



ISSN:1306-3111
e-Journal of New World Sciences Academy
2009, Volume: 4, Number: 3, Article Number: 5A0017

ECOLOGICAL LIFE SCIENCES

Received: December 2008
Accepted: June 2009
Series : 5A
ISSN : 1308-7258
© 2009 www.newwsa.com

Yasemin Kaya, Fatih Matyar
Raciha Sinem Balcı, Sadık Dinçer
Cukurava University
yaseminkaya2008@gmail.com
fmatyar@cu.edu.tr
Adana-Turkey

**SEYHAN BARAJ GÖLÜNDEN İZOLE EDİLEN ENTEROBACTERIACEAE GRUBU
BAKTERİLERDE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİ VE PLAZMİD PROFİLLERİNİN
BELİRLENMESİ**

ÖZET

Bu çalışmada Seyhan Baraj Gölü'nden izole edilen *Enterobacteriaceae* grubuna ait 74 bakteri suşunun çoklu antibiyotik dirençliliği (ÇAD) indeksi araştırılmıştır. İzolatların plazmidleri izole edilerek her bakteriye ait plazmid profili belirlenmiştir. İzolatların MAR indeksleri 0.29-1.0 arasında değişmektedir. Plazmid izolasyonunda 39 izolatın (%52.7) plazmid içerdiği belirlenmiştir. Dirençli olunan antibiyotik sayısı ile plazmid ilişkilerine bakıldığında 7 farklı antibiyotiğe dirençlilik gösteren *Escherichia coli* suşunda hiç plazmid DNA bandı gözlenememişken, beş farklı antibiyotiğe dirençli olan diğer bir *Escherichia coli* suşunda ise 14 plazmid DNA bandı gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Enterobacteriaceae*, Plazmid, ÇAD, Antibiyotik, *E. coli*

**DETERMINATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCES AND PLASMID PROFILES OF
ENTEROBACTERIACEAE ISOLATED FROM SEYHAN DAM LAKE**

ABSTRACT

In this study, multiple antibiotic resistance (MAR) index was investigated in 74 *Enterobacteriaceae* strains isolated from Seyhan Dam Lake. Plasmids of these strains were isolated and each of these strains plasmid profile was determined. MAR index values changes between 0.29-1.0. It was determined that 39 (52.7%) isolates contain plasmid. By examining the relationships between resistant antibiotic number and plasmid profiles, it was found that *Escherichia coli*, which was resistant to 7 antibiotics, has not any plasmid, on the other hand another strain of *Escherichia coli*, which was resistant to 5 antibiotics, has 14 plasmid DNA bands.

Keywords: *Enterobacteriaceae*, Plasmid, MAR, Antibiotic, *E. coli*



1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Sucul ortamlarda bakteriler ekosistemin doğal bir parçasıdır [1]. Yüzeysel sularına dışkı kökenli bakteri bulaştıran kirliliğin kaynağının bilinmemesi, bakteriyi tanımlamakta problemler oluşturmaktadır [2].

Kirlilik kaynağının bilinmesi su kalitesinin normal düzeye gelmesine yardım edebilir ve ortaya çıkan bulaşıcı hastalıkların tedavisini kolaylaştırabilir [2]. İnsanların oluşturduğu atık sular, çeşitli şekillerde yerleşim birimlerinden çevre sularına karışmaktadırlar. Bu nedenle sucul ortamlar, atık suların içerdiği organik ve inorganik kirlilik etkenlerine bağlı olarak kirletilmektedir [3].

Sucul ortamlarda etkili olan çevresel faktörlere bağlı olarak, bakterilerde meydana gelen değişiklikler, ekosistem ve insan sağlığı açısından olumsuzluklara yol açabilir [1]. Atık suların herhangi bir arıtma işlemi uygulanmadan çevre sularına karışımı, içerdikleri organik maddelerin mikroorganizmalarca parçalanması sonucu çevre sularında doğal yaşam koşullarının bozulmasına neden olurken içerdikleri çeşitli zehirli maddeler ve hastalık oluşturan mikroorganizmalar nedeniyle de insan sağlığı açısından da önemli tehlikeler oluşturur [3].

Özellikle evsel atıklar, R-plazmidi taşıyan ve çoğunluğu insan barsak florasından kaynaklanan bakteriler içerir. Bu bakterilerde antibiyotiklere dirençlilik kazandıran R-plazmidleri yaygın olarak bulunduğundan, atık suların çevre sularına boşaltılması, bu tip dirençli bakterilerin çevreye yayılmasına neden olmaktadır [3]. Antibiyotik çağından önce izole edilip saklanan bakterilerde direnç faktörlerinin bulunmadığı ve bugün pratikte kullanılan hemen hemen tüm antibiyotiklere bu bakterilerin duyarlı oldukları kanıtlanmıştır [4].

Bakteriler çevresel değişikliklere çok çabuk cevap verebildiklerinden, bu yetenekleri sucul ekosistemde köklü değişikliklere yol açabilmektedir [5]. Bakterilerin bu özellikleri geliştirilen her yeni antibiyotiğe direnç kazanmalarına da yol açmakta ve enfeksiyonlarla mücadelede en önemli engel olan antibiyotiklere direnç sorunu ortaya çıkmaktadır [6].

Son yıllarda antibiyotiklere karşı giderek artan direnç sorunu tüm dünyayı tehdit eder hale gelmiştir [7]. Bugün için ise klinik önemi bulunan bakterilerde antibiyotik dirençliliği ile ilgili 100'den fazla gen bulunduğu bilinmektedir. Bir diğer yönden dirençlilik yayılabilir bir özelliktir ve oluştuktan sonra, büyük bir hızla sadece aynı tür ve cinsler içinde değil, plazmid ve transpozonlar gibi aktarılabilir genetik materyallerle diğer bakterilere de geçebilmektedir [4].

2. ÇALIŞMANIN ÖNEMİ (RESEARCH SIGNIFICANCE)

Sucul ortamlarda artan kirlilik, içilebilir su kaynaklarının hızla azalmasına neden olmaktadır. Bu kirlilik kimyasal veya mikrobiyolojik olabilir. Mikrobiyolojik kökenli kirlilik sonucu ortaya çıkan enfeksiyon hastalıkları insan sağlığı açısından önemli bir yer teşkil etmekte, hastalığın şiddetine bağlı olarak işgücü kaybına ve maddi kayıplara neden olmaktadır. Bakteriler arasında hızla artan antibiyotik dirençliliği tedavisi zor enfeksiyonlara neden olmaktadır. Dirençlilik genlerinin plazmid üzerinde taşınması daha büyük bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Antibiyotiklere karşı artan direnç mekanizmaları yeni antibiyotiklerin keşfini de zorunlu kılmaktadır. Sucul ortamlarda *Enterobacteriaceae* grubuna ait antibiyotiğe dirençli hastalık oluşturan bakterilerin bulunması özellikle önem arz etmektedir [8].



3. DENEYSEL YÖNTEM (EXPERIMENTAL METHOD)

3.1. Bakteri izolasyonu (Isolation of Bacteria)

Enterobacteriaceae grubu bakteriler Kasım 2005-Haziran 2006 tarihleri arasında Seyhan Baraj Gölü'nden 7 farklı istasyondan alınan su örneklerinden izole edilmiştir. Steril su şişeleri içinde 250 mL su örnekleri laboratuara steril şartlarda buz kutusunda getirilerek 4 saat içerisinde EMB agar kullanılarak *Enterobacteriaceae* üyeleri izole edilmiş, Gr-boyama, indol, metil kırmızısı, Voges Prouskauer, hareket, sitrat testi ile identifikasyonları yapılmıştır [9]. Bakterilerin saklanması için nutrient agar kullanılmıştır.

3.2. Antibiyotik Dirençliliğinin Saptanması (Determination of Antibiotic Resistances)

İzole edilen 74 bakterinin 7 farklı antibiyotiğe dirençliliği agar dilüsyon metodu kullanılarak saptanmıştır [10]. Luria-Bertani (LB) buyyon besiyerinde üretilen bakteri kültürleri 0.5 McFarland bulanıklığına kadar sulandırılmış ve nutrient agar üzerine yayılmıştır. Kullanılan antibiyotikler derişimleri şu şekildedir; gentamisin (GEN, 30µg/mL), imipenem (IPM, 10µg/mL), amfisilin (AM, 25µg/mL), sefazolin (CZ, 30µg/mL), sefuroksim (CEF, 30µg/mL), seftriakson (CRO, 30µg/mL) ve streptomisin (STR, 10µg/mL).

3.3. Çoklu antibiyotik dirençliliği (ÇAD) İndeksinin Hesaplanması (Calculating of the Multiple Antibiotic Resistance (MAR) Index)

ÇAD indeksi bir izolata antibiyotik uygulandığında a/b olarak hesaplanır. 'a' izolatin dirençli olduğu antibiyotik sayısını, 'b' izolatin maruz bırakıldığı antibiyotik sayısını temsil eder. ÇAD indeksi 0.2'den yüksek çıkarsa organizma antibiyotiğin çok kullanıldığı yüksek risk bölgesinden izole edilmiştir. ÇAD indeksi 0.2'den küçük veya eşitse izolatin elde edildiği bölgede antibiyotik ya az kullanılmış ya da hiç kullanılmamıştır [11].

3.4. Plazmidlerin İzolasyonu (Isolation of Plasmids)

Plazmid izole edilecek mikroorganizmanın LB buyyon besiyerinde bir gecelik taze kültürü hazırlanarak bu kültürden 0.1 mL alınıp 10 mL'lik LB buyyon besiyerine inokulasyonu yapılmıştır. 4-6 saat 37°C'de üretildikten sonra, örneğin tamamı 100 mL'lik LB buyyon besiyerine aktarılmış ve 2 saatlik inkübasyondan sonra ortama son derişim 170µg/mL olacak şekilde kloramfenikol ilave edilerek bir gece üremeye bırakılmıştır [12]. Plazmid izolasyonu hazır plazmid izolasyon kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Roche applied science high pure plazmid isolation kit. Cat no: 11 754 777 001).

3.5. Agaroz Jel Elektroforezi (Agarose Gel Electrophoresis)

Elde edilen plazmidler 15x20x0.5 cm ebatlarında %1'lik agaroz jelde TBE tamponu kullanılarak 10V/cm² voltajda separe edilmiştir. Marker olarak Sigma Aldrich Lambda DNA HindIII Digest Buffered Aqueous Solution (Cat. no: D9780) kullanılmıştır. Elektroferez işlemi tamamlanınca jel elektroferez aparatından alınıp boyama kabına konulmuştur ve jel üzerine 0.5 µg/mL konsantrasyonda ethidium bromid boyama solüsyonu konarak 45 dk. boyanmıştır. Boyanın fazlası jeli 1 mM MgSO₄ solüsyonu ile 15 dk. muamele etmek suretiyle geri alınmıştır. Jel daha sonra U.V. transillüminatör üzerine konarak fotoğrafları çekilmiştir [12].



4. SONUÇLAR (RESULTS)

İzole edilen bakteriler arasında 33 izolatin *Escherichia coli* (%44.6), 30 izolatin *Enterobacter cloacae* (%40.5), 7 izolatin *Citrobacter freundii* (%9.5), 3 izolatin *Klebsiella pneumoniae* (%4.1), 1 bakteri suşunun *Enterobacter aerogenes* (%1.4) olduğu görülmüştür (Tablo 1). Çalışmamızda en çok rastlanan izolat *Escherichia coli*'dir. Bu bakteri sucul ortamlarda fekal kirliliğin göstergesidir. Seyhan Baraj Gölü, çevresinde mevcut olan yerleşim alanları nedeniyle bu kirliliğe maruz kalmaktadır. En sık rastlanan ikinci izolat *Enterobacter cloacae*'dir. Bu bakteri hastane kaynaklı enfeksiyonlarda önemli bir patojendir ve β -laktamlara karşı dirençli olan suşları gün geçtikçe artmaktadır. Özellikle yoğun bakım ünitelerinden izole edilmektedir [13]. Çalışmamızda 5 farklı bakteri türü tespit edilmiştir. Sucul bakteriler farklı ortamlardan buraya taşındıklarından çeşitlilik gösterebilir [14] ve çevresel şartlar dirençlilik kazanmalarına sebep olabilir. Dang ve ark. [15] Jiazhou Körfezi'nden elde ettikleri 89 adet OTC₁₀₀ dirençli izolatın 32 farklı türe ait olduğunu tespit etmişlerdir. Bu izolatlardan çoğunluğu *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* ve *Vibrionaceae*'den oluşmaktadır.

Tablo 1. Bakteri türleri ve izolasyon bölgeleri
(Table 1. Bacterial species and isolation sites)

İzolatlar/Bölge	1	2	3	4	5	6	7	Toplam
<i>Escherichia coli</i>	1	10		3	5	6	8	33
<i>Enterobacter cloacae</i>		3		7	2	17	1	30
<i>Citrobacter freundii</i>	3	1	1				2	7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			2		1			3
<i>Enterobacter aerogenes</i>				1				1
Toplam	4	14	3	11	8	23	11	74

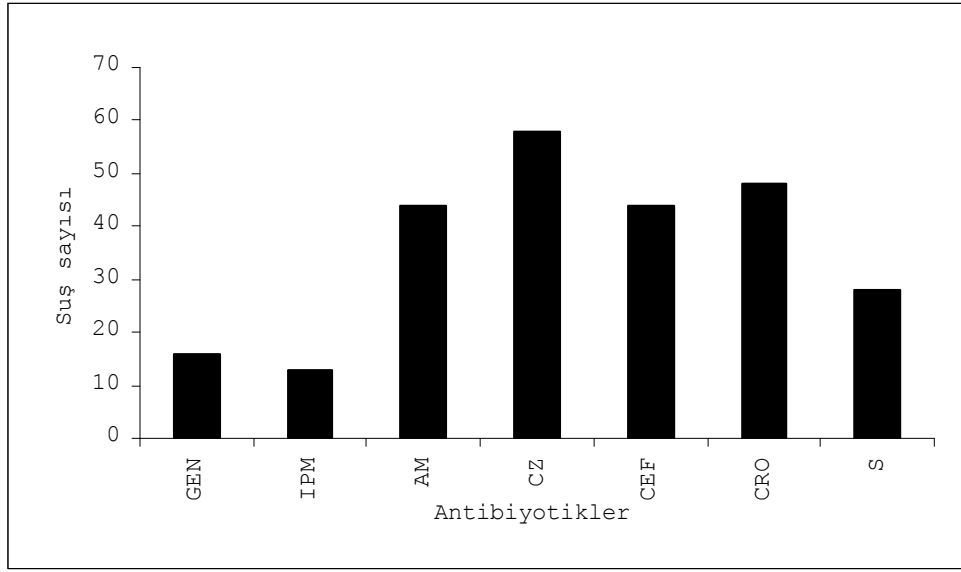
Çalışmamızda izole edilen bakteriler en fazla sefazoline (%78.4) dirençlilik göstermişlerdir. Daha sonra seftriaksona (%64.9), amfisiline (%59.4) ve sefuroksime (%59.4) karşı yüksek oranda dirençlilik saptanmıştır. Streptomisine (%38), gentamisine (%21.6) ve imipeneme (%17.6) karşı olan dirençlilik nispeten daha az olarak saptanmıştır (Şekil 1).

Çalışmada izole edilen bakterilerin toplamı hesaba katıldığında 10 bakteri suşunun (%13.5) ÇAD indeksi 0.29, 12 bakteri suşunun (%16.2) ÇAD indeksi 0.43, 21 bakteri suşunun (%28.4) 0.57, 16 bakteri suşunun (%21.6) 0.71, 2 bakteri suşunun (%2.7) 0.86 ve bir bakteri suşunun (% 1.4) 1.0 olarak tespit edilmiştir (Şekil 2).

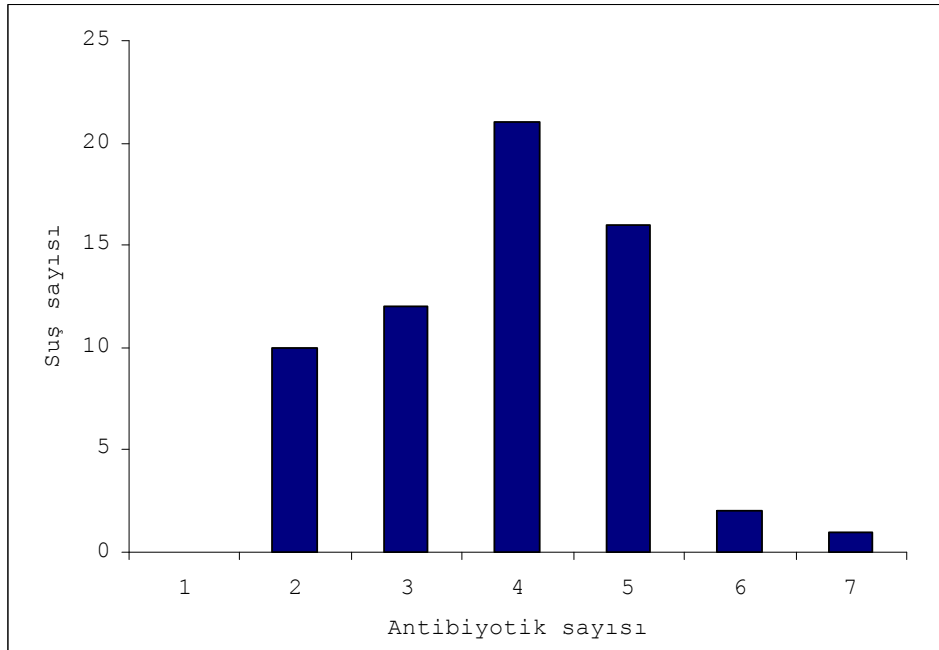
Çalışmada izole edilen 74 *Enterobacteriaceae* grubu bakterilerin tamamı kullanılarak plazmid izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Seçilen bakteri suşlarından izole edilen plazmidlerin büyüklükleri agaroz jelde yürütülen marker DNA'sının baz çifti (bç) büyüklüğüne göre belirlenmiştir.

Plazmid izole edilen bakterilerde, 5 farklı antibiyotiğe dirençli olan 1 bakterinin (%1.4) izole edilen 14 plazmid DNA bandı olduğu, 1 bakterinin (%1.4) 13 plazmid DNA bandı olduğu ve bir bakterinin de (%1.4) 12 plazmid DNA bandı olduğu belirlenmiştir. 6 farklı antibiyotiğe direnç gösteren 2 bakteride (%2.7) ise 2 plazmid DNA bandı olduğu belirlenmiştir. 2 farklı antibiyotiğe dirençli olan 2 bakteride (%2.7) ise 7 plazmid DNA bandı olduğu belirlenmiştir. Tek antibiyotiğe dirençli olan 1 bakteride (%1.4) ise 7 plazmid DNA bandı olduğu belirlenmiştir. 5 farklı antibiyotiğe dirençli olan 1 bakteride (%1.4) ise tek plazmid DNA bandı olduğu belirlenmiştir. 7 farklı

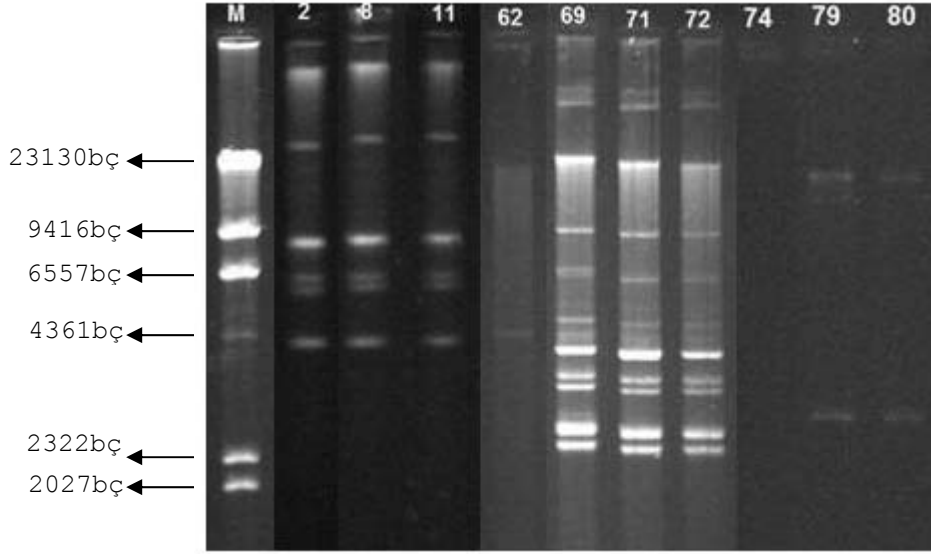
antibiyotiğe dirençli olan 1 bakteride (%1.4) ise plazmid DNA bandı gözlenmemiştir (Şekil 3).



Şekil 1. Seyhan Baraj Gölü'nden izole edilen *Enterobacteriaceae* suşlarının antibiyotik dirençliliği
(Figure 1. Antibiotic resistance of *Enterobacteriaceae* strains isolated from Seyhan Dam Lake)



Şekil 2. Seyhan Baraj Gölü'nden izole edilen *Enterobacteriaceae* suşlarının çoklu antibiyotik dirençliliği
(Figure 2. Antibacterial multi resistance of *Enterobacteriaceae* strains isolated from Seyhan Dam Lake)



Şekil 3. Bakterilerin agaroz jel elektroforez sonuçları
(Figure 3. Agorose gel electrophoresis results of the bacteria)

5. TARTIŞMA (DISCUSSION)

Hastalıkların tedavisinde bilinçsizce ve fazla miktarda antibiyotik kullanımı nedeniyle ve hastane atıklarının yüzey sularına karışmasıyla, yüzey sularında bulunan bakterilerin çoklu antibiyotik dirençliliği gün geçtikçe artmaktadır. Çalışmamızda örnek topladığımız 2. 4. ve 6. istasyonlar insan yerleşim alanlarına yakın bölgelerdir. Dolayısıyla bu bölgeler insan aktivitelerinin en fazla olabileceği bölgeler olup buralardan izole edilen *Enterobacteriaceae* grubu bakterilerde antibiyotik dirençlilik düzeyinin yüksek olduğu belirlenmiştir. İzole edilen bu türlerin sefazoline %78.4, seftriaksona %64.9, amfisiline %59.4, sefuroksime %59.4, streptomisine %38, gentamisine %21.6 ve imipeneme %17.6 oranında dirençli oldukları saptanmıştır. Benzer konularda yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular sonuçları desteklemektedir. Gianni-Rizzo ve ark. [16] Arga nehrinden izole ettikleri *Enterobacteriaceae* spp. suşlarının ve *Aeromonas* spp. suşlarının nalidiksik aside karşı sırasıyla %72 ve %20 oranında dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar ayrıca, *Enterobacteriaceae* spp. izolatlarının tetrasikline %24.3 oranında, beta-laktamlara %20.5 oranında dirençli olduklarını, *Aeromonas* spp. izolatlarının ise tetrasikline %27.5, ko-trimoksazole %26.6 dirençli olduklarını bulmuşlardır.

Knothe ve ark. [17] sefalosporin dirençliliğinin plazmid kökenli olduğunu ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarından izole edilen plazmidin, sefotaksim, sefuroksim diğer sefalosporinler, penisilinler ve gentamisin dirençliliğini hassas suşlara aktarabildiğini bildirmişlerdir. Sefotaksim ve diğer son kuşak beta-laktam antibiyotik dirençliliklerinin *Escherichia coli* bakterisine çok kolay aktarabildiğini belirtmişlerdir.

Bakterilerde çoklu antibiyotik dirençliliğinin gelişmesinde çeşitli faktörler rol oynamaktadır. Colamiris ve ark. [18] zararsız olarak tanımlanan bazı bakterilerde R-faktörlerine bağlı ÇAD dirençliliği olduğunu tespit etmişlerdir. Antibiyotiklere karşı geliştirilen direnç kromozomal olabileceği gibi ekstrakromozomal kökenli de olabilmektedir.

Kromozom dışında, bakterilerde bulunan hücreye bazı önemli özellikler kazandıran ve bu özellikleri genetik kontrol altında tutan plazmidler bulunmaktadır. Plazmidler mikroorganizmalara antibiyotik



ve ağır metal dirençliliği gibi özellikler kazandırmaktadırlar ve üzerinde 1-2 veya daha fazla gen taşıyabilirler [19]. Plazmid büyüklüklerinin 1-2 milyon dalton arasında değişebildiği belirtilmektedir [20 ve 21]. Plazmidler bir bakteride kendiliğinden oluşabilirler veya bir başka bakteriden aktarılma yolu ile meydana gelebilirler. Bir plazmid hücrede kendiliğinden kaybolabileceği gibi kimyasal ve fiziksel yollarla da yok olabilir [19]. Bu çalışmada, Seyhan Baraj Gölünden izole edilen ve antibiyotik dirençlilik düzeyleri tespit edilmiş *Enterobacteriaceae* grubu bakterilerdeki bu dirençliliğin plazmid kökenli olup olmadığı, izole edilen plazmidlerin büyüklükleri elektroforez yapılarak ortaya konmuştur.

Plazmid izolasyonunu yapmış olduğumuz bakterilerde, 5 farklı antibiyotiğe dirençli olan 1 bakterinin (%1.4) izole edilen 14 plazmid DNA bandı olduğu, 1 bakterinin (%1.4) 13 plazmid DNA bandı olduğu ve bir bakterinin de (%1.4) 12 plazmid DNA bandı olduğu belirlenmiştir. 6 farklı antibiyotiğe direnç gösteren 2 bakteride (%2.7) ise 2 plazmid DNA bandı olduğu belirlenmiştir. 2 farklı antibiyotiğe dirençli olan 2 bakteride (%2.7) ise 7 plazmid DNA bandı olduğu belirlenmiştir. Tek antibiyotiğe dirençli olan 1 bakteride (%1.4) ise 7 plazmid DNA bandı olduğu belirlenmiştir. 5 farklı antibiyotiğe dirençli olan 1 bakteride (%1.4) ise tek plazmid DNA bandı olduğu belirlenmiştir. 7 farklı antibiyotiğe dirençli olan 1 bakteride (%1.4) ise plazmid DNA bandı gözlenmemiştir. İzole edilen bakterilerin gösterdikleri antibiyotik dirençlilik özelliklerinin kromozomal veya plazmidik oldukları gözlenmektedir [19].

Stewart ve Koditsihek [22] deniz suyundan izole ettikleri bakterilerle *Escherichia coli*'nin laboratuvar suşları arasında, antibiyotik dirençliliğinin transfer edilebildiğini ortaya koymuşlardır.

Shah ve Stille [23] yaptıkları çalışmalar sonucunda Almanya'da beta-laktam antibiyotiklere karşı *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarının dirençlilik kazandıklarını tespit etmişlerdir. Sanders ve Sanders [24] bir hastanede yaptıkları çalışmada *Enterobacteriaceae* üyelerinin sefalosporinlere karşı transfer edilebilir bir dirençlilik geliştirdiklerini ortaya koymuşlardır. Knothe ve ark., [17] sefalosporin dirençliliğinin plazmid kökenli olduğunu ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarından izole edilen plazmidin, sefotaksim, sefuroksim diğer sefalosporinler, penisilinler ve gentamisin dirençliliğini hassas suşlara aktarabildiğini bildirmişlerdir. Sefotaksim ve diğer son kuşak beta-laktam antibiyotik dirençliliklerinin *E. coli* bakterisine çok kolay aktarabildiğini belirtmişlerdir.

Tüm bu bulgular doğrultusunda Seyhan Baraj gölünün *Enterobacteriaceae* grubu bakteriler açısından kirli olduğu, bu bakterilerin çoklu antibiyotik dirençliliği taşımasının halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike oluşturduğu ve bazı önlemler alınması gerektiği sonucu çıkmaktadır. Ayrıca ileriki çalışmalarda Seyhan Baraj gölü ve diğer yüzey sularının mikrobiyolojik kalite kontrolleri periyodik olarak araştırılmalıdır. Antibiyotik dirençlilik mekanizmaları moleküler düzeyde araştırılmalıdır.

TEŞEKKÜR (ACKNOWLEDGMENTS)

Çalışmamızı finansal açıdan desteklediği için Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Komisyonuna (BAPKOM) teşekkür ederiz (Proje numarası: FEF2007YL6). (We would like to thank to BAPCOM, (Cukurova University) for the financially support of our study (Project number: FEF2007YL6)).



KAYNAKLAR (REFERENCES)

1. Robinson, J.B. and Tuovinen, O.H., (1984). Mechanism of microbial resistance and detoxification of mercury and organomercury compounds: Physiological, Biochemical and Genetic Analyses. *Microbiological Reviews*, 48, (2), pp:95-124.
2. Hagedorn, C., Robinson, S.L., Filtz, J.R., Grubss, S.M., Angier, T.A., and Reneau, R.B., (1999). Determining Sources of Fecal Pollution in a Virginia Watershed with Antibiotic Resistance Patterns in Fecal Streptococci. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, pp:5522-5531.
3. Karayakar, F., Ay, Ö. ve Cicik, B., (2004). Mersin Kıyı Şeridinden Alınan Su Örneklerinden İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Bazı Antibiyotiklere Karşı Plasmid Kökenli Dirençliliğin Saptanması. *Ekoloji*, 13(52), ss:28-32.
4. Doğanç, L., (2001). Antibiyotik Direncinin Sıklığı Üzerine Antibiyotik Kullanımının Etkisi. *Klinik Dergisi*, 14(2), ss:57-61.
5. Giuliano, L., (2003). Bacterial diversity in the Mediterranean and the Black seas: a comparative approach. *International Conference on the Sustainable Development of the Mediterranean and Black Sea Environment 1-3, Greece*.
6. Vahaboğlu, H., (2004). Antibiyotiklerde Direnç Sorunu. *Türkiye Klinikleri Farmakoloji Özel*, 2, ss:92-96.
7. Akçam, F.Z., Gönen, İ., Kaya, O., ve Yaylı, G., (2004). Hastane İnfeksiyonu Etkeni Enterobakterilerde Beta-laktam Antibiyotiklere Duyarlılık ve ESBL Sıklığının Araştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fak. Dergisi*, 11(1), ss:6-9.
8. Matyar, F., Kaya, A., ve Dinçer, S., (2008). Antibacterial agents and heavy metal resistance in Gram-negative bacteria isolated from seawater, shrimp and sediment in Iskenderun Bay, Turkey. *Science of the Total Environment*, 407, pp:279-285.
9. Lemos, M.L., Toranzo, A.E. and Barja, J.L., (1985). Modified medium for the oxidation-fermentation test in the identification of marine bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 49, pp:1541-1543.
10. Hanson, C.W. and Martin, W.J., (1978). Modified agar dilution method for rapid antibiotic susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33, pp:383-388.
11. 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*, 46, pp:165-170.
12. Manniatis, T., Fritsch, E.F. and Sambrook, J., (1982). *Molecular Cloning a Laboratory Manual*. Cold Spring Harbour Laboratory. NY., pp:545.
13. Pitout, J.D.D., Moland, E.S., Sanders, C.C., Thomson, K.S. and Fitzsimmons, S.R., (1997). B-Lactamases and detection of β -Lactam resistance in Enterobacter spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41, pp:35-39.
14. Danovaro, R., Marrale, D., Dell'Anno, A., Delia Croce, N., Tselepidis, A. and Fabiano, M., (2000). Bacterial response to seasonal changes in labile organic matter composition on the continental shelf and bathyal sediments of the Cretan Sea. *Progress in Oceanography*, 46, pp:345-366.
15. Dang, H., Ren, J., Song, L., Sun, S. and An, L., (2008). Diverse tetracycline resistant bacteria and resistance genes from coastal waters Jiaozhou Bay. *Microbial Ecology*, 55, pp:237-246.
16. Gianni-Rizzo, M., Captepu, M., Aprin, C., Raymond, N., Caumette, P. and Qentin, C., (2000). Impact of an Urban Effluent



- on Antibiotic Resistance of Riverine *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas spp.* Applied and Environmental Microbiology, 66, pp:125-132.
17. Knothe, P., Shah, P., Kremery, V., Antal, M. and Mitsuihashi, S., (1983). Transferable Resistance to Cefotaxime, Cefoxitine, Cefamandole and Ceforoxime in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens* Journal of Infections, 11, pp:315-317.
 18. Colarimis, J.J., Armstrong, J.L. and Seidler, R.J., (1984). Association of Metal Tolerance with Multiple-Antibiotic Resistance of Bacteria Isolated from Drinking Water, Applied and Environmental Microbiology, 47, pp:1238-1242.
 19. Bilgehan, H., (2002). Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Fakülteler Kitap Evi Barış Yayınları, ss:777.
 20. Akman, M., (1983). Bakteri Genetiği, Cumhuriyet Üniv. Tıp Fak. Yayını, No:8 Sivas, ss: 560.
 21. Olgun, A. ve Topal, A., (1999). DNA'nın analizi. (Ed: G.Temizkan, N. Arda) Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. Nobel Kitap Evi, ss:236.
 22. Stewart, K.R. and Koditchek, L., (1980). Drug Resistance Transfer in *Escherichia coli*. in New York Bight Sediment, Marine Pollution Bulletin, 11, pp:130-133.
 23. Shah, P.M. and Stille, W., (1983). *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Strains More Susceptible to Cefoxitin than to III-Generation Cephalosporins. Journal of Antimicrobial Chemotherapy., 11, pp:597-598.
 24. Sanders, C.C. and Sanders, W.E., (1985). Microbial Resistance to Newer Generation Beta-Lactam Antibiotics: Clinical and Laboratory Implications The Journal of Infectious Diseases, 151, pp:399-406.