

Determination of the Antibiotic Susceptibility of Pathogenic Bacteria Isolated from Cultivated Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Kültür Gökkuşluğu Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Tanımlanan Patojen Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliğinin Belirlenmesi

Türk Denizcilik ve Deniz Bilimleri Dergisi

Cilt: XX Sayı: XX (20XX) XX-XX

Miray ETYEMEZ BÜYÜKDEVECİ^{1*}, İbrahim DEMİRKALE¹, Serdar KILERCİOĞLU¹

¹Department of Fish Diseases, Faculty of Fisheries, Çukurova University, Adana 01250, Turkey

ABSTRACT

The indiscriminate use of antibiotics in aquaculture is considered a major concern in terms of resistant pathogens that can lead to infectious diseases. In this study, antibiotic resistance profiles were determined in pathogenic bacteria isolated from fish during outbreak in six different rainbow trout farms located in the Adana region. Vitek 2 (automated systems) was used for advanced bacterial identifications following standard conventional method. After all, bacterial isolates were identified as *Aeromonas sobria*, *Pseudomonas fluorescens*, and *Lactococcus garvieae* with 90–95% similarity rates. In determining the antibiotic resistance profiles of the isolates, their susceptibility to 14 different antibiotics were evaluated with the Kirby Bauer disk diffusion method, and also, the presence of various antibiotic resistance genes of the isolates was investigated by the conventional PCR method using specific primer pairs. When the antibiogram test results were examined, it was determined that each isolate had different levels of antibiotic sensitivity, and all isolates were found to be sensitive only to tetracycline, gentamicin, and levofloxacin. According to the MAR (Multiple Antibiotic Resistance) index values, *A. sobria*, and *L. garvieae* (L2) isolates remained below the 0.2 critical value, while the index values of other isolates were calculated above this critical value. The presence of tetA and tetC resistance genes could not be detected among the isolates.

Keywords: Rainbow Trout, VITEK 2 (Automated System), Antibiotic Susceptibility, Multidrug Antibiotic Resistance

Article Info

Received: 26 September 2024

Revised: 02 December 2024

Accepted: 04 December 2024

* (corresponding author)

E-mail: metyemez@cu.edu.tr

To cite this article: Etyemez Büyükdeveci, M., Demirkale, İ., Kilercioğlu, S. (20XX). Determination of the Antibiotic Susceptibility of Pathogenic Bacteria Isolated from Cultivated Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Turkish Journal of Maritime and Marine Sciences*, XX (XX): XX-XX. doi: 10.52998/trjmms.1556600.

ÖZET

Su ürünleri yetiştiriciliğinde gelişigüzel antibiyotik kullanımı, bulaşıcı hastalıklara yol açabilecek dirençli patojenler açısından büyük bir endişe kaynağı olarak değerlendirilmektedir. Bu çalışmada Adana bölgesinde yer alan gökkuşağı alabalığı üretimi yapan 6 farklı özel işletmede hastalık belirtisi gösteren balıklardan izole edilen patojen bakterilerde antibiyotik dirençlilik profilleri belirlenmiştir. Bakteri izolatlarının tanımlanmasında geleneksel kültür çalışmalarının ardından kit bazlı tam otomatize tanımlama sistemi (Vitek 2) kullanılmıştır. Bakteri izolatları *Aeromonas sobria*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Lactococcus garvieae* %90-95 benzerlik oranlarıyla tanımlanmıştır. İzolatların on dört antibiyotiğe karşı antibiyotik duyarlılığı, Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak CLSI önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiş, genotipik olarak ise antibiyotik direnç genlerinin varlığı konvansiyonel PZR yöntemleriyle araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre antibiyotik duyarlılığının her bir izolat için farklı düzeyde olduğu, sadece tetrasiklin, gentamisin ve levofloksasine karşı tüm izolatların duyarlı olduğu belirlenmiştir. ÇAD (Çoğul Antibiyotik Direnç) indeksi değerlerine göre *A.sobria*, ve *L.garvieae* (L2) izolatları 0.2 kritik indeks değerinin altında kalırken, diğer türlere ait indeks değerleri bu kritik değerin üzerinde hesaplanmıştır. İzolatlar arasında *tetA*, *tetC*, direnç genlerinin varlığı ise saptanmamıştır.

Anahtar sözcükler: Gökkuşağı Alabalık, VİTEK 2 otomatize sistemi, Antibiyotik Duyarlılık, Çoklu Antibiyotik Dirençliliği

1. GİRİŞ

yetiştiriciliğinin önündeki ana engellerden biri bulaşıcı hastalıkların kontrolü olmuştur. Yoğun kültür koşulları, balık refahını olumsuz etkilemesinin yanı sıra balıkların bağışıklık sistemini zayıflatarak çevredeki mevcut patojenlerin hastalığa yol açmasına neden olmaktadır (Sezgin ve ark., 2023). Su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisinin gelişmesi ve bakteriyel hastalıkların yaygınlaşmasıyla birlikte, antibiyotiklerin yoğun bir şekilde kullanılması, bulaşıcı hastalıklara neden olabilen dirençli patojenler açısından ciddi bir endişe kaynağı olarak kabul görmüştür (Vignesh ve ark., 2011). Mikroorganizmaları öldürebilen veya büyümelerini engelleyebilen maddeler olarak nitelendirilen antibiyotikler, su ürünleri yetiştiriciliğinde terapötik, profilaktik veya metafilaktik ajanlar olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Romero ve ark., 2012). Dünya genelinde bu alanda çoğunlukla Amoksisilin, Ampisilin, Kloramfenikol, Florfenikol, Eritromisin, Streptomisin, Neomisin, Furazolidon, Nitrofurantoin, Oksolinik Asit, Enrofloksasin, Flumequin, Oksitetrasiklin, Tetrasiklin, Sulfonamid gibi geniş spektrumlu antibiyotikler kullanılmaktadır (Van Dongen ve ark., 2008; FAO, 2019). Su ürünlerinde

Birçok bölgede sürdürülebilir su ürünleri

antibiyotiklerin onaylanması, kullanım uygulamaları ve kalıntı limitleri konusunda her ülkenin kendi mevzuatı vardır. Türkiye su ürünleri yetiştiriciliğinde oksitetrasiklin, florfenikol, enrofloksasin ve oksolinik asit gibi etken maddeleri içeren 41 adet ruhsatlı antibakteriyel ürün bulunduğu belirtilmiştir (Güngör ve ark., 2021). Antibiyotikler, direnç genlerinin gelişmesi ve dirençli hale gelen bakterilerin doğada yayılmaları sebebiyle etkilerini yitirmektedirler (Andersson ve Levin, 1999). Bakterilerde var olan direnç genleri plazmid yüzeyinde bulunurlar. Antibiyotiklere karşı oluşan direnç, bakteriler arasında gerçekleşen plazmid transferleri sebebiyle hızlı biçimde yayılır (Petersen ve ark., 2002). Ayrıca plazmid üzerinde yer alan bu direnç genlerinin insan için patojen olan diğer bakteri türlerine transferi insan sağlığı açısından da risk oluşturmaktadır (Dokumacı, 2024). Bakterilerin kendi aralarında yatay ve dikey olarak gerçekleştirdikleri gen transferi (Aoki, 1997) ile dirençli bakterilerin sayısı ve direnç kararlılıkları artmakta, balık bakteriyel patojenlerine karşı kullanılan antibiyotiklerin etkileri azalmaktadır (Saitanu ve ark., 1994). Patojen bakterilere karşı

antibiyotikler yeme ya da su ortamına karıştırılarak uygulanmaktadır. Belirtilen ana tedavi edici etkisinin yanı sıra antibiyotikler çevresel etki, aşılama gibi diğer stres etmenlerine karşı profilaktik ve büyüme teşvik edici ajanlar olarak da kullanılmaktadır. Bakteriler balık çiftliklerinde kullanılan birden fazla antibiyotiğe karşı aynı zamanda direnç geliştirebilmektedirler. Kullanılan bu antibiyotiklerin hedef canlı dışında sediment ve su katmanları için de kirletici olduğu ve birikim meydana getirdiği böylelikle hedef dışı bakterilerde dahi direnç oluşturduğu bilinmektedir (Gao ve ark., 2012). Bu durum antimikrobiyal direnç (AMR) olarak tanımlanmıştır (FAO, 2005). Bakterilerde direnç gelişimi, antibiyotiklerin bilinçsizce hedef dışı mikroorganizmaların sağaltımı için kullanılması, antibiyotiklerin aşırı doz ya da düşük doz ve uzun süre uygulamaları sonucunda ortaya çıkmaktadır. Sonuçta ortaya çıkış yolundan bağımsız olarak dirençli bakteri varlığı tüm dünyada insan ve diğer canlıların sağlığı için tehdit oluşturmaktadır. Bu sebeple antibiyotiğe dirençli genlerin varlığını ve hareketliliğini tespit etmek oldukça önemlidir.

Türkiye'de balık çiftliklerinde balıklardan izole edilen patojen bakterilerde antibiyotiklerin direnç profillerinin belirlenmesi, farklı yıllarda yapılan çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Capkin ve ark., 2015; Türe ve Alp, 2016; Capkin ve ark., 2017; Hancı ve Onuk, 2018; Sezgin ve ark., 2023; Bhat ve Altınok, 2023; Yılmaz ve ark., 2024). Buna karşın, özellikle çalışma bölgesinde konuya ilişkin araştırma oldukça sınırlıdır. Adana ili ve civarı bölgede 25 adet lisanslı alabalık yetiştiricilik tesisinin faaliyet gösterdiği, bu tesislerde yaklaşık yıllık üretim kapasitelerinin ise 4085 ton sofralık ve 12.315.000 adet yavru üretimi olduğu bildirilmiştir (BSGM, 2023).

Bu nedenle çalışmada, Adana bölgesinde yetiştiriciliği yapılan Gökkuşuğu Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*)'larda hastalıklara neden olan önemli patojen bakterilerin tür tespiti yapılarak, bu türlerin çeşitli antibiyotiklere karşı gösterdikleri duyarlılık dereceleri ve direnç profilleri araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Balık Örneklerinin Temini, Patojen Bakteri İzolasyon ve Tanımlanması

Çalışma kapsamında Adana bölgesinde bulunan 6 farklı özel işletmeden 18 ay boyunca hastalık belirtisi gösteren gökkuşuğu alabalığı temin edilmiştir. Hastalık belirtisi gösteren balıklarda nekropsi işlemleri aynı gün gerçekleştirilmiştir. Vücut yüzeyi %70'lik etil alkolle silinen balıkların karaciğer, dalak ve böbrek dokularından farklı agarlara (Tripticase soy agar, Brain Heart Infusion (BHI) agar, Thiosulfate Citrate Bile Sucrose agar, Mc Conkey agar (Oxoid, İngiltere) ve Shotts-Waltman agar) ekimler yapılmış ve besiyerleri inkübatörde 22 °C'de 24-72 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bakterilerin tanımlanması konvansiyonel kültür çalışmalarını (gram boyama, koloni morfolojisi) takiben Vitek 2 (bio-Merieux, Fransa) tam otomatik tanımlama cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Uygun besiyerinde üretilen izolatlar analiz edilene kadar %20 gliserol de -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.2. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Stoktan alınan ve tür teşhisi yapılan tüm bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri Kirby Bauer Disk Diffüzyon metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bakteri izolatları uygun koşullarda inkübe edilerek subkültüre edilmiş ve steril izotonik tuzlu su içeren tüplere aktarılmış, tüplerin içerisindeki yoğunluklar McFarland standart (bioMerieux sa, 69280, Marcy l'Etoile, Fransa) ile ölçülmüştür. 0.5 Mc Farland yoğunluğuna ulaştığında, hazırlanan bakteri süspansiyonları (0.1 ml) yayma plak yöntemiyle Müller Hinton Agar üzerine ekilmiştir. İzolatlara ait duyarlılık tespitinde 14 antibiyotik kullanılmıştır (Tablo 1). Çeşitli konsantrasyonlarda antibiyotikli diskler steril pens yardımı agar yüzeyine yerleştirilmiş, 22°C'de 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda kullanılan antibiyotik disklerin çevresinde meydana gelen inhibisyon zon çapları dijital kompas ile ölçülmüş, sonuçların değerlendirilmesinde CLSI kitapçığı kullanılmıştır (Tablo 2).

2.3. Çoğul Antibiyotik Direnç (ÇAD) İndeksi

Çalışılan izolatların çoğul antibiyotik direnç (ÇAD) indeksleri hesaplanmıştır. ÇAD indeksi hesaplanırken $\text{ÇAD} = A/B$ formülünden yararlanılmış olup, formüldeki A: İzolatların direnç gösterdiği antibiyotik sayısını, B ise izolata karşı denenen toplam antibiyotik sayısını göstermektedir (Krumperman, 1983).

Değerlendirmede ÇAD indeks değeri 0.2'den küçük ya da 0.2'ye eşit ise antibiyotik kullanımının düşük olduğu ya da kullanılmadığını, 0.2'den büyükse bakteri örneklerinin izole edildiği çevrenin antibiyotiklere yoğun miktarda maruz kaldığını ve yüksek risk içerdiğini göstermektedir (Krumperman, 1983).

Tablo 1. Araştırmada kullanılan antibiyotikler

Antibiyotik	Antibiyotik kodu	Antibiyotik dozu	Antibiyotik markası
Neomisin	N30	30 µg	BD
Ampisilin	AM10	10 µg	BD
Streptomisin	S10	10 µg	BD
Tetrasiklin	TE30	30 µg	BD
Amoksisilin/Klavulanik Asit	AmC30	30 µg	BD
Enrofloksasin	ENR5	5 µg	BD
Oksitetrasiklin	T30	30 µg	BD
İmipenem	IPM10	10 µg	BD
Gentamisin	GM10	10 µg	BD
Levofloksasin	LVX5	5 µg	BD
Sülfametoksazol/Trimetoprim	SXT25	25 µg	BD
Florfenikol	FFC30	30 µg	BD
Kloramfenikol	C30	30 µg	BD
Trimetoprim	TMP5	5 µg	BD

Tablo 2. CLSI standartlarına göre antibiyogram testi duyarlılık değerleri

	Dirençli(R)	Duyarlı(S)	OrtaDuyarlı (I)	Referans
Neomisin	≤12	≥17	13-16	CLSI,2018
Ampisilin	≤13	≥17	14-16	CLSIM100,2021
Streptomisin	≤11	≥15	12-14	CLSIM100,2021
Tetrasiklin	≤11	≥15	12-14	CLSIM100,2021
Amoksisilin/KlavulanikAsit	≤13	≥18	14-17	CLSI,2018
Enrofloksasin	≤16	≥23	17-22	CLSIVET01S,2020
Oksitetrasiklin	≤14	≥19	15-18	CLSI,2018
İmipenem	≤13	≥16	14-15	CLSIM100,2011
Gentamisin	≤12	≥15	13-14	CLSIM100,2021
Levofloksasin	≤13	≥17	14-16	CLSIM100,2011
Sülfametoksazol/Trimetoprim	≤10	≥16	11-15	CLSIM100,2021
Florfenikol	≤22	≥29	23-28	CLSIVET01S,2020
Kloramfenikol	≤12	≥18	13-17	CLSIM100,2021
Trimetoprim	≤10	≥16	11-15	CLSIM100,2011

2.4. DNA İzolasyonu ve Antibiyotik Direnç Genlerinin Tespiti

Uygun besi yerinde üretilen bakterilerden DNA İzolasyon işlemleri ticari kit (QIAamp DNA mini kit; Qiagen, Hilden, Almanya) yardımıyla protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda kullanılan antibiyotik direnç

genlerine ait (sulfonamid - sul2; tetrasiklin -tetA, tetC; beta laktam - ampC; aminoglikozit - aadA) spesifik primer dizileri Tablo 3' de sunulmuştur. PZR reaksiyonu her bir örnek için 12.5 µl 2X PZR master mix, 2 µl 100 ng genomik DNA, her primerden 1 µl (10 nmol/µl) ve 8.5 nükleaz içermeyen saf su olacak şekilde toplam 25 µl

olarak hazırlanmış ve reaksiyonlar Veriti Thermal Cyler cihazında (Applied Biosystems) yürütülmüştür. Cihaz şartları 94°C’de 45 saniye denaturasyon, 48-59°C’de 45 saniye tutunma ve 72°C’de 1 dakika uzama olarak toplam 30

döngüde tamamlanmıştır. Elde edilen PZR ürünleri 0.5 x TAE tampon çözeltisi ile %1’lik agaroz jelde 100 V’ da 1 saat yürütülmüş, ardından jel görüntüleme sistemi kullanılarak bant büyüklükleri değerlendirilmiştir.

Tablo 3. Antibiyotik direnç genleri belirlenmesinde kullanılan primerler

Primer Adı	Sekans (5’-3’)	Hedef Gen-Bölge	PZR Ürünü Boyutu (bp)	Tutunma Sıcaklığı (°C)	Kaynaklar
Tet A FW	GCTACATCCTGCTTGCCTTC	<i>tet A</i>	210	55	Ng ve ark., 2001
Tet A RV	CATAGATCGCCGTGAAGAGG				
Tet C FW	CTTGAGAGCCTTCAACCCAG	<i>tet C</i>	418	55	Ng ve ark., 2001
Tet C RV	ATGGTCGTCATCTACCTGCC				
Sul2 FW	GCGCTCAAGGCAGATGGCATT	<i>Sul 2</i>	293	59	Kerrn ve ark., 2002
Sul2 RV	GCGTTTGATAACCGGCACCCGT				
AmpC FW	TTCTATCAAMACTGGCARCC	<i>ampC</i>	550	48	Schwartz ve ark., 2003
AmpC RV	CCYTTTTATGTACCCAYGA				
aadA FW	TGATTTGCTGGTTACGGTGAC	<i>aadA</i>	284	52	Van ve ark., 2008
aadA RV	CGCTATGTTCTCTTGCTTTTG				

3. BULGULAR

3.1. İzolatların tanımlanması

Çalışmamızda hastalık şüpheli olarak örneklenen alabalıklardan izole edilen bakteri izolatları, Vitek 2 Tam Otomatik Tanımlama Sistemi ile 5 izolat örneğinden 2 tanesi, *Lactococcus garvieae*, 2 tanesi *Pseudomonas fluorescens*, 1 tanesi de *Aeromonas sobria* olarak tanımlanmıştır.

Vitek® 2 sonuçlarına göre 1 numaralı izolat %99 oranında *A. sobria* olarak, 2 ve 3 numaralı izolatlar ise %90 oranında *P. fluorescens* olarak tanımlanmıştır. İzolatların koloni morfolojisi, basıt boyama ve negatif Gram boyama sonucu bu tanımlamaları desteklemiştir. Vitek® 2 sonuçlarına göre 4 ve 5 numaralı izolatlar ise %95 oranında *L. garvieae* olarak tanımlanmıştır. İzolatların koloni morfolojisi ve pozitif boyama sonuçları bu tanımlamaları desteklemiştir. İzolatların GN ve GP ID kart üzerindeki diziliş sırasına göre biyokimyasal detayları verilmiştir (Tablo 4, Tablo 5, Tablo 6).

3.2. Antibiyogram testi (Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi) Bulguları

Alabalık işletmelerinden izole edilen bakteri

izolatlarının antibiyotiklere karşı göstermiş oldukları direnç ve hassasiyetler her bir bakteri izolatı için ayrı ayrı belirlenmiş ve gösterilmiştir (Tablo 7).

Antibiyogram test sonucuna göre 2 *Lactococcus garvieae*, 2 *Pseudomonas fluorescens*, 1 *Aeromonas sobria* suşunun farklı düzeyde antibiyotik duyarlılıklarının olduğu tespit edilmiştir. *A. sobria* suşunun 14 antibiyotiğin, 9’una duyarlı olduğu 2’sine karşı dirençli olduğu ve 3’üne orta derecede duyarlı olduğu saptanmıştır. *P. fluorescens* türüne ait ilk suşun (P1) 14 antibiyotiğin, 3’üne duyarlı olduğu 8’ine karşı dirençli olduğu ve 3’üne orta derecede duyarlı olduğu belirlenmiştir. *P. fluorescens* türüne ait ikinci suşun (P2) ise 14 antibiyotiğin, 5’ine duyarlı olduğu 6’sına karşı dirençli olduğu ve 3’üne orta derecede duyarlı olduğu saptanmıştır. *L. garvieae* türüne ait ilk suşun (L1) 14 antibiyotiğin, 10’una duyarlı olduğu 3’üne karşı dirençli olduğu ve 1’ine orta derecede duyarlı olduğu tespit edilmiştir. *L. garvieae* türüne ait ikinci suşun (L2) 14 antibiyotiğin, 13’üne duyarlı olduğu 1’ine karşı dirençli olduğu saptanmıştır.

Tablo 4. *Aeromonas sobria*'nın GN ID kart üzerindeki diziliş sırasına göre biyokimyasal detayları

Nr	Test	Reaksiyon	Nr	Test	Reaksiyon	Nr	Test	Reaksiyon
2	APPA	-	21	BXYL	-	42	SUCT	-
3	ADO	-	22	BAlap	-	43	NAGA	-
4	PyrA	+	23	ProA	+	44	AGAL	-
5	İARL	-	26	LIP	-	45	PHOS	-
7	dCEL	-	27	PLE	-	46	GlyA	-
9	BGAL	-	29	TyrA	+	47	ODC	-
10	H2S	-	31	URE	-	48	LDC	-
11	BNAG	+	32	dSOR	-	53	IHISa	-
12	AGLTp	-	33	SAC	+	56	CMT	-
13	dGLU	+	34	dTAG	-	57	BGUR	-
14	GGT	-	35	dTRE	+	58	0129R	-
15	OFF	-	36	CIT	-	59	GGAA	-
17	BGLU	-	37	MNT	-	61	IMLTa	-
18	dMAL	+	39	5KG	-	62	ELLM	+
19	dMAN	-	40	ILATk	-	64	ILATa	-
20	dMNE	+	41	AGLU	-			

Nr: GN ID kart üzerindeki kuyucuk sıra numarası. Test: GN ID kart üzerindeki kuyucuklarda bulunan biyokimyasal test reaktifleri

Tablo 5. *Pseudomonas fluorescens*'in GN ID kart üzerindeki diziliş sırasına göre biyokimyasal detayları

Nr	Test	Reaksiyon	Nr	Test	Reaksiyon
2	APPA	-	33	SAC	-
3	ADO	-	34	dTAG	-
4	PyrA	+	35	dTRE	-
5	İARL	-	36	CIT	-
7	dCEL	+	37	MNT	-
9	BGAL	-	39	5KG	-
10	H2S	-	40	ILATk	+
11	BNAG	-	41	AGLU	-
12	AGLTp	-	42	SUCT	-
13	dGLU	+	43	NAGA	-
14	GGT	-	44	AGAL	-
15	OFF	-	45	PHOS	-
17	BGLU	-	46	GlyA	-
18	dMAL	+	47	ODC	-
19	dMAN	-	48	LDC	-
20	dMNE	+	53	IHISa	-
21	BXYL	-	56	CMT	+
22	BAlap	-	57	BGUR	-
23	ProA	+	58	0129R	+
26	LIP	-	59	GGAA	-
27	PLE	-	61	IMLTa	(-)
29	TyrA	+	62	ELLM	-
31	URE	-	64	ILATa	-
32	dSOR	-			

Nr: GN ID kart üzerindeki kuyucuk sıra numarası. Test: GN ID kart üzerindeki kuyucuklarda bulunan biyokimyasal test reaktifleri

Tablo 6. *Lactococcus garvieae* 'nin GP ID kart üzerindeki diziliş sırasına göre biyokimyasal detayları

Nr	Test	Reaksiyon	Nr	Test	Reaksiyon
2	AMY	+	32	POLYB	+
4	PIPLC	-	37	dGAL	-
5	dXYL	-	38	dRIB	+
8	ADHI	-	39	ILATk	-
9	BGAL	-	42	LAC	-
11	AGLU	-	44	NAG	+
13	APPA	+	45	dMAL	+
14	CDEX	-	46	BACI	+
15	AspA	(-)	47	NOVO	+
16	BGAR	-	50	NC6.5	-
17	AMAN	-	52	dMAN	+
19	PHOS	-	53	dMNE	+
20	LeuA	+	54	MBdG	+
23	ProA	-	56	PUL	-
24	BGURr	-	57	dRAF	-
25	AGAL	-	58	O129R	+
26	PyrA	+	59	SAL	+
27	BGUR	-	60	SAC	+
28	AlaA	+	62	dTRE	+
29	TyrA	+	63	ADH2s	-
30	dSOR	-	64	OPTO	+
31	URE				

Nr: GP ID kart üzerindeki kuyucuk sıra numarası. Test: GP ID kart üzerindeki kuyucuklarda bulunan biyokimyasal test reaktifleri

Tablo 7. Patojen izolatlar a ait antibiyotik duyarlılık profilleri

Bakteri izolatları	Antibiyotikler														
	N	AM	S	TE	AmC	ENR	OT	IPM	GM	LVX	SXT	FFC	C	TMP	
<i>A. sobria</i>	I (14)	S (40)	I (14)	S (36)	S (42)	S (27)	S (40)	S (45)	S (16)	S (29)	R (0)	R (11)	S (18)	I (11)	
<i>P. fluorescens</i> (P1)	I (15)	R (0)	R (0)	S (23)	R (0)	I (18)	I (18)	R (13)	S (17)	S (25)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	
<i>P. fluorescens</i> (P2)	S (18)	R (0)	I (13)	S (21)	I (15)	R (16)	I (18)	S (28)	S (18)	S (20)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	
<i>L. garvieae</i> (L1)	S (17)	S (27)	R (8)	S (28)	S (26)	I (18)	S (26)	S (34)	S (17)	S (19)	R (0)	S (29)	S (38)	R (0)	
<i>L. garvieae</i> (L2)	S (20)	S (33)	R (0)	S (34)	S (35)	S (32)	S (30)	S (42)	S (20)	S (30)	S (21)	S (36)	S (35)	S (25)	

N: neomycin, AM: ampicilin, S: streptomycin, TE: tetracycline, AmC: amoxycilin+clavulanic acid, ENR: enrofloxacin, OT: oxytetracycline, IPM: imipenem, GM: gentamicin, LVX: levofloxacin, SXT: sulphamethoxazole+trimethoprim, FFC: florfenicol, C: chloramphenicol, TMP: trimethoprim,

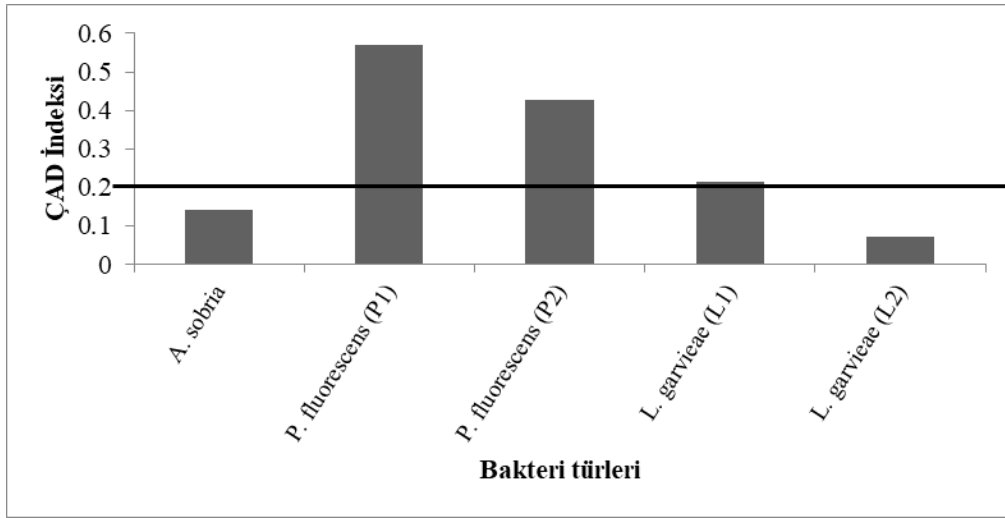
R: Resistant: Dirençli, I: Intermediate: Orta Duyarlı, S: Susceptible: Duyarlı, Zon çapı- mm

3.3. Çoğul Antibiyotik Direnç (ÇAD) İndeks Değerleri

Alabalık işletmelerinden izole edilen bakteri izolatlarına ait ÇAD İndeks değerleri Şekil 1'de gösterilmiştir.

Balıklarda izole edilen bakterilerde en yüksek değer *P. fluorescens* (P1) izolatında 0.57 olarak hesaplanırken, en düşük değer ise *L. garvieae* (L2)'de 0.07 olarak hesaplanmıştır. ÇAD indeksi değerlerine göre *A.sobria* ve *L.garvieae* (L2)

izolatları 0.2 kritik değerin altında kalırken, diğer değerlerin üzerinde hesaplanmıştır. İzolatlara ait ÇAD indeksi değeri bu kritik



Şekil 1. Bakteri izolatlarına ait ÇAD İndeksleri. Yatay çizgi, 0.2 ÇAD kritik sınırını göstermektedir.

3.4. Antimikrobiyal Direnç Genlerinin Belirlenmesi

Çalışma kapsamında incelenen patojen izolatlar *A. sobria*, *P. fluorescens* (P1), *P. fluorescens* (P2), *L. garvieae* (L1), *L. garvieae* (L2) arasında *tetA*, *tetC*, *Sul2*, *ampC* ve *aadA* direnç genlerinin varlığı Tablo 8’ de verilmiştir. Patojen izolatlara ait antibiyotik direnç gen profilleri

incelendiğinde, patojen izolatlar arasında *tetA* ve *tetC* direnç genlerinin varlığı saptanamamıştır. Dört izolatın (*A.sobria*, *P.fluorescens* (P1), *P.fluorescens* (P2), *L.garvieae* (L1)) *sul2* direnç genine, iki izolatın (*P.fluorescens* (P1), *P.fluorescens* (P2)) *AmpC* direnç genine ve iki izolatın da (*P.fluorescens* (P1), *L. garvieae* (L2)) *aadA* direnç genine sahip olduğu belirlenmiştir.

Tablo 8. Patojen izolatlara ait antibiyotik direnç gen profilleri

Bakteri izolatları	Antibiyotik direnç genleri				
	<i>tetA</i>	<i>tetC</i>	<i>sul2</i>	<i>AmpC</i>	<i>aadA</i>
<i>A. sobria</i>	-	-	+	-	-
<i>P.fluorescens</i> (P1)	-	-	+	+	+
<i>P. fluorescens</i> (P2)	-	-	+	+	-
<i>L. garvieae</i> (L1)	-	-	+	-	-
<i>L. garvieae</i> (L2)	-	-	-	-	+

4. TARTIŞMA

Avrupa’da tatlı su balık türleri arasında gökkuşacağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) en yaygın yetiştirilen ve ekonomik değeri oldukça yüksek bir türdür (FEAP, 2022). Dünya çapında pek çok ülkede gökkuşacağı alabalığı yetiştiriciliği yapılmaktadır. Gökkuşacağı alabalığının 2020 yılı

itibariyle dünya çapındaki toplam üretiminin 959.600 tona ulaştığı bildirilmiştir (FAO, 2022). İran ve Türkiye, 2019 yılında dünya üretiminin sırasıyla %22 ve %13’ünü sağlayarak ana üretici konumuna gelmiştir (FAO, 2020). AB ile ilgili olarak Fransa ve İtalya, 2019 yılında AB üretiminin %19 ve %17’sini sağlayarak en büyük katkısı sağlayan ülkeler olmuştur (FAO, 2020;

FEAP, 2022). Gökkuşığı alabalığının yoğun yetiştiricilik koşulları, çeşitli patojenlere karşı duyarlılığını artırarak önemli kayıplara yol açmaktadır (Janssen ve ark., 2017). En yaygın görülen bakteriyel hastalık etkenleri ise *Vibrio anguillarum*, *Yersinia ruckeri*, *Lactococcus garvieae*, *Flavobacterium kolumnaris*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Flavobacterium psychrophilum* patojenlerinden kaynaklanmaktadır (Toranzo 2004, Öztürk ve Altınok, 2014). Yapılan bu çalışmada Vitek2 otomatize sistem kullanılarak bakteri izolatları %90-95 benzerlik oranlarıyla *Aeromonas sobria*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Lactococcus garvieae* olarak tanımlanmıştır. Sistemin bakteri izolatlarını konvansiyonel yöntemlere göre daha hızlı tanımlamasına karşın, tanımlamanın doğrulanması açısından ileri moleküler çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. Gökkuşığı alabalığından izole edilmiş *Lactococcus garvieae* Lg-per suşu fenotipik, biyokimyasal ve 16S rRNA dizisine dayanarak *L. garvieae* olarak doğrulanmış olsa da, Lg-per suşunun tüm genom dizilemesinin (WGS), Lg-per'in aslında *L. petauri* olduğunu ortaya koymuştur. Yapılan çalışmada, 16S rRNA'ya dayalı PCR tespit yönteminin, *Lactococcus* cinsinin tanımlanması için yeterli olmayabileceğini, bu durumun göz önüne alındığında, *L. garvieae* izolatlarının tüm genom dizilemesi (WGS) ile analiz edilmesi gerekliliği bildirilmiştir (Altınok ve ark., 2022).

Lactococcus garvieae'nin neden olduğu Laktokokkozis, dünya çapında gökkuşığı alabalığını (*Oncorhynchus mykiss*) etkileyen en önemli bakteriyel hastalıklardan biri olarak ortaya çıkmıştır ve gökkuşığı alabalığı popülasyonlarında %60-70'e varan önemli ölüm oranlarıyla sonuçlanmıştır (Meyburgh ve ark., 2017; Vendrell ve ark., 2006). Türkiye'nin batı kesiminde bulunan gökkuşığı alabalığı çiftliklerinde *L. garvieae*'nin ilk kaydının yapıldığı 2001 yılından bu yana (Diler ve ark. 2002), laktokok enfeksiyonlarını kontrol etmek için farklı antibiyotikler kullanılmıştır (Kubilay ve ark., 2005; Balta ve Balta 2019). Kubilay ve ark., (2005) ülkemizde gökkuşığı alabalık işletmelerinden izole edilmiş olan 9 farklı *L. garvieae* suşları için yaptıkları antibiyogram çalışmasında, suşların eritromisin, amoksisilin,

kloramfenikol, ampisilin, enrofloksasin, sefalotin, vankomisin, spektinomisin, tetrasiklin, sefoperazon, sefalotin ve nitrofurantoin antibiyotiklerine duyarlı, gentamisin, linkomisin, penisilin, siprofloksasin, sulfametoksazol-trimetoprim, klindamisin, kanamisinsefuroksim, kolistin ve okzolinik asit antibiyotiklerine karşı ise dirençli olduğu bulunmuştur. Karadenizde yetiştiriciliği yapılan gökkuşığı alabalıklarından izole edilen *Lactococcus garvieae* etkeninin antibiyotik duyarlık profillerinin belirlendiği bir diğer çalışmada suşların amoksisilin, florfenikol, ampisilin, eritromisin ve oksitetrasikline duyarlı, trimetoprim, okzolinikasite ve sulfametoksazol/trimetoprim dirençli olduğu bildirilmiştir. Ayrıca neomisin, enrofloksasin, kanamisin, sefoperazon ve vegentamisine karşı değişen oranlarda duyarlık gösterdiği belirlenmiştir (Durmaz ve Kılıçoğlu, 2015). Konya İli çevresinde yer alan Gökkuşığı alabalığı çiftliklerinden izole ettikleri *L. garvieae* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının tespitine yönelik yapılan çalışmada ise tüm suşların, oksitetrasiklin, enrofloksasin, amoksisilin, eritromisin, florfenikol ve ampisiline duyarlı; neomisin ve sulfamethoksazol/trimetoprim ise dirençli olduğu tespit edilmiştir (Kav ve Erganiş, 2008). *L.garvieae* suşlarında yapılan bu çalışmada da benzer olarak çalışılan her iki suşunda ampisilin, enrofloksasin, tetrasiklin, kloramfenikol karşı duyarlı olduğu, *L.garvieae* L1 suşunun da sulfametoksazol+trimetoprim antibiyotiklerine karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Pseudomonas septisemisinin etkeni olan *Pseudomonas fluorescens* fırsatçı bir patojendir. Türkiye'de patojen ilk olarak Ege Denizi'ndeki çipurada, daha sonra levrek, gökkuşığı alabalığı ve bazı süs balığı türlerinden izole edildiği rapor edilmiştir (Öztürk ve Altınok, 2014). Aksoy (2001) Ankara İli ve İlçelerinde bulunan Gökkuşığı alabalığı ve Aynalı sazan çiftliğinden izole edilen *P. fluorescens* suşlarının kanamisin, tetrasiklin ve oksitetrasikline duyarlı, sefalosiporin, trivetrim, ampisilin, gentamisin, neomisin, penisilin, kolistin, streptomisin ve eritromisine dirençli oldukları tespit edilmiştir. Gökkuşığı alabalığını tehdit eden önemli bakteriyel patojenlerin tespiti ve bu patojenlerin

antibiyotik duyarlıklarının belirlenmesi üzerine yapılan farklı bir çalışmada ise aynı etkenin neomisin, enrofloksasin ve kanamisine duyarlı olduğu, eritromisin, oksitetrasiklin, trimetoprim, furazolidon, ampisillin, kloramfenikol, streptomisin, sulfamethoksazol/trimetoprim, sulfafurazol antibiyotiklerine karşı ise dirençli olduğu bulunmuştur (Özkök, 2005). Yapılan bu çalışmada ise benzer şekilde aynı etkene ait her iki şuşunda ampisillin, sulfamethoksazol/trimetoprim, florfenikol, kloramfenikol ve trimetoprim antibiyotiklerine karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. Hareketli aeromonaslar *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* ve *Aeromonas caviae* balıklarda ölümcül bir hastalık olan Motile Aeromonas Septisemisine (MAS) neden olan önemli patojenlerdir (Cipriano, 2001). Ülkemizde MAS neden olan etkenlerin yaygın olarak izole edildiği bildirilmiştir (Özer ve ark., 2009; Filik ve ark., 2021). Durmaz ve Turk (2009) çiftliklerinden alınan alabalık ve su örneklerinden izole edilen motil *Aeromonas* bakterilerin oksitetrasiklin, karbemsilin ve streptomisin antibiyotiklerine yüksek direnç gösterdiklerini, bununla birlikte enrofloksasin ve siprofloksasine karşı %96, amikasin %92.3, oksolinik asit, piperasilin, mezlosilin, sefotaksim, imipenem ve flumekuine ise %76.9-84.6 oranlarında duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Özer ve ark., (2009) Mersin ilindeki yedi ticari gökkuşağı alabalığı çiftliğinden izole ettikleri 22 hareketli *Aeromonas* şuşunun 2'sinin *Aeromonas sobria* olduğu belirlenmiştir. Balıktan izole edilen *Aeromonas sobria* şuşunun antimikrobiyal duyarlılığının belirlendiği bu çalışmada gentamisin, sulfamethoksazol/trimetoprim, enrofloksasine duyarlı, oksitetrasiklin, enrofloksasin ve novobiyosine dirençli, neomisin ve streptomisine orta derece duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada ise benzer şekilde aynı etkene ait şuşun, neomisin ve streptomisine orta derece duyarlı olduğu ancak farklı olarak sulfamethoksazol/trimetoprim antibiyotiğine karşı dirençli, oksitetrasiklin, enrofloksasin antibiyotiklerine karşı ise duyarlı olduğu görülmüştür. İzole edilen bakterilerin farklı direnç profilleri göstermesi, coğrafi

konumlardan ve örnekleme zamanlarından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Çapkın ve ark., 2015).

Ampisilin, neomisin, kanamisin, imipenem, eritromisin, oksolinik asit, oksitetrasiklin, trimetoprim+sulfametoksazol ve streptomisin, florfenikol birçok Avrupa ülkesinde ve Türkiye'de balık hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerdir (Çapkın ve ark., 2015; Kavuş ve ark., 2009). Türkiye'deki balık çiftliklerinde en sık kullanılan antibiyotiğin sulfametoksazol olduğu bildirilmiştir (Çapkın ve ark., 2015). Bu çalışmada antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları bakterilerin %66.6'sının trimetoprim+sulfametoksazole %50'sinin streptomisin ve florfenikole dirençli olduğunu göstermiştir. Buna ek olarak bazı izolatlarda *SulII*, *AmpC* ve *aadA* direnç genleri de tespit edilmiştir. Terzi (2013) Alabalık işletmelerindeki balıklardan izole edilen bakterilerde antibiyotik dirençliliğinin belirlenmesine yönelik yaptığı çalışmada, bakterilerin en çok *sulI* ve *sul2* genini taşıdığını belirlenmiş ve bu durumu bakterilerin sulfonomid grubu antibiyotiklere aşırı maruz kaldığını veya direnç sağlayan genleri diğer bakterilerden edinmiş olmasından kaynaklanabileceğini öne sürmüştür. Aynı çalışmada betalaktam direnci sağlayan genlerden *ampC* geninin, izole edilen bakterilerin %45.8'inde tespit edildiği bildirilmiş, genin yüksek oranda tespit edilmesinin sebebi kullanılan antibiyotiklerin bulaşmaları ile bakterilerin direnç geni geliştirdiklerinin veya kazandıklarının bir göstergesi olabileceği öne sürülmüştür. Direnç genlerinin diğer bakterilere geçme olasılığı göz önüne alındığında, kromozomal veya plazmit aracılı antibakteriyel direnç profilinin sık sık değerlendirilmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır. ÇAD indeksinin 0.2'den büyük olması su ürünleri yetiştiriciliğinde ağır dozda antibiyotik kullanıldığını göstermektedir (Osundiya ve ark. 2013). Bu çalışmada alabalıklardan elde edilen bazı izolatların ÇAD indeksinin 0.2'den büyük olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, alabalıkların toplandığı çiftlikte antibiyotik kullanımının daha yoğun olduğunu ortaya çıkarmıştır.

5. SONUÇ

Etkili su ürünleri yetiştiriciliğinde, güvenli yönetim uygulamaları, uygun stoklama programları ve uygun hijyenik koşullar, bakteriyel patojenlerin girişini, bakteriyel enfeksiyonların görülme sıklığını ve dolayısıyla antimikrobiaların kullanımını sınırlandıracaktır. Antimikrobiyal direnç tehdidinin üstesinden gelebilmek için uygun yönergeleri takip eden sürekli izleme programları ve etkili politikaların uygulanması su ürünleri sektörünün daha sağlıklı gelişmesine katkı sağlayacaktır. Ancak sınırlı sayıda izolatla yapılan izleme çalışmalarının resmin tamamını yansıtmayabileceği, bir üretim alanındaki mevcut antimikrobiyal duyarlılığın daha doğru bir şekilde değerlendirilmesi için mümkün olduğunca çok sayıda bakteri izolatının değerlendirilmesi gerekliliği de bildirilmiştir (Sezgin ve ark., 2023). Balık ölümlerinin değerlendirilmesi, antibiyotik kalıntılarının değerlendirilmesi, sorumlu patojenlerin tanımlanması ve bunların antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi, izleme programının bir parçası olarak periyodik olarak yapılmalıdır. Antibiyotik direncinin ortaya çıkması, balık çiftliklerinde uygun sürveyans ve sürekli izleme programlarının uygulanmasının yanı sıra diğer etkili alternatiflerin kullanımını da hatırlatmaktadır. Antibiyotik direncini azaltmak için probiyotikler, bitkisel tedaviler, fajlar, aşılardan gibi alternatif çevre dostu tedavilerin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu durum, gıda kalitesini artıracak, insan sağlığı ve çevre üzerindeki olumsuz etkileri en aza indirecektir.

TEŞEKKÜR

Yazarlar, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne finansal destekleri için teşekkür eder.

ESER SAHİPLİĞİ KATKI BEYANI

Miray ETYEMEZ BÜYÜKDEVECİ: Kavramsallaştırma, Metodoloji, Yazım- Orjinal Taslak ve Düzenleme, Veri iyileştirme, Görselleştirme, Kaynaklar, Proje Yönetimi, Fon sağlama.

İbrahim DEMİRKALE: Metodoloji, Yazım- Gözden Geçirme ve Düzenleme, Denetleme, Görselleştirme

Serdar KİLERCİOĞLU: Yazım- Gözden Geçirme ve Düzenleme, Şekilsel Analiz

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makalenin gerçek, olası veya algılanan çıkar çatışmasına sahip olmadığını beyan etmektedirler.

ETİK KURUL İZİNİ

Bu çalışma için etik kurul izni T.C. Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 28/11/2023 tarihli ve 9 numaralı kararı ile alınmıştır.

FONLAMA DESTEĞİ

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje numarası: FBA-2019-12167).

ORCID Numaraları

Miray ETYEMEZ BÜYÜKDEVECİ:

<https://orcid.org/0000-0002-8860-0849>

İbrahim DEMİRKALE:

<https://orcid.org/0000-0002-0074-2309>

Serdar KİLERCİOĞLU:

<https://orcid.org/0000-0001-5288-0781>

6. KAYNAKÇA

Altınok, I., Ozturk, R.C., Ture, M. (2022). NGS analysis revealed that *Lactococcus garvieae* Lg-Per was *Lactococcus petauri* in Türkiye. *Journal of Fish Diseases*, 45(12): 1839-1843.

Andersson, D.I., Levin, B.R. (1999). The Biological Cost of Antibiotic Resistance, *Current Opinion in Microbiology*, 2: 489-493.

Aoki, T. (1997). Resistance plasmids and the risk of transfer. In: Bernoth EM, ed. Furunculosis: multidisciplinary fish disease research. London, Academic Press, pp. 433-440.

- Aksoy, H.M. (2001).** Balık Çiftliklerinde Üretilen Tatlı Su Balıklarında *P. fluorescens*' in Varlığı ve Antibiyotiklere Duyarlılığı. *Etlık Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 12(1-2): 12-22.
- Balta, F., Balta, Z.D. (2019).** The Isolation of *Lactococcus garvieae* from Eyes of Diseased Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) with Exophthalmia. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(1): 27-33. doi: 10.35229/jaes.527258.
- Bhat, R., Altınok, I. (2023).** Antimicrobial resistance (AMR) and alternative strategies for combating AMR in aquaculture. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 23(11): TRJFAS24068. doi: 10.4194/TRJFAS24068.
- BSGM (2023).** Su Ürünleri İstatistikleri. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Capkin, E., Terzi, E., Altınok, I. (2015).** Occurrence of antibiotic resistance genes in culturable bacteria isolated from Turkish trout farms and their local aquatic environment. *Diseases of Aquatic organisms*, 114(2): 127-137.
- Capkin, E., Ozdemir, S., Ozturk, R. C., Altınok, I. (2017).** Determination and transferability of plasmid-mediated antibiotic resistance genes of the bacteria isolated from rainbow trout. *Aquaculture Research*, 48(11): 5561-5575.
- Cipriano, R.C. (2001).** *Aeromonas hydrophila* and motile aeromonad septicemias of fish. Fish disease leaflet 68. U.S. Dept. of the Interior, Fish and Wildlife Service, Division of Fishery Research, Washington, DC, pp. 25.
- CLSI, 2013.** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI M100, (2020).** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 30th ed. CLSI Supplement M100, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.
- CLSI M100, (2021).** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 31th ed. CLSI Supplement M100, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.
- CLSI VET01S, (2020).** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 30th ed. CLSI Supplement M100, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.
- CLSI, (2018).** Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Clinical and Laboratory Standart Institute. Wayne, PA, USA, pp. 112.
- Diler, Ö., Altun, S., Adiloğlu, A.K., Kubilay, A., Işıklı, B.I. (2002).** First occurrence of Streptococcosis affecting farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 22(1): 21-26.
- Dokumacı, A.D. (2024).** Antibiyotik Direncinin Aşılması İçin Yeni Stratejiler ve İlaç Geliştirme Çalışmaları: Geleneksel Derleme. *Journal of Literature Pharmacy Sciences*, 13(1): 57-68.
- Durmaz, Y., Türk, N. (2009).** Alabalık işletmelerinden motil aeromonasların izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(3): 357-361.
- Durmaz, Y., Kılıçoğlu, Y. (2015).** Detection of naturally infected rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) by *Lactococcus garvieae* with molecular methods and culture techniques and determination of antibiotic susceptibility profiles of agent in a trout farm. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 10(2): 109-115.
- FAO, (2019).** Aquaculture development. 8. Recommendations for prudent and responsible use of veterinary medicines in aquaculture. FAO Technical Guidelines for Responsible Fisheries.
- FAO, (2020).** The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action, Rome.
- FAO, (2022).** The state of world fisheries and aquaculture 2022. Towards blue transformation, Rome.
- FEAP, European Aquaculture Production Report 2015–2021, (2022).** Accessed Date: 05/04/2023, <https://feap.info/wp-content/uploads/2023/04/2023-04-05-production-report-2023.pdf> is retrieved.
- Filik, N., Önem, E., Kubilay, A. (2021).** *Aeromonas hydrophila* Suşlarının Antibiyotik Direnç Profilleri. *Acta Aquatica Turcica*, 17(2): 202-213.
- 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.
- Güngör, N., İpek, Z.Z., Akif, E.R., Kayış, Ş. (2021).** Farklı Sucul Sistemlerden İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliklerinin Karşılaştırılması. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 6(1): 25-30.
- Hancı, İ., Onuk, E.E. (2018).** *Lactococcus garvieae* izolatlarının antimikrobiyal direnç profillerinin fenotipik ve genotipik olarak belirlenmesi. *Etlık Vet Mikrobiyoloji Dergisi*, 29(2): 94-103.

- Janssen, K., Chavanne, H., Berentsen, P., Komen, H. (2017).** Impact of selective breeding on European aquaculture. *Aquaculture*, 472(1): 8–16.
- Kayis, S., Capkin, E., Altinok, I. (2009).** Bacteria in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the Southern Black Sea Region of Turkey-a survey. *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgah*, 61(4): 339-344.
- Kav, K., Erganiş, O. (2007).** Konya Bölgesinde Bulunan Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Çiftliklerinden *L. garvieae* İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Fenotipik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Veteriner Bilimler Dergisi*, 23 (3): 7-17.
- Krumperman, P.H. (1983).** Multiple Antibiotic Resistance Indexing of *Escherichia coli* to Identify High-Risk Sources of Fecal Contamination of Foods, *Applied and Environmental Microbiology*, 461: 165-170.
- Kern, M.B., Klemmensen, T., Frimodt-Møller, N., Espersen, F. (2002).** Susceptibility of Danish *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia, and distribution of *sul* genes conferring sulphonamide resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50: 513–516.
- Kubilay, A., Altun, S., Uluköy, G., Diler, Ö. (2005).** The Determination of Antimicrobial Susceptibilities of *Lactococcus garvieae* Strains. *SDU Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 1(1): 39-48.
- Meyburgh, C.M., Bragg, R.R., Boucher, C.E. (2017).** *Lactococcus garvieae*: an emerging bacterial pathogen of fish. *Diseases of Aquatic Organism*, 123 (1): 67–79.
- Ng, L.K., Martin, I., Alfa, M., Mulvey, M. (2001).** Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes. *Molecular and Cell Probes*, 15(4): 209–215.
- Osundiya, O.O., Oladele, R.O., Oduyebo, O.O. (2013).** Multiple antibiotic resistance (MAR) indices of *Pseudomonas* and *Klebsiella* species isolates in Lagos University Teaching Hospital. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 14(3): 164-168.
- Özer, S., Bulduklü, P., Tezcan, S., Dönmez, E., Aydin, E., Aslan, G., Emekdas, G. (2009).** Genetic diversity and antimicrobial susceptibility of motile aeromonads isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) farms. *Journal of Applied Ichthyology*, 25(2): 195-200.
- Özkök, S. (2005).** Gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) görülen önemli bakteriyel etkenlerin tespiti ve antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 16(1-2): 1-12.
- Öztürk, R.Ç., Altinok, İ. (2014).** Bacterial and viral fish diseases in Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14(1): 275-297.
- Petersen, A., Andersen, J.S., Kaewmak, T., Somsiri, T., Dalsgaard, A. (2002).** Impact of integrated fish farming on antimicrobial resistance in a pond environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 6036–6042.
- Romero, J., Feijoó, C.G., Navarrete, P. (2012).** Antibiotics in aquaculture-use, abuse and alternatives. *Health and Environment in Aquaculture*, 159(1): 159-198. doi:10.5772/28157.
- Saitanu, A., Chongthaleong, M., Endo, T., Umeda, K., Takami, T., Aoki, T. (1994).** Antimicrobial susceptibilities and detection of transferable r-plasmids from *Aeromonas hydrophila* in Thailand. *Asian Fisheries Sciences*, (7): 41-46.
- Schwartz, T., Kohnen, W., Jansen, B., Obst, U. (2003).** Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water and drinking water biofilms. *FEMS Microbiology Ecology*, 43(3): 325–335.
- Sezgin, S.S., Yilmaz, M., Arslan, T., Kubilay, A. (2023).** Current antibiotic sensitivity of *Lactococcus garvieae* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms from Southwestern Turkey. *Journal of Agricultural Sciences*, 29(2): 630-642.
- Toranzo, A.E. (2004).** Report about fish bacterial diseases: Mediterranean Aquaculture Laboratories, In: Alvarez-Pellitero, P., Barja, J.L., Basurco, B., Berthe, F., Toranzo, A. E. (Eds.), Mediterranean aquaculture diagnostic laboratories, Santiago de Compostela, Spain. pp. 49-89.
- Terzi, E. (2013).** Alabalık İşletmelerinden İzole Edilen Bakterilerde Antibiyotik Direnç Genlerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Türe, M., Alp, H. (2016).** Identification of bacterial pathogens and determination of their antibacterial resistance profiles in some cultured fish in Turkey. *Journal of Veterinary Research*, 60(2): 141-146.
- 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.
- 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.

Vendrell, D., Balcazar, J.L., Ruiz-Zarzuela, I., de Blas, I., Girones, O., M zquiz, J.L. (2006). *Lactococcus garvieae* in fish: a review. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 29(4): 177–198.

Vignesh, R., Karthikeyan, B.S., Periyasamy, N., Devanathan, K. (2011). Antibiotics in aquaculture: an overview. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 1(3): 114-120.

Yilmaz, M., Arslan, T., Oral, M.A., Kubilay, A. (2024). Antibiotic susceptibility and resistance genes profiles of *Vagococcus salmoninarum* in a rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) farm. *PeerJ*, 12: e17194.

ON PRESS