

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ
DOKTORA PROGRAMI

LEVREKLERDEN (*DİCENTRARCHUS LABRAX*) İZOLE
EDİLEN *VIBRIO* TÜRLERİNİN MOLEKÜLER
TİPLENDİRİLMESİ VE ANTİBİYOTİK
DİRENÇLİLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

OĞUZHAN DOLGUN
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Şükrü KIRKAN

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-19003 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2022

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Oğuzhan DOLGUN tarafından hazırlanan “Levreklerden (*Dicentrarchus Labrax*) İzole Edilen *Vibrio* Türlerinin Moleküler Tiplendirilmesi ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 27/06/2022

Üye (T.D.) : Prof. Dr. Şükrü KIRKAN Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye : Prof. Dr. Serap SAVAŞAN Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye : Prof. Dr. Cavit KUM Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye : Prof. Dr. Serkan İKİZ İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa
Üye : Dr. Öğr. Üyesi Volkan ÖZAVCI Dokuz Eylül Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü V.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübesiyle bana her an destek olan, hoşgörüsünü hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Sn. Prof. Dr. Şükrü Kırcan'a, çalışmalarım süresince manevi desteğini her zaman hissettiğim Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. Süheyla Türkyılmaz'a, tez çalışmalarım süresince yardıma ihtiyacım olduğu her an yanımda olan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri Sn. Prof. Dr. K. Serdar Diker'e, Sn. Prof. Dr. Serap Savaşan'a, Sn. Doç. Dr. Göksel Erbaş'a, Sn. Doç. Dr. Uğur Parın'a, ayrıca Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Arş. Gör. Yiğit Seferoğlu'na ve doktora öğrencisi Evrim Dönmez'e, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili aileme, tanıştığımız ilk günden itibaren her zaman en büyük desteğim olduğu gibi doktora çalışma sürecimde de gösterdiği sabır, özveri ve destekleri için biricik eşim Dr. Arş. Gör. H. Tuğba Yüksel Dolgun'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | |
|-----------------------------------------------------------------------|------|
| KABUL VE ONAY | i |
| TEŞEKKÜR | ii |
| İÇİNDEKİLER | iii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | vi |
| RESİMLER DİZİNİ | vii |
| TABLolar DİZİNİ | viii |
| ÖZET | x |
| ABSTRACT..... | xi |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 7 |
| 2.1. Vibriosis | 7 |
| 2.2. Antibiyotikler ve Direnç Mekanizmaları..... | 11 |
| 2.2.1. Antibiyotik Direnç Genleri..... | 15 |
| 2.3. Akuakültürde Antibiyotik Kullanımı ve Antibiyotik Direnci..... | 19 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM..... | 22 |
| 3.1. Gereç..... | 22 |
| 3.1.1. İzolasyon Örnekleri..... | 22 |
| 3.1.2. Kullanılan Besiyerleri, Solüsyonlar, Ayıraçlar..... | 22 |
| 3.1.2.1. Kanlı Agar (Himedia®)..... | 22 |
| 3.1.2.2. MacConkey Agar (Himedia®)..... | 23 |
| 3.1.2.3. Thiosulfate Citrate Bile Sucrose (TCBS) Agar (Himedia®)..... | 23 |
| 3.1.2.4. Brain Heart İnfüzyon Broth (Himedia®)..... | 24 |
| 3.1.2.5. Triptik Soy Agar (Himedia®)..... | 25 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1.2.6. Mueller Hinton Medium (Himedia®)..... | 25 |
| 3.1.2.7. Gram Boyama Kiti (Himedia®)..... | 26 |
| 3.1.2.8. 50X TAE (Tris, Asetik Asit, EDTA) Elektroforez Solüsyonu (Thermo Fisher Scientific®)..... | 26 |
| 3.1.2.9. 6X DNA Loading Dye (Thermo Fisher Scientific®)..... | 26 |
| 3.1.2.10. Tris/EDTA (TE) Buffer (Thermo Fisher Scientific®)..... | 27 |
| 3.1.2.11. Gel Loading Buffer (6X) (Thermo Fisher Scientific®)..... | 27 |
| 3.1.2.12. NaCl (Himedia®)..... | 27 |
| 3.1.2.13. TE Buffer (10mM Tris+ 1mM EDTA) (Thermo Fisher Scientific®)..... | 27 |
| 3.1.2.14. Katalaz Testi(Himedia®)..... | 28 |
| 3.1.2.15. Oksidaz Testi (Oxoid®)..... | 28 |
| 3.1.2.16. Vibriostatik Ajan O/129 (Oxoid® DD14 ve DD15) Test Kiti | 28 |
| 3.1.2.17. BD Phoenix™ ID Broth..... | 28 |
| 3.1.2.18. BD Phoenix™ NMIC/ID-433..... | 29 |
| 3.1.2.19. BD Phoenix™ M50 Otomatize İdentifikasyon Sistemi..... | 29 |
| 3.1.2.20. DNA Ekstraksiyon Kiti..... | 29 |
| 3.1.2.21. ExPrime Taq Premix (2X) (GeNet Bio®)..... | 30 |
| 3.1.2.22. <i>Vibrio</i> Türlerini Belirlemede Kullanılan Primerler..... | 30 |
| 3.1.2.23. Antibiyotik Direnç Genlerini Belirlemede Kullanılan Primerler..... | 31 |
| 3.1.2.24. Pozitif Kontroller..... | 31 |
| 3.1.2.25. Agaroz Jel..... | 32 |
| 3.1.2.26. Marker..... | 32 |
| 3.1.2.27. Etidium Bromür (AppliChem®)..... | 32 |
| 3.1.2.28. Santrifüj Cihazı..... | 32 |
| 3.1.2.29. Termal Döngüleme Cihazı..... | 32 |
| 3.1.2.30. Elektroforez Cihazı..... | 33 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1.2.31. Görüntüleme Cihazı..... | 33 |
| 3.2. Yöntem..... | 33 |
| 3.2.1. Fenotipik İzolasyon ve İdentifikasyon..... | 33 |
| 3.2.2. Bakteriyeİ İzolatların BD Phoenix™ ile İdentifikasyonu..... | 34 |
| 3.2.3. Genotipik İdentifikasyon..... | 34 |
| 3.2.3.1. DNA İzolasyonu..... | 34 |
| 3.2.3.2. DNA İzolasyonu Kit Prosedürü..... | 34 |
| 3.2.3.3. PCR Analizi..... | 36 |
| 3.2.3.4. Elektroforez İşlemi..... | 36 |
| 3.2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testleri..... | 37 |
| 3.2.4.1. Kirby Bauer Disk Diffüzyon..... | 37 |
| 3.2.4.2. Multipleks PCR ile Antibiyotik Direnç Genlerinin Belirlenmesi | 38 |
| 4. BULGULAR..... | 39 |
| 4.1. Fenotipik İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları..... | 39 |
| 4.2. BD Phoenix™ M50 İdentifikasyon Bulguları..... | 39 |
| 4.3. PCR Analizi Bulguları..... | 40 |
| 4.3.1. <i>Vibrio</i> spp. 16S rRNA PCR Analizi Bulguları..... | 40 |
| 4.3.2. Multipleks PCR Analizi Bulguları..... | 40 |
| 4.4. Antibiyotik Direnç Bulguları..... | 45 |
| 4.4.1. Antibiyogram | 45 |
| 4.4.2. Antibiyotik Direnç Genleri Sonuçları | 54 |
| 5. TARTIŞMA..... | 62 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 71 |
| KAYNAKLAR | 72 |
| BİLİMSEL ETİK BEYANI | 91 |
| ÖZ GEÇMİŞ | 92 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | | |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. | Bir su ürünleri yetiştiriciliği çiftliğinin tarihi görüntüsü..... | 1 |
| Şekil 2. | <i>Vibrio</i> türlerinin identifikasyon yüzdeleri..... | 41 |
| Şekil 3. | <i>Vibrio</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik yüzdeleri..... | 48 |
| Şekil 4. | <i>V. alginolyticus</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik yüzdeleri.... | 49 |
| Şekil 5. | <i>V. harveyi</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik yüzdeleri..... | 50 |
| Şekil 6. | <i>V. parahaemolyticus</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik yüzdeleri..... | 51 |
| Şekil 7. | <i>V. vulnificus</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik yüzdeleri..... | 52 |
| Şekil 8. | <i>Vibrio</i> spp. izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik yüzdeleri..... | 53 |
| Şekil 9. | <i>V. alginolyticus</i> izolatlarında tespit edilen direnç geni yüzdeleri..... | 56 |
| Şekil 10. | <i>V. harveyi</i> izolatlarında tespit edilen direnç geni yüzdeleri..... | 58 |
| Şekil 11. | <i>V. parahaemolyticus</i> izolatlarında tespit edilen direnç geni yüzdeleri..... | 59 |
| Şekil 12. | <i>Vibrio</i> spp. izolatlarında tespit edilen direnç geni yüzdeleri..... | 60 |

RESİMLER DİZİNİ

- Resim 1.** *Vibrio* türlerinin 16S rRNA PCR analizi elektroforez görüntüsü..... 3
- Resim 2.** *Vibrio* türlerinin multipleks PCR analizi elektroforez görüntüsü..... 9

TABLÖLAR DİZİNİ

| | | |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1. | Türkiye su ürünleri yetiştiriciliği miktarları..... | 3 |
| Tablo 2. | <i>Vibrionaceae</i> familyası genel özellikleri | 9 |
| Tablo 3. | Bakteriyostatik ve bakterisid antibiyotikler | 11 |
| Tablo 4. | Bakterilerin antibiyotik direnç mekanizmaları | 13 |
| Tablo 5. | Akuakültür sistemlerinde tanımlanan antibiyotik direnç genleri..... | 16 |
| Tablo 5. | Akuakültür sistemlerinde tanımlanan antibiyotik direnç genleri (Devam).. | 17 |
| Tablo 6. | Akuakültürde kullanılan antibiyotikler | 20 |
| Tablo 7. | PCR analizinde kullanılan primer dizilimleri ve beklenen ampikon boyutları | 30 |
| Tablo 8. | Antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesi için kullanılan primer listesi.... | 31 |
| Tablo 9. | İzole edilen <i>Vibrio</i> izolatlarının identifikasyon bulguları | 43 |
| Tablo 9. | İzole edilen <i>Vibrio</i> izolatlarının identifikasyon bulguları (Devam)..... | 44 |
| Tablo 10. | <i>Vibrio</i> izolatlarının antibiyogram sonuçları..... | 46 |
| Tablo 11. | <i>V.alginolyticus</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik sonuçları.... | 49 |
| Tablo 12. | <i>V. harveyi</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik sonuçları..... | 50 |
| Tablo 13. | <i>V.parahaemolyticus</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik sonuçları..... | 51 |
| Tablo 14. | <i>V.vulnificus</i> izolatının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik sonuçları..... | 52 |
| Tablo 15. | <i>Vibrio</i> spp. izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik sonuçları..... | 53 |
| Tablo 16. | <i>Vibrio</i> izolatlarında tespit edilen antibiyotik direnç genleri..... | 54 |
| Tablo 16. | <i>Vibrio</i> izolatlarında tespit edilen antibiyotik direnç genleri (Devam)..... | 55 |
| Tablo 17. | <i>V. alginolyticus</i> izolatlarında tespit edilen direnç genleri..... | 56 |
| Tablo 18. | <i>V. harveyi</i> izolatlarında tespit edilen direnç genleri..... | 57 |

| | | |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 19. | <i>V. parahaemolyticus</i> izolatlarında tespit edilen direnç genleri..... | 59 |
| Tablo 20. | <i>Vibrio</i> spp. izolatlarında tespit edilen direnç genleri..... | 60 |

ÖZET

LEVREKLERDEN (*DİCENTRARCHUS LABRAX*) İZOLE EDİLEN *VİBRİO* TÜRLERİNİN MOLEKÜLER TİPLENDİRİLMESİ VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Dolgun O. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2022.

Amaç: Bu araştırma levreklerden izole edilen *Vibrio* türlerinin moleküler yöntemlerle identifikasyonunun yapılması ve antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi amacı ile yapıldı.

Gereç ve Yöntem: Araştırma, Mayıs-Eylül 2021 tarihleri arasında, Ege bölgesi balık çiftliklerinden alınan 100 levrek örneği ile gerçekleştirilmiştir. Örneklerden elde edilen izolatlar fenotipik ve genotipik olarak identifiye edildikten sonra antibiyotik dirençliliği disk diffüzyon yöntemi ve antibiyotik direnç genlerinin multipleks PCR ile tespitiyle yapılmıştır.

Bulgular: Araştırmada 100 levrek örneğinden konvansiyonel ve biyokimyasal yöntemle 46 (%46) *Vibrio* spp. izolatı elde edilmiştir. Elde edilen 46 izolatın 16S rRNA PCR ile *Vibrio* spp. olduğu doğrulanmıştır. Multipleks PCR ile 22 (47,8) izolatın *V. alginolyticus*, 13 (%28,2) izolatın *V. harveyi*, 3 (%6,5) izolatın *V. parahaemolyticus*, 1 (%2) izolatın *V. vulnificus*, 7 (%15) izolatın *Vibrio* spp. olduğu belirlenmiştir. Antibiyogramda en yüksek direncin ampisiline (%84,8) karşı geliştiği belirlenirken tüm izolatların enrofloksasin ve sulfametoksazol-trimetoprim (%100) duyarlı olduğu tespit edilmiştir. İzolatlarda en yüksek direnç geninin trimetoprim direnç geni (%63), en düşük direnç geninin ise florokinolon direnç geni (%6,5) bulunmuştur.

Sonuç: Bu çalışmada *Vibrio* türlerinin balık hastalıklarda primer erken olarak önemli bir rolü olduğu ve identifikasyonda moleküler yöntemlerin daha güvenilir sonuç verdiği, izolatlar arasında tekli ve çoklu antibiyotik direnci bulunduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik dirençliliği, İdentifikasyon, PCR, *Vibrio* spp.

ABSTRACT

MOLECULAR TYPING OF *VIBRIO* SPECIES ISOLATED FROM SEABASS (*DICENTRARCHUS LABRAX*) AND DETECTION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE

Dolgun O. Aydin Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Microbiology Program, Dokorate Thesis, Aydın, 2022.

Objective: This research was carried out to identify *Vibrio* species isolated from sea bass by molecular methods and to determine their antibiotic resistance.

Material and Methods: The research was performed with 100 sea bass samples taken from fish farms in the Aegean region between May-September 2021. After the isolates obtained from the samples were phenotypically and genotypically identified, antibiotic resistance was determined by disc diffusion method and antibiotic resistance genes were determined by multiplex PCR.

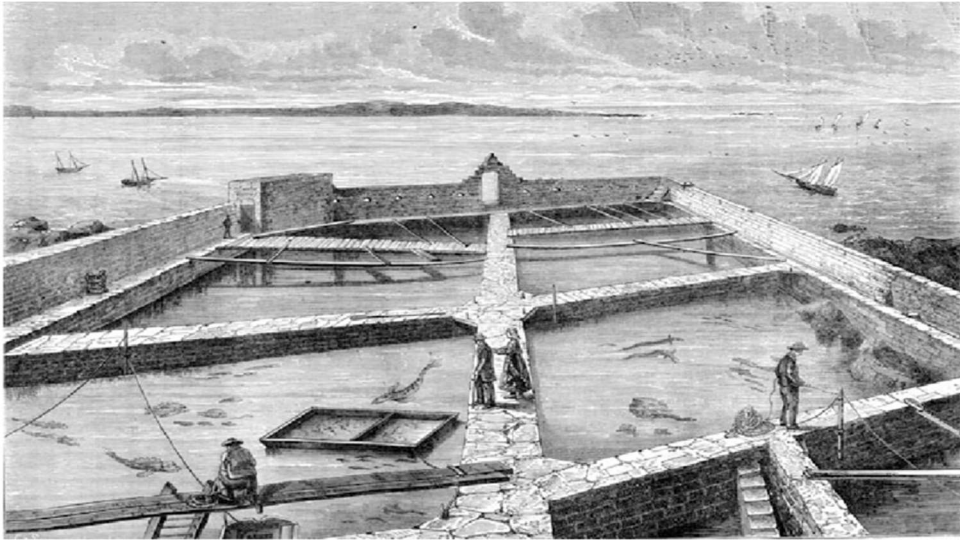
Results: In this study, 46 (46%) *Vibrio* spp. isolates were obtained from 100 sea bass samples by conventional and biochemical methods. The obtained 46 isolates were confirmed to be *Vibrio* spp. by 16S rRNA PCR. From 46 isolates, 22 (47,8%) isolates were identified as *V. alginolyticus*, 13 (28,2%) isolates as *V. harveyi*, 3 (6,5%) isolates as *V. parahaemolyticus*, 1 (2%) isolate as *V. vulnificus* and 7 (15%) isolates as *Vibrio* spp. by Multiplex PCR. The highest resistance was found to ampicillin (84,8%) in the isolates in the antibiogram. All isolates were found to be susceptible to enrofloxacin and sulfamethoxazole-trimethoprim (100%). In isolates, the highest resistance gene was found to be trimethoprim resistance gene (63%), and the lowest resistance gene was found to be fluoroquinolone resistance gene (6,5%).

Conclusion: In this study, it was determined that *Vibrio* species have an important role as a primary agent in fish diseases, molecular methods give more reliable results in identification, and there is single and multiple antibiotic resistance among isolates.

Anahtar kelimeler: Antibiotic resistance, Identification, PCR, *Vibrio* spp.

1. GİRİŞ

Tarih öncesinden itibaren su ürünleri, ulaşılabilir ve besleyici bir kaynak olarak bilinmektedir. Su ürünleri yetiştiriciliğinin milattan önce 4000’li yıllarda Çin’de tatlı ve tuzlu su kaynaklarının avcılığı ve toplanmasıyla başladığı düşünülmektedir. Bu yetiştiricilik türü günümüzdeki gibi modern üretim değil, doğadan yakalanan balıkların beslenmesi ile gerçekleştiriliyordu. Çin literatüründe ilkel bir teknoloji olarak su ürünleri yetiştiriciliğine yapılan en erken atıf M.Ö. 475’te Fan Li’nin yazılarında bulunmaktadır. Burada yetiştirme amacıyla yavru balıkları seçmek ve beslemek, sağlıklı bir popülasyonu sürdürebilmek için göletler inşa etme tekniklerini anlatmıştır. Su ürünleri yetiştiriciliği Çin’de başladıktan sonra Asya’ya ve daha sonrasında tüm dünyaya yayılmıştır. Antik büyük medeniyetler su ürünleri yetiştiriciliği gerçekleştirebilmek için çeşitli metotlar geliştirmişlerdir. Sümerler ve Babiller de dahil olmak üzere Batı Asya Asurluları balık tüketimine yatkın ve yakalama konusunda yetenekliydi. M.Ö. 2000’li yıllarda ekinlerin sulanmasını sağlamak amacı ile Dicle ve Fırat nehirleri üzerine barajlar inşa ettikleri ve oluşturulan yapay göletlerde balık yetiştiriciliğini de gerçekleştirdikleri bilinmektedir. Romalıların da benzer yöntemlerle deniz ve göl kıyılarında inşa ettikleri havuzlarda (Şekil 1) balık yetiştiriciliği yaptığı bildirilmiştir (Nash, 2011).



Şekil 1. Bir su ürünleri yetiştiriciliği çiftliğinin tarihi görüntüsü (Holm ve diğerleri, 2017).

Üretime ilk insan müdahalesi Fransız bir ekibin 1852 yılında alabalık yumurtalarını yapay olarak döllemesiyle başlamıştır. Huningue'deki bu ilk balık kuluçkahanesinde döllenen yumurtalar Avrupa nehirlerine dağıtılmıştır. Bu tarihten sonra tatlı su kuluçkahaneleri artmaya başlamış ve Buckland, İngiltere'de tahta kuluçka makinelerini geliştirmiştir. Horak, Bohemya'da balık çiftliği yönetimi ve balık yetiştiriciliği el kitabını hazırlamıştır. Danimarkalılar ise aynı yüzyılda kültür balıklarını akarsulara bırakmak yerine havuzlarda yetiştirmeye başlamışlardır (İlk kara kökenli balık yetiştiriciliği). Benzer denemeler Kuzey Amerika'da da başarılı olmuştur. Kuluçkahaneler inşa edilmiş ve yavru balıklar kıyıdan kıyıya nakledilmiştir. 1872'de Almanya'dan Kaliforniya'ya sazan yavruları götürülmüş ve yetiştiriciliği yapılmıştır. Burada döllenen balık yumurtaları tüm dünyaya sevk edilmiştir. Kültür balıkçılığının gelişmesi, aşırı avlanma nedeniyle tehlikeye giren balık stoklarının korunmasında ve artan talebin karşılanmasında önemli bir role sahip olmuştur (Nash, 2011).

Londra'da 1883 yılında düzenlenen Uluslararası Balıkçılık fuarında deniz balıkları yetiştirme teknolojisi ve deniz balıkçılığını yenileme ihtiyacı vurgulanmıştır. Katılımcılar, kendi ülkelerinde balık ve kabuklu deniz ürünleri tesisleri kurmak için çalışmalara başlamışlardır. En eski deniz laboratuvarları, bilim adamları ve sektör çalışanları tarafından Napoli ve Monako'da inşa edilmek üzere finanse edilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri Balık Komisyonunun kuruluşuyla birlikte hükümetin balık yetiştiriciliğine desteği sağlanmış ve hükümet fonları Gloucester Limanı'nda deniz balığı kuluçkahaneleri inşa etmiştir. 1884 yılında İngiltere Deniz Biyolojisi Birliği kurulmuştur. İngiliz tesisleri hükümet, bilim adamları ve balık yetiştiricileri tarafından geliştirilmiştir. Stockholm'de 1899'da ve 1901'de Norveç'te düzenlenen uluslararası konferanslarda ortak deniz çalışma alanları belirlenmiştir. Deniz balığı kuluçkahanelerinin artması ile birlikte kışa uygun açık kafesler, özel yumurta kuluçka makinaları ve mekanik tuzlu su makinaları gibi yeni talepler ortaya çıkmıştır. Avcılık yöntemi ile gerçekleştirilen balıkçılığı verimli yumurtalar ve kuluçkahanelerde yetiştirilen larvalarla yenileyebilmek için kültür balıkçılığı teşvik edilmiştir (Nash, 2011).

Günümüzde ise su ürünleri yetiştiriciliği, dünya nüfusunun hızla artmasıyla birlikte daha ucuz ve kaliteli protein ihtiyacının karşılanmasında önemli bir sektör haline gelmiştir. Teknolojinin gelişmesi ile birlikte su ürünleri yetiştiriciliği daha da önem kazanmakta ve büyümektedir (Done ve diğerleri, 2015). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) 2018 yılında dünyadaki su ürünleri yetiştiricilik miktarının 114.500.000 ton ve 263.600.000.000 Amerikan doları değerinde olduğunu bildirmiştir. 2018 yılında üretilen sucul canlıların 54.300.000 tonu balıklardan oluşmuş ve bunun 47.000.000 tonu iç su balıkları

yetiştiriciliğinden, 7.300.000 tonu deniz balıkları yetiştiriciliğinden elde edilmiştir. Su ürünleri yetiştiriciliğini 17.700.000 ton ile yumuşakçalar, 9.400.000 ton ile kabuklular, 435.400 ton ile deniz omurgasızları, 370.000 ton ile su kaplumbağaları, 131.300 ton ile kurbağalar izlemiştir. 2001-2018 yılları arasında dünya su ürünleri üretimi %5,3 oranında büyümüştür (FAO, 2020).

Dünyada olduğu gibi ölkemizde de su ürünleri yetiştiriciliği önemli bir yere sahiptir. Ölkemizin üç tarafında bulunan denizler farklı özelliklere sahip olmalarıyla birlikte balıkçılık alanının önemli kısmını oluşturmaktadırlar. 8.333 km uzunluğunda kıyı şeridine sahip olan ölkemiz denizlerimizin farklı özelliklere sahip olmasıyla su ürünleri üretimi konusunda şanslı bir konumdadır (TEPGE, 2021). Ölkemizde su ürünleri yetiştiriciliği 1960'lı yıllarda sazan ve gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği ile başlamıştır. Levrek ve çipura yetiştiriciliğinin 1980'li yıllarda başlaması ile hızlı bir artış kazanmıştır (Arslan ve Yıldız, 2021). Ölkemizde 2000'li yılların başında 79.000 ton civarında olan su ürünleri yetiştiriciliği hızlı bir artış göstermiş olup 2020 yılında 421.000 tona ulaşmıştır. Bu miktarın 293.000 tonu denizlerde, 128.000 tonu iç sularda yapılan yetiştiricilikten elde edilmiş ve yetiştiricilik üretiminin %69'u denizlerde %31'i iç sularda gerçekleşmiştir. Türkiye su ürünleri yetiştiriciliği miktarları Tablo 1'de belirtilmiştir (TÜİK, 2021).

Tablo 1. Türkiye su ürünleri yetiştiriciliği miktarları (TÜİK, 2021)

| Yıllar | Denizlerde Yetiştiricilik | İç Sularda Yetiştiricilik | Toplam |
|---------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------|
| 2011 | 88.344 | 100.446 | 188.790 |
| 2012 | 100.863 | 111.557 | 212.410 |
| 2013 | 110.375 | 123.019 | 233.394 |
| 2014 | 126.894 | 108.239 | 235.133 |
| 2015 | 138.879 | 101.455 | 240.334 |
| 2016 | 151.794 | 101.601 | 253.395 |
| 2017 | 172.492 | 104.010 | 276.502 |
| 2018 | 209.370 | 105.167 | 314.537 |
| 2019 | 256.930 | 116.426 | 373.356 |
| 2020 | 293.175 | 128.236 | 421.411 |
| 2021 | 335.644 | 136.042 | 471.686 |

Türkiye’de yetiştiricilik üretiminin neredeyse tamamı alabalık, levrek ve çipuradan oluşmaktadır. 2013 yılına kadar iç sularda gerçekleştirilen yetiştiricilik miktarı denizlerdekinden fazla olmasına rağmen son yıllarda denizlerdeki üretim miktarı iç sulardaki üretim miktarını geçmiştir. Denizlerde yapılan yetiştiriciliğin %35’ini levrek, %26’sını çipura ve %30’unu alabalık (Türk Somonu) oluştururken, iç sularda yapılan yetiştiriciliğin %99.7’lik kısmını alabalık oluşturmaktadır (TÜİK, 2021).

Levrek (*Dicentrarchus labrax*), Güney Avrupa ve Akdeniz su ürünleri yetiştiriciliğinin en önemli türlerinden biridir ve Atlantik Okyanusu’ndan Akdeniz ve Karadeniz’e kadar sığ sularda (<100 m) yaşayan bir kıyı deniz balığıdır. Levrek örihalin (0-40 ppt tuzluluk) ve öritermal (2-32°C)’dir. Özellikle gençlik döneminde ilkbahardan sonbahara kadar olan dönemde haliçlerde ve lagünlerde yiyecek ararken bulunur. Kış aylarında, genç ve yetişkin bireyler 9-10°C’nin üzerindeki sıcaklıkları tercih ettiklerinden dolayı kıyı şeridinden sıcaklığın daha sabit olduğu derin sulara göç ederler (Pickett ve Pawson, 1994). Erkekler 2-3 yaşlarında, dişiler 3-4 yaşlarında olgunlaşma yaşına gelirler (Perez-Ruzafa ve Marcos, 2014). Üreme, Akdeniz’de aralık ve mart ayları arasında, Atlantik’te mart ve haziran ayları arasında gruplar halinde gerçekleşir. Dişiler ortalama 200.000 yumurta/kg yumurtlar. Yumurtalar 3-5 gün sonra yumurtadan çıkar ve larvalar (4 mm) 2-3 ay içinde larva sonrası aşamaya (>22 mm) ulaşır ve lagünlere göç ederler. Avrupa levrekleri, larva aşamasında planktonlarla, yavru ve yetişkin dönemlerinde ise balık ve kabuklularla beslenen fırsatçı bir avcıdır (Pickett ve Pawson, 1994). Avrupa levreği günümüzde ekonomik açıdan açık bir şekilde bir su ürünleri yetiştiriciliği türüdür. Levrek yetiştiriciliği 1992 yılından bu yana avcılıktan elde edilen levrek miktarından daha fazladır ve 2016 yılında toplam üretimin %96’sını oluşturmuştur (Yetiştiricilik 165.915 ton, avcılık 6.919 ton) (FAO, 2020). Levrek yetiştiriciliği üretimin %94’ünü oluşturan Akdeniz’de ağırlıklı olarak başta ülkemiz olmak üzere, Yunanistan, Mısır ve İspanya yer almaktadır. Levrek üretimi 2 aşamadır; ilk önce 3-8. aylar arasında 1-20 g aralığında kuluçkahanede ön yetiştirme periyodu ve ardından 8 ile 20. aylar arasında 250-450 g arasındaki büyüme ve hasat ağırlığına gelme fazı olarak iki aşamadan oluşur. Kuluçkahaneler sıcaklık kontrollü sistemlerde kara kısmındadır, ancak devam eden büyümenin büyük kısmı denizlerde açık kafeslerde gerçekleştirilmektedir. Hasatlık ana kalibre ürün 250-400 g ağırlığındaki balıktır, ancak pazar taleplerine göre bütün veya fileto olarak piyasa sürülmek üzere büyük balıkların da (800 g-1 kg) yetiştiriciliği yapılmaktadır (EUMOFA, 2019).

Levreklerin kültür ile üretilmesi diğer deniz türlerinin çoğu gibi çok yenidir. Avrupa’da somondan sonra kültürü yapılan ilk deniz balığı türüdür (Bagni, 2005). İlk yetiştirme

denemeleri 1970'lerin başında, yavru levreklerin yakalanmasına dayalı olarak başlamıştır. 1980'lerin başında, özellikle Fransa ve İtalya'da yumurtlama tanklarında kontrollü üreme ve larva yetiştirme geliştirilmiş ve kültürünü mümkün kılmıştır (Bagni, 2005; Chatain ve Chavanne, 2009). Kuluçkahanelerde çoğunlukla doğadan yakalanan anaçlar kullanılmış ve yalnızca kuluçkahanelerde doğan anaçların kullanıldığı ilk seçici yetiştirme programları (genetik anlamında ilk ıslah çalışmaları) ancak 1990'larda başlamıştır (Chatain ve Chavanne, 2009). 2016 yılında, yetiştirilen levreklerin yaklaşık %50'sinin seçici yetiştirme programlarından geldiği tahmin edilmektedir (Janssen ve diğerleri, 2017). Bununla birlikte, ıslah çalışmaları son yıllarda daha da hız kazanmıştır ve 2016'da en uzun genetik çalışma geçmişine sahip levrek türlerinin doğal kökenli popülasyonlarından sekiz nesil uzakta olduğu bildirilmiştir (Chavanne ve diğerleri, 2016).

Canlı üretim sistemlerinin hepsinde olduğu gibi su ürünleri yetiştiriciliği sektöründe de enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan hastalıklar, canlıların üretimi ve gelişimi üzerinde ciddi sorunlar oluşturmaktadır (Kabata, 1985; Southgate, 1993; Toranzo ve diğerleri, 2005). Çevre ve konak arasındaki dengenin bozulmasıyla balığın direnci azalarak hastalıklara karşı daha duyarlı hale gelir. Böylece hastalığın gelişimi artar ve bununla birlikte ölümler yükselir (Snieszko, 1974; Wedemeyer ve diğerleri, 1976). Kültür balıkçılığında su kalitesi, dengesiz beslenme, işletmelerdeki sistem ve personel hataları kayıplara sebep olsa da ölümler genellikle ve yüksek oranda bakteri, parazit, virüs ve mantar gibi organizmalardan kaynaklanan hastalıklar sonucu meydana gelmektedir (Timur ve Timur, 2003; Austin ve diğerleri, 2007; Noga, 2010).

Balıklarda hastalıkların meydana gelmesindeki en önemli sebep immun sistemi baskılayan stres faktörüdür. Boylama, aşılama, ağ değişimi gibi manipülasyonlar balığın strese girmesine neden olur. Su sıcaklığı ve oksijen miktarının ani değişimleri, hava koşulları (yağmur, fırtına, şimşek), yem rejimi, stok yoğunluğu da balığın strese girmesindeki önemli etkenlerdir (Rodgers, 2009).

Ülkemizde yapılan kültür balıkçılığında bugüne kadar rapor edilen başlıca bakteriyel hastalıklar; Vibriosis (Candan, 1991), Motil Aeromonas Septisemi (Baran, 1980), Fotobakteriyozis (Çağırğan, 1993), Pseudomonas enfeksiyonu (Matyar ve diğerleri, 2010), Mikobakteriyosis (Korun ve diğerleri, 2005), Streptokokkozis (Akaylı ve diğerleri, 2008), Rickettsia enfeksiyonu (Timur ve diğerleri, 2005) ve Fleksibakteriyozisdir (Yardımcı, 2011).

Ülkemizde de dünyada olduğu gibi bakteriyel hastalıkların sağaltımında antibiyotikler (oksitetrasiklin, enrofloksasin, florfenikol ve sülfonamidler gibi) kullanılmaktadır. Bilinçsiz ve

kontROLSÜZ antibiyotik kullanımı antibiyotiklere dirençli bakterilerin meydana gelmesine ve kullanılabilir antibiyotiklerin gün geçtikçe azalmasına neden olmaktadır. Etkin izolasyonu ve identifikasyonu yapılmadan antibiyotik kullanılması, antibiyogram testlerinin yapılmaması, doğru doz ve sürede uygulanmaması, yanlış ilaç kombinasyonları uygulanması, primer etkenlerin göz ardı edilmesi gibi nedenlerden dolayı sağaltımdaki başarısızlık tedavi giderlerini arttırdığı gibi mortaliteyi de arttırıp ciddi maddi kayıplara yol açmaktadır. Bu sebeple hastalıkların kontrolünde teşhisin en kısa sürede, doğru bir şekilde yapılması ve uygun tedavinin seçilmesi önem arz etmektedir (Colquhoun ve diğerleri, 2007; Rodgers, 2009).

Bu araştırmada levreklerden izole edilen *Vibrio* türlerinin konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle identifikasyonunun yapılması ve antibiyotik dirençliliklerinin disk diffüzyon yöntemi ve antibiyotik direnç genlerinin multipleks PCR analizi ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Su ürünleri yetiştiriciliğinde bakteriyel hastalıkların birçok ülkede hem ekonomik hem de sosyal gelişmeleri etkilediği bilinmektedir (Defoirdt ve diğerleri, 2005; FAO, 2012). Bu nedenle, hastalıklara karşı çözümler sağlamak için yeni biyogüvenlik önlemleri, hedefe yönelik araştırmalar, teşhis ve tedavi için yeni yöntemler gibi çeşitli sağlık yönetimi stratejileri uygulanmaktadır (Bondad-Reantaso ve diğerleri, 2005; FAO, 2017). Karantina, su kalitesinin optimize edilmesi, yüksek kaliteli yem sağlanması, hastalıklara dayanıklı anaçların yetiştirilmesi ve bir aşılama programının oluşturulması gibi iyi hayvancılık uygulamalarının entegrasyonu, balık hastalıklarıyla mücadelede alternatif stratejiler olarak kullanılmaktadır (Serrano, 2005; Pridgeon ve Klesius, 2012).

2.1. Vibriosis

Doğal ortamında yaşayan ve kültürü yapılan hayvanlarda görülen en önemli hastalıklardan biri vibriosis'dir. Balıklar, kabuklular, yumuşakçalar, mercanlar ve rotiferlerde ciddi enfeksiyonlara neden olan vibriosis su patojenleri olarak bilinen *Vibrio* türlerinin neden olduğu bakteriyel bir hastalıktır (Chong ve diğerleri, 2011; Gomez-Gil ve diğerleri 2014). Vibriyosisten etkilenen balıklar, yüzgeçlerde kanama, egzofthalmi ve gözlerde opaklığın olduğu genel bir septiseminin tipik belirtilerini gösterirler. Enfekte balıklarda şiddetli bir anemi ve ağırlıklı olarak hipodermis merkezli ödemli lezyonlar sıklıkla gözlenir (Toranzo ve diğerleri, 2005).

Listonella anguillarum, *Vibrio ordalii*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. owensii* ve *V. campbellii* türlerinin çiftliklerde yetiştiriciliği yapılan sucul hayvanları enfekte eden en yaygın türler olduğu belirtilmiştir (Toranzo ve diğerleri, 2005; Nor-Amalina ve diğerleri, 2017). *Vibrio* türleri, Gram negatif, genellikle hareketli, basil, 0,5 X 1,4-2,6 µm boyutlarında, besi yerlerinde kenarları düzgün, yuvarlak ve krem rengi koloniler oluşturan, oksidaz pozitif, fermantatif ve birçok türü O/129 vibriostatik ajana duyarlı bakteriler olarak tanımlanmaktadır. Su sıcaklığı 25-30°C ve tuz oranı %1-3 olan sularda optimum

üremeye sahiptirler (Toranzo ve Barja, 1990; Alsina, 1994; Yaman ve diğerleri, 2003; Noga, 2010; Actis ve diğerleri, 2011).

Bugüne kadar *Vibrionaceae* ailesinde toplam 143 tür tanımlanmıştır ve bunlar altı cins ayrılmıştır: *Aliivibrio* (Urbanczyk ve diğerleri, 2007), *Enterovibrio* (Thompson ve diğerleri 2002), *Grimontia* (Thompson ve diğerleri, 2003), *Photobacterium* (Beijerinck, 1889), *Salinivibrio* (Mellado ve diğerleri, 1996) ve *Vibrio* (Pacini, 1854). *Vibrionaceae* üyeleri, çok yönlü metabolik yollara sahip, tatlı su ve denizlerde yaygın olarak bulunan su mikroorganizmalarıdır (Ina-Salwany ve diğerleri, 2019). *Vibrio* cinsinin konvansiyonel olarak tanımlaması fenotipik karakterizasyon yoluyla yapılmaktadır. Konvansiyonel yöntemde farklı türlerin henüz tanımlanmamış fenotiplerinin varlığı, benzer türlerin suşlarının farklı fenotiplere sahip olması (örneğin; koloni varyasyonu ve enzim aktiviteleri) gibi identifikasyonda zorluklara neden olabilen kısıtlamaları mevcuttur (Amaral ve diğerleri, 2014). Moleküler yöntemlerle tespit amacıyla Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) analizleri tercih edilmektedir; ancak analiz için gerekli malzeme ve teçhizatın yüksek maliyeti özellikle çok sayıda örnek analiz edilecek çalışmalarda maliyeti artırmaktadır. (Choopun ve diğerleri, 2002). Tüm genom dizi analizlerinden elde edilen verilerden fenotipik bilgilerin elde edilmesinin güvenilir bir alternatif olduğu ileri sürülmektedir (Amaral ve diğerleri, 2014). *Vibrio* türleri, nehir ağzı ve kıyı deniz ortamlarında yaygındır ve türler popülasyonlarında mevsimsel değişiklikler göstermektedir (Thompson ve diğerleri, 2004). *Vibrio* spp. organik maddelerin parçalanmasında önemli bir rol oynamaktadır (Damir ve diğerleri, 2013) ve dolayısıyla çözünmüş organik karbonu deniz besin ağına kazandırmaktadır (Grossart ve diğerleri, 2005; Al-Saari ve diğerleri, 2015).

Vibrio cinsinin bazı üyeleri de insanlarda ve deniz hayvanlarında enfeksiyonlarla ilişkilendirilen fırsatçı patojenlerdir (Austin, 2010). *Vibrio cholerae*, *V. vulnificus* ve *V. parahaemolyticus*, duyarlı konakçılarda gastroenterite, yara enfeksiyonlarına ve sepsisemiye neden olan, insanlar için en güçlü patojenik türler arasındadır. *Vibrio mimicus*, *V. fluvialis*, *V. furnissii* ve *V. alginolyticus* gibi diğer *Vibrio* türleri de insan patojenleri olarak bildirilmiştir ancak oluşturdukları hastalıklar genellikle daha hafif seyretmektedir (Baker-Austin diğerleri, 2018).

Vibrio taksonomisinin son yıllardaki değişken yapısı nedeniyle bazı hastalıklara neden olan *Vibrio* spp. artık *Aliivibrio* spp. gibi yeni değiştirilmiş isimlerle tanınmaktadır. Örneğin, Egidius ve diğerleri (1986) tarafından tanımlanan *Aeoromanas salmonicida* daha önce, soğuk su vibriyozisine (Colquhoun ve Sorum 2001) veya Atlantik Somonu *Salmo salar*'ı etkileyen

Hitra hastalığına neden olan bilinen bir etken olan *Vibrio salmonicida* olarak tanınmıştır. "Vibriosis" terimi, genel olarak *Vibrio* enfeksiyonlarından sonra ortaya çıkan septisemi için kullanılır. Önceleri karides bakteriyel septisemisi, karides vibriosisi, veya kırmızı bacak hastalığı olarak bilinmekteydi (Aguirre-Guzma ve diğerleri, 2004). Bu hastalık, sınırlı coğrafi alanlarda geçici olarak ortaya çıkan ve küresel bulaşıcı hastalık salgını olarak tanımlanan bir epizootik olarak kabul edilir (Austin ve Austin 2012). Noga (2010), tüm deniz balıklarının muhtemelen en az bir *Vibrio* türüne duyarlı olduğunu öne sürmüştür. Böylece vibriosis, deniz balıkları kültüründe ekonomik olarak önemli bir hastalık haline gelmiş, birçok balığı ve diğer kültür hayvanlarını olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir. *Vibrionaceae* familyasının üyelerinin bazı genel özellikleri Tablo 2’de verilmiştir (Ina-Salwany ve diğerleri, 2019).

Tablo 2. *Vibrionaceae* familyasının genel özellikleri (Ina-Salwany ve diğerleri, 2019)

| | |
|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Habitat | Nehirler, göller ve denizler gibi sucul ortamlarda bulunur ve genellikle sucul hayvan ve bitkilerle ilişkilidirler. |
| Gram Boyama | Gram-negatif ve 0,5 x 1,4 – 2,6 µm boyutlarında hafif kıvrık basillerdir. |
| Genel Biyokimyasal Özellikler | Genellikle hareketli (<i>V. tritonius</i> ve <i>V. vulnificus</i> hariç), oksidaz pozitifler. Nitrojen kaynağı için amonyum tuzlarını kullanırlar. Amilaz, kitinaz, jelatinaz ve DNaz dahil olmak üzere çeşitli hücre dışı enzimleri salgılar. |
| İzolasyon Besiyeri | %1-2 NaCl ilave edilmiş TSA ve TCBS agarda ürerler. |
| TCBS’de Üreme | Sükrozu fermente eden suşları sarı koloniler oluştururken diğerleri yeşil koloniler oluşturur. <i>Vibrio harveyi</i> , <i>V. alginolyticus</i> , <i>V. fluvialis</i> ve <i>V. cholerae</i> sarı koloniler oluşturur. <i>Vibrio parahaemolyticus</i> ve <i>V. vulnificus</i> yeşil koloniler oluşturur. Ancak <i>V. tritonius</i> , TCBS üzerinde büyüyemez. |
| NaCl Toleransı | En az %0.5-3 NaCl gereksinimi duyarlar ve büyüme için %10'a kadar NaCl'yi tolere edebilirler. <i>Vibrio cholerae</i> ve <i>V. mimicus</i> NaCl olmadan büyüyebilir. |
| Optimum Üreme Sıcaklığı | Optimum üreme 15-30 °C derece arasındaki sıcaklıklarda gerçekleşir. |
| Optimum Üreme pH'sı | Tüm türler aside duyarlıdır. Bu nedenle optimum pH 8.0-8.8 arasındadır. |
| Moleküler Yöntemler ile İdentifikasyon | 16S ribozomal RNA, Gen sekansı, AFLP (amplified fragment length polymorphism), MLSA (multilocus sequence analysis), FISH (fluorescence in situ hybridization), RFLP (restriction fragment length polymorphism). |

Hastalık oluşturan türe özgü aşuların bu spesifik bakteri suşlarına karşı etkili koruma sağladığı düşünülse de *Vibrio* suşlarının ve serotiplerinin antijenik çeşitliliği, aşuların çoklu *Vibrio* enfeksiyonlarına karşı koruma sağlayamamasına neden olmuş ve bu nedenle aşı geliştirmedeki ilerlemenin yavaşlamasına neden olmuştur (Li ve diğerleri, 2010; Li ve diğerleri, 2014). Aşının uzun süreli bağışıklık sağlaması ve kolay uygulanabilmesi, balıklar için güvenli olması, üretilmesi ve ruhsatlandırılmasının ucuz olması ve etkenin tüm serotip varyantlarına karşı balıkları koruyabilmesi çok önemlidir (Leong and Fryer, 1993; Leong ve diğerleri, 1997).

Vibriosis, deniz balıkları yetiştiriciliğinin verimli üretimi, gelişimi ve sürdürülebilirliğinin önündeki en büyük engellerden biridir (Harikrishnan ve diğerleri, 2010). Balıklarda hastalık, iklim değişikliğine bağlı çevresel bozulma, doğal habitatta ötrofikasyon, zayıf kültür sistemleri gibi konakçı, patojen ve dış stres faktörleri arasındaki etkileşimin bir sonucu olarak gelişir (Toranzo ve diğerleri, 2005; Noga, 2010). *Vibrio* türlerinin su ortamında konakçularına bağımlı olmadan hayatta kalabilme yetenekleri, su ürünleri yetiştiriciliğinde bakteriyel hastalıkları önemli bir sorun haline getirmektedir (Pridgeon ve Klesius, 2012).

Vibrio türlerinin yaşaması ve çoğalması için 17°C'nin üzerindeki sıcak sular elverişli ortamlar yaratmaktadır. Bu durum *Vibrio* türlerinin balıklar arasında hızla yayılmasına izin vermekte ve vibriosisi bir "yaz" hastalığı haline getirmektedir (Noga, 2010; Sankar ve diğerleri, 2012). 15°C'den daha yüksek su sıcaklıklarının ve stok yoğunluğu yüksek ortamların balıkları strese sokarak bağışıklık sisteminin baskılanmasına yol açabileceği ve bakteriyel enfeksiyonlara yatkınlığı artırabileceği bildirmiştir (Cheng ve diğerleri, 2009). Bu nedenle vibriosis, özellikle tropikal ülkelerdeki su ürünleri endüstrisi için bir tehdit oluşturmaktadır. Vibriosis, yıl boyunca 28°C derecelik tropik iklime sahip Malezya ve komşu ülkelerinde birçok çiftlikte sıklıkla kaydedilmiştir. Birçok salgında en sık *Vibrio harveyi*, ardından *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* ve *V. anguillarum* izole edilmiştir (Albert ve Ransangan, 2013).

Türkiye'de *Vibrio harveyi*; levrek ve çipura balıklarından, *V. anguillarum*; gökkuşuğu alabalıklarından, çipura balıklarından, kültür levrek balıklarından ve kırmızı mercan balıklarından izole edilmiştir. *Vibrio ordali*, levrek balıklarından ve çipura balıklarından izole edilmiştir. *Vibrio alginolyticus* ve *V. scophthalmi* ve *V. logei* ise diğer patojenik bakterilerle birlikte kültür çipura balıklarından izole edilmiştir (Candan, 1993; Timur ve Korun, 2004; Timur ve diğerleri; 2005; Demircan ve Candan, 2006; Korun, 2006; Tanrıkul, 2007; Korun ve Gököglü, 2007; Akaylı ve diğerleri 2008; Korun ve Timur, 2008; Tanrıkul ve Gültepe, 2011).

2.2. Antibiyotikler ve Direnç Mekanizmaları

Antibiyotikler, bakteriler ve mantarlar tarafından üretilen veya sentetik olarak elde edilen, düşük yoğunluklarda dahi bakterilerin gelişimini engelleyen veya öldüren, bakteriyel enfeksiyonların sağaltımında sık kullanılan maddelerdir. Antibiyotiklerin üretimi ve kullanımı penisilinin keşfi başlamıştır. Günümüzde patojen bakterilerin sağaltımında kullanılan en etkin ilaçlardır. Bakterilerin antibiyotiklere geliştirdiği direnç sorununa karşı, doğal veya sentetik olarak elde edilen antibiyotiklerin kimyasal yapılarında değişiklikler yapılarak mücadele edilmeye çalışılmaktadır (Wright, 2007). Ülkemizde ortalama bin kişi başına günlük tanımlanmış doz cinsinden antibiyotik kullanımının 16.620 düzeyinde olduğu ve 2005-2015 yılları arasında %2,67 oranında artış gösterdiği bildirilmiştir (Kılıç ve Yenilmez, 2019).

Antibiyotikler protein sentezi ve metabolik mekanizma gibi mikrobiyolojik işlemlerine ve temel kimyasal yapılarına göre farklı gruplara ayrılmaktadır (Levy ve Marshall, 2004; Tenover, 2006). Diğer bir sınıflandırmaya göre de antibiyotikler, bakteriyostatik ve bakterisid olarak ikiye ayrılmaktadır. Bakterilerin üremesini engelleyen antibiyotikler bakteriyostatik, bakterileri öldüren antibiyotikler ise bakterisid olarak tanımlanmış ve Tablo 3’de gösterilmiştir (Özdemir, 2015).

Tablo 3. Bakteriyostatik ve bakterisid antibiyotikler (Özdemir, 2015)

| Bakteriyostatik Antibiyotikler | Bakterisid Antibiyotikler |
|---------------------------------------|----------------------------------|
| Tetrasiklinler | |
| Makrolitler | Pensilinler |
| Sulfonamidler | Sefalosporinler |
| Amfenikoller | Monobaktamlar |
| Linkozamidler | Karbapenemler |
| Metronidazol | Beta-laktamaz inhibitörleri |
| Mikonazol | |

Penisilinin keşfi ile antimikrobiyal maddelerin bakterilerin üremesini ve çoğalmasını önlemesinin keşfinin ardından antibiyotikler bakteriyel enfeksiyonların sağaltımında tüm dünyada yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Dünya çapında yüksek miktarlarda antibiyotik üretimi gerçekleşmektedir. Amerika Birleşik Devletleri’nde her yıl 22.000 tondan daha fazla

antimikrobiyal madde üretildiği bildirilmiştir (Levy ve Marshall, 2004). Antibiyotiklerin bakteriyel hastalıklara karşı etkinliklerine rağmen bakterilerin, antibiyotiklere karşı direnç mekanizması geliştirmesi ve direnç genlerinin artmasıyla meydana gelen dirençli bakterilerin yayılımından dolayı antibiyotiklerin etkinlikleri gün geçtikçe azalmaktadır. (Andersson ve Levin, 1999).

Antibiyotikler duyarlı mikroorganizmalara etki ederken, bakteriyel enfeksiyonlarda yaygın bir şekilde kullanılmalarından dolayı dirençli mikroorganizmaların direncini artırmaktadır. Bakteriler antibiyotiklere karşı kalıtsal olarak dirençli olabileceği gibi gen transferi yapabilme özellikleriyle de direnç genleri kazanabilirler. Bakteriler arasında meydana gelen yoğun gen transferinden dolayı, oportünistik patojen bakterilerin direnç genleri geliştirdiği bildirilmiştir. Bakterilerin antibiyotik dirençliliklerin artması ve dirençli bakterilerin yayılması ile birlikte bilim dünyasının bu konuya ilgisi artmış, antibiyotik dirençli bakteriler ve antibiyotik direnç mekanizmaları hakkında birçok araştırma yapılmasına neden olmuştur (Pruden ve diğerleri, 2006; Wright, 2010).

Antibiyotiklerin bakterilere karşı etki mekanizmaları farklılık göstermektedir. Sulfonamid, kotrimoksazol ve trimetoprim gibi antibiyotikler DNA ve RNA'nın gelişimi için gerekli olan folik asit sentezini engellerken, penisilin, novobiosin ve vankomisin gibi antibiyotikler bakterilerde hücre duvarı sentezini durdurmaktadır. Nalidiksik asit, oflaksasin, metronidazol, rifampisin, enroflaksisin gibi antibiyotikler hücrelerin bölünmesi ve çoğalması için gerek duyulan DNA'nın işlevini durdurarak etki etmektedir. Antibiyotiklerin bakterilerde oluşturduğu direnç mekanizmaları Tablo 4'de verilmiştir (Walsh, 2000; Tenover, 2006; Jayaraman, 2009).

Tablo 4. Bakterilerin antibiyotik direnç mekanizmaları (Walsh, 2000; Tenover, 2006; Jayaraman 2009)

| Sınıf | Antimikrobiyel Madde | Etki Mekanizması | Direnç Mekanizması | Kaynaklar |
|--------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Aminoglikozitler | Gentamisin, Kanamisin, Streptomisin | Protein Sentezinin Engellenmesi | Pompalama, Enzimatik, İnaktivasyon, Hedef Şaşırtma | Sköld, 2000; Fischer ve diğerleri, 2011; Jayaraman, 2019 |
| Amfenikoller | Kloramfenikol | Protein Sentezinin Engellenmesi | Pompalama | Hancock, 1998; Tenover, 2006 |
| Makrolitler | Klaritromisin, Eritromisin | Protein Sentezinin Engellenmesi | Pompalama, Hedef Şaşırtma | Walsh, 2000; Tenover, 2006 |
| Tetrasiklinler | Tetrasiklin, Doksisiklin, Oksitetrasiklin | Protein Sentezinin Engellenmesi | Pompalama | Walsh, 2000; Jayaraman, 2009 |
| Beta-Laktamlar | Pensilin, Sztreonam, Sefotaksim | Hücre Duvarı Sentezinin Engellenmesi | Enzimatik İnaktivasyon, Hedef Şaşırtma | Walsh, 2000; Jayaraman, 2009 |
| Glikopeptidler | Vankomisin, Bleomisin | Hücre Duvarı Sentezinin Engellenmesi | Hücre Duvarı Modifikasyonu, Pompalama | Walsh, 2000; Jayaraman, 2009 |
| Kinolonlar | Nalidiksik Asit, Ciprofloksasin | Nükleik Asit Sentezinin Engellenmesi | Pompalama, Hedef Şaşırtma | Walsh, 2000; Jayaraman, 2009 |
| Sulfonamidler Alternatif | Sulfametaksazol | Folik Asit Sentezi Yolunun Engellenmesi | Enzimler, Hedef Şaşırtma | Sköld, 2000; Tenover, 2006 |
| Lipopeptitler | Daptomisin | Hücre Zarı Kutuplaşmasını Engelleme | Hücre Zarı Modifikasyonu, Mutasyonlar | Tenover, 2006; Fischer ve diğerleri, 2011 |
| Aminoasit Türevleri | Polimiksin B | Hücre Zarı Geçirgenliğini Bozma | Hücre Zarı Modifikasyonu | Moore ve Hancock, 1986; Tenover, 2006; Fu ve diğerleri, 2011 |

İnsan nüfusunun sucul çevre ile olan yoğun ilişkisinden dolayı bu ortamlarda bulunan antibiyotik dirençli bakterilerin artması ve antibiyotik dirençli genlerin gün geçtikte yayılması insan sağlığı açısından önemli bir sorun oluşturmaktadır (Jalal ve diğerleri, 2012). Antibiyotik direncinin tıbbi bir sorun olması dışında ekolojik bir sorun olduğu da göz ardı edilmemelidir.

Bu nedenle direnç genleri çalışmalarında dirençli bakterilerin ekolojisinin de bilinmesi önem arz etmektedir (Martinez, 2012).

Antibiyotiklerin etkinliğinin azalmasından en önemli faktörler, antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin zamanla artması ve antibiyotiklerin yüksek konsantrasyonlarında dahi dirençli bakterilerin üremeye ve gelişmeye devam etmesidir. Antibiyotik dirençli bakterilerin hızla çoğalması milyonlarca canlının sağlığı için ciddi bir sorun oluşturmakta ve küresel bir sağlık problemi haline gelmektedir (Levy ve Marshall, 2004). Ayrıca, bakterilerin geliştirdiği direncin tüm antibiyotik sınıflarında görülmesi bu problemin önemini daha da arttırmaktadır. (D'Costa ve diğerleri, 2006). Daha önceden tedavi ve kontrol edilebildiği düşünülen tifo ve tüberküloz gibi hastalıklar dirençli bakteri suşlarının meydana gelmesiyle tekrar tehlike oluşturmaya başlamıştır. (Pruden ve diğerleri, 2006).

Antibiyotik direnç etkenlerinin bölgeye özel entegrasyonu ile çoğul antibiyotik dirençli plazmidler oluşmaktadır. Bu genetik değişim farklı bir DNA ailesi olan integronlar tarafından oluşturulmaktadır. İntegronlar belirli genleri entegre etme ve taşıma özelliğine sahip olmalarından dolayı antibiyotik direnç etkenlerini kodlayan genetik yapılardır. İntegronların, plazmidler veya transpozonlar vasıtasıyla bir bakteriden başka bir bakteriye aktarılabilmesi antibiyotik direnç etkenlerinin taşınmasına ve böylece bakteriler arasında yayılmasına yol açmaktadır (Davies, 1994).

Bakteriler tek hücreli, prokaryot hücre yapısına sahip mikroorganizmalardır. Tür ve cinslerine göre farklılık göstermekle birlikte ortalama 0.5-2 µm boyutlarındadırlar. Spiral, çubuk ve yuvarlak olmak üzere üç temel hücre morfolojisine sahiptirler. Hücre duvarlarının biyokimyasal özelliklerine göre Gram pozitif ve negatif olmak üzere iki grubu ayrılırlar. (Plump ve Hanson, 2011). Bakterilerin kısa bir hayat döngüsüne sahip olmaları yeni ortamlara çabuk adapte olmalarına ve hızla çoğalmalarına sebep olmaktadır. Olumsuz koşullarda başta antibiyotiklere karşı duyarlı olan bakteriler mutasyona uğrayarak veya diğer bakterilerden direnç genleri edinerek dirençli hale gelebilmektedirler. Direnç genlerinin bakteriler arasında hızlı bir şekilde yayılmasından dolayı yeni bir antibiyotiğin geliştirilip kullanıma başlanmasıyla birlikte bu antibiyotiğe karşı direnç geliştirmiş bakterilerin tespit edilmesi uzun sürmemektedir (D'Costa ve diğerleri, 2006; Zhang ve diğerleri, 2011).

Antimikrobiyal maddelere karşı geliştirilen direnç, bakterilerde farklı şekillerde gerçekleşmektedir. Bakterilerin genetik özellikleri sebebiyle bazı antibiyotikler bakteriyi etkilemeyebilir. Bu direnç “doğal direnç” olarak adlandırılır. Bakterilerde transpozon veya

plazmid DNA'sında oluşan mutasyonlar sonucunda genetik özelliklerin değişmesiyle meydana gelen dirence ise "kazanılmış direnç" denmektedir. Dirençli bakteriler tarafından diğer bakterilere konjugasyon, transformasyon veya transdüksiyon aktarılmasıyla gerçekleşmektedir. Bir bakteri aynı antibiyotiğe karşı birden fazla direnç mekanizması geliştirebilir. Bu geliştirilen direnç "çapraz direnç" olarak isimlendirilir. Bakterilerin yapı ve etkileri farklı antibiyotiklere karşı geliştirdiği dirence ise "çoklu ilaç dirençliliği" denmektedir (Kayış, 2019). Direnç mekanizması bir bakterinin türünün tüm suşlarında görülebilir. Örnek olarak elektron transfer sistemi bulunmayan anaerob bakterilerin aminoglikozide, Gram negatif bakterilerin Vankomisine, *Pseudomonas aeruginosa* türünün ise penisiline direnci gösterilebilir. Diğer bir direnç mekanizması ise uzun süreli antibiyotik kullanımı, antibiyotik kullanım doz ve sürelerine uyulmaması nedeniyle bakterilerin direnç geliştirmesini ifade eden primer dirençtir. Bakterilerin önceden duyarlı olduğu bir antimikrobiyal maddeye seleksiyon veya spontan mutasyonlar ile kazandığı direnç mekanizması ise sekonder direnç olarak tanımlanmıştır. Bu mekanizmaya kromozal plazmidin aracı olabileceği bildirilmiştir. Bakterilerde antibiyotiklerin etkilerini kaldırmak için gerekli olan enzimlerin ortam şartlarındaki olumsuz durumlarda yok olduğu veya aktifliğini kaybettiği fakat ortam koşullarının eski haline dönmesiyle birlikte direncin tekrar oluştuğu bildirilmiştir (Bruun, 2001).

Transpozon ve dirençli plazmidleri diğer bakterilere aktarma özelliğine sahip olan enterokoklar bu özellikleriyle dirençli bakterilerin gen deposu konumundadırlar. Enterokoklar, antibiyotik direnç genlerini kodlayan ekstrasözomal elementleri kazanıp aktararak antibiyotiklere karşı geliştirilen direncin hızlı yayılımında ve persistansında önemli rol oynarlar (Jones, 1986; Griffiths ve diğerleri, 1990; Comerlato ve diğerleri, 2013).

2.2.1. Antibiyotik Direnç Genleri

Antibiyotik direnci proteinleri kodlayan genler tarafından oluşturulmaktadır ve tüm bakteri türlerinde antibiyotik direnç genleri bulunabilmektedir. Antimikrobiyal maddelere direnç patojen bakterilerde görüldüğü gibi çevresel bakteriler arasında da sıklıkla bulunmaktadır. Doğal ekosistemlerde yoğun bir şekilde bulunan bakterilerin geniş genetik farklılıklara sahip olması antibiyotik dirençli bakterilerin bu ortamlarda sık görülmesine neden olmuştur. İnsan aktivitesinin az olduğu yerlerde bile dirençli bakterilere rastlanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda bakterilerin, biyosferin hemen her köşesinde rastlanabilecek direnç

faktörlerini birbirlerine etkin bir şekilde aktarabildikleri bildirilmiş ve bu direnç faktörlerinin sistemik toplamı rezistom olarak adlandırılmıştır. İç sular ve denizler gibi sucul mikrobiyotalar bakterilerin doğal direnç kaynakları olabilmektedir (Levy ve Marshall, 2004; Wright, 2007; Martinez, 2008; Bhullar ve diğerleri, 2012).

Yoğun ve uygunsuz antibiyotik kullanımı çevre kirliliğine neden olduğu gibi, bakterilerin antibiyotiklere karşı sürekli direnç mekanizmaları geliştirmelerine sebebiyet vermektedir. Kısa yaşam döngüsüne ve oluşturdukları direnç genleri aktarma özelliğine sahip bu mikroorganizmaların çoğalmasının antibiyotik direncinin yayılmasındaki en önemli faktör olduğu bildirilmiştir (Kruse ve Sorum, 1994; Goh ve diğerleri, 2002; Yim ve diğerleri, 2006). Yapılan çalışmalarda bakterilerin antibiyotiklere karşı geliştirdiği direnç genleri tespit edilebilse de hangi bakterinin ne kadar direnç geni aktarabildiği konusundaki veriler sınırlıdır. (Allen ve diğerleri, 2010; Bush ve diğerleri, 2011). Kullanılan antibiyotikler, tüm ekosistemlerin etkileşim içinde olmasından dolayı akuatik ekosistemlerde yaşayan bakterilerinde yoğun şekilde direnç geni oluşturmasına fırsat tanımıştır. Yapılan çalışmalarda bakteriler tarafından farklı antibiyotik gruplarına karşı oluşturulan antibiyotik direnç genleri tespit edilmiştir. Su ürünleri yetiştiriciliği sistemlerinde tespit edilen bazı antibiyotik direnç genleri Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5. Akuakültür sistemlerinde tanımlanan antibiyotik direnç genleri (Watts ve diğerleri, 2017)

| Antibiyotik Sınıfı | Antibiyotik Direnç Genleri | Kaynaklar |
|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| β-Laktam (Ampisilin, amoksisilin) | <i>bla</i> _{TEM-52} , <i>bla</i> _{SHV-12} | Sousa ve diğerleri, 2011 |
| | <i>bla</i> _{TEM} | Shah ve diğerleri, 2012 |
| Tetrasiklin (Tetrasiklin, oksitetrasiklin, klortetrasiklin) | <i>tetM</i> , <i>tetO</i> , <i>tetT</i> , <i>tetQ</i> | Gao ve diğerleri, 2012, Xiong ve diğerleri, 2015 |
| | <i>tetM</i> , <i>tetS</i> | Kim ve diğerleri, 2004 |
| | <i>tetA</i> , <i>tetG</i> | Shah ve diğerleri, 2014 |
| | | Shah ve diğerleri, 2012 |
| | <i>tetA</i> | Rodriguez-Blanco ve diğerleri, 2012 |
| | <i>tetA</i> , <i>tetB</i> , <i>tetK</i> | Buschmann ve diğerleri, 2012 |

Tablo 5. Akuakültür sistemlerinde tanımlanan antibiyotik direnç genleri (Devam)

| Antibiyotik Sınıfı | Antibiyotik Direnç Genleri | Kaynaklar |
|------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sulfonamid, sulfametizol | <i>sul1, sul2, sul3</i> | Sousa ve diğerleri, 2011, Gao ve diğerleri, 2012, Xiong ve diğerleri, 2015 |
| | <i>sul1, sul2</i> | Shah ve diğerleri, 2012, Shah ve diğerleri, 2014 |
| Aminoglikozid (Streptomisin, spektinomisin, neomisin) | <i>aadA strA-strB</i> | Shah ve diğerleri, 2012, Shah ve diğerleri, 2014, Nguyen ve diğerleri, 2014, Piotrowska ve diğerleri, 2017 |
| | <i>aad1</i> | Sousa ve diğerleri, 2011 |
| Amfenikol (Kloramfenikol, florfenikol) | <i>cmlA</i> | Sousa ve diğerleri, 2011 |
| | <i>cat-1</i> | Shah ve diğerleri, 2012 |
| | <i>floR</i> | Buschmann ve diğerleri, 2012 |
| | <i>catB</i> | Nguyen, ve diğerleri, 2014 |
| Kinolonlar (Oksolinik asit, siprofloksasin) | <i>qepA, oqxAB, qnrS, aac (6')-Ib, qnrB, qnrD</i> | Shah ve diğerleri, 2014, Jiang ve diğerleri, 2012 |
| | <i>qnrA, qnrB, qnrS</i> | Buschmann ve diğerleri, 2012 |
| Makrolidler (Eritromisin) | <i>mefA</i> | Shah ve diğerleri, 2012 |
| | <i>ermC, ermE, ermX, ermC</i> | Piotrowska ve diğerleri, 2017 |
| Trimetoprim | <i>dfrA1, dfrA5, dftA12</i> | Shah ve diğerleri, 2012, Shah ve diğerleri, 2014 |
| | <i>dfrA12</i> | Nguyen ve diğerleri, 2014 |
| Kinoksalin 1, 4-di-N-oxides (Karbadoks, olakuindoks, mekuindoks) | <i>oqxA</i> | Buschmann ve diğerleri, 2012 |

Hızla artan nüfus nedeniyle çoğalan atıklar, çevre kirliliğinin önemli nedenleri arasındadır. Arıtma tesislerin yetersizliği ve atıkların doğaya bilinçsizle bırakılması gibi nedenlerden dolayı sucul ortamlardaki kirlilikte tehlikeli boyutlara ulaşmaktadır. Tarım alanlarında yüksek oranlarda kullanılan antibiyotikler bu ortamlarda bulunan bakterilerin direnç geliştirmesine neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda su ürünleri yetiştiriciliği faaliyetlerinin gerçekleştiği sularda kullanılan antibiyotiklerin de bakterilerde direnç kazanıma sebep olduğu bildirilmiştir. Yetiştiricilik sistemlerinde karşılaşılan hastalıkların primer etkeninin teşhis edilmemesi, kullanılan antibiyotiklerin doz ve sürelerine uygun şekilde kullanılmaması,

bakteriyel enfeksiyonlarda antibiyogram testleri yapılmadan ve doğru antibiyotik seçimi yapılmadan tedavi uygulamalarının yapılması gibi faktörler sucul ekosistemde dirençli bakterilerin artışına sebep olmaktadır (Kümmerer, 2009).

Bakterilerin direnç genlerini aralarında transfer edebilme yetenekleri su ürünleri yetiştiriciliği sektöründe dirençli bakterilerden kaynaklı bakteriyel hastalıkların kontrolünde önemli sorunlara yol açmaktadır. Diğer taraftan teknolojinin ilerlemesi ve teşhis metotlarının artmasıyla birlikte patojen bakterilerin balıklarda oluşturduğu hastalıkların tedavi seçenekleri çeşitlenmiştir. Balık yetiştiriciliği sektöründe antibiyotikler uzun yıllardan beri kullanılmakta olup son 30 yılda kloramfenikol, sülfadiazin, oksitekrasiklin, flumekuın gibi yeni antibiyotikler hastalıkların sağaltımında kullanılmaya başlanmıştır. (Austin ve diğerleri, 2007).

Bakteriler antibiyotik türlerine göre çeşitli direnç genleri oluşturmuştur. Yapılan çalışmalarda sulfonamid, aminoglikozit, tetrasiklin, beta-laktam, makrolid, linkosamid, streptogramin gibi antibiyotiklere karşı bakterilerin oluşturdukları direnç genleri tespit edilmiştir. Sulfonamidler bakteriyostatik etkiye sahiptirler ve dihidrofolik asidin sentezine engel olurlar. Sulfonamidlere karşı bakterilerin oluşturduğu direnç genleri (*sul*) dihidrofolik asit sentezini gerçekleştiren genlerde oluşan mutasyonlar sebebiyle meydana gelmektedir. Yapılan çalışmalarda sulfonamidlere karşı bakterilerin oluşturduğu direnç genlerinden *sul1*, *sul2* ve *sul3* genlerinin daha fazla tespit edildiği bildirilmiştir (Hoa ve diğerleri, 2008; Boran ve diğerleri, 2013).

Bakterilerde aminoglikozit direnci aminoglikozitlerin aktifliğinin enzimatik modifikasyonlarla bozulmasıyla oluşmaktadır. Aminoglikozit direnç mekanizması ile ilgili yapılan çalışmalarda aminoglikozitlerin birden fazla bölgede değişikliğe uğrayabileceği, bir enzimin birçok aminoglikoziti değişikliğe uğratabileceği, aynı bakteride aminoglikozitlere karşı farklı modifikasyon enzimlerinin bulunabileceği bildirilmiştir (Ramon-Garcia ve diğerleri, 2006; Filipova ve diğerleri, 2006; Kelmani ve diğerleri, 2008; Shakil ve diğerleri, 2008).

Tetrasiklinler hastalıklara karşı kullanılmaya başlanmasıyla birlikte tetrasiklin dirençli bakteriler meydana gelmiştir. Tetrasiklinler bakteriyostatik etki gösterip, bakterilerde protein sentezinin engellenmesinde rol almaktadırlar. (Dancer ve diğerleri; 1997). Yapılan çalışmada 38 farklı tetrasiklin direnç geninden bahsedilmiş ve bunlardan 9'unun yeni olduğunu bildirmiştir. Tespit edilen 9 genin 5 tanesi enerjiye bağlı efluks proteinlerinin kodlanmasında, 2 tanesi ribozomal koruma proteinlerinin kodlanmasında rol almaktadır. Diğer 2 gen ise

tekrasiklinleri inaktive eden enzimleri kodlamaktadır. Akvatik ortamlardaki bakteriyel izolatlarda 22'den fazla tetrasiklin ve oksitetrasiklin dirençli gen tespit edilmiştir. Çoğu tetrasiklin direnç geni antibiyotikleri bakteri hücresinin dışına pompalayan proteinleri kodlamaktadır (Roberts, 2005).

Hastalıkların sağaltımında beta-laktamlar sıklıkla kullanılmaktadır. Bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere karşı kullandıkları en yaygın direnç mekanizması beta-laktamaz enzimlerinin üretimiyle bu antibiyotiklerin inaktive edilmesidir. Bu enzimler antibiyotikleri enzimatik hidroliz yoluyla etkisiz hale getirmektedir. Yüzlerce beta-laktamaz enzimi tanımlanmış ve Gram negatif bakterilerde beta-laktamaz enzimlerinin bu antibiyotiklere karşı dirence yol açan en önemli mekanizma olduğu bildirilmiştir (Livermore, 1996; Walsh, 2000; Li ve diğerleri, 2007).

Bakteriyel enfeksiyonlara karşı bakterilerin protein sentezini engelleyen makrolidler, linkozamidler ve streptogramin antibiyotikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Hedef bölge modifikasyonu, aktif dışa atım pompaları (efluks mekanizması) ve enzimatik inaktivasyon olmak üzere üç ayrı mekanizma tanımlanmıştır. Bu antibiyotiklere karşı dirençte 60'dan fazla farklı genin varlığı tespit edilmiştir (Roberts ve diğerleri, 1999).

2.3. Akuakültürde Antibiyotik Kullanımı ve Antibiyotik Direnci

Nüfuzun hızla çoğalmasıyla birlikte protein kaynaklarına olan talep artmış, azalan doğal balık stoklarıyla birlikte kültür balıkçılığı faaliyetlerini daha da önemli bir konuma gelmiştir. Artan kültür balıkçılığı faaliyetleri sonucunda hastalıklara karşı antibiyotiklerin kullanımı zorunlu hale gelmiştir. Antibiyotiklerin sadece enfeksiyonlara karşı kullanılmaması, aynı zamanda büyütme faktörü ve hastalıklardan koruma gibi amaçlarla kullanılması balık hastalıklarına sebep olan bakterilerdeki direnç gelişimine neden olmuştur (Choi ve Ryu, 1987; Dafwang ve diğerleri, 1987; Alexander ve diğerleri, 2011).

Su ürünlerin yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotiklerin aşırı ve denetimsiz kullanılmaları insan sağlığını da tehdit etmektedir. Bu bakımdan antibiyotiklerin doğru doz ve sürelerde amacına uygun kullanılmaları önem arz etmektedir. Antibiyotik kullanımını düşürmek için yem kalitesi, stok yoğunluğu, aşı uygulamaları gibi faktörlere dikkat edilmeli ve hastalıklar sürekli kontrol edilmelidir (Özdemir, 2015).

Akuakültürde kullanılan antibiyotikler ağız yoluyla (yeme karıştırılarak), immersiyon terapisi ile (banyo veya daldırma) yada enjeksiyon ile uygulanmaktadır. İnsan tüketimi için yetiştiriciliği yapılan balık türlerinde kullanılacak antibiyotikler birçok ülkede sınırlandırılmıştır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan bazı antibiyotikler Tablo 6'da verilmiştir (Van Dongen ve diğerleri, 2008).

Tablo 6. Akuakültürde kullanılan antibiyotikler (Van Dongen ve diğerleri, 2008)

| Antibiyotik | Grup | Veriliş Yolu |
|--------------------|----------------|---------------------|
| Amoksisilin | Aminopenisilin | Yem |
| Ampisilin | Aminopenisilin | Yem |
| Kloramfenikol | Amfenikol | Yem/Su/Enjeksiyon |
| Florfenikol | Amfenikol | Yem |
| Eritromisin | Makrolit | Yem/Su/Enjeksiyon |
| Streptomisin | Aminoglikozit | Su |
| Neomisin | Aminoglikozit | Su |
| Furazolidon | Nitrofuran | Yem /Su |
| Nitrofurantoin | Nitrofuran | Yem |
| Oksolinik Asit | Kinolon | Yem |
| Enrofloksasin | Florokinolon | Yem /Su |
| Flumequin | Florokinolon | Yem |
| Oksitetrasiklin | Tetrasiklin | Yem/Su/Enjeksiyon |
| Klortetrasiklin | Tetrasiklin | Yem/Su/Enjeksiyon |
| Tetrasiklin | Tetrasiklin | Yem/Su/Enjeksiyon |
| Sulfonamid | Sulfonamid | Yem |

Yapılan çalışmalarda bakterilerin yetiştiricilik sektöründe kullanılan antibiyotiklere karşı direnç kazandığı gözlemlenmiş ve aşırı antibiyotik kullanımı sonrası antibiyotiklerin sedimentte biriktiği bildirilmiştir. Bu durum enfeksiyonlara neden olan patojen bakterilerin direnç gelişimine neden olduğu gibi aynı zamanda çevresel bakterilerinde bu antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesine sebebiyet vermiştir. Bakterilerin aralarında gen transferi yapabilme yetenekleri tüm sucul ekosistemlerde dirençli bakterilerin meydana gelme riskini oluşturmaktadır. Direnç genlerinin insan ve diğer hayvanların patojenlerine aktarabilme

ihtimali de özellikle insan sağlığı ve diğer yetiştiricilik sektörleri için riskli bir durum yaratmaktadır (Jalal ve diğerleri, 2012).

Ülkemizde yapılan araştırmalarda balıklarda hastalık yapan *Vibrio anguillarum*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophyla*, *Photobacterium damsela damsela* gibi türlerin oksitetrasiklin, streptomisin, eritromisin, tetrasiklin ve ampisiline karşı direnç geliştirdiği bildirilmiştir (Kırkan ve diğerleri, 2006; Akşit ve Kum, 2008; Kayış, 2009; Boran ve diğerleri, 2013).

Ege Bölgesi'nde yetiştiricilik faaliyetleri gösteren çiftliklerden alınan levrek numunelerinden izole edilen *Vibrio alginolyticus* suşlarının antibiyotik direnci araştırılmıştır. İzole edilen 15 suşun kanamisine duyarlı, ampisilin, basitrasin ve streptomisine karşı dirençli oldukları rapor edilmiştir (Korun ve diğerleri, 2013).

Balta (2016), yaptığı çalışmada levreklerden izole edilen *Vibrio anguillarum* suşlarının tümünün ampisiline, %63'ünün eritromisine, %59'unun sulfametaksazole, %54'ünün streptomisine, %45'inin sulfametaksazol-trimetoprim, %40'ının oksitetrasikline dirençli olduğunu bildirmiştir. Çalışmada vibriosis tedavisinde en etkili kemoterapötiklerin florfenikol ve enrofloksasin olduğu rapor edilmiştir.

Pavlinec ve diğerleri (2022), levreklerden izole edilen *Vibrio harveyi* suşlarıyla yaptıkları çalışmalarda antibiyotik duyarlılık testlerinin tahmin edilen direnç genleri ile uyuşmadığını bildirmişlerdir.

Yapılan bir diğer çalışmada levreklerden izole edilen *vibrio alginolyticus* ve *vibrio parahemolyticus* suşlarının siprofloksasin, kloramfenikol, enrofloksasin, nalidiksik asit ve oksolinik aside duyarlı iken ampisilin, amoksisilin ve linkomisine dirençli olduğu belirtilmiştir (Abdel-Aziz ve diğerleri, 2013).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. İzolasyon Örnekleri

Araştırma materyalini Ege Bölgesi kıyı şeridinde mevcut kurulu olan kültür balıkçılığı işletmelerinin kafes sistemlerinde yetiştirilen levrek (*Dicentrarchus labrax*) türleri oluşturmaktadır. Örneklemeler su sıcaklığının yükseldiği ve hastalıklardan dolayı balık kayıplarının artış gösterdiği Mayıs-Eylül ayları arasında 2021 yılında yapılmıştır. Bu çiftliklerin kafes sistemlerinde ölü olarak tespit edilen Vibriosis şüpheli ve lezyonlu levreklerden 100 adet örnek toplanmış ve soğuk zincir altında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Rutin Teşhis Laboratuvarına getirilmiştir.

3.1.2. Kullanılan Besiyerleri, Solusyonlar, Ayıraçlar

3.1.2.1. Kanlı Agar (Himedia®)

| | |
|-----------------|---------|
| Peptone | 10 gr/l |
| Tryptose | 10 gr/l |
| Sodium chloride | 5 gr/l |
| Agar | 15 g/l |
| Distile Su | 1000 ml |
| pH (25°C) | 7,3±0,2 |

Granül besi yerinden 40 gram alınarak öncelikle %1,5 oranında olacak şekilde NaCl ilave edilerek 1000 ml distile su ile karıştırıldı ve benmari usulü ısıtılarak homojenize edildi daha sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlandı. Besi yeri 45-50°C'ye soğutulurken %5 oranında

defibrine koyun kanı ilave edildi. Steril petrilere 12,5 ml olacak şekilde döküldü ve donmaya bırakıldı.

3.1.2.2. MacConkey Agar (Himedia®)

| | |
|-------------------|------------|
| Jelatin pepton | 17 g/l |
| HMC pepton | 3 g/l |
| Laktoz monohidrat | 10 g/l |
| Sodyum Klorür | 5 g/l |
| Safra tuzları | 1,5 g/l |
| Nötral kırmızı | 0,03 mg/l |
| Kristal violet | 0.001 mg/l |
| Agar | 13,5 g/l |
| Distile su | 1000 ml |
| pH (25°C) | 7,1±0,2 |

Besi yerinden 51,53 gram alınarak 1 l distile su ile homojenize olana kadar benmari usulü ısıtılarak karıştırıldı ve daha sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlandı. Sterilizasyondan sonra 45-50°C'ye kadar soğutulan besi yeri steril petrilere dökülerek soğumaya bırakıldı.

3.1.2.3. Thiosulfate Citrate Bile Sucrose (TCBS) Agar (Himedia®)

| | |
|-------------------|--------|
| Proteoz pepton | 10 g/l |
| Maya ekstraktı | 5 g/l |
| Sodyum tiyosülfat | 10 g/l |
| Sodyum sitrat | 10 g/l |
| Safra | 8 g/l |
| Sükroz | 20 g/l |

| | |
|-------------------|-----------|
| Sodyum klorür | 10 g/l |
| Ferrik sitrat | 1 g/l |
| Brom timol mavisi | 0,04 mg/l |
| Timol mavisi | 0,04 mg/l |
| Agar | 15 g/l |
| Distile su | 1000 ml |
| pH (25°C) | 8,6±0,2 |

Besi yerinden 89,08 gram alınarak 1000 ml distile su ile benmari usulü ısıtılarak homojenize edildi. Besi yeri 45-50 °C'a soğutulup steril petri kutularına döküldü.

3.1.2.4. Brain Heart İnfüzyon Broth (Himedia®)

| | |
|--------------------------|----------|
| HM infüzyon toz | 12,5 g/l |
| BHI tozu | 5 g/l |
| Proteoz pepton | 10 g/l |
| Dekstroz (Glukoz) | 2 g/l |
| Sodyum klorür | 5 g/l |
| Disodyum hidrojen fosfat | 2,5 g/l |
| Distile Su | 1000 ml |
| pH (25°C) | 7,4±0,2 |

Besi yerinden 37 gram alınarak 1000 ml distile su ile karıştırılarak benmari usulü ısıtılarak homojenize edildikten sonra tüplere 5 ml olarak dağıtıldı ve tüpler 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı. Elde edilen izolatların saklanması amacıyla hazırlanan BHIB içerisine otoklavlanmadan önce %20 oranında gliserin ilave edildi.

3.1.2.5. Triptik Soy Agar (Himedia®)

| | |
|----------------------------|---------|
| Tripton | 17 g/l |
| Soya pepton | 3 g/l |
| Sodyum klorür | 5 g/l |
| Dekstroz (Glukoz) | 2,5 g/l |
| Dipotasyum hidrojen fosfat | 2,5 g/l |
| Agar | 15 g/l |
| Distile su | 1000 ml |
| pH (25°C) | 7,3±0,2 |

Besi yerinden 45 gram alınarak 1000 ml distile su ile benmari usulü ısıtılarak homojenize edildi ve 121°C’de 15 dakika otoklavlandı. Sterilizasyon işleminden sonra besi yeri 45-50°C’a soğutulup steril petri kutularına döküldü.

3.1.2.6. Mueller Hinton Medium (Himedia®)

| | |
|---------------|----------|
| HM infüzyon B | 300 g/l |
| Asikaz | 17,5 g/l |
| Nişasta | 1,5 g/l |
| Agar | 17 g/l |
| Distile su | 1000 ml |
| pH (25°C) | 7,3±0,1 |

Besi yerinden 38 gram alınarak 1000 ml distile suda çözdürülerek benmari usulü ısıtılarak homojenize edildi ve 121°C’de 15 dakika otoklavlandı. Sterilizasyon işleminden sonra besi yeri 45-50°C’a soğutulup steril petri kutularına döküldü.

3.1.2.7. Gram Boyama Kiti (Himedia®)

Kristal Violet Solüsyonu (Solüsyon A) 20 ml

Kristal Violet Solüsyonu (Solüsyon B) 80 ml

Solüsyon A ve B boyama yapılmadan 24 saat önce karıştırılmış ve kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Dekolorizer 100 ml

İodine Solüsyonu 300 ml

Safranin solüsyonu 100 ml

3.1.2.8. 50X TAE (Tris, Asetik Asit, EDTA) Elektroforez Solüsyonu (Thermo Fisher Scientific®)

1X TAE Kullanma Solüsyonu

Tris Base 40 M

Asetik Asit 20 M

EDTA 1 mM

1X TAE Kullanma Solüsyonu Hazırlanışı

50X TAE 10 ml

Distile su 490 ml

Karıştırılarak solüsyon hazırlanmıştır.

3.1.2.9. 6X DNA Loading Dye (Thermo Fisher Scientific®)

Tris-HCl 10 mM, bromfenol mavisi %0,003, xilen cyanol FF % 0,03, gliserol %60, EDTA 60 mM

3.1.2.10. Tris/EDTA (TE) Buffer (Thermo Fisher Scientific®)

| | |
|------------|---------|
| Tris | 10 mM |
| EDTA | 1 mM |
| Distile Su | 1000 ml |

Karışım kullanıma hazır solüsyon halindedir.

3.1.2.11. Gel Loading Buffer (6X) (Thermo Fisher Scientific®)

| | |
|------------------|-------|
| Bromfenol Mavisi | 25 mg |
| Sükroz | 4 gr |
| Distile su | 10 ml |

Karıştırılarak solüsyon hazırlandı.

3.1.2.12. NaCl (Himedia®)

| | |
|------------|----------|
| NaCl | 58,44 gr |
| Distile su | 800 ml |

NaCl distile suda çözüldükten sonra son hacim 1000 ml' ye tamamlandı.

3.1.2.13. TE Buffer (10mM Tris+ 1mM EDTA) (Thermo Fisher Scientific®)

| | |
|--------------|-------|
| Tris (1M) | 10 ml |
| EDTA (0,5 M) | 2 ml |

Karışım hazırlanıp distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

3.1.2.14. Katalaz Testi (Himedia®)

H₂O₂ %3

Katalaz, aerobik metabolizmaların hücrelerinde bulunan bir enzimdir. Koenzim olarak demir ve protoporfirin (hemin) içerir. Bu enzim, metabolik proseslerin ortaya çıkardığı toksik hidrojen peroksidi parçalar. İncelenecek kolonin bir kısmı steril öze ile kuru bir lam üzerine alınır. Üzerine katalaz ayracından 0,1 ml kadar bir damla damlatılır. Pozitif sonuçta bakteri kütlesi üzerinde gaz (oksijen) oluşumu gözlenirken, negatif reaksiyonda gaz çıkışı gözlenmez (Bilgehan, 1995).

3.1.2.15. Oksidaz Testi (Oxoid®)

NNN'N' tetramethyl -p- phenylene-diamine dihydrochloride

Gram boyama sonrası pozitif görünen bakterilerin oksidaz aktiviteleri, oksidaz çubukları (Oxoid) ile bakıldı. Şüpheli bakterinin 18-24 saatlik saf kültürüne oksidaz çubuğunu daldırmak ve 25-30 saniye bekleyip, çubuğun eflatun mor renk alması pozitif, renk değişikliği olmaması da negatif reaksiyon olarak değerlendirilir (Bilgehan, 1995).

3.1.2.16. Vibriostatik Ajan O/129 (Oxoid® DD14 ve DD15) Test Kiti

10µg (Oxoid DD14) ve 150µg (Oxoid DD15) O/129 (2-4-diamino-6,7-diisopropylpteridine) içeren diskler kullanıldı.

3.1.2.17. BD Phoenix™ ID Broth

İdentifikasyonu yapılacak olan taze bakteri kültürünün inokulasyonunda kullanılan sıvı çözeltilidir.

3.1.2.18. BD Phoenix™ NMIC/ID-433

Gram negatif bakterilerin BD Phoenix™ M50 ile identifikasyonunda kullanılan paneldir.

3.1.2.19. BD Phoenix™ M50 Otomatize İdentifikasyon Sistemi

BD Phoenix, bakteriyel kültürlerin identifikasyonu ve antibiyogramlarını yapan otomatize identifikasyon sistemidir.

3.1.2.20. DNA Ekstraksiyon Kiti

DNA ekstraksiyonu işleminde kan, doku, Gram negatif ve Gram pozitif mikroorganizmalardan yüksek kaliteli genomik DNA'nın izolasyonu için dizayn edilmiş MagAttract® HMW DNA Kit (QIAGEN) kullanılmıştır.

| | |
|--------------------------|-----------|
| MagAttract Süspansiyon G | 2 x 1 ml |
| Buffer ATL | 11,2 ml |
| Buffer AL | 12 ml |
| Buffer MB | 15 ml |
| Buffer MW1 | 77 ml |
| Buffer PE | 20 ml |
| Buffer AE | 22 ml |
| Proteinase K | 1,25 ml |
| RNase A (100 mg/ml) | 25 mg |
| Nuclease-Free Water | 2 x 50 ml |

3.1.2.21. ExPrime Taq Premix (2X) (GeNet Bio®)

ExPrime Taq DNA Polymerase 1 U/10 µl, 2X reaksiyon buffer, 4 mM MgCl₂, her bir dATP, dCTP, dGTP, dTTP'den 0,5 mM, enzim stabilizatörü, sediment, pH 9,0.

3.1.2.22. *Vibrio* Türlerini Belirlemede Kullanılan Primerler

Araştırmada kullanılan *Vibrio* cinsi ve *Vibrio* türlerinin PCR analizi ile tespitinde kullanılan primer dizilimleri Kim ve diğerleri (2014) ve Kim ve diğerleri (2015) çalışmalarında belirtildiği şekilde üretici firmaya dizayn ettirilmiştir (Tablo 7).

Tablo 7. PCR analizinde kullanılan primer dizilimleri ve beklenen ampikon boyutları

| Hedef | Primer İsmi | Primer Dizilimi | Primer Konsant rasyon (µM) | PCR Ürün Büyüklüğü (bp) | Kaynak |
|--------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|-------------------------|------------------------|
| <i>Vibrio</i> cinsi | VG C2694352 F46 VGC2694352 R734 | 5'GTCARATTGAAAAR CARTTYGGTAAAGG 3' 5'ACY TTR ATR CGN GTT TCR TTR CC 3' | 1 | 689 | Kim ve diğerleri, 2015 |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | VP 1155272 F VP 1155272 R | 5' AGCTTATTGG CGGTTTCTGT CGG 3' 5'CKCAAGACCAAGAA AAGCCG TC 3' | 0.24 | 297 | Kim ve diğerleri, 2015 |
| <i>Vibrio cholerae</i> | VC C634002 F VC C634002 R | 5'CAAGCTCCGCATGT CCAGAA GC 3' 5'GGGGCGTGACGCGA ATGATT 3' | 0.24 | 154 | Kim ve diğerleri, 2015 |
| <i>Vibrio vulnificus</i> | VV2055918F79 VV 2055918 R | 5'CAGCCGGACGTCGT CCATTT TG 3' 5'ATGAGTAAGCGTCC GACGCG T 3' | 0.4 | 484 | Kim ve diğerleri, 2015 |
| <i>Vibrio alginolyticus</i> | VA 1198230 F VA 1198230 R | 5'ACGGCATTGAAAAT TGCGACTG 3' 5'TACCCGTCTCACGA GCCAAG 3' | 0.1 | 199 | Kim ve diğerleri, 2015 |
| <i>Vibrio mimicus</i> | VMC727581F VMC727581R | 5'ATAAAGCGGGCTTG CGTGCA 3' 5'GATTTGGRAAAATC CKTCGTGC 3' | 0.8 | 249 | Kim ve diğerleri, 2015 |
| <i>Vibrio harveyi</i> | VH-4F VH-7R | 5'GTGATGAAGAAGCT TATCGCGATT 3' 5'CGCCTTCTTCAGTTA ACGCAGGA 3' | 0,5 | 601 | Kim ve diğerleri, 2014 |

K = G + T; R = A + G; Y = C + T; N = A + C + G + T

3.1.2.23. Antibiyotik Direnç Genlerini Belirlemede Kullanılan Primerler

Antibiyotik direnç genlerini belirlemek amacıyla yapılan PCR işleminde kullanılan primerlerin listesi Tablo 8’de gösterilmektedir (Shahrani ve diğerleri, 2014).

Tablo 8. Antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesi için kullanılan primer listesi

| Primer adı | Sekans (5'-3') | Amplikon Boyutu | Hedef gen | Kaynaklar |
|------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------|----------------------|----------------------------|
| <i>aadA1-F</i> <i>aadA1-R</i> | TATCCAGCTAAGCGCGAACT ATTTGCCGACTACCTTGGTC | 447 | Streptomisin direnci | Randall ve diğerleri, 2002 |
| <i>tetA-F</i> <i>tetA-R</i> | GGTTCACTCGAACGACGTCA CTGTCCGACAAGTTGCATGA | 577 | Tetrasiklin direnci | Randall ve diğerleri, 2002 |
| <i>tetB-F</i> <i>tetB-R</i> | CCTCAGCTTCTCAACGCGTG GCACCTTGCTGATGACTCTT | 634 | Tetrasiklin direnci | Randall ve diğerleri, 2002 |
| <i>dfrA1-F</i> <i>dfrA1-R</i> | GGAGTGCCAAAGGTGAACAGC GAGGCGAAGTCTTGGGTA AAAAC | 367 | Trimetoprim direnci | Toro ve diğerleri, 2005 |
| <i>Qnr-F</i> <i>Qnr-R</i> | GGGTATGGATATTATTGATAAAG CTAATCCGGCAGCACTATTTA | 670 | Florokinolon direnci | Mammeri ve diğerleri, 2005 |
| <i>aac[3]-IV-F</i> <i>aac[3]-IV-R</i> | CTTCAGGATGGCAAGTTGGT TCATCTCGTTCTCCGCTCAT | 286 | Gentamisin direnci | Van ve diğerleri, 2008 |
| <i>Sul1-F</i> <i>Sul1-R</i> | TTCGGCATTCTGAATCTCAC ATGATCTAACCCTCGGTCTC | 822 | Sulfonamid direnci | Van ve diğerleri, 2008 |
| <i>blaSHV-F</i> <i>blaSHV-R</i> | TCGCCTGTGTATTATCTCCC CGCAGATAAATCACCACAATG | 768 | Sefalotin direnci | Van ve diğerleri, 2008 |
| <i>CITM-F</i> <i>CITM-R</i> | TGGCCAGAACTGACAGGCAAA TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC | 462 | Ampisilin direnci | Van ve diğerleri, 2008 |
| <i>ereA-F</i> <i>ereA-R</i> | GCCGGTGCTCATGAACTTGAG CGACTCTATTCGATCAGAGGC | 419 | Eritromisin direnci | Van ve diğerleri, 2008 |

3.1.2.24. Pozitif Kontroller

Polimeraz Zincir Reaksiyonu çalışmalarında pozitif kontrol olarak; *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802, *Vibrio vulnificus* ATCC 27562, *Vibrio alginolyticus* ATCC

17749, *Vibrio harveyi* ATCC 33842, *Vibrio mimicus* ATCC 33653, *Vibrio cholerae* ATCC 39050 standart suşları kullanılmıştır.

3.1.2.25. Agaroz Jel

Agaroz jel hazırlanmasında (Biomax®) marka agaroz kullanılmıştır.

3.1.2.26. Marker

Marker olarak GeneRuler 100 bp'lik DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific®) kullanılmıştır.

3.1.2.27. Etidium Bromür (AppliChem®)

Görüntüleme için jelin boyanmasında elektroforez işleminden önce % 1' lik Ethidium Bromür 100 ml 1X TAE ile hazırlanan agaroz jelin içerisine 5 µl miktarında eklenerek kullanılmıştır.

3.1.2.28. Santrifüj Cihazı

Santrifüj işlemleri için 24 örnek kapasiteli Mikro 200R (Hettich®) santrifüj cihazı kullanılmıştır.

3.1.2.29. Termal Döngüleme Cihazı

PCR işlemi 96 örnek kapasiteli SimpliAmp (Appliedbiosystems®) termal döngüleme cihazında gerçekleştirilmiştir.

3.1.2.30. Elektroforez Cihazı

Elektroforez işlemi Biorad® marka elektroforez tankında, güç kaynağı olarak Thermo Fisher Scientific® EC250-90 kullanılmıştır.

3.1.2.31. Görüntüleme Cihazı

Görüntüleme işlemi Vilber Lourmat® marka Infinity VX2 1100 marka görüntüleme cihazında gerçekleştirilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Fenotipik İzolasyon ve İdentifikasyon

Örneklemede kullanılan doğal şekilde enfekte olmuş, ölü levrek numunelerinin iç organlarından (karaciğer, dalak, böbrek) numuneler alınmıştır. Alınan örneklerden öncelikle %1,5 NaCl ilaveli kanlı agara ve MacConkey agara ekimler yapılmıştır. Petriler 25 °C’de 24 saat inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon sonrasında kanlı agarda yuvarlak, düzgün, yarı-saydam veya krem renkli, hemolizli koloniler tespit edilmiş ve eş değer petrilerdeki Macconkey agarda şeffaf koloniler seçilerek Gram boyama işlemine geçilmiştir. Seçilen koloniler Gram boyama ile boyandıktan sonra Gram negatif, virgül şeklindeki bakteriler çalışma için kullanılmıştır. Gram negatif olduğu tespit edilen kolonilere öncelikle katalaz testi yapılmıştır. Katalaz pozitif olduğu belirlenen kolonilere oksidaz testi yapılmıştır. Oksidaz testinde pozitif reaksiyon veren kolonilere Vibriostatik ajan O129 dirençlilik testi uygulanmış 30 °C’de 24 saat inkubasyona bırakılmıştır. Vibriostatik ajan O129 diskleri çevresinde inhibisyon zonu oluşan suşlar duyarlı olarak değerlendirildi. Duyarlı olduğu tespit edilen koloniler TCBS agara pasajlanarak 25 °C’de 24 saat inkubasyona bırakılmıştır. Elde edilen kolonilerden sarı ve yeşil renkte görülen koloniler *Vibrio* sp. olarak kaydedilmiş ve % 20 gliserinli, %1,5 NaCl ilaveli Brain Heart Broth’da -20°C’ de saklanmıştır (Thompson ve diğerleri, 2004).

3.2.2. Bakteriyel İzolatların BD Phoenix™ ile İdentifikasyonu

Bu yöntem seçilmiş antimikrobiyal ajanları içeren birçok aerobik ve fakültatif anaerobik Gram pozitif ve negatif bakterinin hızlı identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testi için kullanılır. Bu çalışmada daha önceden saf olarak izole edilen bakteriyel izolatların BD Phoenix cihaz ile identifikasyonu yapılmıştır. Tryptic soy agarda saflaştırılmış 24 saatlik taze kültürler cam tüplerde hazır bulunan ID broth ile McFarland 0.5 koloni yoğunluğuna göre süspansiyon hazırlandı. Gram negatif bakteriyel izolatlar için BD Phoenix NMIC/ID-433 panel kiti kullanıldı. Her örnek için ayrı paneller kullanılarak cihazda teşhis yapıldı. Her bir örnek için ayrı ayrı hazırlanmış olan ID Broth süspansiyon tüpleri bakteri teşhisi için cihaza yerleştirildi. Cihazdan elde edilen biyokimyasal identifikasyon verileri değerlendirmeye alındı.

3.2.3. Genotipik İdentifikasyon

3.2.3.1. DNA İzolasyonu

Fenotipik olarak *Vibrio* sp. olduğu tespit edilen koloniler %1,5 NaCl ilaveli TSA agara pasajlanmış ve 25 °C'de 24 saat inkubasyona bırakılmıştır. Elde edilen taze kültürlerden DNA ekstraksiyon kiti (MagAttract® HMW DNA Kit) kullanılarak DNA'lar elde edilmiştir.

3.2.3.2. DNA İzolasyonu Kit Prosedürü

Bu protokol, Gram-negatif bakteri kültürlerinden yüksek moleküler ağırlıklı DNA'nın elde edilmesini sağlamaktadır. Ekstraksiyon işlemine başlamadan önce;

Parçalama aşaması için karıştırıcı 56°C'ye ısıtıldı.

ATL Tamponu ara sıra çalkalanarak 37°C'de inkübe ederek çözdürüldü.

Tampon MW1 ve PE talimatlara göre hazırlandı

Başlamadan önce, manyetik parçacıkların tamamen süspansiyon edildiğinden emin olundu

İlk kullanımdan önce manyetik parçacıkları içeren eppendorf vorteksle en az 3 dakika kuvvetlice karıştırıldı.

Hazırlıklar tamamlandıktan sonra;

1. 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne 2×10^9 bakteri alınarak oda sıcaklığında 5000 x g'de 10 dakika santrifüj edildi. Bakteri peletini bozmadan süpernatant çıkarıldı ve atıldı

2. Bakteriyel pelet 180 µl Buffer ATL içinde yeniden süspansiyon edildi, 20 µl Proteinaz K eklendi ve karıştırıcıda 900 rpm'de çalkalanarak 56°C'de 30 dakika inkübe edildi.

3. Numuneye 4 µl RNase A eklendi, vorteksle karıştırıldı ve oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi.

4. Numuneye 15 µl MagAttract Süspansiyon G ve 280 µl Buffer MB eklendi. Vorteks ile karıştırıldı. Numune tüpleri MagAttract Manyetik tüp tutucusuna aktarıldı.

5. MagAttract Magnetic tüp tutucu miksera yerleştirildi ve oda sıcaklığında 1400 rpm'de 3 dakika inkübe edildi.

6. MagAttract Magnetic tüp tutucu manyetik tabana yerleştirildi, boncuk ayrımı tamamlanana kadar beklendi (~1 dakika) ve süpernatant atıldı.

7. Numuneye 700 µl Buffer MW1 eklendi ve MagAttract Magnetic tüp tutucusu karıştırıcıya yerleştirilir. 1400 rpm'de 1 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir.

7a. MagAttract Magnetic tüp tutucu manyetik tabana yerleştirildi, boncuk ayrımı tamamlanana kadar beklendi (~1 dakika) ve süpernatant atıldı.

8. 7 ve 7a basamakları tekrarlandı.

9. Numuneye 700 µl Buffer PE eklendi ve MagAttract Magnetic tüp tutucusu santrifüj cihazına yerleştirildi. 1400 rpm'de 1 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.

9a. MagAttract Magnetic tüp tutucu manyetik tabana yerleştirildi, boncuk ayrımı tamamlanana kadar beklendi (~1 dakika) ve süpernatant atıldı.

10. 9 ve 9a basamakları tekrarlandı.

11. Tüp tutucu manyetik taban üzerindeyken ve boncuklar mikrosantrifüj tüpünün duvarlarında sabitken oluşan pelet 700 µl distile su ile durulandı. 1 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi ve süpernatant atıldı.

12. Basamak 11 tekrarlandı.

13. MagAttract Magnetic tüp tutucusu manyetik tabanından çıkarıldı ve uygun hacimde Buffer AE (100–200 µl) eklendi. Tüp tutucu, karıştırıcıya yerleştirildi ve oda sıcaklığında 1400 rpm'de 3 dakika inkübe edildi.

14. MagAttract Magnetic tüp tutucusu manyetik tabana yerleştirildi, boncuk ayırma tamamlanana kadar beklendi (~1 dakika) ve yüksek moleküler ağırlıklı DNA içeren süpernatantı yeni bir numune tüpüne aktarıldı. Elde edilen DNA'lar moleküler çalışmalar yapılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

3.2.3.3. PCR Analizi

Konvansiyonel yöntemle *Vibrio* cinsine ait olduğu belirlenen izolatlardan DNA ekstraksiyonu sonucu elde edilen DNA'lar öncelikle *Vibrio* sp. 16S rRNA PCR analizine tabi tutulmuştur. Bu amaçla oluşturulan PCR analizi, 25 µl'lik total hacimde 25 ng örnek DNA, 200µM her bir dNTP'den, 0,5 U Ex Taq DNA polimeraz, 1X Ex Taq Buffer ve her bir primerin final konsantrasyonları 0,24 µM olacak şekilde karışım oluşturulmuştur. PCR kondüsyonları 94 °C'de 5 dakika ön denatürasyonu takiben 25 siklus olmak üzere 94°C'de 30 saniye denatürasyon, 60°C'de 30 saniye bağlanma, 72°C'de 30 saniye uzama ve 72°C'de 10 dakika son uzama aşamaları şeklinde gerçekleştirilmiştir. (Kim ve diğerleri, 2015).

Vibrio sp. 16S rRNA PCR analizi sonucunda 689 bp aralığında olduğu belirlenen izolatlar tür tayini için multipleks PCR analizine tabi tutulmuştur. *Vibrio* türlerinin tespiti için kullanılan multipleks PCR analizi için, 25 µl'lik total hacimde 25 ng örnek DNA, 200µM her bir dNTP'den, 0,5 U Ex Taq DNA polimeraz, 1X Ex Taq Buffer ve primerlerin final konsantrasyonları Tablo 8'de belirtildiği şekilde olacaktır. PCR kondüsyonları 94 °C'de 5 dakika ön denatürasyonu takiben 25 siklus olmak üzere 94°C'de 30 saniye denatürasyon, 60°C'de 30 saniye bağlanma, 72°C'de 30 saniye uzama ve 72°C'de 10 dakika son uzama aşamaları şeklinde gerçekleştirilmiştir (Kim ve diğerleri, 2014; Kim ve diğerleri, 2015).

3.2.3.4. Elektroforez İşlemi

Vibrio cinsinin tespiti için yapılan PCR analizi sonucu elde edilen ampikonların tespiti için kullanılacak agaroz jelin hazırlanmasında %3'lük agaroz, *Vibrio* türlerinin tespiti amacıyla

yapılan PCR amplikonlarının tespitinde ise %1,5 agaroz elde edilecek şekilde TAE buffer ilave edilmiş ve kaynatılarak homojenize edilmiştir. Elde edilen agaroz 40-50°C'ye kadar soğutulmuştur ve soğutulan agaroz jel kalıbına dökülüp kuyucuk oluşturan aparatlar yerleştirilerek 20-25 dakika oda ısısında soğumaya bırakılmıştır. Agaroz donduktan sonra kalıptan çıkarılarak, elektroforez tankına yerleştirilmiştir.

PCR analizlerinden elde edilen amplikonlardan pipet ile 10'ar µl alınıp, 3 µl 6x yükleme boyası ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışımın tamamı *Vibrio* spp. 16S rRNA PCR analizinden elde edilen amplikonlar %3'lük agaroz jeldeki kuyucuklara, *Vibrio* türlerinin belirlenmesinde için yapılan multipleks PCR analizi amplikonları için %1,5'lük agaroz jeldeki kuyucuklara ilk sıraya marker olacak şekilde sırasıyla yüklenmiştir. Yükleme işleminden sonra elektrotlar güç cihazına bağlanmıştır ve 80V 500A akımda 40 dakika elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. Elektroforez işleminden sonra agaroz jel bilgisayara bağlı olan görüntüleme cihazına yerleştirilerek UV ışığı altında fotoğraflanmıştır. Görüntüler bilgisayara kaydedilerek *Vibrio* spp. için 689 bp'de, *Vibrio parahaemolyticus* için 297 bp, *Vibrio cholerae* için 154 bp, *Vibrio vulnificus* için 484 bp, *Vibrio alginolyticus* için 199 bp, *Vibrio mimicus* için 249 bp, *Vibrio harveyi* için 601 bp büyüklüğündeki bant oluşumu araştırılmıştır (Kim ve diğerleri, 2014; Kim ve diğerleri, 2015).

3.2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

3.2.4.1. Kirby Bauer Disk Diffüzyon

Vibrio cinsi ve alt türlerinin antibiyotik duyarlılığı öncelikle Kirby Bauer Disk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Bu amaçla antibiyotik diski olarak tetrasiklin (30 µg/disk); streptomisin (10 µg/disk); sulfametoksazol-trimetoprim (25 µg/disk); gentamisin (10 µg/disk); enrofloksasin (5 µg/disk); sefalothin (30 µg/disk); ampisilin (10 µg/disk); florfenikol (30 µg/disk) diskleri kullanılmıştır. Saf olarak elde edilen suşlar Brain Heart İnfüzyon Broth içerisine inokule edilerek Mac Farland 0,5 yoğunluğuna ayarlanmıştır. Hazırlanan inokulattan 100 µl alınarak Muller Hinton Agara üzerine drigalski spatülü yardımıyla yayılmıştır. Daha sonra antibiyotik diskleri dağıtılarak 37°C'de 24 saat inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon sonunda disk çevresinde oluşan inhibisyon zon değerlerine bakılarak ilgili izolatın

antibiyotiklere karşı belirlenen duyarlılık dirençlilik durumu CLSI standartlarına göre değerlendirilmiştir (CLSI, 2018).

3.2.4.2. Multipleks PCR ile Antibiyotik Direnç Genlerinin Belirlenmesi

Yapılan *Vibrio* sp. 16S rRNA PCR analizi sonucunda *Vibrio* cinsi olduğu doğrulanan izolatların antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesi amacıyla multipleks PCR analizi uygulanmıştır. Bu amaçla oluşturulan PCR reaksiyonlarında bir örnek için PCR amplifikasyonu 25 µl toplam hacimde, son konsantrasyon 10X Taq enzimi tampon çözeltisi 5µl, 25 mM magnezyum klorür (MgCl₂), 200 µmol her bir dNTP, 2 U Taq DNA polymerase olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan master mikslere içerisine konulacak her bir primer konsantrasyonları ise 0,5 µM olacak şekilde ayarlanmıştır.

Master mikslere hazırlandıktan sonra 0,2 mL'lik tüpler, örnek adedi kadar numaralandırılıp, içlerine 22'er µl hazırlanan mastermiksten ilave edilmiş daha sonra, kalıp DNA'dan 3 µl alınıp, ilgili tüplerin içerisine eklenmiş ve ağızları sıkıca kapatılmıştır. Hazırlanan tüpler daha sonra termal döngüleme cihazlarına yüklenmiş ve cihaz programlanmıştır. PCR kondüsyonları 94 °C'de 8 dakika ön denatürasyonu takiben 32 siklus olmak üzere 95°C'de 1 dakika denatürasyon, 55°C'de 70 saniye bağlanma, 72°C'de 2 dakika uzama ve 72°C'de 8 dakika son uzama aşamaları şeklinde gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri % 1,5'lük agaroz jelde yürütülerek Tablo 8'de belirtilen amplikon boyutlarındaki bantlar jel görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Fenotipik İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları

Araştırmada 100 adet levrek iç organından %1,5 NaCl ilaveli kanlı agar ve Mac Conkey agar üzerine ekimler yapılmış ve inkübasyon sonucunda iki besi yerinde de ortak şekilde üreme 46 (%46) petride tespit edilmiştir. Üreme tespit edilen petrilere yuvarlak, düzgün görümlü, yarı saydam veya krem renkli koloniler seçilerek Gram boyama işlemine tabi tutulmuştur. Gram boyama sonucunda ışık mikroskopuyla yapılan incelemede Gram negatif, virgül şeklinde bakteri morfolojisi gösteren 46 bakteri kolonisi çalışma için kullanılmıştır. Gram negatif olduğu belirlenen kolonilere katalaz ve oksidaz testleri uygulanmış ve 46 (%100) koloninin de katalaz ve oksidaz testlerinin pozitif olduğu belirlenmiştir. Katalaz ve oksidaz pozitif olduğu belirlenen koloniler vibriostatik ajan O129 duyarlılık testine tabi tutulmuş ve 46 (%100) koloninin vibriostatik ajan O129'a duyarlı olduğu belirlenmiştir. Elde edilen 46 koloni *Vibrio* türleri için selektif olan besiyeri TCBS'ye pasajlanmıştır ve tüm petrilere üremeler gözlemlenmiştir. TCBS besi yerine pasajları yapılan 46 koloniden 25 (%54,3) koloninin sarı renkte, 21 (%45,6) koloninin ise yeşil renkte koloni oluşturduğu gözlemlenmiştir. Biyokimyasal testlerle ve *Vibrio* selektif besi yeri TCBS üremeleri ile doğrulanan izolatlar *Vibrio* sp. olarak tanımlanmıştır.

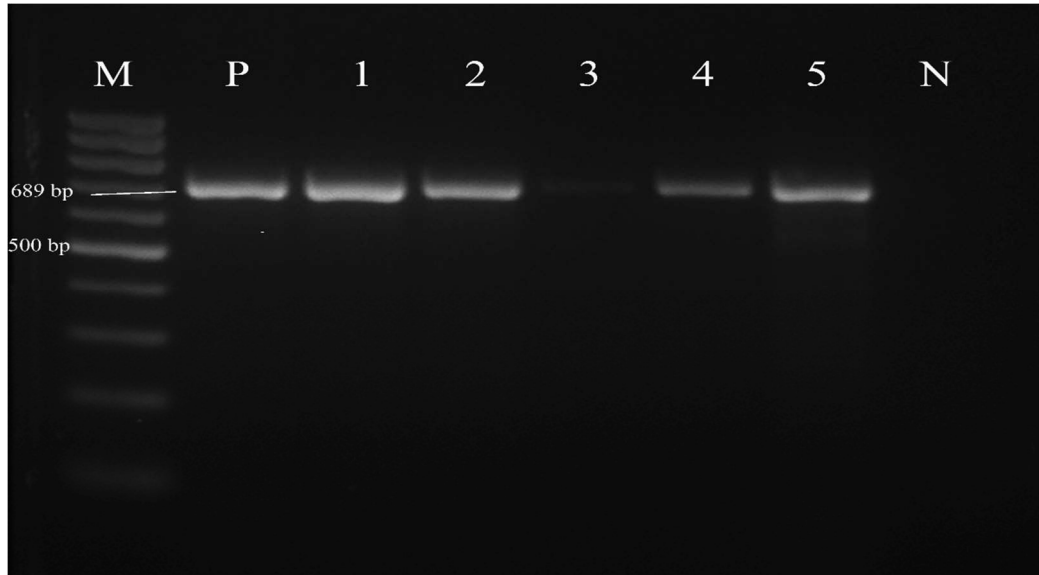
4.2. BD Phoenix™ M50 İdentifikasyon Bulguları

Biyokimyasal testlerle ve *Vibrio* selektif TCBS üremeleri ile doğrulanan ve *Vibrio* sp. olarak tanımlanan 46 izolatın, BD Phoenix™ M50 cihazında identifikasyonları yapılmıştır. Yapılan identifikasyon sonucunda cihaza yüklenen 46 izolattan 43 (%93,5) izolatın *Vibrio alginolyticus*, 3 (%6,5) izolatın ise *Vibrio parahaemolyticus* olarak identifiye edildiği tespit edilmiştir.

4.3. PCR Analizi Bulguları

4.3.1. *Vibrio* spp. 16S rRNA PCR Analizi Bulguları

Konvansiyonel yöntemler ve BD Phoenix™ M50 otomatize identifikasyon sistemi ile *Vibrio* spp. olduğu tespit edilen 46 *Vibrio* izolatına 16S rRNA PCR analizi uygulanmıştır. Elde edilen ampliconların elektroforez işlemi sonucunda 689 bp aralığında bant verdiği tespit edilmiştir ve 46 izolatın tümü (%100) *Vibrio* spp. olarak tanımlanmıştır. İzolatların elektroforez işlemi sonucu görüntüleme cihazındaki görüntüsü Resim 1’ de verilmiştir.



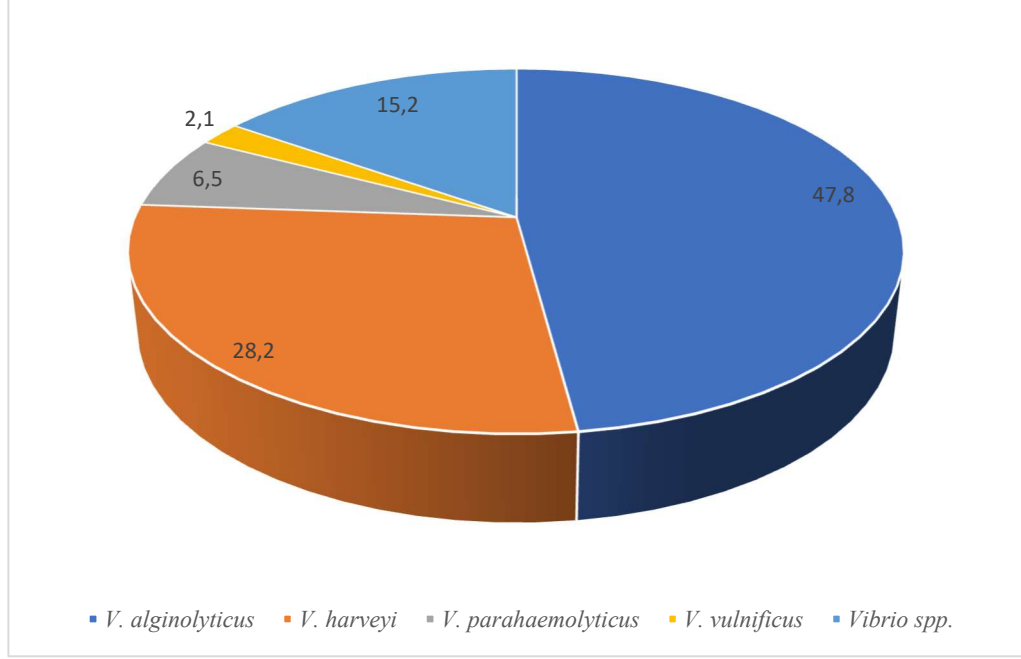
Resim 1. *Vibrio* türlerinin 16S rRNA PCR analizi elektroforez görüntüsü.

M: Moleküler marker 100 bp; P: *Vibrio* pozitif kontrol; N: Negatif kontrol; 1-5: *Vibrio* pozitif örnekler

4.3.2. Multipleks PCR Analizi Bulguları

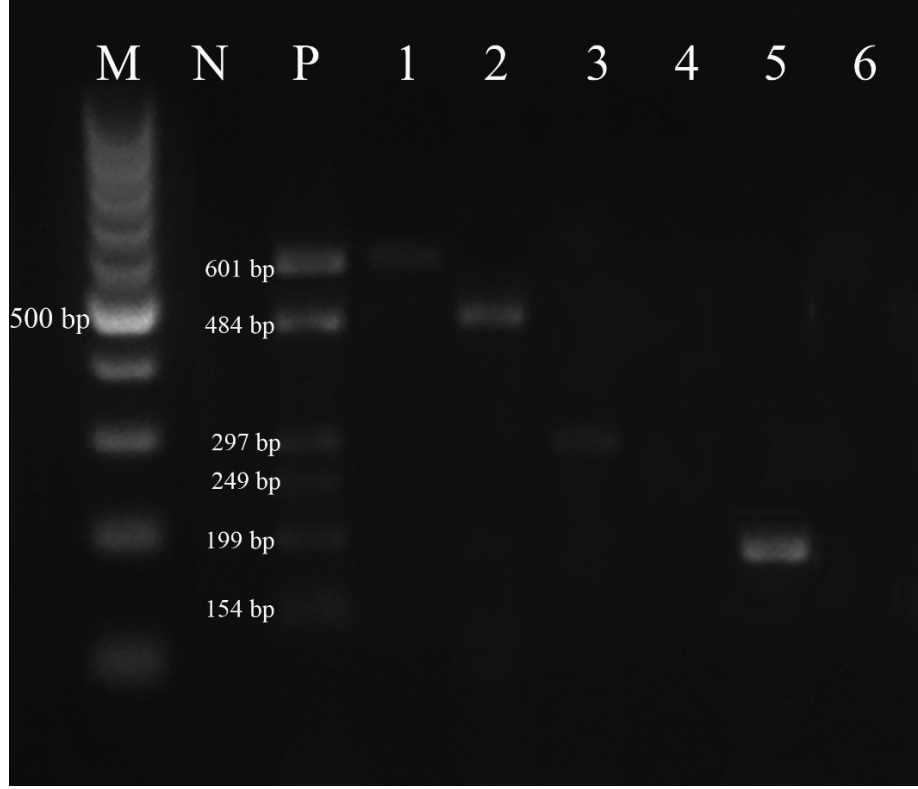
Yapılan 16S rRNA PCR’ı sonucunda *Vibrio* cinsi olduğu belirlenen 46 izolatın tür bazında identifikasyonu amacıyla yapılan multipleks PCR işlemi yapılmıştır. Yapılan görüntüleme işlemi sonucunda 22 izolatta (%48) 199 bp aralığında bant oluşumu görülmüş ve *V. alginolyticus* olarak, 13 izolat (%28) 601 bp aralığında bant oluşumu görülmüş ve *V. harveyi*

olarak, 3 izolat (%7) 297 bp aralığında bant oluşumu görülmüş ve *V. parahaemolyticus*, 1 izolatın (%2) 484 bp'da bant oluşumu görülmüş ve *V. vulnificus* olarak tanımlamaları yapılmıştır. Kalan 7 izolatta (%15) yapılan multipleks PCR işlemi sonucunda bant oluşumu görülmemiş ve bu 7 izolatın *Vibrio* spp., olduğu belirlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. *Vibrio* türlerinin identifikasyon yüzdeleri

Yapılan analiz sonucunda 249 bp'da ve 154 bp'da bant oluşumu görülmemiş ve izolatlarda *V. mimicus* ve *V. cholerae* türüne ait izolat bulunmadığı belirlenmiştir. Yapılan multipleks PCR sonucunda elde edilen jel görüntüsü Resim 2'de verilmiştir.



Resim 2. *Vibrio* türlerinin multipleks PCR analizi elektroforez görüntüsü.

M: Moleküler marker 100 bp; P: *Vibrio* pozitif kontrol- *Vibrio harveyi* ATCC 33842 (601 bp), *Vibrio vulnificus* ATCC 27562 (484 bp), *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802 (297 bp), *Vibrio mimicus* ATCC 33653 (249 bp), *Vibrio alginolyticus* ATCC 17749 (199 bp), *Vibrio cholerae* ATCC 39050 (154 bp); N: Negatif kontrol; 1: *V. harveyi* pozitif örnek; 2: *V. vulnificus* pozitif örnek; 3: *V. parahaemolyticus* pozitif örnek; 4: *Vibrio* negatif örnek; 5: *V. alginolyticus* pozitif örnek; 6: *Vibrio* negatif örnek.

Araştırmamız sonucunda elde edilen identifikasyon bulgularının genel olarak değerlendirilmesi Tablo 9’da görülmektedir.

Tablo 9. İzole edilen *Vibrio* izolatlarının identifikasyon bulguları

| Numune No | TCBS Koloni Rengi | BD Phoenix | Multipleks PCR |
|-----------|-------------------|-------------------------|----------------------------|
| 1 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. harveyi</i> |
| 2 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 3 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. harveyi</i> |
| 4 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. parahaemolyticus</i> |
| 5 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 6 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 7 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 8 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 9 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 10 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 11 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 12 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 13 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 14 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. harveyi</i> |
| 15 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 16 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. harveyi</i> |
| 17 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 18 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. vulnificus</i> |
| 19 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 20 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. harveyi</i> |
| 21 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 22 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. harveyi</i> |
| 23 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 24 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. harveyi</i> |
| 25 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. harveyi</i> |
| 26 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>Vibrio sp.</i> |
| 27 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |

Tablo 9. İzole edilen *Vibrio* izolatlarının identifikasyon bulguları (Devam)

| Numune No | TCBS Koloni Rengi | BD Phoenix | Multipleks PCR |
|-----------|-------------------|----------------------------|----------------------------|
| 28 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 29 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 30 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 31 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>Vibrio sp.</i> |
| 32 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 33 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 34 | Yeşil | <i>V. parahaemolyticus</i> | <i>Vibrio sp.</i> |
| 35 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>Vibrio sp.</i> |
| 36 | Sarı | <i>V. parahaemolyticus</i> | <i>V. parahaemolyticus</i> |
| 37 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. harveyi</i> |
| 38 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. parahaemolyticus</i> |
| 39 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. alginolyticus</i> |
| 40 | Yeşil | <i>V. parahaemolyticus</i> | <i>Vibrio sp.</i> |
| 41 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. harveyi</i> |
| 42 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. harveyi</i> |
| 43 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>Vibrio sp.</i> |
| 44 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. harveyi</i> |
| 45 | Sarı | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. harveyi</i> |
| 46 | Yeşil | <i>V. alginolyticus</i> | <i>Vibrio sp.</i> |

Araştırmamızda TCBS besi yerinde 25 (%54,4) sarı renk koloni, 21 (%45,6) yeşil renk koloni tespit edilmiştir. Besi yerinde *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* türlerinin sarı renkte koloni oluşturduğu, *V. parahaemolyticus* ve *V. harveyi* türlerinin ise yeşil renkte koloni oluşturduğu düşünülmektedir değerlendirilmeler yapılmıştır.

TCBS besi yerinde sarı renk koloni oluşturan 25 izolat, BD Phoenix identifikasyon cihazıyla analiz edildiğinde 24 (%96) izolatın *V. alginolyticus*, 1 (%4) izolatın ise *V. parahaemolyticus* olarak tanımlandığı tespit edilmiştir. Yeşil renk koloni oluşturan 21 izolat, BD Phoenix identifikasyon cihazıyla analiz edildiğinde 2 (%9,5) izolatın *V. parahaemolyticus*, 19 (%90,5) izolatın ise *V. alginolyticus* olduğu tespit edilmiştir.

TCBS besi yerinde sarı renkte koloni oluşturan 25 izolat, tür identifikasyonu için yapılan multipleks PCR'da; 11 (%44) izolat *V. harveyi*, 11 (%44) izolat *V. alginolyticus*, 2 (%8) izolat *Vibrio* spp, 1 (%4) izolat *V. parahaemolyticus* olarak identifiye edilmiştir. Yeşil renk koloni oluşturan 21 izolat, tür identifikasyonu için yapılan multipleks PCR'da; 11 (%52,4) izolat *V.alginolyticus*, 5 (%23,8) izolat *Vibrio* spp., 2 (%9,5) izolat *V. parahaemolyticus*, 1 (%4,7) izolat *V. vulnificus*, 2 (%9,5) izolat *V. harveyi* olarak tanımlanmıştır.

BD Phoenix identifikasyon cihazıyla *V. alginolyticus* olarak tanımlanan 43 izolat, tür identifikasyonu için yapılan multipleks PCR'da; 22 (%51,2) izolatın *V. alginolyticus* olduğu, kalan izolatlardan 13 (%30,2) izolat *V. harveyi*, 2 (%4,6) izolat *V. parahaemolyticus*, 1 (%2,3) izolat *V. vulnificus* ve 5 (%11,6) izolat ise *Vibrio* spp. olduğu belirlenmiştir. BD Phoenix identifikasyon cihazıyla *V.parahaemolyticus* olarak tanımlanan 3 izolat, tür identifikasyonu için yapılan multipleks PCR'da; 1 (%33,3) izolatın *V. parahaemolyticus*, 2 (%66,6) izolatın ise *Vibrio* spp. olduğu belirlenmiştir.

Tüm bulgular incelendiğinde moleküler yöntemle yapılan identifikasyon sonuçları temel alınmış ve antibiyotik direnç analizleri 16S rRNA ve multipleks PCR ile identifikasyonu yapılmış izolatlara uygulanmıştır.

4.4. Antibiyotik Direnç Bulguları

4.4.1. Antibiyogram

Araştırmada fenotipik ve genotipik olarak *Vibrio* cinsi olduğu belirlenen 46 izolatların antibiyotiklere karşı olan duyarlılık/dirençlilik tespiti için Kiby-Bauer disk diffüzyon yöntemiyle yapılan antibiyogram sonuçları Tablo 10'da görülmektedir.

Tablo 10. *Vibrio* izolatlarının antibiyogram sonuçları

| Numune No | Multipleks PCR | SXT | AMP | KF | ENR | FFC | S | CN | T |
|-----------|----------------------------|-----|-----|----|-----|-----|---|----|---|
| 1 | <i>V. harveyi</i> | S | R | S | S | S | R | R | S |
| 2 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | R | I | S |
| 3 | <i>V. harveyi</i> | S | R | I | S | S | R | I | S |
| 4 | <i>V. parahaemolyticus</i> | S | R | S | S | S | R | S | S |
| 5 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | R | S | S |
| 6 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | I | S | S |
| 7 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | R | S | S |
| 8 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | I | S | S |
| 9 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | I | S | S |
| 10 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | R | S | I |
| 11 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | R | S | S |
| 12 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | I | S | S |
| 13 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | R | S | S |
| 14 | <i>V. harveyi</i> | S | R | S | S | S | I | S | S |
| 15 | <i>V. alginolyticus</i> | S | I | S | S | S | R | S | S |
| 16 | <i>V. harveyi</i> | S | R | S | S | S | I | S | S |
| 17 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | R | S | S |
| 18 | <i>V. vulnificus</i> | S | R | I | S | S | I | I | S |
| 19 | <i>V. alginolyticus</i> | S | I | S | S | S | I | R | S |
| 20 | <i>V. harveyi</i> | S | R | S | S | S | I | S | S |
| 21 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | I | S | S |
| 22 | <i>V. harveyi</i> | S | R | I | S | S | R | S | S |
| 23 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | I | S | S |
| 24 | <i>V. harveyi</i> | S | R | R | S | S | I | S | S |
| 25 | <i>V. harveyi</i> | S | R | I | S | S | I | S | S |
| 26 | <i>Vibrio sp.</i> | S | R | S | S | S | R | S | S |
| 27 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | R | S | S |

SXT: Sulfametoksazol-trimetoprim; AMP: Ampisilin; KF: Sefalotin;

ENR: Enrofloksasin; FFC: Florfenikol; S: Streptomisin; CN: Gentamisin; T: Tetrasiklin;

S: Duyarlı; I: Orta derece duyarlı; R: Dirençli

Tablo 10. *Vibrio* izolatlarının antibiyogram sonuçları (Devam)

| Numune No | Multipleks PCR | SXT | AMP | KF | ENR | FFC | S | CN | T |
|-----------|----------------------------|-----|-----|----|-----|-----|---|----|---|
| 28 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | R | S | S |
| 29 | <i>V. alginolyticus</i> | S | I | S | S | S | R | S | R |
| 30 | <i>V. alginolyticus</i> | S | I | S | S | S | I | S | S |
| 31 | <i>Vibrio sp.</i> | S | R | S | S | I | R | S | S |
| 32 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | I | S | S |
| 33 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | R | I | S |
| 34 | <i>Vibrio sp.</i> | S | S | S | S | S | R | S | S |
| 35 | <i>Vibrio sp.</i> | S | R | S | S | S | I | S | S |
| 36 | <i>V. parahaemolyticus</i> | S | S | S | S | S | S | S | S |
| 37 | <i>V. harveyi</i> | S | R | S | S | S | I | S | S |
| 38 | <i>V. parahaemolyticus</i> | S | S | S | S | S | R | S | S |
| 39 | <i>V. alginolyticus</i> | S | R | S | S | S | I | S | S |
| 40 | <i>Vibrio sp.</i> | S | R | S | S | S | S | S | S |
| 41 | <i>V. harveyi</i> | S | R | S | S | S | R | S | S |
| 42 | <i>V. harveyi</i> | S | R | I | S | S | I | I | S |
| 43 | <i>Vibrio sp.</i> | S | R | S | S | S | R | I | S |
| 44 | <i>V. harveyi</i> | S | R | S | S | S | R | S | S |
| 45 | <i>V. harveyi</i> | S | R | R | S | S | R | R | S |
| 46 | <i>Vibrio sp.</i> | S | R | R | S | S | R | S | R |

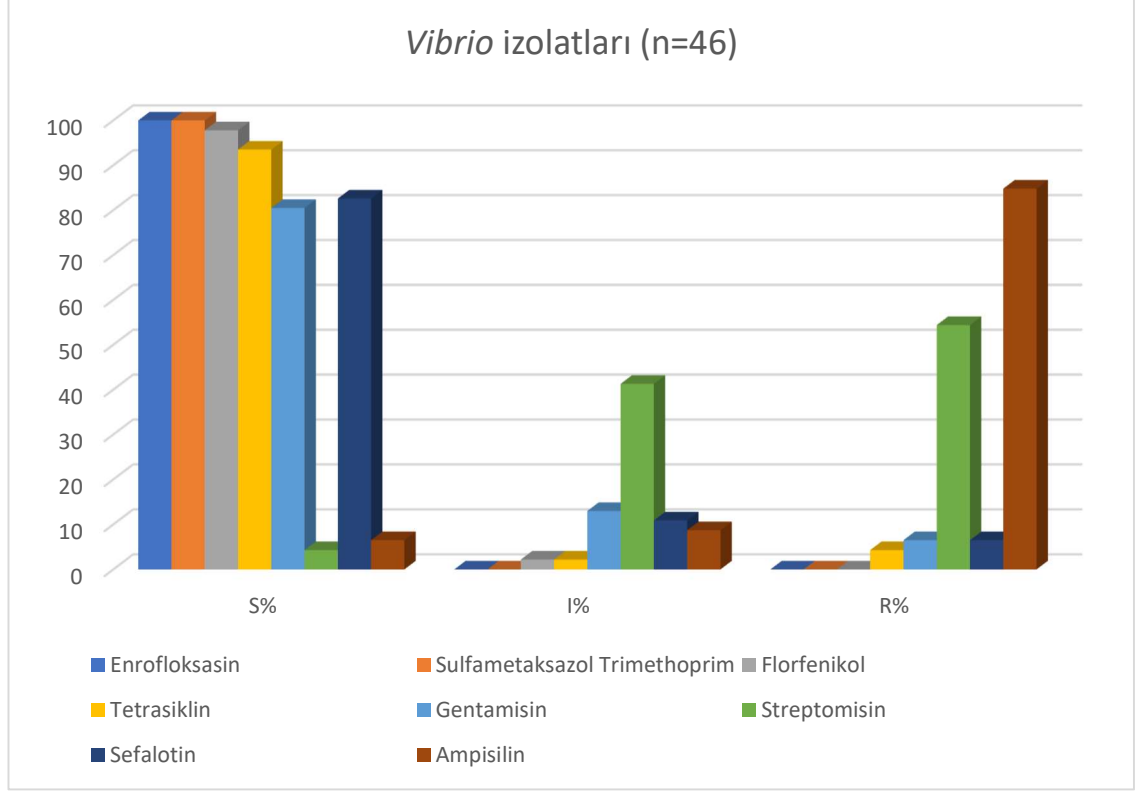
SXT: Sulfametoksazol-trimetoprim; AMP: Ampisilin; KF: Sefalotin;

ENR: Enrofloksasin; FFC: Florfenikol; S: Streptomisin; CN: Gentamisin; T: Tetrasiklin;

S: Duyarlı; I: Orta derece duyarlı; R: Dirençli

Vibrio izolatları (n=46), ampisiline %84,8 oranında dirençli, %8,7 oranında orta derece duyarlı, %6,5 oranında duyarlı ve streptomisine %54,4 oranında dirençli olduğu belirlenmiştir. İzolatların sulfametoksazol-trimetoprim ve enrofloksasine %100 oranında duyarlı; florfenikole %97,8 oranında duyarlı, %2,2 oranında orta derece duyarlı; tetrasikline %93,5 oranında duyarlı, %2,2 oranında orta derece duyarlı, %4,3 oranında dirençli; sefalotine %82,6 oranında duyarlı, %10,9 oranında orta derecede duyarlı, %6,5 oranında dirençli; gentamisine %80,5 oranında duyarlı, %13 oranında orta derece duyarlı ve %6,5 oranında dirençli olduğu tespit edilmiştir.

İzolaların antibiyotik grupları ve antibiyotik türlerine karşı duyarlılık/dirençlilik durumları Şekil 3’de verilmiştir.



Şekil 3. *Vibrio* izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik yüzdeleri

Antibiyotik gruplarına göre yapılan değerlendirmede 46 izolattan 18 (%39,1) izolatın ampisilin ve streptomisine, 1 (%2,2) izolatın ampisilin ve sefalotine, 1 (%2,2) izolatın streptomisin ve tetrasikline, 1 (%2,2) izolatın ampisilin, streptomisin, sefalotin ve tetrasikline, 1 (%2,2) izolatın ampisilin, streptomisin, sefalotin ve gentamisine dirençli olduğu tespit edilmiştir. Toplamda 22 (%47,8) izolatın iki ve daha fazla antibiyotiğe direnç gösterdiği belirlenmiştir. İki izolatın (%4,4) hiçbir antibiyotik grubuna direnç geliştirmediği bulunmuştur. *Vibrio* izolatlarının %43,5’inin betalaktamlar grubunda bulunan ampisilin ile aminoglikozitler grubunda bulunan streptomisine ikili çoklu antibiyotik direnci gösterdiği belirlenmiştir. *Vibrio* izolatlarının florokinolonlar, sulfonamidler ve fenikoller grubunda bulunan antibiyotiklere direnç geliştirmediği tespit edilmiştir.

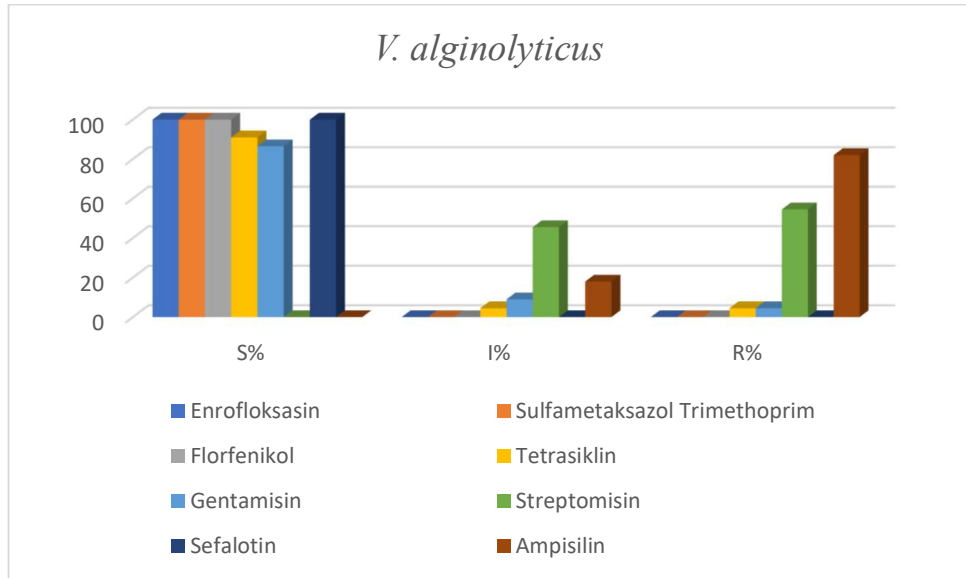
Vibrio alginolyticus izolatlarının (n=22) enrofloksasin, sulfametoksazol-trimetoprim, florfenikol, sefalotine %100 oranında duyarlı; ampisiline %82, streptomisine ise %54,5 oranında dirençli olduğu tespit edilmiştir. *Vibrio alginolyticus* izolatlarının florokinolon,

sulfanomid ve fenikol grubu antibiyotiklere direnç geliştirmedeği belirlenmiştir. *Vibrio alginolyticus* izolatlarının antibiyotiklere karşı duyarlılık/dirençlilik durumu Tablo 11 ve Şekil 4’de görülmektedir.

Tablo 11. *V. alginolyticus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik sonuçları

| <i>V. alginolyticus</i> | | | | |
|-------------------------|------------------------------|----|----|----|
| Antibiyotik Grubu | Antibiyotikler | S | I | R |
| Florokinolonlar | Enrofloksasin | 22 | 0 | 0 |
| Sülfonamidler | Sulfametaksazol Trimethoprim | 22 | 0 | 0 |
| Fenikoller | Florfenikol | 22 | 0 | 0 |
| Tetrasiklinler | Tetrasiklin | 20 | 1 | 1 |
| Aminoglikozidler | Gentamisin | 19 | 2 | 1 |
| | Streptomisin | 0 | 10 | 12 |
| Beta laktamlar | Sefalotin | 22 | 0 | 0 |
| | Ampisilin | 0 | 4 | 18 |

S: Duyarlı; I: Orta derece duyarlı; R: Dirençli



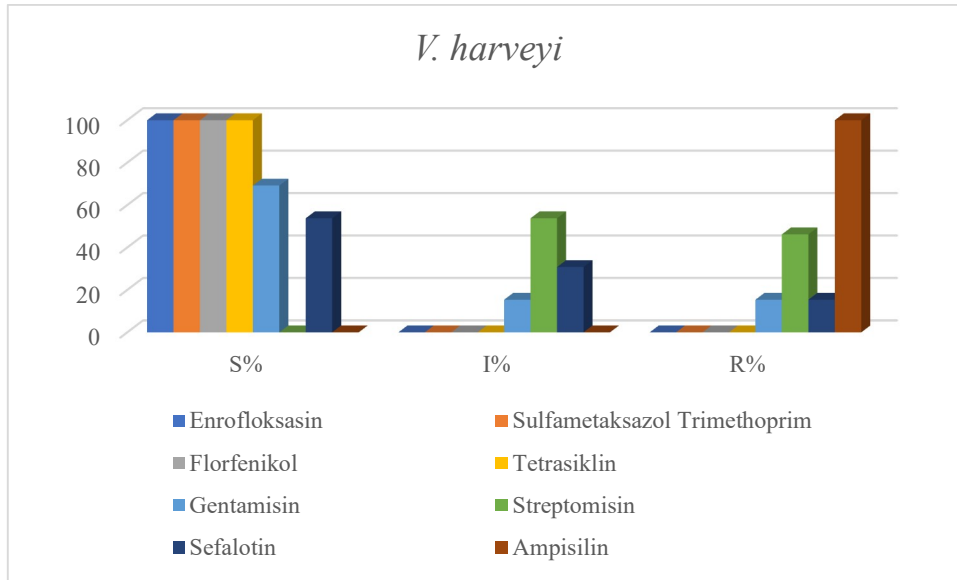
Şekil 4. *V. alginolyticus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik yüzdeleri

Araştırmamızda elde edilen 13 adet *V.harveyi* izolatlarının enrofloksasin, sulfametoksazol-trimetoprim, florfenikol, tetrasikline %100 oranında duyarlı; ampisiline karşı %100 oranında dirençli olduğu tespit edilmiştir. *Vibrio harveyi* izolatlarına ait antibiyotik duyarlılık/dirençlilik durumu Tablo 12 ve Şekil 5'te görülmektedir.

Tablo 12. *V. harveyi* izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik sonuçları

| <i>V. harveyi</i> | | | | |
|-------------------|------------------------------|----|---|----|
| Antibiyotik Grubu | Antibiyotikler | S | I | R |
| Florokinolonlar | Enrofloksasin | 13 | 0 | 0 |
| Sülfonamidler | Sulfametaksazol Trimethoprim | 13 | 0 | 0 |
| Fenikoller | Florfenikol | 13 | 0 | 0 |
| Tetrasiklinler | Tetrasiklin | 13 | 0 | 0 |
| Aminoglikozidler | Gentamisin | 9 | 2 | 2 |
| | Streptomisin | 0 | 7 | 6 |
| Beta laktamlar | Sefalotin | 7 | 4 | 2 |
| | Ampisilin | 0 | 0 | 13 |

S: Duyarlı; I: Orta derece duyarlı; R: Dirençli



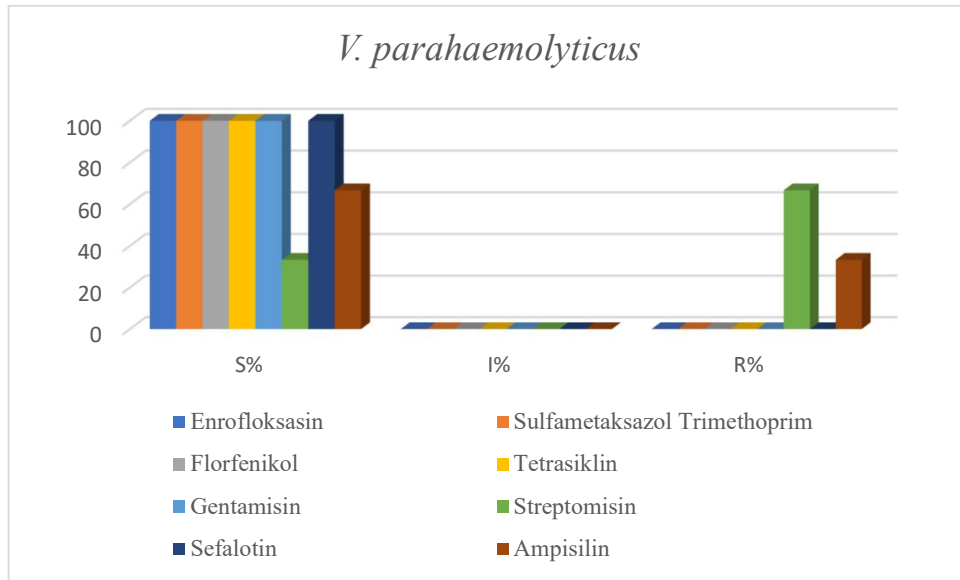
Şekil 5. *V. harveyi* izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik yüzdeleri

Araştırmamızda elde edilen 3 adet *V. parahaemolyticus* izolatının enrofloksasin, sulfametoksazol-trimetoprim, florfenikol, tetrasiklin, gentamisin ve sefalotine %100 oranında duyarlı olduğu tespit edilmiştir. *Vibrio parahaemolyticus* izolatlarının antibiyotiklere karşı duyarlılık/dirençlilik durumu Tablo 13 ve Şekil 6’da görülmektedir.

Tablo 13. *V. parahaemolyticus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik sonuçları

| <i>V. parahaemolyticus</i> | | | | |
|----------------------------|------------------------------|---|---|---|
| Antibiyotik Grubu | Antibiyotikler | S | I | R |
| Florokinolonlar | Enrofloksasin | 3 | 0 | 0 |
| Sülfonamidler | Sulfametaksazol Trimethoprim | 3 | 0 | 0 |
| Fenikoller | Florfenikol | 3 | 0 | 0 |
| Tetrasiklinler | Tetrasiklin | 3 | 0 | 0 |
| Aminoglikozidler | Gentamisin | 3 | 0 | 0 |
| | Streptomisin | 1 | 0 | 2 |
| Beta laktamlar | Sefalotin | 3 | 0 | 0 |
| | Ampisilin | 2 | 0 | 1 |

S: Duyarlı; I: Orta derece duyarlı; R: Dirençli



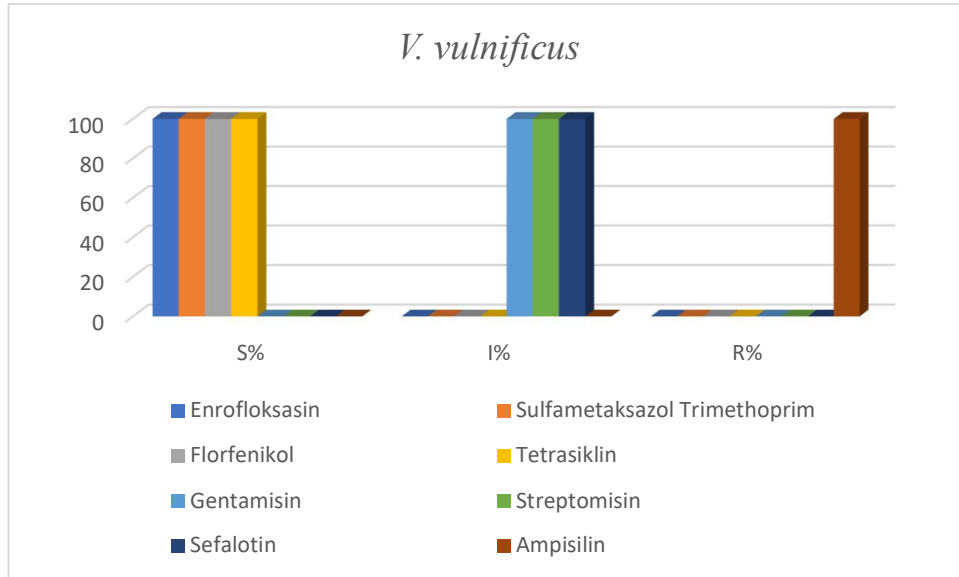
Şekil 6. *V. parahaemolyticus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik yüzdeleri

Araştırmamızda elde edilen 1 *V.vulnificus* izolatının enrofloksasin, sulfametoksazol-trimetoprim, florfenikol ve tetrasikline %100 oranında duyarlı; ampisiline ise %100 oranında dirençli olduğu belirlenmiştir. *Vibrio vulnificus* izolatının antibiyotiklere karşı duyarlılık/dirençlilik verileri Tablo 14 ve Şekil 7’de verilmiştir.

Tablo 14. *V. vulnificus* izolatının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik sonuçları

| <i>V. vulnificus</i> | | | | |
|----------------------|------------------------------|---|---|---|
| Antibiyotik Grubu | Antibiyotikler | S | I | R |
| Florokinolonlar | Enrofloksasin | 1 | 0 | 0 |
| Sülfonamidler | Sulfametaksazol Trimethoprim | 1 | 0 | 0 |
| Fenikoller | Florfenikol | 1 | 0 | 0 |
| Tetrasiklinler | Tetrasiklin | 1 | 0 | 0 |
| Aminoglikozidler | Gentamisin | 0 | 1 | 0 |
| | Streptomisin | 0 | 1 | 0 |
| Beta laktamlar | Sefalotin | 0 | 1 | 0 |
| | Ampisilin | 0 | 0 | 1 |

S: Duyarlı; I: Orta derece duyarlı; R: Dirençli



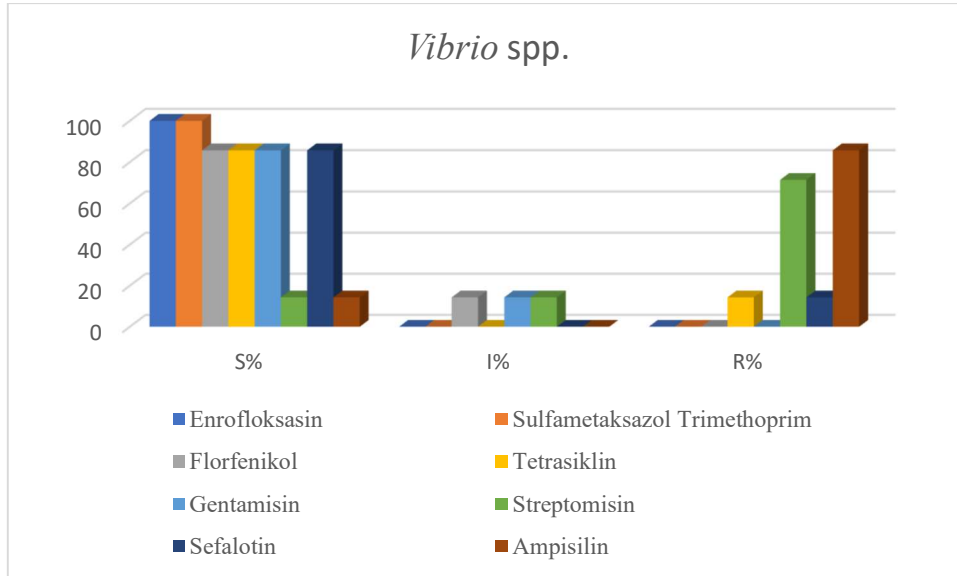
Şekil 7. *V. vulnificus* izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik yüzdeleri

Araştırmamızda elde edilen 7 *Vibrio* spp. izolatlarının enrofloksasin, sulfametoksazol-trimetoprim %100 oranında duyarlı; ampisiline %85,7, streptomisine %71,4 oranında dirençli olduğu belirlenmiştir. *Vibrio* spp. izolatlarının antibiyotiklere karşı duyarlılık/dirençlilik verileri Tablo 15 ve Şekil 8’de verilmiştir.

Tablo 15. *Vibrio* spp. izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik sonuçları

| <i>Vibrio</i> spp. | | | | |
|--------------------|------------------------------|---|---|---|
| Antibiyotik Grubu | Antibiyotikler | S | I | R |
| Florokinolonlar | Enrofloksasin | 7 | 0 | 0 |
| Sülfonamidler | Sulfametaksazol Trimethoprim | 7 | 0 | 0 |
| Fenikoller | Florfenikol | 6 | 1 | 0 |
| Tetrasiklinler | Tetrasiklin | 6 | 0 | 1 |
| Aminoglikozidler | Gentamisin | 6 | 1 | 0 |
| | Streptomisin | 1 | 1 | 5 |
| Beta laktamlar | Sefalotin | 6 | 0 | 1 |
| | Ampisilin | 1 | 0 | 6 |

S: Duyarlı; I: Orta derece duyarlı; R: Dirençli



Şekil 8. *Vibrio* spp. izolatlarının antibiyotik duyarlılık/dirençlilik yüzdeleri

4.4.2. Antibiyotik Direnç Genleri Sonuçları

Araştırmada fenotipik ve genotipik olarak *Vibrio* cinsi olduğu belirlenen 46 izolatin antibiyotik direnç genlerinin tespiti için yapılan multipleks PCR analizi sonuçları Tablo 16'da görülmektedir.

Tablo 16. *Vibrio* izolatlarında tespit edilen antibiyotik direnç genleri

| Numune No | Multiplex PCR | Antibiyotik Direnç Genleri | | | | | | |
|-----------|----------------------------|----------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-------------|---------------|
| | | <i>ereA</i> | <i>CITM</i> | <i>tetB</i> | <i>blaSHV</i> | <i>sulI</i> | | |
| 1 | <i>V. harveyi</i> | <i>ereA</i> | <i>CITM</i> | <i>tetB</i> | <i>blaSHV</i> | <i>sulI</i> | | |
| 2 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>dfrA1</i> | | | | | |
| 3 | <i>V. harveyi</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | <i>tetA</i> | | | | |
| 4 | <i>V. parahaemolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | <i>aadA1</i> | <i>CITM</i> | <i>tetA</i> | <i>blaSHV</i> |
| 5 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>ereA</i> | <i>blaSHV</i> | <i>sulI</i> | | | |
| 6 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | | | | | |
| 7 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | | | | | |
| 8 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>blaSHV</i> | <i>sulI</i> | | | | |
| 9 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>dfrA1</i> | | | | | |
| 10 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | <i>blaSHV</i> | | | |
| 11 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | <i>blaSHV</i> | | | |
| 12 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | | | | | |
| 13 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>dfrA1</i> | <i>ereA</i> | <i>blaSHV</i> | | | |
| 14 | <i>V. harveyi</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | <i>blaSHV</i> | | | | |
| 15 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>ereA</i> | | | | | |
| 16 | <i>V. harveyi</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | | | | | |
| 17 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>blaSHV</i> | | | | | |
| 18 | <i>V. vulnificus</i> | <i>dfrA1</i> | <i>CITM</i> | <i>tetA</i> | <i>Qnr</i> | <i>sulI</i> | | |
| 19 | <i>V. alginolyticus</i> | | | | | | | |
| 20 | <i>V. harveyi</i> | <i>aadA1</i> | <i>Qnr</i> | | | | | |
| 21 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>ereA</i> | <i>blaSHV</i> | | | | |
| 22 | <i>V. harveyi</i> | <i>ereA</i> | <i>aadA1</i> | <i>tetA</i> | <i>blaSHV</i> | | | |
| 23 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>dfrA1</i> | <i>aadA1</i> | | | | | |
| 24 | <i>V. harveyi</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | <i>tetA</i> | | | | |
| 25 | <i>V. harveyi</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>dfrA1</i> | <i>tetA</i> | | | | |
| 26 | <i>Vibrio sp.</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | <i>aadA1</i> | <i>blaSHV</i> | | |

Tablo 16. *Vibrio* izolatlarında tespit edilen antibiyotik direnç genleri (Devam)

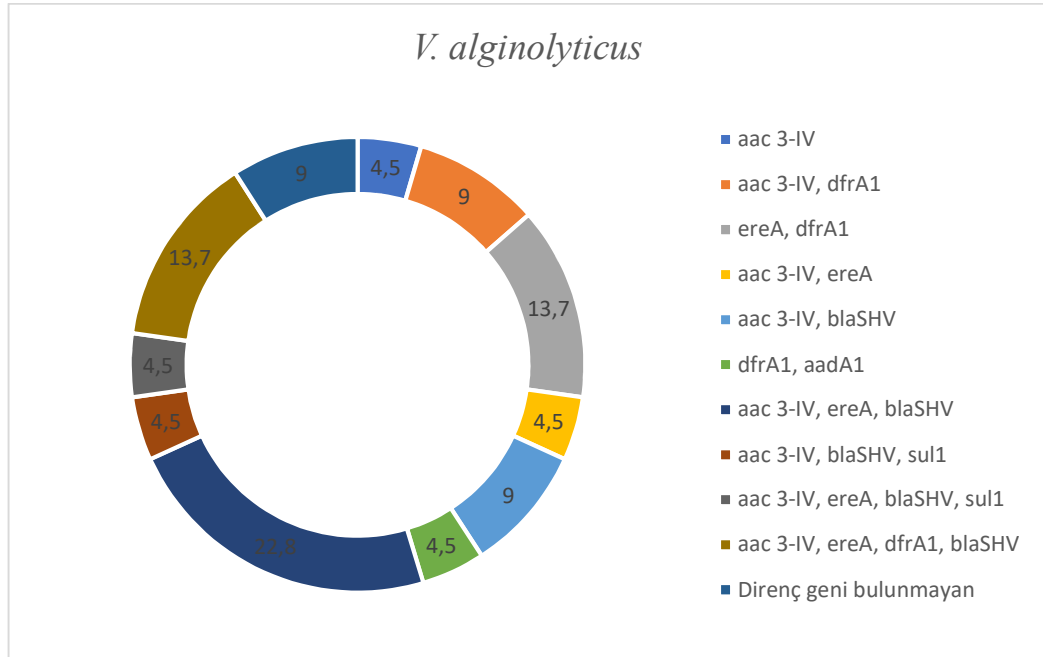
| Numune No | Multiplex PCR | Antibiyotik Direnç Genleri | | | | | | |
|-----------|----------------------------|----------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--|--|
| 27 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>ereA</i> | <i>blaSHV</i> | | | | |
| 28 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>ereA</i> | <i>blaSHV</i> | | | | |
| 29 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>blaSHV</i> | | | | | |
| 30 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | | | | | | |
| 31 | <i>Vibrio sp.</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | <i>sulI</i> | | | | |
| 32 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>ereA</i> | <i>blaSHV</i> | | | | |
| 33 | <i>V. alginolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>ereA</i> | <i>blaSHV</i> | | | | |
| 34 | <i>Vibrio sp.</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>ereA</i> | <i>CITM</i> | | | | |
| 35 | <i>Vibrio sp.</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | <i>tetA</i> | <i>blaSHV</i> | | |
| 36 | <i>V. parahaemolyticus</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>dfrA1</i> | <i>CITM</i> | <i>blaSHV</i> | | | |
| 37 | <i>V. harveyi</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | <i>blaSHV</i> | | | | |
| 38 | <i>V. parahaemolyticus</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | <i>tetB</i> | | | | |
| 39 | <i>V. alginolyticus</i> | | | | | | | |
| 40 | <i>Vibrio sp.</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>dfrA1</i> | | | | | |
| 41 | <i>V. harveyi</i> | <i>ereA</i> | <i>dfrA1</i> | <i>Qnr</i> | | | | |
| 42 | <i>V. harveyi</i> | <i>dfrA1</i> | <i>tetB</i> | | | | | |
| 43 | <i>Vibrio sp.</i> | <i>dfrA1</i> | | | | | | |
| 44 | <i>V. harveyi</i> | <i>aac 3-IV</i> | <i>dfrA1</i> | <i>tetA</i> | | | | |
| 45 | <i>V. harveyi</i> | <i>dfrA1</i> | <i>tetA</i> | | | | | |
| 46 | <i>Vibrio sp.</i> | <i>dfrA1</i> | <i>CITM</i> | | | | | |

Araştırmamızda antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan multipleks PCR analizi sonucunda 29 (% 63) izolatla trimetoprim direnç geni (*dfrA1*), 27 (%58,7) izolatla eritromisin direnç geni (*ereA*), 24 (%52,2) izolatla gentamisin direnç geni (*aac3-IV*), 20 (%43,5) izolatla sefalotin direnç geni (*blaSHV*), 11 (%24) izolatla tetrasiklin geni (8 izolat *tetA*, 3 izolat *tetB*), 6 (%13) izolatla ampisilin direnç geni (*CITM*), 5 (%10,9) izolatla sülfonamid direnç geni (*sulI*), 5 (%10,9) izolatla streptomisin direnç geni (*aadA1*), 3 (%6,5) izolatla florokinolon direnç geni (*Qnr*) tekli veya çoklu kombinasyonlar şeklinde tespit edilmiştir. Araştırmamızda izolatlarda bulunan direnç geni sayısına bakıldığında 2 (%4,3) izolatla 1 direnç geni, 15 (%32,6) izolatla 2 direnç geni, 16 (%34,7) izolatla 3 direnç geni, 6 (%13) izolatla 4 direnç geni, 4 (%8,6) izolatla 5 direnç geni, 1 (%2) izolatla 7 direnç geni olduğu belirlenmiş 2(%4,3) izolatla ise direnç geni belirlenmemiştir.

Vibrio alginolyticus (n=22) izolatlarının antibiyotik direnç geni dağılımları Tablo 17 ve Şekil 9’da gösterilmektedir.

Tablo 17. *V. alginolyticus* izolatlarında tespit edilen direnç genleri

| <i>V. alginolyticus</i> (n=22) | |
|--------------------------------------|---------------|
| Direnç Geni | İzolot sayısı |
| <i>aac 3-IV</i> | 1 |
| <i>aac 3-IV, dfrA1</i> | 2 |
| <i>ereA, dfrA1</i> | 3 |
| <i>aac 3-IV, ereA</i> | 1 |
| <i>aac 3-IV, blaSHV</i> | 2 |
| <i>dfrA1, aadA1</i> | 1 |
| <i>aac 3-IV, ereA, blaSHV</i> | 5 |
| <i>aac 3-IV, blaSHV, sul1</i> | 1 |
| <i>aac 3-IV, ereA, blaSHV, sul1</i> | 1 |
| <i>aac 3-IV, ereA, dfrA1, blaSHV</i> | 3 |
| Direnç geni bulunmayan | 2 |



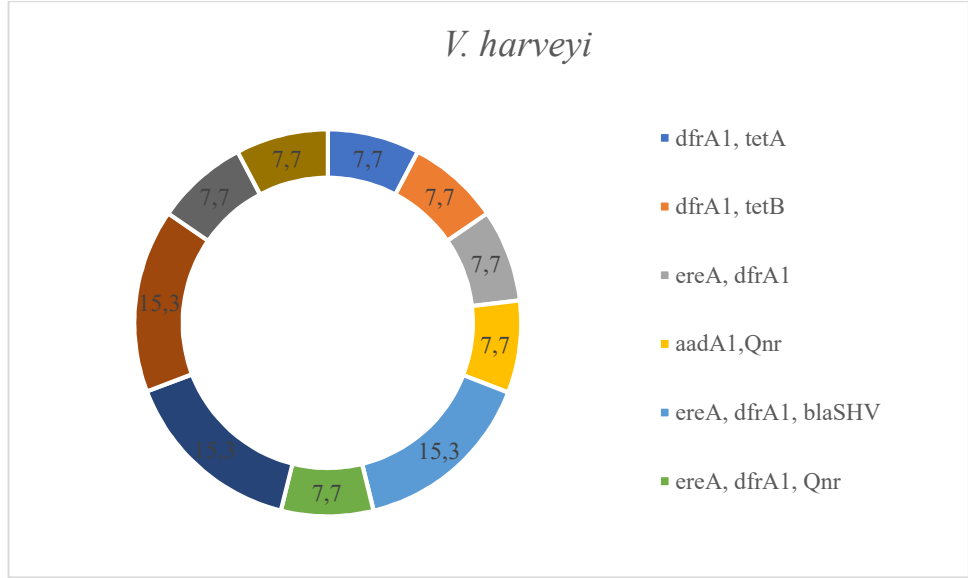
Şekil 9. *V. alginolyticus* izolatlarında tespit edilen direnç geni yüzdeleri

Vibrio alginolyticus (n=22) izolatlarının 1 (%4,5)'inde tekli antibiyotik direnç geni, 9 (%41)'unda 2'li antibiyotik direnç geni, 6 (%27,2)'sında 3'lü antibiyotik direnç geni, 4 (%18)'ünde 4'lü antibiyotik direnç geni varlığına rastlanırken 2 (%9)'sinde antibiyotik direnç geni tespit edilmemiştir. *Vibrio alginolyticus* izolatlarının (n=22) ampisiline %82, streptomisine ise %54,5 oranında dirençli olduğu tespit edilmiştir. *V. alginolyticus* izolatlarının 20 (%91)'sinde farklı kombinasyonlarda streptomisin, trimetoprim, gentamisin, sülfonamid, sefalotin, eritromisin direnç genleri bulunduğu tespit edilmiş olup, tetrasiklin, florokinolon ve ampisilin direnç geni varlığı görülmemiştir. İki (%9) *V. alginolyticus* izolatında ise hiç direnç geni varlığına rastlanmamıştır. *Vibrio alginolyticus* izolatlarına yapılan antibiyogram sonucunda ampisiline %82 oranında direnç görülürken CITM (ampisilin direnç geni) varlığının tespit edilmemesi dikkat çekmektedir.

Vibrio harveyi (n=13) izolatlarının antibiyotik direnç geni dağılımları Tablo 18 ve Şekil 10'da gösterilmektedir.

Tablo 18. *V. harveyi* izolatlarında tespit edilen direnç genleri

| <i>V. harveyi</i> | |
|---------------------------------------|---------------|
| Direnç Geni | İzolot Sayısı |
| <i>dfrA1, tetA</i> | 1 |
| <i>dfrA1, tetB</i> | 1 |
| <i>ereA, dfrA1</i> | 1 |
| <i>aadA1, Qnr</i> | 1 |
| <i>ereA, dfrA1, blaSHV</i> | 2 |
| <i>ereA, dfrA1, Qnr</i> | 1 |
| <i>aac 3-IV, dfrA1, tetA</i> | 2 |
| <i>ereA, dfrA1, tetA</i> | 2 |
| <i>ereA, aadA1, tetA, blaSHV</i> | 1 |
| <i>ereA, CITM, tetB, blaSHV, sull</i> | 1 |



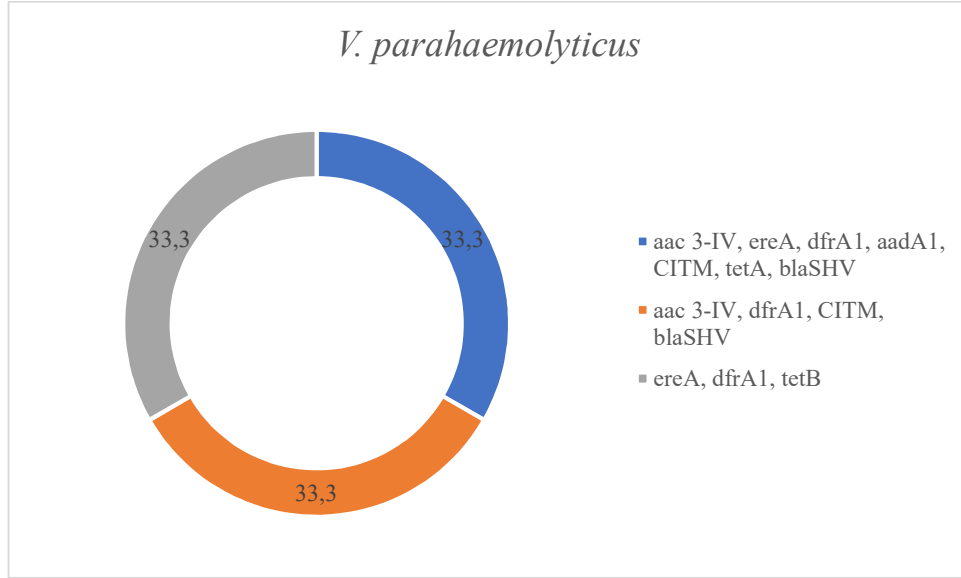
Şekil 10. *V. harveyi* izolatlarında tespit edilen direnç geni yüzdeleri

Vibrio harveyi (n=13) izolatlarının 4 (%30,7)'ünde 2'li antibiyotik direnç geni, 7 (%53,8)'sında 3'lü antibiyotik direnç geni, 1 (%7,7)'inde 4'lü antibiyotik direnç geni, 1 (%7,7)'inde 5'li antibiyotik direnç geni varlığı belirlenmiştir. Yapılan antibiyogram sonuçlarına göre *V.harveyi* (n=13) izolatlarının enrofloksasin, sulfametoksazol-trimetoprim, florfenikol, tetrasikline %100 oranında duyarlı; ampisiline karşı %100 oranında dirençli olduğu tespit edilmiştir. Yapılan antibiyotik direnç geni analizinde *V. harveyi* izolatlarının tamamında araştırılan tüm antibiyotik direnç genlerinin farklı kombinasyonlarla varlığı ortaya konulmuştur. İzolatların antibiyogram sonucunda enrofloksasin ve tetrasikline %100 duyarlı olduğu tespit edilmesine rağmen 2 izolatta *Qnr* geni (enrofloksasin direnç geni), 8 izolatta ise *tetA* ve *tetB* geni (tetrasiklin direnç geni) varlığının tespit edilmesi dikkat çekicidir. Yapılan analizde en yüksek direnç geni 10 (%77) izolatta tespit edilen trimetoprim direnç genidir (*dfrA1*). Sulfonamid direnç geni (*sulI*) ise 1 izolatta tespit edilmiştir. Antibiyogramda sulfometaksazol trimetoprim kombinasyonu kullanılması nedeniyle bulunan yüksek duyarlılık yüzdesinin sulfonamide olan duyarlılıktan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Vibrio parahaemolyticus (n=3) izolatlarının antibiyotik direnç geni dağılımları Tablo 19 ve Şekil 11’de gösterilmektedir.

Tablo 19. *V. parahaemolyticus* izolatlarında tespit edilen direnç genleri

| <i>V. parahaemolyticus</i> | |
|---------------------------------------------------------|---------------|
| Direnç genleri | İzolot sayısı |
| <i>aac 3-IV, ereA, dfrA1, aadA1, CITM, tetA, blaSHV</i> | 1 |
| <i>aac 3-IV, dfrA1, CITM, blaSHV</i> | 1 |
| <i>ereA, dfrA1, tetB</i> | 1 |



Şekil 11. *V. parahaemolyticus* izolatlarında tespit edilen direnç geni yüzdeleri

Vibrio parahaemolyticus (n=3) izolatlarının 1 (%33,3)’inde 3’lü antibiyotik direnç geni, 1 (%33,3)’inde 4’lü antibiyotik direnç geni, 1 (%33,3)’inde 7’li antibiyotik direnç geni varlığı belirlenmiştir. Yapılan antibiyotik duyarlılık testinde *V.parahaemolyticus* izolatlarının enrofloksasin ve sulfametoksazol-trimetoprimine duyarlı olduğu belirlenmiş, antibiyotik direnç geni analizinde florokinolon direnç geni (*Qnr*) ve sulfonamid direnç geni (*sulI*) varlığı tespit edilmemiştir. Antibiyogram analizinde ampisilin ve streptomisine karşı farklı oranlarda direnç tespit edilmiş, ampisilin direnç geni (*CITM*) ve streptomisin direnç geni (*aadA1*) yapılan moleküler analizle de ortaya konulmuştur. Antibiyotik duyarlılık analizinde tüm izolatların tetrasiklin, gentamisin ve sefalotine duyarlı olduğu belirlenmesine rağmen yapılan direnç geni

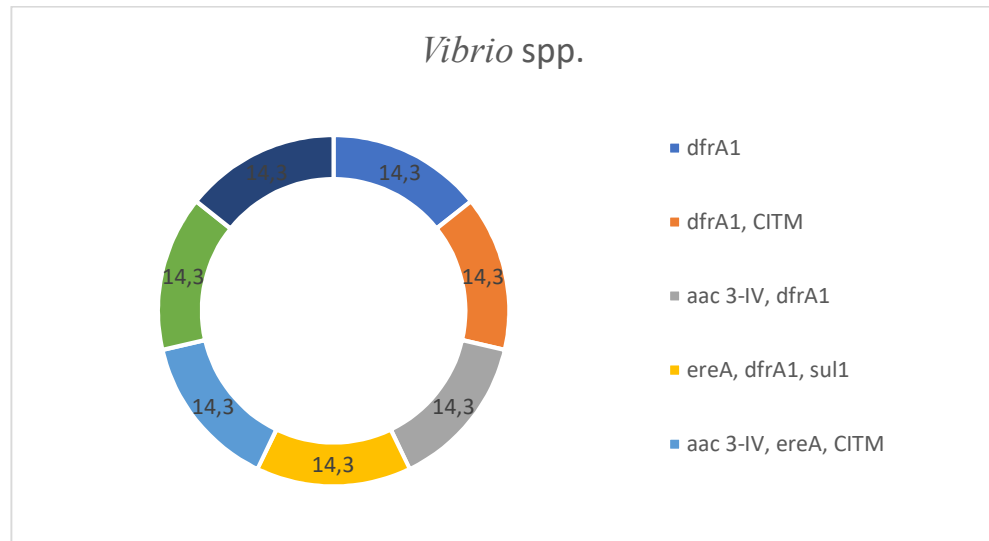
analizinde *tetA*, *tetB* (tetrasiklin direnç geni), *aac-3-IV* (gentamisin direnç geni), *blaSHV* (sefalotin direnç geni) tespit edilmesi dikkat çekicidir.

Vibrio vulnificus (n=1) izolatında ise *dfrA1*, *CITM*, *tetA*, *Qnr*, *sul1* genlerini içeren 5'li antibiyotik direnç geni varlığı belirlenmiştir. *Vibrio vulnificus* izolatının yapılan antibiyogram testleri sonucunda ampisiline %100 oranında dirençli olduğu belirlenmiş ve ampisilin direnç geni olan *CITM* varlığı da moleküler çalışmalarla tespit edilmiştir. Bununla beraber *V.vulnificus* izolatında ampisilin direncinin yanında trimetoprim, tetrasiklin, florokinolon ve sülfonamid direnç geni de bulunmaktadır.

Vibrio spp. (n=7) izolatlarının antibiyotik direnç geni dağılımları Tablo 20'de gösterilmektedir.

Tablo 20. *Vibrio* spp. izolatlarında tespit edilen direnç genleri

| <i>Vibrio</i> spp. | |
|-----------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Direnç genleri | İzolat sayısı |
| <i>dfrA1</i> | 1 |
| <i>dfrA1</i> , <i>CITM</i> | 1 |
| <i>aac 3-IV</i> , <i>dfrA1</i> | 1 |
| <i>ereA</i> , <i>dfrA1</i> , <i>sul1</i> | 1 |
| <i>aac 3-IV</i> , <i>ereA</i> , <i>CITM</i> | 1 |
| <i>aac 3-IV</i> , <i>ereA</i> , <i>dfrA1</i> , <i>tetA</i> , <i>blaSHV</i> | 1 |
| <i>aac 3-IV</i> , <i>ereA</i> , <i>dfrA1</i> , <i>aadA1</i> , <i>blaSHV</i> | 1 |



Şekil 12. *Vibrio* spp. izolatlarında tespit edilen direnç geni yüzdeleri

Vibrio spp. (n=7) izolatlarının 1 (%14,3)'inde tekli antibiyotik direnç geni, 2 (%28,6)'unda 2'li antibiyotik direnç geni, 2 (%28,6)'sında 3'lü antibiyotik direnç geni, 2 (%28,6)'ünde 5'li antibiyotik direnç geni varlığı tespit edilmiştir.

Antibiyotik duyarlılık testlerinde tüm *Vibrio* spp. izolatlarının enrofloksasine duyarlı olduğu tespit edilmiş, yapılan antibiyotik direnç geni çalışmasında da izolatlarda florokinolon direnç geni (*Qnr*) bulunmadığı moleküler olarak ortaya konulmuştur. *Vibrio* spp. izolatlarında *tetB* (tetrasiklin direnç geni) ve *Qnr* (florokinolon direnç geni) haricinde araştırılan antibiyotik direnç genlerinin hepsinin farklı kombinasyonlarla varlığı ortaya konmuştur.

5. TARTIŞMA

Su ürünleri yetiştiriciliği, yüksek protein kaynağının en hızlı büyüyen sektörü olmaya devam etmektedir. Dünya çapında ekonomik kalkınmaya, beslenme standartlarının sağlanmasına katkıda bulunmaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde bakteriyel hastalıkların birçok ülkede hem ekonomik hem de sosyal gelişmeleri etkilediği bilinmektedir. Vibriosis, çeşitli deniz balıklarının ve kabuklu deniz ürünlerini etkileyen en yaygın bakteriyel hastalıklardan biridir. Çevresel mikroorganizma olarak bilinmesine rağmen yetiştiricilik yapılan çiftliklerde hayvanları enfekte eden en yaygın türlerin *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. owensii* ve *V. campbellii* olduğu (Ina-Salwany ve diğerleri, 2019). *Vibrio cholerae*, *V. vulnificus* ve *V. parahaemolyticus*, duyarlı konakçılarda gastroenterite, yara enfeksiyonlarına ve sepsisemiye neden olan, insanlar için en güçlü patojenik türler arasındadır. *Vibrio mimicus*, *V. fluvialis*, *V. furnissii* ve *V. alginolyticus* dahil olmak üzere diğer *Vibrio* türleri de insan patojenleri olarak bildirilmesine rağmen oluşturdukları hastalıklar genellikle daha az şiddetli seyretmektedir (Baker-Austin ve diğerleri, 2018).

Araştırmamızda araştırma materyalini 100 adet vibriosis şüpheli levrek oluşturmuştur. Bakteriyolojik ekimler ve biyokimyasal analizler ve TCBS besi yerinde üremeler sonucunda 46 (%46) izolat *Vibrio* spp. olarak tanımlanmıştır. TCBS besi yerinde 25 (%54,4) koloninin sarı renkte 21 (%45,6) koloninin ise yeşil renkte olduğu belirlenmiştir. Tür bazında identifikasyon amacıyla BD Phoenix otomatize identifikasyon cihazı kullanılmış ve 43 (%93,5) izolatın *Vibrio alginolyticus*, 3 (%6,5) izolatın ise *Vibrio parahaemolyticus* olarak identifiye edilmiştir. Moleküler olarak önce 16S rRNA PCR analizi yapılan izolatların hepsinin *Vibrio* spp. olduğu doğrulanmıştır. Tür identifikasyonu için yapılan multipleks PCR analizi sonucunda 22 (%48) izolat *V. alginolyticus*, 13 (%28) izolat *V. harveyi*, 3 (%7) izolat *V. parahaemolyticus*, 1 (%2) izolat *V. vulnificus* olarak tanımlamaları yapılmıştır. Multipleks PCR'da bant görülmeyen 7 (%15) izolat *Vibrio* spp. olarak tanımlanmıştır. Araştırmamızda *Vibrio alginolyticus* türünün baskın tür olduğu belirlenmiş analiz edilen örneklerden *V. cholerae* ve *V. mimicus* türleri izole ve identifiye edilmemiştir.

Araştırmamızda izolasyon ve identifikasyonda öncelikle konvansiyonel yöntem ve *Vibrio* selektif besiyeri TCBS besi yerindeki üremeler değerlendirilmiş, tür identifikasyonu için PCR analizleri yapılmıştır. Araştırmamıza benzer olarak Raissy ve diğerleri (2012), Uzun ve

Ogut (2015), Abd El Tawab ve diğeri, (2018), Suresh ve diğeri (2018), El Gamal ve El Bahi (2020), Deng ve diğeri (2020), Sadat ve diğeri (2021), Gxalo ve diğeri (2021), Zin ve diğeri (2021) araştırmaları öncelikle konvansiyonel yöntemle ve TCBS besi yerine yapılan ekimlerle *Vibrio* spp. identifikasyonu yaptıktan sonra tür identifikasyonu için PCR analizleri kullanmıştır.

Araştırmamızda biyokimyasal analize dayalı tanımlama yapan BD Phoenix otomatize identifikasyon sistemi ile tür identifikasyonu amacıyla yapılan multipleks PCR analiz bulgularımız paralellik göstermemektedir. Araştırmamıza benzer şekilde Balta ve Yılmaz (2019), Khouadja ve diğeri (2013) çalışmalarında da bazı izolatların biyokimyasal testlerde farklı reaksiyonlar verdiği ve bu nedenle hatalı identifikasyona neden olabildikleri belirtilmiştir. Araştırmamızda kullanılan otomatize identifikasyon cihazının inkubasyon sıcaklığının 35°C olması da *Vibrio* izolatlarının biyokimyasal ve enzimatik aktiviteleri üzerinde etkili olarak farklı türlere benzerlik tanımlamasına neden olabileceği düşünülmektedir. Çeşitli ortamlardaki mikrobiyal varlığı tespit etmek için kültüre dayalı tekniklere güvenilse de, mevcut moleküler yöntemlerin diğeri yöntemlere göre daha spesifik ve hassas olduğu belirtilmiştir. (Franco-Duarte ve diğeri, 2019).

Araştırmamızda baskın olan türün *V. alginolyticus* olduğu belirlenmiştir. Abd El Tawab ve diğeri (2018) Mısır'da 118 adet levrek balığında *Vibrio* spp. varlığı araştırılmıştır. Levreklerden 72'sinde vibriozis belirtileri tespit edilmiştir. Levrekler öncelikle %2 NaCl ilaveli triptik soy brothda 25°C'de 24 saat inkübasyonda bırakılmış daha sonra inokulatlardan TCBS besiyerine pasajlar yapılarak 25°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen kolonilerin biyokimyasal özellikleri API 20E ile yapılmıştır ve konvansiyonel yöntemle 60 (50,8) *Vibrio* izolatı elde etmişlerdir. Tür bazında identifikasyon için PCR analizi yapılmış ve 34 (%56,6) izolatın *V. alginolyticus*; 26 (%43,3) izolatın *V. parahaemolyticus* olduğunu bildirmişlerdir. El-Gamal ve El-Bahi (2020) Mısır'da taze balık marketlerinden 30 çipura, 30 levrek olmak üzere toplam 60 örnekle çalışılmıştır. Örnekler öncelikle alkali peptonlu suda inkübasyona bırakılmış sonrasında ise TCBS besi yerlerine pasajları yapılmıştır. Analiz sonucunda 30 levrekten 6 (% 20) izolatı *Vibrio* spp. olarak tanımlamışlardır. Bu izolatlardan 3 (%50) izolat *V. alginolyticus*, 1 (%3,3) izolat *V. parahaemolyticus*, 1 (%3,3) izolat *V.harveyi*, 1 (%3,3) izolat *V. vulnificus* olarak tanımlanırken *V. mimicus* türünün izole edilmediği belirtilmiştir. Sadat ve diğeri (2021) Mısır'da yaptığı araştırmada 6 farklı balık türünden 50'şer adet olmak üzere toplam 300 örnekle çalışıldığı belirtilmiştir. Toplanan örneklerden öncelikle %2 NaCl ilaveli alkali peptonlu suya ekim yapılmış 37°C'de 18 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra TCBS besine

pasajlar yapılarak 37°C'de 18 saat sonunda sarı renk veren koloniler *V. cholerae*, *V. alginolyticus* ve *V. mimicus* olarak yeşil renk veren koloniler ise *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* olarak tanımlanmıştır. Elde edilen kolonilerin tür doğrulaması multipleks PCR ile yapılmıştır. Analizler sonunda kültür ve biyokimyasal testler sonucunda 92 (%30,7) izolat *Vibrio* spp. olarak tanımlanmıştır. Tür identifikasyonu için yapılan PCR analizinde 50 (%54,3) izolatın *V. alginolyticus*, 42 (%45,7) izolatın *V. parahaemolyticus* olarak tanımlandığı belirtilmiştir. Shahimi ve diğerleri (2021) yılında istiridyelerden elde edilen 58 *Vibrio* spp. izolatından 24 (%41,3) izolatın *V. alginolyticus* olduğu PCR ile tanımlanmıştır. Zin ve diğerleri (2021) Malezya'da yapmış oldukları çalışmada 90 levrek ile çalışmış ve *V. alginolyticus* varlığı araştırılmıştır. Numunelerden TCBS besi yerlerine pasaj yapılmış ve oluşan kolonilerin biyokimyasal analizleri yapılmıştır. Şüpheli kolonilerin tür bazında doğrulanmasında PCR analizi kullanılmıştır. Konvansiyonel yöntemle TCBS besi yerinde 180 sarı, yaygın koloni tespit edilmiştir. PCR analizinde 37(%20,5) izolatın *Vibrio* spp. olduğu bu izolatlardan 15 (%40,5) izolatın *V. alginolyticus* olarak identifiye edildiği bildirilmiştir. Yapılan araştırmalar incelendiğinde hem izolasyon ve identifikasyonda kullanılan yöntemler hem de baskın türün *V. alginolyticus* olmasıyla yaptığımız araştırmayla benzerlik gösterdiği görülmektedir.

El- Sharaby ve diğerleri (2018) Mısır'da farklı balık türlerinden toplam 200 numune ile çalışmıştır. İç organlardan aseptik koşullarda alınan örnekler öncelikle %3 NaCl ilaveli triptik soy brothda 25°C'de 24 saat inkubasyona bırakılmış daha sonra bu inokulatlardan %3 NaCl ilaveli TSA'ya ve TCBS besi yerlerine pasajlar yapılmıştır. Biyokimyasal analizler API 20E, API 20NE ve Vitek 2 Compact sistemiyle yapıldığı belirtilmiştir. Analizler sonucunda 200 numunedan 78 (%39) *Vibrio* spp. izolatı elde edildiği belirlenmiştir. Vitek 2 sisteminde 23 (%29,5) izolat *V. harveyi*, 22 (%28,2) izolat *V. anguillarum*, 13 (%16,6) izolat *V. vulnificus*, 12 (%15,3) izolat *V. alginolyticus* ve 8 (%10,2) izolat *V. fluvialis* olarak tanımlanmıştır. Araştırmamızda da *V.harveyi* prevalansı %28 olup El-Sharaby ve diğerleri (2018) çalışmasıyla benzerlik göstermektedir.

Araştırmamızda elde edilen izolatlardan 3 (%7) izolat *V. parahaemolyticus* identifiye edilmiştir. Yang ve diğerleri (2017) Çin'de 224 balık numunesinde *V.parahaemolyticus* varlığı araştırılmıştır. Örnekler öncelikle tuz ilaveli alkali peptonlu suda 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra TCBS besi yerine pasajlanmıştır. Besi yerinde yeşil ve yeşil-mavi koloniler araştırmada kullanılmış biyokimyasal analizler API 20E ile yapılmıştır. Çalışılan 224 balık numunesinden 21 (%9,38) izolatın *V. parahaemolyticus* olarak tanımlandığı bildirilmiştir. Suresh ve diğerleri (2018) 105 sazan balığıyla yaptığı çalışmada alınan numuneler %3 NaCl

ilaveli alkali peptonlu suda inkubasyona bırakılmıştır. İnokulatlardan TCBS besi yerine pasajlar yapılmıştır. *Vibrio parahaemolyticus* ve *V. vulnificus* yeşil renkte koloni oluştururken *V. cholerae* ve *V. alginolyticus* sarı renkte koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Analizler sonucunda 87 (%82,89) *Vibrio* spp. izolatu elde ettikleri belirtilmiştir. Tüm izolatlardan 6 (%6,9) izolat *V. parahaemolyticus*, 4 (%4,6) izolat *V. alginolyticus*, 3 (%2) izolat *V. cholerae*, 2 (%1,3) izolat *V. vulnificus*, olarak tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda *V. parahaemolyticus* prevalanslarının araştırmamızla benzerlik gösterdiği görülmektedir. Diğer türler arasındaki farkların ise coğrafi farklılıklardan ve tek bir tür araştırılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Araştırmamızla farklılık gösteren çalışmalar da mevcuttur. Raissy ve diğerleri (2012) İran'da yapmış olduğu çalışmada deniz ürünleri ile çalışılmış ve 72 *Vibrio* spp. izolatu elde edildiği bildirilmiştir. Elde edilen izolatlardan PCR analizi ile 22 (%30,5) izolat *V. vulnificus*, 20 (%27,7) izolat *V. alginolyticus*, 10 (%13,8) izolat *V. parahaemolyticus*, 10 (%13,8) izolat *V. harveyi*, 7 (%10) izolat *V. mimicus* ve 3 (%4) izolat ise *V. cholerae* olarak tanımlanmıştır. Baskın türün *V. vulnificus* olduğu bildirilmiştir. Deng ve diğerleri (2020) Çin'in güneyinde yaptığı araştırmada balık yetiştiriciliği yapılan çiftliklerde hasta deniz balıklarından elde edilen 70 *Vibrio* spp. izolatu ile çalışmışlardır. *Vibrio* izolatlarına yapılan PCR analiziyle 27 (%38,5) izolat *V. harveyi*, 11 (%15,7) izolat *V. vulnificus*, 10 (%14,3) izolat *V. alginolyticus*, 3 (%4,3) izolat *V. parahaemolyticus* olarak tanımlandığı bildirilmiştir. Araştırmada izole edilen *Vibrio* türlerinin daha önceki çalışmalardan elde edildiği belirtilmiş ve identifikasyon şeması hakkında bilgi verilmemiştir. Khouadja ve diğerlerinin (2013) de belirttiği üzere identifikasyondaki metodolojik farklılıklar türlerin farklı olarak tanımlanmasına neden olabilmektedir. Çalışmalarda elde edilen türlerin bölgesel dağılımları, hangi izolatların hangi çiftliklerden alındığının bilinmemesi, su sıcaklığı, mevsim gibi birçok parametreyle değiştiği düşünüldüğünde araştırmamızla oluşan farkın bu nedenlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Siddique ve diğerleri (2021) Bangladeş'te farklı kaynaklardan (balık, sediment, su) toplam 216 numune ile *V. parahaemolyticus* varlığını araştırmıştır. Balıkların iç organları önce %3 NaCl ilaveli alkali peptonlu suda inkubasyona bırakıldıktan sonra TCBS besiyerlerine pasajları yapılarak 37°C'de 24 saat inkubasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda yeşil ve mavi yeşil renkte koloniler değerlendirmeye alınmıştır. Tür doğrulamaları Vitek2 sistemi ile yapılmıştır. Analizler sonucunda 130 (%60,2) izolatu *V. parahaemolyticus* olduğu bildirilmiştir. Araştırmamız bulgularıyla farklılık gösteren bu çalışmada coğrafi farklılıklar

yanında örnek farklılığı ve tek bir tür araştırıldığı ve farklılığın bu nedenle olduğu düşünülmektedir.

Ülkemizde yapılan araştırmalarla araştırmamız arasında da farklılıklar bulunmaktadır. Uzun ve Ogut (2015) Türkiye’de Karadeniz bölgesinde 477 levrek örneğiyle çalışmıştır. Konvansiyonel yöntemle yapılan identifikasyonda 89 (%18,6) izolat elde edilmiş ve bunlardan 14 (%15,7) izolatın *Vibrio* türü olduğu belirlenmiştir. Tür identifikasyonu için yapılan PCR analizinde izolatlardan 6 (%42,8) izolat *V. vulnificus*, 6 (%42,8) izolat *V. harveyi* ve 2 (%14,2) izolat *V. rotiferanus* olarak tanımlanmıştır. Araştırmamızda örneklemeler Ege bölgesinden ve Mayıs-Eylül ayları arasında yapılmıştır. Uzun ve Ogut örneklemelerini Karadeniz bölgesinden yapmış ve 2009-2011 yılları arasındaki farklı aylarda yapmıştır. Örnekleme yapılan ay ve *Vibrio* izolasyon oranları arasındaki ilişkiyi belirten bir veri bulunmamaktadır. Bu nedenle araştırmamız bulguları ile olan farklılığın hem bölgesel hem de mevsimsel olabileceği düşünülmektedir.

Korun ve diğerleri (2013) Türkiye’de levrek örnekleriyle çalışmış ve bu örneklerde *V. alginolyticus* varlığı araştırılmıştır. İç organlardan brain hearth infüzyon agar ve triptik soy agara ekimler yapıldıktan sonra $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ ’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen koloniler TCBS besiyerine pasajlandıktan sonra API 20NE ile biyokimyasal testleri ve tanımlamaları yapılmıştır. Analizler sonucunda 15 (%100) izolat *V. alginolyticus* olarak tanımlanmıştır. Korun (2016) Türkiye’de 15 levrek balığı ile çalışmış ve *V. harveyi* varlığı araştırılmıştır. Bu amaçla %1,5 NaCl ilaveli besiyerine ekimler yapılmış $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ ’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen koloniler TCBS besiyerine pasajlandıktan sonra API 20NE ile biyokimyasal testleri ve tanımlamaları yapılmıştır. Analizler sonucu 13 (%86,6) izolat *V. harveyi* olarak tanımlanmıştır. Balta ve Yılmaz (2019) Türkiye’de 520 vibriozis şüpheli levrek örneği ile çalışılmış ve iç organlardan %1,5 NaCl ilaveli TSA’ya ve TCBS’ye ekimler yapıldıktan sonra $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ ’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen kolonilere biyokimyasal testler ve API 20E analizi uygulanmıştır. Analizler sonucunda TCBS besi yerinde 52 koloni elde edilmiş bunlardan 34’ünün sarı renkte, 18’inin yeşil renkte olduğu belirtilmiştir. Elde edilen 18 (%34,6) yeşil koloni *V. parahaemolyticus* olarak tanımlanmıştır. API 20E testlerinde 15 izolat *V. parahaemolyticus* olarak tanımlanmıştır. Sekansı yapılan 18 izolat *V. parahaemolyticus* olarak doğrulanmıştır. Yapılan araştırmalarda araştırmamız karşılaştırıldığında identifikasyon metodları ve araştırılan tür çeşitliliği ve su sıcaklığı parametrelerinde farklılıklar görülmektedir ve bulgularımız arasındaki farklılığın bunlara bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Araştırmamızda *Vibrio* izolatlarının ampisiline %84,8; streptomisine %54,4; sefalotine %6,5; gentamisine %6,5; tetrasikline %4,3 oranında dirençli olduğu belirlenmiştir. İzolatların sulfametoksazol-trimetoprim ve enrofloksasine %100; florfenikole %97,8; tetrasikline %93,5, sefalotine %82,6; gentamisine %80,5 oranında duyarlı olduğu tespit edilmiştir. İzolatların en dirençli olduğu antibiyotığın ampisilin olduğu belirlenmiştir.

Raissy ve diğerleri (2012) *Vibrio* spp. izolatlarının (n=72) antibiyotik direnç profillerini belirlemek amacıyla yaptıkları disk diffüzyon analizi sonucunda 70 (%97,2) izolatın ampisiline dirençli olduğu, Surehs ve diğerleri (2018) elde ettikleri 15 *Vibrio* spp. izolatının ampisiline %93,38 oranında dirençli olduğu ve en yüksek direncin ampisiline karşı geliştiği belirtilmiştir. Araştırmamızda da çalışmalara benzer olarak tüm *Vibrio* izolatlarında en yüksek direncin ampisiline (%84,8) karşı olduğu belirlenmiştir.

Araştırmamız bulgularından farklı olarak Raissy ve diğerleri (2012) *Vibrio* spp. izolatlarının (n=72) 60 (%83,3) izolatın gentamisine, 18 (%25) izolatın streptomisine, 13 (%18,1) izolatın tetrasikline karşı dirençli olduğunu bildirmiştir. Surehs ve diğerleri (2018) *Vibrio* spp. izolatlarının gentamisine %80; tetrasikline %33,33 ve streptomisine %6,66 oranında direnç saptanmıştır. Deng ve diğerleri (2020) izole edilen 70 *Vibrio* spp. izolatının antibiyotik dirençliliğini disk diffüzyon yöntemi kullanarak belirlemiş ve sonuç olarak gentamisine %12,8; tetrasikline %10; sulfometaksazol trimetoprime %7,1 oranında dirençli olduğu belirlenmiştir. Araştırmamızla olan farklılıkların tedavide kullanılan antibiyotik farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Araştırmamızda *Vibrio alginolyticus* izolatlarının enrofloksasin, sulfametoksazol-trimetoprim, florfenikol, sefalotine %100 oranında duyarlı; ampisiline %82, streptomisine ise %54,5 oranında dirençli olduğu tespit edilmiştir. *Vibrio alginolyticus* izolatlarının florokinolon, sulfanomid ve fenikol grubu antibiyotiklere direnç geliştirmediği belirlenmiştir. Korun ve diğerleri (2013) tüm *V.alginolyticus* izolatların streptomisine dirençli olduğu belirtilirken sülfanomidlere, tetrasikline, trimetoprime ve sulfametoksazole ise duyarlı olduğu bildirilmiştir. Surehs ve diğerleri (2018) *V. alginolyticus* izolatlarının ampisiline %100; gentamisine %75; tetrasikline %50 dirençli olduğu belirtilirken streptomisine direnç tespit edilmemiştir. Zin ve diğerleri (2021) *V. alginolyticus* izolatlarının ampisiline (73%) oranında direnç görülürken izolatların %50'sinden fazlasının gentamisin, trimethoprim/sulfamethoxazole duyarlı olduğu belirlenmiştir. Shahimi ve diğerleri (2021) *V. alginolyticus* izolatlarından 3 (%12,5) izolatta ampisiline, 2 (%8,3) izolatta eritromisine karşı direnç belirlenmiştir. Sadat ve diğerleri (2021) *V. alginolyticus* izolatları ampisiline %96, tetrasikline %28, gentamisine %2 dirençli olduğu

bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde *V.alginolyticus* izolatlarının ampisilin ve streptomisine karşı farklı oranlarda direnç görülmekte ve araştırmamızla uyum göstermektedir.

Araştırmamızda elde edilen *V.parahaemolyticus* izolatlarının enrofloksasin, sulfametoksazol-trimetoprim, florfenikol, tetrasiklin, gentamisin ve sefalotine %100 oranında duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Streptomisine %66,7, ampisiline %33,3 oranında dirençli olduğu belirlenmiştir. Surehs ve diğerleri (2018) *V. parahaemolyticus* izolatlarının ampisiline %83,3; gentamisine %83,3; tetrasikline %33,3; streptomisine %1,6 oranında dirençli olduğu tespit edilmiştir. Yang ve diğerleri (2017) tüm *V. parahaemolyticus* izolatlarının ampisiline %79,59, streptomisine %68,37, gentamisine %17,35, tetrasikline %13,27, sulfametoksazol-trimetoprim %9,18 oranında dirençli olduğunu bildirmişlerdir. El-Gamal ve El-Bahi (2020) *V. parahaemolyticus* izolatlarının ampisilin, streptomisin ve gentamisine dirençli olduğu rapor edilmiştir. Sadat ve diğerleri (2021) elde ettikleri *V. parahaemolyticus* izolatlarının ampisiline %92, gentamisine %43; tetrasikline %30 oranında dirençli olduğu bildirilmiştir. Siddique ve diğerleri (2021) izole ettikleri *V. parahaemolyticus* izolatlarının ampisiline %94,1; gentamisine %11,8; streptomisine %5,9 oranında direnç tespit edilirken tetrasiklin ve sulfametoksazol trimetoprim direnç gelişmediği belirtilmiştir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde *V.parahaemolyticus* izolatlarının ampisilin ve streptomisine karşı farklı oranlarda direnç görülmekte ve araştırmamızla uyum göstermektedir. Bulgularımızdaki farklılıkların ise tedavide tercih edilen antibiyotik çeşitlerinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Araştırmamızda *V.harveyi* izolatlarının enrofloksasin, sulfametoksazol-trimetoprim, florfenikol, tetrasikline %100 oranında duyarlı; ampisiline karşı %100 oranında dirençli olduğu tespit edilmiştir. Korun (2016) *V. harveyi* izolatlarının antibiyogram analizi için disk diffüzyon tekniği kullanmış ve analizi 2 farklı sıcaklık derecelerinde gerçekleştirmiştir. Bunun sonucunda 22°C'de yapılan antibiyogram sonucunda izolatların ampisiline, streptomisine, sulfametoksazole dirençli; 28°C'de yapılan antibiyogram sonucunda streptomisine direnç görülürken ampisilin ve sulfametoksazole ise duyarlı olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada 22°C'de tespit edilen ampisilin direnci bulgularımızla benzerlik göstermektedir.

Surehs ve diğerleri (2018) *Vibrio vulnificus* izolatlarının ampisiline %100; gentamisine %100 dirençli olduğu belirtilmiş ancak streptomisin ve tetrasikline duyarlı oldukları bildirilmiştir. Gxalo ve diğerleri (2021) *V. vulnificus* izolatlarının tümünde ampisiline karşı direnç olduğu tespit edilmiştir. Araştırmamızda *V.vulnificus* izolatının enrofloksasin, sulfametoksazol-trimetoprim, florfenikol ve tetrasikline %100 oranında duyarlı; ampisiline ise

%100 oranında dirençli olduğu belirlenmiş ve bulgularımızın Gxalo ve diğerleri (2021) araştırmasıyla paralellik gösterdiği görülmektedir.

Araştırmamızda antibiyotik türü bazında yapılan incelemede 21 (%45,6) izolatın 1 antibiyotik türüne, 19 (%41,3) *Vibrio* izolatının 2 antibiyotik türüne, 1 (%2) izolatın 3 antibiyotik türüne ve 2 (%4) *Vibrio* izolatının 4 antibiyotik türüne karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. Antibiyotik gruplarına göre yapılan değerlendirmede 44 (%95) *Vibrio* izolatının en az 1 antibiyotik grubuna, 20 (%43,4) izolatın 2 antibiyotik grubuna, 2 (%4,3) izolatın 3 antibiyotik grubuna karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. İki izolatın (%4,6) hiçbir antibiyotik grubuna direnç geliştirmedeği görülmüştür. Shahimi ve diğerleri (2021) *V. alginolyticus* izolatlarından 11 (%45,8) *V.alginolyticus* izolatının bir veya daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. Raissy ve diğerleri (2012) *Vibrio* izolatlarından 8 (%11) izolatın 4 antibiyotiğe, 19 (%26,4) izolatın 5 antibiyotiğe, 10 (%13,8) izolatın 6 antibiyotiğe, 34 (%47,2) izolatın 7 antibiyotiğe ve 1 (%1,3) izolatın 8 antibiyotiğe karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. Yang ve diğerleri (2017) 67 (%68,38) *Vibrio* izolatının 3'ten fazla antibiyotiğe direnç gösterdiği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarla araştırmamız bulguları karşılaştırıldığında diğer araştırmalardaki direncin ve direnç çeşitliliğinin daha yüksek olması dikkat çekmektedir. Çalışma yapılan bölgelerdeki tedavi protokolleri, kullanılan antibiyotik çeşitliliklerinin fazla olması araştırmamızla bulgularıyla olan farklılığın sebebi olduğu düşünülmektedir.

Araştırmamızda direnç geni sayısına bakıldığında 2 (%4,3) izolatta 1 direnç geni, 15 (%32,6) izolatta 2 direnç geni, 16 (%34,7) izolatta 3 direnç geni, 6 (%13) izolatta 4 direnç geni, 4 (%8,6) izolatta 5 direnç geni, 1 (%2) izolatta 7 direnç geni olduğu belirlenmiş 2(%4,3) izolatta ise direnç geni belirlenmemiştir. Yirmi dokuz (%63) izolatta trimetoprim direnç geni, 27 (%58) izolatta eritromisin direnç geni, 24 (%52) izolatta gentamisin direnç geni, 20 (%43) izolatta sefalotin direnç geni, 11(%24) izolatta tetrasiklin geni, 6 (%13) izolatta ampisilin direnç geni, 5 (%11) izolatta sülfonamid direnç geni, 5 (%11) izolatta streptomisin direnç geni, 3 (%7) izolatta florokinolon direnç geni tekli veya çoklu kombinasyonlar şeklinde tespit edilmiştir. Raissy ve diğerleri (2012) *Vibrio* izolatlarında (n=72) streptomisin, tetrasiklin, eritromisin direnç genlerini belirlemek amacıyla yapmış oldukları PCR işleminde 20 (%27,7) izolatta tekli veya çoklu direnç geni tespit edildiğini belirtmiştir. Analiz sonucunda 18 (%25) izolatta streptomisin direnç geni, 6 (%8,3) izolatta tetrasiklin direnç geni, 5 (%7) izolatta eritromisin direnç geni saptandığı belirtilmiştir. Gxalo ve diğerleri (2021) direnç geni varlığı için yapılan PCR analizinde tüm *V.vulnificus* izolatlarında (%100) ampisilin direnç geni tespit edildiği belirtilmiştir. Faja ve diğerleri (2019) yaptığı araştırmada en yüksek direnç geninin (%80,64)

betalaktamazlar, en düşük direnç geninin ise (%16,12) ile florkenikole ait olduğu belirtilmiştir. İzolatlarda tetrasiklin direnç geninin %41,93, streptomisin direnç geninin %54 oranında bulunduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde çoklu antibiyotik direncine sahip izolat sayısı da dahil olmak üzere antibiyotik direnç genleri de farklılıklar göstermektedir. Araştırmamızda *Vibrio* izolatlarında tespit edilen en yüksek antibiyotik direnç geni trimeoprime, en düşük direnç geni ise florokinolon direnç geni olduğu görülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kültür balıkçılığı Dünya’da ve ülkemizde hayvansal protein temininde önemli yer tutmaktadır. Beslenme zincirine sağladığı katkıların yanında istihdam sağlayarak ve yapılan ihracatlarla da ülke ekonomisine katkıda bulunmaktadır. Oluşturulan sistemin sağlıklı şekilde sürdürülebilmesi balık sağlığı ile mümkün olmaktadır. Hastalıklar iş yükünü artırması, antibiyotik giderleri, öngörülen satışın sağlanamaması gibi giderlerle işletmelerin ekonomisine zarar vermektedir. *Vibrio* türlerinin de kültür balıkçılığında sıklıkla rastlanan ve ölümlere sebep olan primer etkenlerden biri olduğu bilinmektedir.

Hastalıkların tanısında seçilen teknik ve seçilen tedavi yönteminin uygun şekilde belirlenmesi kayıpların önlenmesi açısından oldukça elzemdir. Hatalı identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda mikroorganizmalar direnç kazanmakta, mikroorganizmaların duyarlı olmadığı antibiyotiklerin kullanılmasıysa hem tedavi sürecinin uzamasına, hem gereksiz antibiyotik maliyetine ve denizlerde, yetiştiricilik yapılan sistemlerde antibiyotik kalıntılara sebebiyet vermektedir.

Araştırmamızda vibriosis şüphesiyle ölmüş levrek balıklarındaki *Vibrio* türleri araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda levrek balıklarında *Vibrio* türlerinin varlığı moleküler olarak tespit edilmiştir. Antibiyogram ve antibiyotik direnç genlerinin PCR analizleri sonucunda elde edilen *Vibrio* türlerinde çoklu antibiyotik direnci geliştiği ortaya konulmuştur. *Vibrio* türlerinde konvansiyonel yöntemler yerine moleküler yöntemlerle identifikasyonunun yapılması gerektiği, antibiyotik seçimlerinde antibiyotik duyarlılık/direnç testleri sonucunda duyarlı olan antibiyotik türünün kullanılması gerektiği önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abd El Tawab, A., Ibrahim, A. M., Sittien, A. (2018). Phenotypic and Genotypic characterization of *Vibrio* species isolated from marine fishes. *Benha Veterinary Medical Journal*, 34(1), 79-93. doi:10.21608/bvmj.2018.53527
- Abdel-Aziz, M., Eissa, A. E., Hanna, M., Abou Okada, M. (2013). Identifying some pathogenic *Vibrio/Photobacterium* species during mass mortalities of cultured Gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*) from some Egyptian coastal provinces. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 1(2), 87-95. doi:10.1016/j.ijvsm.2013.10.004
- Actis, L. A., Tolmask Y, M. E., Crosa J.H. (2011). Vibriosis. In P.T.K. Woo and D.W. Bruno (Eds.) *Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections* (pp. 571–605). CABI Publishing, Wallington, UK.
- Aguirre-Guzmán, G., Mejia Ruíz, H., Ascencio, F. (2004). A review of extracellular virulence product of *Vibrio* species important in diseases of cultivated shrimp. *Aquaculture Research*, 35(15), 1395-1404. doi:10.1111/j.1365-2109.2004.01165.x
- Akaylı, T., Çolak, S. O., Yardımcı, E. (2008). Bacterial infections in *Sparus aurata* cultured in Turkey. In *Proceedings of the Middle East & North Africa (MENA) Region Animal Wealth Research Conference. Future of animal wealth, Cairo International Convention Center, Egypt, 16-18 October, 2008*(pp. 47-56). Massive Conferences and Trade Fairs.
- Akşit, D., Cavit, K. (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.
- Albert, V., Ransangan, J. (2013). Effect of water temperature on susceptibility of culture marine fish species to vibriosis. *International Journal of Research in Pure and Applied Microbiology*, 3(3), 48-52.
- Alexander, T. W., Yanke, J. L., Reuter, T., Topp, E., Read, R. R., Selinger, B. L., McAllister, T. A. (2011). Longitudinal characterization of antimicrobial resistance genes in feces shed from cattle fed different subtherapeutic antibiotics. *BMC Microbiology*, 11(1), 1-12. doi:10.1186/1471-2180-11-19

- Allen, H. K., Donato, J., Wang, H. H., Cloud-Hansen, K. A., Davies, J., Handelsman, J. (2010). Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature Reviews Microbiology*, 8(4), 251-259. doi:10.1038/nrmicro2312
- Al-Saari, N., Gao, F., AKM Rohul, A., Sato, K., Sato, K., Mino, S., Sawabe, T. (2015). Advanced microbial taxonomy combined with genome-based-approaches reveals that *Vibrio astriarenae* sp. nov., an agarolytic marine bacterium, forms a new clade in Vibrionaceae. *PLoS One*, 10(8), e0136279. doi:10.1371/journal.pone.0136279
- Alsina, M., Blanch, A. R. (1994). A set of keys for biochemical identification of environmental *Vibrio* species. *Journal of Applied Bacteriology*, 76(1), 79-85. doi:10.1111/j.1365-2672.1994.tb04419.x
- Amaral, G. R. S., Dias, G. M., Wellington-Oguri, M., Chimetto, L., Campeao, M. E., Thompson, F. L., Thompson, C. C. (2014). Genotype to phenotype: identification of diagnostic vibrio phenotypes using whole genome sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(Pt_2), 357-365. doi:10.1099/ijs.0.057927-0
- Andersson, D. I., ve Levin, B.R. (1999). The Biological Cost of Antibiotic Resistance. *Current Opinion in Microbiology*, 2, 489-493. doi: 10.1128/9781555815615.ch21
- Arslan, G., Yıldız, P. O. (2021) *Türkiye Su Ürünleri Sektörüne Genel Bakış*. Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 7(1): 46-57 ISSN 2147-2254
- Austin, B., Austin, D. A., Munn, C. B. (2007). *Bacterial fish pathogens: disease of farmed and wild fish* (Vol. 26). Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- Austin, B. (2010). Vibrios as causal agents of zoonoses. *Veterinary microbiology*, 140(3-4), 310-317. doi:10.1016/j.vetmic.2009.03.015
- Austin, B., D. A. Austin. (2012). *Bacterial fish pathogens: diseases of farmed and wild fish*, 5th edition. Springer, Berlin.
- Bagni, M. (2005) *Cultured Aquatic Species Information Programme. Dicentrarchus labrax*. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchus_labrax/en adresinden erişildi.
- Baker-Austin, C., Oliver, J. D., Alam, M., Ali, A., Waldor, M. K., Qadri, F., Martinez-Urtaza, J. (2018). *Vibrio* spp. infections. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 1-19. doi:10.1038/s41572-018-0005-8

- Balta, F. (2016). Phenotypic, serotypic and genetic characterization and antimicrobial susceptibility determination of *Vibrio anguillarum*, isolated from cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) in the southeast Black Sea, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25(10), 4393-4400.
- Balta, F., ve Yılmaz, H. (2019). Kültür levreklerinde (*Dicentrarchus labrax*) *Vibrio parahaemolyticus* enfeksiyonu. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(2), 104-110. doi:10.35229/jaes.527258
- Baran, İ. (1980). Çifteler-Sakaryabaşı Balık Üretim ve Araştırma İstasyonunda, Alabalıklarda (*Salmo Gairdneri Irideus*) Görülen Bakteriyel Hemorajik Septisemi Hastalığı Üzerinde İncelemeler. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 27(03.04). doi: 10.1501/Vetfak_0000000838
- Beijerinck, M. W. (1889). Le Photobacterium luminosum, bacterie lumineuse de la mer de nord. Archives Neerlandaises des Science Exact de Naturelles. *Haarlem*, 23, 401-415.
- Bhullar, K., Waglechner, N., Pawlowski, A., Koteva, K., Banks, E. D., Johnston, M. D., Wright, G. D. (2012). Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome. *PLoS one*, 7(4), e34953. doi:10.1371/journal.pone.0034953
- Bilgehan H (1995). Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Fakülteler Kitapevi, 2. Basım, İzmir.
- Bondad-Reantaso, M. G., Subasinghe, R. P., Arthur, J. R., Ogawa, K., Chinabut, S., Adlard, R., Shariff, M. (2005). Disease and health management in Asian aquaculture. *Veterinary Parasitology*, 132(3-4), 249-272. doi:10.1016/j.vetpar.2005.07.005
- 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. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.02.025
- Bruun, M. S. (2001). *Antimicrobial resistance in aquatic environments-with emphasis on the fish pathogen Flavobacterium psychrophilum and oxytetracycline resistance*. Ph.D. Thesis, Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark.
- Buschmann, A. H., Tomova, A., López, A., Maldonado, M. A., Henríquez, L. A., Ivanova, L., Cabello, F. C. (2012). Salmon aquaculture and antimicrobial resistance in the marine environment. *PLoS ONE*, 7(8), e42724. doi:10.1371/journal.pone.0042724

- Bush, K., Courvalin, P., Dantas, G., Davies, J., Eisenstein, B., Huovinen, P., Zgurskaya, H. I. (2011). Tackling antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 9(12), 894-896. doi:10.1038/nrmicro2693
- Candan, A. (1991). Çipura (*Sparus aurata* L. 1758) yetiştiriciliğinde mevsimsel olarak görülen hastalık etkenlerinin tesbit ve tedavi yönteminin geliştirilmesi. *Fen Bil. Enst. İstanbul Univ*, 76.
- Candan, A. (1993). Çipura (*Sparus aurata* L. 1758) balıklarında *Vibrio anguillarum* enfeksiyonu. *Türk Mikrobiyoloji Cem. Dergisi*, 23, 25-27.
- Chatain, B., Chavanne, H. (2009). La génétique du bar (*Dicentrarchus labrax* L.). *Cahiers Agricultures*, 18(2-3), 249-255.
- Chavanne, H., Janssen, K., Hofherr, J., Contini, F., Haffray, P., Komen, H., Bargelloni, L. (2016). A comprehensive survey on selective breeding programs and seed market in the European aquaculture fish industry. *Aquaculture International*, 24(5), 1287-1307. doi: 10.1007/s10499-016-9985-0
- Cheng, A. C., Cheng, S. A., Chen, Y. Y., Chen, J. C. (2009). Effects of temperature change on the innate cellular and humoral immune responses of orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 26(5), 768-772. doi:10.1016/j.fsi.2009.03.011
- Choi, J. H., Ryu, K. S. (1987). Responses of broilers to dietary zinc bacitracin at two different planes of nutrition. *British Poultry Science*, 28(1), 113-118. doi:10.1080/00071668708416942
- Chong, R., Bousfield, B., Brown, R. (2011). Fish disease management. *Veterinary Bulletin-Agriculture, Fisheries and Conservation Department Newsletter*, 1, (1-12).
- Choopun, N., Louis, V., Huq, A., Colwell, R. R. (2002). Simple procedure for rapid identification of *Vibrio cholerae* from the aquatic environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(2), 995-998. doi:10.1128/AEM.68.2.995-998.2002
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2018). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing Vol. supplement M100 (CLSI).
- Colquhoun, D. J., & Sørum, H. (2001). Temperature dependent siderophore production in *Vibrio salmonicida*. *Microbial Pathogenesis*, 31(5), 213-219. doi:10.1006/mpat.2001.0464

- Colquhoun, D. J., Aarflot, L., Melvold, C. F. (2007). gyrA and parC mutations and associated quinolone resistance in Vibrio anguillarum serotype O2b strains isolated from farmed Atlantic cod (Gadus morhua) in Norway. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(7), 2597-2599. doi:10.1128/AAC.00315-07
- Comerlato, C. B., Resende, M. C. C. D., Caierão, J., d'Azevedo, P. A. (2013). Presence of virulence factors in Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium susceptible and resistant to vancomycin. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 108, 590-595. doi:10.1590/S0074-02762013000500009
- Çağırğan, H. (1993). The First Isolation Pasteurella piscicida from Cultured Sea Bream (Sparus aurata) in Turkey. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 3(2), 82-83.
- Dafwang, I. I., Cook, M. E., Sunde, M. L. (1987). Interaction of dietary antibiotic supplementation and stocking density on broiler chick performance and immune response. *British Poultry Science*, 28(1), 47-55. doi:10.1080/00071668708416935
- Damir, K., Irena, V. S., Damir, V., Emin, T. (2013). Occurrence, characterization and antimicrobial susceptibility of Vibrio alginolyticus in the Eastern Adriatic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 75(1-2), 46-52. doi:10.1016/j.marpolbul.2013.08.008
- Dancer, S. J., Shears, P., & Platt, D. J. (1997). Isolation and characterization of coliforms from glacial ice and water in Canada's High Arctic. *Journal of Applied Microbiology*, 82(5), 597-609. doi:10.1111/j.1365-2672.1997.tb03590.x
- Davies, J. (1994). Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science*, 264(5157), 375-382. doi:10.1126/science.8153624
- D'Costa, V. M., McGrann, K. M., Hughes, D. W., Wright, G. D. (2006). Sampling the antibiotic resistome. *Science*, 311(5759), 374-377. doi:10.1126/science.1120800
- Defoirdt, T., Bossier, P., Sorgeloos, P., Verstraete, W. (2005). The impact of mutations in the quorum sensing systems of Aeromonas hydrophila, Vibrio anguillarum and Vibrio harveyi on their virulence towards gnotobiotically cultured Artemia franciscana. *Environmental Microbiology*, 7(8), 1239-1247. doi:10.1111/j.1462-2920.2005.00807.x
- Demircan, D., Candan, A. (2006). Identification of Vibrio anguillarum by PCR (rpoN gene) associated with vibriosis in marine fish in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 30(3), 305-310. doi: 10.3906/vet-0505-15

- Deng, Y., Xu, L., Chen, H., Liu, S., Guo, Z., Cheng, C., ... Feng, J. (2020). Prevalence, virulence genes, and antimicrobial resistance of *Vibrio* species isolated from diseased marine fish in South China. *Scientific Reports*, *10*(1), 1-8. doi:10.1038/s41598-020-71288-0
- Done, H. Y., Venkatesan, A. K., Halden, R. U. (2015) Does the Recent Growth of Aquaculture Create Antibiotic Resistance Threats Different from those Associated with Land Animal Production in Agriculture, *AAPS Journal*, *17*(3) 513-524 doi: 10.1208/s12248-015-9722-z
- Egidius, E., Wiik, R., Andersen, K., Hoff, K. A., Hjeltnes, B. (1986). *Vibrio salmonicida* sp. nov., a new fish pathogen. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *36*(4), 518-520. doi:10.1099/00207713-36-4-518
- El-Gamal, A. M., & EL-Bahi, E. F. (2020). Prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* in seabass (*Dicentrarchus Labrax*) and seabream (*Sparus aurata*) and Detection of Streptomycin-resistant Strains. *World*, *10*(3), 325-331. doi:10.36380/scil.2020.wvj42
- El-Sharaby, S. M. A., Abd-Elgaber, M., Tarabees, R., Khalil, R. H., Ali, M. N., El-Ballal, S. (2018). Bacteriological and histopathological studies on *Vibrio* species isolated from naturally infected freshwater fish in Delta Region, Egypt. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, *6*(1), 17-26. doi:10.17582/journal.aavs/2018/6.1.17.26
- European Market Observatory for Fisheries and Aquaculture Products [EUMOFA]. (2019) *Case Study. Sea Bass in the EU*. <https://www.eumofa.eu/documents/20178/121372/PTAT+Case+Study+-+Seabass+in+the+EU.pdf> adresinden erişildi.
- Faja, O. M., Abd Sharad, A., Younis, K. M., Alwan, M. G., Mohammed, B. J., Ahmad, A. (2019). Isolation, detection of virulence genes, antibiotic resistance genes, plasmid profile, and molecular typing among *Vibrio parahaemolyticus* isolated in Malaysian seawater from recreational beaches and fish. *Veterinary World*, *12*(7), 1140-1149. doi:10.14202/vetworld.2019.1140-1149
- Filipova, M., Bujdakova, H., Drahovska, H., Lišková, A., Hanzen, J. (2006). Occurrence of aminoglycoside-modifying-enzyme genes *aac* (6')-aph (2"), *aph* (3'), *ant* (4') and *ant* (6) in clinical isolates of *Enterococcus faecalis* resistant to high-level of gentamicin and amikacin. *Folia Microbiologica*, *51*(1), 57-61. doi:10.1007/BF02931451

- Fischer, A., Yang, S. J., Bayer, A. S., Vaezzadeh, A. R., Herzig, S., Stenz, L., François, P. (2011). Daptomycin resistance mechanisms in clinically derived *Staphylococcus aureus* strains assessed by a combined transcriptomics and proteomics approach. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(8), 1696-1711. doi:10.1093/jac/dkr195
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2012). *The state of world fisheries and aquaculture 2012 report*. FAO, Rome. <https://www.fao.org/3/i2727e/i2727e.pdf> adresinden erişildi.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2017). *Fishery and aquaculture statistics: global production by production source, 1950–2015 (FishstatJ)*. Fisheries and Aquaculture Department, Statistics and Information Branch, Rome.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2020). *The State of World Fisheries and Aquaculture*. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/ca9229en/> adresinden erişildi.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2020) *FishStat Plus-Universal Software for Fishery Statistical Time Series* <https://www.fao.org/fishery/en/statistics/software/fishstat/en> adresinden erişildi.
- Franco-Duarte, R., Černáková, L., Kadam, S., S Kaushik, K., Salehi, B., Bevilacqua, A., ... Rodrigues, C. F. (2019). Advances in chemical and biological methods to identify microorganisms from past to present. *Microorganisms*, 7(5), 130. doi: 10.3390/microorganisms7050130
- Fu, W., Yang, F., Kang, X., Zhang, X., Li, Y., Xia, B., Jin, C. (2007). First structure of the polymyxin resistance proteins. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 361(4), 1033-1037. doi:10.1016/j.bbrc.2007.07.144
- Gao, P., Mao, D., Luo, Y., Wang, L., Xu, B., Xu, L. (2012). Occurrence of sulfonamide and tetracycline-resistant bacteria and resistance genes in aquaculture environment. *Water Research*, 46(7), 2355-2364. doi:10.1016/j.watres.2012.02.004
- Goh, E. B., Yim, G., Tsui, W., McClure, J., Surette, M. G., Davies, J. (2002). Transcriptional modulation of bacterial gene expression by subinhibitory concentrations of antibiotics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(26), 17025-17030. doi:10.1073/pnas.252607699

- Gomez-Gil, B., Soto-Rodríguez, S., Lozano, R., Betancourt-Lozano, M. (2014). Draft genome sequence of *Vibrio parahaemolyticus* strain M0605, which causes severe mortalities of shrimps in Mexico. *Genome Announcements*, 2(2), e00055-14. doi:10.1128/genomeA.00055-14
- Griffiths, R. P., Moyer, C. L., Caldwell, B. A., Ye, C., Morita, R. Y. (1990). Long-term starvation-induced loss of antibiotic resistance in bacteria. *Microbial Ecology*, 19(3), 251-257. doi:10.1007/bf02017169
- Grossart, H. P., Levold, F., Allgaier, M., Simon, M., Brinkhoff, T. (2005). Marine diatom species harbour distinct bacterial communities. *Environmental Microbiology*, 7(6), 860-873. doi:10.1111/j.1462-2920.2005.00759.x
- Gxalo, O., Digban, T. O., Igere, B. E., Olapade, O. A., Okoh, A. I., Nwodo, U. U. (2021). Virulence and Antibiotic Resistance Characteristics of *Vibrio* Isolates From Rustic Environmental Freshwaters. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 765. doi:10.3389/fcimb.2021.732001
- Hancock, R. E. (1998). Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria. *Clinical Infectious Diseases*, 27, S93-S99. doi:10.1086/514909
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M. S. (2010). Molecular studies, disease status and prophylactic measures in grouper aquaculture: Economic importance, diseases and immunology. *Aquaculture*, 309(1-4), 1-14. doi:10.1016/j.aquaculture.2010.09.011
- Hoa, P. T. P., Nonaka, L., Viet, P. H., Suzuki, S. (2008). Detection of the *sul1*, *sul2*, and *sul3* genes in sulfonamide-resistant bacteria from wastewater and shrimp ponds of north Vietnam. *Science of the Total Environment*, 405(1-3), 377-384. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.06.023
- Holm, P., Buck, B. H., Langan, R. (2017). Introduction: new approaches to sustainable offshore food production and the development of offshore platforms. In B.H. Buck and R. Langan (Eds.) *Aquaculture Perspective of Multi-Use Sites in the Open Ocean* (pp. 1-20). Springer, Cham.
- Ina-Salwany, M. Y., Al-saari, N., Mohamad, A., Mursidi, F. A., Mohd-Aris, A., Amal, M. N. A., Zamri-Saad, M. (2019). Vibriosis in fish: a review on disease development and prevention. *Journal of aquatic animal health*, 31(1), 3-22. doi:10.1002/aah.10045

- Jalal, K. C. A., Akbar John, B., Kamaruzzaman, B. Y., Kathiresan, K. (2012). Emergence of Antibiotic Resistant Bacteria from Coastal Environment-A Review. In M. Pana (Eds.) *Antibiotic Resistant Bacteria-A Continuous Challenge in the New Millennium. IntechOpen*, 143-158. doi: 10.5772/31025
- Janssen, K., Chavanne, H., Berentsen, P., Komen, H. (2017). Impact of selective breeding on European aquaculture. *Aquaculture*, 472, 8-16. doi:10.1016/j.aquaculture.2016.03.012
- Jayaraman, R. (2009). Antibiotic resistance: an overview of mechanisms and a paradigm shift. *Current science*, 1475-1484.
- Jiang, H. X., Tang, D., Liu, Y. H., Zhang, X. H., Zeng, Z. L., Xu, L., Hawkey, P. M. (2012). Prevalence and characteristics of β -lactamase and plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Escherichia coli* isolated from farmed fish in China. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(10), 2350-2353. doi: 10.1093/jac/dks250
- Jones, J. G. (1986). Antibiotic resistance in aquatic bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 18(Supplement_C), 149-154. doi:10.1093/jac/18.Supplement_C.149
- Kabata, Z. (1985). *Parasites and diseases of fish cultured in the tropics*, Taylor & Francis Ltd. 0-85066-285-0
- Kayış, Ş. (2009). *Trabzon ve Rize illerinde bulunan bazı alabalık işletmelerinde görülen bakteriyel hastalıkların tespiti ve bazı etkenlerinin çoklu PCR ile teşhisi*. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Kayış, U. (2019). Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları. *Aydın Sağlık Dergisi*, 5(1), 1-12.
- Kelmani C. R., Raju, S., Patil, S. A. (2008). Aminoglycoside-resistance mechanisms in multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Current Microbiology*, 56(6), 558-562. doi: 10.1007/s00284-008-9123-y.
- Khouadja, S., Lamari, F., Bakhrouf, A. (2013). Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during disease outbreaks. *International Aquatic Research*, 5(1), 1-11. doi:10.1186/2008-6970-5-13
- Kılıç, E., Yenilmez, F. (2019). Türkiye ve AB Ülkelerinde Antibiyotik Kullanımı, Antibiyotik Direnci ve Dış Ticaret Dengesi Üzerine Bir Değerlendirme. *ESTÜDAM Halk Sağlığı Dergisi*, 4(1), 45-54. doi:10.35232/estudamhsd.503456

- Kırkan, Ş., Göksoy, E. Ö., Kaya, O., Tekbıyık, S. (2006). In-vitro antimicrobial susceptibility of pathogenic bacteria in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 30(3), 337-341.
- 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(1), 147-156. doi:10.1111/j.1574-6968.2004.tb09690.x
- Kim, M. S., Cho, J. Y., Choi, H. S. (2014). Identification of *Vibrio harveyi*, *Vibrio ichthyenteri*, and *Photobacterium damsela* isolated from olive flounder *Paralichthys olivaceus* in Korea by multiplex PCR developed using the *rpoB* gene. *Fisheries Science*, 80(2), 333-339. doi:10.1007/s12562-014-0702-5
- Kim, H. J., Ryu, J. O., Lee, S. Y., Kim, E. S., Kim, H. Y. (2015). Multiplex PCR for detection of the *Vibrio* genus and five pathogenic *Vibrio* species with primer sets designed using comparative genomics. *BMC Microbiology*, 15(1), 1-11. doi:10.1186/s12866-015-0577-3
- Korun, J., Olgaç, N., Akgün D. K., Colorni, A., Diamant, A. (2005). Mycobacteriosis in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., cultured in Turkey. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 57(4), 215-222. doi: 10.46989/001c.20423
- Korun, J. (2006). Kültürü Yapılan Çipuralarda (*Sparus aurata* L.) Görülen *Listonella anguillarum* Enfeksiyonu Üzerine Bir Çalışma. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 23(2), 259-263.
- Korun, J., Gokoglu, M. (2007). *Listonella anguillarum* isolated from hatchery-cultured Red porgy *pagrus pagrus* in Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6(6), 823-827.
- Korun, J., Timur, G. (2008). Marine vibrios associated with diseased sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in Turkey. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 2(1), 66-76. doi:10.3153/jfsc.com.2008007
- Korun, J., İnce, A., Karaca, M. (2013). Antibiotic resistance and plasmid profile of *Vibrio alginolyticus* strains isolated from cultured European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Journal of Veterinary Research*, 57(2), 173-177. doi:10.2478/bvip-2013-0032

- Korun, J. (2016). Kültür Levrek (*Dicentrarchus labrax*, L.) Balıklarından İzole Edilen *Vibrio* harveyi Suşlarının Antimikrobiyal Duyarlılıkları Üzerine Bir Çalışma. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5, 411-421. doi:10.17100/nevbiltek.211014
- Kruse, H., Sorum, H. (1994). Transfer of multiple drug resistance plasmids between bacteria of diverse origins in natural microenvironments. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(11), 4015-4021. doi:10.1128/aem.60.11.4015-4021.1994
- Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment—a review—part I. *Chemosphere*, 75(4), 417-434. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.11.086
- Leong, J. C., J. L. Fryer. (1993). Viral vaccines for aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases* 3:225–240. doi:10.1016/0959-8030(93)90036-B
- Leong, J. C., Anderson, E., Bootland, L. M., Chiou, P. W., Johnson, M., Kim, C., Trobridge, G. (1997). Fish vaccine antigens produced or delivered by recombinant DNA technologies. *Developments in Biological Standardization*, 90, 267-277.
- Levy, S. B., Marshall, B. (2004). Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature Medicine*, 10(12), 122-129. doi: 10.1038/nm1145
- Li, X. Z., Mehrotra, M., Ghimire, S., Adewoye, L. (2007). β -Lactam resistance and β -lactamases in bacteria of animal origin. *Veterinary Microbiology*, 121(3-4), 197-214. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.01.015
- Li, H., Ye, M. Z., Peng, B., Wu, H. K., Xu, C. X., Xiong, X. P., Peng, X. X. (2010). Immunoproteomic identification of polyvalent vaccine candidates from *Vibrio parahaemolyticus* outer membrane proteins. *Journal of Proteome Research*, 9(5), 2573-2583. doi: 10.1021/pr1000219
- Li, C., Ye, Z., Wen, L., Chen, R., Tian, L., Zhao, F., Pan, J. (2014). Identification of a novel vaccine candidate by immunogenic screening of *Vibrio parahaemolyticus* outer membrane proteins. *Vaccine*, 32(46), 6115-6121. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.08.077
- Livermore, D. M. (1996). Are all beta-lactams created equal?. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases. Supplementum*, 101, 33-43.
- Mammeri, H., Van De Loo, M., Poirel, L., Martinez-Martinez, L., Nordmann, P. (2005). Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* in Europe. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(1), 71-76. doi: 10.1128/AAC.49.1.71-76.2005.

- Martínez, J. L. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. *Science*, 321(5887), 365-367. doi: 10.1126/science.1159483
- Martínez, J. L. (2012). Natural antibiotic resistance and contamination by antibiotic resistance determinants: the two ages in the evolution of resistance to antimicrobials. *Frontiers in Microbiology*, 3(1), 1-3. doi: 10.3389/fmicb.2012.00001
- Matyar, F., Akkan, T., Uçak, Y., Eraslan, B. (2010). *Aeromonas* and *Pseudomonas*: antibiotic and heavy metal resistance species from Iskenderun Bay, Turkey (northeast Mediterranean Sea). *Environmental Monitoring and Assessment*, 167(1), 309-320.
- Mellado, E., Moore, E. R. B., Nieto, J. J., Ventosa, A. (1996). Analysis of 16S rRNA gene sequences of *Vibrio costicola* strains: description of *Salinivibrio costicola* gen. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46(3), 817-821. doi: 10.1099/00207713-46-3-817
- Moore, R. A., Hancock, R. E. (1986). Involvement of outer membrane of *Pseudomonas cepacia* in aminoglycoside and polymyxin resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 30(6), 923-926. doi:10.1128/AAC.30.6.923
- Nash, C. (2011) *The History of Aquaculture: Farming the Sea (1880-1920)*. Wiley-Blackwell Publishing Ltd.
- Nash, C. (2011) *The History of Aquaculture: Seeds in Antiquity (2000 BC to AD 500)*. Wiley-Blackwell Publishing Ltd.
- Nash, C. (2011) *The History of Aquaculture: The Roots of Modern Aquaculture*. Wiley-Blackwell Publishing Ltd.
- Nguyen, H. N. K., Van, T. T. H., Nguyen, H. T., Smooker, P. M., Shimeta, J., Coloe, P. J. (2014). Molecular characterization of antibiotic resistance in *Pseudomonas* and *Aeromonas* isolates from catfish of the Mekong Delta, Vietnam. *Veterinary Microbiology*, 171(3-4), 397-405. doi:10.1016/j.vetmic.2014.01.028
- Noga, E. J. 2010. *Fish disease: diagnosis and treatment*, 2nd edition. Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey.
- Nor-Amalina, Z., Dzarifah, M. Z., Mohd-Termizi, Y., Amal, M. N. A., Zamri-Saad, M., Ina-Salwany, M. Y. (2017). Phenotypic and genotypic characterization of *Vibrio* species isolates from *Epinephelus* species in Selangor, Malaysia. In *Proceedings of the International Conference on Advances in Fish Health* (pp. 4-6). UPM Serdang Malaysia.

- Özdemir, S. (2015). *Balıklardan izole edilen bakterilerin antibiyotik direnç geni profillerinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Pacini, F. (1854). *Osservazioni microscopiche e deduzioni patologiche sul cholera asiatico*. Federigo Bencini.
- Pavlinec, Ž., Zupičić, I. G., Oraić, D., Lojkić, I., Fouz, B., Zrnčić, S. (2022). Biochemical and molecular characterization of three serologically different *Vibrio harveyi* strains isolated from farmed *Dicentrarchus labrax* from the Adriatic Sea. *Scientific Reports*, 12(1), 1-10. doi: 10.1038/s41598-022-10720-z.
- Perez-Ruzafa, A., Marcos, C. (2014) *Biology of European Sea Bass. Ecology and Distribution of Dicentrarchus labrax (Linnaeus 1758)*. (pp. 4-23) Taylor & Francis Group, A Science Publishers Book.
- Pickett, G. D., Pawson, M. G. (1994) *Sea Bass Biology, Exploitation and Conservation. Fish and Fisheries Series*. Chapman & Hall, London p. 337.
- Piotrowska, M., Rzeczycka, M., Ostrowski, R., & Popowska, M. (2017). Diversity of Antibiotic Resistance Among Bacteria Isolated from Sediments and Water of Carp Farms Located in a Polish Nature Reserve. *Polish Journal of Environmental Studies*, 26(1). doi:10.15244/pjoes/64910
- Plumb, J. A., Hanson, L. A. (2011). *Health Maintenance and Principal Microbial Diseases of Cultured Fishes*, Wiley.
- Pridgeon, J. W., Klesius, P. H. (2012). Major bacterial diseases in aquaculture and their vaccine development. *Cab Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 7, (pp. 1-16). doi: 10.1079/PAVSNNR20127048
- Pruden, A., Pei, R., Storteboom, H., Carlson, K. H. (2006). Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in northern Colorado. *Environmental Science & Technology*, 40(23), 7445-7450. doi:10.1021/es0604131
- Raissy, M., Moumeni, M., Ansari, M., Rahimi, E. (2012). Antibiotic resistance pattern of some *Vibrio* strains isolated from seafood. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 11(3), 618-626.

- Ramón-García, S., Otal, I., Martín, C., Gómez-Lus, R., Aínsa, J. A. (2006). Novel streptomycin resistance gene from *Mycobacterium fortuitum*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(11), 3920-3922. doi:10.1128/AAC.00223-06
- Randall, L. P., Cooles, S. W., Osborn, M. K., Piddock, L. J. V., Woodward, M. J. (2004). Antibiotic resistance genes, integrons and multiple antibiotic resistance in thirty-five serotypes of *Salmonella enterica* isolated from humans and animals in the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(2), 208-216. doi: 10.1093/jac/dkh070.
- Roberts, M. C. (2005). Update on acquired tetracycline resistance genes. *FEMS Microbiology Letters*, 245(2), 195-203. doi:10.1016/j.femsle.2005.02.034
- Roberts, M. C., Sutcliffe, J., Courvalin, P., Jensen, L. B., Rood, J., Seppala, H. (1999). Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43(12), 2823-2830. doi:10.1128/AAC.43.12.2823
- Rodgers, C. J. (2009). The risks associated with the use of veterinary drugs and chemicals in aquaculture: Assessment and control. *The Use of Veterinary Drugs and Vaccines in Mediterranean Aquaculture. Options Méditerranéennes, Série A*, 86, 127-145.
- Rodríguez-Blanco, A., Lemos, M. L., & Osorio, C. R. (2012). Integrating conjugative elements as vectors of antibiotic, mercury, and quaternary ammonium compound resistance in marine aquaculture environments. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(5), 2619-2626. doi:10.1128/AAC.05997-11
- Sadat, A., El-Sherbiny, H., Zakaria, A., Ramadan, H., Awad, A. (2021). Prevalence, antibiogram and virulence characterization of *Vibrio* isolates from fish and shellfish in Egypt: A possible zoonotic hazard to humans. *Journal of Applied Microbiology*, 131(1), 485-498. doi:10.1111/jam.14929
- Sankar, G., Saravanan, J., Krishnamurthy, P., Chandrakala, N., Rajendran, K. (2012). Isolation and identification of *Vibrio* spp. in diseased *Channa punctatus* from aquaculture fish farm. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 41(2), 159-163.
- Serrano, P. H. (2005). *Responsible use of antibiotics in aquaculture* (Vol. 469). Food & Agriculture Org.. doi:10.13140/RG.2.2.31012.94088
- Shah, S. Q., Colquhoun, D. J., Nikuli, H. L., Sørum, H. (2012). Prevalence of antibiotic resistance genes in the bacterial flora of integrated fish farming environments of Pakistan

and Tanzania. *Environmental science & technology*, 46(16), 8672-8679.
<https://doi.org/10.1021/es3018607>

- Shah, S. Q., Cabello, F. C., L'Abée-Lund, T. M., Tomova, A., Godfrey, H. P., Buschmann, A. H., Sørum, H. (2014). Antimicrobial resistance and antimicrobial resistance genes in marine bacteria from salmon aquaculture and non-aquaculture sites. *Environmental Microbiology*, 16(5), 1310-1320. doi:10.1111/1462-2920.12421
- Shahimi, S., Elias, A., Salami, M., Fauzi, F., Ghani, A., Azuhairi, A. (2021). Antibiotic resistance and determination of resistant genes among cockle (*Anadara granosa*) isolates of *Vibrio alginolyticus*. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(32), 44002-44013. doi: 10.1007/s11356-021-13665-4.
- Shahrani, M., Dehkordi, F. S., Momtaz, H. (2014). Characterization of *Escherichia coli* virulence genes, pathotypes and antibiotic resistance properties in diarrheic calves in Iran. *Biological Research*, 47(1), 1-13. doi: 10.1186/0717-6287-47-28.
- Shakil, S., Khan, R., Zarrilli, R., Khan, A. U. (2008). Aminoglycosides versus bacteria—a description of the action, resistance mechanism, and nosocomial battleground. *Journal of Biomedical Science*, 15(1), 5-14.
- Siddique, A. B., Moniruzzaman, M., Ali, S., Dewan, M., Islam, M. R., Islam, M., Mahmud, Z. H. (2021). Characterization of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* isolated from fish aquaculture of the Southwest coastal area of Bangladesh. *Frontiers in Microbiology*, 12, 266. doi:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.635539>
- Sköld, O. (2000). Sulfonamide resistance: mechanisms and trends. *Drug Resistance Updates*, 3(3), 155-160. doi:10.1054/drup.2000.0146
- Snieszko, S. F. (1974). The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. *Journal of Fish Biology*, 6(2), 197-208. doi:10.1111/j.1095-8649.1974.tb04537.x
- Sousa, M., Torres, C., Barros, J., Somalo, S., Igrejas, G., Poeta, P. (2011). Gilthead seabream (*Sparus aurata*) as carriers of SHV-12 and TEM-52 extended-spectrum beta-lactamases-containing *Escherichia coli* isolates. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(10), 1139-1141. doi:10.1089/fpd.2011.0866

- Southgate, P. (1993). *Disease in aquaculture, aquaculture for veterinarians: fish husbandary and medicine*, (pp 91-131), first ed., Pergamon Press Ltd., Oxford, İngiltere, 0-08-0408-35-4
- Suresh, Y., Subhashini, N., Kiranmayi, C. B., Srinivas, K., Ram, V. P., Chaitanya, G., Rao, T. S. (2018). Isolation, molecular characterization and antimicrobial resistance patterns of four different *Vibrio* species isolated from fresh water fishes. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(7), 3080-3088. doi: 10.20546/ijemas.2018.707.359
- Tanrikul, T. T. (2007). Vibriosis as an epizootic disease of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) in Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 10(10), 1733-1737. doi: 10.3923/pjbs.2007.1733.1737
- Tanrikul, T., Gultepe, N. (2011). Mix infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum): *Lactococcus garvieae* and *Vibrio anguillarum* O1. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(8).
- Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü [TEPGE]. (2021) *Ürün Raporu Su Ürünleri 2021*.
<https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20Ürün%20Raporları/2021%20Ürün%20Raporları/Su%20Ürünleri%20Ürün%20Raporu%202021-338%20TEPGE.pdf> adresinden erişildi.
- Tenover, F.C. (2006). Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria, *American Journal of Infection Control*, 34,5, 3-10. doi: 10.1016/j.amjmed.2006.03.011
- Thompson, F. L., Hoste, B., Thompson, C. C., Goris, J., Gomez-Gil, B., Huys, L., Swings, J. (2002). *Enterovibrio norvegicus* gen. nov., sp. nov., isolated from the gut of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae: a new member of the family Vibrionaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(6), 2015-2022. doi: 10.1099/00207713-52-6-2015
- Thompson, F. L., Hoste, B., Vandemeulebroecke, K., Swings, J. (2003). Reclassification of *Vibrio hollisae* as *Grimontia hollisae* gen. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(5), 1615-1617. doi:10.1099/ijms.0.02660-0
- Thompson, F. L., Iida, T., Swings, J. (2004). Biodiversity of vibrios. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68(3), 403-431. doi: 10.1128/MMBR.68.3.403-431.2004

- Timur, G., Korun, J. (2004). First outbreak of vibriosis in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 18(18), 1-9.
- Timur, G., Timur, M. (2003). *Balık Hastalıkları*, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Yayın No. 5, İstanbul, 975-404-699-9
- Timur, G., Timur, M., Akaylı, T., Korun, J., Thompson, K. D. (2005). First observation of rickettsia-like organisms in cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in Turkey. *Bulletin-European Association of Fish Pathologists*, 25(5), 196.
- Toranzo, A. E., Barja, J. L. (1990). A review of the taxonomy and seroepizootiology of *Vibrio anguillarum*, with special reference to aquaculture in the northwest of Spain. *Diseases of Aquatic Organisms*, 9, 73-82
- Toranzo, A. E., Magariños, B., Romalde, J. L. (2005). A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. *Aquaculture*, 246(1-4), 37-61. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.01.002
- Toro, C. S., Farfán, M., Contreras, I., Flores, O., Navarro, N., Mora, G. C., Prado, V. (2005). Genetic analysis of antibiotic-resistance determinants in multidrug-resistant *Shigella* strains isolated from Chilean children. *Epidemiology & Infection*, 133(1), 81-86. doi: 10.1017/s0950268804003048.
- Türkiye İstatistik Kurumu [TÜİK]. (2021) *Su Ürünleri, 2021* <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Su-Urunleri-2021-45745> adresinden erişildi.
- Urbanczyk, H., Ast, J. C., Higgins, M. J., Carson, J., Dunlap, P. V. (2007). Reclassification of *Vibrio fischeri*, *Vibrio logei*, *Vibrio salmonicida* and *Vibrio wodanis* as *Aliivibrio fischeri* gen. nov., comb. nov., *Aliivibrio logei* comb. nov., *Aliivibrio salmonicida* comb. nov. and *Aliivibrio wodanis* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(12), 2823-2829. doi: 10.1099/ij.s.0.65081-0
- Uzun, E., Oğut, H. (2015). The isolation frequency of bacterial pathogens from sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the Southeastern Black Sea. *Aquaculture*, 437, 30-37. doi:10.1016/J.AQUACULTURE.2014.11.017.
- Van, T. T. H., Chin, J., Chapman, T., Tran, L. T., Coloe, P. J. (2008). Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *International Journal of Food Microbiology*, 124(3), 217-223. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.029.

- Van Dongen, M. B. M., Van Diemen, A. E. A. R., Staarman, I. K., Piera, T. (2008). Antibiotic Resistance in Bacteria from Farmed Fish and Shrimps. *InnoTact Consulting BV, Woudenberg, Netherlands*.
- Walsh, C. (2000). Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature*, 406(6797), 775-781.
- Watts, J. E., Schreier, H. J., Lanska, L., & Hale, M. S. (2017). The rising tide of antimicrobial resistance in aquaculture: sources, sinks and solutions. *Marine Drugs*, 15(6), 158. <https://doi.org/10.3390/md15060158>
- Wedemeyer, G. A., Meyer, F. P., Smith, L. (1976). Book 5: *Environmental stress and fish diseases*, TFH Publications Inc., Neptune City, NJ, A. B. D.
- Wright, G. D. (2007). The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nature Reviews Microbiology*, 5(3), 175-186.
- Wright, G. D. (2010). Antibiotic resistance in the environment: a link to the clinic?. *Current Opinion in Microbiology*, 13(5), 589-594. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2010.08.005>
- Xiong, W., Sun, Y., Zhang, T., Ding, X., Li, Y., Wang, M., Zeng, Z. (2015). Antibiotics, antibiotic resistance genes, and bacterial community composition in fresh water aquaculture environment in China. *Microbial Ecology*, 70(2), 425-432. doi:10.1007/s00248-015-0583-x
- Yaman, F., Seçer, S., Halkman, A. K. (2003). Ağ Kafeslerde Yetiştiriciliği Yapılan Çipura (*Sparus aurata* L.) ve Levrek (*Dicentrarchus labrax* L.) Balıklarında Vibriosiz ve Pasteurellosis' in Araştırılması. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(2), 1-36.
- Yang, Y., Xie, J., Li, H., Tan, S., Chen, Y., Yu, H. (2017). Prevalence, antibiotic susceptibility and diversity of *Vibrio parahaemolyticus* isolates in seafood from South China. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2566. doi:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02566>
- Yardımcı, R. E. (2011). Kültür levrek balıklarında (*Dicentrarchus labrax* L.) *tenacibaculum maritimum*'un identifikasyonunda diyagnostik tekniklerinin karşılaştırılması, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yim, G., Wang, H. H., Davies, J. (2006). The truth about antibiotics. *International Journal of Medical Microbiology*, 296(2-3), 163-170. doi: 10.1016/j.ijmm.2006.01.039

- Zhang, Q., Lambert, G., Liao, D., Kim, H., Robin, K., Tung, C. K., Austin, R. H. (2011). Acceleration of emergence of bacterial antibiotic resistance in connected microenvironments. *Science*, 333(6050),1764-1767.
<https://doi.org/10.1126/science.1208747>
- Zin, A. A. M., Hamdan, R. H., Mohamed, M., Li, T., Peng, N. M., Reduan, M. F. H. (2021, October 6). *Detection and Resistance Profile of Vibrio alginolyticus Isolated from Farmed Asian Seabass (Lates calcarifer) in Terengganu, Malaysia* [Conference presentation]. 1 st Postgraduate Seminar on Agriculture and Forestry, Sarawak, Malaysia.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Levreklerden (*Dicentrarchus Labrax*) İzole Edilen *Vibrio* Türlerinin Moleküler Tiplendirilmesi Ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi” başlıklı Doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

OĞUZHAN DOLGUN

Öğrencinin Adı ve Soyadı

... / ... / ...

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : DOLGUN Oğuzhan
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : İzmir / 28.03.1988
Telefon : 0 532 592 77 07
E-posta : oguzhandolgun@gmail.com
Yabancı dil : İngilizce

EĞİTİM

| Derece | Kurum | Mezuniyet tarihi |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| Doktora | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı | Devam ediyor |
| Y. Lisans | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı | 2015 |
| Lisans | Karadeniz Teknik Üniversitesi Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği | 2013 |

İŞ DENEYİMİ

| Yıl | Yer/Kurum | Ünvan |
|------------|--------------------------------------------------------|----------------------------|
| 2013-2014 | Bütaş Balık Üretim ve Tic. A.Ş. | Üretim Mühendisi |
| 2014-2015 | Agromey Gıda ve Yem San. Tic. A.Ş. | Üretim Mühendisi |
| 2016-2018 | Agromey Gıda ve Yem San. Tic. A.Ş. | Balık Sağlığı Sorumlusu |
| 2018-2021 | Agromey Gıda ve Yem San. Tic. A.Ş. | Planlama Müdürü |
| 2021-Halen | Marin Biyoteknoloji Ürünleri ve Gıda San. Ltd. Şti. | Ar-Ge Proje Müdürü |

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

Dolgun, O. (2015). Gökkuşığı alabalıklarından *Lactococcus garvieae* identifikasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması (Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

Dolgun, O., Yüksel, H.T., Parın, U., Erbaş, G., Kırkan, Ş. (2016). Kültür Balıkçılığında Antimikrobiyel Direnç. *Animal Health Production and Hygiene*, 5(2), 472-476.

Kırkan, Ş., Parın, U., Dolgun, O. (2018). Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR from Rainbow Trout and Investigation of Susceptibility to Antibiotics. *International Journal of Veterinary Science*, 7(1), 28-32. (Yayın No: 4201550)

3. BİLDİRİLER

B) Ulusal Kongrelerde Sunulan Bildiriler

Dolgun, O., Kırkan, Ş. (2016). Gökkuşığı Alabalıklarından *Lactococcus garvieae* İdentifikasyonu ve Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Araştırılması. XII. Ulusal Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı) (Yayın No:3059803)