



YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN MERSİN BALIKLARINDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ

Ertugrul TERZI

Kastamonu Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 37100, Kastamonu, Türkiye

E-posta: ertugrulerzi@gmail.com

Geliş tarihi: 06.12.2018 Kabul tarihi: 26.12.2018

Öz: Türkiye'de mersin balıkları yetiştiriciliği son yıllarda artmaya başlamıştır. Balıklar yetiştiricilik aşamasında çeşitli hastalıklara maruz kalır ve bu hastalıklar ekonomik kayıplara sebep olabilmektedir. Bu çalışmada karaca (*Acipenser gueldenstaedtii*) ve sibirya (*Acipenser baerii*) mersin balıklarından ortalama ağırlıkları 3 kg'a ulaşmaya kadar geçen sürede izole edilen toplam 37 suşun antimikrobiyal maddelere karşı direnç profilleri ve direnç genlerin varlığı araştırılmıştır. Bakterilerin en fazla dirençli oldukları antibiyotikler sulfametoksazol ve ampisilin olarak tespit edilmiştir (%97.3). Bunun yanında bakterilerin test edilen antibiyotikler arasında gentamisin, oksolinik asit, trimetoprim+sulfametoksazol ve florfenikole karşı hassasiyetleri sırasıyla %86.5, %59.5, %45.9 ve %40.5 olarak tespit edilmiştir. Bakterilerde taranan genlerden *tetA* ve *tetB* genleri sırasıyla %10.8 ve 21.6 olarak tespit edilmiştir. En fazla tespit edilen genler %24 oranla *ampC* ve *cmlA* genleri olmuştur. Bu genleri %19'luk oranla *sul3* ve *floR* genleri takip etmiştir. Gerçekleştirilen bu çalışmada, bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç seviyelerinin oksitetrasiklin, streptomisin, enrofloksasin ve ampisilinde %50'den yüksek olması, mersin balığı yetiştiriciliğinde bakteriyel hastalıkların tedavisinde gelecekte sorunlar yaşanacağını söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal, Antibiyogram, Direnç genleri, Mersin Balığı

Determination of Antimicrobial Resistance Profiles of the Bacteria Isolated from Cultured Sturgeons

Abstract: Sturgeon farming in Turkey has increased in recent years. Fish are exposed to various diseases during the culturing period and these diseases can cause economic losses. In this study, a total of 37 strains isolated from diamond (*Acipenser gueldenstaedtii*) and siberian (*Acipenser baerii*) sturgeons till their average weights reach up to 3 kg were used to determine resistance profiles against antimicrobial substances and investigated their resistance genes. The most resistance to antibiotics in bacteria were found as sulphamethoxazole and ampicillin (97.3%). Moreover, the susceptibility of bacteria to the tested antibiotics for gentamicin, oxolinic acid, trimethoprim + sulfamethoxazole and florfenicol was determined as 86.5%, 59.5%, 45.9% and 40.5%, respectively. *tetA* ve *tetB* genes in the tested bacteria were detected as 10.8% and 21.6%, respectively. The most common genes were *ampC* and *cmlA* genes (24%) followed by *sul3* and *floR* genes with a ratio of 19%. In this study, it can be said that there may be problems in the treatment of bacterial diseases in sturgeon farming because of being higher than 50% of the resistance levels of bacteria against antibiotics such as oxytetracycline, streptomycin, enrofloxacin and ampicillin.

Keywords: Antimicrobial, Antibigram, Resistance Genes, Sturgeon

GİRİŞ

Türkiye su ürünleri üretimi yıldan yıla artmaktadır. Yetiştiricilikten elde edilen su ürünleri üretimi Türkiye'de toplam 276.502 (%62,4 deniz, %37,6 içsu) tondur (TUİK, 2018). Bu miktarın 104.010 tonu içsulardan üretilmektedir. Avcılık faaliyetleri yeterli miktarda olamamasından dolayı insani tüketim için yüksek değerlere sahip ürünlerin yetiştiriciliği gelişmekte olan ülkelerin hedefleri arasında yer almaktadır. Mersin balıkları hem eti hem de havyarı değerli olan yüksek kaliteli bir balıktır. Türkiye'de mersin balıklarının üretimi son yıllarda artış göstermekle beraber Türkiye'nin su ürünleri yetiştiriciliğine önemli derecede katkı sağlaması düşünülmektedir (Kayaş ve ark., 2017).

Yetiştiricilik faaliyetlerinin daha da başarılı hale gelmesinde balık sağlığı yönetimi çok önemli bir yere sahiptir. Su ürünleri yetiştiriciliği alanında geliştirilen yeni antimikrobiyaller ve yeni yetiştiricilik tekniklerine rağmen bu alanda balık hastalıkları ile mücadele halen en önemli problemler arasında yer almaktadır (Kusuda ve Kawai, 1998). Yetiştiricilik faaliyetleri esnasında bazı hastalık yapıcı organizmalar ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Mersin balıkları yetiştiriciliğinde *Yersinia ruckeri*, *Vibrio anguillarum*, *Flexibacter columnaris*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Pseudomonas spp.* ve *Flavobacterium hydatidis* gibi bakterilerin hastalık yapıcı olduğu ve önemli kayıplara sebep olduğu bildirilmiştir (Timur ve ark., 2010; Kayaş ve ark., 2017;

Geraylou, 2018). Kullanılan antibiyotiklerin aşırı, gereksiz ve uygunsuz kullanımları neticesinde bakterilerde bu antibiyotiklere karşı direnç geliştirme/kazanma durumu meydana gelmektedir (Capkin ve ark., 2015, Corum ve ark., 2018). Bu direnç bakteriler arasında transfer edilerek sucul ortamın da antibiyotik direnç genleri tarafından bir rezervuar haline gelmesi kaçınılmaz olabilmektedir. Bu çalışma yumurta aşamasından 3 kg ağırlığa ulaşınca kadar karaca (*Acipenser gueldenstaedtii*) ve sibiryaya (*Acipenser baerii*) mersin balıklarından izole edilen bakteriyel patojenlerin antimikrobiyal maddelere karşı hassasiyet/direnç profillerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Ayrıca direnci sağlayan antibiyotik direnç genlerinin izole edilen bakterilerdeki varlığını tespit etmek için PCR yöntemiyle *tetA*, *tetB*, *sul1*, *sul2*, *ampC*, *cmlA* ve *floR* antibiyotik direnç genleri çalışılmıştır.

METARYAL VE METOT

Balıklar ve Bakteri İzolasyonu

Karaca (*Acipenser gueldenstaedtii*) ve Sibiryaya (*Acipenser baerii*) mersin balıkları yavru aşamasından ortalama 3 kg ağırlığa ulaşınca kadar aylık bakteriyel açıdan sağlık problemlerinin belirlenmesi amacıyla Kayış ve ark. (2017) tarafından örneklenmiştir ve bu çalışmadaki bakterilerin çoğu Dr. Şevki KAYIŞ'tan (Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi) temin edilmiştir. Bu yüzden, bakteriyel örneklemeler ve sağlık problemleri üzerine detaylı bilgi Kayış ve ark. (2017) tarafından rapor edilmiştir. Bu çalışmada Sibiryaya ve Karaca mersin balıklarından izole edilen toplam 37 bakteriyel izolat kullanılmıştır (Tablo 1). Temin edilen izolatlar rutin olarak üretilen Tryptic Soy Agar (TSA) ve Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerlerinde üretilmiş ve %20 (v/v) gliserol içeren TSB besiyerinde -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

Tablo 1. Bu çalışmada kullanılan bakterilerin isimleri, sayıları ve dağılımları

Bakteri Adı	Sayı (n)	Yüzde (%)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1	2,7
<i>Acinetobacter</i> spp.	3	8,1
<i>Aeromonas hydrophila</i>	3	8,1
<i>Aeromonas piscicola</i>	1	2,7
<i>Aeromonas salmonicida</i>	1	2,7
<i>Aeromonas sobria</i>	3	8,1
<i>Aeromonas</i> sp.	6	16,2
<i>Bacillus mycoides</i>	1	2,7
<i>Citrobacter freundii</i>	1	2,7
<i>Citrobacter</i> sp.	1	2,7
<i>Janthinobacterium</i> sp.	1	2,7
<i>Microbacterium</i> sp.	1	2,7
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2	5,4
<i>Pseudomonas poae</i>	1	2,7
<i>Pseudomonas</i> sp.	8	21,6
<i>Serratia marcescens</i>	2	5,4
<i>Shewanella xiamenensis</i>	1	2,7

Antimikrobiyal Hassasiyet/Direnç Testi

İzole edilen bakterilerin antimikrobiyal maddelere karşı hassasiyetini ölçmek için Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2014) kitapçığında belirtilen standart disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. Ticari antibiyotik diskleri (Bioanalyse) Florfenicol (FFC; 30 µg), Enrofloksasin (ENR; µg 5), Ampisilin (AMP; µg 10), Streptomisin (S; 10 µg) Oksitetrasiklin (T; 30 µg), Trimetoprim/Sulfametoksazol (SXT, 25 µg), Oksolinik Asit (OA; 2 µg), Gentamisin (CN; 10 µg) ve Sulfametoksazol (SMZ; 100 µg) olarak kullanılmıştır. Diskler Mueller Hinton Agar besiyerine yerleştirildikten sonra plaklar 25 °C'de 18-36 saat inkübasyona bırakılarak ve inkübasyondan sonra inhibisyon zon çapları ölçülerek bakterilerin bu antibiyotiklere karşı direnç ve hassasiyetleri CLSI (2014) kitapçığındaki kriterlere göre dirençli (R), orta (I) ve hassas (S) olarak kaydedilmiştir. Ayrıca *E. coli* ATCC 25922 kontrol suşu olarak kullanılmıştır.

Antibiyotik Direnç Genlerinin PCR ile Belirlenmesi

İzole edilen tüm bakterilerin genomic DNA'ları kaynatma yöntemi kullanılarak çıkartılmıştır. Kısaca TSA üzerindeki saf kolonilerden bir kaç koloni alınıp 500 µl steril saf su (RNase ve DNase içermeyen) eklenerek homojen hale getirilmiştir. Ardından 10 dk kaynatıldıktan sonra soğumaya bırakılmış ve tekrardan 17000 x g'de 5 dk santrifüj edilerek çöktürülmüştür. PCR işlemlerinde örneğe ait kalıp DNA üst kısımdan kullanılmıştır (Boran ve ark., 2013). İzole edilen tüm bakterilerde bireysel olarak antibiyotik direnç genlerinin (*tetA*, *tetB*, *sul1*, *sul2*, *ampC*, *cmlA* ve *floR*) varlığı Tablo 2'de gösterilen primerler kullanılarak PCR ile belirlenmiştir.

PCR işlemlerinde ekstrakt edilen genomik DNA kalıp DNA olarak kullanılmıştır. PCR karışımları (buz içerisinde) 25 µl'lik hacimlerde hazırlanmış olup içerisine 100 ng kalıp DNA, 12,5 µl 2X Master Mix PCR karışımı (NEB, New England BioLabs), 100 ng her bir primer (Macrogen) ve steril saf su koyulmuştur. PCR işleminde örnek DNA'sı içermeyen reaktif negatif kontrol kullanılmıştır. PCR işleminde sonra, örnekler etidiyum bromit ile 0,5 x TAE tampon sisteminde %1'lik agaroz jel üzerinde 100 V şiddetinde 1 saat yürütülmüştür. Standart PCR için uygulanan protokol Tablo 3'te ve primerlerin tutunma sıcaklıkları Tablo 2'de gösterilmiştir. PCR ürününün boyutları 100 bp DNA Marker kullanılarak belirlenmiştir (Terzi, 2018).

Tablo 2. PCR işlemlerinde kullanılan primerler

Primer Adı	DNA Dizisi (5' - 3')	Hedef Gen	PCR Ürün Boyutu (bp)	Tutunma Sıcaklığı (°C)	Kaynaklar
tetA FW	GCTACATCCTGCTTGCCCTTC	<i>tet A</i>	210	54	Ng ve ark., 2001
tetA RV	CATAGATCGCCGTGAAGAGG				
tetB FW	TTGGTTAGGGGCAAGTTTTG	<i>tet B</i>	659	55	Ng ve ark., 2001
tetB RV	GTAATGGGCCAATAACACCG				
AmpC FW	TTCTATCAAMACTGGCARCC	<i>ampC</i>	550	48	Schwartz ve ark., 2003
AmpC RV	CCYTTTTATGTACCCAYGA				
CmlA FW	TGTCATTTACGGCATACTCG	<i>cmlA</i>	455	52	Sáenz ve ark., 2004
CmlA RV	ATCAGGCATCCCATTCCCAT				
FloR FW	CACGTTGAGCCTCTATATGG	<i>floR</i>	888	55	Boyd ve ark., 2002
FloR RV	ATGCAGAAGTAGAACGCGAC				
Sul1 FW	CGGCGTGGGCTACCTGAACG	<i>sul1</i>	433	59	Kern ve ark., 2002
Sul1 RV	GCCGATCGCGTGAAGTTCCG				
Sul2 FW	GCGCTCAAGGCAGATGGCATT	<i>sul2</i>	293	59	Kern ve ark., 2002
Sul2 RV	GCGTTTGATACCGGCACCCGT				

Tablo 3. Antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesinde uygulanan PCR protokolü

PCR Basamakları	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Birinci denaturasyon	95	30 sn	1
Denaturasyon	95	30 sn	35
Tutunma (Annealing)	Tablo 2	45 sn	
Uzama (Extension)	68	45 sn	
Son Uzama	68	1.5 dk	1

BULGULAR

Bu çalışmada karaca (*Acipenser gueldenstaedtii*) ve sibiryaya (*Acipenser baerii*) mersin balıklarından izole edilen toplam 37 bakteri izolatu kullanılmıştır. İzole edilen bakteriler arasında en fazla *Aeromonas* (%37,7) cinsine ait suşlar yer alırken bunu *Pseudomonas* (%29,7) cinsine ait bakteriler takip etmiştir. Bu çalışmada kullanılan bakterilerin isimleri, sayıları ve dağılımları Tablo 1'de gösterilmiştir. Kullanılan bakterilerin antibiyotiklere karşı göstermiş oldukları direnç ve hassasiyetler yapılan antibiyogram testine göre belirlenmiş ve Tablo 4'te gösterilmiştir. Bakterilerin en fazla dirençli oldukları antibiyotikler %97,3'lük oranla sulfametoksazol ve ampisilin olarak tespit edilmiştir. Bunun yanında bakterilerin test edilen antibiyotikler arasında gentamisin, oksolinik asit, trimetoprim+sulfametoksazol ve florfenikole karşı hassasiyetleri sırasıyla %86.5, %59.5, %45.9 ve %40.5 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. Mersin balıklarından izole edilen bakterilerde antibiyotiklerin zon çapı standartları ve suşların antimikrobiyal hassasiyet sayıları

Test Edilen Antibiyotik Diskleri ve Konsantrasyonları (µg)	Zon Çapı (mm)*			Bakterilerin Antimikrobiyal Hassasiyet Sayıları (Yüzde)		
	Dirençli (R)	Orta Hassas (I)	Duyarlı (S)	Dirençli (R)	Orta Hassas (I)	Duyarlı (S)
FFC (30)	≤14	15-18	≥19	17 (%45,9)	5 (%13,5)	15 (%40,5)
ENR(5)	≤16	17-20	≥21	19 (%51,4)	4 (%10,8)	14 (%37,8)
AM(10)	≤13	14-16	≥17	36 (%97,3)	1 (%2,7)	0
S(10)	≤11	12-14	≥15	25 (%67,6)	4 (%10,8)	8 (%21,6)
T(30)	≤14	15-18	≥19	26 (%70,3)	4 (%10,8)	7 (%18,9)
SXT(25)	≤10	11-15	≥16	16 (%43,2)	4 (%10,8)	17 (%45,9)
OA(2)	≤10	11-12	≥13	12 (%32,4)	3 (%8,1)	22 (%59,5)
CN(10)	≤12	13-14	≥15	5 (%13,5)	0	32 (%86,5)
SMZ(100)	≤12	13-16	≥17	36 (%97,3)	1 (%2,7)	0

FFC: Florfenikol, ENR: Enrofloksasin, AM: Ampisilin, S: Streptomisin, T: Oksitetrasiklin, SXT: Trimetoprim+Sulfametoksazol, OA: Oksolinik Asit, CN: Gentamisin, SMZ: Sulfametoksazol, *CLSI, 2014.

Tablo 5. Karaca ve Sibirya mersin balıklarından izole edilen bakterilerde tespit edilen antibiyotik direnç genlerinin dağılımı

Bakteri Türleri	Suş Sayısı (n)	Antibiyotik Direnç Genleri						
		<i>tetA</i>	<i>tetB</i>	<i>sul1</i>	<i>sul2</i>	<i>ampC</i>	<i>cmlA</i>	<i>floR</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1	-	-	-	1	-	-	1
<i>Acinetobacter spp.</i>	3	-	1	-	-	2	1	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	3	-	1	-	1	1	-	1
<i>Aeromonas piscicola</i>	1	1	-	-	-	-	-	-
<i>Aeromonas salmonicida</i>	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aeromonas sobria</i>	3	-	1	-	-	1	-	-
<i>Aeromonas sp.</i>	6	1	1	1	2	2	1	-
<i>Bacillus mycoides</i>	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	1	-	-	-	-	1	-	-
<i>Citrobacter sp.</i>	1	-	-	-	1	-	1	-
<i>Janthinobacterium sp.</i>	1	-	-	-	-	-	1	-
<i>Microbacterium sp.</i>	1	-	1	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2	1	-	1	2	-	1	1
<i>Pseudomonas poae</i>	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas sp.</i>	8	1	2	-	-	1	4	3
<i>Serratia marcescens</i>	2	-	-	-	-	-	-	-
<i>Shewanella xiamenensis</i>	1	-	1	-	-	1	-	1
Toplam	37	4	8	2	7	9	9	7
%	100	10,81	21,62	5,41	18,92	24,32	24,32	18,92

Bu çalışma kapsamında bakterilerde *tetA*, *tetB*, *sul1*, *sul2*, *ampC*, *cmlA* ve *floR* genlerinin varlığı moleküler yöntemlerle araştırılmıştır. Türlerle ait direnç geni bulundurma durumu Tablo 5'te gösterilmiştir. Çalışma sonucunda test edilen bakterilerde %24,32'lik oranlarla *ampC* ve *cmlA* genleri en fazla tespit edilen direnç genleri olmuştur. Bu genlerden sonra bakterilerde en fazla rastlanan gen *tetB* (%21,62) genidir. Çalışılan toplam 37 izolatanın 25 tanesinin (%67,57) çalışılan genler arasında en az bir tane antibiyotik direnç genine sahip olduğu belirlenirken iki veya daha fazla direnç genine sahip olanların sayısı 14 (%37,84) tane olarak tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

Antibiyotiklerin dünya genelinde bakteriyel hastalıklarla mücadele etmek için kullanıldığı bilinmektedir. Bu maddeler tedavi etme amaçlarının yanında antibiyotik dirençli bakterilerin ve doğal olarak antibiyotik direnç genlerinin yayılmalarına da sebep olmaktadır. Bu çalışmada sibirya ve karaca mersin balıklarından izole edilen bakterilerde antimikrobiyal maddelere karşı direnç seviyeleri ve direnç geni bulundurma durumları araştırılmıştır.



Türkiye’de su ürünleri yetiştiricilik işletmelerinde yaygın olarak kullanılan antibiyotikler ampisilin, gentamisin, kanamisin, neomisin, oksolinik asit ve streptomisin olarak bildirilmiştir (Costello ve ark., 2001). Balık çiftliklerinde bu antibiyotikler yaygın olarak kullanılmalarına rağmen, bakterilerin bu antibiyotiklere karşı dirençli oldukları yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir Diğer taraftan su ürünleri yetiştiriciliğinde son yıllarda kullanımı yaygınlaşan florfenikol gibi antibiyotiklere karşı oldukça düşük bir direnç söz konusu olduğu bildirilmiştir (Capkin ve ark., 2015, Boran ve ark, 2013). Yapılan bu çalışmada ise florfenikole karşı direnç %45,9 olarak belirlenirken ve ampisilin ve sulfometoksazole karşı direnç %97,3 olarak tespit edilmiştir. Test edilen antibiyotikler arasında en etkili antibiyotiğin gentamisin ve oksolinik asit olduğu tespit edilmiştir. Türkiye’de balıklardan izole edilen bakterilerin tür, zaman ve izole edildiği balık bakımından direnç seviyeleri ve çeşitlilikleri farklılık göstermektedir. Durmaz ve ark. (2012) Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi’ndeki alabalık işletmelerinden izole ettikleri *F. psychrophilum* suşlarının neomisin, ampisilin ve kanamisin gibi antibiyotiklere dirençli olduğunu bildirirken en etkili antibiyotiklerin oksitetrasiklin ve enrofloksasin olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca sazan balıklarından izole edilen *A. hydrophila* suşlarında bakterilerin ampisilin antibiyotiğine karşı dirençli oldukları bildirilmiştir (Ozturk ve ark., 2007). Kayış (2009) ise Doğu Karadeniz Bölgesi’nde yapmış olduğu çalışmada *A. hydrophila* suşlarının oksolinik asit ve streptomisin dışında kalan antibiyotiklere belli oranlarda direnç söz konusu olduğunu bildirmiştir. Terzi (2013) yapmış olduğu çalışmada gökkuşuğu alabalıklarından izole ettiği *A. hydrophila* suşlarında aztreonam, ampisilin ve sulfametoksazole karşı direnç varlığını bildirmiştir. Bu çalışmada ise diğer çalışmalar arasında direnç seviyelerindeki farklılığın bakterilerin izole edildiği yerlerin ve zamanın farklılığı dolayısı olduğu düşünülmektedir. Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç profillerinin klasik yöntemlerle belirlendiği bu çalışmada, PCR işlemleriyle bakterilerin antibiyotik direnç genleri de belirlenmiştir. Literatürdeki son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde bakterilerin antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesine yönelik çalışmaların yoğunluk kazandığı görülmektedir (Balta ve ark., 2010; Boran ve ark., 2013; Capkin ve ark., 2015). Balık çiftliklerinden izole edilen bakterilerde antibiyotik direnç genlerinin varlığı Gram (-) bakterilerde dünya genelinde bir araştırmaya ihtiyaç duyulan konulardan olduğu bildirilmiştir (Furushita ve ark., 2003; Kim ve ark., 2004; Balta ve ark., 2010). Su ürünleri yetiştiriciliği yapılan çiftliklerdeki balıklardan izole edilen bakterilerde *tet* genleri ile yapılan çalışmalarda *Aeromonas* spp. türlerinde *tetA-E* genlerinin varlığı rapor edilmiştir (Agersø ve ark., 2007). Ayrıca, Karadeniz bölgesinde yetiştirilen balıklardan izole edilen bakterilerde *tetA* ve *tetB* direnç genleri taşıdığı bildirilmiştir (Balta ve ark., 2010). Bu çalışma kapsamında çalışılan bakterilerde taranan genlerden *tetA* ve *tetB* genleri sırasıyla %10,8 ve 21,6 olarak tespit edilmiştir. Capkin ve ark. (2015) yapmış oldukları çalışmada *ampC* geninin en fazla tespit edilen gen olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da en fazla tespit edilen genler %24 oranla *ampC* ve *cmlA* genleri olmuştur. Bu genleri %19’luk oranla *sul3* ve *floR* genleri takip etmiştir. Bu sonuçlar literatürdeki verilerle uyum halinde olup balık çiftliklerinin direnç genlerinin yayılması ve bulaşması bakımından risk faktörü olarak karşımıza çıkabileceği kanısına varılmıştır. Gerçekleştirilen bu çalışmada, bakteriler tarafından antibiyotiklere karşı oluşan direnç seviyelerinin test edilen antibiyotiklerden oksitetrasiklin, streptomisin, enrofloksasin ve ampisilin gibi antibiyotiklerde %50’den yüksek olması, mersin balığı yetiştiriciliğinde bakteriyel hastalıkların tedavisinde gelecekte sorunlar yaşanacağını göstermektedir. Bu nedenle bakteriyel balık hastalıklarının önlenmesinin gerekliliği, hijyenin sağlanması, balık veya yumurta nakillerinde hastalıktan ari olması ve tedavi edici yeni antimikrobiyal maddelerin geliştirilmesine ağırlık verilmelidir.

Teşekkür

Yazar bakterileri izole eden Prof. Dr. Şevki KAYIŞ ve ekibine, aynı zamanda bakteri identifikasyonundaki yardımlarından dolayı Arş. Gör. Akif ER’e teşekkür eder.



KAYNAKLAR

- Agersø, Y., Bruun, M.S., Dalsgaard, I., Larsen, J.L., 2007. The tetracycline resistance gene *tet(E)* is frequently occurring and present on large horizontally transferable plasmids in *Aeromonas* spp. from fish farms, *Aquaculture*, 266: 47-52. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.01.012>
- Balta, F., Sandalli, C., Kayis, S., Ozgumus, O.B., 2010. Molecular analysis of antimicrobial resistance in *Yersinia ruckeri* strains isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) grown in commercial fish farms in Turkey, *Bulletin-European Association of Fish Pathologists*, 30: 211-219.
- Boran, H., Terzi, E., Altinok, I., Capkin, E., Bascinar, N., 2013. Bacterial diseases of cultured mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) in sea cages. *Aquaculture*, 396: 8-13. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.02.025>
- Boyd, D., Cloeckert, A., Chaslus-Dancla, E., Milvey, M.R., 2002. Characterization of variant *Salmonella* genomic island 1 multidrug resistance regions from serovars typhimurium DT104 and agona. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46: 1714-1722. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.6.1714-1722.2002>
- Capkin, E., Terzi, E., Altinok, I., 2015. Occurrence of antibiotic resistance genes in culturable bacteria isolated from Turkish trout farms and their local aquatic environment. *Diseases of Aquatic Organisms*, 114(2): 127-137. <https://doi.org/10.3354/dao02852>
- CLSI, 2014. Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 34(1), 226 pp. Wayne, PA, USA.
- Corum, O., Durna Corum, D., Er, A., Terzi, E., Uney, K., 2018. Plasma and tissue disposition of danofloxacin in brown trout (*Salmo trutta fario*) after intravenous and intramuscular administrations. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 1-8. <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1530458>
- Costello, M.J., Grant, A., Davies, I.M., Cecchini, S., Papoutsoglou, S., Quigley, D., Saroglia, M., 2001. The control of chemicals used in aquaculture in Europe, *Journal of Applied Ichthyology*, 17(4): 173-180. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2001.00314.x>
- Durmaz, Y., Onuk, E.E., Çiftçi, A., 2012. Investigation of the presence and antibiotic susceptibilities of *Flavobacterium psychrophilum* in rainbow trout farms (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) in the Middle and Eastern Black Sea regions of Turkey, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 59: 141-146. https://doi.org/10.1501/Vetfak_0000002516
- Furushita, M., Shiba, T., Maeda, T., Yahata, M., Kaneoka, A., Takahashi, Y., Torii, K., Hasegawa, T., Ohta, M., 2003. Similarity of tetracycline resistance genes isolated from fish farm bacteria to those from clinical isolates, *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 5336-5342. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.9.5336-5342.2003>
- Geraylou, Z., 2018. Pre- and Probiotics and Immunostimulants in Siberian Sturgeon: Gut Microbiota and Immunomodulation. In: Williot P., Nonnotte G., Chebanov M. (eds) *The Siberian Sturgeon (Acipenser baerii, Brandt, 1869) Volume 2 - Farming*. 590 pp. Springer, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-61676-6>
- Kayış, Ş., 2009. Trabzon ve Rize İllerinde Bulunan Bazı Alabalık İşletmelerinde Görülen Bakteriyel Hastalıkların Tespiti ve Bazı Etkenlerinin Çoklu PCR ile Teşhisi, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.
- Kayış, Ş., Er, A., Kangel, P., Kurtoğlu, İ.Z., 2017. Bacterial pathogens and health problems of *Acipenser gueldenstaedtii* and *Acipenser baerii* sturgeons reared in the Eastern Black Sea region of Turkey. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 18(1): 18-24.
- Kern, M.B., Klemmensen, T., Frimodt-Møller, N., Espersen, F., 2002. Susceptibility of Danish *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia, and distribution of sul genes conferring sulphonamide resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50: 513-516. <https://doi.org/10.1093/jac/dkf164>



- Kim, S.R., Nonaka, L., Suzuki, S., 2004 Occurrence of tetracycline resistance genes *tet(M)* and *tet(S)* in bacteria from marine aquaculture sites. *FEMS Microbiology Letters*, 237: 147-156. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.06.026>
- Kusuda, R., Kawai, K., 1998. Bacterial diseases of cultured marine fish in Japan. *Fish Pathology*, 33(4): 221-227. <https://doi.org/10.3147/Jsfp.33.221>
- Ng, L. K., Martin, I., Alfa, M., Mulvey, M., 2001. Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes. *Molecular and Cellular Probes*, 15(4): 209-215. <https://doi.org/10.1006/mcpr.2001.0363>
- Ozturk, D., Adanir, R., Turutoglu, H., 2007. Isolation and antibiotic susceptibility of *Aeromonas hydrophila* in a carp (*Cyprinus carpio*) hatchery farm. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 51(3): 361-364
- Sáenz, Y., Briñas, L., Domínguez, E., Ruiz, J., Zarazaga, M., Vila, J., Torres, C., 2004. Mechanisms of resistance in multiple-antibiotic-resistant *Escherichia coli* strains of human, animal, and food origins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48: 3996-4001. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.10.3996-4001.2004>
- Schwartz, T., Kohnen, W., Jansen, B., Obst, U., 2003. Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. *FEMS Microbiology Ecology*, 43: 325-335. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2003.tb01073.x>
- Terzi, E., 2013. Alabalık İşletmelerinden İzole Edilen Bakterilerde Antibiyotik Direnç Genlerinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.
- Terzi, E., 2018. Antimicrobial resistance profiles and tetracycline resistance genes of *Escherichia coli* in Mediterranean mussel and sea snails collected from the Eastern Black Sea (Turkey). *Alinteri Journal of Agriculture Sciences*, 33(1): 43-49. <https://doi.org/10.28955/alinterizbd.355019>
- Timur, G., Akaylı, T., Korun, J., Yardımcı, R.E., 2010. A study on bacterial haemorrhagic septicemia in farmed young Russian sturgeon in Turkey (*Acipenser gueldenstaedtii*). *Turkish Journal of Aquatic Sciences*, 25(1): 19-26.
- TUIK, 2018. Türkiye İstatistik Kurumu 2017 Veri Seti, Su Ürünleri İstatistikleri, Ankara