

Kızılırmak'tan İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Dirençlilikleri ile GSBL, AmpC ve Karbapenemaz Aktivitelerinin Belirlenmesi

Determination of Antibiotic Resistance and ESBL, AmpC, and Carbapenemase Activities of Bacteria Isolated from the Kızılırmak River

Sibel Kızıl¹ , Gamze İmre¹ , Edanur Çelik¹ , Serap Sertel¹ , Emel Onbaş¹ 

¹Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Kırıkkale, Türkiye

ÖZET

Amaç: Kızılırmak Nehri'nden alınan su örneklerinden izole edilen ve tanımlanan bakterilerin antibiyotiklere dirençlerinin yanı sıra genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL), AmpC ve karbapenemaz aktivitelerinin fenotipik ve genotipik olarak belirlenmesi amaçlandı.

Yöntemler: Kızılırmak Nehri'nin 10 farklı bölgesinden steril şekilde su örnekleri alındı. Membran filtrasyon yöntemiyle izole edilen ve konvansiyonel yöntemlerle tanımlanan bakterilerin antibiyotiklere direnci disk difüzyon yöntemiyle değerlendirildi. Enterobacteriaceae familyasına ait bakterilerin GSBL, AmpC ve karbapenemaz aktiviteleri fenotipik ve genotipik olarak konvansiyonel polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle belirlendi.

Bulgular: Tanımlanan izolatların 2'si *Escherichia coli*, 6'sı *Klebsiella aerogenes*, 10'u *Aeromonas hydrophila* ve 2'si *Mannheimia haemolytica* idi. Enterobacteriaceae familyasına ait 8 izolatta en yüksek direnç, sefoksitin, amoksisilin, amoksisilin-klavulanik asit ve ampisilin için %100 oranında saptandı. Bunu sefotaksim %12.5 ile takip etti. *A. hydrophila* izolatlarında siprofloksasin ve seftazidime %10 direnç; *M. haemolytica* izolatlarında amoksisilin-klavulanik asit, nalidiksik asit ve tetrasikline karşı %100 direnç saptandı. İzolatların fenotipik değerlendirmesinde, sefoksitine karşı %100 direnç ve dolayısıyla AmpC aktivitesi yönünden %100 pozitiflik; meropenem karşı %100 duyarlılık ile karbapenemaz aktivitesi yönünden negatiflik görüldü. Hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi (rapid antimicrobial susceptibility testing, RAST)'ne göre *E. coli* izolatlarının hiçbirinde GSBL saptanmazken; kombine disk yöntemine göre Enterobacteriaceae familyasında yer alan 5 *K. aerogenes* izolatu GSBL aktiviteleri yönünden pozitif bulundu (%83.3). Genotipik olarak ise GSBL genleri açısından *TEM* ve *CTX-M-9* %100, *CTX-M-1* ve *OXA-1* %87.5, *SHV* geni %75 oranında; AmpC geni olan *FOX* %87.5 oranında pozitif idi. Karbapenemaz genleri (*NDM*, *KPC*, *VIM*, *IMP*, *OXA-48*) fenotipik sonuçlarla uyumluydu.

Sonuç: Kızılırmak Nehri'nden izole edilen bakterilerde saptanan yüksek antibiyotik dirençliliği, nehir ekosisteminin dirençli bakteriler açısından önemli bir rezervuar olabileceğini gösterdi. Bölgedeki insan, hayvan ve çevre etkileşimleri Tek Sağlık (One Health) yaklaşımı çerçevesinde değerlendirildiğinde, antibiyotik dirençliliğinin çevresel boyutunun izlenmesi ve direnç gelişiminin kontrolüne yönelik çalışmaların sürdürülmesinin gerekli olduğu sonucuna varıldı. Karbapenemlere karşı duyarlılığın korunmuş olması ise önemli bir olumlu bulgu olarak değerlendirildi.

Anahtar sözcükler: Kızılırmak Nehri, GSBL, AmpC, karbapenemaz, Tek Sağlık

ABSTRACT

Objective: This study aimed to determine the antibiotic resistance profiles and the phenotypic and genotypic activities of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs), AmpC, and carbapenemases in bacteria isolated from water samples collected from the Kızılırmak River.

Methods: Water samples were collected aseptically from 10 different sites along the Kızılırmak River. Bacteria isolated by membrane filtration and identified using conventional methods were tested for antibiotic susceptibility by the disk diffusion method. The phenotypic and genotypic activities of ESBLs, AmpC, and carbapenemases in bacteria belonging to the Enterobacteriaceae family were determined using phenotypic methods and conventional polymerase chain reaction (PCR), respectively.

Results: The identified isolates included 2 *Escherichia coli*, 6 *Klebsiella aerogenes*, 10 *Aeromonas hydrophila*, and 2 *Mannheimia haemolytica*. Among the 8 Enterobacteriaceae isolates, resistance rates were highest for cefoxitin, amoxicillin, amoxicillin-clavulanic acid, and ampicillin (100% each), followed by cefotaxime (12.5%). Resistance to ciprofloxacin and ceftazidime was detected in 10% of *A. hydrophila* isolates, whereas 100% of *M. haemolytica* isolates were resistant to amoxicillin-clavulanic acid, nalidixic acid, and tetracycline. Phenotypically, 100% resistance to cefoxitin and, consequently, 100% AmpC activity were detected, whereas 100% susceptibility to meropenem and no carbapenemase activity were observed. According to the rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) procedure, no ESBL activity was detected in *E. coli* isolates, whereas 5 *K. aerogenes* isolates were positive for ESBL activity by the combination disk test (83.3%). Genotypically, the ESBL genes *TEM* and *CTX-M-9* were detected at 100%, *CTX-M-1* and *OXA-1*

at 87.5%, and *SHV* at 75%; the AmpC-associated *FOX* gene was detected at 87.5%. No carbapenemase genes (*NDM*, *KPC*, *VIM*, *IMP*, or *OXA-48*) were detected, consistent with the phenotypic findings.

Conclusion: The high levels of antibiotic resistance observed in bacteria isolated from the Kızılırmak River suggest that the river ecosystem may serve as a significant reservoir of resistant bacteria. Considering human, animal, and environmental interactions within the One Health framework, ongoing monitoring of environmental antimicrobial resistance and implementation of control measures are warranted. The preserved susceptibility to carbapenems was an important favorable finding.

Keywords: Kızılırmak River, ESBL, AmpC, carbapenemase, One Health

GİRİŞ

Antibiyotik direnci küresel bir sağlık problemidir. Hayvanlarda ve insanlarda enfeksiyona neden olan bakterilerde antimikrobiyal direnç ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Antibiyotik direnci hem dünyada hem de Türkiye'de artan bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Türkiye'de yapılan antimikrobiyal direnç çalışmaları, direncin artış eğiliminde olduğunu göstermektedir. Antibiyotik direnci, yalnızca klinik ortamlarla sınırlı kalmayıp çevresel ortamlarda da hızla yayılmaktadır. Tarımsal faaliyetler, endüstriyel ve yerleşim alanlarından kaynaklanan atık sular, antibiyotik kalıntıları ve dirençli mikroorganizmaları yüzey sularına taşımaktadır. Nehirler ve baraj gölleri, bu direnç genlerinin taşındığı ve farklı bakteri türleri arasında paylaşılan büyük birer rezervuar işlevi görmektedir (1). Özellikle klinik olguların yanı sıra evsel şebeke sularında çoklu ilaç direnci (ÇİD) gösteren Enterobacteriaceae üyelerinin ve direnç genlerinin saptanması, sorunun boyutunu ortaya koymaktadır (2). Son yıllarda antibiyotik direnci konusu bölgesel olarak atık su ve kanalizasyon sularından araştırılmaya başlanmış ve tüm dünyada bu çalışmalar yoğunlaşmıştır. Özellikle insan nüfusunun fazla ve yüzey sularıyla temasın yoğun olduğu bölgelerde antibiyotik direnci önemli bir halk sağlığı riski olarak karşımıza çıkmaktadır. Bazı bölgelerde içme suyu olarak satılan paketli sulara bile genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) üreten bakterilere rastlanması, dirençli bakterilerin insan tüketimine sunulan sulara da bulunabildiğini göstermektedir (3). Su kaynaklarından izole edilen Enterobacteriaceae familyasına ait bakteriler, *Aeromonas* spp. ve *Pasteurella* spp. çeşitli çevresel koşullara uyum sağlayabilen ve potansiyel patojen özellikleri ile öne çıkan mikroorganizmalardır. Türkiye'deki akarsular üzerinde yapılan çalışmalarda, *Escherichia coli* izolatlarının ampisilin ve tetrasiklin gibi sık kullanılan antibiyotiklere karşı %95'lere varan oranlarda dirençli olduğu ve çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) indeksinin güvenli eşik olan 0.2'yi aştığı görülmektedir (4). Bu türlerin antibiyotik direnç genlerini taşımaları ve yayma potansiyelleri, su ekosistemlerinde antimikrobiyal direnç dinamiklerinin anlaşılması açısından önemli rol üstlenmektedir.

Kilis Devlet Hastanesi kanalizasyon suyundan yapılan bir çalışmada, Enterobacteriaceae familyasına ait 30 bakteri izole edilmiştir. Biyokimyasal test sonucuna göre tanımlanan 20 suştan (*E. coli*, *Klebsiella* spp. ve *Citrobacter* spp.) farklı aktiviteler gösteren 8 suş seçilerek antibiyotik direnç profilleri [klindamisin (CLI), trimetoprim (TMP), kloramfenikol (CHL), eritromisin (ERY), tetrasiklin (TET), streptomisin (STR), ampisilin (AMP), sefotaksim (CTX), vankomisin (VAN), gentamisin (GEN) ve sefoperazon (CPS)] belirlenmiştir. Tüm suşlar için Çoklu Antibiyotik Direnç İndeksi (Multiple Antibiotic Resistance Index, MAR)'nin 0.2'nin üzerinde olduğu bildirilmiş; en yüksek MAR indeksi *E. coli* biyotip I ve *Citrobacter* spp. suşlarında 0.75 olarak raporlanmıştır (5). Bu bulgular, sucul ortamların aslında çoklu dirençli bakterilerin gelişimi ve yayılımı için ne kadar uygun bir zemin oluşturduğunu desteklemektedir (4).

Ülkemizde özellikle hayvanlarda ve sulara GSBL, AmpC β -laktamaz ve karbapenemaz direnç genlerinin araştırıldığı çalışmalar sınırlıdır. Sucul ortamlardan izole edilen bakteriler, fenotipik olarak duyarlı görünmelerine rağmen genetik düzeyde bu direnç genlerini sessizce taşıyıp yayma potansiyeline sahiptir (2). Böylesine büyük nehir sistemlerinde yapılacak

bölgesel analizler, çevre kirliliğinin boyutlarını ve halk sağlığı risklerini anlamak için çok önemlidir (4).

Çalışmamızda, Kızılırmak Nehri'nden izole edilen ve tanımlanan bakterilerin antibiyotik dirençliliklerinin yanı sıra GSBL, AmpC β -laktamaz ve karbapenemaz aktivitelerinin fenotipik ve genotipik olarak belirlenmesi amaçlandı. Çalışmadan elde edilen bulguların, Kızılırmak'ta tespit edilen bakterilerin direnç profillerinin ve direnç yayılımının değerlendirilmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

YÖNTEMLER

Örnekleme ve Bakteri İzolasyonu

Kızılırmak Nehri'nin farklı bölgelerinden 10 su örneği 24 Temmuz 2025 tarihinde steril koşullarda alınarak soğuk zincirde laboratuvara ulaştırıldı (Fotoğraf 1). Su örnekleri su sıcaklığının en yüksek olduğu temmuz ayında, park, mesire alanı ve köprü çevresi gibi insan yoğunluğunun fazla olduğu bölgelerden alındı. Bu bölgede üniversite, hastane, MKE fabrikaları ve sanayi siteleri ile Kırıkkale Belediyesi ve Yahşiha'nı hizmet veren Kırıkkale Merkez Atıksu Arıtma Tesisi bulunmaktadır. Bölge, I. ve II. sınıf mutlak tarım arazilerinden oluşmakta olup nehir yatağının genişlediği düzlüklerde ağırlıklı olarak buğday, arpa, dane mısır, çerezlik ayçiçeği ve şeker pancarı yetiştirilmektedir. Kızılırmak Nehri yatağı çevresi, taban suyu düzeyinin yüksek olması nedeniyle yeraltı suyu kirlenmesine karşı yüksek hassasiyete sahiptir.

Bakterilerin Tanımlanması ve Dirençlilik Testleri

Örnekler membran filtrasyona tabi tutulduktan sonra, MacConkey agar (Oxoid, Basingstoke, İngiltere), kanlı agar (Oxoid, Basingstoke, İngiltere) ve nutrient agar (Oxoid, Basingstoke, İngiltere) besiyerlerine ekilerek bakterilerin izolasyonu yapıldı; 37°C'de 18–24 saat inkübasyonun ardından üreyen koloniler konvansiyonel yöntemlerle tanımlandı. İzolatların fenotipik dirençlilikleri ve moleküler yöntemlerle direnç genleri araştırıldı. Fenotipik değerlendirmede Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak sonuçlar Avrupa Antimikrobik Duyarlılık Testleri Komitesi'nin (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) 2026 yılı kriterlerine uygun olarak değerlendirildi (6).

Escherichia coli izolatlarının fenotipik olarak GSBL ve karbapenemaz aktiviteleri, hızlı antimikrobiyal duyarlılık testi (rapid antimicrobial susceptibility testing, RAST) prosedürüne göre şu şekilde belirlendi (7):

GSBL Tespiti

Kombinasyon disk yöntemiyle CTX (30 μ g) veya seftazidime (CAZ; 30 μ g) dirençli olan izolatlar test edildi. CTX ve CTX+klavulanik asit (CLA; 10 μ g) diskleri ile CAZ ve CAZ+CLA (10 μ g) diskleri aynı besiyerine yerleştirildi ve 37°C'de 24 saat inkübasyonun ardından inhibisyon zon çapları ölçüldü. İki disk arasındaki zon çapı farkının ≥ 5 mm olması GSBL aktivitesi yönünden pozitif olarak değerlendirildi (8). Ayrıca Enterobacteriaceae familyasına ait bakterilerin (*E. coli* ve *Klebsiella aerogenes*) GSBL aktivitesi, kombine disk yöntemiyle belirlendi ve 2025 yılı EUCAST kriterlerine göre değerlendirildi (9).



Fotoğraf 1. Kızılırmak Nehri boyunca su örneklerinin alındığı örnekleme noktaları ve koordinatları. 1: Hacıbali, Yahşihan (39.937590, 33.412591); 2: Hacıbali, Yahşihan (39.937586, 33.412550); 3: Hacıbali, Yahşihan (39.937558, 33.412560); 4: Hacıbali, Yahşihan (39.922553, 33.427511); 5: Alaaddin, Yahşihan (39.840023, 33.452558); 6: Alaaddin, Yahşihan (39.840018, 33.455101); 7: Kadioğlu, Yahşihan (39.842548, 33.445032); 8: Yahşihan (39.842504, 33.447540); 9: Atadönmez, Bahşili (39.840108, 33.447569); 10: Alaaddin, Yahşihan-Demir Köprü (39.842502, 33.447624).

Karbapenemaz Tespiti

Meropenem (MEM)'e karşı direnç (<20 mm), temel karbapenemaz aktivitesi göstergesi olarak değerlendirildi. Direnç olmaması durumu karbapenemaz aktivitesinin negatif olduğu şeklinde yorumlandı (9).

AmpC Tespiti

AmpC aktivitesi için sefoksitin (FOX)'e karşı gözlemlenen direnç (<19 mm), izolatların AmpC üretimi için bir fenotipik belirteç olarak kabul edildi (8).

DNA izolasyonu

İzole edilen ve tanımlanan bakteri izolatlarından kaynatma yöntemi ile DNA izolasyonu yapıldı. Bu amaçla saf kültürlerden bir koloni alınarak 100 µl steril distile su içinde homojenize edildi. Ardından 95°C'de 10 dakika bekletildi, 10 000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi ve DNA konsantrasyonları NanoDrop spektrofotometre ile ölçüldü (10).

PCR

GSBL, AmpC ve karbapenemaz dirençlilik genlerinin varlığını araştırmak için DNA'lar konvansiyonel PCR ile çoğaltıldı. Pozitif kontrol olarak *E. coli* ATCC 25922, negatif kontrol olarak distile su kullanıldı. Araştırılan direnç genleri aşağıda verildi ve PCR analizinde kullanılan primerler Tablo 1'de sunuldu:

GSBL genleri: *CTX-M-1*, *CTX-M-9*, *SHV*, *TEM*, *OXA-1*

AmpC β-laktamaz geni: *FOX*

Karbapenemaz genleri: *OXA-48*, *IMP*, *VIM*, *KPC*, *NDM-1*

Reaksiyon karışımı; Taq DNA polimeraz, dNTP'ler, MgCl₂ ve uygun tamponu içeren 12.5 µl hazır PCR Master Mix, 5 µl primer, 1 µl DNA ve hacmi tamamlamak için 6.5 µl distile su eklenerek, tüm reaksiyonlar için toplam 25 µl hacimde hazırlandı ve kitin standart protokolü uygulandı.

PCR protokolü için 94°C'de 10 dakika süren başlangıç denatürasyonunun ardından 30 siklus uygulandı. Her siklusta denatürasyon 94°C'de 40 saniye, bağlanma (annealing) 60°C'de 40 saniye ve uzama 72°C'de 1 dakika olacak şekilde gerçekleştirildi. Son uzama aşamasında 72°C'de 7 dakika tutuldu. Ardından reaksiyonlar 4°C'de beklemeye alındı (10).

Elektroforez

Amplikonlar, %2'lik agaroz jelde, 100 V'de yaklaşık 60 dakika elektroforeze tabi tutuldu ve oluşan bantlar UV ışık altında değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

Antibiyotikler β-laktamlar [AMP, amoksisilin (AMX), amoksisilin-klavulanik asit (AMC), CAZ, CTX, FOX, imipenem (IPM) ve MEM] ve β-laktam dışı antibiyotikler [siprofloksasin (CIP), trimetoprim-sülfametoksazol (SXT), amikasin (AMK), tobramisin (TOB) ve gentamisin (GEN)] olmak üzere iki ana sınıfta gruplandırıldı. Ayrıca, tüm antibiyotiklerin

Tablo 1. PCR Primerleri (10).

Direnç Mekanizması	Primer Dizisi (5'-3')	Amplikon Uzunluğu (bp)
GSBL Genleri		
TEM	(F) CATTTCCTGTGCGCCTTATTC (R) CGTTCATCCATAGTGCCTGAC	800
SHV	(F) AGCCGCTTGAGCAAATTAAC (R) ATCCCGCAGATAAATCACCAC	713
CTX-M-9	(F) TCAAGCCTGCCGATCTGGT (R) TGATTCTCGCCGCTGAAG	561
CTX-M-1	(F) TTAGGAARTGTGCCGCTGYA (R) CGATATCGTTGGTGGTRCCAT	688
OXA-1	(F) GGCACCAGATTCAACTTCAAG (R) GACCCCAAGTTTCTGTAAGTG	564
Karbapenemaz Genleri		
KPC	(F) CATTCAAGGCTTCTTGCTGC (R) ACGACGGCATAGTCATTTGC	538
OXA-48	(F) GCTTGATCGCCCTCGATT (R) GATTTGCTCCGTGGCCGAAA	281
NDM-1	(F) GATGCCGACACTGAGCACTA (R) GGGCCGTATGAGTGATTGC	124
VIM	(F) GATGGTGTGGTGCAGATA (R) CGAATGCGCAGCACCAG	390
IMP	(F) TTGACACTCCATTTACDG ^a (R) GATYGAGAATTAAGCCACYCT ^a	139
AmpC Geni		
FOX	(F) CTACAGTGCGGGTGGTTT (R) CTATTGCGGCCAGGTGA	162

F: Forward primer, R: Reverse primer.

^a Y=T or C; R=A or G; S=G or C; D=A, G or T.

genel dağılımı değerlendirildi. Veriler, IBM SPSS Statistics 25 programı kullanılarak χ^2 testi ile değerlendirildi.

BULGULAR

İzolasyon ve Tanımlama

Konvansiyonel yöntemlerle yapılan tanımlama sonucunda; 2 *E. coli*, 6 *K. aerogenes*, 10 *Aeromonas hydrophila* ve 2 *Mannheimia haemolytica* tespit edildi.

Antimikrobiyal Direnç

Disk difüzyon yöntemiyle elde edilen sonuçlara göre Enterobacteriaceae familyasına ait 8 izolatta en yüksek direnç oranı; FOX, AMX, AMC, AMP için %100 olarak tespit edildi. Bu değerleri %12.5 direnç oranıyla CTX ve TOB takip etti; CAZ, CIP, SXT, GEN, AMK, MEM, IPM için herhangi bir direnç saptanmamış olup tüm isolatlar bu antibiyotiklere karşı duyarlı bulundu.

A. hydrophila izolatlarının (n=10) %10'unda CIP ve CAZ'a direnç; *M. haemolytica* izolatlarının (n=2) %100'ünde ise AMC, nalidiksik asit (NA) ve TET'e karşı direnç tespit edildi; CTX, CIP, NA ve SXT'ye karşı direnç saptanmadı. Enterobacteriaceae familyasına ait bakterilerin antibiyotik direnç durumları Tablo 2'de, *A. hydrophila* ve *M. haemolytica* izolatlarının antibiyotik direnç durumları sırasıyla Tablo 3 ve Tablo 4'te sunuldu.

Enterobacteriaceae familyasında yer alan 8 izolatin (2 *E. coli*, 6 *K. aerogenes*) %100'ü FOX, AMX, AMC ve AMP'ye dirençli; %12.5'i CTX ve

TOB'ye dirençli; CAZ, CIP, SXT, GEN, AMK, MEM ve IPM'ye duyarlı bulundu. *A. hydrophila* izolatlarının (n=2) CIP ve CAZ'a dirençli, SXT'ye duyarlı bulundu. *M. haemolytica* izolatlarının (n=2) %100'ü NA ve TET'e dirençli; CTX, CIP ve SXT'ye duyarlı bulundu.

Fenotipik olarak β -laktamaz aktiviteleri değerlendirildiğinde, RAST prosedürüne göre *E. coli* izolatlarının hiçbirinde GSBL saptanmadı. Kom-bine disk yöntemine göre Enterobacteriaceae familyasında yer alan 6 *K. aerogenes* izolatının 5'inde, CTX+CLA kombinasyonuna karşı 14-28 mm'lik zon çaplarının ilgili kriterleri karşılaması nedeniyle GSBL aktivitesi pozitif olarak değerlendirildi (%62.5).

Karbapenemaz Aktivitesi

RAST prosedürüne göre MEM'e karşı tüm isolatlarda duyarlılık saptandı ve karbapenemaz aktivitesi negatif olarak belirlendi. Enterobacteriaceae familyasına ait tüm isolatların (n=8) FOX'a %100 dirençli olduğu ve dolayısıyla AmpC aktivitesinin pozitif olduğu tespit edildi. β -laktamaz aktivitelerinin fenotipik sonuçları Tablo 5'te sunuldu.

PCR sonuçları

Genotipik değerlendirmede, yalnızca Enterobacteriaceae familyasında yer alan isolatlarda TEM ve CTX-M-9 %100, CTX-M-1, OXA-1 %87.5 ve SHV %75 oranında pozitif saptanırken AmpC ile ilişkili FOX geni %87.5 oranında pozitif saptandı. Karbapenemaz genleri (NDM, KPC, VIM, IMP, OXA-48) fenotipik bulgularla uyumlu olarak saptanmadı. Genotipik olarak β -laktamaz aktivitesine ait genlerin PCR sonuçları Tablo 6'da sunuldu.

Antibiyotikler β -laktamlar ve β -laktam dışı antibiyotikler olarak gruplandırılıp, χ^2 testi ile değerlendirildiğinde, χ^2 değeri 24.74 ve p-değeri ≤ 0.001 ($p=6.54 \times 10^{-7}$) olarak saptandı. Dirençliliğin β -laktam sınıfı antibiyotiklerde anlamlı şekilde kümelenildiği görüldü (Tablo 7).

Tüm antibiyotiklerin genel dağılımına bakıldığında χ^2 değeri 96.04 ve $p \leq 0.001$ ($p=3.29 \times 10^{-12}$) idi. Test edilen 13 farklı antibiyotikğin duyarlılık ve dirençlilik dağılımları homojen olmamakla birlikte, AMP, FOX ve AMC'ye %100 oranında direnç saptandı.

Numunelerin toplandığı bölgeler tarımsal alan (Yazı mevkii, ST-1, izolat 3), yoğun rekreasyon bölgeleri (Hacıbali ve Park Mesire alanı, ST-2, izolat 6a, 6b, 7, 8, 9a, 9b ve 10) ve kentsel/ulaşım bölgeleri (Kadıoğlu ve Kızılırmak Demir Köprü, ST-3) olarak 3 gruba ayrılarak değerlendirildiğinde, dirençli bakterilerin nehir akış yönünde, rekreasyon alanlarından kentsel/ulaşım bölgelerine doğru kümülatif olarak arttığı görüldü (Tablo 8).

Kızılırmak Nehri'nin Yahşıhan Havzası'ndan izole edilen bakterilerin antibiyotik direnç ve duyarlılık profillerinin bölgesel dağılımı incelendiğinde, ST-2 (Park/Mesire Alanı) ve ST-3 (Kadıoğlu/Demirköprü) istasyonları arasında toplam dirençlilik açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($\chi^2 = 0.012$, df=1, $p=0.912$). Bu sonuca göre; dirençliliğin bölgeden bağımsız olarak homojen bir yayılım gösterdiği değerlendirildi. Buna karşın, dirençli isolatların %87.5'inin (7/8) ST-3 bölgesinde bulunduğu görüldü.

İRDELEME

Kızılırmak'tan alınan su örneklerinde en yüksek izolasyon oranı *A. hydrophila*'da (n=10) görüldü. İzole edilen *K. aerogenes*, *E. coli*, *M. haemolytica* ve *A. hydrophila*'nın özellikle yaygın kullanılan antibiyotiklere karşı yüksek direnç oranları göstermesi, bölgede insan ve hayvan kaynaklı olarak yapılan diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumluydu.

Dirençliliğin β -laktam sınıfı antibiyotiklerde anlamlı şekilde kümelenildiği, dirençli bakterilerin nehir akış yönünde, rekreasyon alanlarından kentsel/

Tablo 2. Enterobacteriaceae Familyasına Ait Bakterilerin Antibiyotik Dirençlilikleri.

Bakteriler	K. aerogenes (Zon çapı (mm)/S-I-R/GSBL)						E. coli (Zon çapı (mm)/S-I-R/GSBL)		%R
İzolat Numarası	3	6a	6b	7	8	9a	9b	10	
Antibiyotikler (Disk içeriği/Ecoff değeri)									
İmipenem (10 µg) (<19)	24/S	24/S	27/S	25/S	30/S	22/S	33/S	31/S	0
Meropenem (10 µg) (<16)	28/S	27/S	28/S	26/S	33/S	30/S	32/S	30/S	0
Siprofloksasin (5 µg) (<22)	29/S	25/S	29/S	29/S	36/S	32/S	30/S	32/S	0
Trimetoprim-Sülfametoksazol (1.26–23.76 µg) (<15)	22/S	32/S	32/S	30/S	34/S	26/S	22/S	26/S	0
Ampisilin (10 µg) (<14)	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	100
Amikasin (30 µg) (<18)	20/S	21/S	23/S	20/S	24/S	21/S	23/S	21/S	0
Amoksisilin (<14)	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	100
Tobramisin (10 µg) (<16)	0/R	18/S	23/S	20/S	26/S	22/S	24/S	22/S	12.5
Amoksisilin-klavulanik asit (30 µg) (<19)	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	13/R	100
Gentamisin (10 µg) (<17)	25/S	26/S	26/S	25/S	32/S	22/S	30/S	22/S	0
Seftazidim (30 µg) (<19)	24/S	27/S	27/S	24/S	32/S	26/S	22/S	32/S	0
Seftazidim-klavulanik asit (30 µg/10 µg) (4–22)	23	27	28	25	29	25	29	33	0
Sefotaksim (30 µg) (<17)	23/S	27/S	26/S	26/S	27/S	24/S	14/R	34/S	12.5
Sefotaksim-klavulanik asit (30 µg/10 µg) (14–28)	22/GSBL	0	27/GSBL	23/GSBL	27/GSBL	22/GSBL	12	0	62.5
Sefoksitin (30 µg) (<19)	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	14/R	0/R	100

S: Duyarlı, I: Artmış maruziyetle duyarlı, R: Dirençli, **GSBL**: Genişlemiş spektrumlu β-laktamaz, **Ecoff**: Epidemiyolojik “cut-off” değeri.

Tablo 3. *A. hydrophila*’ların Antibiyotik Dirençlilik Durumu.

Bakteri	<i>A. hydrophila</i> (Zon çapı (mm)/S-I-R)									
İzolat Numarası	1a	1b	2	3	4a	4b	5	7	9	10
Antibiyotikler (Disk içeriği/Ecoff değeri)										
Siprofloksasin (5 µg) (<24)	31/S	32/S	32/S	30/S	32/S	31/S	30/S	36/S	33/S	0/R
Trimetoprim-Sülfametoksazol (1.26–23.76 µg) (<16)	32/S	34/S	29/S	30/S	31/S	28/S	16/S	21/S	29/S	25/S
Seftazidim (30 µg) (<21)	32/S	32/S	31/S	28/S	28/S	29/S	28/S	38/S	28/S	16/R
Seftazidim-klavulanik asit (30–10 µg) (<21)	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0

Not: Seftazidim-klavulanik asite ait 0 değerleri, seftazidim ile fark olmadığı anlamına gelmektedir.

ulaşım bölgelerine doğru kümülatif olarak arttığı, ST-3 bölgesinde dirençli izolatların daha yoğun olduğu görüldü. Özellikle ÇİD’li fenotiplerin ve GSBL üreten izolatların (6a, 7,8 ve 9a) bu bölgede yoğunlaşması, köprü yapısının yarattığı hidrolik bariyerin ve kentsel drenajın etkili olmasıyla açıklanabilir.

Demirköprü’den izole edilen 9a (CTX’ye duyarlı, GSBL pozitif) ve 9b (CTX ve FOX’a dirençli, GSBL negatif) izolatların farklı fenotiplere sahip olması, farklı direnç mekanizmalarının devreye girdiğini düşündürmektedir. Bu durum, nehirdeki genetik çeşitliliğin ve plazmid geçişlerinin olası bir göstergesi olabilir.

Akarsu kaynaklı antibiyotik direnci ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. 2005 yılında yapılan bir çalışmada, nehirlerde en çok fekal koliformların tespit edildiği ve bunun nedeninin nehirlerdeki ciddi antropojenik kirlenme olduğu bildirilmiştir. Birçok evsel atığın derelere ulaştığı ve yoğun mikrobiyal kirliliğe yol açtığı da raporlanmıştır. Aynı çalışmada, 2003–2004 yılları arasında 10 dereden, 120 su örneğinden *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koserii*, *Enterobacter* spp. ve *Proteus vulgaris* olmak üzere Enterobacteriaceae familyasına ait toplam 184 suş izole edilmiştir. Çalışmamızdaki direnç oranlarından daha düşük oranlarda olmak üzere, en yüksek direnç %73 ile AMP’ye karşı saptanmış; bunu sırasıyla %52 ile STR, %48 ile neomisin (NEO), %43 ile GEN, %28 ile TET, %25 ile kanamisin (KAN) ve TMP,

Tablo 4. *M. haemolytica*'ların Antibiyotik Dirençlilik Durumu

Antibiyotikler (Disk içeriği/Ecoff değeri)	<i>M. haemolytica</i> (1)* (Zon Çapı (mm)/S-I-R)	<i>M. haemolytica</i> (1) (Zon Çapı (mm)/S-I-R)
Trimetoprim-sülfametoksazol (1.26–23.76 µg) (<23)	30/S	30/S
Amoksisilin-klavulanik asit (30 µg) (<15)	14/R	12/R
Sefotaksim (30 µg) (<26)	32/S	32/S
Siprofloksasin (5 µg) (<27)	40/S	40/S
Nalidiksik asit (30 µg) (<23)	16/R	13/R
Tetrasiklin (30 µg) (<24)	14/R	13/R

*İzolot numarasıdır. Aynı izolattan iki farklı suş tespit edilmiştir.

Tablo 5. β-Laktamaz Aktivitelerinin Fenotipik Sonuçları

β-Laktamaz Aktivitesi									
İzolotlar	1	2	3	4	5	6	7	8	%
GSBL	+	-	+	+	+	+	-	-	62.5
AmpC	+	+	+	+	+	+	+	+	100
Karbapenemaz	-	-	-	-	-	-	-	-	0

1, 2, 3, 4, 5, 6: *K. aerogenes* ve 7, 8: *E. coli*.

Tablo 6. β-Laktamaz Aktivitesine Ait Genlerin PCR Sonuçları

Genler	İzolatlar								
	1	2	3	4	5	6	7	8	%
GSBL									
CTX-M-1	+	+	+	+	+	-	+	+	87.5
CTX-M-9	+	+	+	+	+	+	+	+	100
SHV	+	+	+	+	-	+	+	-	75
TEM	+	+	+	+	+	+	+	+	100
OXA-1	+	+	+	+	-	+	+	+	87.5
AmpC									
FOX	+	+	+	+	-	+	+	+	87.5
Karbapenemaz									
OXA-48	-	-	-	-	-	-	-	-	0
IMP	-	-	-	-	-	-	-	-	0
VIM	-	-	-	-	-	-	-	-	0
KPC	-	-	-	-	-	-	-	-	0
NDM-1	-	-	-	-	-	-	-	-	0

1, 2, 3, 4, 5, 6: *K. aerogenes* ve 7, 8: *E. coli*.

%23 ile netilmisin (NET), %18 ile AMK, %17 ile NA, %13 ile kloramfenikol (CHL) ve %5 ile ofloksasin (OFX) izlenmiştir (11).

Tablo 7. β-Laktamlar ve β-Laktam Dışı Antibiyotiklerin χ² Analiz Sonuçları

Antibiyotik sınıfı	Duyarlı İzolat Sayısı	Dirençli İzolat Sayısı	Toplam
β-laktam grubu	31	33	64
β-laktam dışı grup	39	1	40
Toplam	70	34	104

χ²: 24.74, df: 1, p < 0.001 (p=6.54×10⁻⁷) (A: Anlamlı / Asimptotik Anlamlılık)

Tablo 8. Bölgelere Göre Dirençlilik Oranlarının X² Test Sonuçları

Örnekleme Alanı	Toplam Duyarlı Reaksiyon Sayısı	Toplam Dirençli Reaksiyon Sayısı	Toplam Test Sayısı
ST-2 (Park-Mesire Alanı)	9	4	13
ST-3 (Kadıoğlu ve Demirköprü)	61	30	91
Toplam	70	34	104

χ²=0.012, df=1, p=0.912 (p>0.05)

Trabzon'da 10 derecede yapılan bir çalışmada, 183 koliform bakterinin antimikrobiyel dirençlilikleri disk difüzyon ve agar dilüsyon yöntemleriyle değerlendirilmiş; çalışmamızdaki oranlardan daha düşük olmak üzere, AMP, STR, TMP, TET ve CHL'ye karşı sırasıyla %58, %51.9, %24, %28.4 ve %12.5 oranlarında direnç bildirilmiştir. Trabzon'da yapılan başka bir çalışmada ise sucul enterik bakteriler arasında integronların yaygın olduğu ve bu bakterilerin antibiyotik direnç determinantları için rezervuar olabileceği ve direnç genlerini çevreye yayabileceği bildirilmiştir (12).

Slovakya'daki bir belediye atık su arıtma tesisinden izole edilen 109 *E. coli* suşu üzerinde yapılan çalışmada, izolatların %26'sında GSBL fenotipi ile birlikte *CTX-M*, *CMY-2* ve *qnrS* direnç genleri bildirilmiştir. Ayrıca, ERT'ye dirençli bir *E. coli* suşunda integron 1 ile birlikte *IMP* geni kaydedilmiştir (13). *CTX-M* direnç genleri, Kızılırmak Nehri'nden izole edilen bakterilerde de saptandı.

Yapılan bir çalışmada, Dakka'da, Banani Gölü'nden alınan örnekler, GSBL üreten suşların varlığı yönünden incelenmiştir. Örneklerin ¼'ünde GSBL üreten Enterobacteriaceae bildirilmiş; toplam 10 izolat arasından 7 *E. coli*, 2 *K. pneumoniae* ve 1 *E. cloacae* tanımlanmış ve moleküler karakterizasyon sonucunda izolatların *CTX-M-15*, *CTX-M-27*, *SHV-2* ve *SHV-12* direnç genlerini taşıdığı raporlanmıştır (14). Çalışmamızda ise izole edilen bakterilerin çoğunda GSBL pozitifliği saptandı.

Çin'in Taian bölgesinde yapılan bir çalışmada, kırsal kuyu sularında GSBL üreten Enterobacteriaceae varlığı araştırılmıştır. İncelenen 100 kuyunun 4'ünde GSBL pozitifliği saptandı; toplam 10 izolattan 9'unun *E. coli*, 1'inin ise *K. pneumoniae* olduğu bildirilmiştir. Genotipik analiz sonucunda, 8 *E. coli* izolatında *CTX-M-15*, 1 *E. coli* izolatında *CTX-M-27* ve 1 *K. pneumoniae* izolatında *CTX-M-15* geni raporlanmıştır (15).

Farklı kapasitedeki 6 farklı hastaneden, farklı mevsimlerde hastane atık su örnekleri alınarak yapılan çalışmada kantitatif PCR ile direnç genleri araştırılmış; *aadA*, *tetA*, *cmlA*, *sul1*, *qnrS*, *ermB* ve *CTX-M* direnç genleri bildirilmiştir (16).

Giresun Batlama Deresi'nden elde edilen *E. coli* izolatlarının antibiyotiklere karşı direnç düzeylerinin değerlendirildiği çalışmada, en yüksek direnç

AMP'ye (%59) karşı bildirilmiş olup bunu TET (%50.8), NA (%44.4), ERY (%42.9), CHL (%38.1), sefazolin (CZO) (%36), sefuroksim (CXM) (%35.9) ve CTX (%28.4) izlemiştir. Ayrıca, 7 izolatin tüm antibiyotiklere duyarlı olduğu, 3 izolatin ise test edilen tüm antibiyotiklere karşı direnç gösterdiği bildirilmiştir (4).

2022 yılında yapılan bir diğer çalışmada, Adıyaman Atatürk Baraj Gölü'nün beş farklı istasyondan alınan yüzey sularından izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotik direnç profilleri incelenmiştir. Fekal kirlilik göstergesi olarak izole edilen 70 *E. coli* suşunda en yüksek direnç %95 oranında ERY'ye karşı saptanmış, bunu sırasıyla seftarolin (CFT) %31.42, CZO %30, TET %14.28, CHL %8.50, CXM %4.28 ve CTX ve sefepim (FEP) %2.85 izlemiştir. Ayrıca Sitilce istasyonundan izole edilen bakterilerin %85.71'inin ve Eğri Çayı istasyonundan izole edilen bakterilerin %50'sinin ise MAR indekslerinin bizim çalışmamızla uyumlu olarak 0.2'den büyük olduğu bildirilmiştir (17).

Cora ve arkadaşlarının (17) 2024 yılında yaptıkları çalışmada, atık sularından izole edilen Gram-negatif bakterilerin antibiyotik direnç profilleri araştırılmış; izole edilen 36 bakteride *SHV*, *TEM*, *OXA*, *CTX-M*, *integ-1*, *integraz 2* ve *integron* varlığı PCR ile araştırılarak genlerin aktarım mekanizmaları değerlendirilmiştir. İzolatların 14'ünde dirençlilik, 1'inde ise GSBL ve *OXA* geni tespit edilmiştir (17).

Özellikle Enterobacteriaceae üyelerinde saptanan %100 AMC ve AMP direnci, bölgedeki antibiyotik dirençliliğinin dikkat çekici düzeyde olduğunu göstermektedir. *M. haemolytica* izolatlarında tespit edilen %100 oranındaki TET ve NA direncinin yüksek olması, bu antibiyotiklere karşı dirençliliğin çevresel açıdan izlenmesi gerektiğini düşündürmektedir. Bu nedenle, sürekli surveyans programları yürütülerek dirençliliğin izlenmesi gerekmektedir.

Çalışmamızda FOX direncinin yüksek oranda saptanması, fenotipik olarak AmpC β -laktamaz aktivitesinin güçlü bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Benzer şekilde, FOX geninin genotipik olarak yüksek saptanması da (%87.5) fenotipik testlerle uyumlu bir sonuçtur. Fenotipik değerlendirmede, GSBL aktivitesi yönünden *K. aerogenes* izolatlarının %83.3 gibi yüksek bir oranda pozitif olması ve genotipik olarak bakıldığında birçok GSBL geninin yüksek oranda—*TEM* ve *CTX-M-9* %100, *CTX-M-1*, *OXA-1* %87.5 ve *SHV* geni %75—saptanması dikkat çekicidir. Bu bulgular, çalışmamızda fenotipik ve genotipik direnç sonuçlarının birbiriyle uyumlu olduğunu göstermektedir. GSBL ve AmpC aktivitesi açısından bakıldığında, fenotipik ve genotipik sonuçlar arasında güçlü bir uyum görülmektedir. GSBL ve FOX genlerinin yüksek oranda saptanması, direnç mekanizmalarının izolatlar arasında genetik olarak kalıcı hale gelmiş olabileceğini ve nehir suyunda bulunan bakterilerde GSBL üretme kapasitesinin yaygın olduğunu düşündürmektedir. Bölgedeki insan ve hayvan kökenli atıkların ve evsel deşarjların nehir ekosistemine dirençli suşları taşıdığı görülmektedir.

Karbapenamaz aktivitesi yönünden incelendiğinde, fenotipik ve genotipik olarak karbapenamaz aktivitesi saptanmadı ve bu sonuçların birbiriyle paralel olduğu görüldü. Hem fenotipik hem de genotipik yönden son çare olarak kullanılabilen karbapenemlere karşı karbapenamaz aktivitesinin saptanmaması, bu antibiyotiklerin bölgedeki bakterilere karşı etkinliğinin devam ettiğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, Kızılırmak'tan izole edilen Enterobacteriaceae familyasına ait 8 izolatin, *K. aerogenes* ve *E. coli* türlerine ait olanlarında, bölgede

yapılan insan ve hayvan kaynaklı diğer çalışmalara paralel olarak, özellikle yaygın kullanılan antibiyotiklere karşı yüksek direnç oranları dikkat çekicidir. Yıllar içinde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında daha yüksek direnç oranlarının saptanması, dirençliliğin arttığını düşündürmektedir. İzolatların GSBL ve AmpC aktivitesi hem fenotipik hem de genotipik olarak yüksek oranda saptandı. Buna ek olarak, karbapenemlere karşı duyarlılığın yüksek oranda korunmuş olması olumlu bir bulgu olarak değerlendirildi. Özellikle bölgedeki antimikrobiyal dirençliliğin izlenmesi açısından nehirlerde dirençliliğin fenotipik ve genotipik yöntemlerle izlenmesi, artış gösteren dirençlilik nedeniyle antibiyotik tedavi stratejilerinin belirlenmesinde son derece önemlidir.

Hem fenotipik hem de genotipik olarak direnç oranlarının yüksek bulunması; bölgenin üniversiteye, yoğun sanayi bölgesine, tarım alanlarına ve atık su arıtma tesislerine yakın olması ve park, mesire yeri ve köprü civarları gibi insanların yoğun olduğu bölgelerden alınan örneklerde yüksek antibiyotik dirençliliği saptanmasıyla birlikte değerlendirildiğinde, bölgenin Tek Sağlık (One Health) yaklaşımı açısından önemli bir risk oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Nehir suyunun fizikokimyasal parametrelerinin belirlenmemiş olması, farklı direnç genlerinin araştırılmamış olması, örnek sayısının sınırlı olması, nehrin geçtiği farklı illerden numune alınmamış olması ve direnç mekanizmalarının belirlenmemiş olması çalışmanın kısıtlılıklarını oluşturmaktadır. Bu kısıtlılıkların giderilmesine yönelik daha kapsamlı çalışmaların yapılması; direnç genlerinin epidemiyolojik açıdan araştırılması, yayılımının izlenmesi ve buna yönelik önlemlerin alınması açısından faydalı olacaktır.

Hasta Onamı

Bu çalışma çevresel örneklerden izole edilen bakterilerle yürütüldüğü için hasta onamı gerekmemektedir.

Etik Kurul Kararı

Bu çalışma çevresel örneklerden izole edilen bakterilerle yürütüldüğü için etik kurul kararı gerekmemektedir.

Danışman Değerlendirmesi

Bağımsız dış danışman

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram – S.K.; Tasarım – S.K., G.İ., E.Ç.; Denetleme – S.K.; Kaynak ve Fon Sağlama – S.K., G.İ., E.Ç.; Malzemeler/Hastalar – S.K., G.İ., E.Ç.; Veri Toplama ve/veya İşleme – S.K., G.İ., E.Ç., S.S., E.O.; Analiz ve/veya Yorum – S.K., G.İ., E.Ç., S.S., E.O.; Makale Yazımı – S.K., G.İ., E.Ç., S.S., E.O.; Eleştirel İnceleme – S.K., S.S., E.O.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek

Çalışmanın Enterobacteriaceae bölümü TÜBİTAK 2209 Programı kapsamında 2025 yılının ilk döneminde desteklenmiştir.

Bilimsel Etkinlik

Bu çalışma, 27–28 Aralık 2025 tarihlerinde düzenlenen 11. Uluslararası Çukurova Tarım ve Veteriner Kongresi'nde bildiri olarak sunulmuştur.

Yapay Zekâ Beyanı

Bu çalışmanın hazırlanması, veri analizi veya yazımı aşamalarında herhangi bir yapay zekâ programı kullanılmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Büyükkaya Kayış F. [Antibiotic resistance profile of *Escherichia coli* bacteria isolated from Atatürk Dam Lake, Adıyaman]. *Commagene J Biol*. 2022;6(1):105–9. Turkish. [CrossRef]
2. Akinjogunla OJ, Odeyemi AT, Udofia ES, Adefiranye OO, Yah CS, Ehinmore I, et al. Enterobacteriaceae isolates from clinical and household tap water samples: antibiotic resistance, screening for extended-spectrum, metallo- and ampC-beta-lactamases, and detection of *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} and *bla*_{CTX-M} in Uyo, Nigeria. *Germes*. 2023;13(1):50–9. [CrossRef]
3. De Boeck H, Miwanda B, Lunguya-Metila O, Muyembe-Tamfum JJ, Stobberingh E, Glupczynski Y, et al. ESBL-positive Enterobacteria isolates in drinking water. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(6):1019–20. [CrossRef]
4. Akkan T, Topkaraoğlu T. [Determination of antibiotic resistance levels of *Escherichia coli* isolates obtained from freshwater sources: Batlama Creek, Giresun]. *Anadolu Çev Hay Derg*. 2019;4(3):539–44. Turkish. [CrossRef]
5. Mercimek Takçı HA, Bakırhan PB, Kaptanoğlu M, Genç S. [Antibiotic resistance profiles of Enterobacteriaceae strains isolated from Kilis State Hospital sewage water]. *JEPS*. 2019;31(3):261–6. Turkish. [CrossRef]
6. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 16.0 [Internet]. Växjö (Sweden): EUCAST; 2026. [cited March 28, 2026]. Available from: https://www.eucast.org/fileadmin/eucast/pdf/breakpoints/v_16.0_Breakpoint_Tables.pdf
7. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Screening for ESBL and carbapenemases in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Salmonella enterica* for epidemiological purposes as part of the RAST procedure. Version 3.0 [Internet]. Växjö (Sweden): EUCAST; 2025. [cited March 28, 2026]. Available from: <https://www.eucast.org/bacteria/rapid-ast-in-blood-culture/resistance-detection-in-rast/>
8. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 2.0 [Internet]. Växjö (Sweden): EUCAST; 2017 Jul [cited 2026 Mar 28]. Available from: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf
9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). EUCAST technical guidance on the use of the combination disk test (CDT) for confirmation of ESBL in Enterobacterales. Version 3.0 [Internet]. Växjö (Sweden): EUCAST; 2025. [cited March 28, 2025]. Available from: https://www.eucast.org/fileadmin/eucast/pdf/guidance_documents/Guidance_document_Confirmation_of_ESBL.pdf
10. Dallenne C, Da Costa A, Decré D, Favier C, Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65(3):490–5. [CrossRef]
11. Sevim A. Trabzon'daki derelerin fekal koliform kirliliği ve koliform bakterilerin antibiyotik direnç profilinin araştırılması [yüksek lisans tezi]. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü; 2005.
12. Özgümüş OB, Sandallı C, Sevim A. Trabzon yöresindeki derelerden izole edilen çoğul antibiyotik dirençli koliform bakterilerde sınıf 1 integron gen kasetlerinin moleküler epidemiyolojisi. Trabzon: TÜBİTAK; 2005. Proje no: 105T315.
13. Čornejová T, Venglovsky J, Gregova G, Kmetova M, Kmet V. Extended spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* from municipal wastewater. *Ann Agric Environ Med*. 2015;22(3):447–50. [CrossRef]
14. Haque A, Yoshizumi A, Saga T, Ishii Y, Tateda K. ESBL-producing Enterobacteriaceae in environmental water in Dhaka, Bangladesh. *J Infect Chemother*. 2014;20(11):735–7. [CrossRef]
15. Zhang H, Zhou Y, Guo S, Chang W. Prevalence and characteristics of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae isolated from rural well water in Taian, China, 2014. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2015;22(15):11488–92. [CrossRef]
16. İçgen B. Hastane atık sularındaki antibiyotik direnç genlerinin yayılımının analizi. Ankara: TÜBİTAK; 2019. Proje no: 117Y245.
17. Cora M, Durukan İ, Uluçam Atay G, Kılıç AO. [Antibiotic resistance profiles of Gram negative bacteria isolated from wastewater]. *KSÜ J Agric Nat*. 2024;27(3):520–7. Turkish. [CrossRef]