

Aeromonas hydrophila Suşlarının Antibiyotik Direnç Profilleri

Nurdan FİLİK^{1*}, Ebru ÖNEM², Ayşegül KUBİLAY¹

¹Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Hastalıklar Anabilim Dalı, Isparta

²Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Isparta,

*Sorumlu Yazar: nurdansal@hotmail.com

Araştırma Makalesi

Geliş 09 Eylül 2020; Kabul 22 Ekim 2020; Basım 01 Haziran 2021.

Alıntılama: Filik, N., Önem, E. & Kubilay, A. (2021). *Aeromonas hydrophila* suşlarının antibiyotik direnç profilleri. *Acta Aquatica Turcica*, 17(2), 202-213. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.792224>

Özet

Aeromonas hydrophila virülens özellikleri açısından önemli bir patojen olup balıklarda ölümcül bir hastalık olan Motile Aeromonas Septicemisine (MAS) neden olur. Bu çalışmada hasta balıklardan izole edilen 20 *A. hydrophila* suşunun ve *A. hydrophila* ATCC 7966 suşunun 28 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılığı araştırılmıştır. Araştırmada *A. hydrophila* suşlarında antibiyotik duyarlılık profilleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle saptanmış ve heri bir suşa ait Çoklu Antibiyotik Dirençliliği (ÇAD) indeksi hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre suşların 12 antibiyotiğe dirençli, 14 antibiyotiğe duyarlı, 2 antibiyotiğe orta dercede duyarlı olduğu belirlenmiştir. ÇAD indeksi sonuçlarına göre suşların toplam 14 antibiyotiğe karşı çoklu antibiyotik direnci gösterdiği tespit edilmiştir. Suşların ÇAD indeks değerleri 0,21-0,75 aralığında tespit edilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmaların ortaya koyduğu bir bulgu *A. hydrophila*'nın oksitetrasikline karşı geliştirdiği dirençtir. Bu açıdan araştırma bulgularında en dikkat çeken oksitetrasiklin direnci olmuştur. *A. hydrophila* suşlarının araştırmada kullanılan antibiyotiklerin büyük bir kısmına ve yapılan bazı çalışmalarla tedavide etkili antibiyotik olduğu bildirilen oksitetrasikline karşı direnç geliştirdiğinin tespit edilmesi suşların direnç profilinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, balık patojenlerinin oluşturduğu hastalıkların tedavisinde yanlış antibiyotik kullanımı sonucu patojenin direnç kazandığı, bu durumda balık hastalıkları ile mücadelede ciddi bir sorun oluşturduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Aeromonas hydrophila*, Balık, Antibiyogram, Çoklu Antibiyotik Dirençliliği, CLSI

Antibiotic Resistance Profiles of *Aeromonas hydrophila* Strains

Abstract

Aeromonas hydrophila virulent is a pathogen with important virulent properties and causes Motile Aeromonas Septicemia (MAS), a deadly disease in fish. In this study sensitivity of 20 *A. hydrophila* strains and *A. hydrophila* ATCC 7966 strains isolated from sick fish to 28 different antibiotics were investigated. In the study, antibiotic susceptibility profiles of *A. hydrophila* strains were determined by Kirby-Bauer disk diffusion method and the Multiple Antibiotic Resistance (MAR) index for each strain was calculated. According to the results, it was determined that the strains were resistant to 12 antibiotics, sensitive to 14 antibiotics, and 2 antibiotics moderately. According to the results of the MAR index, the strains were found to have multiple antibiotic resistance against the total of 14 antibiotics. MAR index values of strains were determined in the range of 0.21-0.75. One of the findings of recent studies is the resistance developed by *A. hydrophila* against oxytetracycline. In this respect, oxytetracycline resistance was the most striking in the research findings. The fact that *A. hydrophila* strains developed resistance to most of the antibiotics used in the research and oxytetracycline, which was reported to be the most effective antibiotic in treatment, shows that the resistance profile of strains is high.

As a result, it is seen that pathogen has gained resistance as a result of the use of broad-spectrum antibiotics in the treatment of diseases caused by fish pathogens, and this situation creates a serious problem in the fight against fish diseases.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*, Fish, Antibigram, Multiple Antibiotic Resistance, CLSI

GİRİŞ

A. hydrophila 28°C'de optimal üreyen ancak 4°C ile 37°C arasındaki sıcaklıklarda da üreyebilen fırsatçı bir bakteridir (Agger vd., 2018). *A. hydrophila*, açık yaralar yoluyla, su veya yiyeceklerle yeterli sayıda organizmanın yutulması yoluyla balıklarda, amfibiyalarda ve insanlarda hastalıklara neden olabilir. *A. hydrophila* çiğ sebzelerden de izole edilmiştir (Harris vd., 2003).

Patojenik olarak değerlendirildiğinde *A. hydrophila* hem balıklarda (Austin ve Austin, 2016; Rehulka, 2002) hem de insanlarda hastalık oluşturan zoonoz bir bakteridir (Castro, 2002; Davies vd.,

2001, Lehone ve Rawlin, 2000; Werner ve Rutherford, 1990). *Aeromonas* türleri balıklarda Hareketli Aeromonas Septisemi (Motile Aeromonas Septisemisi: MAS) hastalığına neden olur ve bu hastalık ciddi mortaliteyle sonuçlanır (Austin ve Austin, 2016). *A. hydrophila* hemorajik septisemisi Motile Aeromonas Septicemia ‘‘Red Fin Disease’’, ‘‘Red Pest’’, ‘‘Infectious Abdominal Dropsy’’ adları da literatürlere geçmiş olup (Roberts ve Shepherd, 2001; Öztürk ve Altınok, 2014) 1-2 hafta gibi kısa bir sürede %80-100 ölüm oranıyla sonuçlandığı bilinmektedir (Lukistyowati, 2012; Kusdarwati vd., 2017). MAS hastalığının en önemli semptomları balıklarda deri ve kaslarda kanama şeklinde, karaciğer, böbrek ve dalakta hiperemi, iç organlarda doku kaybı, dropsi, ülserler, yüzgeç kaybı, epidermiste hiperplazi, ağız çevresinde erozyonlar, periorbital ödem, ekzoftalmus olarak görülmektedir (Mancini vd., 1997; Erer, 2002; Sağlam vd., 2006).

A. hydrophila'da antibiyotik direnci ve *A. hydrophila* kaynaklı hastalıklarda risk yönetim stratejileri incelendiğinde *A. hydrophila* yüksek genetik heterogeneite gösterdiği için bu hastalığa karşı koruyucu aşı ve probiyotik gibi profilaktif uygulamaların hastalığın kontrolü açısından zorluk oluşturduğu bildirilmektedir (Poobalane vd., 2010). Ülkemizde hareketli Aeromonas septisemi etkenleri de yaygın olarak izole edilmiştir (Baran vd., 1980; Timur, 1983; Güvener, 2001; Öztürk, 2007; Durmaz ve Türk, 2009; Korun ve Toprak, 2010; Boran, 2013; Onuk vd., 2013). Antibiyotiklerin yaygın kullanımı, balık ve çevresel patojenlere karşı antimikrobiyal direnç gelişimine neden olmaktadır (Angulo ve Griffin, 2000; Witte, 2000; Petersen vd., 2002; Angulo vd., 2004; Alcaide vd., 2005). Balık patojenlerinde antimikrobiyal direncin ortaya çıkması akuakültürde hastalıkların tedavisinde kullanılan antimikrobiyallerin etkisinin azalmasına, antimikrobiyal direnç geliştirmiş olan patojenlerin ve direnç genlerinin karasal hayvanlara, insanlara geçişine neden olabilmektedir (L'Abée-Lund ve Sorum, 2001; Sorum, 2006; Duman 2017). Dolayısıyla antibiyotik direnci, dünya çapında modern tıbbın karşılaştığı en büyük zorluklardan biridir (Andersson vd., 2020). Bazı antimikrobiyaller balıklarda immün sistemin baskılanmasına neden olmakta ve buna bağlı olarak hastalıkların oluşumuna yol açmaktadır (Naylor ve Burke, 2005; Cabello, 2006). Antibiyotiklere karşı dirençli bakteri popülasyonlarının ortaya çıkmasıyla antibiyotikler artık etkisiz kalmakta ve hastalıklar tam anlamıyla tedavi edilememektedir (Rasko ve Sperandio, 2010).

Ülkemizde streptomisin, oksitetrasiklin, trimetoprim ve nitrofurantoin gibi antibiyotiklere karşı Motil Aeromonaslar'ın oldukça direnç kazandıkları saptanmıştır (Durmaz ve Türk, 2009). Antibiyotiklere bu denli direnç kazanmış *A. hydrophila*'yla mücadelede artık yeni stratejilerin belirlenmesi kaçınılmaz hale gelmiştir.

Bu makalenin amacı *A. hydrophila*'nın neden olduğu hastalıklarla mücadelede ilk aklı gelen stratejilerden biri olan antibiyotiklerden sıklıkla kullanılan 28 antibiyotiğe karşı 20 *A. hydrophila* suşunun antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi, ayrıca çoklu antibiyotik dirençliliği indekslerinin saptanması ve sonuçların literatürlere geçmesiyle tedavi sürecinde başarıyı artırmaya yön vermektir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Kullanılan antibiyotikler

Antibiyogram testinde Gram negatif bakterilerin neden olduğu hastalıkların tedavisinde en çok tercih edilen ve literatür taramasında en çok kullanıldığı belirlenen 28 farklı Oxoid marka antibiyotikler kullanılmıştır (Tablo 1).

Tablo1. Araştırmada kullanılan antibiyotikler

Antibiyotik	Antibiyotik kodu	Antibiyotik dozu	Antibiyotik markası
Sülfadiazin	SD300	(300 µg)	Oxoid
Nalidiksik Asit	NA30	(30 µg)	Oxoid
Enrofloksasin	ENR5	(5 µg)	Oxoid
Cefoperazone	CEP75	(75 µg)	Oxoid
Colistin	CT10	(10 µg)	Oxoid
Oksitetrasiklin	T30	(30 µg)	Oxoid
Norfloksasin	NOR10	(10 µg)	Oxoid
Ceftriaksone	CRO30	(30 µg)	Oxoid
Oksasilin	OX1	(1 µg)	Oxoid
Apramisin	APR15	(15 µg)	Oxoid
Siprofloksasin	CIP5	(5 µg)	Oxoid
Klindamisin	DA2	(2 µg)	Oxoid
Tylosin	TY15	(15 µg)	Oxoid
Flumequin	FLM30	(30 µg)	Oxoid
Sefalotin	KF30	(30 µg)	Oxoid
Pristinamisin	PT15	(15 µg)	Oxoid
Nitrofurantoin	F300	(300 µg)	Oxoid
Gentamisin	CN10	(10 µg)	Oxoid
Sülfametoksazol/Trimetoprim	SXT25	(25 µg)	Oxoid
Oksolinik Asit	OA2	(2 µg)	Oxoid
Kanamisin	K30	(30 µg)	Oxoid
Doksisiklin	DO30	(30 µg)	Oxoid
Kloramfenikol	C30	(30 µg)	Oxoid
Streptomisin	S10	(10 µg)	Oxoid
Ampisilin	AM10	(10 µg)	Oxoid
Eritromisin	E15	(15 µg)	Oxoid
Vankomisin	VA30	(30 µg)	Oxoid
Penisilin G	P10	(10 µg)	Oxoid

Kullanılan suşlar

Çalışma da Bursa Uludağ Üniversitesi (BUÜ), Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi (ISUBÜ), Ondokuz Mayıs Üniversitesi'nden (OMÜ) hasta balıklardan izole edilmiş 20 *A. hydrophila* suşu ve *A. hydrophila* ATCC 7966 referans suşu kullanılmıştır (Tablo 2.) Suşlar çalışmada kullanılıncaya kadar -80°C'de depolanmıştır (Ausubel vd., 1988).

A. *hydrophila* suşlarının üretim ve depolanması

Deneylerde kullanılan her suş uzun süreli saklama amacıyla, %20'lik gliserinli 2-3 ml TSB ortamında cryo tüplerde (3-6 ay), -80°C'de muhafaza edilmiştir. Depolanmış bakteriler günlük kullanım için -80°C'den alınarak -20°C'de bekletildikten sonra aseptik şartlarda TSA besiyerlerine saf koloni olacak şekilde ekilmiştir. Ekimleri yapılan bakteriler 25°C'de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Daha sonra günlük kullanım amacıyla maximum 7 gün süreyle +4°C'de saklanmıştır.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan *A. hydrophila* suşları

Sayı	Suş kodu	İzolasyon bölgesi	İzolasyon kaynağı
Referans Suş	ATCC 7966	Amerika Birleşik Devletleri	Konserve süttten
1. Suş	AH RSKK 05049	Refik Saydam Ulusal Tıp Kültür Koleksiyonu (RSKK)	RSKK
2. Suş	AH SAHA	Karadeniz/Türkiye	Gökkuşacağı Alabalığı
3. Suş	AH S	Akdeniz/Türkiye	Sazan Balığı
4. Suş	AH J	Akdeniz/Türkiye	Japon Balığı
5. Suş	AH 2	Karadeniz/Türkiye	Gökkuşacağı Alabalığı
6. Suş	AH 3	Ege/Türkiye	Gökkuşacağı Alabalığı
7. Suş	AH 4	Karadeniz/Türkiye	Gökkuşacağı Alabalığı
8. Suş	AH 12.1	Karadeniz/Türkiye	Gökkuşacağı Alabalığı
9. Suş	AH 14	Karadeniz/Türkiye	Gökkuşacağı Alabalığı
10. Suş	AH 15	Karadeniz/Türkiye	Gökkuşacağı Alabalığı
11. Suş	AH 16	Karadeniz/Türkiye	Gökkuşacağı Alabalığı
12. Suş	AH 108	Ege/Türkiye	Gökkuşacağı Alabalığı
13. Suş	AH 113	İç Anadolu/Türkiye	Gökkuşacağı Alabalığı
14. Suş	AH 216	Ege/Türkiye	Kefal
15. Suş	AH 217	Ege/Türkiye	Levrek
16. Suş	AH 219	Ege/Türkiye	Tekir
17. Suş	AH 220	Ege/Türkiye	Çipura
18. Suş	AH 222	Ege/Türkiye	Kefal
19. Suş	AH 230	Ege/Türkiye	Gökkuşacağı Alabalığı
20. Suş	AH 232	Ege/Türkiye	Gökkuşacağı Alabalığı

AH: *A. hydrophila*

ATCC: American Type Culture Collection

RSKK: Refik Saydam Ulusal Tıp Kültür Koleksiyonu

Yöntem

A. *hydrophila* suşların identifikasyon testleri

Farklı hasta balıklardan izole edilmiş *A. hydrophila* suşları pasajlar yapılarak gençleştirilmiştir. Gençleştirme işlemi daha önceden izole edilerek identifikasyonları yapılan ve -80°C 'de tutulan *A. hydrophila* suşları aseptik şartlarda TSA besiyerine ekilerek 25°C 'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu gençleştirilen *A. hydrophila* suşlarının ve *A. hydrophila* ATCC 7966 referans suşunun saf koloni olacak şekilde Pseudomonas aeromonas selective agar base (Glutamate starch phenol red agarda: GSP Agarda) sarı pigmentli koloni oluşturması ayırıcı teşhisiyle tür tespiti yapılmıştır. Ayrıca Gram boyama testi, vibriostat testi, O/F testi, suşların hareketli olup olmadıklarının belirlenmesi amacıyla lam üzerinde mikroskopta incelemeye hareketlilik testi, katalaz testi, sitokrom oksidaz testi ile fenotipik testleriyle *A. hydrophila* suşlarının testleri yapılarak tekrar doğrulanmıştır (Cappuccino ve Sherman, 1992; Lasee, 1995; Austin ve Austin, 2016).

Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi antibiyogram testi

Çalışmada kullanılan suşların antibiyotik duyarlılıkları Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterler temel alınarak Mueller Hinton agarda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. Çalışmada *A. hydrophila* ATCC 7966 referans suşu ve *A. hydrophila* suşlarının antibiyotik direnç profilleri 28 çeşit antibiyotiğe karşı *in vitro* araştırılmıştır. Testte Gram negatif bakterilerin tedavisinde en çok tercih edilen ve literatür taramasında en çok kullanılan Sülfadiazin (SD300, 300 µg), Nalidiksik Asit (NA30, 30 µg), Enrofloksasin (ENR5, 5 µg), Cefoperazone (CEP75, 75 µg), Colistin (CT10, 10 µg), Oksitetrasiklin (T30, 30 µg), Norfloksasin N(OR:10, 10 µg), Ceftriaksone (CRO30, 30 µg), Oksasilin (OX1, 1 µg), Apramisin (APR15, 15 µg), Siprofloksasin (CIP5, 5 µg), Klindamisin (DA2, 2 µg), Tylosin (TY15, 15 µg), Flumequin (FLM30, 30 µg), Sefalotin (KF30, 30 µg), Pristinamisin (PT15, 15 µg), Nitrofurantoin (F300, 300 µg), Gentamisin (CN10, 10 µg), Sülfametoksazol/Trimetoprim (SXT25, 25 µg), Oksolinik Asit (OA2, 2 µg), Kanamisin (K30, 30 µg), Doksisisiklin (DO30, 30 µg), Kloramfenikol (C30, 30 µg), Streptomisin (S10, 10 µg), Ampisilin (AM10, 10 µg), Eritromisin (E15, 15 µg), Vankomisin (VA30, 30 µg), Penisilin G (P10, 10 µg) Oxoid marka antibiyotikleri kullanılmıştır. Mc Farland 0,5 (Biosan DEN-1) bulanıklığında hazırlanan bakteri süspansiyonundan Müller Hinton Agar (Merck) besiyerine 0,1 ml konularak besi yeri yüzeyine steril eküvyon çubuklar ile yayılması sağlanmıştır. Daha sonra petriyer oda sıcaklığında 5-10 dakika bekletilmiştir. Agarın yüzeyine çeşitli konsantrasyonlarda farklı antibiyotikleri içeren diskler steril

pens ile yerleştirilerek 25°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. 24-48 saat süren inkübasyon sonunda diskler etrafında gelişen zonların çapları milimetrik olarak ölçülerek suşların duyarlı ve dirençli olup olmadıkları hassas (S), dirençli (R) ve orta derece de duyarlı (I) olarak CLSI, 2017 kriterlerine göre değerlendirilmiştir (Mueller ve Hinton, 1941; CLSI, 2017). Testler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Çoklu antibiyotik dirençliliği (ÇAD) indeksinin hesaplanması

Çoklu antibiyotik dirençliliği (ÇAD) "Multi Drug Resistant, MDR" indeksi test organizmalarının dirençli olduğu antibiyotik sayısının toplam kullanılan antibiyotik sayısına oranı ile hesaplanmıştır. Hesaplanan ÇAD indeksi sonucunda 0,2'den daha büyük olan suşların çoklu antibiyotik dirençliliği olduğu belirlenmiştir (Krumperman, 1983; Paul vd., 1997; Ehinmidu, 2003; Matyar, 2016).

BULGULAR

Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle antibiyogram testi sonuçları

A. hydrophila suşlarının zon çaplarının mm bazında ölçülerek yapıldığı bu testte farklı suşların farklı antibiyotiklere karşı oluşturdıkları direnç ve duyarlılıkları belirlenmiştir (Şekil 1. ve Tablo 3.).

Araştırma sonucunda 20 *A. hydrophila* suşunun ve *A. hydrophila* ATCC 7966 referans suşunun 28 farklı antibiyotik kullanılarak yapılan antibiyogram test sonuçları incelendiğinde, her bir suşun farklı düzeyde antibiyotik duyarlılıklarının olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.). *A. hydrophila* suşlarının 28 antibiyotigin, 14'üne duyarlı olduğu 12'sine karşı dirençli olduğu ve 2'sine orta derecede duyarlı olduğu saptanmıştır.

Çalışmada *A. hydrophila* suşlarının oksasilin'e %100, ampisilin'e %100, vankomisin'e %100, penisilin G'ye %100, klindamisin'e %95,23, tilosin'e %95,23, oksitetrasiklin'e %90,47, siprofloksasin'e %90,47, pristinamisin'e %90,47, sefalotin'e %80,95, oksolinik asit'e %80,95, nitrofurantoin'e %61,90 oranında dirençli olduğu belirlenmiştir. Yine suşlarının norfloksasin'e %100, gentamisin'e %95,23, enrofloksasin'e %95,23, flumekuine'e %90,47, kloramfenikol'e %90,47, kolistin'e %80,95, streptomisin'e %80,95, nalidiksik asit'e %71,42, sulfametoksazol/trimetoprim'e %71,42, seftriakzon'a %66,68, sefoperazon'a %52,38, sülfadiazin'e %47,61, kanamisin'e %47,61, doksisisiklin'e %42,85 oranında duyarlı olduğu saptanmıştır. Ek olarak eritromisin'e %76,19 ve apramisin'e %57,14 oranında orta derecede duyarlı olduğu bulunmuştur. Çalışmada elde edilen antibiyotik duyarlılık yüzdeleri Tablo 4'de verilmiştir.

Çoklu antibiyotik direnci (ÇAD) indeksi sonuçlarına göre *A. hydrophila* suşlarının sülfadiazin, oksitetrasiklin, oksasilin, apramisin, klindamisin, tilosin, sefalotin, pristinamisin, nitrofurantoin, sulfametoksazol/trimetoprim, oksolinik asit, ampisilin, vankomisin ve penisilin G olmak üzere 14 farklı antibiyotiğe karşı çoklu antibiyotik direncinin olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.).

Tablo 3. A. hydrophila suşlarının antibiyogram sonuçları (CLSI, 2017)

Antibiyotikler	Sensitivity; R: Resistant, S: Susceptible I: Intermediate (Zon çapı: mm) Suşlar																				
	ATCC 7966	AH RSKK 05049	AH SAHA	AH S	AH J	AH 2	AH 3	AH 4	AH 12.1	AH 14	AH 15	AH 16	AH 108	AH 113	AH 216	AH 217	AH 219	AH 220	AH 222	AH 230	AH 232
SD300	S(19)	R(0)	S(20)	R(0)	S(2)	S(16)	S(20)	S(23)	S(18)	I(14)	R(10)	R(0)	S(20)	S(22)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	S(18)	R(0)	I(13)
NA30	S(26)	R(0)	S(34)	S(30)	S(25)	S(27)	S(27)	S(26)	S(25)	R(0)	S(23)	R(0)	S(25)	I(18)	S(27)	S(22)	S(24)	S(21)	S(25)	R(0)	R(0)
ENR5	S(30)	S(28)	S(40)	S(34)	S(40)	S(31)	S(30)	S(30)	R(10)	S(25)	S(34)	S(35)	S(31)	S(26)	S(31)	S(34)	S(35)	S(34)	S(40)	S(33)	S(27)
CEP75	I(20)	I(19)	S(30)	I(20)	S(24)	I(20)	I(20)	S(22)	S(26)	S(29)	S(25)	I(20)	I(20)	S(30)	I(20)	S(27)	S(26)	R(14)	S(21)	S(22)	I(20)
CT10	S(12)	R(10)	S(13)	S(12)	S(12)	S(13)	S(12)	S(13)	S(14)	S(12)	R(0)	S(12)	S(11)	S(13)	S(20)	S(19)	R(0)	S(15)	S(11)	R(0)	S(13)
T30	R(0)	R(20)	I(23)	R(0)	R(20)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	I(22)	R(9)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(21)	R(0)	R(0)	R(16)	R(0)	R(0)
NOR10	S(33)	S(33)	S(41)	S(33)	S(35)	S(32)	S(31)	S(32)	S(28)	S(23)	S(19)	S(32)	S(30)	S(20)	S(27)	S(34)	S(24)	S(26)	S(29)	S(24)	S(30)
CRO30	S(25)	S(42)	S(33)	S(24)	S(24)	S(26)	S(25)	S(26)	R(16)	S(31)	I(22)	S(28)	S(25)	R(18)	I(21)	S(30)	R(16)	R(15)	S(26)	R(9)	S(25)
OX1	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(9)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)
APR15	I(15)	I(15)	I(15)	I(15)	R(13)	I(14)	I(15)	I(15)	S(18)	I(15)	R(12)	I(15)	I(15)	R(11)	R(13)	I(16)	S(18)	R(12)	R(13)	R(13)	I(16)
CIP5	S(35)	S(28)	S(42)	S(35)	S(38)	S(37)	S(37)	S(35)	S(34)	S(26)	S(33)	S(35)	S(36)	S(30)	S(33)	R(0)	S(37)	I(20)	S(38)	S(26)	S(29)
DA2	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(9)	R(8)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(9)	R(0)	R(0)	S(22)	R(0)
TY15	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	S(21)	R(0)
FLM30	S(34)	S(43)	S(36)	S(35)	S(34)	S(33)	S(34)	S(34)	S(32)	R(11)	S(31)	S(34)	S(25)	S(36)	S(35)	S(29)	S(31)	S(27)	S(35)	S(27)	I(22)
KF30	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	S(20)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(8)	R(0)	R(0)	R(10)	S(23)	S(22)	R(0)	S(22)	R(0)	R(7)	R(0)
PT15	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(11)	R(10)	R(0)	R(0)	R(10)	R(0)	R(0)	S(25)	R(10)	R(0)	S(25)	R(11)
F300	R(0)	R(13)	S(26)	R(0)	S(21)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	S(20)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	S(20)	S(17)	I(15)	R(0)	S(19)	S(23)
CN10	S(20)	R(11)	S(20)	S(20)	S(20)	S(21)	S(20)	S(21)	S(24)	S(20)	S(21)	S(20)	S(21)	S(15)	S(18)	S(21)	S(24)	S(23)	S(21)	S(21)	S(22)
SXT25	S(25)	R(0)	S(29)	R(0)	S(25)	S(27)	S(24)	S(26)	S(23)	S(16)	S(26)	S(25)	S(24)	S(27)	S(26)	R(0)	R(0)	R(0)	S(27)	R(0)	S(21)
OA2	R(0)	R(0)	I(26)	R(0)	I(27)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(18)	R(0)	R(0)	I(25)	R(17)	R(20)	R(20)	I(26)	R(0)	R(22)	R(0)
K30	S(18)	S(19)	S(18)	S(18)	I(16)	I(17)	I(17)	S(18)	S(19)	S(18)	S(20)	S(18)	I(14)	R(0)	R(0)	I(14)	I(17)	R(0)	S(21)	I(14)	I(17)
DO30	I(11)	S(24)	S(24)	S(24)	S(18)	R(10)	I(12)	I(11)	S(22)	S(25)	S(16)	I(12)	R(9)	R(0)	I(12)	I(13)	S(28)	I(13)	R(10)	S(23)	R(10)
C30	S(35)	S(36)	S(37)	S(36)	S(32)	S(35)	S(35)	S(36)	S(34)	S(32)	I(16)	S(35)	S(33)	S(18)	S(28)	S(24)	S(34)	S(22)	S(39)	S(30)	R(11)
S10	S(20)	S(21)	S(22)	S(20)	S(22)	S(20)	S(20)	S(20)	S(29)	S(20)	S(25)	S(20)	S(21)	S(18)	R(10)	I(14)	S(28)	I(12)	S(21)	S(16)	R(0)
AM10	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(9)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(9)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)
E15	I(15)	I(15)	I(20)	I(14)	I(17)	I(16)	I(15)	I(15)	I(22)	I(13)	I(19)	I(14)	I(14)	R(0)	R(0)	R(0)	I(21)	R(0)	I(17)	S(31)	I(22)
VA30	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)
P10	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)	R(0)

CLSI: The Clinical & Laboratory Standards Institute

R: Resistant: Dirençli, I: Intermediate: Orta duyarlı, S: Susceptible: Duyarlı

SD300: Sulfadiazine, NA30: Nalidixic Acid, ENR5: Enrofloxacin, CEP75: Cefoperazone, CT10: Colistin, T30: Oxytetracycline, NOR:10 Norfloxacin, CRO30: Ceftriaxone, OX1: Oxacillin, APR15: Apramycin, CIP5: Ciprofloxacin, DA2: Clindamycin, TY15: Tylosin, FLM30: Flumequine, KF30: Cephalothin, PT15: Pristinamycin, F300: Nitrofurantoin, CN10: Gentamicin, SXT25: Sulphamethoxazole/Trimethoprim, OA2: Oxolinic Acid, K30: Kanamycin, DO30: Doxycycline, C30: Chloramphenicol, S10: Streptomycin, AM10: Ampicillin, E15: Erythromycin, VA30: Vancomycin, P10: Penicillin G

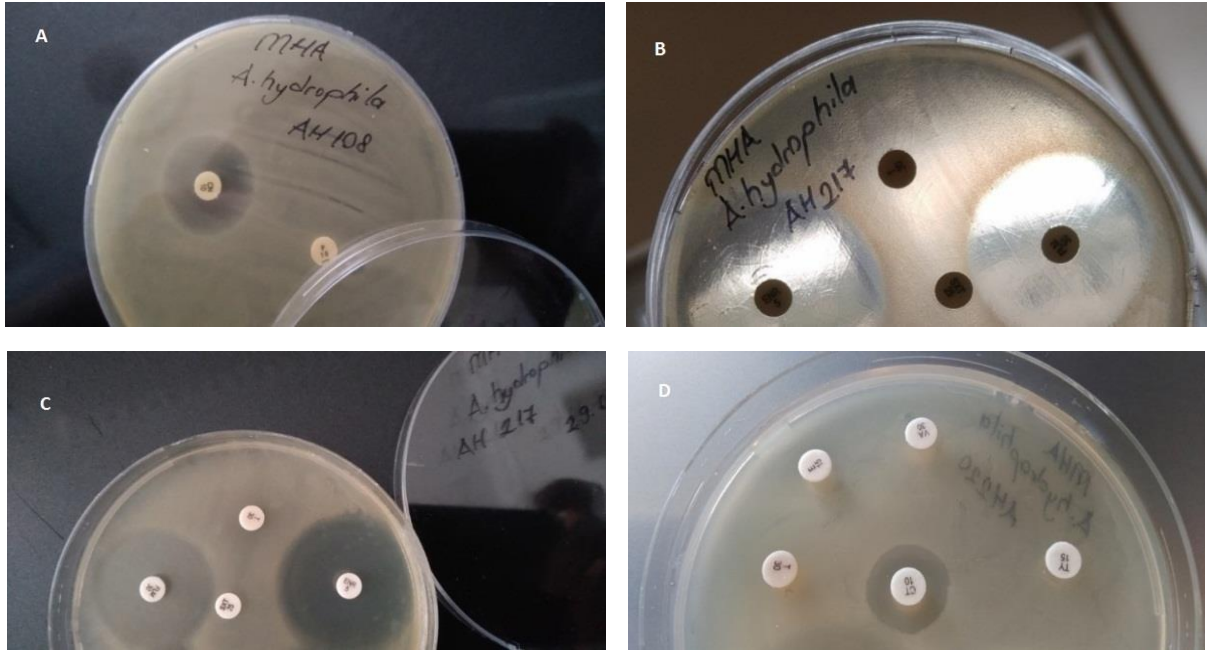
Tablo 4. Antibiyotik duyarlılık yüzdeleri ve çoklu antibiyotik direnci (ÇAD) indeksi sonuçları

Antibiyotik	Antibiyotik Dozu	Dirençli Suş Sayısı	Dirençli n (%)	Orta Duyarlı Suş Sayısı	Orta Duyarlı n (%)	Duyarlı Suş Sayısı	Duyarlı n (%)	ÇAD İndeksi
SD300	(300 µg)	9	%42,85	2	%9,52	10	%47,61	0,32
NA30	(30 µg)	5	%23,80	1	%4,76	15	%71,42	0,17
ENR5	(5 µg)	1	%4,76	0	%0	20	%95,23	0,03
CEP75	(75 µg)	1	%4,76	9	%42,85	11	%52,38	0,03
CT10	(10 µg)	4	%19,04	0	%0	17	%80,95	0,14
T30	(30 µg)	19	%90,47	2	%9,52	0	%0	0,67
NOR10	(10 µg)	0	%0	0	%0	21	%100	0
CRO30	(30 µg)	5	%23,80	2	%9,52	14	%66,68	0,17
OX1	(1 µg)	21	%100,00	0	%0	0	%0	0,75
APR15	(15 µg)	7	%33,33	12	%57,14	2	%9,52	0,25
CIP5	(5 µg)	1	%4,76	1	%4,76	19	%90,47	0,03
DA2	(2 µg)	20	%95,23	0	%0	1	%4,76	0,71
TY15	(15 µg)	20	%95,23	0	%0	1	%4,76	0,71
FLM30	(30 µg)	1	%4,76	1	%4,76	19	%90,47	0,03
KF30	(30 µg)	17	%80,95	0	%0	4	%19,04	0,60
PT15	(15 µg)	19	%90,47	0	%0	2	%9,52	0,67
F300	(300 µg)	13	%61,90	1	%4,76	7	%33,33	0,46
CN10	(10 µg)	1	%4,76	0	%0	20	%95,23	0,03
SXT25	(25 µg)	6	%28,57	0	%0	15	%71,42	0,21
OA2	(2 µg)	17	%80,95	4	%19,04	0	%0	0,60
K30	(30 µg)	3	%14,28	8	%38,09	10	%47,61	0,10
DO30	(30 µg)	5	%23,80	7	%33,33	9	%42,85	0,17
C30	(30 µg)	1	%4,76	1	%4,76	19	%90,47	0,03
S10	(10 µg)	2	%9,52	2	%9,52	17	%80,95	0,07
AM10	(10 µg)	21	%100,00	0	%0	0	%0	0,75
E15	(15 µg)	4	%19,04	16	%76,19	1	%4,76	0,14
VA30	(30 µg)	21	%100,00	0	%0	0	%0	0,75
P10	(10 µg)	21	%100,00	0	%0	0	%0	0,75

R: Resistant: Dirençli, I: Intermediate: Orta duyarlı, S: Susceptible: Duyarlı

ÇAD: Çoklu antibiyotik direnci indeksi

SD300: Sulfadiazine, NA30: Nalidixic Acid, ENR5: Enrofloxacin, CEP75: Cefoperazone, CT10: Colistin, T30: Oxytetracycline, NOR:10 Norfloxacin, CRO30: Ceftriaxone, OX1: Oxacillin, APR15: Apramycin, CIP5: Ciprofloxacin, DA2: Clindamycin, TY15: Tylosin, FLM30: Flumequine, KF30: Cephalothin, PT15: Pristinamycin, F300: Nitrofurantoin, CN10: Gentamicin, SXT25: Sulphamethoxazole/Trimethoprim, OA2: Oxolinic Acid, K30: Kanamycin, DO30: Doxycycline, C30: Chloramphenicol, S10: Streptomycin, AM10: Ampicillin, E15: Erythromycin, VA30: Vancomycin, P10: Penicillin G



Şekil 1. A. *A. hydrophila* AH108 suşunun gentamisin duyarlılığı penisilin direnci, B.ve C. *A. hydrophila* AH217 suşunun enrofloksasin, flumekuin duyarlılığı oksitetrasiklin, sulfametoksazol/trimetoprim direnci, D. *A. hydrophila* AH220 suşunun sadece kolistin duyarlılığı tilosin, vankomisin, eritromisin, Kloramfenikol direnci

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bakteriyel direnç her açıdan tehditir. Son zamanlarda dünya çapında antibiyotiklere dirençli, hatta çoklu dirençli, patojenik bakterilerde bir artış söz konusudur. Su ürünleri yetiştiriciliği yönetiminde profilaktif amaçla probiyotik uygulamaları (Gatesoupe, 1999; Verschuere vd., 2000), immunostimulantlar (Sakai, 1999) ve aşular (Gudding vd., 1999; Heppell ve Davis, 2000) başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak tedavi sürecinde kullanılan antibiyotiklere karşı gittikçe gelişen direnç hastalıkların kontrol altına alınmasında yeni metotlara olan ihtiyacı arttırmıştır.

Birçok antibiyotiğe karşı gerek intrinsik, gerekse kazanılmış direnç göstererek tedaviyi zorlayan bir bakterinin antibiyotiklere direnci diğer bakterilere kolaylıkla transfer eden ve intestinal florada asemptomatik persistent kolonizasyon gösteren bu bakterilerin hastalıklardaki önemi giderek artmaktadır (Uttley vd., 1988).

Aeromonasların, penisilin G, ampisilin, karbenisilin, tikarsilin, streptomisin, sefalotin ve 1. ve 2. kuşak sefalosporinlerin çoğuna karşı dirençli olduğu; çoğu aminoglikozide, azlosilin, piperasilin kloramfenikol, tetrasiklin, sulfametoksazol/trimetoprim, kinolonlar ve 3. kuşak sefalosporinlere duyarlı oldukları belirtilmektedir. Bununla beraber her gün bu ilaçlara karşı direnç gelişmektedir. Yapılan çalışmalarla Aeromonas cinsinde çoklu direnç gelişimine neden olan R plazmidlerin varlığı saptanmıştır (Altwegg ve Jöhl, 1989). Bu çalışmada *A. hydrophila*'nın gün geçtikçe duyarlı olduğu ve tedavide önerilen başta oksitetrasiklin olmak üzere 12 antibiyotiğe karşı artık direnç kazandığı belirlenerek Altwegg ve Jöhl (1989) ile benzer sonuç vermiştir.

Sarkodie vd. (2019) 15 klinik *A. hydrophila* suşu 12 antibiyotik sınıfı olmak üzere 25 farklı antibiyotiğe karşı antibiyotik hassasiyetleri açısından incelenmiş ve neredeyse birçok antibiyotiğe karşı direnç geliştirdiğini bulmuşlardır. Suşların aminoglikozid sınıfına karşı % 97,7 duyarlılık, β -laktam'a %96,7 yüksek direnç, %60,0 polipeptide orta direnç gösterdiğini bildirmişlerdir. Hatta *A. hydrophila* hastalıklarının tedavisinde penisilinden ve tetrasiklinden kaçınılması gerektiğini savunmuşlardır. Çalışmamızda da benzer durum söz konusu olup *A. hydrophila* suşlarının nerdeyse yarısının çalışmada kullanılan tüm antibiyotiklere direnç geliştirdiği görülmüştür ve penisilin G (%100) ve oksitetrasiklin'e (%90,47) karşı görülen yüksek düzeydeki direnç Sarkodie vd. (2019) bulgularını desteklemektedir.

Hossain vd. (2019) tarafından zebra balığı kaynaklı 43 *Aeromonas spp.* (26 *A. veronii biovar veronii*, 3 *A. veronii biovar sobria*, 8 *A. hydrophila*, 3 *A. caviae* ve 1 *A. dhakensis*) suşlarının antibiyogramı, antimikrobiyal direnç genleri ve integronları çalışılmıştır. Suşların amoksisilin'e %100,00, nalidiksik asit'e %100,00, oksitetrasiklin'e %100,00, ampisilin'e %93,02, tetrasiklin'e %74,42, rifampisin'e %67,44 ve imipenem'e %65,15 oranında dirençli oldukları bildirilmiştir. Araştırmamızda da Hossain vd. (2019)'a benzer olarak oksitetrasiklin'e 19 suşun (%90,47), ampisilin'e 21 suşun (%100,00) direnç gösterdiği bulunmuştur. Araştırma sonucumuzda Hossain vd. (2019)'den farklı olarak nalidiksik asit'e sadece 5 suşun (%23,80) direnç gösterdiği saptanmıştır.

Radu vd. (2003) balıklarda Aeromonas hastalıklarında antibiyotik direncini araştırmış ampisilin, karbenisilin, eritromisin ve streptomisine karşı oldukça dirençli olduğunu bildirmiştir. Araştırmamızda da Radu vd. (2003) çalışmasıyla benzer olarak ampisiline karşı 21 suşla yüksek direnç görülürken söz konusu çalışmadan farklı olarak *A. hydrophila* suşlarının streptomisine karşı duyarlı olduğu, eritromisine karşı orta derecede duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Aeromonas suşları genel olarak amnoglikozitlere duyarlı olarak bilinmektedir (Laith ve Najiah, 2013). Akşit ve Kum (2008) test ettikleri Aeromonas suşlarının tamamının gentamisine duyarlı olduğunu saptamışlardır. Araştırmamızdaki sonuçlarda da benzerlik söz konusu olup bir aminoglikozit olan gentamisine karşı suşların %95,23'i (20 suş) gentamisine duyarlı olduğu saptanmıştır.

Durmaz ve Türk (2009) streptomisin, oksitetrasiklin ve nitrofurantoin gibi antibiyotiklere karşı Motil Aeromonaslar'ın oldukça direnç kazandıklarını saptamıştır. Araştırmamızda benzer şekilde oksitetrasiklin'e ve nitrofurantoin'e karşı direnç görülmüştür ancak farklı olarak streptomisin'e duyarlı olduğu görülmüştür.

Del Castillo vd. (2013) *A. hydrophila*'nın ÇAD plazmitini taşıdığını belirlediğini bildirmiştir. Araştırmada da 28 antibiyotikten 14'üne karşı suşların geliştirdiği çoklu antibiyotik direncinin tespiti bu ifadeyi desteklemektedir.

Zhu vd. (2020) tarafından *A. hydrophila*'nın neden olduğu septiseminin tedavisinde ÇAD probleminin son on yılda katlanarak arttığını ve endişe verici bir orana ulaştığını bildirerek hasta balıklardan izole ettikleri suşların antibiyotik hassasiyetlerinin tüm suşlarda farklılık gösterdiğini her

suşun farklı bir antibiyotiğe dirençli olduğu rapor edilmiştir. Yapılan bu çalışmada da benzer bir durum söz konusu olup her suşun farklı bir antibiyotiğe dirençli olduğu bulunmuş ve bu dirençli suşların antibiyotik sayısının toplam kullanılan antibiyotik sayısına oranıyla 14 antibiyotiğe çoklu antibiyotik direnci geliştirdiği saptanmıştır.

Araştırmamızda suşların ÇAD indekslerine bakıldığında sülfadiazin (9 suş), oksitetrasiklin (19 suş), oksasilin (21 suş), apramisin (7 suş), klindamisin (20 suş), tilosin (20 suş), sefalotin (17 suş), pristinamisin (15 suş), nitrofurantoin (13 suş), sülfametaksazol/trimetoprim (6 suş), oksolinik asit (17 suş), ampisilin (21 suş), vankomisin (21 suş), penisilin G (21 suş) antibiyotiklerine karşı *A. hydrophila* suşlarının çoklu antibiyotik direncinin olduğu belirlenmiştir.

Thenmozhi vd. (2014) 21 *A. hydrophila* suşu 12 antibiyotiğe karşı test etmişler ve *A. hydrophila* suşlarının çoklu antibiyotik direncinin varlığını göstermişlerdir. 21 suşun tamamının ampisilin'e 0,5-1,0 ÇAD indeksiyle en yüksek çoklu antibiyotik direnci gösterirken siprofloksasin'e 0,1 suşun ve gentamisin'e 0,07 karşı çoklu antibiyotik direnç göstermediğini bildirmişlerdir. Araştırma sonuçlarımız *A. hydrophila* suşlarının ampisilin'e 0,75 çoklu direnç gösterip siprofloksasin'e 0,3 ve gentamisin'e 0,14 karşı çoklu antibiyotik direnç geliştiremediğinin tespitiyle Thenmozhi vd. (2014) bulgularını desteklemektedir.

Kaskhedikar ve Chhabra, (2010) aminoglikozidler, sefalosporinler, nitrofurantoin, fluroquinolones, kloramfenikol, sülfonamidler, tetrasiklinler, penisilin ve polimiksin olmak üzere 9 farklı antibiyotik grubuna ait 14 antibiyotiğe karşı *A. hydrophila* suşlarının antibiyogram testini yapmışlar ve tüm *A. hydrophila* suşlarında çoklu antibiyotik direnci olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmamızda da benzer durum söz konusu olup nitrofurantoin'e 0,46 indeksiyle, tetrasiklin'e 0,67 indeksiyle, penisilin'e 0,75 indeksiyle bu antibiyotiklere karşı 0,2 indeksinin üzerinde sonuçların bulunmasıyla çoklu antibiyotik direnci tespit edilmiştir ve Kaskhedikar ve Chhabra, (2010) bulgularını desteklemektedir.

Araştırma bulgularımızla *A. hydrophila* bakterisinin yüksek oranda çoklu antibiyotik dirençliliği taşıdığı görülmüştür. Söz konusu bakterinin dirençlilik genleri açısından taşıyıcı olması nedeniyle, gen transfer yöntemleriyle sahip oldukları dirençlilik genlerini fırsatçı diğer bakterilere aktarması açısından ciddi tehdit oluşturmaktadır.

Onuk vd. (2017) farklı oranlarda antibiyotik direncinin saptanmış olması hem balık hem de insan hastalıklarının tedavisinde uygun antimikrobiyal ajanların seçilmesinin önemini ortaya koymakla birlikte *Aeromonas* türleri için etkin ulusal antimikrobiyal direnç izleme sistemlerine ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir. Araştırmamızda da benzer durum söz konusu olup farklı oranlarda ilaç direnci tespit edilmiştir ve sonuçlarımız Onuk vd. (2017)'nin bu ifadesini desteklemektedir.

Theguardian (2020), antibiyotik direnci hakkında yapılan araştırmalar kapsamında yeni antibiyotikler geliştirilemezse, 2050 yılına kadar her yıl 10 milyon canlının hastalıklardan dolayı risk altında olabileceği konusunda uyarıda bulunmuşlardır. Öte yandan en güçlü veya en zeki olan değil, değişime en çok uyum sağlayabilen hayatta kalır ifadesini bildiren Megginson (1963) bakterilerde çevrenin değişimine uyum sağlamış antibiyotik direncini neredeyse zirveye çıkarmıştır. Günümüzde 400 farklı mikroorganizmaya ait 20.000'in üzerinde potansiyel direnç geninin (R geni) varlığı bilinmekte olup (Aksoy, 2015) antibiyotik direnci sadece bugünü değil geleceği de ilgilendiren ve tüm dünyayı tehdit eden önemli bir sorundur. Biyofilm matriksinde bulunan ve enfeksiyona neden olan bakterilerin antibiyotik dirençlilik problemi, yüz yüze kaldığımız büyük problemlerden birisidir (Costerton vd., 1999).

Antibiyotiklere bu denli direnç kazanmış *A. hydrophila*'yla savaşta artık yeni önlemlerin geliştirilmesi ve söz konusu patojen üzerinde fenomen stratejilerin denenmesi şarttır. Hastalıklarla mücadelede yeni stratejilerin geliştirilerek denenme süreci devam ederken bu araştırma sorusunun sonuçlarıyla hastalıkların tedavisinde doğru antibiyotik seçimine yön verileceği ve hastalığın tedavi sürecine katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

Teşekkür: Bu çalışma doktora tezinden özetlenmiştir. Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 1002 Hızlı Destek Programı kapsamında 119O671 Proje Nosuyla desteklenmiştir. Araştırma da kullanılan *A. hydrophila* suşları Bursa Uludağ Üniversitesi (BUÜ)'nin, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi (ISUBÜ)'nin ve Ondokuz Mayıs Üniversitesi (OMÜ)'nin değerli Öğretim Elemanları tarafından temin edilmiş olup kendilerinin şahıslarına ve bağlı buldukları Üniversitelerine teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

- Agger, W.A., McCormick, J.D., & Gurwith, M.J. (2018). *Aeromonas hydrophila* ilişkili ishalin klinik ve mikrobiyolojik özellikleri. *Journal Clinical Microbiology*.
- Aksoy, A. (2015). Antibiyotik Direnci Özel Sayısı. *Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri-Farmakoloji ve Toksikoloji-Özel Konular*, 15(1).
- Akşit, A., & Kum, V. (2008). Gökkuşuğu Alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)'nda sık görülen patojen mikroorganizmaların tespiti ve antibiyotik duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(1), 1-7.
- Alcaide, E., Blasco, M.D., & Esteve, C. (2005). Occurrence of drug-resistant bacteria in two European eel farms. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(6), 3348–3350. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.6.3348-3350.2005>
- Altwegg, M., & Jöhl, M. (1989). Isolation frequency of *Aeromonas* species in relation to patient age, *Notes*, 6, 55.
- Andersson, D. I., Balaban, N. Q., Baquero, F., Courvalin, P., Glaser, P., Gophna, U., ... & Tønnum, T. (2020). Antibiotic resistance: turning evolutionary principles into clinical reality. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(2), 171-188.
- Angulo, F.J., & Griffin, P.M. (2000). Changes in antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*. *Emerging Infectious Diseases Journal*, 6, 436–438.
- Angulo, F.J., Nargund, V.N. & Chiller, T.C. (2004). Evidence of an association between use of anti-microbial agents in food animals and anti-microbial resistance among bacteria isolated from humans and the human health consequences of such resistance. *Journal of Veterinary Medicine*, 51(8-9), 374–379. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2004.00789.x>
- Austin, B., & Austin, D.A. (2016). Bacterial fish pathogens. 6. th edition. Springer International Publishing, Switzerland, pp: 21-82, 161-321, 323-396, 643-721.
- Ausubel, F., Brent, R., Kingston, R., Moor, D., Seidman, J., Smith, J., & Stauhle, K. (1988). Current Protocols in Molecular Biology. New York: Wiley Intersciences.
- Baran, I., Timur, M., Aydın, N., İstanbulluoğlu, E. and Aydıntuğ, M.K. 1980. Çifteler-Sakaryabaşı balık üretim ve araştırma istasyonunda, alabalıklarda (*Salmo gairdneri*) görülen bakteriyel hemorajik sepsis hastalığı üzerine incelemeler. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 27(1), 467-473.
- Boran, H., Terzi, E., Altınok, I., Capkin, E. and Bascinar, N. 2013. Bacterial diseases of cultured mediterranean Horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) in sea cages. *Aquaculture*, 396, 8-13.
- Cabello, F.C. (2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental microbiology*, 8(7), (pp. 1137-1144). <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01054.x>
- Cappuccino, J.G., & Sherman, N. (1992). Biochemical activities of microorganisms. In: Microbiology, A Laboratory Manual. The Benjamin/Cummings Publishing Co. California, USA. 76 s.
- Castro, G. (2002). Characterisation of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico, *International Journal of Food Microbiology*, 2612, 1-9.
- Clark, N.M., & Chenoweth, C.E. (2003). *Aeromonas* infection of the hepatobiliary system: Report of 15 cases and review of the literature. *Clinical Infectious Diseases*, 37, 506-13.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), (2017). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 27th ed., CLSI Supplement M100, USA.
- Costerton, J.W., Stewart, P.S., Greenberg, E.P. (1999). Bacterial Biofilms: A common Cause of Persistent Infections, *Science*, 284, 1318-1322.
- Davies, A., Capell, C., Jehanno, D., Nychas, G.J.E., & Kirby, R.M. (2001). Incidence of Foodborne Pathogens on European Fish, *Food Control*, 12, 67-71.
- Del Castillo, C. S., Hikima, J. I., Jang, H. B., Nho, S. W., Jung, T. S., Wongtavatchai, J., ... & Aoki, T. (2013). Comparative sequence analysis of a multidrug-resistant plasmid from *Aeromonas hydrophila*. *Antimicrobial Agents*, 57(1), 120-129.
- Duman, M. (2017). Gökkuşuğu Alabalıklarında Görülen Motil *Aeromonas* (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*), *Yersinia ruckeri* ve *Lactococcus garvieae* Bakterilerinin Antimikrobiyal Duyarlılıkları ve Duyarlılıkta Rol Oynayan Genlerin Tespiti. Doktora Tezi, T.C. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Durmaz, Y. & Türk, N. (2009). Alabalık İşletmelerinden Motil *Aeromonas*ların İzolasyonu ve Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Saptanması, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, Research Article, 15(3), 357-361.
- Ehinmidu, J.O. (2003). Antibiotics Susceptibility Patterns of Urine Bacterial Isolates in Zaria, Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2(2), 223- 228.
- Erer, H. (2002). Balık Hastalıkları. 2. baskı, Selçuk Üniv. Basimevi, Konya.
- Gatesoupe, F.J. (1999). The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 180, 147- 165.

- Gudding, R., Lillehaug, A., & Evensen, Ø., (1999). Recent developments in fish vaccinology. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 72, 203-212.
- Güvener, R.P. (2001). A study on the diagnosis of the aeromonad enfections in some aquarium fishes. Msc. thesis. Istanbul University.
- Heppell, J., & Davis, H.L. (2000). Application of DNA Vaccine Technology to Aquaculture. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 43, 29-43.
- Hossain, S., Dahanayake, P.S., De Silva, B.C.J., Wickramanayake, M.V.K.S., Wimalasena, S.H.M.P., & Heo, G.J. (2019). Multidrug resistant *Aeromonas spp.* isolated from zebrafish (*Danio rerio*): antibiogram, antimicrobial resistance genes and class 1 integron gene cassettes. *Letters in applied microbiology*, 68(5), 370-377.
- Kaskhedikar, M., & Chhabra, D. (2010). Multiple drug resistance in *Aeromonas hydrophila* isolates of fish. *Food Microbiology*, 28, 157-168.
- Ko, W.C., Lee, H.C., Chuang, Y.C., Liu, C.C., & Wu, J.J. (2000). Clinical features and therapeutic implications of 104 episodes of monomicrobial *Aeromonas* bacteremia. *Journal of Infectious*, 40, 267-73.
- Korun, J., & Toprak, H.B. (2010). Kültürü yapılan gökkuşuğu alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*)'nin bağırsağından izole edilen hareketli *Aeromonas* suşlarının antibiyotik hassasiyetleri üzerine NaCl'un etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(2), 193-198.
- Krumperman, P.H. (1983). Multiple Antibiotic Resistance Indexing of *Escherichia coli* to Identify HighRisk Sources of Fecal Contamination of Food. *American Society for Microbiology, Applied Environmental Microbiology*, 46(1), 165-170.
- Kusdarwati, R., Kurniawan, H., & Prayogi, Y.T. (2017). Isolation and identification of *Aeromonas hydrophila* and *Saprolegnia sp.* on catfish (*Clarias gariepinus*) in floating cages in Bozem Moro Krembangan Surabaya. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 55(1) p. (012038). IOP Publishing.
- L'Abée-Lund, T.M., & Sorum, H. (2001). Class 1 integrons mediate antibiotic resistance in the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* worldwide. *Microbial Drug Resistance*, 7(3), 263-272. <https://doi.org/10.1089/10766290152652819>.
- Laith, A.R., & Najiah, M. (2013). *Aeromonas hydrophila*: antimicrobial susceptibility and histopathology of isolates from diseased catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). *Journal of Aquaculture Research and Development*, 5(2), 1-7. <https://doi.org/10.4172/2155-9546.1000215>.
- Lasee, B. A., (1995). Introduction To Fish Health Management, U.S. Fish and Wildlife Service La Crosse Fish Health Center 555, Lester Avenue Onalaska, Wisconsin, 54650.
- Lehone, L., & Rawlin, G.P. (2000). Fish Diseases and Human Health in Aquaculture, *Medical Journal of Australia*, 173(5), 256-259.
- Lukistyowati, I. (2012). Pelacakan Gen Aerolysin dari *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih (Detection of Aerolysin Gen from *Aeromonas hydrophila* In Common Carp Fed With Garlic Extract). *Jurnal Veteriner Maret*, 13(1), 43-50.
- Mancini, M.A., Galetto, M., & Gonzalez Quintana, H. (1997). Identification, clinical signs and histopathological lesions of *Aeromonas hydrophila* in fishes (*Odontesthes bonariensis*). *Revista de Medicina Veterinaria Buenos Aires*, 78(1), 65-68.
- Mathewson, J.J., & Dupont, H.L. (1992). *Aeromonas* species: role as human pathogens, In: Remington, J.S., Swartz, M.N. (eds.), *Current Clinical Topics in Infectious Diseases*, Vol12e. Cambridge: Blackwell Scientific. pp 26-36.
- Matyar, F. (2016). Hastane Kanalizasyonlarından İzole Edilen Gram-negatif Bakterilerin Tiplendirilmesi ve Çoklu Antibiyotik Dirençliliklerinin Saptanması. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4(10),845-849.
- Mueller, H.J. & Hinton, J. (1941). A protein-free medium for primary isolation of the Gonococcus and Meningococcus. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 48, 330-333.
- Naylor, R., & Burke, M. (2005) Aquaculture and ocean resources: raising tigers of the sea. *Annual Review of Environment and Resources*, 30,185-218.
- Onuk, E.E., Findik, A., Turk, N., Altun, S., Korun, J., Ozer, S., Avsever, M.L. ve A. Ciftci, "Molecular identification and determination of some virulence genes of *Aeromonas spp.* in fish and water from Turkish coastal regions." *Revue de Medecine Veterinaire* 164 (4): 200-206. (2013)
- Onuk, E.E., Tanrıverdi Çaycı, Y., Çoban, A.Y., Çiftci, A., Balta, F., Didinen, B.I., & Altun, S., (2017). Balık ve yetiştirme suyu kökenli *Aeromonas* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının saptanması. Kısa Bilimsel Çalışma/Short Communication, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 64, 69-73.
- Öztürk, R.Ç., & Altınok, İ. (2014). Bacterial and viral fish diseases in Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14(1), 275-297.
- Öztürk, D., Adanır, R., & Turutoğlu, H. (2007). Bir sazan (*Cyprinus carpio*) işletmesinde *Aeromonas hydrophila* izolasyonu ve antibiyotik duyarlılığı. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, at Mugla.

- Paul, S., Bezbaruah, R.L., Roy, M.K., & Ghosh, A.C. (1997). Multiple antibiotic resistance (MAR) index and its reversion in *Pseudomonas aeruginosa*. *Letters in Applied Microbiology*, 24, 169-171.
- Petersen, A., Andersen, J.S., Kaewmak, T., Somsiri, T., & Dalsgaard, A. (2002). Impact of integrated fish farming on antimicrobial resistance in a pond environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 6036–6042.
- Poobalane, S., Thompson, K.D., Ardo, L., Verjan, N., Han, H.J., & Jeney, G. et. al. (2010). Production and efficacy of an *Aeromonas hydrophila* recombinant S-layer protein vaccine for fish. *Vaccine*, 28, 3540–7.
- Radu, S., Ahmad, N., Ling, F.H., & Reezal, A. (2003). Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail fish in Malaysia. *International Journal of Food Microbiology*, 81(3), 261-266. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(02\)00228-3](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(02)00228-3).
- Rasko, D., & Sperandio, V. (2010). Anti-Virulence Strategies to Combat Bacteria-Mediated Disease, *Nature Reviews Drug Discovery*, 9, 117-128.
- Rehulka, J. (2002). *Aeromonas* causes severe skin lesions in Rainbow trout, Clinical pathology, haematology and biochemistry, *Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology*, 71, 351-360.
- Roberts, R.J., & Shepherd, C.J. (2001). Alabalık ve Salmon Hastalıkları (Handbook of Trout and Salmon Diseases), (Çevirmen: Vatanserver, H.). Akademi-UGURER Tarımsal Kitap Tanıtım ve Pazarlama Hizmetleri, Kayseri, s.254.
- Sağlam, Y.S., Işık, N., Arslan, A., & Erer, H. (2006). Erzurum Bölgesindeki Gökkuşuğu Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* W. 1792) *Aeromonas hydrophila* ve *Yersinia ruckeri* İzolasyonu ve Patolojik İncelemeler. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 1(1-2), 6-10.
- Sakai, M. (1999). Current status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, 172, 63-92.
- Sarkodie, E.K., Zhou, S., & Chu, W. (2019). N-Acylhomoserine Lactones (AHLs), QseB/C Gene Detection, Virulence Factors and Antibiotics Resistance of *Aeromonas hydrophila*. *Advances in Microbiology*, 9(05), 495.
- Sorum, H. (2006) Antimicrobial drug resistance in fish pathogens. In Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin. Aarestrup, F.M. (ed.). Washington, DC, USA: American Society for Microbiology Press, pp. 213–238 (Chapter 13).
- Theguardian, (2020). Antibiotics Powerful antibiotic discovered using machine learning for first time, <https://www.theguardian.com/society/2020/feb/20/antibiotic-that-kills-drug-resistant-bacteria-discovered-through-ai> Son erişim tarihi: 01.08.2020.
- Thenmozhi, S., Rajeswari, P., Kumar, B. S., Saipriyanga, V., & Kalpana, M. (2014). Multi-drug Resistant Patterns of Biofilm Forming *Aeromonas hydrophila* from Urine Samples. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(7), 2908.
- Timur, M. (1983). An outbreak of disease of farmed eel (*Anguilla anguilla*) due to *Aeromonas hydrophila* in Turkey. Histopathological and bacteriological studies. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 30(3), 361-367.
- Uttley, A.H., Collins, C.H., Naidoo, J., George, R.C. (1988). Vancomycin-resistant enterococci, *The Lancet*, 1, 57-58.
- Werner, S.B., & Rutherford, G.W. (1990). *Aeromonas* wound infections associated with outdoor activities California, *California Department of Health Care Services*, 39(20), 334-335.
- Witte, W. (2000). Selective pressure by antibiotic use in livestock. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 16, S19–S24.
- Zhu, W., Zhou, S., & Chu, W. (2020). Comparative proteomic analysis of sensitive and multi-drug resistant *Aeromonas hydrophila* isolated from diseased fish. *Microbial Pathogenesis*, 139, 103930. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103930>.