun kuyucuğa *E. coli* ATCC8739 kontrol suşu bulaştırılmıştır.

Hazırlığı biten plate cihaza yerleştirilmiş, yazılıma veriler girilmiş ve okuma işlemi yaptırılarak sonuçlar kaydedilmiştir. Tiplendirmesi tamamlanmış GSBL şüpheli enterobakteri izolatların CLSI (2013) talimatlarına göre antibiyotik duyarlılıkları aşamasına geçilmiştir.



Şekil 3.5: Vitek ® MS ile identifikasyon hazırlıkları

3.2.2.5 Disk difüzyon tarama testi

Tiplendirilen GSBL şüpheli enterobakteri izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları CLSI (2013) talimatları izlenerek yapılmıştır. Bu amaçla, şüpheli izolata ait tek koloni steril izotonik solüsyonda 0,5 McFarland dansitesi elde edecek şekilde inoküle edilmiştir. Dansitometre olarak BD Phoenix-ABD dansitometre kullanılmıştır.

İstenilen dansitedeki süspansiyondan eküvyon çubuğu ile MHA'a (LiofilChem, İtalya) sürüntü ekimi yapılmıştır. Petri plağının süspansiyonu emmesi beklenmiştir. Bunu takiben, steril bir forsepe kullanarak Sefpodoksim, Sefotaksim ve Seftazidim içeren diskler (Mast Group ESBL Kit CPD10, İngiltere) zon bölgeleri birbirini baskılamayacak şekilde CLSI (2013) talimatlarına dikkat edilerek yapılmıştır.

Disk yerleştirme işlemi bitince petri plağı ters çevrilmiş ve aerobik koşullarda 37 °C/24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon bitiminde oluşan diskler milimetrik cetvel yardımıyla koyu bir zemin üzerinde ölçülmüş ve not alınmıştır.

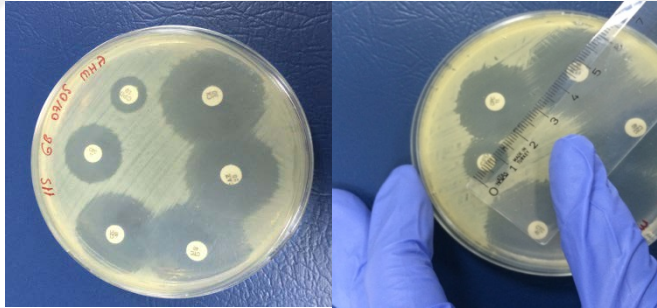
Genel disk tarama işlemi biten ve CLSI (2013) talimatlarına göre üç diskten en az biri zon ölçümü ($CAZ \leq 17$ mm, $CTX \leq 22$ mm ve $CPD \leq 17$ mm) referans değerden az ise, izolat şüpheli GSBL-pozitif kabul edilmiştir. Bu izolat bir ileri aşama olan kombine disk difüzyon testine alınmıştır.

3.2.2.6 Kombine disk difüzyonu testi

Disk difüzyonu testi sonucunda şüpheli GSBL pozitif enterobakteriler MAST GSBL D67C-Almanya test kiti prosedürü uygulanarak doğrulama testine alınmıştır. Şüpheli izolata ait tek koloni steril izotonik solüsyonda 0,5 McFarland dansitesi elde edilecek şekilde inoküle edilmiştir.

İstenilen dansitedeki süspansiyondan eküvyon çubuğu ile MHA'a (LiofilChem, İtalya) sürüntü ekimi yapılmıştır. Petri plağının süspansiyonu emmesi beklenmiştir.

Bunu takiben, steril bir forsepe kullanarak Sefpodoksim, Sefotaksim ve Seftazidim diskler ile bu disklerin klavulanik asit içeren türdeşleri yerleştirilmiştir. Bu işlem CLSI (2013) talimatlarına dikkat edilerek yapılmıştır. Disk yerleştirme işlemi bitince petri plağı ters çevrilmiş ve aerobik koşullarda 37 °C/24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon bitiminde oluşan diskler milimetrik cetvel yardımıyla koyu bir zemin üzerinde ölçülmüş ve not alınmıştır. Klavulanik asitli ve klavulanik asitsiz türdeş disklerin oluşan zon çapları arasındaki diferansiyel fark ≥ 5 mm ise izolat kesin GSBL pozitif kabul edilmiştir.



Şekil 3.6: Kombine disk difüzyonu testi zon ölçümleri

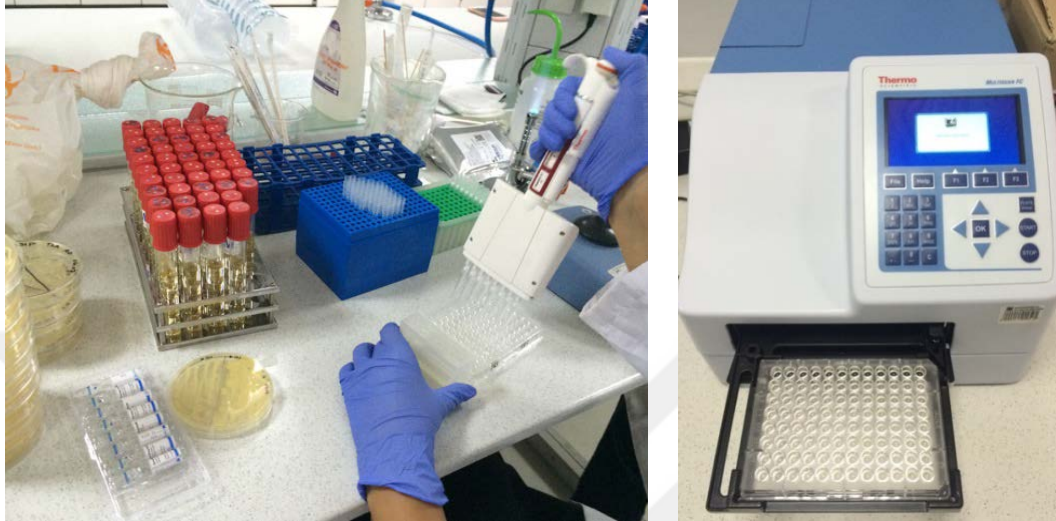
3.2.2.7 Antibiyogram doğrulama ve MİK tespiti

Kombine disk difüzyonu testi sonucu kesin GSBL pozitif olduğu tespit edilen enterobakterilerin MİK değeri tespitleri sıvı mikrodilüsyonu yöntemi ile yapılmıştır. Bu amaçla Micronaut-S beta-lactamase VII Plate (Merlin Diagnostika, Germany) hazır test paneli kullanılmıştır.

Kesin GSBL pozitif izolattan 0,5 McFarland dansitesinde izotonik solüsyondan mikropipet yardımıyla 50 µl hacim, daha önceden hazırlanmış steril 11 ml Mueller Hinton Brotha (Merck, Almanya) pipetlenmiştir. Tüp vortekslenmiştir.

Bu süspansiyondan mikropipet ile 100 µl alınmış ve hazır platein kuyucuklarına pipetlenmiştir. Platein ağzı plastik şeffaf film ile kapatılmış, plate 37°C/18-24 saat aerobik koşullarda inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon bitiminde Thermofischer spektrometre ile okunmuş, veriler MCN6 yazılımı (Sifin, Almanya) ile otomatik analiz edilmiştir.



Şekil 3.7: Antibiyogram doğrulama aşaması

Çizelge 3.2: Enterobakteriler için referans zon ve MİK sınırları (CLSI 2013)

| Antimikrobiyal ajan | Disk içeriği | Zon çapı (mm) | | | MİK (µg/ml) | | |
|-------------------------|--------------|---------------|-------|-----|-------------|---|-----|
| | | S | I | R | S | I | R |
| Seftazidim | 30 µg | ≥21 | 18-20 | ≤17 | ≤4 | 8 | ≥16 |
| Seftazidim Klavulanatlı | 30 µg+10 µg | ≥26 | 23-25 | ≤22 | | | |

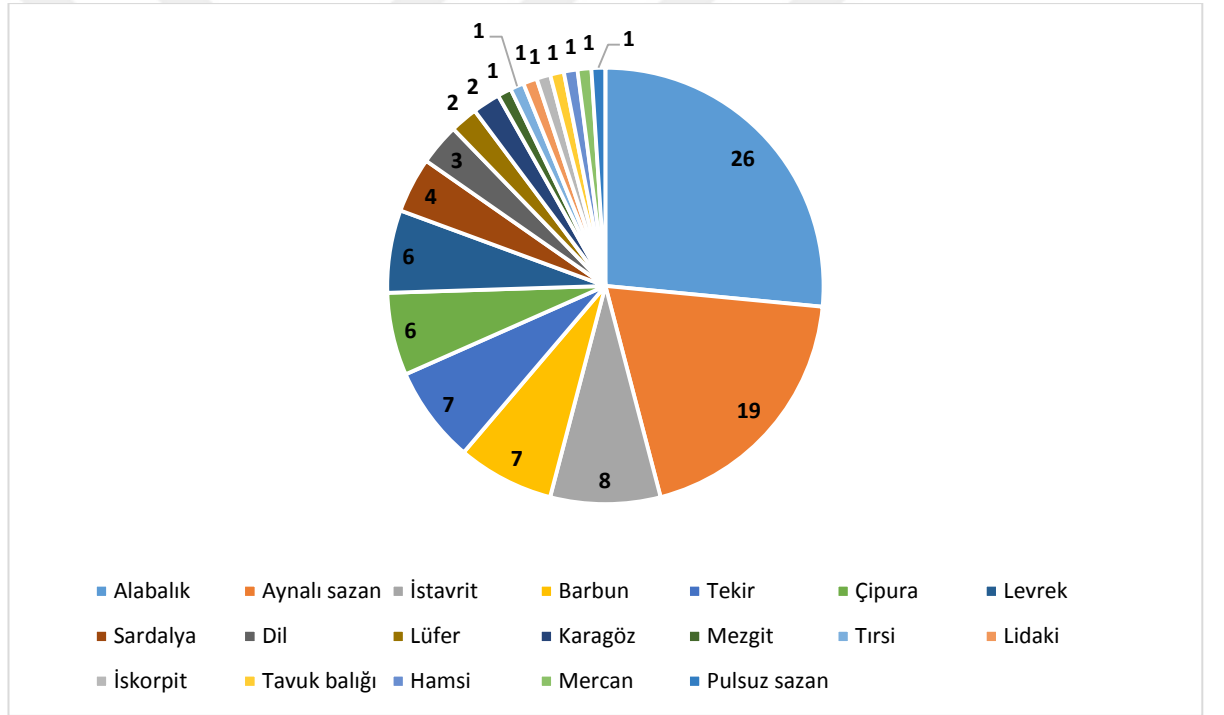
Çizelge 3.2: (devam) Enterobakteriler için referans zon ve MİK sınırları (CLSI 2013)

| | | | | | | | |
|-------------------------------------|-------------|-----|-------|-----|----|---|----|
| Sefpodoksim | 10 µg | ≥21 | 18-20 | ≤17 | ≤2 | 4 | ≥8 |
| Sefpodoksim Klavulanatlı | 10 µg+10 µg | | | | | | |
| Sefotaksim | 30 µg | ≥26 | 23-25 | ≤22 | ≤1 | 2 | ≥4 |
| Sefotaksim Klavulanatlı | 30 µg+10 µg | ≥31 | 28-30 | ≤27 | | | |

S: Duyarlı; I:Orta; R:Dirençli;MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu

4 BULGULAR

Bu çalışmada Mart-Temmuz 2015 tarihleri arasında İstanbul, Samsun, Sakarya, Bursa ve İzmir illerinde yerleşik semt pazarları, balık halleri ve çiftliklerden 13 çeşit (Çipura, Levrek, Barbun, İstavrit, Tekir, Sardalya, Dil, Lüfer, Mezgıt, Karagöz, Tırsi, Lidaki, İskorpit, Tavuk balığı, Hamsi, Mercan, Pulsuz Sazan, Aynalı Sazan, Alabalık) olmak üzere toplamda 100 adet balık örneği toplanmıştır.

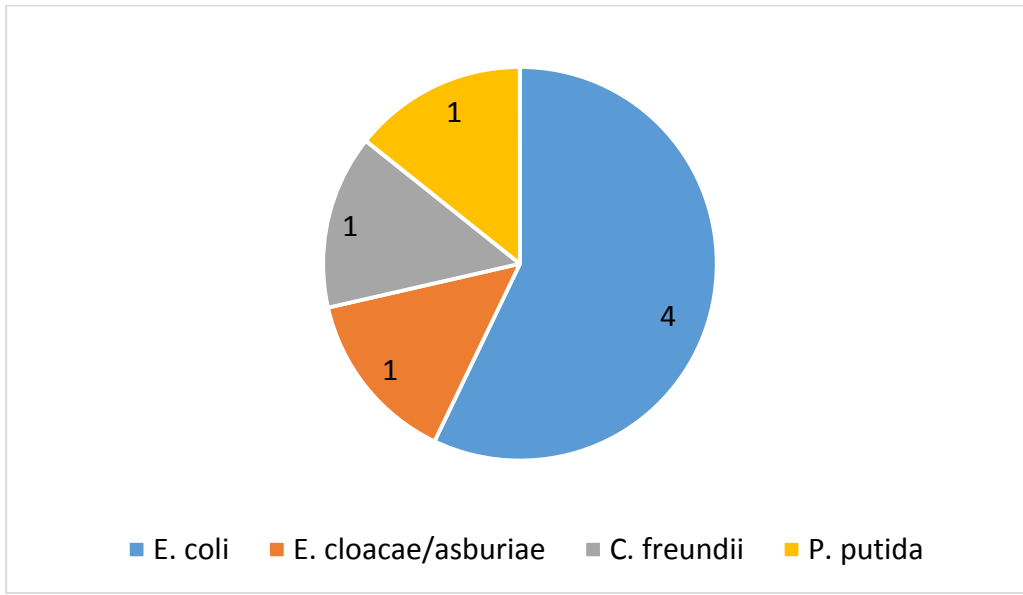


Şekil 4.1: Balık türleri dağılımı

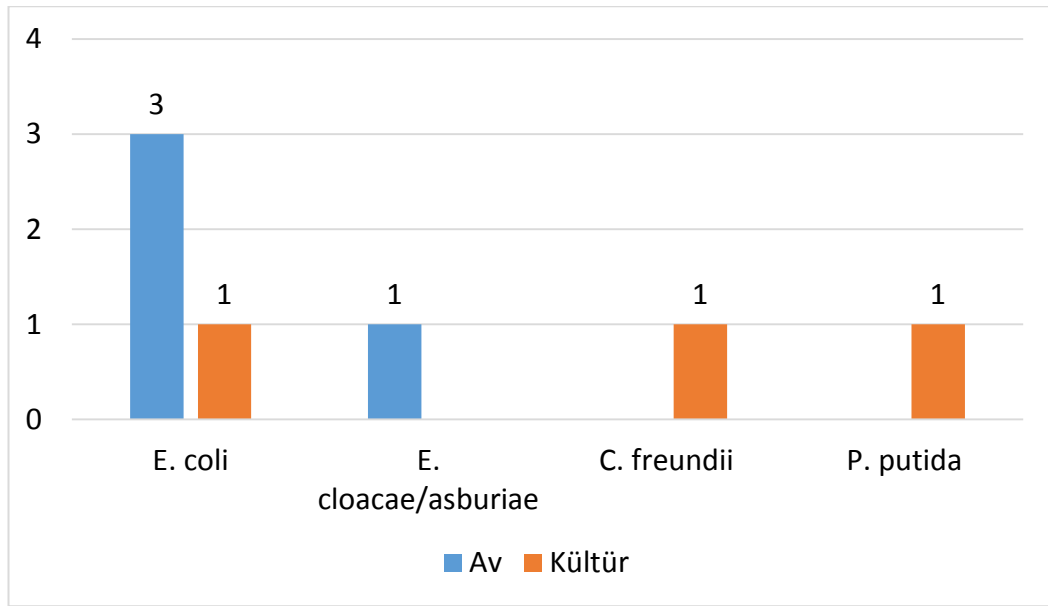
Toplanan balık örneklerinin 55 adeti av (44 deniz av ve 11 tatlı su av), 45 adeti kültür (34 deniz kültür ve 11 adet tatlı su kültür) balıkları olarak seçilmiştir. Balık örneklerinden mikrobiyolojik yöntemle izole edilen enterobakterilerde GSBL ve MBL tipi beta-laktamazların varlıklarına bakılmıştır.

4.1 Mikrobiyolojik bulgular

Toplam 100 adet (55 av ve 45 kültür) balık örneklerinde yapılan mikrobiyolojik incelemeler sonucu; 4 adet (3 *E. coli* ve 1 *Enterobacteriaceae*) av balıklarından ve 2 adet (1 *E. coli* and 1 *C. freundii*) kültür balıklarından olmak üzere toplam 6 adet (4 *E. coli*, 1 *C. freundii* ve 1 *E. cloacae/asburiae*.) GSBL-pozitif enterobakteri suş elde edilmiştir. Yalnızca deniz kültür balığı deniz alısından izole edilen 1 adet *Pseudomonas putida* suşun metallo-beta-laktamaz varlığı bakımından pozitif olduğu belirlenmiştir. Tiplendirme sonucu izolatların tür dağılımı %57,1 *E. coli*, %14,3 *E. cloacae/asburiae*, %14,3 *C. freundii* ve %14,3 *P. putida* olarak saptanmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2: Kesin GSBL ve MBL pozitif izolatların tür bazından grafiksel dağılımı



Şekil 4.3: GSBL ve MBL pozitif izolatların av-kültür bazında dağılımı

4.2 GSBL- ve MBL- tipi beta-laktamazların tarama bulguları

Disk difüzyonu ve kombine disk difüzyonu testleri bulguları

Madde 4.1’de tiplendirilmiş izolatların ortalama zon inhibisyon ölçüm değerleri Çizelge 4.1’de sunulmuştur.

Çizelge 4.1: Disk difüzyonu ve kombine disk difüzyonu bulguları

| Antibiyotik ajan | İzolasyon sayısı (n=18) | |
|------------------|-------------------------|---------------------|
| | Ortalama (X; mm) | Std Sapma (S; ± mm) |
| CAZ | 24,3 | 3,8 |
| CAZ CLA | 26,6 | 4,2 |
| Δ_1 | 2,3 | - |
| CTX | 25 | 11,4 |
| CTX CLA | 29,3 | 3,8 |
| Δ_2 | 4,3 | - |

Çizelge 4.1: (devam) Disk difüzyonu ve kombine disk difüzyonu bulguları

| | | |
|------------------------------|------|-----|
| CPD | 15,6 | 3,5 |
| CPD CLA | 23,6 | 3,2 |
| Δ_3 | 8 | - |

İzolatların kombine disk difüzyonu ortalama zon inhibisyon değerleri GSBL- pozitif izolatlar için CAZ±CLA için 26,6±4,2 mm, CTX±CLA için 29,3±3,8 mm ve CPD±CLA için 23,6±3,2 mm; MBL-tipi pozitif izolat için CAZ±CLA 28,0 mm, CTX±CLA için 31,0 mm ve CPD±CLA için 25,0 mm bulunmuştur.

Antibiogram doğrulama MİK bulguları

Toplam 6 adet GSBL- pozitif izolatların üç adeti CTX (≥ 128 $\mu\text{g/mL}$) ve CAZ (32 $\mu\text{g/mL}$) ve üç adeti CEP (=64 $\mu\text{g/mL}$) dirençli oldukları belirlenmiştir. Bir adet MBL –pozitif *P. putida* suşun MER (=64 $\mu\text{g/mL}$) ERT (>1 $\mu\text{g/mL}$) direnç gösterdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2: MİK bulguları

| Beta-laktamaz tipi | İzolot sayısı (n) | Antibiyotik tipi ve MİK değeri ($\mu\text{g/mL}$) | | | | | | |
|---------------------------|--------------------------|---|-----|-----|-----|-----|---------------|----------|
| | | CTX | CAZ | COX | CEP | MER | CMC | ERT |
| GSBL- | 6 | ≥ 128 | =32 | - | =64 | - | $\leq 0,25/4$ | - |
| MBL- | 1 | - | - | - | - | =64 | - | ≥ 1 |

Çizelge 4.3: GSBL- ve MBL- pozitif izolatların tür bazında dağılımı

| Type | GSBL | MBL- | Toplam |
|----------------------------|------------------|------------------|------------------|
| <i>E. coli</i> | 4 | - | 4 (%57,1) |
| <i>E. cloacae/asburiae</i> | 1 | - | 1 (%14,2) |
| <i>C. freundii</i> | 1 | - | 1 (%14,2) |
| <i>P. putida</i> | - | 1 | 1 (%14,2) |
| Total | 6 (%85,7) | 1 (%14,3) | 7 (100%) |



5 TARTIŞMA VE SONUÇ

GSBL pozitif enterobakterilerin farklı yollarla tüm Dünya’da hızlı yayılmaları endişeyle izlenmektedir. Bu durum günümüz ve gelecek için insan sağlığı ve gıda güvenliği açılarından ciddi tehdit oluşturmaktadır. Antibakteriyel dirençten sorumlu gen bölgeleri plazmidler aracılığıyla başka bakterilere transfer edilebilmektedir. Bu direnç genlerinin gıda zinciri yoluyla insanların bağırsak florasındaki bakterilere aktarılması insan sağlığı için önemli bir risk faktörü olup antibiyotik tedavilerinin başarısını kısıtlamaktadır. (Bayram ve Ark, 2011)

Bakterilerde GSBL üretimine yol açan sebepleri anlamak için Dünya ve Türkiye’de yapılan çalışmalar dirençli *Enterobacteriaceae* suşların fenotipik ve genotipik identifikasyonu, epidemiyolojisi, yayılma yolları ve etki eden faktörler üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bu kapsamda, av-deniz kültür ve tatlı su av-tatlı su kültür balıkları aracılığıyla GSBL pozitif suşların durumları, varlıkları, bulaşma yolları gibi farklı sebepler üzerinde durulmaya başlanmıştır. Bu kıyaslamada çıkan bulgulara göre antibiyotik direnç gösteren genin bakteriler arası olası taşınma mekanizması hakkında fikir edinilmesi hedeflenmiştir. Böylelikle *Enterobacteriaceae* suşlarında GSBL üretiminin minimum düzeye indirilmesi ve etkili antibiyotiklerin tespitini sağlayacak verilere ulaşılmak istenmiştir (Dizbay ve Ark., 2003).

Bu konuda daha sonra 2011’de yapılan bir derlemeye göre; Türkiye’de yapılan çalışmalarda *E.coli*’nin GSBL üretim oranı %15 , *K. pneumoniae*’de %36 olarak tespit edilmiştir. Çeşitli yöntemlerle dünyada GSBL varlığını araştıran çalışmalarda *E. coli*’de bu oran %5-25, *K. pneumoniae*’de %11-37 arasında bulunmuştur (Ağca, 2011)

Son yıllarda kırmızı et, balık, süt ve tavuk gibi gıdalarda çalışmalar bulunmakla beraber, balık üzerine yeterli araştırmaya rastlanmamıştır. Türkiye’de yürütülen yüksek lisans tez çalışmalarında farklı gıdalarda GSBL üreten enterobakterilerin varlıkları araştırılmıştır. Buna göre; Sarıcı (2015) tavuk etlerinde, Gökalp (2015) çiğ sütlerde, Öndeş (2015) kırmızı etlerde, Sökmen (2015) sebzelerde ve

Özadam (2016) peynirlerde incelemeler yapmışlardır. Bu incelemelere göre GSBL-pozitif enterobakteri bulunma sıklığı tavuk etlerinde %27,5 (Sarıcı 2015), çiğ sütlerde %21,5 (Gökalp 2015) kırmızı etlerde %20,9 (Öndeş 2015), sebzelerde %20,4 (Sökmen ve ark. 2015) ve peynirlerde %21,6 (Özadam 2016) tespit edilmiştir. Ancak, balıklarda incelemeye rastlanmamıştır.

Bu nedenle, yapılan çalışma ülkemizde balıklardan izole edilen *Enterobacteriaceae* türlerinin dirençlilik durumlarını ve av ile kültür balıklarından elde edilen sonuçların karşılaştırılıp GSBL üretme kabiliyetinin balıklar arasında taşınma yollarını inceleme açısından yeni bir çalışma olma özelliği taşımaktadır. İstanbul, İzmir, Samsun ve çevresinde bulunan illerde bulunan semt pazarları ve balık hallerinden satın alınan, 19 çeşit olmak üzere toplamda 100 adet balıktan izole edilen GSBL şüpheli 58 adet izolatin, antibiyogram doğrulama ve MIK değerleri sonucuna göre; GSBL pozitif sonuç veren bu 6 adet izolat; *Escherichia coli* (n=4), , *Enterobacter cloacae/asburiae* (n=1), *Citrobacter freundii* (n=1) olarak sıralanmaktadır. Çalışılan GSBL dirençli bakterilerin Cefotaxime (30µg/disk) , Cefpodoxime (10µg/disk) hassasiyetleri incelendiğinde, bakterilerin en hassas olduğu antibiyotikler: CX ve CAZ'dır.

Toplanan 100 numunenin 55 adet av (44 deniz av ve 11 tatlı su av), 45 adet kültür (34 deniz kültür ve 11 adet tatlı su kültür) balıkları içerisinde Antibiyogram testiyle doğrulaması yapılan GSBL (+) kesin sonuç veren suşlar içeren deniz av balıkları içinden; Barbun (Karadeniz menşeli), Tekir ve Sardalya (Ege menşeli), balıklarının geneline bakıldığında deniz av balıklarının GSBL dirençli *Enterobacteriaceae* türlerinin görülme sıklığının deniz kültür balıklarından daha yaygın olduğu görülmektedir. Tatlı su balıkları içinden; tatlı su av - tatlı su kültür olmak üzere Aynalı Sazan (Sapanca gölü menşeli) balıkları arasında karşılaştırma yapıldığında ise tatlı su kültür balıklarında GSBL dirençli *Enterobacteriaceae* türlerinin görülme sıklığının daha yaygın olduğu görülmektedir.

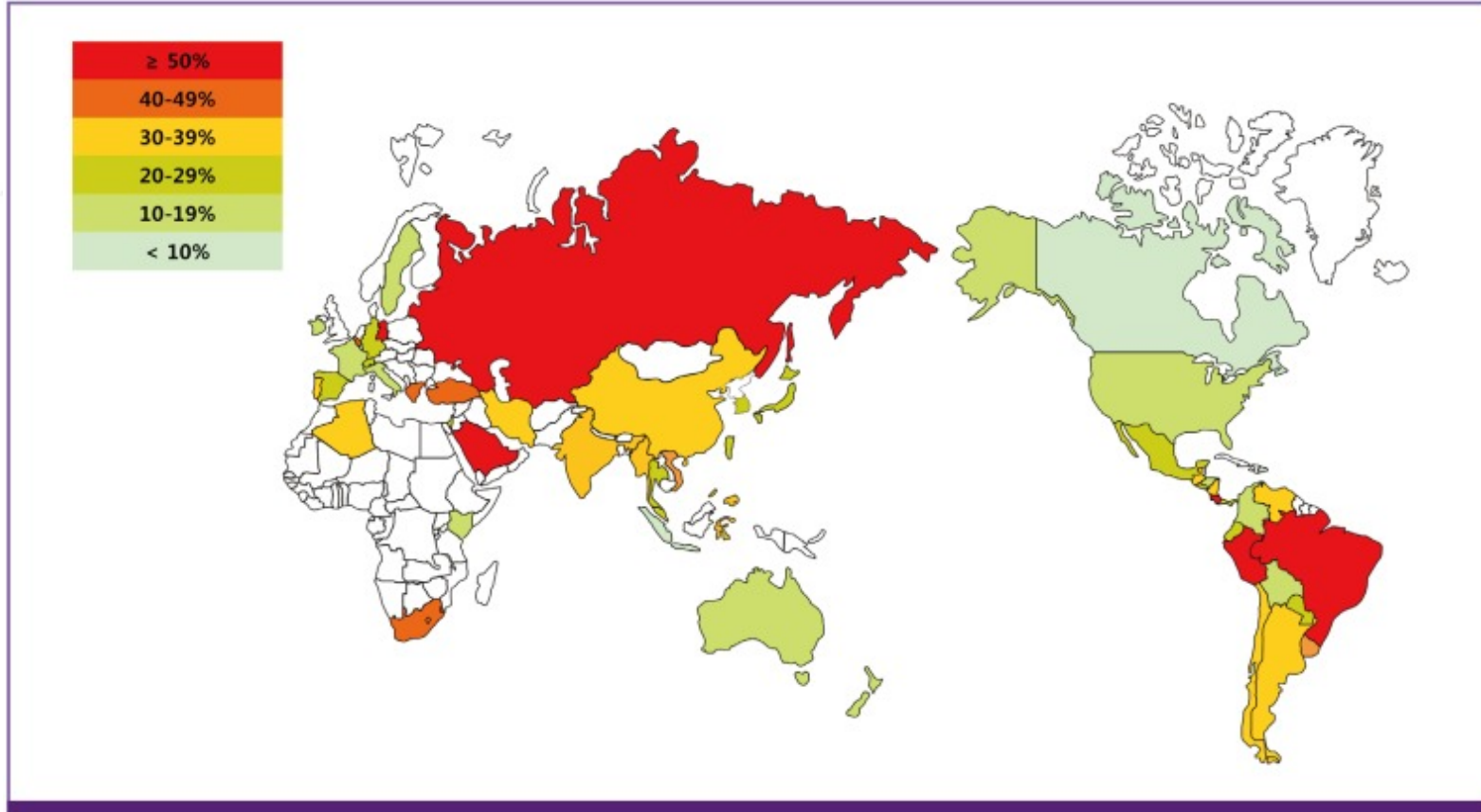
Avrupa Birliği Gıda Güvenliği Teşkilatı (EFSA) 2013 yılında yayımladığı raporunda deniz ve kültür balıklarının kıtaya ithal edilen önemli kalemler arasında olması sebebiyle, antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların takibi

sistemi bağlamında diğler gıda ürünleri gibi kontrol edilmeleri gerektiğini bildirmiştir.

EFSA süt amaçlı yetiştirilen inek ve inek sütünde insan sağlığını tehdit eden dirençli *E. coli* ve *Salmonella* suşları izlemeye verdiği önemi, balıklar için de kabul etmiştir. Tehlikeli türler arasında ayrıca *Aeromonas spp.* ve *Vibrio spp.* türleri öne çıkmaktadır.

Özellikle kirli su kaynakları, nehir vd. ile yapılan kültür balıkçılığının dirençli suşların gelişmeleri ve yayılmalarında, balıkların bu tür bakteriler ile infekte olarak insan sağlığı açısından risk teşkil edeceklerini kabul etmektedir (EFSA, 2013).





Şekil 5.1 Dünya’da Metallo-beta-Laktamaz pozitif Pseudomonas görülme sıklıkları (Hong ve ark., 2015)

Peshattiwar ve Peerapur (2011) yaptıkları çalışmada GSBL ve MBL'in ortak bulunmadığını rapor etmiştir. Balıklardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında çoklu antibiyotik direncine, özellikle MBL, rastlanmıştır. Bu çalışma özellikle Gram negatif basillerde MBL direnci görüldüğünü bildirmiştir (Khairnar ve ark., 2013).

Suudi Arabistan, Birleşik Arap Emirlikleri, Kuveyt, Karat, Umman ve Bahreyn'de 2013 yılında yürütülen geniş kapsamlı bir çalışma, toplanan balık örneklerinde ciddi şekilde antibiyotiklere dirençli bakteriler olduğunu, bu durumun çevresel kirlenmenin ulaştığı boyutu göstermesi bakımından önem taşıdığını göstermiştir. Bu araştırma, balıklarda sefalosporinlere direnç görülmemekle birlikte, naliksik asite dirençli suşların varlıklarını işaret etmesi açısından önemlidir (Zowawi ve ark., 2013)

Çin'de yetiştirilen çiftlik balıklarının gut örneklerinde GSBL üreten bakteriler (Jiang ve ark., 2012) ve İsviçre'de tatlı su kaynaklarından avlanan balıklarda yaklaşık %19 frekansında GSBL ve Amp-C tipi beta laktamaz pozitif bakteriler izole edilmiştir (Abgottspon ve ark., 2014)

Benzer şekilde, GSBL pozitif bakterilerin arasında en önemlilerinin *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* gibi enterobakteriler olduğu; bunun dışında MBL üreten enterobakterilerin tüm Dünya'da yükselişte oldukları, GSBL ve MBL birlikte üretebilen suşların başta Hindistan olmak üzere diğer Ülkelerde artış gösterdikleri belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2015).

Japonya Hükümetinin 2016-2020 dönemi antimikrobiyal direnç izleme Ulusal planı'nda kültür balıkçılığı ve antibiyotik kullanımının sıkı takibi üzerine değerlendirmeler yapılmıştır. Japon Hükümetinin bu konuya Ulusal boyutta verdiği öneme ayrıca dikkat çekicidir (The Government of Japan, 2016).

Bu çalışmada öne çıkan sonuçlar aşağıda sunulmuştur:

- Av ve kültür balıklarından deniz ve tatlı sularda yetiştirilenlerde GSBL- ve MBL- pozitif enterobakteri suşları tespit edilmiştir.
- Bu durum denizler ve tatlı sularda çevresel kirlenmenin boyutunu bir açıdan net şekilde göstermektedir.

- Kültür balıkcılığından balıkların yetiştirme koşullarının durumu ve aşırı ve/veya sık kullanılan antibiyotikler sebebiyle dirençli enterobakteriere ve bu tip dirençtem sorumlu hareketli genetik elemanların varlıkları gösterilmiştir.
- Fırtınadan nceki sessizlik olarak kabul edilen metallo-beta-lakatamaz enzimlerin varlığına rastlanmıştır. Bu durum ABD, Japonya ve AB yesi ülkelerin balıklar ve balık ürünlerinden antibiyotik takibi, çevresel kirlilik faktörlerinin kontrol edilmesi, insan ve gıda güvenliği bakımından antibiyotiklere dirençli suşların izlenmesi gibi aldıkları tedbirlerle uyumlu olacak şekilde gereksinim duyulduğunu göstermiştir.
- Klinik ve toplumsal kaynaklı dirençlilik dışında, artık ülkemiz dahil sıklıkla görülen gıda kaynaklı dirençlilik olgusuna Uluslararası literatürle uyumlu olacak şekilde ilk kez balıklarda katılmıştır.
- Av ve kültür balıkları ve bu balıklardan yapılacak diğer gıda ürünlerinde dirençli bakterilerle bu dirençten sorumlu mobil aktarılabiler genetik elemanların varlıkları tüketiciler sağlığı bakımından risk oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abgottspon H., Nüesch-Inderbinen M.T., Zurfluh K., Althaus D., Hächler H., Stephan R.** (2014): *Enterobacteriaceae* with extended-spectrum- and pAmpCtype beta-lactamase-encoding genes isolated from freshwater fish from two lakes in Switzerland. *Antimicrob Agents Chemother*, 58,4, 2482–2484.
- Baird -Parker T.C., Tompkin R.B.** (2000): Risk and Microbiological criteria. In Lund, B., T.C. Baird-Parker and G.W. Gould (eds) *The Microbiological Safety and Quality of Foods Vol II* Aspen Publishers, Inc. Gaithensbury, Maryland, USA. 1852-1885.
- Bonnet, R.** (2004): Growing Group of Extended-Spectrum β -Lactamases: the CTX-M Enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48, 1–14.
- Boyacıoğlu M.** (2007): Gökkuşluğu alabalıklarında (ONCORHYNCHUS MYKISS) RTFS'ye neden olan FLAVOBACTERIUM PSYCHROPHILUM etkeninin izolasyonu ve antibakteriyel sağaltım seçeneğinin belirlenmesi. T. C. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü VFT-DR-2007-001, Aydın.
- CAC (Codex Alimentarius Commission).** (1997): Principles for the Establishment and Application of Microbiological Criteria for Foods. Alinorm 97/13A, Supplement to Volume 1B, Appendix III CAC/GL, 21. Food and Agriculture Organization / World Health Organization, Rome, Italy.
- Can H.Y., Çelik T.H.** (2008): Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımı ve kalıntı riski. *Vet Hekim Der Derg*, 79 , 4, 35-40.
- Cevger Y., Aral Y., Demir P., Sarıözkan S.** (2008): Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi intern öğrencilerinde hayvansal ürünlerin tüketim durumu ve tüketici tercihleri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 55, 189-194.
- Chong, Y.** (2011): Extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria: an emerging Clinical concern. *Infect Genet Evol*, 11, 7, 1499-1504.
- CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute.** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, Twenty-Third Informational Supplement, CLSI Document M100-S23, CLSI, Wayne PA, (2013).
- Colquhoun D.J., Aarflot L., Melvold C.F.** (2007): gyrA and parC Mutations and Associated Quinolone Resistance in *Vibrio anguillarum* Serotype O2b Strains Isolated from Farmed Atlantic Cod (*Gadus morhua*) in Norway. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(7), 2597–2599.
- Culyba, M.J., Mo, C.Y. ve Kohli, R.M.** (2015): Targets for Combating the Evolution of Acquired Antibiotic Resistance. *Biochemistry*, 54, 23, 3573–3582.
- Dahlberg C., Bergström M., Hermanson M.** (1998): In-situ Detection of High levels of Horizontal Plasmid Transfer in Marine Bacterial Communities. *Applied and Environmental Microbiology* 45, 2670- 2675.
- Durupınar, B.** (2001): Antibiyotiklere Dirençte Yeni Eğilimler. *Klimik Dergisi*, 14, 2, 47-56.

- EC (European Commission).** 1998: Report on tasks for scientific cooperation. Report of experts participating in Task 2.1. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.
- EFSA.** (2011): Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or AmpC β -lactamases in food and food producing animals. *EFSA Journal*, 9, 2322-2417.
- EFSA.** (2013): Scientific Opinion on Carbapenem resistance in food animal ecosystems. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). *EFSA Journal* 11, 12, 3501.
- FAO.** (2004): Assessment and Management of Seafood Safety and Quality. Fisheries and Aquaculture Department. Technical Paper No: 444 (Erişim: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/006/y4743e/y4743e00.pdf>).
- FAO.** (2014): The State of World Fisheries and Aquaculture. E-ISBN 978-92-5-108276-8, Rome, Italy.
- FDA.** (2002): Introduction to FDA's Import Refusal Report (IRR) (Erişim: http://www.fda.gov/ora.oasis/ora_oasis_ref_intro.html).
- Fernandes, R., Amador, P., Oliveira, C. ve Prudêncio, C.** (2014): Molecular Characterization of ESBL-Producing *Enterobacteriaceae* in Northern Portugal. *Scientific World Journal*, Article ID 782897, doi:10.1155/2014/782897.
- Garber A.** (1987): Interactions between Phosphate, Nitrate and Organic Substrate in Biological Nutrient Removal Processes. *Water Sci. Tech.* 19, 183-194.
- Gillespie I.A., Adak G.K., O'Brien S.J., Brett M.M., Bolton F.J.** (2001): general outbreaks of infectious intestinal disease associated with fish and shellfish, England and Wales, 1992-1999. *Communicable Disease and Public Health*, 4, 117-123.
- Gökalp, F.** (2015). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Enterobacteriaceae* türlerinin sütlerdeki prevalansı ve antibiyotik dirençlilik durumlarının incelenmesi, (yüksek lisans tezi), İstanbul Aydın Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.
- Güralp H.** (2012): Deniz Kültür Balıklarında Görülen Bakteriyel Patojenlerin Teşhisi ve Antibakteriyel Maddelere Duyarlılıklarının Belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Haziran 2012, İstanbul.
- Holmstörn K., Gröslund S., Whalström A., Pongshompoo S., Bengtsson B.E., Kautsky N.** (2003): Antibiotic Use in Shrimp Farming and Implications for Environmental Impacts and Human Health. *Int. J. of Food Sci. And Techn.* 38, 255 -266.
- Hong D.J., Bae I.K., Jang I.H., Jeong S.H., Kang H.K., Lee K.** (2015): Epidemiology and Characteristics of Metallo- β -Lactamase-Producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Chemother*, 47, 2, 81-97.
- Işıdan H., Kutlu İ.** (2007): Balık Yetiştiriciliğinde Kimyasal Kullanımı. *SÜMAE YUNUS Araştırma Bülteni*, 7:3.
- Jiang H.X., Tang D., Liu Y.H., Zhang X.H., Zeng Z.L., Xu L., Hawkey P.M.** (2012): Prevalence and characteristics of beta-lactamase and plasmid mediated quinolone resistance genes in *Escherichia coli* isolated from farmed fish in China. *J Antimicrob Chemother*, 67, 10, 2350-2353.
- Karayakar F., Ay Ö., Cicik B.** (2004): Mersin Kıyı Őeridinden Alınan Su Örneklerinden İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Bazı Antibiyotiklere Karşı Plasmid Kökenli Dirençliliğin Saptanması. *Ekoloji*,

13, 52, 28-32.

- Kaya Y., Duyar H.A., Erdem M.E.** (2004): Balık Yağ Asitlerinin İnsan Sağlığı İçin Önemi. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 21, 3-4, 365– 370.
- Khairnar K., Raut m.p., Chandekar R.H, Sanmukh S.G., Paunekar W.N.** (2013): Novel bacteriophage therapy for controlling metallo-beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* infection in Catfish. *BMC Veterinary Research*, 9,264.
- Kumar M., Dutta R., Saxena S., Singhal S.** (2015): Risk Factor Analysis in Clinical Isolates of ESBL and MBL (Including NDM-1) Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* Species in a Tertiary Care Hospital. *J Clin Diagn Res*, 9, 11, DC08–DC13.
- Livermore, D.M.** (1997): β -lactamases: Quantity and resistance. *Clin Microbiol Infect*, 3, 4, 10-19.
- Matyar F., Eraslan B., Akkan T., Kaya A., Dinçer S.** (2009): İskenderun Körfezi Balıklarından İzole Edilen Bakterilerde Antibiyotik ve Ağır Metal Dirençliliklerinin Araştırılması. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi* 2, 2, 1-5.
- Meral, H. ve Korukluoğlu, M.** (2014): Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları. *Journal of Agricultural Faculty of Uludag University*, 28, 2, 71-82.
- Mertoğlu M.** (2011): Akılcı antibiyotik kullanım prensipleri ve antibiyotikler, Ekim 2011, Akhisar, Manis (Erişim: www.akhisardh.gov.tr).
- Mossel D.A.A.** (1982): *Microbiology of Foods*. University of Utrecht. Faculty of Veterinary Medicine, Bittshact 172, Utrecht, The Netherlands.
- Olsen S.J., MacKinnon L.C, Goulding J.S., Bean N.H., Slutsker L.** (2000): Surveillance for foodborne-disease outbreaks – United States, 1993-1997. Report CDC Surveillance Summary. *Morbidity and Mortality Weekly*, 49,1-62.
- Onuk E.E., Fındık A.** (2015): Antimicrobial Resistance in Fish. *J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics* 1 , 2, 35-41.
- Öndeş, N.** (2015). Kırmızı et örneklerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL)-üreten *Enterobacteriaceae* izolatlarında antibiyotik dirençlilik durumlarının incelenmesi, (yüksek lisans tezi), İstanbul Aydın Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.
- Özadam, A.** (2016). Peynir Örneklerinden İzole Edilen Enterobakterilerde Geniş Spektrumlu beta-Laktamaz (GSBL) ve AmpC Dirençlilik Durumlarının İncelenmesi, (yüksek lisans tezi), İstanbul Aydın Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.
- Perez F.,Endimiani A., Hujer K.M., Bonomo R.A.** (2007): The continuing challenge of ESBLs. *Curr Opin Pharmacol*, 7, 5, 459–469.
- Peshattiwari P.D., Peerapur B.V.** (2011): ESBL and MBL Mediated Resistance in *Pseudomonas Aeruginosa*. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 5, 8, 1552-1554.
- Romero J., Feijoo C.G., Navarrete P.** (2012): *Antibiotics in Aquaculture-Use, Abuse and Alternatives, Health and Environment in Aquaculture*, Dr. Edmir Carvalho (Ed.), ISBN: 978-953-51-0497-1, InTech.
- Sarıcı, B.** (2015). Tavuk etlerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklere dirençli enterik bakterilerin identifikasyonu ve direnç profillerinin tespiti, (yüksek lisans tezi), İstanbul Aydın Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.

- Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S.M. ve Kamal, M.A.** (2015): Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi J Biol Sci*, 22, 1, 90-101.
- Smith P., Hiney M.P., Samuelsen O.** (1994): Bacterial resistance to antimicrobial agents used in fish farming: a critical evaluation of method and meaning. *Annual Review of Fish Diseases*, 4, 273-313.
- Somer, A.** (2010): Antibiyotiklerde Direnç Sorunu. *Turk Arch Ped*, 45, 45-49.
- Sökmen, Ç.** (2015): Sebzelerde Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten *Enterobacteriaceae* İzolatlarının Antibiyotiklere Dirençlilik Durumlarının İncelenmesi, (yüksek lisans tezi), İstanbul Aydın Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.
- Şen B., Canpolat Ö., Sevim A.F., Sönmez F.** (2008):Elazığ İlinde Balık Eti Tüketimi. *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi*, 20, 3, 433-437.
- Taham, J.** (2012): Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae*: Epidemiology, Risk Factors, and Duration of Carriage. Department of Clinical Sciences, Malmö Infectious Disease Research Unit Lund University, ISBN 978-91-87189-28-9, Lund Sweden.
- Tärnberg, M.** (2012): Extended-spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae*: aspects on detection, epidemiology and multi-drug resistance, Linköping University medical dissertations, No. 1300, ISBN 978-91-7519-938-2, Sweden.
- T. C. Brüksel Ticaret Müşavirliği.** (2015): Balıkçılık sektörü raporu ve global su ürünleri fuarı (Erişim: http://www.ekonomi.gov.tr/portal/content/conn/UCM/uuid/dDocName:EK-205569;jsessionid=W44iEVqTLymEHId8yzLB2JeVrAM5PkBKmlF3fqE_hE6Z5hlFUkbX!-183002649).
- The Government of Japan.** (2016): National Action Plan on Antimicrobial Resistance (AMR) 2016-2020 (Erişim: http://www.maff.go.jp/nval/english/pdf/japan_nationalactionplan_on_antimicrobial_resistance.pdf).
- Turan H., Kaya Y., Sönmez G.** (2006): Balık Etinin Besin Değeri ve İnsan Sağlığındaki Yeri. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 23, 1/3 , 505-508.
- TÜİK.** (2014): Su Ürünleri İstatistikleri 2004-2013. Yayın no: 4349, ISSN: 1013-6177, Tarımsal Üretim İstatistikleri Grubu, Eylül 2014, Ankara, Türkiye.
- Yagi T, Kurukawa H., Senda K., Ichiyama S., Ito H., Ohsuka S., Shibayama K., Shimokata K., Kato N., Ohta M., Arakawa Y.** (1997): Nosocomial Spread of Cephem-Resistant *Escherichia coli* Strains Carrying Multiple Toho-1-Like β -Lactamase Genes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 41, 2606-2611.
- Yanong R.P.E.** (2006): Use of antibiotics in ornamental fish aquaculture, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida (Erişim: edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/FA/FA08400.pdf), Erişim tarihi: 2006.
- Yılmaz A.B.** (2015): Avrupa Birliği ve Türkiye’de Gıda Güvenliği Kapsamında Balıkçılık Yönetimi ve Desteklemeleri. AB Uzmanlık Tezi. T. C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Avrupa Birliği ve Dış İlişkiler Genel Müdürlüğü, Eylül 2015, Ankara.
- Zowawi H.M., Balkhy H.H., Walsha T.R, Paterson D.L.** (2013): β -Lactamase Production in Key Gram-Negative Pathogen Isolates from the Arabian Peninsula. *Clin. Microbiol. Rev*, 26, 3, 361-380.

ÖZGEÇMİŞ



ADI SOYADI : Gamze Benlikurt
DOĞUM TARİHİ ve YERİ : 07 Mayıs 1980, Bursa
TEL (GSM) : 0 532 665 26 80
E-POSTA : gamzeb@hotmail.com.tr

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Yüksek Lisans:** 2016, İstanbul Aydın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Güvenliği ve Beslenme Anabilim Dalı, Gıda Güvenliği (Tezli) Yüksek Lisans Programı, İstanbul, Türkiye.
- **Lisans:** 2014, İstanbul Aydın Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye.
- **Önlisans:** 2011, Anadolu Üniversitesi, Açık Öğretim Fakültesi, Bankacılık ve Sigortacılık Bölümü, Eskişehir, Türkiye.
- **Önlisans:** 2003, Uludağ Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Gıda Teknolojisi Bölümü, Bursa, Türkiye.

TEZDEN TÜRETİLEN BİLİMSEL MAKALE:

- **Benlikurt G,** Özpınar H. (2016): Characterization of ESBL- and MBL- type enzymes in *Enterobacteriaceae* from Wild and Farming Fishes. *IJFER*, *Kabul edildi:*

