



**T.C.**

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**SU ÜRÜNLERİ AVLAMA VE İŞLEME  
TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**BAZI TUZLANMIŞ SU ÜRÜNLERİNDE ANTİBİYOTİKLERE  
DİRENÇLİ BAKTERİLERİN BELİRLENMESİ VE GENETİK  
KARAKTERİZASYONU**

**DOKTORA TEZİ**

**DİLEK KAHRAMAN YILMAZ**

**Tez Danışmanı**

**Prof. Dr. Nermin BERİK**

**ÇANAKKALE – 2023**





T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ AVLAMA VE İŞLEME TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**BAZI TUZLANMIŞ SU ÜRÜNLERİNDE ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇLİ  
BAKTERİLERİN BELİRLENMESİ VE GENETİK KARAKTERİZASYONU**

DOKTORA TEZİ

DİLEK KAHRAMAN YILMAZ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Nermin BERİK

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinasyon Birimi kurumu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FDK-2020-3334

ÇANAKKALE – 2023



T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



Dilek KAHRAMAN YILMAZ tarafından Prof. Dr. Nermin BERİK yönetiminde hazırlanan ve **04/07/2023** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Bazı Tuzlanmış Su Ürünlerinde Antibiyotiklere Dirençli Bakterilerin Belirlenmesi Ve Genetik Karakterizasyonu**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Su Ürünleri Avlama Ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

**Jüri Üyeleri**

Prof. Dr. Nermin BERİK

(Danışman)

Prof. Dr. Ali İŞMEN

Prof. Dr. Nuray ERKAN

Prof. Dr. Ömer ÇETİN

Dr. Öğr. Üyesi Hasan Basri

ORMANCI

**İmza**

.....

.....

.....

.....

.....

Tez No : .....

Tez Savunma Tarihi : 04/07/2023

Prof. Dr. Ahmet Evren ERGİNAL

Enstitü Müdürü

...../...../2023

## ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Dilek KAHRAMAN YILMAZ

04/07/2023

## TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleŐtirilmesinde, çalıŐmam sÜresinde benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Nermin BERİK, alıŐma sÜresince tÜm zorlukları benimle göğsleyen eŐim Doç. Dr. Sevdan YILMAZ, hayatımın her evresinde bana destek olan annem Filiz KAHRAMAN, babam Mehmet KAHRAMAN, oğlum ınar YILMAZ, kızım Nehir YILMAZ ve tÜm aileme sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalıŐmasına FDK-2020-3334 no'lu proje ile destek veren Çanakkale Onsekiz Mart Üniwersitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne, YÖK 100/2000 Doktora Burs Projesi'ne, Dr. Fevziye IŐıl KESBİÇ'e; örneklerin GC/MS analizlerindeki desteklerine, Prof. Dr. Ali İŞMEN'e ve Dr. Öğr. Üyesi Hasan Basri ORMANCI'ya tez izleme komisyon (TİK) üyesi olarak verdikleri katkılara teşekkür ederim.

Dilek KAHRAMAN YILMAZ  
anakkale, Temmuz 2023

## ÖZET

### BAZI TUZLANMIŞ SU ÜRÜNLERİNDE ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇLİ BAKTERİLERİN BELİRLENMESİ VE GENETİK KARAKTERİZASYONU

Dilek KAHRAMAN YILMAZ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Su Ürünleri Avlama Ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Nermin BERİK

04/07/2023, 93

Güvenli gıdada istenmeyen en önemli parametrelerden biri hastalığa neden olan bakteri veya antibiyotik direnci olan bakterilerin varlığıdır. Bu çalışmada balıkçılardan ve balık marketlerinden temin edilen tuzlu sardalya (ançüez) ve lakerda örneklerinde çoklu-antibiyotik dirençli bakterilerin varlığı araştırılmıştır. Balıkçılardan alınan lakerda örneklerinde antibiyotik direnci gösteren bakterilerden *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus pasteurii* ve *Staphylococcus equorum* izole edildi. Bununla birlikte balık marketlerinden temin edilen lakerda örneklerinde *Carnobacterium maltaromaticum*, *Carnobacterium mobile*, *Vibrio hibernica* ve *Vibrio rumoiensis* türleri izole edilmiştir. Balıkçılardan temin edilen ançüez örneklerinde *Bacillus cereus*, *Chryseobacterium* spp., *Kocuria rhizophila* ve *Psychrobacter* spp. türleri izole edilmiştir. Balık market izolatları arasında ise *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Bacillus anthracis*, *C. maltaromaticum*, *Chryseobacterium carnipullorum* türlerinin çoklu antibiyotik dirençliliği tespit edilmiştir. Bu bakteriler arasında *blaTEM*, *blaZ*, *tetK*, *dfpD*, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *strA-strB*, *aphAI-IAB*, *aac(6)-Ib*, *mecA*, *msrA*, *msrB* ve/veya *VanA* direnç genlerini taşıdıkları belirlenmiştir.

Ayrıca bu çalışmada, turunç çiçeği, karanfil tanesi ve portakal kabuğu esansiyel yağları ile etanolik ekstraktların, ançüez ve lakerda örneklerinden izole edilen antibiyotiğe dirençli bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Esansiyel yağların etanolik ekstraktlardan daha etkili olduğu bulunmuştur. Turunç çiçeği ve karanfil esansiyel

yağları, *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, *Chryseobacterium carnipullorum*, *C. maltaromaticum*, *Kocuria rhizophila*, *P. fluorescens*, *Psychrobacter faecalis*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. pasteurii*, *S. equorum*, *V. hibernica* ve *V. rumoiensis* üzerinde güçlü bir inhibitör etki göstermiştir.

Sonuç olarak, ançüz ve lakerdanın hazırlanmasında hijyen koşullarının sağlanması, bulaşma yollarının belirlenmesi, önlemlerin alınması, üretici ve tüketicilerin bilinçlendirilmesi halk sağlığı açısından önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** Tuzlu Sardalya, Lakerda, Antibiyotik Direnç, Direnç Genleri, 16S rDNA, Esansiyel Yağlar



## ABSTRACT

### DETERMINATION AND GENETIC CHARACTERIZATION OF ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA IN SOME SALTED SEA FOODS

Dilek KAHRAMAN YILMAZ

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Doctoral Dissertation in Fishing and Processing Technology

Advisor: Prof. Dr. Nermin BERİK

07/04/2023, 93

In food safety, one of the most important parameter is the presence of disease-causing or antibiotic-resistant bacteria. In this study, the presence of multi-antibiotic resistant bacteria were investigated in salted sardines (anchovy) and lakerda samples obtained from fishermen and fish markets. *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus pasteurii* and *Staphylococcus equorum* were isolated as phenotypically resistant bacteria in lakerda samples obtained from fishermen. In addition, *Carnobacterium maltaromaticum*, *Carnobacterium mobile*, *Vibrio hibernica* and *Vibrio rumoiensis* species were isolated in lakerda samples obtained from fish markets. Bacterial species such as *Bacillus cereus*, *Chryseobacterium* spp., *Kocuria rhizophila* and *Psychrobacter* spp. species have been isolated in anchovy samples obtained from fisherman. Among the fish market isolates, species such as *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Bacillus anthracis*, *C. maltaromaticum*, *Chryseobacterium carnipullorum* were found to be multiple antibiotics resistance. In addition, antibiotic resistance genes were determined in these bacteria as *blaTEM*, *blaZ*, *tetK*, *dfpD*, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *strA-strB*, *aphAI-IAB*, *aac(6)-Ib*, *mecA*, *msrA*, *msrB* and/or *VanA*.

In this study, antimicrobial effects of citrus blossom, clove, orange peel essential oils and ethanolic extracts on antibiotic resistance bacteria isolated from anchovy and lakerda samples were investigated. Essential oils have been found to be more effective than ethanolic extracts. Citrus flower and clove essential oils had a strong inhibitory effect on

*Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, *Chryseobacterium carnipullorum*, *C. maltaromaticum*, *Kocuria rhizophila*, *P. fluorescens*, *Psychrobacter faecalis*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. pasteurii*, *S. equorum*, *V. hibernica* and *V. rumoiensis*.

As a result, it is important for public health to provide hygienic conditions, determine the transmission routes, take precautions, raise the awareness of producers and consumers in the preparation of anchovy and lakerda.

**Keywords:** Salted sardine, Lakerda, Antibiotic resistance, Resistance genes, 16S rDNA, Essential oils

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa No</b>
JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	x
TABLOLAR DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
<b>BİRİNCİ BÖLÜM</b>	
<b>GİRİŞ</b>	
<b>İKİNCİ BÖLÜM</b>	
<b>KURAMSAL ÇERÇEVE/ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR</b>	
2.1. Sardalya.....	3
2.2. Palamut.....	4
2.3. Tuzlama Teknolojisi.....	5
2.3.1. Tuzlama Yöntemleri.....	5
2.4. Tuzlama Yapılan Su Ürünleri.....	6
2.4.1. Ançüez (Tuzlu sardalya).....	7
2.4.2. Lakerda.....	8
2.5. Tuzlama ile Mikrobiyolojik Değişimler.....	9
2.5.1. Mikrobiyolojik Değişimler.....	9
2.6. Antibiyotikler.....	10
2.6.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması.....	10
2.6.2. Antibiyotik Dirençliliği.....	11
2.7. Su Ürünlerinde Yapılan Antibiyotik Dirençliliği ile İlgili Çalışmalar.....	12
2.8. Antibiyotiklere Alternatif Olarak Fitobiyotiklerin Kullanımı.....	12

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM  
ARAŞTIRMA YÖNTEMİ/MATERYAL YÖNTEM

3.1. Materyal.....	16
3.1.1. Tuzlu sardalya (Ançüez) Örnekleri.....	16
3.1.2. Lakerda Örnekleri.....	17
3.2. Yöntem.....	17
3.2.1. Bakteri İzolasyonu ve Tür Tanımlanması.....	17
3.2.2. Mikrobiyal Tür Tanımlaması.....	18
3.2.3. Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi.....	19
3.2.4. Çoklu Antibiyotik Direncine Sahip Bakterilerin Direnç Genlerinin Belirlenmesi.....	20
3.2.5. Esansiyel Yağ ve Etanolik Ekstraktların Hazırlanması.....	23
3.2.6. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri.....	27

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM  
ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Ançüez Örneklerinden İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliği.....	32
4.2. Lakerda Örneklerinden İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliği.....	41
4.3. Bitki Ekstraktlarının GC/MS Analiz Bulguları.....	49
4.4. Antimikrobiyal duyarlılık test bulguları.....	60

BEŞİNCİ BÖLÜM  
SONUÇ ve ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar.....	69
5.2. Öneriler.....	70
KAYNAKÇA .....	72
ÖZGEÇMİŞ .....	I

## SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
°C	Santigrad Derece
mm	Milimetre
nm	Nanometre
l	Litre
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
Kg	Kilogram
g	Gram
mg	Miligram
µg	Mikrogram
Dk	Dakika
amu	Atomik kütle ünite
DNA	Deoksiribonükleik Asit
Kob	Koloni Oluşturan Birim
PCR	polymeraz zincir reaksiyonu
MHB	Müller Hilton Broth
MRS	DeMan, Rogosa ve Sharpe
mcF	Macfarland
MAR	Çoklu Antibiyotik Direnci
MİK	Minimum inhibitör konsantrasyonu
MBK	Minimum bakterisidal konsantrasyonu
UV	Ultraviyole

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Tablo Adı</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1.</b>	Etki güçlerine göre antibiyotiklerin sınıflandırılması	11
<b>Tablo 2</b>	Bakterilerin izolasyonunda kullanılan besiyerleri ve inkübasyon sıcaklıkları	18
<b>Tablo 3</b>	Çalışmada kullanılan primer dizileri	21
<b>Tablo 4</b>	Ançüez ürünlerinde tespit edilen bakteri türleri ve antibiyotik dirençlilikleri	35
<b>Tablo 5</b>	Lakerda örneklerinde saptanan bakterilerin fenotipik ve genotipik antibiyotik direnç profilleri	44
<b>Tablo 6</b>	Turunç çiçeği esansiyel yağının bileşenleri	51
<b>Tablo 7</b>	Karanfil tanesi esansiyel yağının bileşenleri	53
<b>Tablo 8</b>	Portakal kabuğu esansiyel yağının bileşenleri	54
<b>Tablo 9</b>	Karanfil tanesi etanolik ekstraktının bileşenleri	55
<b>Tablo 10</b>	Turunç çiçeği etanolik ekstraktının bileşenleri	56
<b>Tablo 11</b>	Portakal kabuğu etanolik ekstraktının bileşenleri	58
<b>Tablo 12</b>	Bitki ekstraktlarının ançüezden izole edilen bakteriler üzerine disk difüzyon test sonuçları	61
<b>Tablo 13</b>	Bitki ekstraktlarının lakerda dan izole edilen bakteriler üzerine disk difüzyon test sonuçları	62
<b>Tablo 14</b>	Bitki esansiyel yağlarının ançüezden izole edilen bakteriler üzerine minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) testi sonuçları (%)	64
<b>Tablo 15</b>	Bitki esansiyel yağlarının lakerdadan izole edilen bakteriler üzerine minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) testi sonuçları (%)	66

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Tuzlu sardalya (Ançüez) Örnekleri	16
Şekil 2	Lakerda Örnekleri	17
Şekil 3	Antibiyogram testi için kullanılan diskler	20
Şekil 4	Direnç genlerinin agaroz jelde görünümü	23
Şekil 5	Portakal kabuğu esans yağının elde edilmesi (Clevenger aparatı)	24
Şekil 6	Karanfil esans yağının elde edilmesi (Clevenger aparatı)	25
Şekil 7	Portakal kabuğu etil alkol ekstraktının elde edilmesi	26
Şekil 8	Turunç çiçeği etil alkol ekstraktının elde edilmesi	26
Şekil 9	Bakteri izolatları	27
Şekil 10	Bakteri izolatlarının hazırlanması	28
Şekil 11	Bitki ekstraktları için kullanılan diskler.	29
Şekil 12	Bitki ekstraktlarının aktarımı için kullanılan steril tek kullanımlık plakalar	29
Şekil 13	Plakalardaki blank disklere aktarılmış bitki ekstraktları	30
Şekil 14	Bitki ekstraktlı disklerin petrilere yerleştirilmesi	30
Şekil 15	MİK ve MBK Testlerinin uygulanması	31
Şekil 16	Ançüez örneklerinin antibiyogram test sonuçları (temsili)	33
Şekil 17	Ançüez örneklerinden izole edilen 70 izolatın antibiyotik direnç oranları (%)	34
Şekil 18	Lakerda örneklerinin antibiyogram test sonuçları (temsili)	42
Şekil 19	Lakerda örneklerinden izole edilen 54 izolatın antibiyotik direnç oranları (%)	43

## BİRİNCİ BÖLÜM

### GİRİŞ

İnsanlık tarihi boyunca, yeterli gıdaya ulaşamama hatta kıtlık endişesi vardır. Kıtlıkların çeşitli nedenleri olduğu bilinmektedir. Savaşlar, doğal afetler, hayvanlarda ve tarım ürünlerinde görülen kitlesel hastalıklar, kontrolsüz nüfus artışı, yoksulluk vb. sıralanabilir. Kıtlıkların sıklığı ve yeri zamanla değişmiş olsa da; yerküredeki her kıtayı etkilemiştir. Bolluk dönemlerinde, gıda depolama arayışı hep olmuştur. Yerleşik veya göçebe toplumlar koşullarına göre uygun yöntemlerle gıdaların dayanma sürelerini uzatmaya çalışmışlardır. Günümüzde gıda güvenliği ve halk sağlığını korumak için uluslararası uzmanların görüşlerine dayalı kararlar alınmaktadır.

Sağlıklı birey sayısının artması ve gelecek nesillere aktarılabilmesinde besin seçimi çok önemlidir. Bu nedenle kaliteli ve güvenli gıda tüketmek birinci sırada yer almalıdır. Kötü beslenme nedeniyle oluşan hastalıkların tedavi giderlerinin yanında; bireylerin hastalık süreçlerinde üretim dışında kalması, ülke ekonomisine zarar vermektedir. Gelişmiş ülkelerde; gıdanın önemi, gıda kaynaklarının sürdürülebilirliği ve tüketiciye güvenli gıdanın ulaştırılabilmesi konusunda yapılan çalışmalar devlet politikalarında yerini almaktadır (Koç ve Uzmay, 2015).

Antibiyotiklerin bakteri kökenli hastalıklar ile mücadelede bakterileri öldürme veya üremelerini engelleme özelliklerini kaybettiklerinde bu durum: antibiyotik direnci olarak ifade edilmektedir (Kılıç ve Yenilmez, 2019; WHO, 2017). Sürekli artan antibiyotik direncinin nedenleri arasında; hedefe yönelik olmayan antibiyotik kullanımı, antibiyotik dozunun iyi ayarlanmaması, yetiştiricilik hayvanlarında ve tarımda antibiyotik kullanımına gereğinden fazla yer verilmesi bulunmaktadır. Bu nedenlerle; doğal floradaki bakteriler, indikatör bakteriler ve patojen bakteriler kullanılan çeşitli antibiyotiklere karşı direnç kazanabilmektedirler. Ayrıca antibiyotiklere olan direncin artmasıyla birlikte, doğal floradaki bakterilerde bulunan antibiyotik direnç genlerinin patojen bakterilere aktarılma olasılığı da mevcuttur (Urban-Chmiel vd., 2022).

Bakter genetik materyallerini tür içi veya diğer bakteri türlerine aktarabilmekte, böylece genetik materyal taşınabilmekte ve bakteriler çoklu antibiyotik dirençliliği



gösterebilmektedirler (Meral ve Korukluoğlu 2014; Sharma vd., 2014). Kazanılan antibiyotik dirençliliği sonucunda, hastalıkların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerden hedeflendiği şekilde yararlanılamamaktadır. İngiltere’de hazırlanan Küresel Eylem Planı raporunda da bildirildiği gibi antibiyotiklere dirençli bakterilerin Dünya’da 2050 yılında her üç saniyede bir kişiyi öldürebilecek kadar güçleneceği öngörülmüştür. Aynı raporda dirençli bakterilerle mücadelenin, 100 trilyon Amerikan doları olacağı belirtilmiştir (O’Neill, 2018). Bu durum, işlenmiş su ürünleri sektörünün önemli bir sorunu olmaktadır.

Gıdaların saklanması için kullanılan en eski yöntemlerden biri tuzlama işlemidir. Tuz ve balığın ilk kez bir araya gelişi eski Mısır uygarlığında görülmektedir (Kurlansky, 2003). Günümüzde ise; su ürünlerinde saklama yöntemlerinin farklı aşamalarında, tuz kullanılmaktadır. Özellikle çabuk bozulan gıdalar arasında yer alan su ürünlerinde uygulanan tuzlama işlemi doku içerisindeki suyun tuz ile bağlanması ve su aktivitesinin azaltılarak üründe bozulmanın engellenmesini sağlamaktadır (Çaklı, 2007; Gülyavuz ve Ünlüsayın, 2008). Ayrıca, tuzdaki klorun antiseptik etkisi sayesinde bozulmaların önüne geçilmektedir. Lakerda, su ürünlerinde tuzlama yönteminin kullanıldığı, sıklıkla torik ve palamut balıklarından yapılan geleneksel üründür. Balıkların bozulmasını önlemek için yapılan tuzlama işlemi, günümüzde farklı bir lezzet oluşturma amacına yönelik yapılmaktadır (Aksu vd., 2013). Üretim aşamasında mevcut mikroorganizma yükünü, büyük oranda inhibe edecek teknolojik (ısıtma işlemi veya basınç uygulaması gibi) uygulamalar yapılmamaktadır. Tüketim öncesinde; mikroorganizma yükünün azaltılmasına veya uzaklaştırılmasına yönelik pişirme vb., bir işlem yapılmadan doğrudan tüketilmektedir.

Toplumda sağlıklı bireylerin devamlılığını sağlamak ve korumak tüm politik görüşlerin ortak amacı haline gelmiştir (Erbaydar, 2003). Hazır gıdalarda insan sağlığını tehdit edebilecek mikroorganizmaların takibi ve önlenmesi elzemdir. Bu çalışmada ançüz ve lakerda ürünlerinde antibiyotiklere dirençli bakterilerin varlığının belirlenmesi ve direnç genlerini taşıma durumlarının incelenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca izole edilen bu bakterilerin engellenmesine yönelik çeşitli bitki ekstraktlarının (turunç çiçeği, karanfil tanesi, portakal kabuğu) etkinliği araştırılmıştır.

## İKİNCİ BÖLÜM

### KURAMSAL ÇERÇEVE/ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Türkiye su ürünleri üretimi yıllara göre artış göstermekte ve ülke ekonomisine katkı sağlamaktadır. TÜİK verilerine göre; su ürünleri ihracatı 2021 yılında 1 milyar 376 milyon dolarlık hacme ulaşmıştır. Avrupa Birliği ülkeleri %75 oranı ile başadır. Toplamda 106 ülkeye ihracat yapılmıştır (Çöteli, 2022). Yurt içinde de tüketime yönelik olarak; taze su ürünleri dışında ısıtılmış konserve, tuzlanmış, dondurulmuş ve soğutulmuş ürünler tüketilmektedir. Tuzlanmış su ürünleri denildiğinde; tuzlu sardalya (ançüez) ve lakerda akla ilk gelenlerdir. Bu ürünlerin üretiminde sardalya ve genellikle palamut balıkları kullanılmaktadır.

Bu bölüm kapsamında;

- Sardalya ve palamut balıklarının genel özellikleri,
- Su ürünlerinde tuzlama yöntemleri,
- Tuzlu sardalya ve lakerda üretimi,
- Tuzlanmış ürünlerde mikrobiyolojik değişimler,
- Bakteri izolasyonu ve tür tanımlama yöntemleri,
- Antibiyotikler ve etki mekanizmaları,
- Bakterilerin antibiyotik dirençlilikleri konularına değinilmiştir.

#### 2.1. Sardalya

Sardalya (*Sardina pilchardus* Walbaum, 1792) kemikli balıklar sınıfı, ışınsal yüzgeçliler alt sınıfı ve Clupeidae ailesine ait bir türdür.

Sınıf	: Osteichthyes (Kemikli balıklar)
Alt sınıf	: Actinopterygii (Işınsal yüzgeçliler)
Takım	: Clupeiformes
Alt takım	: Clupeoidei
Aile	: Clupeidae
Alt aile	: Clupeinae

Cins : *Sardina*  
Tür : *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792)  
Türkçe adı : Sardalya (Sardalye)

Sardalya pelajik bir tür olup okyanuslarda, ılıman denizlerde ve acı sularda bulunmaktadır (Riede, 2004). Morfolojik özellikleri; vücut yapısı uzun, yan taraflarından yassılaştırmış, pulları kolay dökülebilen, sırt tarafı çoğunlukla siyaha yakın koyu renkli, yan ve karın kısmı ise parlak gri (gümüş) renkleri olan bir balık türüdür (Erman ve Atlı, 1961). Sürüler halinde hareket eden sardalya, besin kaynağı olarak planktonik organizmalar ve pelajik balıklarla beslenmektedir. Farklı avlanma yöntemleri ve av aracı kullanılmaktadır. Bu av araçlarından bazıları çapari, paragat, uzatma ağları, orta su trolü ve gırgır ağlarıdır (Gurbet,1989; Pope vd., 1975).

## 2.2. Palamut

Sınıf : Pisces  
Alt sınıf : Actinopterygii (Işinsal yüzgeçliler)  
Takım : Perciformes  
Alt takım : Teleostei  
Aile : Scombridae  
Alt aile : Sardine  
Cins : *Sarda*  
Tür : *Sarda sarda* (Bolch,1793)  
Türkçe adı : Palamut

Palamut balıkları büyüklüklerine göre; vanoz – gaco (0 – 10 cm), çingene palamudu (10 – 25 cm), palamut (30 – 35 cm), kestane palamudu (40 – 45 cm), zindandelen (50 – 55 cm), torik (55 – 60 cm), sivri (60 – 65 cm), altıparmak (65 – 70 cm), peçuta (70 cm. ve üstü) olarak isimlendirilmektedir (Polat ve Ergün, 2008).

Scombridae familyasının bulunan en yaygın türüdür. Vücudu fusiform şeklindedir. Palamut pulsuz, sırtı mavimsi, karnı gümüş renkte olup; baştan kuyruğa doğru siyaha yakın koyu renkte şeritlere sahiptir. Sıcak ve ılıman denizlerde yaşayan pelajik bir balık türüdür. Büyük sürüler halinde hareket ederek, mevsimlik uzun göçler yapmaktadır. Etçil bir tür olan palamut, planktonik organizmalarla ve pelajik balıklarla beslenmektedir. Palamut avcılığında; büyük gırgır ağları, voli ağları, fanyalı ağlar, ıgırlar, palamut çaparisi ve palamut yünlüsü kullanılmaktadır (Polat ve Ergün 2008). Ekonomik bir öneme sahip olan palamut taze, dondurulmuş, dumanlanmış, konservelenmiş ve tuzlanmış olarak tüketilmektedir. Tuzlama teknolojisi uygulanarak hazırlanan ve tüketime sunulan palamut ürünü “lakerda” olarak adlandırılmaktadır.

### **2.3. Tuzlama Teknolojisi**

Tuzlama eski çağlardan beri kullanılan en eski muhafaza yöntemlerinden biridir. Tuzlama ile üründe bulunan su, tuz tarafından bağlanır ve ortamdaki osmoz yoluyla uzaklaştırılır. Su aktivitesini düşürmek amacıyla yapılan tuzlama işlemi ile bakteriyel ve enzimatik aktivitelerin sınırlandırılması sağlanır. Böylece tuzlama ile ürünlerin bozulmasının önüne geçilmektedir (Çaklı, 2007; Gülyavuz ve Ünlüsayın, 2008; Varlık vd., 2004). Tuzlama işlemi uygulanırken tuzun kalitesi, tuzlama yapılan hammaddenin özelliği, tuzlama sıcaklığı önemli faktörlerdendir (Varlık vd., 2004). Tuzun kalitesi; tuz çeşidine, tuz saflığına göre değişiklik göstermektedir. Solar tuzları, kaya (evaporasyon) tuzları ve imalat tuzları kullanılmaktadır. Solar tuzlar, sodyum klorür dışında başka tuzlarda içeriğinde buldukları için saf tuzlar değildir. Bu nedenle tuzlanmış ürün üretiminde içerik olarak %90 ve üzeri sodyum klorür içeren kaya ve imalat tuzları tercih edilmektedir (Çaklı, 2007). Tuzlama yapılan hammaddenin özelliği; balık ya da benzeri su ürününün tazeliğini ya da yağ oranını içermektedir. Balığın tuzlama sırasında taze olup olmaması, tuzun emilim hızını etkiler. Balıktaki yağ oranı ise tuzlama yöntemini ve kullanılan tuz konsantrasyonunun ayarlanmasında önemli etkenlerdendir. Çünkü çok yağlı balıklarda iyi ayarlanmayan tuz konsantrasyonu balık etine iyi nüfuz edemez ve böylece olgunlaşma gerçekleşmeden bozulmalar meydana gelmektedir (Çaklı, 2007; Varlık vd., 2004). Tuzlama yapılırken dikkat edilecek en önemli konulardan birisi de sıcaklık olup; tuzlama yapılacak balığın yapısı ve bakteriyel bozulma göz önünde bulundurularak, mümkün

olduğunca düşük sıcaklıklar tercih edilmelidir (Çaklı, 2007; Gülyavuz ve Ünlüsayın, 2008).

### **2.3.1. Tuzlama Yöntemleri**

Tuzlama teknolojisinde temelde iki yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler; uygulama şekillerine göre kuru tuzlama ve salamura (yaş) tuzlama yöntemi olarak adlandırılmaktadır.

#### **Kuru Tuzlama**

Kuru tuzlama yönteminde; balık üzerine kuru tuz serpiştirilerek tuzun balığa yapışması sağlanır. Tuzlama işlemi için yerleştirilecek kaba bir kat tuz bir kat balık olacak şekilde yerleştirme yapılır. Osmoz olayı ile balık etinden su çıkışı sağlanarak, su aktivitesi düşürülür, etin olgunlaştırılması sağlanır. Kuru tuzlama işleminde büyük boy balıkların iç organları temizlenirken, sardalya, hamsi gibi küçük boy balıklarda iç organları temizlenmeden de tuzlama işlemi yapılmaktadır.

#### **Salamura ile Tuzlama**

Yaş tuzlama yöntemi, kuru tuzlamadan farklı olarak öncesinde kullanılacak balık miktarı belirlenir. Balık miktarına göre hazırlanan tuz çözeltisi içerisinde, balıklar konularak yapılan tuzlama şeklidir. Bu yöntemde genellikle sardalya, uskumru gibi yağlı balıklar tercih edilmektedir. Tuzlama işleminde balıkların en üstüne ağırlık konular. Böylece balıkların hava ile temasının kesilmesi ve oksidasyonun engellenmesi sağlanmaktadır. Ayrıca balıkların üzerine konulan ağırlık sayesinde, balık etinde oluşan basınç daha hızlı su çıkışı sağlar. Balık etine tuz girişi hızlanır. Böylece balık etinin olgunlaşması gerçekleşmektedir.

### **2.4. Tuzlama Yapılan Su Ürünleri**

Tuzlama teknolojisi, birçok su ürününde ticari olarak uygulanmakta olup, ihracatı yaygın bir su ürünüdür. Özellikle ticari getirisi olan denizanası, deniz kestanesi, çeşitli balık (kefal, morina, somon, alabalık, ringa, mersin) yumurtalarında yaygın bir şekilde

kullanılan bir teknolojidir (Çaklı, 2007). Türkiye’de de ihracatı yapılan, iç piyasada sevilerek tüketilen ürünler arasında ançüez ve lakerda bulunmaktadır.

#### **2.4.1. Ançüez (Tuzlu sardalya)**

Ançüez İngilizce “anchovies”, İspanyolca “anchoa” dillerinden türeyen, tuzlanmış hamsi balığına (*Engraulis encrasicolus*) verilen isimdir. Ançüez denildiğinde sadece hamsi balığı düşünülürken, günümüzde hamsi, sardalya, istavrit balıklarının tuzlanarak çeşitli paketleme materyali (cam ya da plastik) ile konservelenmiş halidir. Türkiye’de haziran-eylül aylarında yağlanarak lezzetlenen sardalya özellikle Marmara Denizi ve Ege Denizi’nde yoğun popülasyon gösteren bir balık türüdür. Sardalya özellikle daha lezzetli olması sebebiyle Saroz Körfezi - Kuzey Ege de avlanmakta ve bu bölgede avlanan balık “Gelibolu sardalyası” olarak bilinmektedir. Sezonda bol miktarda avlanan sardalya balıkları tuzlanarak 2-3 ay süresince olgunlaştırılma işlemine tabi tutulmaktadır. Olgunlaşan, aroma kazanan, son ürünün fazla tuzlu kısmı giderilerek beğenilerek tüketilen bir ürün haline gelmektedir. Bu ürünün (tuzlu sardalya) tarihsel olarak bakıldığında ilk defa 1914 yılında Çanakkale ili Gelibolu ilçesinde üretildiği bilinmektedir (Sönmez ve Şimşek, 2011). Günümüzde Çanakkale ilinde tuzlu sardalya ticari olarak natürel tuzlu sardalya, yağlı tuzlu sardalya, ançüez (fileto) gibi ürünler şeklinde küçük aile işletmeleri tarafından hala üretimi yapılmaktadır. Gelibolu ile özdeşleşmiş bir ürün olan tuzlu sardalya bölge halkı tarafından sevilerek tüketilen bir ürün olarak bilinmektedir.

#### **Ançüez yapımı**

Ançüez yapımında kullanılan taze sardalyalar pul ve iç organ temizliği yapıldıktan sonra su ile yıkanır. Yıkanan balıkların kanının uzaklaştırılması için tuzlu buzlu çözeltide ön tuzlama işlemine bırakılır. Kanı giderilen balıkların suyu süzülerek tuzlama işlemine alınır. Tuzlama için kullanılacak kabın dibine tuz konularak başlanıp, bir kat tuz bir kat balık gelecek şekilde yerleştirme yapılır. Tuzlama sonrasında buzdolabı (+4 °C) koşullarında olgunlaşmaya bırakılır. Balıklar olgunlaşırken biriken salamura suyu üzerinden alınır. Olgunlaşan balıkların derileri fırça ya da sünger yardımıyla ortamdan uzaklaştırılır. Zeytinyağ ve limon ile tüketime hazır hale gelir.

### 2.4.2. Lakerda

Lakerda, İspanyolca bir kelime olup, sevilen anlamına gelen “la kerrida” kelimesinden türemiştir. Lakerda 14. yüzyıl ortalarında ilk kez İspanya’da Yahudi balıkçılar tarafından üretilmiştir. Günümüzde ise “Lakerda” adıyla bilinen, sıklıkla torik ya da palamut balıklarına tuzlama teknolojisinin uygulandığı geleneksel bir üründür (Erkan vd., 2009). Türkiye’de Karadeniz, Marmara ve Ege Bölgelerinde bu balıkların bol olduğu dönemlerde sıklıkla yapılmakta ve tüketilmektedir. Türkiye dışında en çok İspanya, İtalya ve Yunanistan’da bilinmektedir (Turan vd., 2006; Ormancı, 2013). Lakerda, % 15’lik bir tuz içeriği ve 5-6 arasında pH oranı ile karakterize olmuş ve ısıtma işlemi uygulanmadan tüketilen bir üründür. Lakerda üretimi bozulmasını önlemek, raf ömrünü arttırmak için yapılırken, günümüzde farklı bir lezzet oluşturma amacı ön plana geçmiştir (Aksu vd., 2013).

### Lakerda Yapımı

Lakerda yapımı için taze palamut ya da torik balığı tercih edilir. Balıklar ilk olarak kan ve diğer atıklardan bol su ile arındırılır. Temizlenen balıkların baş, kuyruk, iç organları kesilip, ortamdaki suya uzaklaştırılır. Lakerda için balıklar ortalama beş santimetre eninde dilimlere (takozlara) ayrılır. Dilimlenmiş balıkların temizliği sırasında, ince bir tel ya da çubuk yardımıyla omurilik kısmındaki kan ortamdaki suya uzaklaştırılır. Böylece üründe oluşabilecek acı tat ya da bozulmayı etkileyecek durumun önlenmesi sağlanır. Son olarak tüm kanı uzaklaştırmak için ortalama %5’lik tuzlu buzlu su içerisinde bekletilir. Tuzlamada kullanılan kabın dibine tuz konularak işleme başlanır. Bir sıra tuz bir sıra balık dilimleri şeklinde kaba yerleştirilir. Hava almayacak şekilde tuzla kapatılır. Balıkların olgunlaşması sırasında, açığa çıkan salamura suyunda yüzmemesi için üzerine ağırlık yerleştirilir. Lakerdaların olgunlaşma süresi ortamın şartlarına, kullanılan balık ve balık dilimlerinin kalınlığına göre değişkenlik gösterirken, genellikle buzdolabı koşullarında (+4 °C) ortalama bir ay süreyle olgunlaşmaktadır. Olgunlaşan ürünler salamurasından alınır, zeytinyağı ve limon eşliğinde tüketilir.

## 2.5. Tuzlama ile Mikrobiyolojik Değişimler

### 2.5.1. Mikrobiyolojik Değişimler

Tuzlama yapılan ürünlerde bozulmaya neden olan birçok bakteri, tuzun yapısında bulunan Cl<sup>-</sup> iyonunun etkisi ile inhibe edilmektedir. Ancak kullanılan tuzun bakteriler üzerindeki etkisi bakteri türüne, bakterinin sporlu olup olmayışına, ortamın sıcaklığına ve pH'sına bağlı olarak değişmektedir. Tuzlu ürünlerde bozulmayı etkileyen en önemli mikroorganizmalar halofilik bakterilerdir. Bu nedenle tuza dayanıklı halofilik bakteriler, ortamda çoğalmaları için gerekli koşullar oluştuğunda bozulmalara neden olmaktadır. *Pseudomonas salinaria*, *Halo bacterium salinaria*, *H. cutirubum*, *Sarcina morrhuae* ve *S. litoralis* tuzlanmış ürünlerde meydana gelen pembeleşme olayından sorumlu bakterilerdir. Ürünlerde kahverengileşme olayının gerçekleşmesinden ise *Sporodonema epizeum* bakterisi sorumlu olup, ürünler üzerinde açık kahverengi lekelenmelere neden olmaktadır. Bu olayların yanı sıra üründe yapışkanlık, ekşime ve keskin bir koku gerçekleşmektedir. Tuzlu su ürünlerinde bir diğer bozulma göstergesi küflenme olayıdır. Depolama koşullarında uygun sıcaklık ve nem şartları oluştuğunda osmofilik küfler gelişim gösterebilirler (Çaklı, 2007; Gülyavuz ve Ünlüsayın, 2008; Turan vd., 2006). Tuzlu ürünlerde bozulmaların önüne geçmek üzere; taze hammaddenin seçimine, tuz içeriğinin temiz olmasına, olgunlaştırma ve depolama koşullarının uygun sıcaklık ve nemde olmasına dikkat edilmelidir.

## 2.6. Antibiyotikler

Antibiyotikler, bir mikroorganizmanın gelişiminin engellenmesi veya öldürülmesi için kullanılan her türlü doğal ya da kimyasal maddeler olarak tanımlanmaktadır (Öner, 1992). Antibiyotikler, antibakteriyel veya antimikrobiyal olarak da isimlendirilmekte olup, sıvı, tablet veya kapsül gibi farklı formlarda üretimleri yapılmaktadır. Hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere gerekli madde arayışının temeli 1909 yılında Alman bakteriyolog Paul Ehrlich ile başlamıştır. Keşfedilen madde ile beraber 19. yüzyılın ortalarında Louis Pasteur adlı mikrobiyolog mikroorganizmaların birbirlerini öldürebildiğini keşfetmiştir. Bir bakteriyolog olan Alexander Fleming 1929 yılında, *Penicillium* küfünün stafilokokların gelişimini engellediğini keşfetmiş ve böylece ilk antibiyotik bulunmuştur (Tanır ve Göl, 1999). Oxford Üniversitesi'nde bulunan Howard



Florey ve Ernst Chain yönetimindeki patoloji grubu, 1939 yılında penisilin ile ilgili yaptığı çalışmalar sonucunda penisilini saflaştırmışlardır. Daniel Boveri'nin sülfonamid olarak tanımladığı bir boyar madde hala kullanmakta olduğumuz bir çok antibiyotik üretimi için ışık tutmuştur (Khardori, 2006). Penisilin ilk denemeleri yapılmaya kadar (1942), sülfonamidler antibakteriyel tedavilerde kullanılmıştır (Koç Türkoğlu, 2008). Bu tarihten sonra streptomisin (1944), kloramfenikol (1946), tetrasiklinler (1948), eritromisin (1952), kemoterapötikler (1960) gibi çeşitli antibiyotik türevleri bulunmaya başlanmıştır (Hancock, 2007). Antibiyotiklerin insan hayatına girişi 1900'lü yıllarda başlamış olup, 1960'lı yıllara kadar iki farklı antibiyotik ve türevleri bilinmekteydi. Günümüzde ise koşulların değişmesi, ihtiyaçların artmasıyla 5000'den fazla antibiyotik ve türevleri bulunmaktadır (Tanır ve Göl, 1999).

### **2.6.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması**

Günümüzde kullanılan her bir antibiyotiklerin etki gücü ve mekanizması farklılık göstermektedir. Bu nedenle antibiyotikler; temelde etki güçlerine ve etki mekanizmalarına göre iki grupta sınıflandırılmaktadır.

#### **Antibiyotiklerin Etki Şekillerine Göre Sınıflandırılması**

Antibiyotiklerin bakteriler üzerindeki etkilerini bakteriyostatik ve bakterisit olarak iki gruba ayırmak mümkündür (Patil ve Patel 2021; Saran ve Karahan 2010). Bakteriyostatik antibiyotiklerin etki mekanizması, bakteri hücrelerinin gelişmesini ya da üremesini engelleyici etkiye sahiptir. Antimikrobiyellerin geneli bakteriyostatiktir. Bakterisitler ise hücrenin ölmesini sağlayan yok edici özelliktedirler (Nemeth vd., 2015). Antibiyotikler etki şekillerine göre sınıflandırıldığında; hücre duvarı sentezine, sitoplazmik zarın geçirgenliğine, nükleik asit sentezine ve protein sentezine etki edenler olarak ayrılabilir ve bu özellikleri ile bakteri hücrelerinin fonksiyonunu bozmaktadırlar (Akkan ve Karaca 2003).

Tablo 1

Etki güçlerine göre antibiyotiklerin sınıflandırılması

<b>Bakteriyostatik Antibiyotik Grupları</b>	<b>Bakterisidal Antibiyotik Grupları</b>
Makrolitler	$\beta$ -Laktamlar
Sulfonamidler	Aminoglikozidler
Kloramfenikol	Vankomisin
Oksazolidinonlar	Metronidazol
Linkozamidler	Kinolonlar
Tetrasiklinler	Rifampin
	Polimiksinler

### **2.6.2. Antibiyotik Dirençliliği**

Antibiyotiklerin bakteri kökenli hastalıklar ile mücadelede bakterileri öldürme veya üremelerini engelleme özelliklerini kaybettiklerinde bu durum: antibiyotik direnci olarak ifade edilmektedir (Kılıç ve Yenilmez 2019). Gün geçtikçe artan antibiyotik direncinin nedenleri arasında; gereğinden fazla antibiyotik kullanımı, yanlış antibiyotik seçimi, ihtiyaç dışı antibiyotik kullanımı, antibiyotiklerin kullanım şeklinin ya da dozunun iyi ayarlanmaması, yetiştiricilik hayvanlarında ve tarımda antibiyotik kullanımı yer almaktadır. Bu nedenlerle; doğal floradaki bakteriler, indikatör bakteriler ve patojen bakteriler kullanılan antibiyotiklere karşı direnç kazanabilmektedirler. Ayrıca antibiyotiklere olan direncin artmasıyla birlikte, direnç genlerinin patojen bakterilere aktarılması olasılığı da önemli bir sorun haline gelmektedir.

### **Mikroorganizmalarda Antibiyotik Direnç Mekanizmaları**

Bakteriler doğal direnç ve kazanılmış direnç olarak bilinen iki farklı mekanizma ile antibiyotiklere karşı direnç gösterebilmektedirler.

## **Doğal Direnç**

Antibiyotik veya antibiyotiklerin bakterilerin gelişimini engelleyici, bakteriyi yok edici etki gösterebilmeleri bakteride bulunan hedef bölge ile mümkündür. Bu bölgenin bakteri hücrelerinde yer almaması doğal direnç olarak bilinmekte ve ana hücreden yavru hücreye aktarılmaktadır (Walsh ve Wright 2005).

## **Kazanılmış Direnç**

Bakteriye konjugasyon, mutasyon, translyon ve/vaya transdüksiyon ile direnç geninin aktarılmasına kazanılmış direnç denilmektedir. Direnç geni aynı bakteri türü içerisinde veya farklı bakteri türleri arasında genetik materyalin aktarılması yoluyla taşınabilir (Aminov, 2009). Gen değişimi ile direncin, bir bakteri popülasyonu boyunca ve farklı bakteri türleri arasında hızla yayılmasını sağlar. Sonucunda; bakteriler çoklu antibiyotik dirençliliği gösterebilmektedirler. Çoklu antibiyotik direnci, bulaşıcı hastalıkların tedavisinde zorluklara neden olurken, özellikle çoklu antibiyotik dirençliliğine sahip bakterilerin, birincil bulaş yolu olan gıdaların güvenli bir şekilde tüketiciye ulaşması önem arz etmektedir.

### **2.7. Su Ürünlerinde Yapılan Antibiyotik Dirençliliği ile İlgili Çalışmalar**

Yapılan önceki çalışmalarda taze (sardalya, istavrit, barbun, hamsi) ve işlenmiş su ürünlerinden (lakerda, anüz ve midye içi) izole edilen enterokoklarda kloramfenikol, streptomisin, eritromisin, vankomisin, gentamisin ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı dirençlilikleri fenotipik olarak araştırılmıştır. Ayrıca genotipik olarak virülens genlerinden olan *gelE*, *agg*, *cylB*, *cylA* ve *cylM* ile vankomisin ile ilişkili *vanA* ve *vanB* genlerinin varlığına bakılmıştır (Karaalioğlu, 2019).

Karaalioğlu, (2019) taze ve işlenmiş su ürünlerinden toplam 50 adet enterokok bakterisi izole etmiş ve bu bakterilerin streptomisin'e %98, gentamisin'e %80, tetrasiklin'e %30 oranında dirençli olduğu rapor edilmiştir. Enterokok izolatlarının *vanA* ve *vanB* genlerini taşımadığı, ancak *gelE* geninin %72'sinde ve *agg2* geninin ise %24'ünde var olduğu bulunmuştur (Karaalioğlu, 2019).

Farklı ülkelerde yapılan taze ve işlenmiş balık ürünlerindeki antibiyotik dirençlilik çalışmalarına göre; karides ve yengeçten izole edilen vibrio türlerinde penisiline ve tetrasikline karşı %100 direnç, sefalosporinlere karşı %91,7-97,2, aminoglikosidlere karşı % 30,6-72,2, quinolonlara karşı %69,4-91,7, sulfanomidlere karşı %75 ve fenikollere karşı %61,1 direnç tespit edilmiştir (Ahmed vd., 2018).

Farklı işlenmiş su ürünlerinden (soğuk dumanlama, burger vb.) izole edilen *Listeria monocytogenes* izolatlarında ampisiline karşı %38,5, penisiline karşı %38,1, vankomisine karşı %20,9, tetrasikline karşı %18,7, siprofloksasine karşı %17,6 ve enroflaksasine karşı %16,9 direnç olduğu belirlenmiştir (Fallah vd., 2013). Farklı limanlarda ticari balık satışı yapan işletmelerde sardalye ve karideslerden izole edilen farklı bakteri türlerinden özellikle *E.coli* ve *Salmonella infantis* türlerinin çoklu antibiyotik dirençliliği gösterdikleri belirlenmiştir (Dib vd., 2018).

## **2.8. Antibiyotiklere Alternatif Olarak Fitobiyotiklerin Kullanımı**

Bitkiler ve bitki özütleri, farklı kullanım alanlarıyla insan hayatında yer bulmaktadır. Bitkilerin yaprak, meyve, kabuk, kök kısımlarından elde edilen esans yağ ve ekstraktlar; içerdikleri kimyasal bileşenlerin farklı etkileriyle, günlük yaşamda geniş bir alanda karşımıza çıkmaktadır. Esansiyel yağlar kimyasal bileşimleri, aromatik özellikleri, farmokolojik ve terapötik etkileri sayesinde (Şengezer ve Güngör, 2008); gıdaların raf ömürlerini uzatmak, aromasını arttırmak, gıdalardaki mikroorganizma risklerini engellemek, bazı hastalık ve yaraları tedavi etmek için kullanılmaktadır. Parfüm, kozmetik ve temizlik ürünlerinde ise esans maddesi olarak yer almaktadır (Ali ve Blunden, 2003; Lahlou, 2004; Tipu vd., 2006). Tüketicilerin sentetik gıda katkı maddelerinin güvenirlğine karşı artan endişeleri dikkate alınarak; bitkisel esansiyel yağların antimikrobiyal özellikleri ile ilgili pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir (Seow vd., 2013). Bu bitkisel kaynaklar arasından, turunçgiller ve karanfil antimikrobiyal özellikleri ile öne çıkmaktadır (Radünz vd., 2019; Ceccato-Antonini vd., 2023).

Turunçgillerin bir türü olan acı portakal (*Citrus aurantium*), Rutaceae familyasına ait bir bitki türüdür (Paul ve Cox 1995). Acı portakal meyvesinin hem kabuğundan hem de çiçeğinden esansiyel yağ elde etmek mümkündür. Özellikle çiçeğinden elde edilen esans

yağı neroli yağı olarak bilinmektedir (Kang vd., 2016). *Citrus aurantium* 'un meyvesi, kabuğu, yaprakları, çiçeklerinden elde edilen esansiyel yağın; antimikrobiyal, antioksidan, antidiyetik ve diğer farmakolojik etkileri bulunmaktadır (Suntar vd., 2018). Yağın içerdiği moleküller ile gıda, ilaç, kozmetik sektörlerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Mannucci vd., 2018).

Karanfil, Mrytaceae (Mersingiller) familyasının bir üyesi olup, dört mevsim yeşil kalabilen ve boyu 20 metre uzunluğa erişebilen *Syzygium aromaticum* ağacından elde edilen bir çeşit çiçek tomurcuğudur. Yaklaşık %14-20 arasında esansiyel yağ içeren karanfilin bileşeni “eugenol” olarak bilinmektedir (Kennouche vd., 2015). Kullanımı yaklaşık M.Ö. 3. yüzyılda başlamış olup; kokusu ve antiseptik özelliği için olduğu bilinmektedir. Dünya mutfaklarında karanfil, gıdalarda aroma verici olarak kullanılmaktadır. Yüksek antimikrobiyal etkisi ile gıda ürünlerinin yanında ilaç ve kozmetik sektörlerinde de kullanılmaktadır (Cai ve Wu, 1996; Chaieb vd., 2007; Kamatou vd., 2012).

Portakal (*Citrus sinensis*) bitkisi Rutaceae familyasına ait odunsu bir bitki olup, Dünya’da en çok tüketilen turunçgil türüdür. Bitkinin meyve, meyve kabuğu, çiçek ve yapraklarından çeşitli esansiyel yağlar elde edilirken; meyve kabuğundan elde edilen yağın içeriğinde limonen oranı yüksektir (Gavahian vd., 2019). Portakal kabuklarından elde edilen esans yağın antimikrobiyal ve antioksidan etkileri sayesinde; pek çok farklı alanda kullanımı mevcuttur (Ceccato-Antonini vd., 2023).

Son yıllarda antibiyotiğe dirençli bakterilerle mücadelede, doğal alternatif antimikrobiyal katkıların kullanımıyla ilgili çalışmalar artmıştır. Literatürlere göre; bitkilerin farklı aksamlarından elde edilen özütlerin patojen veya patojen olmayan birçok bakteri üzerine antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar, bitki özütlerinin içerdiği metabolitlerin antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerine göre detaylandırılmaktadır. Örneğin, turunçgil kabukları naringin, hesperidin, narirutin, neohesperidin gibi antimikrobiyal ve antioksidan özelliklere sahip karakteristik flavanone glikozitler içermektedir (Khan vd. 2014).

Gorinstein vd. (2001) limon, portakal ve greyfurt kabuklarında meyve aksamına göre toplam fenolik madde miktarının daha fazla olduğunu raporetmişlerdir. Narenciye kabuk ekstraktları başta limonen olmak üzere uçucu bileşiklerden monoterpenler (limonen), seskiterpenler ve aldehitler (sital), ketonlar, asitler, alkol (linolel) ve esterler gibi seskiterpenoidleri içermektedir (Smith vd. 2001). Meyve kabukları doğal, ucuz ve güvenilir fenolik metabolitlerin kaynakları olması, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri ile oldukça önemli ürünlerdir. Gıda patojenleri üzerine narenciye kabuklarından elde edilen özütlerin etkileri incelendiğinde, limonenin *Listeria monocytogenes* üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir (Han vd., 2020).

Farklı bir çalışmada çipura balıklarının deri ve kas dokularından izole edilen *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas fragi*, *Shewanella putrefaciens* ve *Shewanella baltica* bakterileri üzerine limonenin orta veya güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir (Giarratana vd. 2016).

Sonuç olarak; bu çalışmada antibakteriyel etkileriyle doğal, ekonomik, sürdürülebilir kaynaklar olan turunç çiçeği, karanfil ve portakal kabuğu esansiyel yağlarının ve etanolik ekstraktlarının, tüketime hazır ançüz ve lakerda örneklerinden izole edilen bakteriler üzerine antibakteriyel etkileri araştırılmıştır.

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

### ARAŞTIRMA YÖNTEMİ/MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

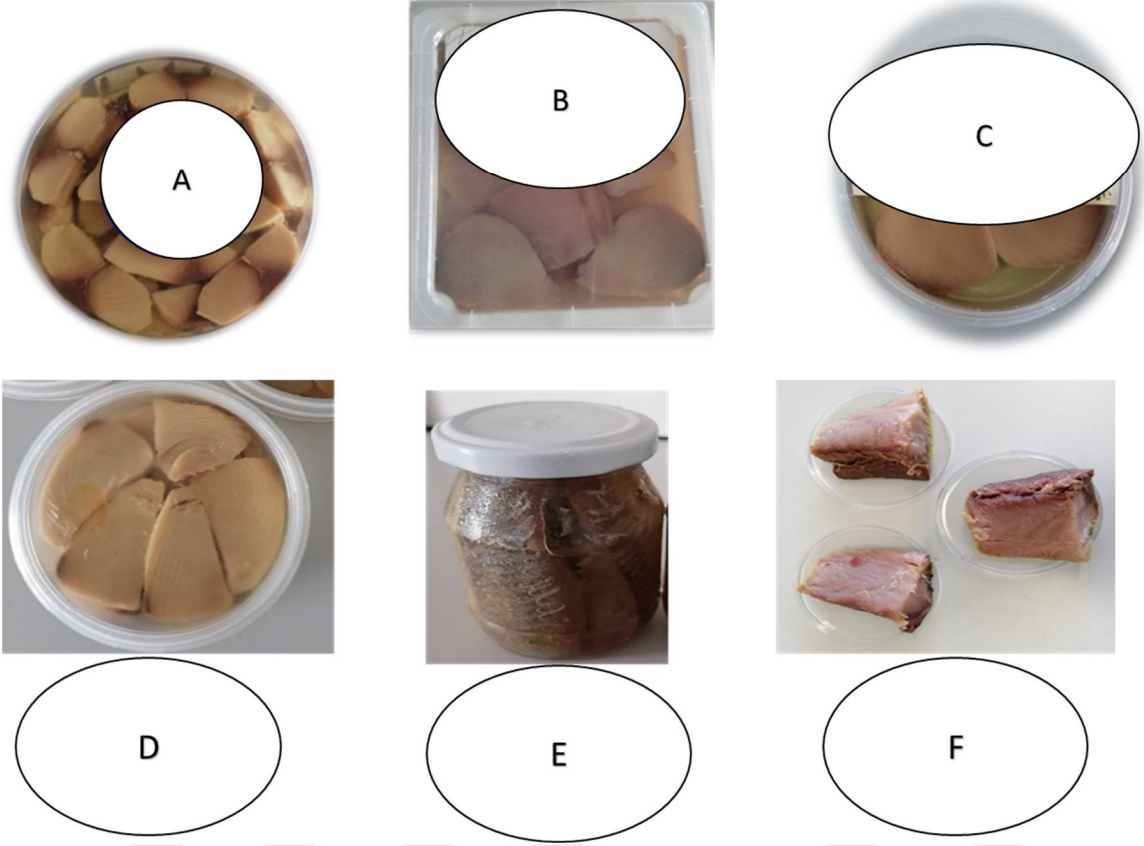
Çalışmada antibiyotiğe dirençli bakterilerin izolasyonu amacıyla; üç farklı su ürünleri işletmelerine ait balık marketlerinden ve Çanakkale Balık Hali'nde bulunan üç farklı balıkçıdan temin edilen 30 adet paketli tuzlu sardalya (ançüez) ve lakerda örneği kullanılmıştır (Şekil 1 ve 2). Örnekler, strafor kutulara konulmuş ve soğuk zincir (+ 4 °C) sağlanarak laboratuvara getirilmiştir. Ançüez ve lakerda örnekleri mikrobiyolojik analizler yapılana kadar buzdolabında (+ 4 °C) muhafaza edilmiştir.

#### 3.1.1. Tuzlu sardalya (Ançüez) Örnekleri



Şekil 1. Tuzlu sardalya (Ançüez) örnekleri (Orijinal), A, B, C: Balık market örnekleri D, E, F: Balıkçı örnekleri.

### 3.1.2. Lakerda Örnekleri



Şekil 2. Lakerda Örnekleri (Orijinal), A, B, C: Balık market örnekleri D, E, F : Balıkçı örnekleri.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Bakteri İzolasyonu ve Tür Tanımlanması

Mikrobiyolojik analizler için tuzlu sardalya (ançüez) ve lakerda örneklerinden alınan 10 g örnek, 90 ml peptonlu su içerisinde bir dakika süre ile homojenize edilmiştir. Sonra homojenizattan ( $10^{-1}$ - $10^{-6}$ ) onluk seyreltmeler hazırlanmıştır. Bu seyreltmelerden yayma ve dökme plak yöntemlerine göre ekimler yapılmıştır. Besiyerleri Tablo 1’de gösterilen uygun sıcaklık ve inkübasyon sürelerinde, inkübatörde mikroorganizmaların gelişimi için inkübe edilmiştir. Besiyerlerinde üreyen bakteri kolonilerinin izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Koloniler uygun sıvı besiyerlerinde üretildikten sonra steril krijojenik tüpler içerisinde %30 gliserol varlığında  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ’de stoklanmıştır.



Tablo 2

Bakterilerin izolasyonunda kullanılan besiyerleri ve inkübasyon sıcaklıkları

Bakteri grubu	Besi Ortamı	Sıcaklık (°C)	İnkübasyon süresi	Kaynaklar
Toplam heterotrofik canlı bakteri sayısı	TSA	22°C	5 gün	-
Toplam halofilik bakteri sayısı	TSA +%10 NaCl	30°C	10 gün	Brillantes vd., 2002
<i>Lactobacillus</i> spp. sayısı	MRS	37°C	3-5 gün	Jokovic vd., 2008

TSA:Triptikaz Soya Agar, NaCl: Sodyum klorür, MRS: DeMan, Rogosa ve Sharpe Agar

### 3.2.2. Mikrobiyal Tür Tanımlaması

Bakteriler üredikleri besi ortamlarına göre heterotrofik, halofilik ve laktik asit bakteri grupları olarak tanımlanmışlardır. Bir sonraki aşamada antibiyogram testi sonucunda; tespit edilen çoklu antibiyotiğe direnç gösteren bakterilerin kesin tür tespitleri için 16S rDNA gen dizilimi hizmet alımı olarak BM Yazılım'de (Ankara, Türkiye) yapılmıştır. DNA (Deoksiribo nükleik asit) izolasyonu için EurX GeneMATRIX izolasyon kiti (Polonya) kullanılmıştır. Bakteri DNA'larının miktar ve saflık kontrollerinin değerlendirilmesinde Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, USA) cihazından yararlanılmıştır. ekleştirilmiştir. PCR (polymeraz zincir reaksiyonu) çalışmasında ise universal primerler olan 27F 5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3' ve 1492R 5' TACGGYTACCTTGTTACGACTT 3' primer dizileri kullanılmıştır.

### **3.2.3. Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi**

#### **Antibiyoqram Testi (Disk Difüzyon Yöntemi)**

Bakterilerin antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesinde Kirby-Bauer's disc diffusion metodu kullanılmıştır (Bauer vd., 1966). Bakteri izolatları MHB, MHB (%10 tuzlu) ve MRS besi ortamlarında üretilmişlerdir. Sonrasında aynı besi ortamlarının katı besiyerlerine geçişleri yapılmıştır. Besi ortamlarında en iyi gelişime sahip olan bakteri kolonileri seçilerek; sıvı besi ortamında bakteri yoğunluğu 0,5 McF olacak şekilde ayarlanmıştır. Devamında sıvı besi yerinden bakteri gelişimi için uygun katı besiyeri ortamına steril pamuk swab yardımıyla geçişler yapılmıştır. Geçişleri yapıldıktan sonra disk difüzyon testi için çeşitli antibiyotik diskler [(amoksisillin / klavulanik asit (AMC) (30 µg), eritromisin (E) (15 µg), klindamisin (DA) (10 µg), vankomisin (VA) (30 µg), oksasilin (OX) (5 µg), tetrasiklin (TE) (30 µg), ampisilin (AMP) (10 µg), doksisisiklin hidroklorür (DO) (30 µg), kloramfenikol (C) (30 µg), streptomisin (S) (10 µg), gentamisin (CN) (10 µg), kanamisin (K) (30 µg), nalidiksik asit (NA) (30 µg), siprofloksasin (CIP) (5 µg), imipenem (IMP) (10 µg), sülfametoks / trimetoprim (SXT) (25 µg), sefotaksim (CTX) (30 µg), sefalotin (KF) (30 µg), seftriakson (CRO) (30 µg)] steril pens yardımıyla belirli aralıklarla besiyerine yerleştirilmiş, uygun sıcaklık ve sürede (Tablo1) inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon işlemi sonrasında oluşan zon çapları ölçülmüştür. Sonrasında, bakterilerin antibiyotiklere karşı dirençliliği ya da duyarlılığı Clinical and Laboratory Standards Institute standartlarına göre değerlendirilmiştir (CLSI, 2010; CLSI, 2013; CLSI, 2017).

#### **İzolatların Çoğul Antibiyotik Direnç (MAR) indeksi**

İzolatların MAR indeksi, ilgili izolatın dirençli olduğu antibiyotik sayısının izolatın maruz kaldığı antibiyotik sayısına bölünmesi ile hesaplanmıştır (Kastner vd., 2006).



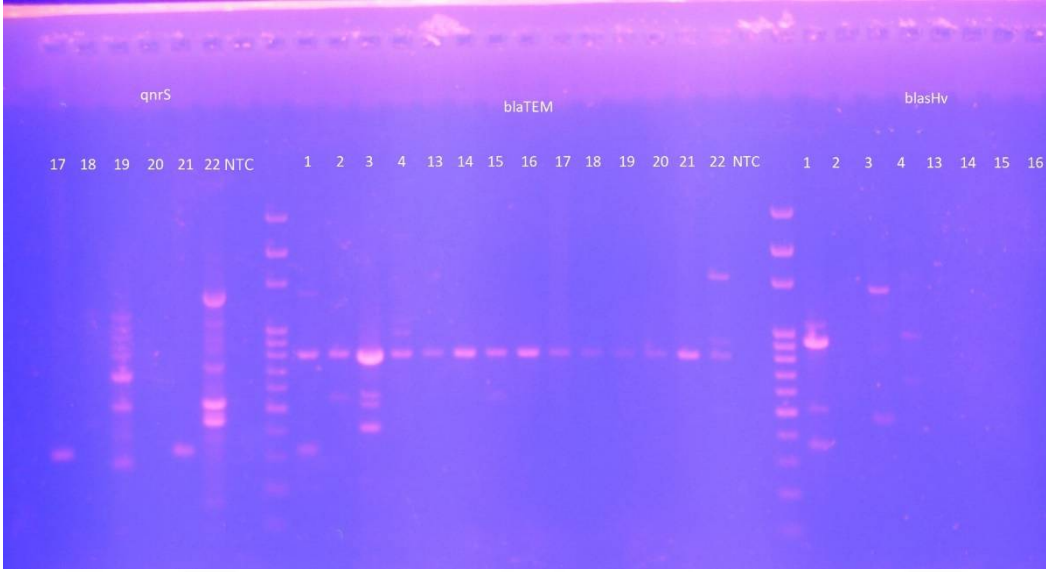
Tablo 3

Çalışmada kullanılan primer dizileri

Antibiyotik Grup/Gen		Sekans (5'-3')		Kaynak	
Beta-laktamazlar	<i>bla<sub>TEM</sub></i>	F	CATTCCGTGTCGCCCTTATTC	Dallenne vd. 2010	
		R	CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC		
	<i>bla<sub>S<sub>Hv</sub></sub></i>	F	AGCCGCTTGAGCAAATTAAC		
		R	ATCCCGCAGATAAATCACCAC		
	<i>bla<sub>CRX-M</sub></i>	F	CGCTTTGCGATGTGCAG		Paterson vd., 2003
		R	ACCGCGATATCGTTGGT		
	<i>bla<sub>Z</sub></i>	F	CAAAGATGATATAGTTGCTTATTCTCC		Kaase vd., 2008
		R	TGCTTGACCACTTTTATCAGC		
	<i>mecA</i>	F	GTGAAGATATACCAAGTGATT		Alfatemi vd., 2014
		R	ATGCGCTATAGATTGAAAGGAT		
<i>bla<sub>IMP</sub></i>	F	GAATAGAGTGGATTAATTCTC	Henriques vd., 2006		
	R	GGTTTAAAYAAAACAACCACC			
Tetrasiklin	<i>tetA</i>	F	GTAATTCTGAGCACTGTCGC	Sengeløv vd., 2003	
		R	CTGCCTGGACAACATTGCTT		
	<i>tetB</i>	F	CTCAGTATTCCAAGCCTTG		Sunde ve Sørnum, 2001
		R	CTAAGCACTTGTCTCCTGTT		
	<i>tetE</i>	F	GTGATGATGGCACTGGTCAT		Sengeløv vd., 2003
		R	CTCTGCTGTACATCGCTCTT		
	<i>tetK</i>	F	TATTTGGCTTTGTATTCTTTCAT		Trzeinski vd., 2000
		R	GCTATACCTGTTCCCTCTGATAA		
	<i>tetM</i>	F	ACAGAAAGCTTATTATATAAC		Aminov vd., 2001
		R	TGGCGTGTCTATGATGTTCCAC		
Kloramfenikol	<i>Cat A</i>	R	GGATATGAAATTTATCCCTC	Aarestrup, 2000	
		F	CAATCATCTACCCTATGAAT		
	<i>Cat B</i>	R	TGAACACCTGGAACCGCAGAG	Xia vd., 2013	
		F	GCCATAGTAAACACCGGAGCA		
Plazmit aracılı kinolon direnci	<i>qnrA</i>	F	AGAGGATTTCTCACGCCAGG	Cattoir vd., 2007	
		R	TGCCAGGCACAGATCTTGAC		
	<i>qnrB</i>	F	GATCGTGAAAGCCAGAAAGG	Katalin, 2000	
		R	ACGATGCCTGGTAGTTGTCC		
	<i>qnrS</i>	F	GCAAGTTCATTGAACAGGGT	Cattoir vd., 2007	
		R	TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG		
<i>strA-strB</i>	F	TATCTGCGATTGGACCCTCTG	Sunde ve Sørnum 2001		
	R	CATTGCTCATCATTTGATCGGCT			
Aminoglikozit direnci	<i>aphAI-IAB</i>	F	AAACGTCTTGCTCGAGGC	Frana vd., 2001	
		R	CAAACCGTTATTCATTCGTGA		
	<i>aac(3)-IIa</i>	F	ATGGGCATCATTCGCACA	Dai vd., 2010	
		R	TCTCGGCTTGAACGAATTGT		
	<i>aac(6)-Ib</i>	F	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	Katalin, 2000	
		R	CTCGAATGCCTGGCGTGTTT		

Tablo 3'ün devamı

Vankomisin	<i>VanA</i>	F	GTACAATGCGGCCGTTA	Dutka-Malen et al., 1995
		R	GGGAAAACGACAATTGC	
	<i>VanB</i>	F	GTGCTGCGAGATACCACAGA	Ramos- Trujillo vd., 2003
		R	CGAACACCATGCAACATTTC	
Folat yolu inhibitörleri	<i>dfrD</i>	F	CCCTGCTATTAAAGCACC	Dale vd., 1995
		R	CATGACCAGATAACTC	
	<i>dfrK</i>	F	CAAGAGATAAGGGGTTTCAGC	Argudín vd., 2011
		R	ACAGATACTTCGTTCCACTC	
	<i>dfrG</i>	F	TGCTGCGATGGATAAGAA	Argudín vd., 2011
		R	TGGGCAAATACCTCATTCC	
<i>dfrA</i>	F	CACTTGTAATGGCACGGAAA	Argudín vd., 2011	
	R	CGAATGTGTATGGTGGAAG		
Makrolidler	<i>ermA</i>	F	GTTCAAGAACAATCAATACAGAG	Lina vd., 1999
		R	GGATCAGGAAAAGGACATTTTAC	
	<i>ermB</i>	F	CCGTTTACGAAATTGGAACAGGTAAAG	Lina vd., 1999
		R	GAATCGAGACTTGAGTGTGC	
<i>ermC</i>	F	GCTAATATTGTTTAAATCGTCAATTCC	Lina vd., 1999	
	R	GGATCAGGAAAAGGACATTTTAC		
Linkozamidler	<i>msrA</i>	F	GGCACAATAAGAGTGTTTAAAGG	Lina vd., 1999
		R	AAGTTATATCATGAATAGATTGTCCTGT	
	<i>msrB</i>	F	TATGATATCCATAATAATTATCCAATC	Lina vd., 1999
		R	AAGTTATATCATGAATAGATTGTCCTGT	
<i>lnuA</i>	F	GGTGGCTGGGGGGTAGATGTATTAAC	Bozdogan vd., 1999	
	R	GCTTCTTTTCAAATACATGGTATTTTTC		
<i>lnuB</i>	F	CCTACCTATTGTTTGTGGAA	Bozdogan vd., 1999	
	R	ATAACGTTACTCTCCTATTC		



Şekil 4. Direnç genlerinin agaroz jelde görünümü.

### 3.2.5. Esansiyel Yağ ve Etanolik Ekstraktların Hazırlanması

Portakal kabukları, yüzey alanını arttırmak amacıyla küçük parçalara ayrılmıştır. Turunç çiçekleri ve karanfil taneleri ise bütün halde kullanılmıştır. Elde edilen örneklerden esansiyel yağlar su, ekstraktlar ise alkol kullanılarak elde edilmiştir. Esansiyel yağların eldesinde, su distilasyonu yöntemi ile Clevenger aparatı kullanılmıştır (Clevenger, 1928). Etanolik ekstraksiyon işlemi Soxhlet ekstraktörü kullanılarak yapılmıştır. Bu amaçla; portakal kabukları, karanfil taneleri ve turunç çiçeklerinden 20'şer gram tartılarak her biri 350 mL etil alkol içerisinde ekstrakte edilmiştir (Soxhlet, 1879). Ekstraksiyon işleminden sonra çözelti içindeki alkol rotary evaporatör ile ortamdan uzaklaştırılarak, ekstraktlar yoğunlaştırılmıştır. Bitki ekstraktları ve esansiyel yağlar antibakteriyel testler yapılincaya kadar buzdolabında +4°C'de ağzı kapalı, koyu renkli steril şişelerde muhafaza edilmiştir.

#### Ekstraksiyon İşlemleri

##### Esans Yağı Ekstraksiyon İşlemi

Esans yağı elde edilmesi için yağı çıkartılacak portakal kabukları yüzey alanlarının ve ekstrakt kalitesinin artması için küçük parçalara ayrılmıştır. Turunç çiçekleri ve karanfil taneleri ise olduğu gibi ekstraksiyon işlemlerine alınmıştır. Su distilasyonu yöntemi ile Clevenger aparatı kullanılarak esans yağlar elde edilmiştir (Şekil 5 ve Şekil 6). Yöntem

soğutucu ile bağlantılı cam balonda su ve bitki materyalinin 2-8 saat süre ile kaynatılarak; su buharı ile birlikte hareket eden yağ moleküllerinin, soğutucuda yoğunlaştırılıp sudan ayrıştırılması esasına dayanmaktadır (Clevenger, 1928).



Şekil 5. Portakal kabuğu esans yağının elde edilmesi (Clevenger aparatı).



Şekil 6. Karanfil esans yağının elde edilmesi (Clevenger aparatı).

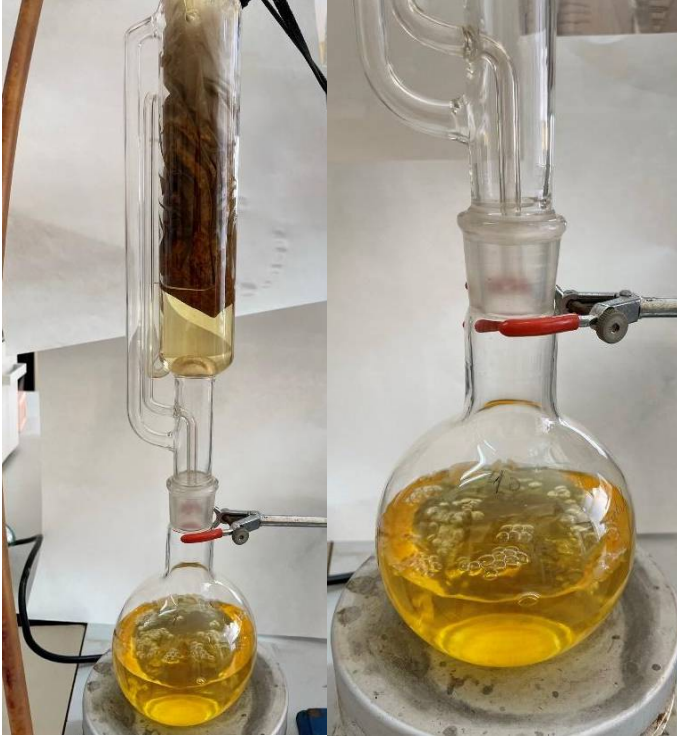
### **Etanolik Ekstraksiyon İşlemleri**

Liyofilize edilmiş portakal kabuklarının etanolik ekstraksiyon işlemi Soxhlet ekstraktörü kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3). Bu amaçla; kuru portakal kabukları küçük parçacıkları, karanfil taneleri ve turunc çiçeklerinden 20'şer g tartılarak her biri 350 ml etil alkol içerisinde ekstraksiyon işlemine alınmıştır (Şekil 7 ve Şekil 8). Ekstraksiyon işlemleri bittikten sonra evaporatör yardımı ile alkolden uzaklaştırılarak, yoğunlaştırılmışlardır (Soxhlet, 1879).





Şekil 7. Portakal kabuğu etil alkol ekstraktının elde edilmesi.



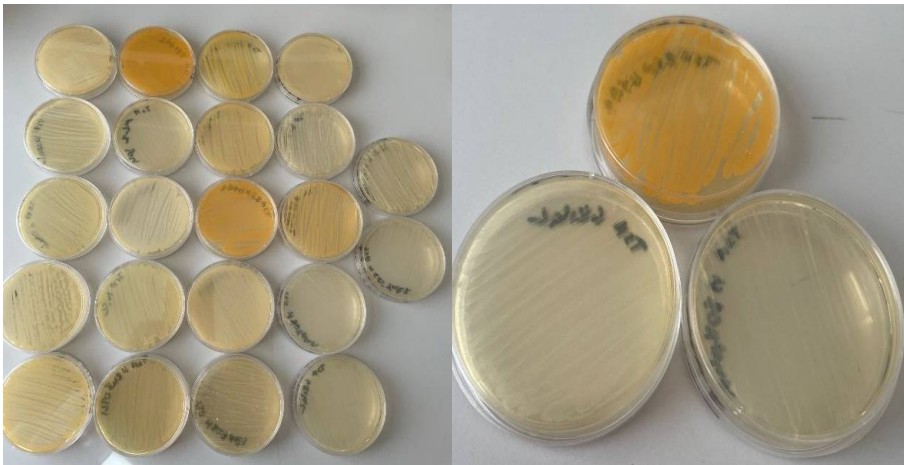
Şekil 8. Turunç çiçeği etil alkol ekstraktının elde edilmesi.

## Kimyasal Bileşenlerin Belirlenmesi

Bitki ekstraktları ve esansiyel yağların içerdiği kimyasal bileşenler GC-MS (Shimadzu GCMS QP 2010 ULTRA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bileşenlerin ayrılması, düşük polarite fazı difenil dimetil polisiloksan ve taşıyıcı gaz helyum içeren bir Rxi-5 ms kılcal kolon (30m; 0,25 mm; 0,25 µm) (Restek Corporation, Bellefonte, PA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fırın sıcaklığı başlangıçta 40 °C'ye ayarlanmıştır. Bu sıcaklıkta 3 dakika bekletildikten sonra dakikada 4°C arttırılarak, 240 °C'ye kadar çıkarılmıştır. Enjeksiyon, 250 °C'de 1 µl'lik enjeksiyon hacmi ile bölünmüş modda (ayırıcı 1:5) yapılmıştır. Kütle spektrumu (70 eV) m/z 40-450 amu tarama aralığında, kolonda akış hızı 0,89 ml/dk, basınç 100 kPa ve toplam akış hızı: 8,4 ml/dk olarak ayarlanmıştır. Analiz toplam 53 dakikada gerçekleştirilmiştir. Test edilen esansiyel yağların ve ekstraktların kromatogramları, Wiley W9N11 marka spektrum kütüphanesinde karşılaştırılarak içerikleri tanımlanmıştır.

### 3.2.6. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

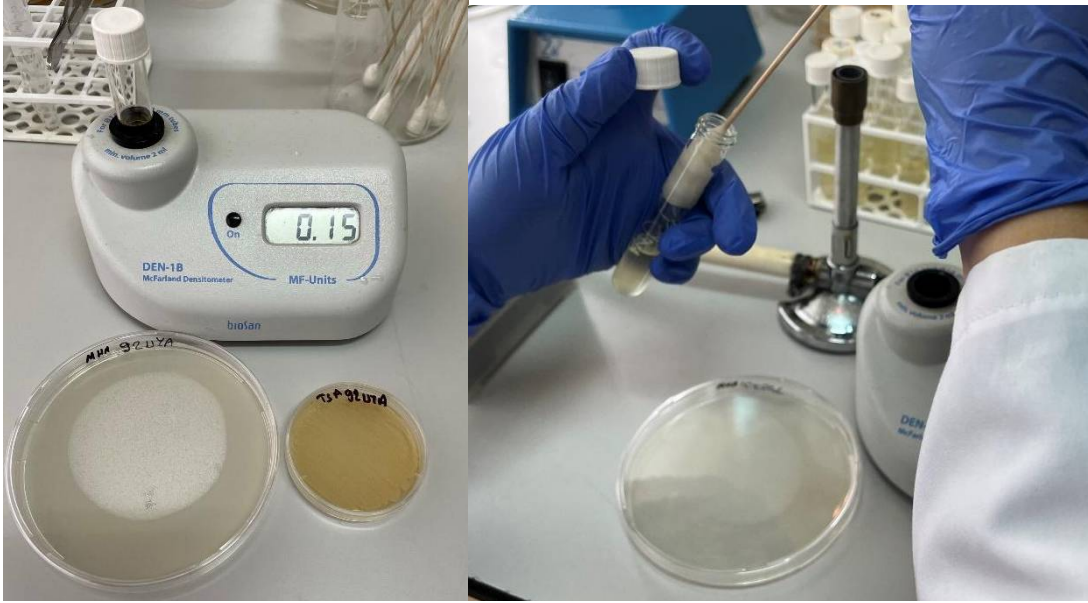
Antimikrobiyal duyarlılık testleri için cryo tüpler içerisinde stoğa alınan ve -80°C'de depolanan bakteri izolatları, bulunduğu ortamdan çıkarılıp çözündürülmüştür. Bakteri izolatlarının canlandırma işlemleri triptikaz soya ve tuz ilaveli triptikaz soya besi ortamında gerçekleştirilmiş olup, soğuk stresinin izolatlar üzerindeki etkisinin giderilmesi için ekimler iki kez tekrarlanmıştır (Şekil 9).



Şekil 9. Bakteri izolatları.

## Disk Difüzyon Testi

Esansiyel yağların, etanolik ekstraktların ançüz ve lakerda ürünlerinden izole edilen bakteriler üzerine antimikrobiyal etkisi disk difüzyon testi ile belirlenmiştir (Bauer vd., 1966). Bakteri izolatları katı besi ortamından sıvı besi ortamına geçişleri yapılarak, ekim için ortamın yoğunluğu (0,5 McF) olarak ayarlanmıştır. Sıvı besi ortamından, uygun katı besi yeri üzerine steril pamuk swap ile geçişler yapılmıştır (Şekil 10).

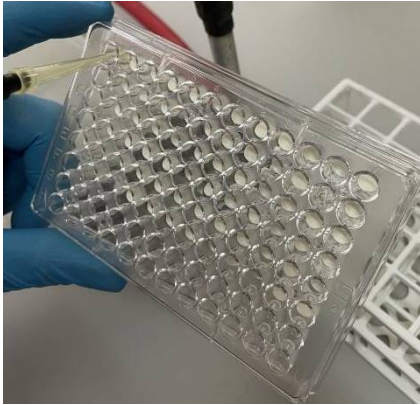


Şekil 10. Bakteri izolatlarının hazırlanması.

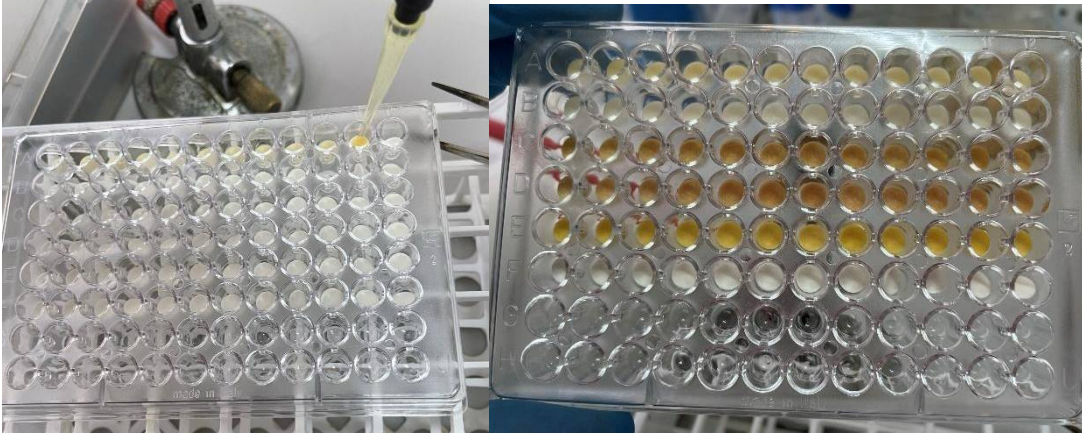
Disk difüzyon testi için steril kör diskler kullanılmıştır (Şekil 11). Steril kör disklerle (Oxoid, CT0998B) 10 µL esansiyel yağ ve etil alkol ekstraktları için ise 2 mg/disk olacak şekilde 10 µL ekstrakt emdirilmiştir (Şekil 12). Diskler aseptik şartlar altında kurutulmuştur (Şekil 13). Bakteri ekimi yapılan besi yerlerine steril pens yardımıyla hazırlanan diskler belli açıklıkta yerleştirilmiştir (Şekil 14). Diskler vibrio türleri için Triptikaz Soya ve diğer bakteri türleri için ise Müller Hinton besi ortamlarına yerleştirilmiştir. Bakteri türüne göre (22°C ve 36°C) uygun sıcaklıkta 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında zon çapları ölçülerek  $\geq 20$  mm ise güçlü inhibisyon;  $<20-12$  mm ise orta düzey inhibisyon; ve  $<12$  mm ise etkisiz olarak değerlendirilmiştir (Rota vd., 2008).



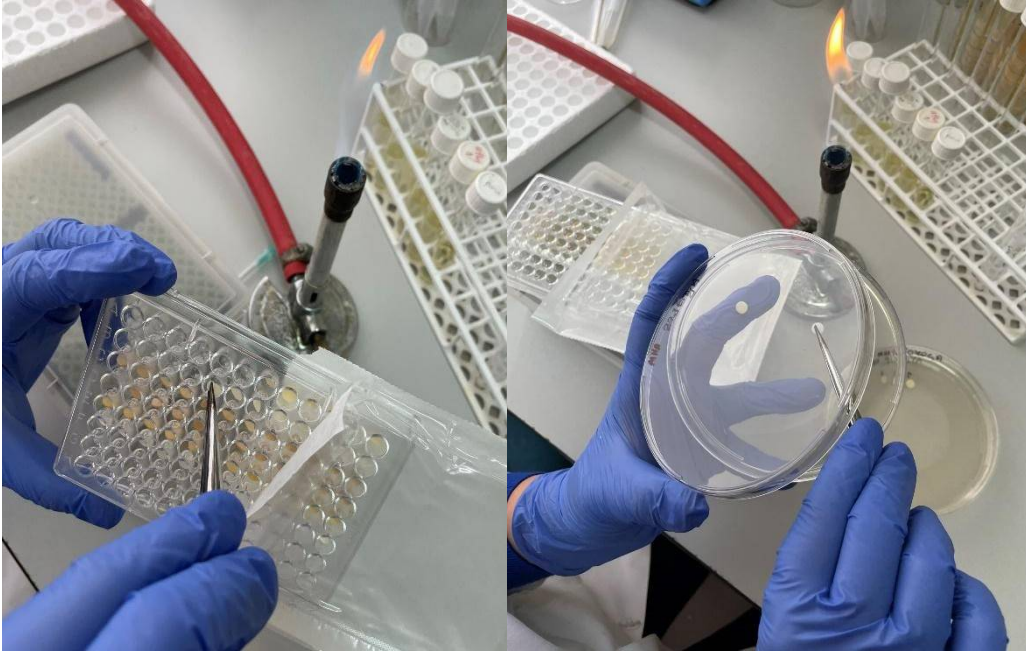
Şekil 11. Bitki ekstraktları için kullanılan diskler.



Şekil 12. Bitki ekstraktlarının aktarımı için kullanılan steril tek kullanımlık plakalar.



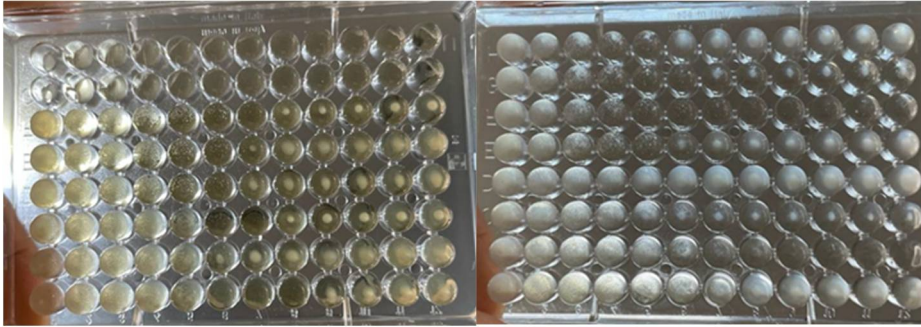
Şekil 13. Plakalardaki blank disklere aktarılmış bitki ekstraktları.



Şekil 14. Bitki ekstraktlı disklerin petrilere yerleştirilmesi.

## Minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) testi

Minimum inhibitör konsantrasyonu analizi Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015) tarafından belirtilen yöntemler ile yapılmıştır. Bitki ekstraktlarının stok solüsyonu (% 10) uygun üreme ortamı içerisinde, %6 DMSO ve %0,5 tween 80 içerecek şekilde hazırlanmıştır (Turgis vd., 2012). 50 µl besi ortamı 50 µl stok solüsyonu ile 96'lık plakalar içerisinde karşılaştırılarak iki katlı seyreltme yapılmıştır. Sonrasında kuyucuklara 50 µl bakteri süspansiyonu (10<sup>8</sup> CFU/ml) ilave edilmiştir. Kuyucuklardaki son ekstrakt konsantrasyonu %2,5 'dan başlayarak %0,001221'e kadar olacak şekilde ayarlanmıştır. Kontrol kuyucukları 1- 100µl bakteri içeren besi ortamı, 2- DMSO, tween 80 ve bitki ekstraktını içeren 100 µl bakterisiz besi ortamı ve 3- 100 µl bakterisiz besi ortamından oluşturulmuştur. Plakalar uygun üreme sıcaklığında 24 saat inkübe edilmiştir. MİK değerleri üremeyi inhibe eden konsantrasyona bakılarak belirlenmiştir (Şekil 15). Minimum bakterisidal konsantrasyonunun belirlenmesi için ise MİK değeri ve öncesindeki iki seyreltmeden ekimler katı besiyerlerine yapılarak MBK değeri belirlenmiştir (Schwalbe vd., 2007).



Şekil 15. MİK ve MBK testlerinin uygulanması.

## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

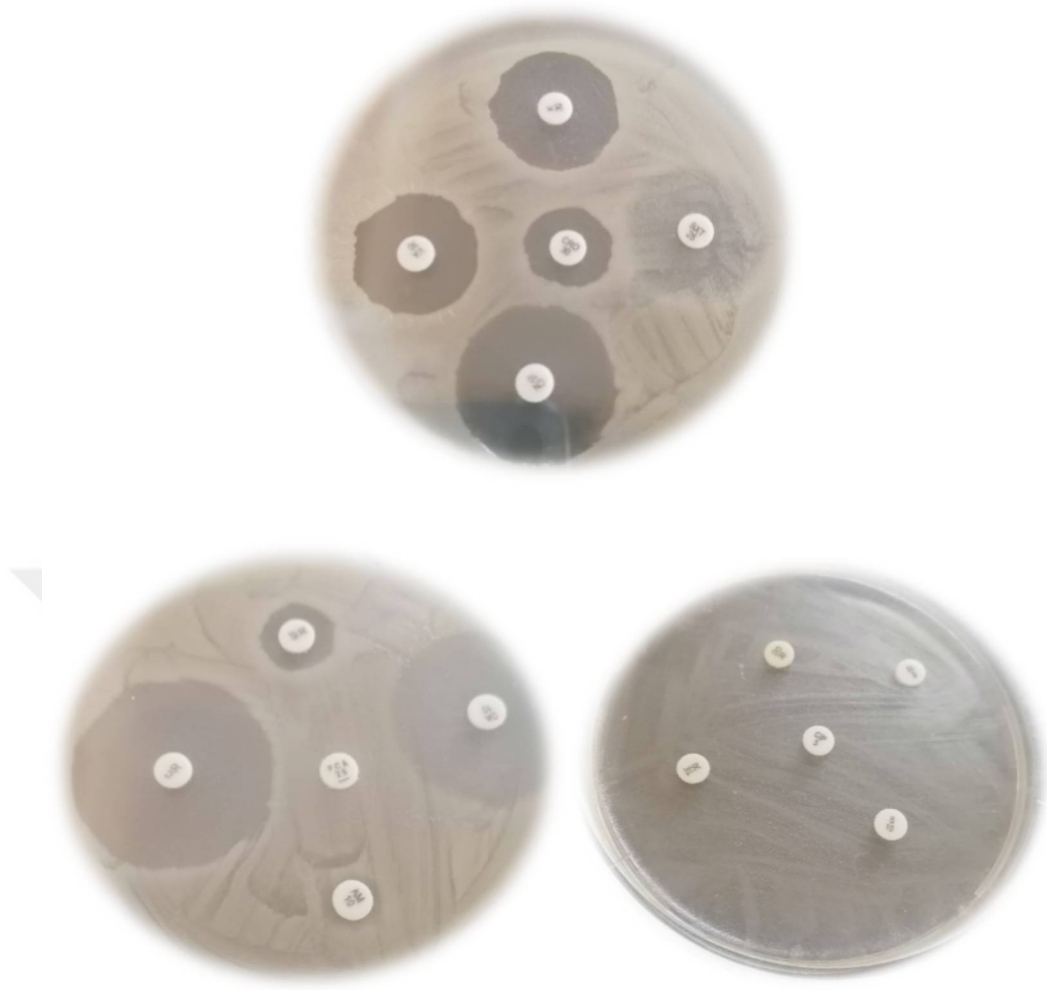
### ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu bölüm ançüez ve lakerda örneklerinden elde edilen bakteri türleri ve antibiyotik dirençlilikleri üzerine yapılan analiz sonuçlarını içermektedir. Ayrıca, bu bakteri türleri üzerine turunç çiçeği, karanfil tanesi, portakal kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi ile ilgili sonuçlara yer verilmiştir.

#### 4.1. Ançüez Örneklerinden İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliği

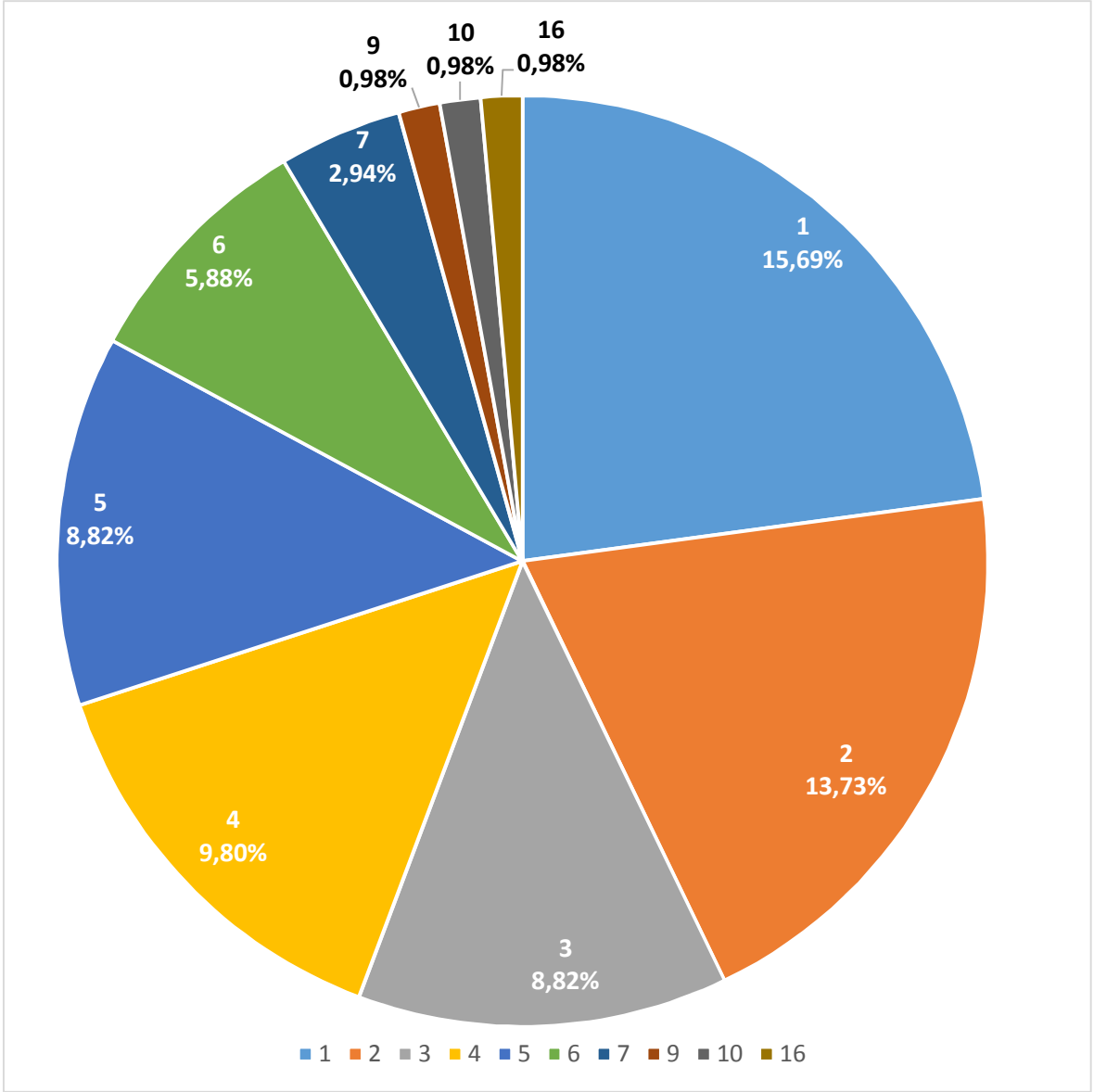
Bu çalışmada ançüez örneklerinden toplam 102 adet bakteri izole edilmiştir. Bu bakterilerin % 31,4'ü test edilen 19 farklı antibiyotikten (Şekil 16) herhangi birine karşı direnç göstermezken, %68,6'sı en az bir antibiyotiğe direnç göstermiştir (Şekil 17). Bakteri izolatları arasında %39,2'si üç ve üzeri antibiyotiğe dirençli bulunmuştur. İzole edilen bakteriler arasında gen bankası kayıtları ile benzerlik oranları yüksek olan ve kesin tür teşhisi yapılabilen 12 bakteri izolatu çalışmada kullanılmıştır (Tablo 4).

Ançüez ürünlerinde tespit edilen bakteri türleri ve antibiyotik dirençlilikleri Tablo 4'de gösterilmiştir. Balıkçılardan temin edilen ançüez örneklerinde *Bacillus cereus*, *Chryseobacterium* spp., *Kocuria rhizophila* ve *Psychrobacter* spp. türleri izole edilmiştir. Balık market izolatları arasında ise *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Bacillus anthracis*, *Carnobacterium maltaromaticum*, *Chryseobacterium carnipullorum* türlerinin çoklu antibiyotik dirençliliği tespit edilmiştir. Çoklu antibiyotik direncine sahip izolatların fenotipik ve/veya genotipik olarak antibiyotiklere dirençli oldukları bulunmuştur. Ayrıca MAR indekslerinin 0,2 den büyük olduğu belirlenmiştir. Bu durum izole edilen ortamın insan veya hayvansal bir kirliliğe maruz kaldığını ve yüksek risk içerdiğini göstermektedir (Krumperman, 1993).



Şekil 16. Ançüz örneklerinin antibiyogram test sonuçları (temsili).





Şekil 17. Ançüz örneklerinden izole edilen 70 izolatın antibiyotik direnç oranları (%).

Tablo 4

Ançüz ürünlerinde tespit edilen bakteri türleri ve antibiyotik dirençlilikleri

Firma	Bakteri	Fenotipik	Genotipik	MAR İndeksi
A	<i>Psychrobacter faecalis</i>	S, OX, KF, CRO, CTX, AMC, SXT, AMP	<i>blaTEM</i> , <i>aphAI-IAB</i> , <i>aac(6)-Ib</i> , <i>mecA</i>	0,42
B	<i>Psychrobacter sp.</i>	OX, VA, DA, KF	<i>blaTEM</i> , <i>mecA</i>	0,21
E	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	S, CN, NA, E	<i>mecA</i>	0,21
C	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	K, S, OX, CN, CIP, NA, IPM, AMP	<i>mecA</i>	0,42
E	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	K, S, CN, NA, SXT	<i>mecA</i>	0,26
A	<i>Bacillus cereus</i>	OX, KF, CRO, TE, CTX, AMC, SXT, AMP	<i>blaTEM</i> , <i>dfrD</i> , <i>blaZ</i> , <i>mecA</i>	0,42
D	<i>Bacillus sp.</i>	K, S, OX, CN, NA, DA	<i>mecA</i>	0,32
E	<i>Bacillus anthracis</i>	OX, KF, CTX, SXT, AMP	<i>blaTEM</i> , <i>mecA</i>	0,26
C	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	K, S, OX, CN, NA, E, DA, KF, CRO, CTX, AMP	<i>blaTEM</i> , <i>strA-strB</i> , <i>mecA</i>	0,58
D	<i>Chryseobacterium sp.</i>	OX, VA, KF, DA	<i>blaTEM</i> , <i>msrA</i> , <i>mecA</i>	0,21
B	<i>Chryseobacterium carnipullorum</i>	K, OX, C, KF, CRO, CTX, AMP	<i>blaTEM</i> , <i>blaZ</i> , <i>mecA</i>	0,37
B	<i>Kocuria rhizophila</i>	K, S, CN	<i>mecA</i>	0,16

A, B ve E: Balıkçı örnekleri

C, D: Balık market örnekleri

*Psychrobacter* cinsine ait bakteriler Moraxellaceae ailesine mensup olup gram negatif kokobasil formda, 0,9-1,3 µm boyutunda, genellikle optimum gelişim sıcaklığı 20 °C de olan ve 5 °C de gelişim gösterebilen bakterilerdir (Betts, 2006). *Psychrobacter* türleri gıdalar, toprak, deniz suyu, deniz buzu, hava dahil olmak üzere çeşitli deniz ve kara ortamlarında bulunur (García-López ve Maradona, 2000). Çoğu tür halofiliktir ve  $\geq$ %10 NaCl varlığında büyüebilir (Yang, 2014). Daha önce gıda bozulmaları ile ilişkilendirilmiş (Bekaert vd., 2015; Yang vd., 2017a; Yang vd., 2017b) ve kötü kokuya (Meason-Smith vd., 2018) neden olabileceği rapor edilmiştir. Ancak, tuzlu ortama tolere *Psychrobacter* sp. SP-1 daha önce tuz oranı yüksek balık sosunda TVB-N ve biyojenik amin oluşumunu inhibe ettiği için starter kültür olarak da kullanılabileceği bildirilmiştir (Zheng vd., 2017). Ayrıca, kore mutfağında küçük karideslerle yapılan yüksek oranda tuzlu (%25) ve fermente edilmiş bir yemek çeşidi olan “Saeu-jeot” bir jeotgal çeşididir. Fermentasyonun ilk aşamalarında *Psychrobacter* türlerinin dominant olduğu bulunmuştur (Jung vd., 2013).

Bu çalışmada farklı iki balıkçıdan temin edilen tuzlu sardalya (ançüez) ürünlerinden izole edilen her iki *Psychrobacter* türünün de çoklu antibiyotik dirençliliğine sahip olduğu bulunmuştur. *Psychrobacter faecalis* türü S, OX, KF, CRO, CTX, AMC, AMP ve SXT antibiyotiklerine dirençli ve *blaTEM*, *aphAI-IAB*, *mecA* ve *aac(6)-Ib* antibiyotik direnç genlerini taşıdığı tespit edilmiştir. *Psychrobacter* sp. ise OX, VA, DA, KF antibiyotiklerine dirençli iken aynı zamanda *blaTEM* ve *mecA* genlerini taşıdığı bulunmuştur. Önceki çalışmalarda *Psychrobacter* türlerinin antibiyotiklere dirençlilik gösterdikleri ile ilgili raporlar mevcuttur. Denizel *Psychrobacter* sp. izolatlarının Ampisilin (AMP), Rifampisin, Doksisisiklin (DO), Seftriakson (CRO) ve/veya Sülfametoksazol (SXT) antibiyotiklerine karşı direnç göstererek çoklu antibiyotik dirençliliğine sahip oldukları rapor edilmiştir (Abd-Elnaby vd., 2016). *Psychrobacter immobilis* türünün C sınıfı  $\beta$ -laktamaz taşıdığı bildirilmiştir (Feller vd., 1997). Sonuç olarak bu çalışmada ançüezden izole *Psychrobacter* izolatlarının ESBLs veya aminoglikozid dirençliliği ile ilişkili direnç genlerini taşıması nedeniyle ileride bu bakterinin starter kültür olarak kullanılmadan önce güvenliliğinin araştırılması gerekmektedir.

*Staphylococcus epidermidis* gram pozitif, kok şeklinde, fakültatif anaerob bir bakteri olup, derinin normal mikroflorasının bir parçasını oluşturan bir bakteridir

(Loggenberg vd., 2022). Bu bakteri esas olarak deride veya ter bezlerinde bulunur. Terleme yoluyla vücut kokusunun üretilmesinden sorumludur (Loggenberg vd., 2022). Bu özellikle cerrahi yaraların enfeksiyonunda, bağışıklığı baskılanmış hastalarda nozokomiyal enfeksiyonlar gibi fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilir (Rupp vd., 2001). Bu çalışmada farklı iki market ürünü ançüez örneklerinden izole *Staphylococcus epidermidis* izolatlarının biri S, CN, NA, E ve diğeri ise K, S, OX, CN, CIP, NA, AMP, IPM antibiyotiklerine dirençli bulunmuştur. Ancak, bu iki izolatın test edilen direnç genleri içerisinde sadece *mecA* genini taşımadıkları görülmüştür. Daha önce tuzlanmış hamsiden üretilen ürünlerde histamin üreten izolatlar arasında *S. epidermidis* türünün baskın olduğu rapor edilmiştir (Hernández-Herrero vd., 1999). Tuzlu sardalya örneklerinden izole edilen altı adet *S. epidermidis*'in penisilin, ampisilin (AMP), amoksisilin/klavulanik asit (AMC), oksasilin (OX), tobramisin, eritromisin (E) ve/veya klindamisin (DA) antibiyotiklerine dirençli, üç tanesinin de *mecA* direnç genini taşıdığı yedi izolatın ise antibiyotiklere karşı duyarlı olduğu belirtilmiştir (Sergelidis vd., 2014). Bununla birlikte *S. epidermidis* türünün antibiyotik direnç genlerini *Staphylococcus aureus* gibi diğer *Staphylococcus* türlerine yatay gen transferi yoluyla kolayca aktarabildiği bildirilmiştir (Forbes ve Schaberg, 1983).

Ançüez izolatı *Staphylococcus haemolyticus*, K, S, CN, NA ve SXT antibiyotiklerine karşı dirençli bulunmuştur. Ayrıca, *mecA* geni taşıdığı belirlenmiştir. Benzer olarak, Japonya da yapılan bir çalışmada tüketime hazır 200 farklı balık ürününde iki adet *S. haemolyticus* izole edilmiştir. İzolatların gentamisin (CN), kanamisin (K), ampisilin, oksasilin (OX), tetrasiklin (TE) ve siprofloksasin (CIP)'e karşı dirençli ve *aph(3')*, *tet(K)*, *tet(M)*, *blaZ*, ve/veya *mecA* genlerini taşıdıkları bulunmuştur (Hammad vd., 2012). Çoklu antibiyotik (eritromisin:E, oksasilin:OX ve ampisiline) dirençliliğine sahip *S. haemolyticus*, Atlantik ringa balığının donmuş etinden (Regecová vd., 2014) de izole edilmiştir.

*Bacillus* genusuna ait bakteriler gram-pozitif olup spor oluşturma kabiliyetleri ile bilinmektedirler. *Bacillus cereus* dirençli endosporlar üretebilen aerobik veya fakültatif anaerobik, hareketli, patojenik ve fırsatçı bir bakteri olarak sınıflandırılır (Parihar, 2014). *B. cereus* 8–55 °C gibi geniş bir sıcaklık aralığında gelişebilir (Senesi ve Ghelardi 2010). *B. cereus* endosporları ısıya, radyasyona, dezenfektanlara ve kuru ortama karşı dirençlidir. Yapışkan karakterleri, işleme ekipmanına bağlanmalarını ve temizleme prosedürlerine

karşı direnç göstermelerini kolaylaştırır (Kotiranta vd., 2000; Parihar, 2014; Rajkovic vd., 2008). Bu organizmalar sıklıkla klinik ortamları, biyoteknolojik süreçlerdeki ekipmanları ve gıda üretimi ortamlarını ve ürünleri kontamine eder (Ghelardi vd., 2007; Senesi ve Ghelardi 2010).

*Bacillus cereus*'un bağışıklığı baskılanmış, bağışıklığı yeterli hastalarda, çeşitli fırsatçı enfeksiyonlara neden olan bir organizma olduğu bilinmektedir. İshal ve kusma olmak üzere iki farklı gıda kaynaklı hastalık sendromuna, şiddetli endoftalmi, bakteriyemi, septisemi, endokardit, pnömoni, menenjit, gastrit ve kutanöz enfeksiyonları gibi çok çeşitli fırsatçı enfeksiyonlara neden olur (Callegan vd., 1999; Drobniowski, 1993; Logan and Turnbull 1999; Parihar, 2014). *B. cereus* enfeksiyonu, insan ince bağırsağında enterotoksin üreterek ishalleri gıda zehirlenmesine ve kusmaya neden olan bir toksin olan sereulid üretimine yol açar (Ehling-Schulz vd., 2004).

Bir çalışmada, *B. cereus*'un 50 adet tuzlu sardalya ürününün dokuz adedinde (%18) var olduğu rapor edilmiştir (Ghanem vd., 2019). Bu çalışmada ise balıkçı ürünü ançüezinden izole *B. cereus*'un; OX, KF, CRO, TE, CTX, AMC, SXT, AMP antibiyotiklerine dirençli olduğu ve *blaTEM*, *dfrD*, *blaZ*, *mecA* direnç genlerini taşıdığı belirlenmiştir. Tayvan da yapılan bir çalışmada istiridye yetiştirme alanlarındaki; deniz suyu numunelerinin %32,6'sında, istiridyelerin %2,5'inde, limanda yapılan örneklemede; deniz suyu numunelerinin %7,9'unda ve kabuklu deniz ürünlerinin %0,68'inde *B. cereus*'a rastlanılmıştır (Hsu vd., 2021). Aynı çalışmada *B. cereus* grubu izolatları ampisilin ve sülfametoksazol/trimetoprim (SXT)'e yüksek düzeyde direnç göstermiştir. Toplam 44 izolattan 13 tanesi üç veya beş farklı antibiyotiğe çoklu direnç göstermiştir (Hsu vd., 2021).

Perakende su ürünleri işletmelerinden temin edilen, taze ve işlenmiş su ürünlerinden izole edilen *B. cereus* grubu izolatların, Ampisilin, Seftriakson (CRO), Klindamisin (DA), Eritromisin (E) ve/veya Tetrasiklin (TE) antibiyotiklerine dirençli oldukları belirlenmiştir (Rahmati ve Labbe 2008). Ançüez izolatı *B. cereus*'un benzer olarak çoklu antibiyotik direncine sahip olduğu ve önceki çalışmalarla benzer antibiyotiklere karşı direnç gösterdiği söylenebilir. Ayrıca bu çalışmada tam olarak tür tespiti yapılamayan *Bacillus* sp. izolatının K, S, OX, CN, NA, DA antibiyotiklerine dirençli olduğu görülmüştür. Ayrıca, bu izolatın *mecA* geni taşıdığı bulunmuştur.

Tüketime hazır su ürünlerinden izole *B. cereus* grubu bakterilerde *blaTEM*, *dfrD*, *mecA* ve/veya *blaZ* genlerini taşıdıkları ile ilgili sınırlı bilgi mevcuttur. Çin’de açık denizde su ürünleri yetiştiriciliği yapan firmalardan (izolatların kökeni belirtilmemiştir) probiyotik olarak kullanılmak üzere 24 farklı türe ait 116 adet *Bacillus* izole edilmiştir. Ancak, bu izolatların yaklaşık %22’si çoklu antibiyotik dirençliliği göstermiştir. *B. cereus* izolatlarının tamamı (altı adet) tetrasiklin direnci (*tetA*, *tetB*, *tetE*), ESBLs (*blaTEM*, *ampC*, *blaZ*), aminoglikozit direnci [*ant(3)-Ia(aadA)*, *aph(60)-Ib(strB)*], sülfonamid direnci (*sul1*, *sul2* ve *sul3*), makrolidler (*ermA*, *ermX*) ve fenikoller (*floR*, *cfr*) ve kinolonlar (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*) ile ilişkili direnç genlerinin hepsini taşıdıkları rapor edilmiştir (Yu vd., 2023).

Bu çalışmada izole edilen *Bacillus anthracis*, akut ölümcül hastalık şarbonuna neden olduğu ve yüksek toksisitesi nedeniyle potansiyel bir biyolojik silah olarak kullanılabilceği rapor edilmiştir (Dafale vd., 2020; Zakaria vd., 2015). Bu çalışmada izole edilen *B. anthracis* OX, KF, CTX, SXT, AMP antibiyotiklerine direnç göstermiş ve *blaTEM* ve *mecA* direnç geni taşıdığı bulunmuştur. *B. anthracis* ile ilgili çalışmalar az sayıdadır. Yarasalarda yapılan bir çalışmada izole edilen *B. cereus* ve *B. anthracis*, ölüme neden olan insan patojenleri olduklarından dikkat çekici bir sonuç olarak vurgulanmıştır (Selvin vd., 2019). Aynı çalışmada *B. cereus* penisiline ve sefolosporin gurubundan Sefoksitin'e direnç gösterirken, üç adet *B. anthracis* izolatu sadece Sefoksitin'e, bir adet *B. anthracis* izolatu ise siprofloksasin (CIP) ve tetrasikline (TE) direnç göstermiştir. Farklı ortamlardan ve bir adedi insandan olmak üzere 18 adet *B. anthracis* çalışmamıza benzer olarak SXT antibiyotiğine dirençli bulunurken, çalışmamızda test ettiğimiz antibiyotiklerden C, CIP, E, DA, CN, OX ve TE’e karşı duyarlı olduğu görülmüştür (Luna vd., 2007).

Bu çalışmada ançüez izolatu *Carnobacterium maltaromaticum* 11 adet antibiyotiğe (K, S, OX, CN, NA, E, DA, KF, CRO, CTX, AMP) direnç göstermiş ve *blaTEM*, *strA*, *strB*, *mecA* genlerini taşıdığı bulunmuştur. Daha önce pişmiş ve soyulmuş modifiye atmosfer paketlenmiş karideslerde bozulma kokularının gelişimi, *C. maltaromaticum* 'un tek başına ortamda üretilmesiyle doğrulanmış ve bozulmuş karideste gelişen klor benzeri aromaya neden olmuştur (Mejlholm vd., 2005). Bir başka çalışmada, %20-30 tuzlu *Jeotgal* ürününden de *Carnobacterium* izole edilmiş olmakla birlikte tam olarak türü

tanımlanamamış ve antibiyotik dirençliliği bilgisi rapor edilmemiştir (Guan vd., 2011). Öndeki çalışmada gıdalardan izole *Carnobacterium* suşlarının tetrasiklin direnci ile ilişkili *tetM* ve *tetS* genlerini taşıdıkları rapor edilmiştir (Li ve Wang, 2010).

*Chryseobacterium* türleri gram negatif, aerobik basillerdir ve 5-30° C arasında gelişmekle birlikte insanlardan izole edilen suşlar 37°C'de kolayca üremektedirler (Wisplinghoff, 2017). Bu cinse ait bakteri türleri toprak, su ve çeşitli gıdalarda bulunmakta ve yeterli klorlamaya rağmen belediye su kaynaklarından da izolasyonu söz konusudur (Steinberg ve Burd 2015). Hastane ortamından da izole edilebilen *Chryseobacterium* türleri birden fazla organa yayılabilir ve sonuçta septisemiye neden olabilir. Bazı türlerin sinir sistemini etkilediği de bilinmektedir (O'Rourke ve Rosenbaum 2015). *Chryseobacterium* enfeksiyonunun belirtileri; septisemiye benzer ve kilo kaybı, ödem, asit, peteşi, nefes darlığı, üveit, kornea ödemi, koordinasyon bozukluğu veya ani ölümü içerebilir (O'Rourke ve Rosenbaum 2015).

*Chryseobacterium* türlerinin, Avrupa da kültür veya yabani balık türlerinde en sık rastlanan bakteriler arasında olduğu bilinmektedir (Parlapani vd., 2021). Bu çalışmada balıkçıda ve markette satışa sunulan ançüz ürünlerinden izole edilen *Chryseobacterium* türlerinden biri OX, VA, KF, DA ve diğeri ise K, OX, C, KF, CRO, CTX, AMP antibiyotiklerine dirençli bulunmuştur. Ayrıca, izolaların sırasıyla *blaTEM*, *msrA*, *mecA* ve *blaTEM*, *blaZ*, *mecA* genlerini taşıdıkları tespit edilmiştir. Bu bakteri türünün gıdalarda varlığı her ne kadar bilinse de antibiyotik dirençlilikleri ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Gökkuşluğu alabalığı filetolarında yapılan bir çalışmada *Chryseobacterium* (27,14%) bakteri türlerinin, Bacteroidetes içerisinde yüksek oranda bulunduğu bir çiftlikte tetrasiklin dirençliliği ile ilişkili *tetM*, çoklu antibiyotik dirençliliği ile ilişkili *mdtE* veya *msrA* genlerinin varlığı rapor edilmiştir (Helsens vd., 2020). Aynı çalışmada, filetolarda antibiyotik kalıntısına da bakılmış ve 73 farklı antibiyotik kalıntısından yalnızca oksitetrasiklin kalıntıları tespit edilmiştir (Helsens vd., 2020). Ancak, önceki çalışmalarda su ürünlerinden izole *Chryseobacterium* türlerinin *blaTEM* veya *blaZ* genlerini taşıdıkları ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bununla birlikte şiddetli bir hepatit B hastasından alınan balgamda, *Chryseobacterium meningoseptikum* izolatının piperasilin, aztreonam, seftazidim, sefepim, sefotaksim, sefoksitin, meropenem, imipenem, nitrofurantoin,

gentamisin ve amikasinine dirençli ve *blaTEM*, *blaGOB* ve *ant(3'')-I* genlerini taşıdığı rapor edilmiştir (Su ve Ming, 2010).

*Chryseobacterium indologenes* türü çoklu antibiyotik dirençliliğine sahip fırsatçı nozokomiyal patojen, yenidoğanlarda ve bağışıklığı baskılanmış hastalarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Brezilya'da *Chryseobacterium indologenes* yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatan bir bebeğin beyin omurilik sıvısından izole edilmiştir. Fenotipik olarak piperasilin-tazobaktam, sefuroksimeaksetil, sefoksitin, seftazidim, seftriakson, sefepim, siprofloksasin antibiyotiklerine ve genotipik olarak ise  $\beta$ -laktamazlar (*blaIND-13*, *blaCIA-3*, *blaTEM-116*, *blaOXA-209*, *blaVEB-15*), kinolon (*mcbG*), tigesiklin (*tet(X6)*), aminoglikozidler (RanA/RanB) ve kolistin (*HlyD/TolC*) ile ilişkili genleri taşıdığı bildirilmiştir (Damas vd., 2022).

*Kocuria* türleri memelilerin derileri, kuşlar, süt, süt ürünleri, su ürünleri, çeşitli kökenlerden fermente edilmiş ve fermente edilmemiş et ürünleri gibi çeşitli ortamlardan izole edilmiştir (Ramos vd., 2021). Daha önce üç yaşındaki bir çocukta kan dolaşımı enfeksiyonuna neden olduğuyla ilgili bir rapor da bulunmaktadır (Moissenet vd., 2012). Bu çalışmada *Kocuria rhizophila* izolatının sadece aminoglikosit grubu antibiyotiklere (K, S ve CN) karşı direnç gösterdiği ve *mecA* direnç genini taşıdığı tespit edilmiştir. *Kocuria* türleri daha önce yüksek tuzlu fermente bir yemek olan Jeotgal'dan da izole edilmiştir (Guan vd., 2011). Ayrıca, çoklu antibiyotik dirençliliğine sahip izolatların süt ve süt ürünlerinde yer aldığı bildirilmiştir (Ramos vd., 2021). Bu çalışmada literatürde ilk defa *Kocuria rhizophila* türünün *mecA* geni taşıdığı tespit edilmiştir. Bilindiği gibi *mecA* geni normalde metisilin dirençli *Staphylococcus* türlerinde bulunan bir gendir. Ancak, yapılan çalışmalar farklı bakterilerin de bu geni taşıdığını ortaya koymuştur (Seyedmonir vd., 2015).

#### **4.2. Lakerda Örneklerinden İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliği**

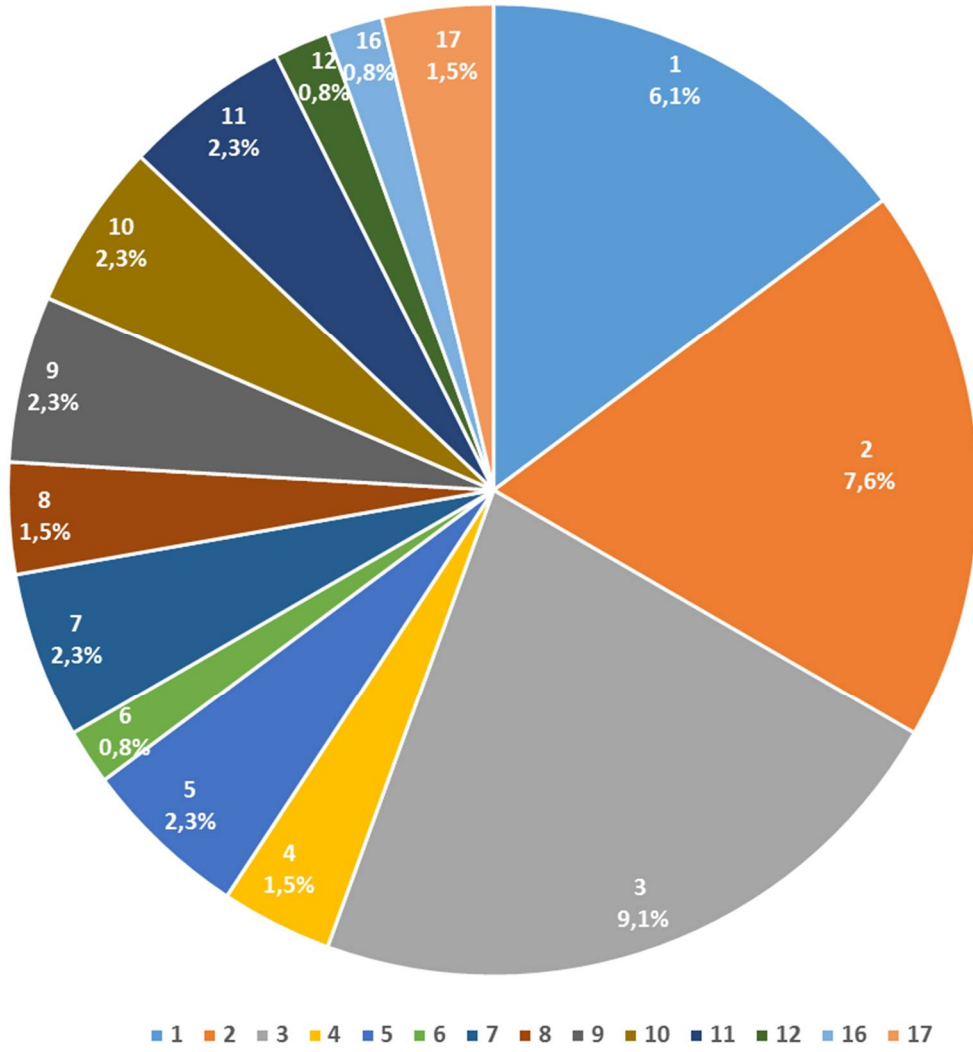
Bu çalışmada lakerda örneklerinden toplam 132 adet bakteri izole edilmiştir. Bu bakterilerin % 59,09'u test edilen 19 farklı antibiyotikten herhangi birine karşı direnç göstermezken %40,91'i en az bir antibiyotiğe direnç göstermiştir (Şekil18). Bakteri izolatları arasından %27.27 si üç ve üzeri antibiyotiğe dirençli bulunmuştur (Şekil 19).



İzole edilen bakteriler arasından gen bankası kayıtları ile benzerlik oranları yüksek olan ve kesin tür teşhisi yapılabilen 14 bakteri izolatu çalışmada kullanılmıştır (Tablo 5). Balıkçılardan elde edilen lakerda örneklerinde fenotipik olarak çoklu antibiyotik dirençliliği gösteren bakteriler arasında *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus pasteurii* ve *Staphylococcus equorum* türleri izole edilmiştir (Tablo 5). Su ürünleri işletmelerinden satışı sunulan lakerda örneklerinde ise *Carnobacterium maltaromaticum*, *Carnobacterium mobile*, *Vibrio hibernica* ve *Vibrio rumoiensis* türleri izole edilmiştir (Tablo 3). Bakteri izolatlarının %71,43'ü nün MAR indekslerinin 0,2 den büyük olduğu bulunmuştur. Bu durum tüketime hazır lakerda örneklerinin riskli olduğunun bir göstergesidir.



Şekil 18. Lakerda örneklerinin antibiyogram test sonuçları (temsili).



Şekil 19. Lakerda örneklerinden izole edilen 54 izolatın antibiyotik direnç oranları (%).

Tablo 5

Lakerda örneklerinde saptanan bakterilerin fenotipik ve genotipik antibiyotik direnç profilleri

Firma	Bakteri	N Fenotipik	Genotipik	MAR indeksi
A	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1 OX, NA, VA, E, DA, C, KF, CRO, TE, CTX, AMC, SXT, AMP	<i>blaTEM, qnrB, qnrS, blaZ, msrA</i>	0,68
B	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1 K, S, CN	<i>mecA</i>	0,16
B	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1 K, S, OX, CIP, NA, VA, E, DA, DO, IPM, C, KF, CRO, TE, CTX, AMC, SXT	<i>blaTEM, tetK, dfrD, blaZ, msrA, msrB, mecA</i>	0,89
A	<i>Staphylococcus equorum</i>	1 K, S, NA	<i>mecA</i>	0,16
C	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	2 K, S, OX, CN, CIP, KF, CRO, NA, DA, CTX, AMP	<i>blaTEM, mecA</i>	0,58
D	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	3 K, S, OX, CN, NA, E, DA, KF, CRO, CTX, AMP	<i>blaTEM, qnrA, qnrB, qnrS, strA-strB, aphAI-IAB, mecA</i>	0,58
E	<i>Carnobacterium mobile</i>	1 K, S, OX, CIP, NA, VA, E, DO, DA, IPM, C, KF, CRO, TE, CTX, AMC, SXT, AMP	<i>blaTEM, blaZ, msrA, dfrD, mecA</i>	0,95
F	<i>Vibrio hibernica</i>	2 OX, KF, VA	<i>blaTEM, blaZ, mecA, VanA</i>	0,16
F	<i>Vibrio rumoiensis</i>	2 K, S, VA	-	0,16

A, B ve E: Balıkçı örnekleri

C, D ve F: Su ürünleri işletmeleri

*Pseudomonas fluorescens* yemeye hazır gıdaların düzenli bir kontaminantı olup süt, süt ürünleri, balık, tavuk, biftek, sebze ve benzeri birçok üründen daha önce izole edilmiştir (Kumar vd., 2019). *P. fluorescens*'in buzlu balıklardaki spesifik bozulmadan sorumlu olduğu yaygın olarak bilinmektedir (Zhao vd., 2016). Bu bakteri genellikle insanlarda bakteriyel bir patojen olarak kabul edilmese de bazı doku ve organlardan izole edildiği ve bazı hastalıklar ile ilişkilendirildiği görülmüştür (Gershman vd., 2008; Scales vd., 2014; Liu vd., 2021; Edwards vd., 2022).

Bu çalışmada *P. fluorescens* izolatının 13 farklı antibiyotiğe (OX, NA, VA, E, DA, C, KF, CRO, TE, CTX, AMC, SXT, AMP) dirençli olduğu belirlenmiştir. *Pseudomonas* spp. nin  $\beta$ -laktam antibiyotiklere direnci esas olarak penisilin (1., 2. ve 3. nesiller) ve sefalosporin (sefotaksim vb.) gibi Genişletilmiş Spektrumlu Beta-laktamazlara (ESBLs) atfedilir (Algammal vd., 2020). Lakerdadan izole *P. fluorescens* 'in ESBLs (*blaTEM*, *blaZ*), plazmid-aracılı quinolon (*qnrB*, *qnrS*), ve linkosamides (*msrA*) grupları ile ilişkili direnç genlerini taşıdığı bulunmuştur. Önceki araştırmalarda *P. fluorescens* 'in havadan izole suşlarında *blaTEM* (Wang vd., 2022) ve tatlı su da üretim yapan balık çiftliklerinden izole suşlarında *qnrS* (Sherif vd., 2021) genlerini taşıdıkları rapor edilmiştir. Ancak, *P. fluorescens* 'in *blaZ* ve *msrA* genlerini bulundurmasıyla ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Norveç'te somon işleme firmasından gıda (fileto, deri ve solungaçlar vb.) ile temashlı veya temassız (drenaj kesim ve drenaj filetolama bölümü) yüzeylerden alınan örneklerde 222 adet *Pseudomonas* sp. izole edilmiş ve %86'sı çoklu antibiyotik dirençliliği göstermiştir (Thomassen vd., 2022). Bu izolatlarda fenotipik olarak amikacin ve tobramycin dirençliliği bulunmamaktadır. Buna karşın izolatların; amfisilin, amoksilin, okzolinik asit, florfenikol, sefalosporin, sefotaksim, sefriakson, siprofloksazin antibiyotiklerine karşı dirençli oldukları ve genotipik olarak *adeF*, *soxR*, *AbaQ* genlerini taşıdıkları bildirilmiştir (Thomassen vd., 2022).

Rodrigues vd., (2003) farklı yöntemlerle üretilmiş tuzlu morina balıklarından izole edilen gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus* türlerinin, gram negatif bakterilerden ise *Pseudomonas fluorescens* 'in yoğun olduğunu rapor etmişlerdir. Ancak, tuzlu gıda ürünlerinden izole edilen *P. fluorescens* 'in antibiyotik dirençliliği ile ilgili çalışmalar

kısıtlıdır. Levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve karides (*Philocheras trispinosus*) ten izole edilen *Pseudomonas* sp. türlerinin ampisilin (%100), oksitetrasiklin (%33,3), amoksisilin-klavulanik asit (%100), trimetoprim/sulfametoksazol (%66,6), florfenikol (%66,6), sulfametoksazol (%66,6) ve eritromisin (%100) e dirençli oldukları rapor edilmiştir (Güngör vd., 2021).

*Staphylococcus* cinsindeki bakteriler memelilerde ve diğer birçok canlı türünde patojendirler (Foster, 1996). Bu çalışmada üç farklı *Staphylococcus* türü arasından *S. haemolyticus* özellikle hastanede yatan hastalarda ve tıbbi implantları olanlarda olmak üzere bağışıklığı baskılanmış hastalarda fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Komensal olarak deride yaşayan koagülaz negatif stafilokoklardan biridir (Czekaj vd., 2015; Eltwisy vd., 2020). Yapılan önceki çalışmalarda; fermente gıdalar, insanlar, köpekler, kediler, keçiler, atlar, böcekçiller, maymunlar, domuzlar, kemirgenler ve koyunlardan izole edilmiştir (Becker vd., 2014). Lakerdadan izole *S. haemolyticus* suşunun 17 farklı antibiyotiğe (K, S, OX, CIP, NA, VA, E, DA, DO, IPM, C, KF, CRO, TE, CTX, AMC, SXT) dirençli olduğu ve ESBLs (*blaTEM*, *blaZ*), linkosamidler (*msrA*, *msrB*), metisilin (*mecA*), tetrasiklin (*tetK*) ve folat yolu inhibitörleri (*dfpD*) ile ilişkili genleri taşıdığı bulunmuştur. Benzer olarak, Regecová vd., (2014) donmuş Atlantic herring etinde izole ettikleri *S. haemolyticus*'un eritromisin, oksasilin ve amfisilin antibiyotiklerine direnç gösterdiklerini rapor etmişlerdir. Balık etinden izole *S. haemolyticus* izolatları amfisilin, oksasilin, tetrasiklin ve gentasimin'e karşı direnç göstermiştir (Hammad vd., 2012). Chajęcka-Wierzchowska vd., (2023) bar ve restoranlardan aldıkları tüketime hazır gıdalar içerisinde balık tartardan izole ettikleri *S. haemolyticus* izolatları fenotipik olarak gentamisin, klindamisin, eritromisin, sefoksitin, fusidik asit, norfloksasin, penisilin, tetrasiklin ve kinupristin/dalfopristin dirençli iken, genotipik olarak *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, *blaZ*, *ermA*, *ermB*, *mecA*, *msr(A/B)* ve *tetK* genlerini taşıdıklarını bildirmişlerdir.

*Staphylococcus pasteurii*, Fransız mikrobiyolog Louis Pasteur'un adını taşıyan koagülaz negatif, hareketsiz ve sarı görümlü bir bakteridir (Chesneau vd., 1993). Bakteri yaygın bir cilt florası türü olmamakla birlikte, insanlarda ender olarak farklı hastalıklar ile ilişkili raporlarda yer almıştır (Morfin-Otero vd., 2012; Petti vd., 2008; Ramnarain vd., 2019; Sánchez vd., 2013; Savini vd., 2009a; Savini vd., 2008; Savini vd., 2009b). *S. pasteurii* keçi sütü (Chesneau vd., 1993), İtalyan sosisleri (Rantsiou vd., 2005), içme suyu

(Faria vd., 2009), deniz balıklarının etinde (Böhme vd., 2013; Regecová vd., 2014) ve perakende sığır eti (Bhargava vd., 2014) gibi birçok gıdadan izole edilmiştir.

Bu çalışmada lakerda örneklerinden izole edilen *Staphylococcus pasteurii* K, S ve CN antibiyotiklerine karşı dirençli bulunurken *mecA* geni taşıdığı belirlenmiştir. Kore yemeklerinden olan ve çeşitli su ürünleri (balık, karides, istiridye, deniz tarağı ve havyar) ile yapılabilen yüksek tuzlu fermente bir yemek olan Jeotgal'dan izole edilen *S. pasteurii* türünün linezolid, penisilin ve trimetoprim antibiyotiklerine karşı dirençli ve trimetoprim direnci ile ilişkili *dfrA* geni taşıdığı görülmüştür (Jeong ve Lee 2015). Benzer olarak, bar ve restoranlarda tüketime hazır gıdalardan (örneğin hamburgerler, peynirler, meyve suları, suşi, salatalar, sandviçler, et ve balık tartarları) izole edilen *S. pasteurii* izolatları gentamisin, klindamisin, eritromisin, sefoksitin, fusidik asit, penisilin, kinupristin/dalfopristin ve rifampisin'e karşı dirençli ve *blaZ*, *ermA*, *ermB*, *mecA*, *msr(A/B)*, *tetK*, ve *tetM* genlerini taşıdıkları bildirilmiştir (Chajęcka-Wierzchowska vd., 2023).

*Staphylococcus equorum* fermente gıdalardan, bakteriyel yüzey olgunlaştırılmalı peynirlerden, sığır, keçi, at, koyun gibi hayvanlardan izole edilmiş koagülaz negatif stafilokoklardan biridir (Becker vd., 2014). Bugüne kadar fermente gıdalar yoluyla; hiçbir stafilokok kaynaklı gıda zehirlenmesi, *S. equorum* ile ilişkilendirilmemiş ve patojenitesine dair hiçbir kanıt bildirilmemiştir. Ancak antibiyotik dirençliliği, hemolitik olabilmeleri ve sığırdan meme iltihabına karıştığından (Calcutt vd., 2013); sosis, süt ürünleri ve fermente et ürünleri için starter kültür adayları olabilmeleri için güvenlik değerlendirmesine tabi tutulmaları gerekmektedir (Heo vd., 2020; Jeong vd., 2014; Jeong vd., 2017; Lee ve Jeong 2015; Marty vd., 2012).

Bu çalışmada lakerda örneklerinden izole edilen *Staphylococcus equorum* suşu K, S ve NA antibiyotiklerine karşı direnç göstermiş ve *mecA* direnç geni taşıdığı görülmüştür. Jeotgal'dan izole edilen *S. equorum* izolatları penisilin G, eritromisin, trimetoprim, linkomisin ve kloromfenikol'e karşı dirençli olup, *lnuA* ve *pbp* direnç genlerini taşıdıkları bildirilmiştir (Jeong vd., 2014).

*Carnobacterium* doğal çevrede ve gıdalarda bulunabilen laktik asit bakterileri olup positive and negative effects hala araştırma konusudur (Evangelista vd., 2022; Leisner vd., 2007). Daha önce tuzlanmış lumpfish, soğuk tütsülenmiş somon, gravad gökkuşağı alabalığı, salamura karides, deniz ürünleri salatası ve pişmiş modifiye atmosfer ambalajlı karides gibi su ürünlerinden izole edilmiştir (Françoise, 2010). Probiyotik potansiyeli olan bir bakteri olsa da bunun için antibiyotik dirençliliğinin olmaması gerekmektedir (Evangelista vd., 2022). Ayrıca, buldukları gıdalarda tiramin üretebilmeleri nedeniyle duyarlı kişiler için zehirleyici etki gösterebilirler (Leisner vd., 1994; Leisner vd., 2007). Bu nedenle *Carnobacterium* türlerinin gıdalarda takibinin yapılması ve izole edilen suşların antibiyotik dirençliliklerinin araştırılması halk sağlığı açısından önemlidir.

Bu çalışmada lakerda örneklerinden çoklu antibiyotik dirençliliğine sahip üç farklı *Carnobacterium* suşu izole edilmiştir. İki farklı işletmeden izole edilen *Carnobacterium maltaromaticum* suşlarından biri K, S, OX, CN, CIP, KF, CRO, NA, DA, CTX, AMP diğeri ise K, S, OX, CN, NA, E, DA, KF, CRO, CTX, AMP antibiyotiklerine karşı dirençli bulunmuşlardır. Ayrıca, bir tanesinin *blaTEM* ve *mecA* direnç genlerini taşıdığı, diğeri ise *blaTEM*, *mecA*, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *strA-strB* ve *aphAI-IAB* direnç genlerini taşıdığı görülmüştür. Balık halinden alınan lakerda örneklerinde ise *Carnobacterium mobile* türü izole edilmiş olup K, S, OX, CIP, NA, VA, E, DO, DA, IPM, C, KF, CRO, TE, CTX, AMC, SXT, AMP antibiyotiklerine direnç gösterdiği ve *blaTEM*, *blaZ*, *msrA*, *mecA* ve *dfrD* direnç genlerini taşıdığı belirlenmiştir. Ayrıca üketime hazır su ürünleri içerisinde istenmeyen kokuya neden olduğundan ve antibiyotik dirençliliği ile ilgili olarak lakerda bölümünde yer alan sınırlı sayıda çalışma dışında herhangi bir bilgi mevcut değildir.

*Vibrio* türleri sucul ekosistemlerde ve gıda örneklerinde sıklıkla izole edilen bakteri türleri arasındadır (Oliver vd., 2012). Bu çalışmada su ürünleri işletmesinden alınan lakerda örneklerinden *Vibrio hibernica* ve *Vibrio rumoiensis* olmak üzere iki farklı *Vibrio* türü izole edilmiştir. Yumoto vd., (1999) *V. rumoiensis* suşunu ağartma ve mikrobiyal ajan olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanan bir balık işleme tesisinin drenaj havuzundan güçlü bir katalaz üreticisi olarak izole etmişlerdir. Su ürünleri işletmesinde üretilen lakerda örneklerinde bu türün bulunması fileto ağartılmasında hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) kullanılmış olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, *V. rumoiensis*'in histamin üreten izolatu denizel ortamdan

(Plante vd., 2008), Çin de geceden salamura edilmiş tuzlanmış balık ürününden (Tao vd., 2022) ve Sibiryada Mersin balığından (Yang vd., 2022) izole edilmiştir.

Bu çalışmada su ürünleri işletmesinden elde edilen lakerda dan izole *Vibrio rumoiensis* K, S ve VA antibiyotiklerine karşı direnç göstermiştir. Karides çiftliği yakınında su ve sediment örneklerinden izole edilen *Vibrio* türlerinin tümü en az bir antibiyotiğe karşı dirençli bulunmuş ve sediment izolatları arasında *V. rumoiensis*'in bulunduğu rapor edilmiştir (dos Santos Rocha vd., 2016). Deniz sediment izolatu *V. rumoiensis*'in ampisilin, oksitetrasiklin ve penisiline karşı dirençli olduğu bildirilmiştir (Rocha, 2011).

Woods vd. (2020) *Vibrio hibernica*'nın rumoiensis soyunun bir üyesi olduğunu öne sürmüştür. Endüstriyel bir gıda işleme bakterisi olarak önemli özellikleri vardır ve fermente gıdalardan (Woods vd., 2020) ve Yunan sofralık zeytinlerinden (Mougiou vd., 2023) izole edilmiştir. Bu çalışmada balık pazarından temin edilen lakerda dan izole edilen *V. hibernica*'nın OX, KF ve VA antibiyotiklerine dirençli olduğu ve *blaTEM*, *mecA*, *blaZ* ve *VanA* direnç genlerini taşıdığı görülmüştür. Ancak, bildiğimiz kadarıyla, lakerda izolatu *V. hibernica* için tespit ettiğimiz direnç genleri, bu bakteri türünde daha önce bildirilmemiştir.

### 4.3. Bitki Ekstraktlarının GC/MS Analiz Bulguları

Araştırmada kullanılan turunç çiçeği, karanfil ve portakal kabuğu esans yağlarının ve etanolik ekstraktları GC-MS analizi kullanılarak belirlenmiştir. Turunç çiçeği esansiyel yağında en bol bulunan komponentlerin linalool (%29,45), linalil asetat (%27,09) ve hotrienil asetat (%7,78) (Tablo 6) olduğu bulunmuştur. Öjenol (%67,06), karyofilen (%22,88), öjenol asetat (%4,22) ve D-limonen (%90,48), sırasıyla karanfil esans yağında (Tablo 7) ve portakal kabuğu esansiyel yağında (Tablo 8) ana komponentler olarak belirlenmiştir. GC-MS analiz sonuçları, karanfil etanolik ekstraktında en fazla bulunan ana komponentlerin öjenol (%65,05), palmitik asit (%16,85) ve tetradekanoik asit (%8,2) olduğu görülmüştür (Tablo 9). Linalil asetat (%26,11), L-Linalool (%12,86), palmitik asit (%8,34) ve 7-Tetradesenal, (Z)- (%8,34), turunç çiçeği etanolik ekstraktında ana komponentler olarak belirlenmiştir (Tablo 10). GC-MS analizi ile tanımlanan portakal



kabuğu etanolik ekstraktının ana komponentlerin ksantozin (%14,4), gliseraldehit (%11,87) ve dihidroksiaseton (%7,5) olduğu bulunmuştur (Tablo 11). Bu çalışmada kullanılan esansiyel yağlarda, GC-MS analizi ile tespit edilen komponentlerin literatüre benzer olduğu görölmüştür.

Diğer çalışmalarda turunç çiçeği esansiyel yağı (Anwar vd., 2016; Dugo vd., 2010), karanfil esans yağı (Goñi vd., 2009), portakal kabuğu esansiyel yağı (Waheed vd., 2020), karanfil etanolik ekstraktı (Parthasarathy vd., 2008) ve turunç çiçeği etanolik ekstraktı (Metoui vd., 2015) için GC-MS analizinde elde edilen komponentler ile bu çalışmada rapor ettiklerimiz benzerlik göstermiştir. Ancak, portakal kabuğu etanolik ekstraktı içeriğinde yüksek oranda tespit ettiğimiz ksantozin ve gliseraldehit (2,3-Dihidroksipropana) komponentlerinin literatürde aynı ekstrakt içerisindeki varlıkları ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak, farklı bitkilerde bu komponentler bulunabilmektedir (Ashihara vd., 2017; Zhang vd., 2020).

Tablo 6

## Turunç çiçeği esansiyel yağının bileşenleri

Alınma Zamanı (dak)	Bileşenleri	Alan %
11,08	beta.-Pinene	0,48
11,77	beta.-Myrcene	0,26
13,2	Limonene	0,65
13,65	2(3H)-Furanone, 5-ethenyldihydro-5-methyl-	0,26
14,97	Linalool oxide cis	4,02
16,12	Linalool	29,45
17,04	Cyclopentanol, 1,2-dimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,2.alpha.,3.alpha.)]-	0,23
18,54	6,7-Dioxabicyclo[3.2.1]octane, 1-methyl-	0,34
18,76	Epoxylinol	0,58
19,06	3-cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	0,1
19,57	Terpineol <alpha->	3,83
20,79	2-Oxabicyclo[2.2.2]octan-6-ol, 1,3,3-trimethyl-	0,18
21	Nerol	0,44
21,19	1-Cyclooctene, 3,7-epoxy-4-acetyloxy-	0,15
22,05	Linalyl acetate	27,09
22,65	3,7-Dimethyl-1,7-octadiene-3,6-diol	0,29
23,15	Isopulegyl acetate	0,32
23,7	Carvacrol	0,17
25	8-acetoxylinalool	3,12
25,1	1,7-octadien-3-ol,2,6-dimethyl-	0,13
25,42	2-Oxabicyclo[2.2.2]octan-6-ol, 1,3,3-trimethyl-, acetate	2,78
25,53	3-Nonanol, 1,2:6,7-diepoxy-3,7-dimethyl-, acetate	2,51
25,68	Ho-trienol	2,24
25,86	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (Z)-	1,13
26,23	4-Hydroxymethylene-2,6-dimethyl-oct-7-en-3-one	0,35
26,51	Geranyl acetate	3,64
26,99	3,7-Nonadien-2-ol, 4,8-dimethyl-	0,76
27,42	3,7-Dimethyl-octa-1,7-dien-3,6-diol	0,41
27,51	8-Acetoxylinalool	0,39

### Tablo 6'nin devamı

27,77	Trans(beta)-caryophyllene	0,1
27,88	s-(+)-5-(1-Hydroxy-1-methylethyl)-2-methyl-2-cyclohexen-1-one	0,22
29,69	Limonene dioxide 1	0,24
29,81	Bisabolol <alpha->	0,16
29,99	2-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, isobutyrate, (Z)-	0,39
30,11	Epoxy-.alpha.-terpenyl acetate	0,14
30,3	Hotrienyl acetate	7,78
30,72	Linalool oxide <trans->	2,86
30,93	Indan-1,3-diol monopropionate	0,51
32,32	Nerolidol	0,73
32,82	(-)-Spathulenol	0,12
35,35	Octan-2-one, 3,6-dimethyl-	0,12
36,98	Farnesol <cis,cis->	0,15
51,46	Thiogermaniol	0,11

---

Tablo 7

## Karanfil tanesi esansiyel yağının bileşenleri

Alıkonma (dak)	Zamanı	Bileşenleri	Alan %
5,07		1-Octadecanol	0,08
13,89		4-Octanol, 7-methyl-, acetate	0,12
15,8		Heptyl methyl ketone	0,06
16,75		1,5-Heptadiene, 3,3-dimethyl-, (E)-	0,11
18,57		Benzyl acetate	0,06
19,68		Benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	0,31
21,98		Chavicol	0,24
25,37		alpha.-Cubebene	0,26
25,8		Eugenol	67,06
26,31		Copaene <alpha->	0,7
27,82		Caryophyllene	22,88
28,79		cis-muurolo-3,5-diene	0,06
28,9		alpha.-Humulene	2,95
29,54		Cadina-1(6),4-diene <10betaH->	0,17
29,64		alpha.-Amorphene	0,09
30,24		alpha.-selinene	0,06
30,61		Farnesene <(E,E)-, alpha->	0,15
31,2		Eugenol acetate	4,22
31,41		Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	0,18
32,04		Cyclohexane, (1.alpha.,2.alpha.,3.alpha.,5.alpha.)- 1,5-diethenyl-2,3-dimethyl-,	0,05
33,01		Caryophyllene oxide	0,2

Tablo 8

## Portakal kabuğu esansiyel yağının bileşenleri

Alıkonma Zamanı (dak)	Bileşenleri	Alan %
9,43	Alpha pinene	0,54
11	Sabinene	0,17
11,77	Myrcene	2,28
12,23	Caprylaldehyde	0,98
12,45	Carene <delta-3->	0,13
13,28	D-Limonene	90,48
14,42	gamma.-Terpinene	0,11
16,08	Linalool	1,92
16,26	Pelargonaldehyde	0,12
19,05	(-)-Terpinen-4-ol	0,51
19,57	Terpineol <alpha->	0,55
20,15	Decanal	0,68
21,02	Citronellol	0,14
21,46	Z-Citral	0,14
22,55	Geranial	0,18
22,65	Perillaldehyde	0,13
30,18	Valencene	0,66
50,41	Nonacosane	0,14
51,22	Pentacosane	0,15

Tablo 9

## Karanfil tanesi etanolik ekstraktının bileşenleri

Alınma Zamanı (dak)	Bileşenleri	Alan %
5,19	1,1-Diethoxypropanal	2,53
17,82	2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	0,34
19,06	Caprylic acid	0,45
24,12	2-Methoxy-4-vinylphenol	0,18
25,64	Eugenol	65,05
25,99	Capric acid	1,05
31,22	Eugenol acetate	1,62
32,29	Lauric acid	2,65
38,05	Tetradecanoic acid	8,2
39,47	2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-tetracos-2,10,14,18,22-pentaene-6,7-diol	0,38
40,76	Pentadecanoic acid	0,37
41,23	4,4,8-Trimethyltricyclo[6.3.1.0(1,5)]dodecane-2,9-diol	0,33
43,33	Palmitic acid	16,85

Tablo 10

## Turunç çiçeği etanolik ekstraktının bileşenleri

Alınma Zamanı (dak)	Bileşenleri	Alan %
5,73	Glyceraldehyde	0,96
6,06	Formamide, N-methoxy-	0,29
7,58	Propanoic acid, 2-methyl-, methyl ester	0,48
7,89	Dihydroxyacetone	1,21
11,75	2-Hydroxy-gamma-butyrolactone	0,23
11,88	Propanoic acid	0,58
13,36	2 Ethyl hexanol	7,16
13,83	Benzeneacetaldehyde	0,22
14,1	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)- (	0,3
15,33	1,3,5-Triazine-2,4,6-triamine	0,84
16,14	L-Linalool	12,86
16,61	Phenethyl alcohol	0,42
17,58	Benzyl nitrile	0,62
17,73	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	1,68
19,98	Dodecane	0,36
21,5	1,2,3-Propanetriol, 1-acetate	2,79
21,84	Acetate, 2-hydroxy-2-(3-chloro-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)-, ethyl ester	0,92
21,93	2-Phenylethanamide	0,4
22,07	Linalyl acetate	26,11
22,68	2,6-Dimethyl-1,7-octadiene-3,6-diol	0,34
23,37	Indole	0,64
24,1	Guaiacol <4-vinyl->	0,28
24,95	3-Methyl-hepta-1,6-dien-3-ol	0,57
25,05	Methylantranilate	0,46
25,12	9-Hydroxy-linalool	2,66
25,95	Decanoic acid	0,74
27,07	Tetradecane	0,88

Tablo 10'nun devamı

27,8	Trans(.beta.)-caryophyllene	0,33
28,97	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-, [S-(Z)]-	0,25
30,2	Pentylallyl butyrate	1,65
32,28	Dodecanoic acid	0,3
32,35	Nerolidol	1,34
33,41	Hexadecane	0,62
33,72	Quinic acid	1,7
37,01	Farnesol <cis,cis->	0,42
38,04	Tetradecanoic acid	1,4
39,12	Hexadecane	0,31
40,39	Caffeine	0,8
41,89	Xycaine	0,38
42,45	2-Propanamine, 1-(2,6-dimethylphenoxy)-	0,48
43,36	Palmitic acid	8,34
44,17	Hexadecanoic acid, ethyl ester	0,47
45,8	7H-Furo[3,2-g][1]benzopyran-7-one, 4-methoxy-	0,29
47,52	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	3,73
47,66	7-Tetradecenal, (Z)-	8,34
48,18	Octadecanoic acid	2,54
48,33	9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)-	0,36
51,25	Pentacosane	0,27
52,6	9-Octadecenamide	0,68



Tablo 11

Portakal kabuğu etanolik ekstraktının bileşenleri

<b>Ablkonma (dak)</b>	<b>Zamanı</b>	<b>Bileşenleri</b>	<b>Alan %</b>
5,16		Pyrrolidine-.alpha.,.alpha.,.alpha.',.alpha.'-d4	0,45
5,65		Glyceraldehyde	11,87
6,05		Formamide, N-methoxy-	1,7
7,58		Propanoic acid, 2-methyl-, methyl ester	2,02
7,93		Dihydroxyacetone	7,5
9,19		2-Hydroxy-2-cyclopenten-1-one	0,39
11,76		3-Isopropoxypropylamine	0,56
13,25		Limonene	2,18
14,05		Pentanoic acid, 4-oxo-	0,23
15,28		Maltyl isobutyrate	0,77
16,13		Linalool	0,43
17,73		4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	2,21
18,01		1,2-Dioxetane, 3,4,4-trimethyl-3- [[trimethylsilyl]oxy]methyl]-	2,73
18,11		1,2,3-Propanetriol	0,74
18,15		2,5-Dihydroxy-1,4-dioxane	2,36
18,32		dl-Glyceraldehyde dimer	0,85
19,58		Ethanol, 2-(2-butoxyethoxy)-	6,16
21,5		1,2,3-Propanetriol, monoacetate	4,83
24,11		Guaiacol <4-vinyl->	0,35
25,95		Decanoic acid	0,25
28,3		Cytidine	2,54

Tablo 11'in devamı

28,47	Xanthosine	14,4
30,21	Valencene	0,52
32,27	Lauric acid	0,34
32,41	Acetophenone <3',4'-dimethoxy->	0,67
33,24	3-Deoxy-d-mannonic lactone	5,78
33,64	Quinic acid	0,96
34,07	beta.-D-Glucopyranoside, methyl	3,05
34,26	Megastigmatrienone 4	0,5
34,79	beta.-D-Glucopyranose, 4-O-.beta.-D-galactopyranosyl	0,57
36,14	N-Ethyl-4-propyl-4-nonanamine	0,36
38,03	Tetradecanoic acid	1,43
38,55	1,3-Propanediol, 2-butyl-2-ethyl-	0,72
41,9	Xycaine	0,7
43,32	Palmitic acid	4,4
47,87	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	1,03
47,62	7-Tetradecenal, (Z)-	2,92
48,16	Octadecanoic acid	1,03
48,35	Ethyl linoleolate	0,25
48,57	Hexadecanamide	0,41
50,44	Nonacosane	0,66
51,25	Eicosane	0,24
52,61	9-Octadecenamide	2,13

---

#### **4.4. Antimikrobiyal duyarlılık test bulguları**

Bu çalışmada, turunç çiçeği, karanfil tanesi ve portakal kabuğu esansiyel yağları ve etanolik ekstraktların ançüz (Tablo 12) ve lakerda (Tablo 13) örneklerinden izole edilen bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkileri; disk difüzyon testi ile belirlenmiştir. Disk difüzyon testi sonuçları incelendiğinde; esansiyel yağların, etanolik ekstraktlardan daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Esansiyel yağların bakteriler üzerindeki en etkili sonuçları; turunç çiçeği ve karanfil tanesi olmuştur. Bu nedenle minimum bakterisidal konsantrasyonu testi için bu iki esansiyel yağ kullanılmıştır.



Tablo 12

Bitki ekstraktlarının ançüezden izole edilen bakteriler üzerine disk difüzyon test sonuçları  
(zon: disk boyutu dahil mm)

Bakteri	Esansiyel yağ			Ethanolik ekstrakt		
	Turunç çiçeği	Karanfil	Portakal kabuğu	Turunç çiçeği	Karanfil	Portakal kabuğu
<i>Bacillus cereus</i>	36	36	16	8	10	8
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	20	14	0	0	14	0
<i>Bacillus sp.</i>	46	26	20	0	12	0
<i>Bacillus anthracis</i>	30	26	12	8	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	28	30	8	0	22	0
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	26	22	8	0	14	0
<i>Psychrobacter faecalis</i>	46	30	16	0	12	0
<i>Psychrobacter sp.</i>	8	14	0	0	14	0
<i>Chryseobacterium carnipullorum</i>	50	46	30	10	14	20
<i>Kocuria rhizophila</i>	20	20	0	0	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	46	44	0	0	14	0

Tablo 13

Bitki ekstraktlarının lakerda dan izole edilen bakteriler üzerine disk difüzyon test sonuçları  
(zon: disk boyutu dahil mm)

Bakteri	İzolat no	Esansiyel yağ			Etanolik ekstrakt		
		Turunç çiçeği	Karanfil	Portakal kabuğu	Turunç çiçeği	Karanfil	Portakal kabuğu
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	12	20	0	0	16	0
<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1	40	24	0	0	12	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	18	18	0	0	10	0
<i>Staphylococcus equorum</i>	1	36	40	16	14	16	0
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	1	20	18	0	0	0	0
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	2	21	19	0	0	0	0
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	1	32	34	0	0	14	0
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	2	30	32	0	0	15	0
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	3	32	32	0	0	16	0
<i>Carnobacterium mobile</i>	1	10	12	0	0	0	0
<i>Vibrio hibernica</i>	1	36	34	16	0	18	0
<i>Vibrio hibernica</i>	2	34	32	18	0	18	0
<i>Vibrio rumoiensis</i>	1	38	32	14	0	18	0
<i>Vibrio rumoiensis</i>	2	36	30	16	0	19	0

Ançüz ürünlerinden izole edilen bakterilerin Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) testi sonuçları Tablo 7'de gösterilmiştir. Turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağlarının ançüz ürünlerinden

izole edilen bakteriler üzerinde genel olarak inhibe edici etkisi olduğu bulunmuştur. Minimum inhibisyon konsantrasyonu bulgularına baktığımızda turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağlarının test edilen bakteriler üzerinde %0,00488-%0,625 konsantrasyonlarda etkili olduğu görülmüştür. Minimum bakterisidal konsantrasyonu bulgularına baktığımızda ise bu iki esansiyel yağın aynı bakteriler üzerinde %0,019531-%2,5 konsantrasyonlarda etkili olduğu tespit edilmiştir. Esansiyel yağlar en yüksek inhibisyon etkisini *Chryseobacterium carnipullorum* üzerinde göstermiştir. Bu tür üzerinde %0,00488 ve %0,03906 konsantrasyonlar ile sırasıyla turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağları etkili bulunmuştur. En az etki %0,625 konsantrasyon ile karanfil esans yağında *Staphylococcus haemolyticus* bakterisine karşı tespit edilmiştir. Ancak, turunç çiçeği esansiyel yağı bu bakteri üzerinde %0,07813 konsantrasyon ile daha güçlü bir inhibisyon sağlamıştır.

Tablo 14

Bitki esansiyel yağlarının ançüzden izole edilen bakteriler üzerine minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) testi sonuçları (%)

Bakteri	MİK		MBK	
	Turunç çiçeği Esansiyel yağı	Karanfil Esansiyel yağı	Turunç çiçeği Esansiyel yağı	Karanfil Esansiyel yağı
<i>Psychrobacter faecalis</i>	0,01953	0,3125	0,078125	0,625
<i>Psychrobacter sp.</i>	0,07813	0,3125	0,3125	0,3125
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,07813	0,3125	0,3125	1,25
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,07813	0,15625	0,07813	0,15625
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0,07813	0,625	0,3125	2,5
<i>Bacillus cereus</i>	0,07813	0,15625	0,3125	0,625
<i>Bacillus sp.</i>	0,15625	0,07813	0,15625	0,3125
<i>Bacillus anthracis</i>	0,15625	0,3125	0,625	1,25
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	0,07813	0,15625	0,3125	0,625
<i>Kocuria rhizophila</i>	0,15625	0,00977	0,3125	0,01953
<i>Chryseobacterium sp.</i>	0,00977	0,00977	0,039063	0,039063
<i>Chryseobacterium carnipullorum</i>	0,00488	0,03906	0,019531	0,15625

Lakerda örneklerinde Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) testi sonuçları Tablo 14'de gösterilmiştir. Turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağlarının test edilen bakteriler üzerinde genel olarak inhibe edici etkisi olduğu bulunmuştur. Minimum inhibisyon konsantrasyonu bulgularına baktığımızda turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağlarının test edilen bakteriler üzerinde %0,00488-%1,25 konsantrasyonlarda etkili olduğu görülmüştür. Minimum bakterisidal konsantrasyonu bulgularına baktığımızda ise bu iki esansiyel yağın aynı bakteriler üzerinde %0,01953-%2,5 konsantrasyonlarda etkili olduğu tespit edilmiştir. Esansiyel yağlar en yüksek inhibisyon etkisini *Carnobacterium mobile* üzerinde göstermiştir. Bu tür üzerinde %0,00977 ve %0,00488 konsantrasyonlar ile sırasıyla turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağları etkili bulunmuştur. En az etki %1,25 konsantrasyon ile karanfil esans yağında *Staphylococcus pasteurii* bakterisine karşı tespit edilmiştir. Ancak, turunç çiçeği esansiyel yağı bu bakteri üzerinde %0,3125 konsantrasyon ile daha güçlü bir inhibisyon sağlamıştır.



Tablo 15.

Bitki esansiyel yağlarının lakerdadan izole edilen bakteriler üzerine minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) testi sonuçları (%)

Bakteri	MİK		MBK	
	Turunç çiçeği Esansiyel yağı	Karanfil Esansiyel yağı	Turunç çiçeği Esansiyel yağı	Karanfil Esansiyel yağı
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,3125	0,625	0,625	1,25
<i>Staphylococcus pasteurii</i>	0,3125	1,25	0,625	2,5
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0,07813	0,625	0,15625	1,25
<i>Staphylococcus equorum</i>	0,07813	0,15625	0,3125	0,3125
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	0,3125	0,07813	0,625	0,15625
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	0,15625	0,15625	0,3125	0,3125
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	0,07813	0,07813	0,15625	0,15625
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	0,3125	0,15625	0,625	0,3125
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	0,3125	0,3125	0,625	0,625
<i>Carnobacterium mobile</i>	0,00977	0,00488	0,03906	0,01953
<i>Vibrio hibernica</i>	0,3125	0,07813	0,3125	0,07813
<i>Vibrio hibernica</i>	0,03906	0,03906	0,03906	0,15625
<i>Vibrio rumoiensis</i>	0,01953	0,07813	0,01953	0,07813
<i>Vibrio rumoiensis</i>	0,03906	0,15625	0,03906	0,15625

Bu çalışmada turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağları test edilen mikroorganizmalar üzerinde en etkili ekstraktlar olarak belirlenmiştir (Tablo 15). Turunç çiçeği esansiyel yağının daha önce *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherchia coli*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterileri üzerinde antimikrobiyal etkileri araştırılmış ve *P. aeruginosa* üzerinde güçlü inhibisyona sahip olduğu bildirilmiştir (Haj Ammar vd., 2012). Degirmenci ve Erkurt (2020) turunç çiçeğinden farklı çözümler (su, metanol ve etil asetat) kullanarak elde ettikleri ekstraktları *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes* ve *Salmonella Typhimurium* bakterilerini inhibe etmek için denemeler ve metanolik ekstraktın en etkili çözümler olduğunu bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar test edilen dört farklı bakteri için MİK ve MBK değerlerinin 0,39-25 mg/mL aralığında olduğunu bulmuşlardır. Farklı bir çalışmada gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerinde turunç yağının MİK değerlerinin 2,5-0,312 mg/mL aralığında olduğu rapor edilmiştir (Hsouna vd., 2013).

Radünz vd. (2019) karanfil esansiyel yağının *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes* ve *Salmonella Typhimurium* için disk difüzyon test sonuçlarını sırasıyla 2,83 cm, 2,81 cm, 2,47 cm ve 2,22 cm olarak bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar MİK değerini test edilen dört bakteri için 0,304 mg/mL olarak bulmuşlardır. Bu çalışma da karanfil tanesi esansiyel yağının üç farklı *Staphylococcus* türü üzerinde elde ettiğimiz 24-40 mm (2,4-4 cm) çap ölçümlerinin ve 0,15625-1,25% MİK değerlerinin benzer olduğu söylenebilir.

Farklı narenciye (limon, portakal, mandalina, turunç ve greyfurt) türlerinden elde edilen esansiyel yağların içlerinde *Pseudomonas fluorescens* ve *Staphylococcus haemolyticus* bakterilerinin de bulunduğu farklı gram negatif ve gram pozitif bakteriler üzerine antimikrobiyal etkisi araştırılmış ve MBK değerlerinin *P. fluorescens* için 40-50 µl/ml ve *S. haemolyticus* için ise 40-150 µl/ml olduğu belirlenmiştir (Al-Deen vd., 2021). Ancak, çalışmamızda portakal kabuğu disk difüzyon testinde bu iki bakteri türü üzerinde etkisiz olduğundan esansiyel yağının MİK ve MBK testlerine devam edilmemiştir. Çalışmalar arasındaki farklılıklar bakteri izolatlarının menşesindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Önceki çalışmalarda turunç çiçeği esansiyel yağının *Carnobacterium* türleri üzerinde antimikrobiyal etkisi ile ilgili bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Ouattara vd. (1997) *Carnobacterium piscicola* bakterisinin inhibisyonu için karanfil esansiyel yağının %1 lik konsantrasyonunun yeterli olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada altı farklı *Carnobacterium* izolatu üzerine turunç çiçeği ve karanfil esansiyel yağlarının etkisi araştırılmıştır. Bulunan MİK değerlerimizin literatüre göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Farklı bir çalışmada *Vibrio harveyi* ve *Vibrio ichthyoenteri* bakterileri için MİK değeri %0,125 ve MBK değerleri ise %0,25 olarak rapor edilmiştir (Pathirana vd., 2019). Bir başka çalışmada, altı adet *Vibrio alginolyticus*, dokuz adet *Vibrio parahaemolyticus*, bir adet *Vibrio vulnificus* ve bir adet *Vibrio fluvialis* bakterileri üzerinde karanfil esansiyel yağının etkisi araştırılmıştır. MİK değerlerinin 0,156-0,756 mg/ml, MBC değerlerinin 0,625-5 mg/ml olduğu bildirilmiştir (Snoussi vd., 2008). Bu bulgular; bakteri türünün farklı suşlarında dahi, antimikrobiyal etkinin görüldüğü konsantrasyonlarda farklılık olabileceğini göstermektedir.

## BEŞİNCİ BÖLÜM

### SONUÇ VE ÖNERİLER

#### 5.1. Sonuçlar

Bu çalışmada ançüz örneklerinden 102 adet ve lakerda örneklerinden 132 adet olmak üzere toplam 234 adet bakteri izole edilmiştir. Bakteri izolatları arasından ançüzden izole edilenlerin %39,2'si ve lakerdadan izole edilenlerin %27,27'si en az üç ve üzeri antibiyotiğe karşı dirençli bulunmuştur.

Çoklu antibiyotik direncine sahip ançüz ve lakerda izolatlarının MAR indekslerinin 0,2'den büyük olduğu bulunmuştur. Bu durum izole edilen ortamın insan ve/veya hayvansal bir kirliliğe maruz kaldığını ve yüksek risk içerdiğini göstermektedir.

Ançüz ve lakerda örneklerinden izole edilen bakterilerden üç ve üzeri çoklu antibiyotik dirençliliğine sahip olanlarından %65'inin direnç genlerini taşıdığı belirlenmiştir.

Tüketime hazır ançüz örneklerinden 12 adet ve lakerda örneklerinden 14 adet olmak üzere, toplamda 26 adet çoklu antibiyotik dirençliliğine sahip bakteri izolatu üzerine bitkisel ekstraktların etkileri araştırılmıştır.

Turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağlarının test edilen bakteriler üzerinde güçlü inhibisyon etkisi olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak elde ettiğimiz bulgular; satışa sunulan bazı ançüz ve lakerda ürünlerinde gıda güvenliği açısından istenmeyen bazı bakteriler olduğunu göstermiştir. Bu bakterilere karşı doğal koruyucu olarak, turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağlarının kullanılabilirliğini çalışmamız desteklemektedir.

Tüm gıdalarda olduğu gibi, ançüz ve lakerdanın hazırlanmasında da hijyen şartlarının sağlanması, bulaşma yollarının belirlenerek önlemlerin alınması, üreticilerin ve tüketicilerin bilinçlendirilmesi halk sağlığı açısından çok önemlidir.

## 5.2. Öneriler

Bu çalışma sonuçlarına göre;

- Isıl işlem uygulamadan yapılan tuzlanmış su ürünlerinden ançüz ve lakerdaya; her türlü kontaminasyon riskini önlemek için hammaddenin kaynağına, kullanılan tuzun çeşidine, kullanılan alet-ekipmana ve depolama koşullarına çok dikkat edilmelidir.
- Tuzlanmış ürünlerde oluşabilecek kontaminasyon riskine karşı, üniversiteler, mesleki kuruluşlar, ilgili sektörler hem üreticinin hem de tüketicinin bilinçlendirilmesine yönelik projelerini ve sunumlarını ön plana çıkarmalıdır.
- Gıda güvenliği kapsamında; satışı yapılan ürünlerin satış koşulları titizlikle denetlenmelidir. Denetim sonrasında yapılması gerekenler zamanında uygulanmalıdır.
- Bu yaptırımların zamanında ve sağlıklı bir şekilde yapılabilmesi için sistemdeki sorunların saptanması gerekmektedir. Çözüm için düzenlemeler yapılmalı ve sistemin daha uygulanır hale getirilmesi sağlanmalıdır.
- İnsan ve hayvan sağlığı için kullanılan antibiyotikler, kullanım sırasında kontrollü ve kullanımının gerekli görüldüğü aşamalarda doz ayarlaması yapılmadığı takdirde, toprak yada kanalizasyon sularıyla ekolojik döngünün içerisinde yer almaya başlamaktadır. Bu nedenle, kullanılan antibiyotik kalıntılarının çevreye arıtımı yapılmadan doğrudan bırakılmaması ve ekosistemin içinde döngüye katılmasının engellenmesi için ilgili yasal düzenlemelere yer verilmelidir.
- İnsanlarda bilinçsiz, kontrolsüz ve bakteriyel hastalıklarda hedef dışı antibiyotik kullanımı konusunda sağlık kuruluşlarının toplum bilincini yükseltici çalışmalar yürütmesi gerekmektedir.

- Çalışmada elde ettiğimiz bulgular ışığında; ançüz ve lakerda ürünlerinde gıda güvenliği açısından istenmeyen bazı bakterilere karşı doğal koruyucu olarak, turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağlarının kullanılabilirliği desteklenmekte olup, ileri de yapılacak çalışmalarda bu yağlar ve antibakteriyel etkisinin kanıtlandığı diğer esansiyel yağlarla ürün geliştirme çalışmaları yapılmalıdır.

- Yapılacak çalışmalarda; özellikle karanfil ve turunç çiçeği esans yağlarının, tuzlanmış ürünlerin (ançüz ve lakerda) hazırlanmasında kullanılabilirliğinin ve bakterileri inhibe etme potansiyellerinin araştırılması gerekmektedir.

- Yapılacak çalışmalarda, antibiyotik direnci gelişmiş bakterilerin inhibe edilmesi için kullanılan, çoğu ithal sentetik antibiyotiklerden kontrollü olarak vazgeçme yolları aranmalıdır. Türkiye’de doğal olarak bulunan ve sürdürülebilir bitkilerin; meyvesinden, yaprağından, kabuğundan elde edilen esans yağlarının kullanılması için çok disiplinli çalışmalara yer verilmelidir.

## KAYNAKÇA

- Aarestrup, F. M. (2000). Characterization of glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* (GRE) from broilers and pigs in Denmark: genetic evidence that persistence of GRE in pig herds is associated with coselection by resistance to macrolides. *J Clin Microbiol*, 38(7), 2774-2777.
- Abd-Elnaby, H. M., Abou-Elela, G. M., Ghozlan, H. A., Hussein, H. and Sabry, S. A. (2016). Characterization and bioremediation potential of marine *Psychrobacter* species. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 42(2), 193-203.
- Ahmed, H. A., El Bayomi, R. M., Hussein, M. A., Khedr, M. H., Remela, E. M. A. and El-Ashram, A. M. (2018). Molecular characterization, antibiotic resistance pattern and biofilm formation of *Vibrio parahaemolyticus* and *V. cholerae* isolated from crustaceans and humans. *International journal of food microbiology*, 274, 31-37.
- Akkan, H. A. ve Karaca, M. (2003). Veteriner iç hastalıklarında antibiyotiklerin kullanımı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 14(2), 72-77.
- Aksu, F., Uran, H. ve Varlık, C. (2013). Geleneksel Bir Su Ürünü “Palamut Lakerdası”. *Dünya Gıda Dergisi*, 8, 26-28.
- Al-Deen, R. B., Aloklah, B. and Al-Amir, L. (2021). Chemical composition and antibacterial activity of the peel essential oils extracted from citrus fruits. *Journal of Agriculture and Applied Biology*, 2(2), 114-123.
- Alfatemi, S. M. H., Motamedifar, M., Hadi, N. and Saraie, H. S. E. (2014). Analysis of virulence genes among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains. *Jundishapur journal of microbiology*, 7(6), e10741.
- Algammal, A. M., Mabrok, M., Sivaramasamy, E., Youssef, F. M., Atwa, M. H., El-Kholy, A. W. and Hozzein, W. N. (2020). Emerging MDR-*Pseudomonas aeruginosa* in fish commonly harbor oprL and toxA virulence genes and blaTEM, blaCTX-M, and tetA antibiotic-resistance genes. *Scientific Reports*, 10(1), 1-12.
- Ali, B.H. and Blunden, G. (2003). Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy Research: An international journal devoted to pharmacological and toxicological evaluation of natural product derivatives*, 17(4), 299-305.

- Aminov, R. I. (2009). The role of antibiotics and antibiotic resistance in nature. *Environmental Microbiology*, 11(12), 2970-2988.
- Aminov, R. I., Garrigues-Jeanjean, N. and Mackie, R. (2001). Molecular ecology of tetracycline resistance: development and validation of primers for detection of tetracycline resistance genes encoding ribosomal protection proteins. *Appl Environ Microbiol*, 67(1), 22-32.
- Anwar, S., Ahmed, N., Speciale, A., Cimino, F. and Saija, A. (2016). Bitter orange (*Citrus aurantium* L.) oils. In Essential oils in food preservation, flavor and safety (pp. 259-268). *Academic Press*.
- Argudín, M. A., Tenhagen, B. A., Fetsch, A., Sachsenröder, J., Käsbohrer, A., Schroeter, A., Hammerl, J. A., Hertwig, S., Helmuth, R., Bräunig, J., Mendoza, M. C., Appel, B., Rodicio, M. R. and Guerra, B. (2011). Virulence and resistance determinants of German *Staphylococcus aureus* ST398 isolates from nonhuman sources. *Appl Environ Microbiol*, 77(9), 3052-3060.
- Ashihara, H., Mizuno, K., Yokota, T. and Crozier, A. (2017). Xanthine alkaloids: occurrence, biosynthesis, and function in plants. In: Progress in the chemistry of organic natural products (Kinghorn, A. D., Falk, H., Gibbons, S., & Kobayashi, J. I. eds.), 105, 1-88.
- Atli, M. ve Erman, F. (1961). On the biology of sardine ("*Sardina pilchardus*" walb.) in the sea of Marmara. *Proc. Gen. Fish. Coun. Medit. Technical paper*, 36, 8, 321-332.
- Bauer, A., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C. and Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single diffusion method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45, 493-496.
- Becker, K., Heilmann, C. and Peters, G. (2014). Coagulase-negative staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 870-926.
- Bekaert, K., Devriese, L., Maes, S. and Robbens, J. (2015). Characterization of the dominant bacterial communities during storage of Norway lobster and Norway lobster tails (*Nephrops norvegicus*) based on 16S rDNA analysis by PCR-DGGE. *Food Microbiology*, 46, 132-138.



- Betts, G. (2006). Other spoilage bacteria. *Food spoilage microorganisms*, 668-693.
- Bhargava, K. and Zhang, Y. (2014). Characterization of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci (MRCoNS) in retail meat. *Food Microbiology*, 42, 56-60.
- Bozdogan, B., Berrezouga, L., Kuo, M.S., Yurek, D. A., Farley, K. A., Stockman, B. J. and Leclercq, R. (1999). A new resistance gene, *linB*, conferring resistance to lincosamides by nucleotidylation in *Enterococcus faecium* HM1025. *Antimicrob Agents Chemother*, 43(4), 925-929.
- Böhme, K., Fernández-No, I. C., Pazos, M., Gallardo, J. M., Barros-Velázquez, J., Cañas, B. and Calo-Mata, P. (2013). Identification and classification of seafood-borne pathogenic and spoilage bacteria: 16 S r RNA sequencing versus MALDI-TOF MS fingerprinting. *Electrophoresis*, 34(6), 877-887.
- Brillantes, S., Paknoi, S. and Totakien, A. (2002). Histamine formation in fish sauce production. *J Food Sci*, 67(6):2090-2094.
- Cai, L. and Wu, C. D. (1996). Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *Journal of Natural Products*, 59(10), 987-990.
- Calcutt, M. J., Foecking, M. F., Hsieh, H. Y., Perry, J., Stewart, G. C. and Middleton, J. R. (2013). Genome sequence analysis of *Staphylococcus equorum* bovine mastitis isolate UMC-CNS-924. *Genome Announcements*, 1(5), e00840-13.
- Callegan, M. C., Booth, M. C., Jett, B. D. and Gilmore, M. S. (1999). Pathogenesis of gram-positive bacterial endophthalmitis. *Infection and Immunity*, 67(7), 3348-3356.
- Cattoir, V., Poirel, L., Rotimi, V., Soussy, C. J. and Nordmann, P. (2007). Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated quinolone resistance *qnr* genes in ESBL-producing enterobacterial isolates. *J Antimicrob Chemother*, 60(2), 394-397
- Ceccato-Antonini, S. R., Shirahigue, L. D., Varano, A., da Silva, B. N., Brianti, C. S. and de Azevedo, F. A. (2023). Citrus essential oil: would it be feasible as antimicrobial in the bioethanol industry? *Biotechnology Letters*, 45, 1-2.

- Chaieb, K., Hajlaoui, H., Zmantar, T., Kahla-Nakbi, A. B., Rouabhia, M., Mahdouani, K. and Bakhrouf, A. (2007). The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzigium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytotherapy Research*, 21(6), 501-506.
- Chajęcka-Wierzchowska, W., Gajewska, J., Zadernowska, A., Randazzo, C. L. and Caggia, C. (2023). A Comprehensive Study on Antibiotic Resistance among Coagulase-Negative Staphylococci (CoNS) Strains Isolated from Ready-to-Eat Food Served in Bars and Restaurants. *Foods*, 12(3), 514.
- Chesneau, O., Morvan, A., Grimont, F., Labischinski, H. and El Solh, N. (1993). *Staphylococcus pasteuri* sp. nov., isolated from human, animal, and food specimens. *International journal of systematic bacteriology*, 43(2), 237-244.
- CLSI, (2013). Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement*. CLSI document M100-S23 (ISBN 1-56238-865-7 [Print]; ISBN 1-56238-866-5 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA.
- CLSI, (2015). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard*. Tenth edition. CLSI supplement M07-A10 (ISBN 1-56238-988-2). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA.
- CLSI, (2017). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 27th ed. CLSI supplement M100 (ISBN 1-56238-804-5 [Print]; ISBN 1-56238-805-3 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA.
- CLSI. (2010). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; Approved Guideline- Second Edition*. CLSI document M45-A2 (ISBN 1-56238-732-4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.

- Czekaj, T., Ciszewski, M. and Szewczyk, E. M. (2015). *Staphylococcus haemolyticus*—an emerging threat in the twilight of the antibiotics age. *Microbiology*, 161(Pt\_11), 2061-2068.
- Çaklı, Ş. (2007). Su Ürünleri İşleme Teknolojisi 1. Ege Üniversitesi Yayınları. Su Ürünleri Fakültesi. Yayın no: 76 ISBN: 978-975-483-761-2. İzmir.
- Çaklı, Ş. (2010). *Su Ürünleri İşleme Teknolojisi 1*. Ege Üniversitesi Yayınları Su Ürünleri Yayın No: 76, İzmir.
- Çöteli, F. T. (2022). Ürün Raporu Su Ürünleri (2022). Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü Müdürlüğü. TEPGE YAYIN NO: 355 ISBN: 978-625-8451-46-7. 1-29 sayfa.
- Dafale, N. A., Srivastava, S. and Purohit, H. J. (2020). Zoonosis: an emerging link to antibiotic resistance under “one health approach”. *Indian Journal of Microbiology*, 60, 139-152.
- Dai, N., Li, D. Z., Chen, J. C., Chen, Y. S., Geng, R., Hu, Y. H. and Gao, Z. C. (2010). Drug-resistant genes carried by *Acinetobacter baumannii* isolated from patients with lower respiratory tract infection. *Chin Med J*, 123(18), 2571-2575
- Dale, G. E., Langen, H., Page, M. G., Then, R. L. and Stüber, D. (1995). Cloning and characterization of a novel, plasmid-encoded trimethoprim-resistant dihydrofolate reductase from *Staphylococcus haemolyticus* MUR313. *Antimicrob Agents Chemother*, 39(9), 1920-1924.
- Dallenne, C., Da Costa, A., Decré, D., Favier, C. and Arlet, G. (2010). Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important  $\beta$ -lactamases in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*, 65(3), 490-495.
- Damas, M. S. F., Ferreira, R. L., Campanini, E. B., Soares, G. G., Campos, L. C., Laprega, P. M. and da Silva Pranchevicius, M. C. (2022). Whole genome sequencing of the multidrug-resistant *Chryseobacterium indologenes* isolated from a patient in Brazil. *Frontiers in Medicine*, 9.
- Degirmenci, H. and Erkurt, H. (2020). Chemical profile and antioxidant potency of *Citrus aurantium* L. flower extracts with antibacterial effect against foodborne pathogens in rice pudding. *LWT*, 126, 109273.

- Dib, A. L., Agabou, A., Chahed, A., Kurekci, C., Moreno, E., Espigares, M. and Espigares, E. (2018). Isolation, molecular characterization and antimicrobial resistance of enterobacteriaceae isolated from fish and seafood. *Food Control*, 88, 54-60.
- dos Santos Rocha, R., de Sousa, O. V. and dos Fernandes Vieira, R. H. S. (2016). Multidrug-resistant *Vibrio* associated with an estuary affected by shrimp farming in Northeastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 105(1), 337-340.
- Drobniewski, F. A. (1993). *Bacillus cereus* and related species. *Clinical Microbiology Reviews*, 6(4), 324-338.
- Dugo, G., Peyron, L., Bonaccorsi, I., Dugo, G. and Mondello, L., (2010). Extracts from the bitter orange flowers (*Citrus aurantium* L.): Composition and adulteration. In: Citrus oils. Composition, advanced analytical techniques, contaminants, and biological activity (Dugo G and Mondello L eds.), pages 333-348.
- Dutka-Malen, S., Evers, S. and Courvalin, P., Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol*, 33(1), 24-27 (1995).
- Edwards, M. K., Bhattacharya, M. B., Clark, S., Archibald, L. K., Kalyatanda, G. S. and Bhattacharya, M. (2022). Polymicrobial Prosthetic Valve Endocarditis Due to *Neisseria gonorrhoeae* and *Pseudomonas fluorescens* in a Patient With Tetralogy of Fallot: A Case Report. *Cureus*, 14(8).
- Ehling-Schulz, M., Fricker, M. and Scherer, S. (2004). *Bacillus cereus*, the causative agent of an emetic type of food-borne illness. *Molecular Nutrition Food Research*, 48(7), 479-87.
- Eltwisy, H. O., Abdel-Fattah, M., Elsisy, A. M., Omar, M. M., Abdelmoteleb, A. A. and El-Mokhtar, M. A. (2020). Pathogenesis of *Staphylococcus haemolyticus* on primary human skin fibroblast cells. *Virulence*, 11(1), 1142-1157.
- Erbaydar, T. (2003). Utilization of prenatal care in poorer and wealthier urban neighbourhoods in Turkey. *The European Journal of Public Health*, 13(4), 320-326.

- Erkan, N., Tosun, Ş. Y., Alakavuk, D. U. and Ulusoy, Ş. (2009). Keeping quality of different packaged salted atlantic bonito “lakerda”. *Journal of Food Biochemistry*, 33(5), 728-744.
- Evangelista, A. G., Danielski, G. M., Corrêa, J. A. F., Cavalari, C. M. D. A., Souza, I. R., Luciano, F. B. and Macedo, R. E. F. D. (2022). Carnobacterium as a bioprotective and potential probiotic culture to improve food quality, food safety, and human health—a scoping review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-14.
- Fallah, A. A., Saei-Dehkordi, S. S. and Mahzounieh, M. (2013). Occurrence and antibiotic resistance profiles of *Listeria monocytogenes* isolated from seafood products and market and processing environments in Iran. *Food control*, 34(2), 630-636.
- Faria, C., Vaz-Moreira, I., Serapicos, E., Nunes, O. C. and Manaia, C. M. (2009). Antibiotic resistance in coagulase negative staphylococci isolated from wastewater and drinking water. *Science of The Total Environment*, 407(12), 3876-3882.
- Feller, G., Zekhnini, Z., Lamotte-Brasseur, J. and Gerday, C. (1997). Enzymes from Cold-Adapted Microorganisms—The Class C  $\beta$ -lactamase from the Antarctic Psychrophile Psychrobacter Immobilis A5. *European Journal of Biochemistry*, 244(1), 186-191.
- Forbes, B. A. and Schaberg, D. R. (1983). Transfer of resistance plasmids from *Staphylococcus epidermidis* to *Staphylococcus aureus*: evidence for conjugative exchange of resistance. *Journal of Bacteriology*, 153(2), 627-634.
- Foster, T. (1996). *Staphylococcus. Medical Microbiology. 4th edition.*
- Frana, T. S., Carlson, S. A. and Griffith, R. W. (2001). Relative distribution and conservation of genes encoding aminoglycoside-modifying enzymes in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium phage type DT104. *Appl Environ Microbiol.* 67(1), 445-448
- Françoise, L. (2010). Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products. *Food Microbiology*, 27(6), 698-709.
- García-López, M. L. and Maradona, M. P. (2000). *Encyclopedia of Food Microbiology.*

- Gavahian, M., Chu, Y. H. and Mousavi Khaneghah, A. (2019). Recent advances in orange oil extraction: An opportunity for the valorisation of orange peel waste a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(4), 925-932.
- Gershman, M. D., Kennedy, D. J., Noble-Wang, J., Kim, C., Gullion, J., Kacica, M. and *Pseudomonas fluorescens* Investigation Team. (2008). Multistate outbreak of *Pseudomonas fluorescens* bloodstream infection after exposure to contaminated heparinized saline flush prepared by a compounding pharmacy. *Clinical Infectious Diseases*, 47(11), 1372-1379.
- Ghanem, N. A., Samaha, I. A. and Nossair, M. A. (2019). Incidence of some pathogenic bacteria in smoked and salted fish products. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 60(2), 104-109.
- Ghelardi, E., Celandroni, F., Salvetti, S., Ceragioli, M., Beecher, D. J., Senesi, S., and Wong, A. C. (2007). Swarming behavior of and hemolysin BL secretion by *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(12), 4089-4093.
- Giarratana, F., Muscolino, D., Beninati, C., Ziino, G., Giuffrida, A. and Panebianco, A. (2016). Activity of R (+) limonene on the maximum growth rate of fish spoilage organisms and related effects on shelf-life prolongation of fresh gilthead sea bream fillets. *International journal of food microbiology*, 237, 109-113.
- Goñi, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R. and Nerín, C. (2009). Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry*, 116(4), 982-989.
- Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Park, Y. S., Haruenkit, R., Lojek, A., Číž, M. and Trakhtenberg, S. (2001). Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food chemistry*, 74(3), 309-315.
- Guan, L., Cho, K. H. and Lee, J. H. (2011). Analysis of the cultivable bacterial community in jeotgal, a Korean salted and fermented seafood, and identification of its dominant bacteria. *Food microbiology*, 28(1), 101-113.
- Gurbet, R. (1989). Trawl fishing and nets (in Turkish), *Journal of Fisheries Science*, 6, 102-111.

- Gülyavuz, H. ve Ünlüsayın, M. (2008). Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. Şahin Matbaası, 359s, ISBN 975-96897-0-7, Antalya.
- Güngör, N., İpek, Z. Z., Akif, E. R. and Kayış, Ş. (2021). Farklı Sucul Sistemlerden İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliklerinin Karşılaştırılması. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 6(1), 25-30.
- Haj Ammar, A., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu, F., Romdhane, M. and Zagrouba, F. (2012). Chemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of *Citrus aurantium* L. flowers essential oil (Neroli oil). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15(21), 1034-1040.
- Hammad, A. M., Watanabe, W., Fujii, T. and Shimamoto, T. (2012). Occurrence and characteristics of methicillin-resistant and-susceptible *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from Japanese retail ready-to-eat raw fish. *International journal of Food Microbiology*, 156(3), 286-289.
- Han, J. Y., Song, W. J., Kang, J. H., Min, S. C., Eom, S., Hong, E. J. and Kang, D. H. (2020). Effect of cold atmospheric pressure plasma-activated water on the microbial safety of Korean rice cake. *LWT*, 120, 108918.
- Hancock, R. (2007). The Complexities Of Antibiotic Action. *Molecular Systems Biology*, 3, 142.
- Helsens, N., Calvez, S., Prevost, H., Bouju-Albert, A., Maillet, A., Rossero, A. and Magras, C. (2020). Antibiotic resistance genes and bacterial communities of farmed rainbow trout fillets (*Oncorhynchus mykiss*). *Frontiers in Microbiology*, 11, 590902.
- Henriques, I., Moura, A., Alves, A., Saavedra, M. J. and Correia, A. (2006).Analysing diversity among  $\beta$ -lactamase encoding genes in aquatic environments. *FEMS Microbiol Eco*, 56(3), 418-429.
- Heo, S., Lee, J. H. and Jeong, D. W. (2020). Food-derived coagulase-negative *Staphylococcus* as starter cultures for fermented foods. *Food Science and Biotechnology*, 29, 1023-1035.
- Hernández-Herrero, M. M., Roig-Sagués, A. X., Rodríguez-Jerez, J. J. and Mora-Ventura, M. T. (1999). Halotolerant and halophilic histamine-forming bacteria isolated

- during the ripening of salted anchovies (*Engraulis encrasicolus*). *Journal of Food Protection*, 62(5), 509-514.
- Hsouna, A. B., Hamdi, N., Halima, N. B. and Abdelkafi, S. (2013). Characterization of essential oil from *Citrus aurantium* L. flowers: antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Oleo Science*, 62(10), 763-772.
- Hsu, T. K., Tsai, H. C., Hsu, B. M., Yang, Y. Y. and Chen, J. S. (2021). Prevalence, enterotoxin-gene profiles, antimicrobial resistance, and genetic diversity of *Bacillus cereus* group in aquatic environments and shellfish. *Science of the Total Environment*, 758, 143665.
- Jeong, D. W. and Lee, J. H. (2015). Safety Assessment of Coagulase-Negative Staphylococci from Jeotgal, a Korean High-Salt-Fermented Seafood. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 43, 84-90.
- Jeong, D. W., Heo, S., Ryu, S., Blom, J. and Lee, J. H. (2017). Genomic insights into the virulence and salt tolerance of *Staphylococcus equorum*. *Scientific Reports*, 7(1), 1-11.
- Jeong, D.W., Han, S. and Lee, J.H. (2014). Safety and technological characterization of *Staphylococcus equorum* isolates from jeotgal, a Korean high-salt-fermented seafood, for starter development. *Int. J. Food Microbiol.* 188,108-115.
- Jokovic, N., Nikolic, M., Begovic, J., Jovic, B., Savic, D. and Topisirovic, L. (2008). A survey of the lactic acid bacteria isolated from Serbian artisanal dairy product kajmak. *International Journal of Food Microbiology*, 127(3):305-311.
- Jung, J. Y., Lee, S. H., Lee, H. J. and Jeon, C. O. (2013). Microbial succession and metabolite changes during fermentation of saeu-jeot: traditional Korean salted seafood. *Food Microbiology*, 34(2), 360-368.
- Kaase, M., Lenga, S., Friedrich, S., Szabados, F., Sakinc, T., Kleine, B. and Gatermann, S. G. (2008). Comparison of phenotypic methods for penicillinase detection in *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect*, 14(6), 614-616.
- Kamatou, G. P., Vermaak, I. and Viljoen, A. M. (2012). Eugenol—from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*, 17(6), 6953- 6981.



- Kang, P., Ryu, K. H., Lee, J. M., Kim, H. K. and Seol, G. H. (2016). Endothelium-and smooth muscle-dependent vasodilator effects of *Citrus aurantium* L. var. amara: Focus on Ca<sup>2+</sup> modulation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 82, 467-471.
- Karaalioğlu, O., Özmen Togay, S., AY, M., Soysal, G., Çardak, M., Bağcı, U. and Erol Tınaztepe, Ö. (2019). Evaluation of some food safety-related characteristics of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains isolated from raw fish samples. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology*, 76(3), 341-352.
- Kastner, S., Perreten, V., Bleuler, H., Hugenschmidt, G., Lacroix, C. and Meile, L. (2006). Antibiotic susceptibility patterns and resistance genes of starter cultures and probiotic bacteria used in food. *Systematic and Applied Microbiology*, 29(2), 145-155.
- Katalin, K., (2000). Nozokomiális fertőzéseket okozó multirezisztens baktériumok mikrobiológiai jellemzői. PhD-disszertáció Semmelweis Egyetem Patológiai Tudományok Interdiszciplináris Doktori Iskola 8/3 Program: Mikroorganizmusok és anyagaik hatásának molekuláris, celluláris és organizmus szintű vizsgálata. Budapest
- Kennouche, A., Benkaci-Ali, F., Scholl, G. and Eppe, G. (2015). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* cloves extracted by conventional and microwave techniques. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 5(1), 1-11.
- Khan, M. K. and Dangles, O. (2014). A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(1), 85-104.
- Khadori, N. (2006). Antibiotics—past, present, and future. *Medical Clinics*, 90(6), 1049-1076.
- Kılıç, E. ve Yenilmez, F. (2019). Türkiye ve AB Ülkelerinde Antibiyotik Kullanımı ve Dış Ticaret Dengesi Üzerine Bir Değerlendirme-An Evaluation On Antibiotic Use, Antibiotic Resistance And Trade Balance In Turkey And Eu Countries. *ESTÜDAM Halk Sağlığı Dergisi*, 4(1), 45-54.

- Koç Türkoğlu, F. (2008). Pediatri Kliniğine Başvuran Annelerin ocuklarda Antibiyotik Kullanımı Konusundaki Bilgi ve Tutumlarının Araştırılması, İstanbul: Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Uzmanlık Tezi, İstanbul, 120 sayfa.
- Koç, G. ve Uzmay, A. (2015). Gıda Güvencesi ve Gıda Güvenliği: Kavramsal ereve, Gelişmeler ve Türkiye. *Tarım Ekonomisi Dergisi*, 21(1 ve 2), 39-48.
- Kotiranta, A., Lounatmaa, K. and Haapasalo, M. (2000). Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes and infection*, 2(2), 189-198.
- 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(1), 165-170.
- Kumar, H., Franzetti, L., Kaushal, A. and Kumar, D. (2019). *Pseudomonas fluorescens*: A potential food spoiler and challenges and advances in its detection. *Annals of microbiology*, 69(9), 873-883.
- Kurlansky, M. (2003). Tuz-İnsanlığın Tuzlu Tarihi, Aykırı Yayınevi. eviren: Ali akıroğlu. ISBN No: 9758337572 407 s.
- Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(6), 435-448.
- Lee, J. H. and Jeong, D. W. (2015). Characterization of mobile *Staphylococcus equorum* plasmids isolated from fermented seafood that confer lincomycin resistance. *PLoS one*, 10(10), e0140190.
- Leisner, J. J., Laursen, B. G., Prévost, H., Drider, D. and Dalgaard, P. (2007). *Carnobacterium*: positive and negative effects in the environment and in foods. *FEMS Microbiology Reviews*, 31(5), 592-613.
- Leisner, J. J., Millan, J. C., Huss, H. H. and Larsen, L. M. (1994). Production of histamine and tyramine by lactic acid bacteria isolated from vacuum-packed sugar-salted fish. *Journal of Applied Bacteriology*, 76(5), 417-423.

- Li, X. and Wang, H. H. (2010). Tetracycline resistance associated with commensal bacteria from representative ready-to-consume deli and restaurant foods. *Journal of food protection*, 73(10), 1841-1848.
- Lina, G., Quaglia, A., Reverdy, M. E., Leclercq, R., Vandenesch, F. and Etienne, J.(1999). Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother*, 43(5), 1062-1066.
- Liu, X., Xiang, L., Yin, Y., Li, H., Ma, D., & Qu, Y. (2021). Pneumonia caused by *Pseudomonas fluorescens*: a case report. *BMC Pulmonary Medicine*, 21(1), 1-6.
- Logan, N.A. and Turnbull, P.C. (1999). *Manual of Clinical Microbiology*; Murray, P.R., Ed.; American Society for Microbiology: Washington, DC, USA, pp. 357–369.
- Loggenberg, S. R., Twilley, D., De Canha, M. N. and Lall, N. (2022). Medicinal plants used in South Africa as antibacterial agents for wound healing. In *Medicinal Plants as Anti-Infectives* (pp. 139-182). Academic Press.
- Luna, V. A., King, D. S., Gullede, J., Cannons, A. C., Amuso, P. T. and Cattani, J. (2007). Susceptibility of *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycooides* and *Bacillus thuringiensis* to 24 antimicrobials using Sensititre® automated microbroth dilution and Etest® agar gradient diffusion methods. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(3), 555-567.
- Mannucci, C., Calapai, F., Cardia, L., Inferrera, G., D'Arena, G., Di Pietro, M. and Calapai, G. (2018). Clinical Pharmacology of Citrus aurantium and Citrus sinensis for the Treatment of Anxiety. Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM, 2018.
- Marty, E., Bodenmann, C., Buchs, J., Hadorn, R., Eugster-Meier, E., Lacroix, C. and Meile, L. (2012). Prevalence of antibiotic resistance in coagulase-negative staphylococci from spontaneously fermented meat products and safety assessment for new starters. *International Journal of Food Microbiology*, 159(2), 74-83.

- Meason-Smith, C., Older, C. E., Ocana, R., Dominguez, B., Lawhon, S. D., Wu, J. and Rodrigues Hoffmann, A. (2018). Novel association of *Psychrobacter* and *Pseudomonas* with malodour in bloodhound dogs, and the effects of a topical product composed of essential oils and plant-derived essential fatty acids in a randomized, blinded, placebo-controlled study. *Veterinary Dermatology*, 29(6), 465-e158.
- Mejlholm, O., Bøknæs, N. and Dalgaard, P. (2005). Shelf life and safety aspects of chilled cooked and peeled shrimps (*Pandalus borealis*) in modified atmosphere packaging. *Journal of Applied Microbiology*, 99(1), 66-76.
- Meral, H. and Korukluoğlu, M. (2014). Antibiotic resistance mechanisms of lactic acid bacteria. *Ziraat Fakültesi Dergisi, Uludağ Üniversitesi*, 28(2), 71-82.
- Metoui, N., Gargouri, S., Amri, I., Fezzani, T., Jamoussi, B. and Hamrouni, L. (2015). Activity antifungal of the essential oils; aqueous and ethanol extracts from *Citrus aurantium* L., *Natural Product Research*, 29(23), 2238- 2241.
- Moissenet, D., Becker, K., Mérens, A., Ferroni, A., Dubern, B. and Vu-Thien, H. (2012). Persistent bloodstream infection with *Kocuria rhizophila* related to a damaged central catheter. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(4), 1495-1498.
- Morfin-Otero, R., Martínez-Vázquez, M. A., López, D., Rodríguez-Noriega, E. and Garza-González, E. (2012). Isolation of rare coagulase-negative isolates in immunocompromised patients: *Staphylococcus gallinarum*, *Staphylococcus pettenkoferi* and *Staphylococcus pasteurii*. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 42(2), 182-185.
- Mougiou, N., Tsoureki, A., Didos, S., Bouzouka, I., Michailidou, S. and Argiriou, A. (2023). Microbial and Biochemical Profile of Different Types of Greek Table Olives. *Foods*, 12(7), 1527.
- Nemeth, J., Oesch, G. and Kuster, S.P. (2015). Bacteriostatic versus bactericidal antibiotics for patients with serious bacterial infections: systematic review and meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(2), 382-395.
- O'Rourke, D. P. and Rosenbaum, M. D. (2015). Biology and diseases of amphibians. In *Laboratory animal medicine* (pp. 931-965). Academic Press.

- Oliver, J.D., Pruzzo, C., Vezzulli, L. and Kaper, J.B. (2012). *Vibrio* species. In: Michael P. D., Robert L. B. (eds) *Food microbiology: fundamentals and frontiers*, 4 th edn. ASM Press. Washington, DC, USA, pp 401-439.
- O'Neill, J. (2016). *Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations*.
- Ormancı, H. B. (2013). Palamut (Sarda sarda) lakerdasının olgunlaşması süresince serbest amino asit ve biyojen amin oluşumunun ürün kalitesine etkileri. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Çanakkale.
- Ouattara, B., Simard, R. E., Holley, R. A., Piette, G. J. P. and Bégin, A. (1997). Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 37(2-3), 155-162.
- Öner, M. (1992). Genel Mikrobiyoloji, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No: 4, İzmir, 231-245.
- Parihar, H. S. 2014. *Bacillus cereus*. In: P Wexler, editor. *Encyclopedia of toxicology*. 3rd ed. Oxford: Academic Press. p 353– 354.
- Parlapani, F. F. (2021). Microbial diversity of seafood. *Current Opinion in Food Science*, 37, 45-51.
- Parthasarathy, V. A., Chempakam, B. and Zachariah, T. J. (2008). *Chemistry of spices*. CABI International, Wallingford, USA. 464 pages.
- Paterson, D. L., Hujer, K. M., Hujer, A. M., Yeiser, B., Bonomo, M. D., Rice, L. B., Bonoma, R. A. and International Klebsiella Study Group. (2003). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates from seven countries: dominance and widespread prevalence of SHV-and CTX-M-type  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 47(11), 3554-3560.
- Pathirana, H. N. K. S., Wimalasena, S. H. M. P., De Silva, B. C. J., Hossain, S. and Heo, G. (2019). Antibacterial activity of clove essential oil and eugenol against fish pathogenic bacteria isolated from cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Slovenian Veterinary Research*, 56, 31-38.

- Patil, S. M., and Patel, P. (2021). Bactericidal and Bacteriostatic Antibiotics. *Infections and Sepsis Development*, 3.
- Paul, A. and Cox, P. A. (1995). An ethnobotanical survey of the uses for *Citrus aurantium* (Rutaceae) in Haiti. *Economic Botany*, 249-256.
- Petti, C. A., Simmon, K. E., Miro, J. M., Hoen, B., Marco, F. and Chu, V. H. (2008). International collaboration on endocarditis-microbiology investigators genotypic diversity of coagulase-negative staphylococci causing endocarditis: a global perspective. *J Clin Microbiol*, 46(5), 1780-1784.
- Plante, C. J., Coe, K. M. and Plante, R. G. (2008). Isolation of surfactant-resistant bacteria from natural, surfactant-rich marine habitats. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(16), 5093-5099.
- Polat, H., ve Ergün, H. (2008). Karadeniz'in pelajik balıkları. *Aquaculture Studies*, 2008(1).
- Pope, J. A., Margetts, A. R., Hamley, J. M. and Aykuz, E. F. (1975). Selectivity of fishing gear. FAO Fisheries Technical Paper No 41 (Rev. 1). 46 pp., Manual of methods for fish stock assessment.
- Radünz, M., da Trindade, M. L. M., Camargo, T. M., Radünz, A. L., Borges, C. D., Gandra, E. A. and Helbig, E. (2019). Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. *Food Chemistry*, 276, 180-186.
- Radünz, M., da Trindade, M. L. M., Camargo, T. M., Radünz, A. L., Borges, C. D., Gandra, E. A. and Helbig, E. (2019). Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. *Food Chemistry*, 276, 180-186.
- Rahmati, T. and Labbe, R. (2008). Levels and toxigenicity of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* from retail seafood. *Journal of Food Protection*, 71(6), 1178-1185.
- Rajkovic, A., Uyttendaele, M., Vermeulen, A., Andjelkovic, M., Fitz-James, I., In 't Veld, P. and Debevere, J. (2008). Heat resistance of *Bacillus cereus* emetic toxin, cereulide. *Letters in Applied Microbiology*, 46(5), 536-541.

- Ramnarain, J., Yoon, J. and Runnegar, N. (2019). *Staphylococcus pasteurii* infective endocarditis: A case report. *IDCases*, 18, e00656.
- Ramos, G. L. D. P. A., Vigoder, H. C. and dos Santos Nascimento, J. (2021). *Kocuria* spp. in foods: biotechnological uses and risks for food safety. *Applied Food Biotechnology*, 8(2), 79-88.
- Ramos-Trujillo, E., Perez-Roth, E., Mendez-Alvarez, S. and Claverie-Martín, F. (2003). Multiplex PCR for simultaneous detection of enterococcal genes vanA and vanB and staphylococcal genes mecA, ileS-2 and femB. *Int Microbiol*, 6, 113-115.
- Rantsiou, K., Iacumin, L., Cantoni, C., Comi, G. and Cocolin, L. (2005). Ecology and characterization by molecular methods of *Staphylococcus* species isolated from fresh sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 97(3), 277-284.
- Regecová, I., Pipová, M., Jevinová, P., Marušková, K., Kmeť, V. and Popelka, P. (2014). Species identification and antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci isolated from the meat of sea fish. *Journal of Food Science*, 79(5), M898-M902.
- Riede, K. (2004). Global register of migratory species - from global to regional scales. Final Report of the R&D-Projekt 808 05 081. Federal Agency for Nature Conservation, Bonn, Germany. 329 p.
- Rocha, R. D. S. (2011). Perfil de susceptibilidade antimicrobiana e preliminar de virulência entre cepas de *Vibrio spp.* isoladas da água e sedimento do estuário do Rio Acaraú, Ceará, Brasil.
- Rodrigues, M. J., Ho, P., López-Caballero, M. E., Vaz-Pires, P. and Nunes, M. L. (2003). Characterization and identification of microflora from soaked cod and respective salted raw materials. *Food Microbiology*, 20(4), 471-481.
- Rota, M. C., Herrera, A., Martínez, R. M., Sotomayor, J. A. and Jordán, M. J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*, 19(7), 681-687.

- Rupp, M. E., Fey, P. D., Heilmann, C. and Götz, F. (2001). Characterization of the importance of *Staphylococcus epidermidis* autolysin and polysaccharide intercellular adhesin in the pathogenesis of intravascular catheter-associated infection in a rat model. *The Journal of Infectious Diseases*, 183(7), 1038-1042.
- Sánchez, E., Donat, E., Ribes-Koninckx, C., Fernández-Murga, M. L. and Sanz, Y. (2013). Duodenal-mucosal bacteria associated with celiac disease in children. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(18), 5472-5479.
- Saran, B. ve Karahan, Z. C. (2010). Antimikrobiyal ajanlara genel bakış. *Türk Urol Sem*, 1, 216-20.
- Savini, V., Bianco, A., Catavittello, C., Balbinot, A., Pompilio, A., Piccolomini, R. and D'Antonio, D. (2009a). Meticillin-heteroresistant *Staphylococcus pasteurii* from an apheresis platelet product. *Journal of Medical Microbiology*, 58(11), 1527-1528.
- Savini, V., Catavittello, C., Carlino, D., Pompilio, A., Piccolomini, R. and Di Bonaventura, G. (2009b). *Staphylococcus pasteurii* bacteraemia in a leukemic patient. *Journal of Clinical Pathology*, 62, 957-958.
- Savini, V., Catavittello, C., Pompetti, F., Passeri, C., Di Zacomo, S., Esattore, F. and D'Antonio, D. (2008). Contamination of a donated platelet unit by *Staphylococcus pasteurii*. *Journal of Infection*, 57(6), 494-496.
- Scales, B. S., Dickson, R. P., LiPuma, J. J. and Huffnagle, G. B. (2014). Microbiology, genomics, and clinical significance of the *Pseudomonas fluorescens* species complex, an unappreciated colonizer of humans. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 927-948.
- Schwalbe, R., Steele-Moore, L. and Goodwin, A. C. (2007). Antimicrobial susceptibility testing protocols. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA, pages 428.
- Selvin, J., Lanong, S., Syiem, D., De Mandal, S., Kayang, H., Kumar, N. S. and Kiran, G. S. (2019). Culture-dependent and metagenomic analysis of lesser horseshoe bats' gut microbiome revealing unique bacterial diversity and signatures of potential human pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 137, 103675.



- Senesi, S. and Ghelardi, E. (2010). Production, secretion and biological activity of *Bacillus cereus* enterotoxins. *Toxins*, 2(7), 1690-1703.
- Sengeløv, G., Halling-Sørensen, B. and Aarestrup, F. M. (2003). Susceptibility of *Escherichia coli* and *Enterococcus faecium* isolated from pigs and broiler chickens to tetracycline degradation products and distribution of tetracycline resistance determinants in *E. coli* from food animals. *Vet Microbiol.* 95(1-2), 91-101.
- Seow, Y. X., Yeo, C. R., Chung, H. L. and Yuk, H. G. (2013). Plant essential oils as active antimicrobial agents. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(5), 625-644.
- Sergelidis, D., Abraham, A., Papadopoulos, T., Soutos, N., Martziou, E., Koulourida, V. and Papa, A. (2014). Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. from ready-to-eat fish products. *Letters in Applied Microbiology*, 59(5), 500-506.
- Seyedmonir, E., Yilmaz, F. and Içgen, B. (2015). *mec A* gene dissemination among staphylococcal and non-staphylococcal isolates shed in surface waters. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 95, 131-138.
- Sharma, C., Singh, C., Sharma, L. N., Purvia, R. and Adlakha, M. (2014). Antibiotic resistant organism: An emerging public health problem and role of ayurveda (an overview). *Int. J. Ayurveda Pharm. Res*, 2, 17-29.
- Sherif, A. H., Gouda, M., Darwish, S. and Abdelmohsin, A. (2021). Prevalence of antibiotic-resistant bacteria in freshwater fish farms. *Aquaculture Research*, 52(5), 2036-2047.
- Smith, D. C., Forland, S., Bachanos, E., Matejka, M. and Barrett, V. (2001). Qualitative analysis of citrus fruit extracts by GC/MS: An undergraduate experiment. *The Chemical Educator*, 6, 28-31.
- Snoussi, M., Hajlaoui, H., Noumi, E., Usai, D., Sechi, L. A., Zanetti, S. and Bakhrouf, A. (2008). In-vitro antiVibrio spp. activity and chemical composition of some Tunisian aromatic plants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 3071-3076.

- Sönmez, A. ve Şimşek, F. (2011). Cumhuriyetin kuruluşundan günümüze Türkiye ekonomisinde yaşanan gelişmelerin küçük ölçekli bir aile işletmesi üzerindeki etkileri. *Girişimcilik ve Kalkınma Dergisi*, 6, 93-114.
- Steinberg, J. P. and Burd, E. M. (2015). Other gram-negative and gram-variable bacilli. *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 2, 2751-68.
- Su, Z. and Ming, D. (2010). Detection of blaTEM-116, ant (3 ")-I of resistant-related genes in a *Chryseobacterium meningosepticum* strain in sputa from a severe chronic hepatitis patient. *Chinese Journal of Nosocomiology*, 20(6), 767-769.
- Sunde, M. and Sørum, H. (2001). Self-transmissible multidrug resistance plasmids in *Escherichia coli* of the normal intestinal flora of healthy swine. *Microb Drug Resist*, 7(2), 191-196.
- Suntar, I., Khan, H., Patel, S., Celano, R. and Rastrelli, L. (2018). An overview on Citrus aurantium L.: Its functions as food ingredient and therapeutic agent. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018.
- Şengezer, E. and Güngör, T. (2008). Esansiyel yağlar ve hayvanlar üzerindeki etkileri (derleme). *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 48(2), 101-110.
- Tanır, G. ve Göl, N. (1999). Antibiyotik direnci. *Klinik Dergisi*, 12(2): 47-54
- Tao, Z., Wu, X., Liu, W., Takahashi, H., Xie, S., Ohshima, C. and He, Q. (2022). Prevalence of Histamine-Forming Bacteria in Two Kinds of Salted Fish at Town Markets of Guangdong Province of South China. *Journal of Food Protection*, 85(6), 956-960.
- Thomassen, G. M. B., Reiche, T., Tennfjord, C. E. and Mehli, L. (2022). Antibiotic Resistance Properties among *Pseudomonas spp.* Associated with Salmon Processing Environments. *Microorganisms*, 10(7), 1420.
- Tipu, M. A., Akhtar, M. S., Anjum, M. I. and Raja, M. L. (2006). New dimension of medicinal plants as animal feed. *Pakistan Veterinary Journal*, 26(3), 144-148.
- Trzcinski, K., Cooper, B. S., Hryniewicz, W. and Dowson, C. G. (2000). Expression of resistance to tetracyclines in strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob Chemother*, 45(6), 763-770.

- Turan H., Kaya Y., Erkoyuncu I. ve Sonmez G. (2006). Chemical and Microbiological Qualities of Dry-Salted (Lakerda) Bonito (*Sarda sarda*, Bloch 1793). *Journal of Food Quality*, 29(5): 470-478.
- Urban-Chmiel, R., Marek, A., Stępień-Pyśniak, D., Wieczorek, K., Dec, M., Nowaczek, A. and Osek, J. (2022). Antibiotic resistance in bacteria—A review. *Antibiotics*, 11(8), 1079.
- Varlık, C., Erkan, N., Özden, Ö., Mol, S. and Baygar, T. (2004). Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, 491 sayfa, İstanbul.
- Waheed, A., Akram, S., Ashraf, R., Mushtaq, M. and Adnan, A. (2020). Kinetic model and optimization for enzyme-assisted hydrodistillation of d-limonene-rich essential oil from orange peel. *Flavour and Fragrance Journal*, 35(5), 561-569.
- Walsh, C. and Wright, G. (2005). Introduction: antibiotic resistance. *Chemical Reviews*, 105(2), 391-394.
- Wang, M., Yao, M. and Zhu, Y. G. (2022). Antibiotic resistance genes and antibiotic sensitivity in bacterial aerosols and their comparisons with known respiratory pathogens. *Journal of Aerosol Science*, 161, 105931.
- WHO, World Health Organization. Fact sheets: (2017) <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
- Wisplinghoff, H. (2017). *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. and miscellaneous Gram-negative bacilli. In: *Infectious diseases* (pp. 1579-1599). Elsevier.
- Woods, D. F., Kozak, I. M. and O’Gara, F. (2020). Microbiome and functional analysis of a traditional food process: isolation of a novel species (*Vibrio hibernica*) with industrial potential. *Frontiers in Microbiology*, 11, 647.
- Xia, D., Esser, L., Tang, W. K., Zhou, F., Zhou, Y., Yu, L. and Yu, C. A. (2013). Structural analysis of cytochrome bc1 complexes: implications to the mechanism of function. *Biochim Biophys Acta-Bioenerg*, 1827(11-12), 1278-1294
- Yang, S. H., Ahn, H. K., Kim, B. S., Chang, S. S., Chung, K. Y., Lee, E. M., and Kwon, E. G. (2017a). Comparison of bacterial communities in leachate from decomposing bovine carcasses. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 30(11), 1660.

- Yang, S. P., Xie, J. and Qian, Y. F. (2017b). Determination of spoilage microbiota of Pacific white shrimp during ambient and cold storage using next-generation sequencing and culture-dependent method. *Journal of Food Science*, 82(5), 1178-1183.
- Yang, S., Xu, W., Feng, L., Zhang, C., Yan, C., Zhang, J. and Li, Y. (2022). Resveratrol Improves the Digestive Ability and the Intestinal Health of Siberian Sturgeon. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11977.
- Yang, X. (2014). Moraxellaceae. In C. A. Batt and M. L. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of food microbiology* (second ed., pp. 826–833). Academic Press.
- Yu, Y., Zhang, Y., Wang, Y., Liao, M., Li, B., Rong, X. and Zhang, Z. (2023). The Genetic and Phenotypic Diversity of *Bacillus* spp. from the Mariculture System in China and Their Potential Function against Pathogenic *Vibrio*. *Marine Drugs*, 21(4), 228.
- Yumoto, I., Iwata, H., Sawabe, T., Ueno, K., Ichise, N., Matsuyama, H. and Kawasaki, K. (1999). Characterization of a facultatively psychrophilic bacterium, *Vibrio rumoiensis* sp. nov., that exhibits high catalase activity. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(1), 67-72.
- Zakaria, Z., Salleh, M. M. and Rashid, N. A. A. (2015). Screening and identification of fibrinolytic bacteria from Malaysian fermented seafood products. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(10), 022-031.
- Zhang, J., He, S., Wang, J., Wang, C., Wu, J., Wang, W. and Li, F. (2020). A Review of the traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and toxicology of *Corydalis yanhusuo*. *Natural Product Communications*, 15(9).
- Zhao, A., Zhu, J., Ye, X., Ge, Y. and Li, J. (2016). Inhibition of biofilm development and spoilage potential of *Shewanella baltica* by quorum sensing signal in cell-free supernatant from *Pseudomonas fluorescens*. *International Journal of Food Microbiology*, 230, 73-80.
- Zheng, B., Liu, Y., He, X., Hu, S., Li, S., Chen, M. and Jiang, W. (2017). Quality improvement on half-fin anchovy (*Setipinna taty*) fish sauce by *Psychrobacter* sp. SP-1 fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(13), 4484-4493.