

## GİRESUN İLİNDE TÜKETİME SUNULAN BAZI BALIKLARDAN İZOLE EDİLEN *ENTEROBACTERIACEAE* ÜYELERİNİN ANTİBİYOTİK ve AĞIR METAL DİRENÇLİLİK DÜZEYLERİ

Nisa Sipahi<sup>1</sup>, Cengiz Mutlu<sup>\*2</sup>, Tamer Akkan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Abd, Giresun

<sup>2</sup>Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Giresun

Geliş tarihi / Received: 07.03.2013

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 27.05.2013

Kabul tarihi / Accepted: 25.06.2013

### Özet

Bu çalışmada, Giresun'da ticari değere sahip bazı balıklardan izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin antibiyotik ve ağır metal dirençlilik düzeyleri araştırılmıştır. Şehir merkezindeki farklı balıkçı tezgâhlarından toplanan örneklerden toplam 134 izolat elde edilmiştir. Suşların 9 farklı antibiyotiğe (6 sınıfı temsil eden) karşı dirençlilikleri agar difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. İzolatların antibiyotik dirençlilikleri sırasıyla E (%85.07), CZ (%79.85), CTX (%78.36), CXA (%71.64), NA (%60.45), AM (%58.96), AK (%53.73), TE (%47.76) ve S (%17.91) olarak saptanmıştır. Tüm izolatların %88.05'inin ÇAD Değeri 0.2'den yüksek olarak belirlenmiştir. Ayrıca, izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin tamamı bakıra karşı dirençli iken, manganeze %61.94'u ve kurşuna %46.27'si dirençli bulunmuştur. Plazmit DNA analizinde 1 izolatın plazmit DNA içermediği belirlenmişken, plazmit DNA'sı belirlenen izolatlarda plazmit DNA bant sayısı 1 ile 4 arasında belirlenmiştir. Bu plazmitlerin molekül ağırlıkları ise 28329-876 bp arasında bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Giresun, balık, *Enterobacteriaceae*, antibiyotik, halk sağlığı

## ANTIBIOTIC and HEAVY METAL RESISTANCE LEVELS of *ENTEROBACTERIACEAE* ISOLATED from RETAIL FISHES in GİRESUN

### Abstract

This study was carried out to investigate the level of antibiotic and heavy metal resistance of *Enterobacteriaceae* isolated from some retail fishes in Giresun. A total of 134 bacteria were isolated from samples collected from different fish markets in central town. Antibiotic resistance of bacterial strains was determined by the agar diffusion test and 9 different antibiotic discs (representing 6 classes of antibiotics). Antibiotic resistance levels of isolates were determined respectively as, E (85.07%), CZ (79.85%), CTX (78.36%), CXA (71.64%), NA (60.45%), AM (58.96%), AK (53.73%), TE (47.76%) and S (17.91%). 88.05% of all isolates' MAR index values were higher than 0.2. In addition, all isolates of the *Enterobacteriaceae* were resistant to copper while manganese 61.94% and lead 46.27% were resistant. In plasmid DNA analyses, it was determined that 1 strain did not contain any plasmid DNA, while other strains included plasmid DNA bands ranging from 1 to 4. The molecular weights of these plasmids were found to be in various sizes from 28329 to 876 bp.

**Keywords:** Giresun, fish, *Enterobacteriaceae*, antibiotics, public health

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ cengiz.mutlu@giresun.edu.tr, ☎ (+90) 454 310 1461, 📠 (+90) 454 310 1477

## GİRİŞ

Yıllar boyunca kıyısız alanlarda yaşamını sürdüren insanlar için balıkçılık önemli bir geçim kaynağı olmuş ve balık, en belirgin besin kaynağı haline gelmiştir. Günümüzde yılda ortalama yetmiş beş milyon ton düzeyinde deniz ürünü avlanmakta ve bunların %70'i direkt insan gıdası olarak tüketilmektedir (1). Ülkemizde de su ürünleri üretiminin %74'ü Karadeniz Bölgesinden sağlanmakta ve bunun büyük bölümünü de ticari olarak tüketime sunulan balıklar oluşturmaktadır (2).

Halk sağlığı ele alındığında tüketilmesi ön görülen balıkların mikrobiyolojik açıdan bazı hijyen parametrelerini taşıması gerekmektedir. Balıkların kas dokularının diğer memeli hayvanlara oranla çok daha hızlı bozulması, avlanmadan tüketilinceye kadar geçen sürede mikroorganizmaların ve dış etkenlerin etkisine maruz kalmasından dolayı balık eti, tazeliğini ve kalitesini kaybedebilmektedir (3). Ayrıca balık eti, günümüzde tüketilen proteinli yiyeceklerin önemli bir grubudur ve yüksek besin değerine sahip olması sebebiyle mikrobiyel bozulmaya karşı çok duyarlı olup, birçoğu insan patojeni olan *Enterobacteriaceae* üyeleri için de uygun yayılma ortamıdır (4).

Sanayileşme, kentleşme, nüfustaki artış ve yetersiz altyapı, önemli bir çevre kirliliğine neden olmaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde evsel ve endüstriyel atıkların yeterince arıtılmadan nehir, göl ve deniz gibi alıcı ortamlara verilmesi ekolojik sistem için ciddi problemler oluşturmaktadır (5).

Özellikle son yıllarda antibiyotik tüketiminin oldukça arttığı bilinmektedir. Antibiyotiklerin enfeksiyon hastalıklarında yaygın kullanımı, bir tarafta tedavide başarı sağlarken, diğer tarafta enfeksiyona neden olan bakterilerde, kullanılan antibiyotiklere karşı yüksek düzeyde ve hızlı bir şekilde dirençliliğin gelişimine neden olmaktadır (6). Antibiyotiklere dirençli bu bakteriler sucül çevrelere veterinerlikte, hayvan gübrelerinde antimikrobiyel madde kullanımı ve arıtılmamış kanalizasyon suları yoluyla bulaşmaktadır (7,8). Yapılan pek çok çalışmada bu tür konjugatif antibiyotik dirençlilik geni taşıyan plazmitlerin doğada yaygın olarak bulunduğu ayrıca, böylesi plazmitlerin deniz ekosistemindeki bakterilerde de bulunduğu ve sucül ortamda bakteriler arası plazmit aktarımıyla bu antibiyotiklere karşı dirençlilik düzeylerinin artabileceği vurgulanmıştır (9).

Bu çalışmanın amacı, Doğu Karadeniz Bölgesinde yer alan 6934 km<sup>2</sup>'lik yüz ölçümüne sahip ve besin kaynağının önemli bir kısmı balık eti olan Giresun Merkez ilçedeki farklı balıkçı tezgâhlarından alınan ticari balıklardan izole edilen *Enterobacteriaceae* izolatlarının identifikasyonu, antibiyotik ve ağır metal dirençliliğinin saptanmasıdır.

## MATERYAL ve METOT

Giresun Merkez İlçedeki ticari olarak halkın tüketimine sunulan farklı balıkçı tezgâhlarındaki hamsi (*Engraulis encrasicolus*, L., 1758), mezgit (*Merlangius merlangus*, L., 1758) ve istavrit (*Trachurus trachurus*, L., 1758) örnekleri steril torbalara konulmuş ve tüm örnekler laboratuara soğuk zincir korunarak 4 saat içerisinde getirilmiştir (10).

Her balık örneğinden 1 gr solungaç ve 1 gr bağırsak içeriği alınarak 9 ml steril saf su içerisinde homojenize edilerek, seri sulandırma ile EMB Agar (Merck) üzerine ekim yapılmış ve 24-72 saat 35 °C'de inkübe edilmiştir. Bakteri kolonilerinden rastgele seçilerek PCA Agar'da (Merck) stok kültürleri yapılmıştır. Toplam 134 adet bakteri izolatu seçilerek bunların fenotipik özellikleri, Gram boyamaları, oksidaz ve katalaz reaksiyonları, hareketlilik, OF glikoz ve jelatini eritme testleri yapılmıştır (11,12).

Hassasiyet testleri agar disk difüzyon testi uygulanarak yapılmıştır. 9 farklı antibiyotik diski Mueller Hinton Agar (Merck) kullanılarak denenmiştir. Bu antibiyotikler; amfisilin (AM, 10 µg), tetrasiklin (TE, 30 µg), sefazolin (CZ, 30 µg), sefuroksim (CXA, 30 µg), amikasin (AK, 30 µg), eritromisin (E, 15 µg), sefotaksim (CTX, 30 µg), streptomisin (S, 10 µg), nalidiksik asit (NA, 30 µg) olmuştur. Antibiyotik disklerinin etkisini doğrulamak için referans bakteri olarak NCCLS'nin önerdiği *E.coli* ATCC 25922 kullanılmıştır (13).

Çoklu Antibiyotik Dirençlilik (ÇAD) indeks değerleri (a/b; a, izolatu dirençli olduğu antibiyotik sayısını temsil etmekte b ise izolata karşı denenmiş antibiyotik sayısını temsil etmektedir) her izolatu için hesaplanmıştır (14).

Her bakteri izolatu için 12.5 µg/ml den 3200 µg/ml'ye kadar değişen konsantrasyonlarda Mn<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, ve Pb<sup>2+</sup> ağır metallerini ihtiva eden Tryptic Soy Agar kullanılarak minimal inhibisyon

konsantrasyonları (MİK) belirlenmiştir. Kullanılan üç farklı ağır metal tuzu şu formüllere sahiptir;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  ve  $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Merck). İzolatların MİK değerleri referans olarak kullanılan *Escherichia coli* K-12'nin MİK değeri baz alınarak hesaplanmıştır (15). MİK değeri ve üzeri konsantrasyonlarda üreme gösteren izolatlar ağır metallerle karşı dirençli olarak saptanmıştır.

Dirençlilik düzeyi yüksek izolatlarda plazmit varlığının belirlenmesi amacıyla, plazmit DNA izole edilecek mikroorganizmaların LB besiyerinde (Merck) bir gecelik taze kültürü hazırlanmıştır. Bu taze kültürden 5 ml'lik amfisilin içeren başka bir LB besiyerine (Merck) inoküle edilmiştir. 13000 rpm'de 3 dakika santrifüj işlemi takiben üst sıvısı dökülüp plazmit DNA izolasyonu için Birnboim ve Doly (16)'de belirtilen prosedürler gerçekleştirilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmada üç farklı balık türünün solungaç ve bağırsaklarından toplam 134 *Enterobacteriaceae* üyesi izole edilerek, ağır metal ve antibiyotik dirençlilik düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca, dirençlilik düzeyi yüksek olan izolatlarda plazmit varlığı da araştırılmıştır. İzolat sayıları ve izole edildiği kaynak Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. *Enterobacteriaceae*'nin İzolat Sayısı  
Table 1. Isolates number of *Enterobacteriaceae*

Balık türü Fish Species	Solungaç Gill	İnce bağırsak Intestina
<i>Engraulis encrasicolus</i>	28	9
<i>Trachurus trachurus</i>	36	18
<i>Merlangius merlangus</i>	28	15

Çizelge 3. İzolatların Kökenlerine Göre Antibiyotik Dirençlilik Yüzdeleri  
Table 3. Antibiotic Resistance Percentages from Origins of Isolates

Antibiyotik Antibiotic	İzolatların Direnç Oranı Rate of Resistant Isolates (%)					
	Hamsi, <i>European anchovy</i> ( <i>E. encrasicolus</i> )		İstavrit, <i>Atlantic horse mackerel</i> ( <i>T. trachurus</i> )		Mezgit, <i>Whiting</i> ( <i>M. merlangus</i> )	
	Solungaç Gill (28)	Bağırsak Intestina (9)	Solungaç Gill (36)	Bağırsak Intestina (18)	Solungaç Gill (28)	Bağırsak Intestina (15)
AK	75 (21)	66.67 (6)	38.89 (14)	33.33 (6)	57.14 (16)	60 (9)
AM	67.86 (19)	55.56 (5)	55.56 (20)	55.56 (10)	50 (14)	73.33 (11)
CTX	92.86 (26)	77.78 (7)	80.56 (29)	66.67 (12)	71.43 (20)	73.33 (11)
E	96.43 (27)	88.89 (8)	77.78 (28)	88.89 (16)	78.57 (22)	86.67 (13)
CZ	85.71 (24)	77.78 (7)	72.22 (26)	83.33 (15)	78.57 (22)	86.67 (1)
CXA	78.57 (22)	55.56 (5)	69.44 (25)	66.67 (12)	75 (21)	73.33 (13)
TE	53.57 (15)	44.44 (4)	66.67 (24)	38.89 (7)	35.71 (10)	26.67 (4)
NA	78.57 (22)	66.67 (6)	55.56 (20)	50 (29)	53.57 (15)	60 (9)
S	39.29 (11)	22.22 (2)	11.11 (4)	16.67 (3)	10.71 (3)	6.67 (1)

*Enterobacteriaceae* izolatlarından %78.36'sının CTX, %85.07'sinin E, %79.85'inin CZ, %71.64'ünün CXA yüksek oranda dirençli olduğu saptanmıştır (Çizelge 2). Tüm izolatların %88.05'inin ÇAD değeri referans değere eşit ya da yüksek olarak belirlenmiştir. 12 izolatın kullanılan 9 antibiyotik türünün hepsine dirençli olduğu görülmüşken, 11 izolat ise hassas olarak saptanmıştır.

Çizelge 2. İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Dirençlilik Yüzdeleri  
Table 2. Antibiotic Resistance Percentages of Isolated Bacteria

Antibiyotikler Antibiotics	Dirençli İzolat Sayısı Number of Resistant Strains	Dirençlilik Oranı Resistant Rate (%)
Amikacin (AK)	72	53.73
Erythromycin (E)	114	85.07
Ampicilin (AM)	79	58.96
Cefazolin (CZ)	107	79.85
Cefotaxime (CTX)	105	78.36
Cefuroxime (CXA)	96	71.64
Streptomycin (S)	24	17.91
Nalidixic Acid (NA)	81	60.45
Tetracycline (TE)	64	47.76

İzolatlar kendi içlerinde değerlendirildiğinde ise, en düşük dirençlilik streptomisine karşı belirlenmiştir. Bu oran hamside solungaç kökenlilerde %39.29 iken bağırsak kökenlilerde %22.22, istavrit ve mezgitte ise yine sırasıyla %11.11 ve %12.5 ile %10.71 ve %6.67 olarak saptanmıştır (Çizelge 3).

Ağır metal dirençliliği en düşük olan izolatlar bağırsak kökenli mezgitten izole edilmiştir. Çalışmada izole edilen tüm izolatlarda bakıra karşı %100 dirençlilik görülmüştür. Toplam izolat sayısına göre farklı konsantrasyonlardaki ağır metallerle karşı tespit edilen dirençlilik düzeyi Çizelge 4'teki gibidir. Ayrıca, tür olarak

Çizelge 4. İzolatların Ağır Metal Dirençlilik Yüzdeleri  
Table 4. Heavy Metal Resistance Percentages of Isolates

Ağır Metaller Heavy Metals		Konsantrasyon (µg/ml)					MİK'e Göre Dirençlilik Oranı Rate of Resistance to MIC (%)
		3200	1600	800	400	200	
Mn	%	38.05	61.94	100	100	100	61.94
	n	51	83	134	134	134	
Cu	%	8.21	36.57	55.22	84.33	100	100
	n	11	49	74	113	134	
Pb	%	41.04	46.27	84.33	100	100	46.27
	n	55	62	113	134	134	

m: *E. coli* K12 suşu için standart MİK değeri  
n: MIC of standard strain *E. coli* K12

n: izolat sayısı  
n: number of isolates

Çizelge 5. İzolatların Kökenlerine Göre Ağır Metal Dirençlilik Yüzdesi  
Table 5. Heavy Metal Resistance Percentages from Origins of Isolates

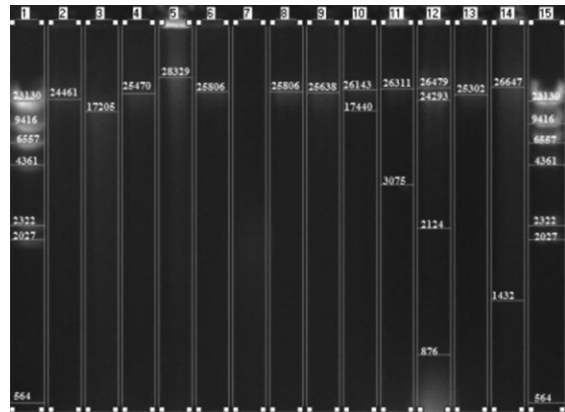
Ağır Metaller Heavy Metals		İzolatların Direnç Oranı Rate of Resistant Isolates (%)					
		Hamsi, <i>European anchovy</i> ( <i>E. encrasicolus</i> )		İstavrit, <i>Atlantic horse mackerel</i> ( <i>T. trachurus</i> )		Mezgit, <i>Whiting</i> ( <i>M. merlangus</i> )	
		Solungaç <i>Gill</i> (28)	Bağırsak <i>Intestina</i> (9)	Solungaç <i>Gill</i> (36)	Bağırsak <i>Intestina</i> (18)	Solungaç <i>Gill</i> (28)	Bağırsak <i>Intestina</i> (15)
Cu	%	100	100	100	100	100	100
	n	28	9	36	18	28	15
Mn	%	67.86	55.56	63.89	83.33	50	46.67
	n	19	5	23	15	14	7
Pb	%	25	22.22	63.89	44.44	67.86	20
	n	7	2	23	8	19	3

n: İzolat Sayısı  
n: number of isolates

istavrit kökenli izolatlarda en yüksek ağır metal dirençliliğiyle karşılaşmıştır (Çizelge 5).

İzolatlardan antibiyotik ve ağır metal dirençlilik değerleri yüksek olan suşların plazmit DNA'ları agaroz jel elektroforez ile analiz edilmiştir. İzolatların plazmit büyüklükleri marker DNA'ya (Vivantes, NM046) göre belirlenmiştir. İstavritten izole edilen bakterilerden yalnızca bir tanesinde 2 plazmit DNA bandı (26143-1744bp), diğerlerinde ise 1 bant (24461-17205-25470-28329-25638bp) belirlenmiştir. Hamsi bağırsak kökenli 1 izolatta 2 DNA bandı saptanmışken (26311-3075bp), diğer hamsi solungaç kökenli izolatlardan yalnızca 1 tanesinde band belirlenememiştir. Mezgit izolatlarından bağırsak kökenli olanlarda sırasıyla 4 ve 2 plazmit DNA bandına (26479-24293-2124-876 ve 26647-

1432bp), solungaç kökenli izolatta ise 1 DNA bandına rastlanılmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Plazmit DNA'ların Agaroz Jel Elektroforez Sonuçları  
Figure 1. Agarose Gel Electrophoresis Results of Plasmid DNA

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Giresun'da tüketime sunulan ve ticari değere sahip olan deniz balıklarından izole edilen 134 *Enterobacteriaceae* üyesinin 6 farklı antibiyotik grubunu temsil eden 9 ticari antibiyotik ile 3 farklı ağır metale karşı dirençlilikleri saptanmıştır.

İzolatların sağaltımında yaygınca kullanılan antibiyotiklere karşı olan direnç düzeyleri sırasıyla E (%85.07), CZ (%79.85), CTX (%78.36), CXA (%71.64), NA (%60.45), AM (%58.96), AK (%53.73), TE (%47.74) ve S (%17.91) olarak bulunmuştur. Tüm izolatların % 88.05'inin ÇAD Değeri 0.2'den yüksek olması Giresun ilindeki ticari balık satışı yapılan tezgâhlarda gerekli hijyen ve sanitasyonun sağlanmadığını ve yöre halkı için tehlike oluşturabileceğini göstermektedir. Ayrıca, izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin tamamının bakıra karşı dirençli olması ile manganeze % 61.94'ü ve kurşuna % 46.27'sinin direnç göstermesi Karadeniz'de tüketimdeki önemli balıklar ve halk sağlığı için büyük bir risk oluşturabilmektedir.

Matyar ve ark., İskenderun Körfezi'ndeki bazı balık türlerinden izole ettikleri Gram negatif bakteri izolatlarının AM'ye %66.7, CXA'ya %6.5 direnç gösterdiğini rapor etmiştir (17). Aynı çalışmada solungaçlardan izole edilen bakterilerin %12.9'u TE' ye karşı dirençli iken, bağırsak izolatlarında bu oran %5.3 olarak, CZ dirençliliği ise solungaç izolatlarında %47.3 iken bağırsak izolatlarında %36 olarak belirtilmiştir. Bizim çalışmamızdaki izolatların %47.76'sının TE'ye karşı ve %79.85'inin CZ' ye karşı dirençli olduğu ortaya konmuştur. Yine aynı çalışmada S'ye karşı %35.7 oranında direnç saptanmışken, bu çalışmadaki sonuç %17.91 olarak rapor edilmiştir. Marisol ve ark., nehir sularından izole edilen *Enterobacteriaceae* (110) ve *Aeromonas* (118) izolatlarının antibiyotik hassasiyet testi sonuçlarında *Aeromonas*'ların %72'den fazlasının, *Enterobacteriaceae*'ların ise %20'sinin NA'ya dirençli olduğunu ortaya koymuşlardır (18). Mudryk ve ark., ise Baltık Denizi'nin güney kıyılarında yapmış oldukları çalışmada deniz suyundan elde ettikleri 49 izolatın 19'unun test edilen tüm antibiyotiklere karşı hassas olduğunu, geriye kalan 30 izolatın da en az 1 antibiyotiğe karşı dirençli olduğunu rapor etmiştir (19). Lee ve ark., Malezya'da yapmış oldukları çalışmada tatlı su kaynağından izole

etikleri bakterilerin antibiyotik dirençlilik düzeylerini sırasıyla TE %78.4, E %53.8, NA %57 ve AM %65.4 olarak ortaya koymuşlardır. Ayrıca, izolatlar arasında çoklu antibiyotik dirençlilik (ÇAD) değeri referans değer olan 0.2'den yüksek çok sayıda izolat belirlenmiştir (20). Çalışmamızda tüm izolatlarımızın %88.05'inin ÇAD değeri referans değerden daha yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla söz konusu akuatik alandaki mikroorganizmaların yoğun antibiyotik kullanılan canlı gruplarının atıklarıyla kontamine olduğunu söyleyebilmekteyiz.

Antibiyotiklerin zamanla bakterilerde direnç mekanizmasının gelişmesine neden olduğu bilinmektedir ve antibiyotik dirençliliğini taşıyan konjugatif plazmitler insan ile hayvan sağlığını giderek artan düzeyde ilgilendirmektedir (21). Çalışmada izole edilen toplam bakterilerin, kullanılan 9 antibiyotik türünden 7'sine %50'nin, 5'ine ise %60'ın üzerinde olan bir dirençlilik değerine sahip olduğu görülmüştür. Dolayısıyla sucul ortamda uygun transformasyon ortamlarının oluşması ile bu dirençliliğin bakteriler arasında yayılabilme ihtimalini kuvvetlendirmektedir. Sucul ortamda bakterilerin geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı direnç durumlarını araştırmak için gerek tatlı su gerekse de tuzlu su ortamlarında bulunan *Tilapia mossambica* (Peters, 1852) ve *Clarias batrachus* (L., 1758) ile *Mullus barbatus* (L., 1758) ve *Liza ramad* (Risso, 1826) gibi türlerden bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, yapılan çalışmalarda bakteriler arasında atık sularda plazmit transferinin gerçekleşebileceği de gösterilmiştir (21,22).

Plazmit transferinin gerçekleşmesi ile bakteriler arasında antibiyotiklere olan dirençliliğin yaygınlaşarak oldukça mühim tedavi sorunlarına neden olması ise kaçınılmazdır. Sucul ekosistemde insanların en önemli besin kaynağını oluşturan balık florasındaki bakterilerin antibiyotik dirençlilik düzeylerinin yüksek çıkması giderek artan bilinçsiz antibiyotik tüketiminin sonucu olarak gösterilebilir.

Matyar ve ark., ağır metallere karşı toleranslılığı denenen solungaç bakterilerinin %60.2'si kadmiyuma, %50.5'i bakıra, %8.6'sı manganeze, %6.5'i kroma ve kurşuna karşı toleranslı olarak tespit etmişken, bağırsak bakterilerinin %52'si kadmiyuma, %45.3'ü bakıra, %10.7'si kroma, %3'ü kurşuna ve %5.3'ü manganeze karşı toleranslı

olarak tespit edildiğini belirtmiştir (23). Akkan, İskenderun Körfezi deniz suyundan 3 farklı bölgeden izole ettiği 356 Gram negatif bakteriden, kadmiyum ve bakıra karşı %100 direnç gösterdiğini belirtmekle birlikte manganeze, 1. bölgede %90.7, ikinci bölgede %96.9, üçüncü bölgede %100, kurşuna, birinci bölgede %67.7, ikinci bölgede %100 ve üçüncü bölgede ise %97.96 oranında direnç olduğunu rapor etmiştir (9). Bakterilerde ağır metallere karşı tolerans görülmesi izole edildiği çevrenin bu metallere kirlendiğinin göstergesidir. Özellikle endüstriyel aktiviteler, madencilik ve kültür balıkçılığı doğal ekosistemin değişmesinde en etkili faktörler arasında sayılabilir. Bu olumsuz faktörler bakteriler üzerine selektif bir baskı oluşturmaktadır. Ağır metallerin su ortamında bulunması, canlı bünyesinde birikim gösterebilen özelliğinden dolayı besin zinciri üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu ve halk sağlığını doğrudan ilgilendirdiği belirtilmektedir (24).

Farklı balıkçı tezgâhlarında satılan yüksek ticari değere sahip üç farklı balık türünden izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin antibiyotik ve ağır metal dirençlilik profillerinin yüksek seviyede çıkması, balık türlerinin uygun ortam koşullarında muhafaza edilmediğinin göstergesi olarak açıklanabilmektedir. Ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerin farklı nitelikteki evsel ve endüstriyel atıkları doğrudan veya dolaylı yollar ile bir şekilde sucül kütlelerde sonlanmaktadır. Dolayısıyla niteliği değişken olan kirlenmelerin sucül ekosistemlere geçişi ve birikimi söz konusudur. Sonuç olarak; Giresun il merkezinde tüketime sunulan ve çalışmamız kapsamında toplanan balık örneklerinin halk sağlığı açısından riskli olduğu ve ticari satışı yapılan tezgâhların düzenli olarak yetkili merciler tarafından kontrol edilmesi gerektiği kanısı ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca, deniz ortamına evsel ve endüstriyel kökenli atık deşarjının devam etmesi durumunda sucül ortamdaki canlıların ve hatta ticari değeri yüksek olan balık türlerinin popülasyonların da bile azalışların olabileceği öngörülmüştür.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmadaki veriler FEN-BAP-A-160512-37 kodlu projenin bir kısmını içeren yüksek lisans çalışmasından derlenmiştir. Finansal yönden destek sağlayan Giresun Üniversitesi BAP Birimine teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

1. Cenet O. 2007. Alabalık fletolarında farklı yöntemlerle *Listeria monocytogenes*'in araştırması. *Yüzüncü Yıl Üniv Vet Fak Derg*, 18(2),41-44.
2. Hoşsucu H, Kınacıgil T, Kara A, Tosunoğlu Z, Akyol O, Ünal V, Özekinci U. 2001. Türkiye balıkçılık sektörü ve 2000'li yıllarda beklenen gelişmeler. *Ege Üniv Su Ürünleri Derg*, 18 (3-4), 593-601.
3. Terzi G. 2006. Ankara İli'ndeki bazı gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliklerine ait su, yem ve balıkların mikrobiyolojik yönden incelenmesi. *İstanbul Üniv Vet. Fak Derg*, 32(1),37-46.
4. Gorga C, Ronsivalli LJ. 1988. Quality Assurance of Seafood. van Nostrand Reinhold Company, NewYork.
5. Liston J. 1990. Microbial Hazards of Seafood Consumption. *Food Techn*. 44(12),56, 58-62.
6. Altuğ G, Yardımcı HC, İçöz IO. 2005. Haliç yüzey sularında *Enterobacteriaceae* üyelerinin bazı beta-laktam antibiyotiklerine dirençlilik frekansı. *Türk Sucül Yaşam Dergisi*, 3( 4), 258-264.
7. Teuber M. 2001. Veterinary Use and Antibiotic Resistance. *Curr Opin Microbiol*, 4:493-499.
8. Messi P, Guerrieri E, Bondi M. 2005. Antibiotic resistance and antibacterial activity in heterotrophic bacteria of mineral water origin. *Science of the Total Environment*, 346,213-219.
9. Akkan T. 2009. İskenderun Körfezi'ndeki Gr (-) Bakterilerin Antibiyotik ve Ağır Metal Dirençlilik Düzeyleri ve Plazmit Profillerinin Saptanması. *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniv, Fen Bil Enst, Adana.
10. Apha. 1992. Microbial Examination. in Standars Methods for the Examination of Water and Wastewater, 18th ed. Greenberg AE, Clesceri LS, Eaton AD, Editors. pp.9.1- 9.147. American Public Health Association Washington DC.
11. Cowan ST. 1974. Cowan and Stell's Manual for the Identification of Medical Bacteria, 2nd ed. Cambridge University Pres. 238 pp.
12. Lemos ML, Toranzo AE, Barja JL. 1985. Antibiotic activity of epiphytic bacteria isolated from intertidal seaweeds. *Microb Ecol*, 11,149-163.

13. NCCLS. 1997. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved Standards M2-A6. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, 6th edn., NCCLS., Wayne, Pennsylvania.
14. Krumperman PH. 1985. Multiple antibiotic resistance indexing of Escherichia coli to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *App Environ Microbiol*, 46: 165-170.
15. Akinbowale OL, Peng H, Grant P, Barton MD. 2007. Antibiotic and heavy metal resistance in motile *Aeromonads* and *Pseudomonads* from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Australia. *Int J Antimicrob Ag*, 30,177-182.
16. Birnboim HC, Doly J. 1979. A Rapid Alkaline Extraction Procedure for Screening Recombinant Plasmid DNA. *Nucleic Acids Research*, 7,1513-1523.
17. Matyar F, Akkan T, Uçak Y, Eraslan B. 2009. *Aeromonas* and *Pseudomonas* antibiotic and heavy metal resistance species from Iskenderun Bay, Turkey (Northeast Mediterranean Sea), *Environ Monit Assess*, DOI 10.1007/S10661-009-1051-1.
18. Marisol GU, Capdepuy M, Arpin C, Raymond N, Caumette P, Quentin C. 2000. Impact of an urban effluent on antibiotic resistance of riverine *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas* spp. *Appl Environ Microbiol January*, 66(1),125-132.
19. Mudryk Z, Perlinski P, Skórczewski P. 2010. Detection of Antibiotic Resistant Bacteria Inhabiting the Sand of Non-recreational Marine Beach, *Marine Pollution Bulletin*, 60,207-214.
20. Lee SW, Najiah M, Wendy WA, Nadirah M. 2009. Multiple Antibiotic Resistance and Heavy Metal Resistance Profile of Bacteria Isolated From Giant Freshwater Prawn Hatchery. *Microbiology Fundamentals and Applications*. Macmillian Publishing Company, New York. s. 871.
21. Sandaa RA, Torsvik VL, Goksøy J. 1992. Transferable drug resistance in bacteria from fishfarm sediments. *Can J Microbiol*, 38,1061-1065.
22. Mach PA, Grimes DJ. 1982. R plasmid transfer in a wastewater treatment plant. *Appl Environ Microbiol*, 44,1395-1403.
23. 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.
24. Alanso A, Sanchez P, Martinez JL. 2001. Environmental selection of antibiotic resistance genes. *Appl Environ Microbiol*, 3(1),1-9.