

İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ALABALIKLARDA BAKTERİYEL BALIK PATOJENLERİNİN TEŞHİSİNDE
YENİ İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON YÖNTEMLERİNİN
UYGULANMASI



DOKTORA TEZİ

Ezgi DİNÇTÜRK

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

KASIM 2019

İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ALABALIKLARDA BAKTERİYEL BALIK PATOJENLERİNİN TEŞHİSİNDE
YENİ İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON YÖNTEMLERİNİN
UYGULANMASI**

DOKTORA TEZİ

Ezgi DİNÇTÜRK
(D140107001)

Su Ürünleri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Tevfik Tansel TANRIKUL

KASIM 2019

İKÇÜ, Fen Bilimleri Enstitüsünün D140107001 numaralı Doktora Öğrencisi Ezgi Dinçtürk, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “ALABALIKLARDA BAKTERİYEL BALIK PATOJENLERİNİN TEŞHİSİNDE YENİ İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON YÖNTEMLERİNİN UYGULANMASI” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı :

Prof. Dr. Tevfik Tansel TANRIKUL
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi

Jüri Üyeleri :

Prof. Dr. Artay YAĞCI
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

Prof. Dr. Orhan ÖZBEY
Dokuz Eylül Üniversitesi

Doç. Dr. Şükrü YILDIRIM
Ege Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Onur KARADAL
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi

Teslim Tarihi : 18.11.2019
Savunma Tarihi : 28.11.2019



Babaannem Müzeyyen Dinçtürk'e

ÖNSÖZ

Doktora tezim süresince bilgi ve deneyimleriyle her daim yol gösteren danışman hocam sayın Prof. Dr. T.Tansel Tanrıku'la, örneklerimin moleküler identifikasyonunda yardımcı olan ve laboratuvarımı açan sayın Prof. Dr. Jesús Lopez Romalde'ye ve Raman analiz sonuçlarımın değerlendirilmesinde değerli katkılar sunan sayın Dr. Öğr. Üyesi Günnur Güler'e teşekkürlerimi sunarım.

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarları Uygulama ve Araştırma Merkezi çalışanlarından Öğr. Gör. Evren Egesoy ve Öğr. Gör. Nusret Kaya'ya analizlerim süresince yardım ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimimin her aşamasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, akademik bakış açısı kazanmamda büyük katkılar sağlayan aileme ve yanımda olan tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu tez İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün 2017-TDR-FEBE-0033 nolu projesi tarafından desteklenmiştir.

Kasım 2019

Ezgi DİNÇTÜRK

İÇİNDEKİLER

Sayfa

| | |
|--|-----|
| ÖNSÖZ..... | v |
| İÇİNDEKİLER | vi |
| TABLO LİSTESİ..... | ix |
| ŞEKİL LİSTESİ..... | x |
| ÖZET..... | xiv |
| ABSTRACT | xv |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| 2.1 Bakteriyel Balık Hastalıklarının Tanımları | 3 |
| 2.1.1 Motil <i>Aeromonas</i> enfeksiyonu | 3 |
| 2.1.2 Laktokokkozis | 3 |
| 2.1.3 <i>Pseudomonas</i> enfeksiyonları | 4 |
| 2.1.4 Vibriozis | 4 |
| 2.1.5 Yersiniozis | 5 |
| 2.2 Bakteriyel Balık Hastalıklarının Tarihçeleri | 5 |
| 2.2.1 <i>Aeromonas</i> sp. enfeksiyonları | 5 |
| 2.2.2 Laktokokkozis | 6 |
| 2.2.3 <i>Pseudomonas</i> enfeksiyonları | 6 |
| 2.2.4 Vibriozis | 7 |
| 2.2.5 Yersiniozis | 7 |
| 2.3 Bakteriyel Balık Patojenlerinin Etiyolojileri | 8 |
| 2.3.1 <i>Aeromonas</i> sp. enfeksiyonları | 8 |
| 2.3.2 Laktokokkozis | 8 |
| 2.3.3 <i>Pseudomonas</i> enfeksiyonları | 9 |
| 2.3.4 Vibriozis | 9 |
| 2.3.5 Yersiniozis | 10 |
| 2.4 Bakteriyel Balık Patojenlerinin Epizootiyoloji ve Patojenitesi | 10 |
| 2.4.1 <i>Aeromonas</i> sp. enfeksiyonları | 10 |
| 2.4.2 Laktokokkozis | 11 |
| 2.4.3 <i>Pseudomonas</i> enfeksiyonları | 12 |
| 2.4.4 Vibriozis | 12 |
| 2.4.5 Yersiniozis | 13 |
| 2.5 Bakteriyel Balık Patojenlerinin Teşhisi..... | 14 |
| 2.5.1 <i>Aeromonas</i> sp. enfeksiyonları | 14 |
| 2.5.1.1 Klinik ve otopsi bulguları | 14 |
| 2.5.1.2 Histopatolojik bulgular..... | 14 |
| 2.5.1.3 İzolasyon | 14 |
| 2.5.2 Laktokokkozis | 15 |
| 2.5.2.1 Klinik ve otopsi bulguları | 15 |
| 2.5.2.2 Histopatolojik bulgular..... | 15 |
| 2.5.2.3 İzolasyon | 15 |
| 2.5.3 <i>Pseudomonas</i> enfeksiyonları | 16 |
| 2.5.3.1 Klinik ve otopsi bulguları | 16 |
| 2.5.3.2 Histopatolojik bulgular..... | 16 |
| 2.5.3.3 İzolasyon | 16 |
| 2.5.4 Vibriozis | 17 |

| | |
|---|-----------|
| 2.5.4.1 Klinik ve otopsi bulguları | 17 |
| 2.5.4.2 Histopatolojik bulgular..... | 17 |
| 2.5.4.3 İzolasyon | 18 |
| 2.5.5 Yersiniozis | 18 |
| 2.5.5.1 Klinik ve otopsi bulguları | 18 |
| 2.5.5.2 Histopatolojik bulgular..... | 18 |
| 2.5.5.3 İzolasyon | 19 |
| 2.6 Bakteriye Balık Patojenlerinin İdentifikasyonu | 19 |
| 2.7 Bakteriye Balık Patojenlerinin Kontrol, Aşılama ve Tedavisi | 20 |
| 2.7.1 <i>Aeromonas</i> sp. enfeksiyonları | 20 |
| 2.7.2 Laktokokkozis | 21 |
| 2.7.3 <i>Pseudomonas</i> enfeksiyonları..... | 22 |
| 2.7.4 Vibriozis..... | 23 |
| 2.7.5 Yersiniozis | 23 |
| 2.8 Bakteriye Balık Patojenlerinin Tanımlanmasında Alternatif İzolasyon Çalışmaları | 24 |
| 2.8.1 Kromojenik besiyerleri | 24 |
| 2.9 Bakteriye Balık Patojenlerinin Tanımlanmasında Alternatif İdentifikasyon Çalışmaları | 25 |
| 2.9.1 VITEK MS / MALDI –TOF | 28 |
| 2.9.2 Raman spektroskopisi | 29 |
| 3. MATERYAL VE METOT | 32 |
| 3.1 Örnekleme İstasyonları ve Tarihleri..... | 32 |
| 3.2 Bakteriye Balık Patojenlerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu..... | 34 |
| 3.3 Bakteriye Balık Patojenlerinin Alternatif Kromojenik Besiyerlerinde Üreme Performanslarının Belirlenmesi..... | 40 |
| 3.4 VITEK MS İle Bakteriye Balık Patojenlerinin İdentifikasyonu | 41 |
| 3.5 Bakteriye Balık Patojenlerinin SEM (Scanning Electron Microscope) ile Görüntülenmesi | 41 |
| 3.6 Raman Spektroskopisi İle Bakteriye Balık Patojenlerinin Spektrumlarının Belirlenmesi | 43 |
| 3.6.1 Mikrobiyal suşların hazırlanması..... | 43 |
| 3.6.2 Raman spektrometresi ile ölçümlerin gerçekleştirilmesi | 43 |
| 4. BULGULAR | 44 |
| 4.1 İzole Edilen Bakteriye Balık Patojenleri..... | 44 |
| 4.2 Klinik ve Patolojik Bulgular | 45 |
| 4.2.1 <i>Aeromonas hydrophila</i> | 45 |
| 4.2.2 <i>Lactococcus garvieae</i> | 48 |
| 4.2.3 <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 52 |
| 4.2.4 <i>Vibrio anguillarum</i> | 54 |
| 4.2.5 <i>Yersinia ruckeri</i> | 58 |
| 4.3 İzolasyon ve İdentifikasyon | 59 |
| 4.3.1 <i>Aeromonas hydrophila</i> | 59 |
| 4.3.2 <i>Lactococcus garvieae</i> | 63 |
| 4.3.3 <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 69 |
| 4.3.4 <i>Vibrio anguillarum</i> | 71 |
| 4.3.5 <i>Yersinia ruckeri</i> | 76 |
| 4.4 Bakteriye Balık Patojenlerinin Alternatif Kromojenik Besiyerlerinde Üreme Performansları | 82 |
| 4.4.1 <i>Aeromonas hydrophila</i> | 82 |

| | |
|---|------------|
| 4.4.2 <i>Lactococcus garvieae</i> | 83 |
| 4.4.3 <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 84 |
| 4.4.4 <i>Vibrio anguillarum</i> | 85 |
| 4.4.5 <i>Yersinia ruckeri</i> | 86 |
| 4.5 VITEK MS Sonuçları..... | 87 |
| 4.6 Bakteriyel Balık Patojenlerinin Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope – SEM) Görüntüleri | 88 |
| 4.7 İzole Edilen Bakteriyel Balık Patojenlerinin Raman Spektrumları | 94 |
| 4.7.1 <i>Aeromonas hydrophila</i> | 94 |
| 4.7.2 <i>Lactococcus garvieae</i> | 99 |
| 4.7.3 <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 105 |
| 4.7.4 <i>Vibrio anguillarum</i> | 110 |
| 4.7.5 <i>Yersinia ruckeri</i> | 116 |
| 5. TARTIŞMA | 124 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 151 |
| KAYNAKLAR | 153 |
| ÖZGEÇMİŞ VE YAYINLAR LİSTESİ..... | 180 |

TABLO LİSTESİ

Sayfa

| | |
|--|-----|
| Tablo 2.1: <i>A. hydrophila</i> , <i>L. garvieae</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>V. anguillarum</i> ve <i>Y. ruckeri</i> 'nin morfolojik ve biyokimyasal özellikleri | 20 |
| Tablo 2.2: Bakterilerin identifikasyonunda kullanılan bazı metotların avantajları ve eksik yönleri | 27 |
| Tablo 2.3: Bakteri hücresindeki makromoleküller, buldukları yerler ve kuru ağırlıktaki yüzdeleri | 30 |
| Tablo 4.1: Çalışma süresince örneklenen balık çiftlikleri, izole edilen patojenler, izolasyon tarihleri ve çalışma bulgularında belirtilen suş kodları..... | 44 |
| Tablo 4.2: Çalışma süresince örneklenen balık çiftlikleri, izole edilen patojenler, izolasyon tarihleri ve çalışma bulgularında belirtilen suş kodları (Devam). | 45 |
| Tablo 4.3: İzole edilen <i>A. hydrophila</i> suşlarının morfolojik ve API 20E test profilleri..... | 61 |
| Tablo 4.4: İzole edilen <i>L. garvieae</i> suşlarının morfolojik ve API Rapid ID 32 STREP test profilleri. | 65 |
| Tablo 4.5: İzole edilen <i>L. garvieae</i> suşlarının morfolojik ve API Rapid ID 32 STREP test profilleri (Devam). | 66 |
| Tablo 4.6: İzole edilen <i>P. fluorescens</i> suşlarının morfolojik ve API 20E test profilleri..... | 70 |
| Tablo 4.7: İzole edilen <i>V. anguillarum</i> suşlarının morfolojik ve API 20E test profilleri..... | 73 |
| Tablo 4.8: İzole edilen <i>Y. ruckeri</i> suşlarının morfolojik ve API 20E test profilleri.. | 78 |
| Tablo 4.9: Çalışmada izole edilen bakteriyel balık patojenleri. | 81 |
| Tablo 4.10: 5 farklı bakteriyel balık patojeninin 5 farklı kromojenik besiyerindeki üreme performansları. | 87 |
| Tablo 4.11: Bakteriyel balık patojenlerinin VITEK MS (MALDI-TOF MS) identifikasyon sonuçları. | 88 |
| Tablo 5.1: İzole edilen <i>A. hydrophila</i> suşları ile diğer araştırmacıların izolatlarının morfolojik ve biyokimyasal test profillerinin karşılaştırılması..... | 129 |
| Tablo 5.2: İzole edilen <i>L. garvieae</i> suşları ile diğer araştırmacıların izolatlarının morfolojik ve biyokimyasal test profillerinin karşılaştırılması..... | 130 |
| Tablo 5.3: İzole edilen <i>P. fluorescens</i> suşları ile diğer araştırmacıların izolatlarının morfolojik ve biyokimyasal test profillerinin karşılaştırılması..... | 131 |
| Tablo 5.4: İzole edilen <i>V. anguillarum</i> suşları ile diğer araştırmacıların izolatlarının morfolojik ve biyokimyasal test profillerinin karşılaştırılması..... | 132 |
| Tablo 5.5: İzole edilen <i>Y. ruckeri</i> suşları ile diğer araştırmacıların izolatlarının morfolojik ve biyokimyasal test profillerinin karşılaştırılması..... | 133 |
| Tablo 5.6: Bakteriyel balık patojenlerinin VITEK MS (MALDI-TOF MS) ve 16s rRNA gen sekanslarına göre identifikasyon yüzdelerinin karşılaştırılması. | 143 |

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

| | |
|--|----|
| Şekil 3.1: Örnekleme bölgeleri. | 32 |
| Şekil 3.2: 1 nolu bölgede örneklenen gökkuşağı alabalığı çiftlikleri. | 33 |
| Şekil 3.3: 2 nolu bölgede örneklenen gökkuşağı alabalığı çiftlikleri. | 33 |
| Şekil 3.4: 3 nolu bölgede örneklenen gökkuşağı alabalığı çiftlikleri. | 34 |
| Şekil 3.5: Örneklemlerin gerçekleştirildiği gökkuşağı alabalığı çiftliklerinden örnekler. | 35 |
| Şekil 3.6: Beton havuzlarda hasta balıkların tespiti. | 35 |
| Şekil 3.7: Havuzlardan hasta balık numunelerinin alınması. | 36 |
| Şekil 3.8: Örnekleme yapılan anaç balık havuzları. | 37 |
| Şekil 3.9: Balıklardan mikrobiyolojik ekimin gerçekleştirilmesi. | 37 |
| Şekil 3.10: Çalışmada kullanılan besiyerlerinin hazırlanması. | 38 |
| Şekil 3.11: Çalışmada kullanılan API 20E ve API rapid ID 32 STREP biyokimyasal test kitleri. | 39 |
| Şekil 3.12: Kromojenik besiyerine ekim. | 40 |
| Şekil 3.13: QUORUM Q150 RES kaplama cihazı. | 42 |
| Şekil 3.14: Carl Zeiss 300 VP SEM cihazı. | 42 |
| Şekil 3.15: Raman Spektrometresi. | 43 |
| Şekil 4.1: A, B: Vücut yüzeyinde furunkul oluşumu; C: Ventralde hemoraji; D: Vücut yüzeyinde ülser ve ekzoftalmus. | 46 |
| Şekil 4.2: A: Karaciğerde büyüme ve bağırsakta hemoraji; B: Karaciğer ve dalakta büyüme, bağırsakta hemorajik diyare; C: Karaciğerde peteşiyel hemoraji. | 47 |
| Şekil 4.3: Havuz yüzeyinde durgun yüzen gökkuşağı alabalıkları. | 48 |
| Şekil 4.4: A, B: Ekzoftalmus, asites ve renkte kararma, C: Perioküler kanama ve çift taraflı ekzoftalmus; D, E: Asites ve pelvik yüzgeç kaidelerinde hemoraji ve prolapsus. | 49 |
| Şekil 4.5: A: Örneklenen anaç balıklarda renkte kararma, perioküler kanama ve asites; B: Örneklenen anaç balıklarda perioküler kanama; C: Anaç balıkta prolapsus. | 50 |
| Şekil 4.6: Yavru balıkta çift taraflı ekzoftalmus. | 50 |
| Şekil 4.7: A: Abdominal boşlukta kanlı sıvı birikmesi, testislerde peteşiyel hemoraji ve hemorajik diyare; B: Karaciğer ve dalakta büyüme, yağ doku ve pilorik sekada peteşiyel hemoraji; C: Hava kesesinde peteşiyel hemoraji, bağırsakta hemorajik diyare; D: Periton duvarında ekimoz ve karaciğerde soluk renk ve peteşiyel kanama. | 51 |
| Şekil 4.8: A: Anaç balıkta periton duvarında ve hava kesesinde ekimoz; B: Anaç balıkta hava kesesi ve testislerde yaygın hemoraji, bağırsaklarda hemorajik diyare; C: Anaç balıkta dalak ve karaciğerde büyüme ve peteşiyel hemoroji ile yaygın hemoraji. | 52 |

- Şekil 4.9:** A, B: Renkte kararırma, kaudal yüzgeç ve dorsal yüzgeç gerisinde erime, kaudal yüzgeçte erime; C, D: Dorsal yüzgeç gerisinde erime. 53
- Şekil 4.10:** A: Dorsal yüzgeç gerisinde ve kaudal yüzgeçte erime, karaciğerde büyüme ve abdominal boşlukta kanlı sıvı toplanması; B: Dorsal yüzgeç gerisinde erime, karaciğer ve dalakta büyüme, bağırsakta kanlı diyare. 54
- Şekil 4.11:** A: Vücut yüzeyinde ülserler, asites ve ekzoftalmus; B: Vücut yüzeyinde ülser; C: Vücut yüzeyinde hemorajili fokal derin ülser; D: Solungaç kapağı altında derin ülser; E: Vücut yüzeyinde ekimoz. 55
- Şekil 4.12:** A: Vücut yüzeyinde ülser, pektoral yüzgeç kaidesinde hemoraji ve yüzgeç erimesi; B: Dilde ve alt çenede hemoraji; C: Anal yüzgeç kaidelerinde hemoraji ve prolapsus. 56
- Şekil 4.13:** A, B: Karaciğerde peteşiyel hemoraji; C: Karaciğerde soluk renk ve peteşiyel hemoraji; D: Midede sıvı birikmesi, yağ dokuda yaygın hemoraji, bağırsakta hemorajik diyare. 57
- Şekil 4.14:** A: Periokülör kanama ve renkte kararırma; B: Ağız çevresinde hemoraji; C: Yüzgeçlerde hemoraji. 58
- Şekil 4.15:** A: Periokülör kanama; B: Operkul çevresinde yaygın hemoraji; C: Ağızda hemoraji. 58
- Şekil 4.16:** A: Karaciğerde soluk renk ve peteşiyel hemoraji ve hemorajik diyare; B: Karaciğer ve dalakta büyüme, pilorik sekada yaygın hemoraji, bağırsakta hemorajik diyare; C: Karaciğer renginde solma ve peteşiyel hemoraji; D: Böbreklerde yaygın hemoraji; E: Pilorik sekada peteşiyel hemoraji. 59
- Şekil 4.17:** A: TSA'da *A. hydrophila* kolonileri B: *A. hydrophila* Gram boyama. ... 59
- Şekil 4.18:** A: EMB besiyerinde *A. hydrophila*, B: Cetrimide besiyerinde *A. hydrophila*, C: GSP besiyerinde *A. hydrophila*, D: Yersinia CIN besiyerinde *A. hydrophila*. 60
- Şekil 4.19:** A: TSA'da *L. garvieae* kolonileri B: *L. garvieae* Gram boyama. 63
- Şekil 4.20:** A: WS besiyerinde *L. garvieae*, B: GSP besiyerinde *L. garvieae* C: Cetrimide besiyerinde *L. garvieae*. 63
- Şekil 4.21:** A: TSA'da *P. fluorescens* kolonileri B: *P. fluorescens* Gram boyama. ... 69
- Şekil 4.22:** A: WS besiyerinde *P. fluorescens*, B: EMB besiyerinde *P. fluorescens*, C: Cetrimide besiyerinde *P. fluorescens*, D: GSP besiyerinde *P. fluorescens*, E: Yersinia CIN besiyerinde *P. fluorescens*. 69
- Şekil 4.23:** A: TSA'da *V. anguillarum* kolonileri B: *V. anguillarum* Gram boyama. 72
- Şekil 4.24:** A: TCBS agarda *V. anguillarum*, B: WS besiyerinde *V. anguillarum*, C: EMB besiyerinde *V. anguillarum*, D: Cetrimide besiyerinde *V. anguillarum*, E: GSP besiyerinde *V. anguillarum*, F: Yersinia CIN besiyerinde *V. anguillarum*. 72
- Şekil 4.25:** A: TSA'da *Y. ruckeri* kolonileri B: *Y. ruckeri* Gram boyama. 76
- Şekil 4.26:** A: WS besiyerinde *Y. ruckeri*, B: EMB besiyerinde *Y. ruckeri*, C: Cetrimide besiyerinde *Y. ruckeri*, D: GSP besiyerinde *Y. ruckeri*, E: Yersinia CIN besiyerinde *Y. ruckeri*. 76
- Şekil 4.27:** A: chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood besiyerinde *A. hydrophila*, B: chromID® CPS® Elite besiyerinde *A. hydrophila*, C: chromID® MRSA Smart besiyerinde *A. hydrophila*, D: chromID® *S. aureus* Elite besiyerinde *A. hydrophila*, E: chromID® Vibrio besiyerinde *A. hydrophila*. 82
- Şekil 4.28:** A: chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood besiyerinde *L. garvieae*, B: chromID® CPS® Elite besiyerinde *L. garvieae*, C:

| | |
|--|-----|
| chromID® MRSA Smart besiyerinde <i>L. garvieae</i> , D: chromID® <i>S. aureus</i> Elite besiyerinde <i>L. garvieae</i> , E: chromID® Vibrio besiyerinde <i>L. garvieae</i> | 83 |
| Şekil 4.29: A: chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood besiyerinde <i>P. fluorescens</i> , B: chromID® CPS® Elite besiyerinde <i>P. fluorescens</i> , C: chromID® MRSA Smart besiyerinde <i>P. fluorescens</i> , D: chromID® <i>S. aureus</i> Elite besiyerinde <i>P. fluorescens</i> , E: chromID® Vibrio besiyerinde <i>P. fluorescens</i> | 84 |
| Şekil 4.30: A: chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood besiyerinde <i>V. anguillarum</i> , B: chromID® CPS® Elite besiyerinde <i>V. anguillarum</i> , C: chromID® MRSA Smart besiyerinde <i>V. anguillarum</i> , D: chromID® <i>S. aureus</i> Elite besiyerinde <i>V. anguillarum</i> , E: chromID® Vibrio besiyerinde <i>V. anguillarum</i> | 85 |
| Şekil 4.31: A: chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood besiyerinde <i>Y. ruckeri</i> , B: chromID® CPS® Elite besiyerinde <i>Y. ruckeri</i> , C: chromID® MRSA Smart besiyerinde <i>Y. ruckeri</i> , D: chromID® <i>S. aureus</i> Elite besiyerinde <i>Y. ruckeri</i> , E: chromID® Vibrio besiyerinde <i>Y. ruckeri</i> | 86 |
| Şekil 4.32: VITEK MS/IVD/V.3.0 (bioMérieux, France) veritabanında sonuçların değerlendirilmesi..... | 87 |
| Şekil 4.33: <i>Aeromonas hydrophila</i> SEM görüntüleri..... | 89 |
| Şekil 4.34: <i>Lactococcus garvieae</i> SEM görüntüleri..... | 90 |
| Şekil 4.35: <i>Pseudomonas fluorescens</i> SEM görüntüleri..... | 91 |
| Şekil 4.36: <i>Vibrio anguillarum</i> SEM görüntüleri..... | 92 |
| Şekil 4.37: <i>Yersinia ruckeri</i> SEM görüntüleri..... | 93 |
| Şekil 4.38: CAH1 suşunun Raman spektrumu..... | 95 |
| Şekil 4.39: EAH1 suşunun Raman spektrumu..... | 96 |
| Şekil 4.40: CAH1 ve EAH1 suşlarının Raman spektrumları..... | 97 |
| Şekil 4.41: CAH1 ve EAH1 suşlarının ortalama değerleri..... | 98 |
| Şekil 4.42: ILG1 suşunun Raman spektrumu..... | 100 |
| Şekil 4.43: GLG1 suşunun Raman spektrumu..... | 101 |
| Şekil 4.44: ALG4 suşunun Raman spektrumu..... | 102 |
| Şekil 4.45: ILG1, GLG1 VE ALG4 suşlarının Raman spektrumları..... | 103 |
| Şekil 4.46: ILG1, GLG1 VE ALG4 suşlarının ortalama değerleri..... | 104 |
| Şekil 4.47: CPF1 suşunun Raman spektrumu..... | 106 |
| Şekil 4.48: CPF2 suşunun Raman spektrumu..... | 107 |
| Şekil 4.49: CPF1 ve CPF2 suşlarının Raman spektrumları..... | 108 |
| Şekil 4.50: CPF1 ve CPF2 suşlarının ortalama değerleri..... | 109 |
| Şekil 4.51: BVA1 suşunun Raman spektrumu..... | 111 |
| Şekil 4.52: EVA1 suşunun Raman spektrumu..... | 112 |
| Şekil 4.53: AVA1 suşunun Raman spektrumu..... | 113 |
| Şekil 4.54: BVA1, EVA1 ve AVA1 suşlarının Raman spektrumları..... | 114 |
| Şekil 4.55: BVA1, EVA1 ve AVA1 suşlarının ortalama değerleri..... | 115 |
| Şekil 4.56: AYR1 suşunun Raman spektrumu..... | 117 |
| Şekil 4.57: FYR1 suşunun Raman spektrumu..... | 118 |
| Şekil 4.58: BYR1 suşunun Raman spektrumu..... | 119 |
| Şekil 4.59: AYR1, FYR1 ve BYR1 suşlarının Raman spektrumları..... | 120 |
| Şekil 4.60: AYR1, FYR1 ve BYR1 suşlarının ortalama değerleri..... | 121 |
| Şekil 4.61: Bakteriyel balık patojenlerinin ortalama Raman spektroskopik sinyalleri..... | 122 |
| Şekil 4.62: Bakteriyel balık patojenlerinin Raman spektrumlarının karşılaştırılması..... | 122 |

| | |
|--|-----|
| Şekil 4.63: Bakteriyel balık patojenlerinin Raman spektrumlarının PCA sonuçları: <i>L. garvieae</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>A. hydrophila</i> kümeleri PC1'in pozitif tarafında gruplanırken, <i>Y. ruckeri</i> ve <i>V. anguillarum</i> PC1 ekseninin negatif tarafında gruplanmıştır. | 123 |
| Şekil 4.64: Hüresel biyokimyasalarda gözlenen farklılıklar (protein, lipid ve karbonhidrat bölgeleri arasındaki farklılıklar). | 123 |
| Şekil 5.1: Çalışma süresince gökkuşağı alabalığı çiftliklerindeki hasta balıklardan izole edilen bakteriyel balık patojenlerinin yüzde oranları. | 125 |
| Şekil 5.2: 16s rRNA gen sekanslarına göre izole edilen <i>A. hydrophila</i> suşlarının benzer taksonlarla karşılaştırılması. | 134 |
| Şekil 5.3: 16s rRNA gen sekanslarına göre izole edilen <i>L. garvieae</i> suşlarının benzer taksonlarla karşılaştırılması. | 135 |
| Şekil 5.4: 16s rRNA gen sekanslarına göre izole edilen <i>P. fluorescens</i> suşlarının benzer taksonlarla karşılaştırılması. | 136 |
| Şekil 5.5: 16s rRNA gen sekanslarına göre izole edilen <i>V. anguillarum</i> suşlarının benzer taksonlarla karşılaştırılması. | 137 |
| Şekil 5.6: 16s rRNA gen sekanslarına göre izole edilen <i>Y. ruckeri</i> suşlarının benzer taksonlarla karşılaştırılması. | 138 |
| Şekil 5.7: <i>A. hydrophila</i> , <i>L. garvieae</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>V. anguillarum</i> ve <i>Y. ruckeri</i> suşlarının Raman spektroskopisi ortalama değerleri. | 147 |

ALABALIKLARDA BAKTERİYEL BALIK PATOJENLERİNİN TEŞHİSİNDE YENİ İZOLASYON VE İDENTİFİKASYON YÖNTEMLERİNİN UYGULANMASI

ÖZET

Dünyada kültür balıkçılığına olan talebin artmasıyla birlikte su ürünleri sektörü de büyümekte, buna bağlı olarak karşılaşılan problemler de artmaktadır. Bakteriyel balık hastalıklarının sebep olduğu ölümler, balık çiftliklerinde ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Etken patojenin güvenilir şekilde izole edilerek, doğru ve hızlı identifiye edilmesi hastalıkların tedavi edilerek ekonomik kayıpların önüne geçilmesi açısından oldukça önemlidir. Bu araştırmada, Güney Ege Bölgesi'nde bulunan 10 adet gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliğinde hastalık vakaları tespit edilerek etken patojenler izole edilmiş, biyokimyasal ve moleküler identifikasyon sonuçları doğrultusunda *Aeromonas hydrophila*, *Lactococcus garvieae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio anguillarum* ve *Yersinia ruckeri* suşları tanımlanmıştır. Klinik mikrobiyolojide varsayımsal identifikasyonda kullanılan chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood, chromID® CPS® Elite, chromID® *S. aureus* Elite, chromID® *Vibrio* ve chromID® MRSA Smart kromojenik besiyerlerinin bakteriyel balık patojenlerinin izolasyonunda kullanılabilirliği ilk kez denenmiş, bu yeni besiyerlerinin etken patojenlerin tespitinde uygulanabilirliği değerlendirilmiştir. Bakterilerin ribozomal protein fraksiyonlarının belirlenmesine dayanan bir tanımlama yöntemi olan MALDI-TOF teknolojisi ile tanımlama yapan VITEK MS de bakteriyel balık patojenlerinin identifikasyonunda ülkemizde ilk kez denenmiştir. Ayrıca izole edilen bakteriyel balık patojenlerinin Raman spektroskopisi ile anlamlı spektrumları ilk kez belirlenmiştir. chromID® CPS® Elite'in *L. garvieae*, chromID® *Vibrio*'nun ise *V. anguillarum*'un izolasyonunda farklı koloni renkleri ile ayırt edici olduğu belirlenmiş, kullanıma uygun bulunmuştur. MALDI-TOF teknolojisine sahip VITEK MS ile *A. hydrophila*, *L. garvieae*, *P. fluorescens*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri* % 99,9 başarı oranı ile tanımlanmıştır. Ayrıca tanımlı bakterilerin Raman spektrumlarında polisakkarit, nükleik asit, aminoasit ve yağ asitlerinin band bölgelerinde identifikasyonda ayırt edici olacak farklılıklar belirlenmiş, bu metotla bakterilerin tanımlanmasında kullanılabilir ilk veriler elde edilmiştir. Mikrobiyolojide rutin olarak kullanılan biyokimyasal ve moleküler yöntemlere alternatif olarak ilk kez uygulanan kütle ve titreşimsel spektroskopik metotların, balıklarda hastalığa neden olan bakteriyel patojenlerin alternatif ve güvenilir teşhisinde kullanılabilirliği ortaya konmaya çalışılmıştır.

APPLICATION OF NEW ISOLATION AND IDENTIFICATION METHODS IN DIAGNOSIS OF BACTERIAL FISH PATHOGENS IN TROUT

ABSTRACT

The aquaculture industry has seen significant development through the demand for farmed fish, therefore, the problems have also been increasing. Mortality caused by bacterial fish diseases causes serious economic losses in fish farms. Reliable isolation of the causative pathogen, accurate and rapid identification are very important steps in terms of preventing economic losses by treating diseases. In this study, the diseased fish were determined from 10 different rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in South Aegean Region, the causative pathogens were isolated and according to biochemical and molecular identification results *Aeromonas hydrophila*, *Lactococcus garvieae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio anguillarum*, and *Yersinia ruckeri* were identified. The chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood, chromID® CPS® Elite, chromID® *S. aureus* Elite, chromID® Vibrio and chromID® MRSA Smart chromogenic mediums which were used in clinical microbiology for presumptive identification of pathogens were tested for bacterial fish pathogens for the first time and the utility of these new media for the detection of causative pathogen was evaluated. VITEK MS, which is an identification method based on the determination of ribosomal protein fractions of bacteria with MALDI-TOF technology, has been tested for the first time in our country in the identification of bacterial fish pathogens. Also, significant spectra of isolated bacterial fish pathogens were determined by Raman spectroscopy for the first time. The chromID® CPS® Elite was distinguished by different colors of the *L. garvieae* colonies when *V. anguillarum* was determined with different colony appearances in chromID® Vibrio and these have been found suitable for use. VITEK MS with MALDI-TOF technology identified *A. hydrophila*, *L. garvieae*, *P. fluorescens*, *V. anguillarum* and *Y. ruckeri* with a 99.9% success rate. Besides, distinctive differences in polysaccharide, nucleic acid, amino acid and fatty acids in the Raman spectra of identified bacteria were determined and the first data were obtained to use for identification of the bacteria with this method. As an alternative to routine biochemical and molecular methods used in microbiology, mass and vibrational spectroscopic methods can be used for alternative and reliable diagnosis of bacterial fish pathogens which cause disease in fish.

1. GİRİŞ

Dünyada balık tüketiminin artmasıyla beraber doğal stoklar talebi karşılayamamakta ve bu durum kontrollü ortamlarda yetiştirilen kültür balıklarına yönelik talebin yükselmesine neden olmaktadır. Kültür balıkçılığında ekonomik kayıplara neden olan en büyük etkenlerden birisi balık hastalıklarıdır. Yapılan çalışmalar, gelişmekte olan ülkelerde üretimde gerçekleşen kayıpların % 50'sine yakın oranda hastalıklara bağlı olduğunu ve yıllık gelir kaybının ise 6 milyar dolara ulaştığını göstermektedir [1]. Balıklarda görülen hastalıklar genellikle konak (balık), hastalık etkeni (patojen) ve stres faktörleri (çevresel koşulların uygun olmayan şekilde değişmesi, hijyen koşullarının sağlanamaması) arasındaki etkileşime bağlı olarak ortaya çıkmaktadır [2]. Özellikle sucul ortamda bulunan fırsatçı patojenler ile diğer hastalık etkenleri uygun koşulların oluşmasıyla patolojik etkilere ve büyük ekonomik kayıplara neden olan bakteriyel balık hastalıklarının görülmesine sebep olmaktadır. Patojen etkenlerin hızlı ve güvenilir teşhisi de enfeksiyöz hastalıklardan kaynaklanan kayıplarda büyük öneme sahiptir.

Klinik vakalardan izole edilen etkenlerin cinsini belirlemek için (*Staphylococcus* veya *Streptococcus* gibi), bakterilerin morfolojik özellikleri (koloni morfolojisi ve rengi gibi), mikroskop altındaki görünümü (Gram boyama gibi) ve reaktifler ile hızlı biyokimyasal testlerin (oksidaz ve katalaz aktivitesi gibi) kombinasyonları kullanılmaktadır. Tür seviyesindeki identifikasyon (*Staphylococcus aureus* gibi), o türe özgü biyokimyasal ve serolojik testler ile yapılmakta, doğruluk oranı yüksek spesifik bir sonuç için ise DNA'nın incelenmesi ile genomik data belirlenerek identifikasyon gerçekleştirilmektedir. Ancak, bakteri identifikasyonunda PCR temelli metotların en büyük dezavantajı, çalışma sırasında oluşacak kontaminasyon riskiyle birlikte rutin olarak kullanımda pahalı olmasıdır [3].

Balık hastalıklarının teşhisi konvansiyonel mikrobiyolojik, immünolojik ve moleküler yöntemler ile gerçekleştirilmektedir [1]. Etken patojenlerin identifikasyonunda çeşitli biyokimyasal ve fenotipik prosedürler manuel ve

otomatize platformlarda tek başına veya moleküler analizlerle desteklenerek kullanılmaktadır. Günümüzde bakteri identifikasyonu için kullanılan birçok metot bakterilerin genel veya seçici besiyerlerinde üremeleri ve ardından standart morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testlerin uygulanması temeline dayanmaktadır. Mikroorganizmaların izole edilmesinden biyokimyasal test sonuçlarının uygulanmasına kadar geçen süre 5 günü bulabilmektedir [4]. Ayrıca bu testler etkenlerin kesin teşhisinde tek başına yeterli olmamakta, bakterilerin nükleik asitleri temel alınarak geliştirilen moleküler yöntemlerle birlikte değerlendirildiğinde en sağlıklı sonucu vermektedir [5].

Tüm bu metotlar yorucu ve zaman alıcı olmakla beraber zaman zaman kesin sonuç da vermemektedir [6]. Hastalıkların ve etken patojenlerin hızlı ve kesin teşhisinde yeni, hassas ve spesifik tanımlama yöntemlerine ihtiyaç duyulmakta ve modern teknoloji ile birlikte farklı yöntemler geliştirilmektedir. Özellikle bakterilerin ‘parmak izi’ olarak adlandırılan protein ekspresyonlarındaki farklılıkların tespitine dayanan ve yüksek oranda doğruluk payıyla sonuç veren metotlar gün geçtikçe önem kazanmaktadır [3].

Bu çalışmada gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) (*O. mykiss*) çiftliklerinde sıklıkla görülen ve büyük ekonomik kayıplara neden olan bakteriyel balık patojenleri 10 farklı gökkuşağı balığı çiftliğinin izlenmesi sonucu izole edilip, klasik bakteriyolojik yöntemler ile tanımlanmış, klinik mikrobiyolojide varsayımsal identifikasyonda sıklıkla kullanılan kromojenik besiyerlerindeki üreme performansları belirlenmiştir. Ayrıca bakterilerin protein profillerinin belirlenmesine dayanan VITEK MS (Matrix-assisted laser desorption/ionization- Time of Flight mass spectrometry / MALDI-TOF MS) teknolojisi ile Raman spektroskopisinin hızlı optik tanımlamada kullanılabilirliği çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Bakteriyel Balık Hastalıklarının Tanımları

2.1.1 Motil *Aeromonas* enfeksiyonu

Aeromonas cinsi hareketli (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. veronii*, *A. schuberti*) ve hareketsiz Aeromonadlar (*A. salmonicida*) olmak üzere ikiye ayrılmakta ve doğada yaygın olarak görülmekle birlikte su, sediment ve birçok canlının bakteriyel florasında bulunmaktadır [7].

Bakteriyel Hemorajik Septisemi, Red Pest ve Aeromonad Septisemi olarak adlandırılan ve genellikle hemorajik septisemi ile seyreden *A. hydrophila* enfeksiyonları, tatlı su balıklarında görülen en önemli etkenlerden birisidir [8]. Geniş tuzluluk, pH ve sıcaklık aralıklarında çevresel faktörlere toleransı yüksektir [9]. Deride ülser, iç organlarda nekroz odaklı enfeksiyonlar ve kanama ile karakterize olmuştur [10].

Salmonidlerin en önemli hastalık etkenlerinden birisi olan *A. salmonicida*, furunkulosis etkeni olmakla birlikte balıklarda sistemik ve ülseratif vakalara da sebebiyet vermektedir [11;12]. Atlantik somon (*Salmo salar*) patojene en duyarlı, gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) ise en dirençli türdür.

2.1.2 Laktokokkozis

Laktokokkozis dünyada çeşitli balık türlerini etkileyen, önemli patolojik bozukluklara neden olan bir hastalıktır. [2;13]. Genellikle Streptokokkozis olarak adlandırılan Gram (+) koklar tarafından oluşturulan septisemi ile karakterize, ilk defa 1950'li yıllarda Japonya'da kafes yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalığından izole edilen enfeksiyöz bir hastalıktır [14]. Son yüzyılda etkenlerin genotipik karakterlerine göre uygulanan yeni teşhis yöntemlerinin geliştirilmesiyle *Streptococcus* cinsi içerisinde *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus* ve *Carnobacterium* yeni bakteriyel cinsler olarak sınıflandırılmıştır [15-19].

Streptokok kökenli enfeksiyonlar su sıcaklığına bağlı olarak ortaya çıkışına göre ikiye ayrılır; su sıcaklığının 15 °C üzerinde olduğu sulara yetiştiriciliği yapılan deniz ve tatlısu balıklarında *L. garvieae*, *Streptococcus iniae* (*S. iniae*), *Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*) ve *Streptococcus parauberis* (*S. parauberis*) sıcak su kok enfeksiyonlarına neden olur. Su sıcaklığının 15 °C'nin altında olduğu sulara ise soğuk su kok enfeksiyonu etkeni olarak *Vagococcus salmoninarum* (*V. salmoninarum*) ve *Lactococcus piscium* (*L. piscium*) hastalığa neden olur [20].

2.1.3 Pseudomonas enfeksiyonları

Pseudomonas türleri Gram (-) ve fırsatçı patojen olmakla birlikte suda, toprakta, sağlıklı balığın sindirim sistemi florasında bulunmakta, çevresel faktörlerde değişim olduğunda salgın hastalığa sebebiyet vermektedirler [21-25]. *Pseudomonas* spp. balık, kurbağa ve kaplumbağaların da dahil olduğu birçok sucul canlıda septisemiye ve yüksek oranda ölümlere neden olmaktadır [26;27]. Pseudomonas enfeksiyonları balıklarda 'Red Skin Disease' olarak adlandırılmakta ve hastalık meydana getiren altı türü bulunmaktadır: *Pseudomonas anguilliseptica*, *P. fluorescens*, *P. chlororapsis*, *P. plecoglossicida*, *P. pseudoalcaligenes* ve *P. putida* [2].

Balıklarda en sık görülen Pseudomonas enfeksiyon etkenlerinden biri olan *P. anguilliseptica* ilk olarak yılan balıklarından izole edilmiş, ağız çevresi, operkul ve vücudun ventral bölgesinde meydana getirdiği hemorajiler ile karakterize olan bir hastalık etkenidir [2].

Bir diğer önemli *Pseudomonas* türü olan *P. fluorescens* ise yüzgeç ve kuyruk erimesi ile ilişkili olup, etken ortamda stres faktörlerinin bulunması ile hastalık oluşturmaktadır [28]. *P. fluorescens*'in tatlısu ekosisteminde ve çevresinde doğal olarak bulunduğu bilinmekle birlikte birçok balık türünde septisemi ve ülseratif vakalara sebep olmaktadır [29]. İnsanlardan bildirilen vakalarda enfeksiyonların balık ve sucul ekosistemin yanı sıra kontamine ekipmanlar kullanılarak intravenöz infüzyon veya kontamine kanın transfüzyonu ile meydana geldiği bildirilmiştir [30].

2.1.4 Vibriozis

Vibriozis, *Vibrio* cinsine dahil türlerin neden olduğu en sık görülen balık hastalıklarından birisidir [31]. Deniz ve tatlı su balıklarında yüksek morbidite ve mortaliteye neden olmakla birlikte hemorajik septisemiyle karakterize, bulaşıcı bir hastalıktır [2;32;33]. *Vibrio salmonicida*, *V. damsela*, *V. vulnificus*, *V. tubiashii*, *V.*

carchariae, *V. cholerae*, *V. splendidus* ve *V. pelagius* gibi balıklarda hastalık etkeni olan türlerin yanı sıra en önemli türü ilk kez deniz yılan balıklarından izole edilen *Vibrio anguillarum* (*V. anguillarum*) dur [31;34]. Bergman'ın etkeni *V. anguillarum* olarak isimlendirmesinin ardından gerçekleştirilen filogenetik çalışmalar sonucu MacDonell ve Colwell 1985 yılında bakteriyi *Listonella* cinsine dahil etmiş ve *Listonella anguillarum* (*L. anguillarum*) olarak adlandırmışlardır [35]. Ancak günümüzde her iki nomenklatür de kullanılmaktadır [36].

V. anguillarum'un dünyanın çeşitli bölgelerinden ve farklı balık türlerinden izole edilmiş 23 O serogrubu bulunduğu bildirilmiştir ve en sık rastlanan serotipin O1 olduğu bilinmektedir [37;38].

Bu etkenlerin oluşturdukları hastalıklara kızıl çıban (red boil), kızıl veba (red pest), tuzlu su furunkülozisi (salt water furunculosis) ve kızıl hastalık (red disease) gibi farklı isimlendirmeler yapılmıştır [31;32;39-42]. Fakat vibrio türlerinin sebep olduğu enfeksiyonları ortak olarak tanımlamak amacıyla "Vibriosis" ismi standart olarak kabul edilmiştir.

2.1.5 Yersiniozis

Yersiniozis, *Yersinia ruckeri*'nin (*Y. ruckeri*) neden olduğu bakteriyel bir hastalık olmakla birlikte, özellikle alabalık yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara yol açan kontagiyöz bir hastalıktır. Hastalık etkeni Enterobacteriaceae familyasına dahil olup, *Yersinia* cinsinin bir türüdür [43]. Hastalık etkeni olan *Y. ruckeri* septisemi etkeni olup, akut vakalarında hemorajik septisemi semptomlarıyla karakterize olmuştur [44].

2.2 Bakteriyel Balık Hastalıklarının Tarihçeleri

2.2.1 *Aeromonas* sp. enfeksiyonları

Balıklarda sistemik ve ülseratif durumlara sebebiyet veren, furunkülozis etkeni *A. salmonicida*, ilk kez 1890 yılında Emmerich ve Weibel tarafından Almanya'da alabalık kuluçkahanelerinden bildirilmiş, patojenin kültürü yapılan salmonidlere özgü bir etken olduğu düşünülmüştür. Ancak günümüzde tatlısu, acısu ve deniz balıklarından birçok türün etkene duyarlı olduğu bilinmekle birlikte [45], 50'den fazla balık türünden izole edildiği bildirilmiştir [46-49]. Türkiye'de ise ilk kez Marmara Bölgesi'nde gökkuşağı alabalığı yavrularından izole edilmiştir [50;51].

Motil *Aeromonas* türlerinden olan *A. hydrophila* ise tatlı su habitatlarında en sık görülen etkidir [2]. Avrupa’da motil *Aeromonad*ların septisemik enfeksiyon etkeni olarak orta çağdan itibaren görüldüğü bildirilmiştir [52], ancak ilk izolasyonu 1891 yılında Sanarelli tarafından gerçekleştirilmiştir. Türkiye’de ise patojen ilk kez 1980 yılında Eskişehir’de gökkuşığı alabalığından izole edilmiş [53], ardından aynalı sazan ve japon balığı [54], gökkuşığı alabalığı [55], yılan balığı [56], çipura ve levrek [57], sazan [58;59] lepestes [60] ve kılıçkuyruk [61] gibi farklı türlerden bildirilmiştir [51].

2.2.2 Laktokokkosis

Streptokokkosis olarak adlandırılan septisemik, enfeksiyöz hastalık ilk kez Japonya’da 1950 yılında kafes yetiştiriciliği yapılan gökkuşığı alabalıklarında tespit edilmiştir [14]. *Streptococcus* cinsine dahil olan *L. garvieae* ise ilk kez Britanya’da sığır mastitislerinden izole edilmiş [19], balıklarda ise ilk kez 1974 yılında Japonya’da kültürü yapılan sarıkuyruk (*Seriola quinqueradiata*) balıklarında belirlenmiştir [62]. Ardından 1988’de İspanya’da gökkuşığı alabalıklarında görüldüğü rapor edilmiş [63], daha sonra İtalya [64], İngiltere [65], Tayvan [66], Bulgaristan, İsrail, Fransa [67] ve Yunanistan [68] gibi farklı ülkelerde yüksek mortalite nedeni olarak bildirilmiştir.

Türkiye’de ise ilk kez 1995 yılında Aydın Karacasu’da bir alabalık çiftliğinden izole edilmiş, ‘*Enterococcus* benzeri bakteri’ olarak tanımlanmıştır [69]. Etken *L. garvieae* olarak ise ilk kez 2001’de Ege Bölgesi’nde bulunan bir gökkuşığı alabalığı çiftliğinden raporlanmıştır [70].

2.2.3 *Pseudomonas* enfeksiyonları

Pseudomonas cinsi ilk kez 19. yüzyılın sonunda makro ve mikroskobik morfolojileri temel alınarak tanımlanmış, genotipik karakterlerin belirlenebilmesiyle *Pseudomonas* türlerine ait birçok grup bildirilmiştir [71;72]. Yapılan çalışmalar sonucunda *Pseudomonas* türleri floresan özelliği göstermeyenler (*P. aeruginosa*, *P. oleovarians*, *P. stutzeri*) ve floresan özelliği gösterenler (*P. fluorescens*, *P. lutea*, *P. syringae*, *P. putida*, *P. straminea*, *P. anguilliseptica*) olmak üzere iki ana grup belirlenmiştir [71]. Balıklarda özellikle *P. anguilliseptica* ve *P. fluorescens* patojen etkiye sahiptir.

P. anguilliseptica hastalık etkeni olarak ilk kez yılan balıklarında tespit edilmiş olup, Baltık ringa balığı (*Clupea harengus membras*) [73]; çipura (*Sparus aurata*) [74];

mandagöz mercan (*Pagellus bogaraveo*) [75] gibi birçok farklı türden bildirilmiştir. Türkiye’de ise levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve çipura (*S. aurata*) balıklarında görüldüğü rapor edilmiştir [51;76;77].

Pseudomonas septisemi etkeni olan *P. fluorescens* gümüş sazani (*Hypophthalmichthys molitrix*), kocabaş sazan (*Aristichthys nobilis*) [78;79] ve gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) gibi farklı türlerden bildirilmiş [80-82], Türkiye’de ise ilk izolasyonu Ege Bölgesi’nde çipura balıklarından olmuştur [76].

2.2.4 Vibriozis

Vibriozis etkeni olarak ilk tanımlanan ve en sık görülen tür olan *V. anguillarum* *Vibrio* genusuna dahil olup ilk kez 1718 yılında Bonaveri tarafından İtalya’da yılan balıklarından (*Anguilla anguilla*) bildirilmiştir [2;83;84]. Etken Canestrini tarafından 1893 yılında *Bacterium anguillarum* olarak adlandırılmış, Bergman ise 1909 yılında etkenin son bilimsel isimlendirmesini ilk kez görüldüğü yılan balıklarına ithafen *Vibrio anguillarum* olarak belirtmiştir [31;32;85;86].

Etkenin İtalya’da izole edilmesinin ardından Kanada [87], Japonya [88], Amerika [89], Avustralya [90], İngiltere [91] ve Danimarka [92] gibi birçok farklı bölgeden bildirilmiştir. Türkiye’de ise ilk kez 1993 yılında çipura balıklarından izole edilmiş [93;94], ardından levrek [95-98], mercan (*Pagrus pagrus*) [99] ve gökkuşağı alabalığı gibi farklı türlerden bildirilmiştir [38;100].

2.2.5 Yersiniozis

Yersiniozis hastalığı ilk kez Amerika Birleşik Devletleri’nde 1950’li yılların başında Rucker tarafından gökkuşağı alabalığından izole edilmiş [101], ardından özellikle Kuzey Amerika’da alabalık ve somon yetiştiriciliği yapılan bölgelerde endemik enfeksiyon olarak seyretmiştir [102]. Daha sonra Avustralya [103], İngiltere [104], Norveç [105], Fransa [106], İtalya [107] ve Güney Afrika [108] olmak üzere dünyanın çeşitli bölgelerinden bildirilmiştir [2;109]. Etken Türkiye’de ise ilk kez 1990 yılında Çağırğan ve Yürekli Türk tarafından gökkuşağı alabalığından izole edilmiş olup [110], ardından Isparta ve çevresindeki alabalıklardan izole edildiği bildirilmiştir [111].

İlk tespitinde hastalığa neden olduğu klinik semptomlardan dolayı kızıl ağız (red mouth) ve kızıl boğaz (red throat) isimlendirmesi yapılmış, zaman içerisinde kızıl karın hastalığı, bakteriyel hemorajik septisemi, Hagerman kızıl ağız hastalığı gibi

çeşitli şekillerde adlandırılmıştır [109;112;113]. The Fish Health Section of The American Fisheries Society son bilimsel isimlendirmeyi 1975 yılında “Enterik Kızıl Ağız Hastalığı” olarak bildirmiştir [109;113].

2.3 Bakteriyel Balık Patojenlerinin Etiyolojileri

2.3.1 *Aeromonas* sp. enfeksiyonları

A. hydrophila, Motil *Aeromonas* Enfeksiyonu (MAI) etkeni olup, neredeyse tüm tatlı su balıkları bu etkene duyarlıdır [12]. Gram (-) 0.8-1.0 x 1.0-3.5 µm boyutlarındaki hareketli basiller deniz balıklarında sık görülmemektedir. Etkenin 5-37 °C arasında üreyebilmesi soğuk su balıkları için de patojenite göstermesini sağlamaktadır [2;45]. Furunkulosis etkeni olan *A. salmonicida* tatlı su balıklarının olağan bakteriyel patojeni olup, denizde ve acıssularda da görülebilmektedir [12]. Salmonidlerin en önemli hastalıklarından biri olmakla birlikte, Atlantik somon en duyarlı, gökkuşuğu alabalığı ise en dirençli tür olarak bildirilmiştir [12]. Bu etken salmonid olmayan türler için de önemli bir patojendir. Adi sazan (*C. carpio*), koi (*C. rubrofasciatus*) Amerikan ve Japon yılan balıkları (*Anguilla rostrata*, *Anguilla anguilla*) en sık etkilenen türlerdir [12;114]. *A. salmonicida* fenotipik farklılıklarına göre 4 alt türü bulunmaktadır; *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes*, *Aeromonas salmonicida* subsp. *masoucida* ve *Aeromonas salmonicida* subsp. *smithia* [115;116]. Psikrofil olan *A. salmonicida*, *A. hydrophila*'nın tersine 37 °C'de üreme göstermemektedir [117].

2.3.2 Laktokokkozis

Laktokokkozis etkeni olan *L. garvieae* Streptococcaceae familyasının *Lactococcus* cinsinde yer almaktadır [2]. Hareketsiz, fakültatif anaerobik, Gram (+) kokların 10-45 °C arasında üreyebildiği bilinmekle birlikte optimum sıcaklığın 37 °C olduğu ve 50 °C'de üremenin görülmediği bildirilmiştir [2]. Etkenin bentik substratta ve suda yaygın şekilde bulunduğu, doğa balıklarında pek rastlanmazken, çiftlikte yetiştiriciliği yapılan balıklarda özellikle su sıcaklığının arttığı durumlarda salgın hastalık etkeni olduğu belirtilmiştir [62;117]. Patojen birçok farklı balık türünde hastalık etkeni olup stres faktörleriyle ilişkili olduğu bilinmektedir [117].

2.3.3 Pseudomonas enfeksiyonları

Tatlı su ekosistemlerinin baskın bileşenlerinden biri olan *P. fluorescens*, balıkların yaralı dokularını kontamine eden veya sekonder patojen olarak etki eden bir bakteridir [2;52]. 4 °C’de üreyebilirken 42 °C’de üreme gözlenmediği bildirilmiştir [2].

Balıklardan en fazla izole edilen Pseudomonad türü olan *P. anguilliseptica* ise Japon yılan balığı, Avrupa yılan balığı, Atlantik somonu, deniz alası, gökkuşağı alabalığı, çipura ve levrek gibi farklı tatlı su ve deniz balıklarından izole edildiği bildirilmiştir [45;73;118-122]. Etkenin 5-30 °C arasında üreme gösterdiği ancak 37 °C de üreme olmadığı belirtilmiştir [2;75]. *P. anguilliseptica*’nın K antijeninin varlığına bağlı olarak 3 farklı serotipi olduğu tespit edilmiştir. Japon yılan balıklarından izole edilen K+ ve K- serotipi ile ve ayu balıklarından izole edilen ayrı bir K+ serotipi bulunmaktadır [123]. Lopez-Romalde (2003) ve Romalde ve diğ. (2003) iki O-serotipin olduğunu bildirmiş, O1 serotipinin kalkan, levrek, çipura ve salmonidlerle, O2 serotipinin ise Japon ve Avrupa yılan balıklarıyla ilişkili olduğunu belirlemiştir [45;75;124].

2.3.4 Vibriozis

Vibriozis hastalığının spesifik etkeni olan *V. anguillarum* Vibrionaceae ailesinin *Vibrio* cinsine dahil olan *Vibrio* türlerinden birisidir. Gram (-), polar flagellumlu, hareketli, virgül veya çubuk biçiminde (0.5-1.5 µm), kapsülsüz ve sporsuz bir bakteridir [2]. *V. anguillarum*’un 15-30 °C arasında üreme gösterdiği bildirilmiştir [125].

V. anguillarum serolojik karakter açısından oldukça çeşitlilik göstermektedir. Toranzo ve diğ. 1987 yılında *V. anguillarum*’un 10 farklı serotipi olduğunu bildirmiş [126], Grises ve Ollevier 1995 yılında 16 [127], Pedersen ve diğ. ise 1999 yılında mevcut olanlara ilaveten 7 tane daha serotipin varlığını tespit ederek toplam serotip sayısının 23 olduğunu bildirmişlerdir [37;97]. Toranzo ve Barja (1990) levreklerde serotip O1’in, salmonidlerde ise serotip O1 ve O2’nin enfeksiyonlara neden olduğunu bildirmişlerdir [128]. En sık rastlanılan serotipin O1 olduğu bilinmektedir. Akuatik çevrenin normal florasında bulunan *V. anguillarum*’un çipura, levrek ve gökkuşağı alabalığı da dahil olmak üzere 50’den fazla tatlısu ve deniz balığından izole edildiği bildirilmiştir [94;125;129-134].

2.3.5 Yersiniozis

Yersiniozis etkeni olan *Y. ruckeri*, 1,5-2 µm x 0.5 µm boyutlarında, flagellalı, hareketli ve Gram (-) basildir [2;135]. Farklı Yersiniozis vakalarından izole edilmiş 6 serotipi bulunmakla birlikte, en çok karşılaşılan ve virülensi en yüksek olan serotip Tip I (Hagerman suşu) olarak bilinmektedir. Tip I serotipinin hem klinik hem de portör balıklardan izole edildiği bildirilmiştir. 1977 yılında O'Leary pasifik salmonlardan Tip I'e göre daha düşük virulanslı olan Tip II (O'Leary suşu) suşunu izole etmiş [113], ardından aynı serotipin ABD ve Kanada'da da görüldüğü bildirilmiştir [136]. Bullock ve diğ. (1977) ise 1963 yılında Avustralya'da gökkuşuğu alabalıklarından Tip III (Avustralya suşu) suşunu izole etmiş, bu üç serotip haricinde *Y. ruckeri*'nin Tip IV, V ve VI serotipleri de rapor edilmiş, ancak virülensleri hakkında yeterli bilgi bulunmadığı bildirilmiştir [137-142].

Alabalık ve diğer salmonidlerde septisemik karakterle seyreden Yersiniozis, en sık gökkuşuğu alabalıklarında görülmektedir, ancak *Salmo trutta*, *S. clarki*, *Oncorhynchus nerka*, *O. kisutch* ve *Salvelinus fontinalis*'den de izole edildiği bildirilmiştir [113]. Sazan (*C. carpio*) ve yılan (*A. anguilla*) balıklarının da hastalık etkenine karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir [44;143;144]. *Y. ruckeri*'nin inkübasyon süresinin 15 °C'de 1 hafta olduğu bildirilmiş, su sıcaklığı 10 °C'nin altına düştüğünde mortalitenin azaldığı belirtilmiştir. Ayrıca 15-18 °C gibi yüksek sıcaklıklarda portör balıklarda klinik semptomların görülmeye başlandığı rapor edilmiştir [12].

2.4 Bakteriyel Balık Patojenlerinin Epizootiyoloji ve Patojenitesi

2.4.1 *Aeromonas* sp. enfeksiyonları

A. hydrophila tatlı su ekosistemindeki canlılar için en önemli hastalık etkenlerinden biri olmakla birlikte genellikle aeromonad septisemi olarak da adlandırılan bakteriyel hemorajik septisemi ile karakterize olmuş bir hastalık etkenidir [117]. Organizmanın tatlı sularda [29;146], sucul bitkilerde ve balıklarda [147;148], balık yumurtalarında [149] ve hatta omurgasız canlılarla bile ilişkili şekilde [150] yaygın olarak bulunduğu belirtilmiştir. Patojen, sağlıklı balıkların bağırsak mikroflorasında bulunduğundan [151;152] stres [153] ve su sıcaklığının yükselmesi hastalığın çıkmasına ve mortaliteye neden olmaktadır [154-156]. Akut vakaların stok yoğunluğu, sıcaklık değişimi, elle müdahale gibi stres faktörleriyle ilişkili olduğu bildirilmiştir [117].

Grober ve diğ. (1978) tarafından yapılan deneysel enfeksiyon çalışmasında, hastalığın 9,4 °C ve üzerinde meydana geldiği tespit edilmiş, böylelikle patojenin soğuk sularda etkili olmadığı sonucuna varılmıştır [2;155]. *A. hydrophila* deniz balıklarıyla fazla ilişkilendirilmemiş olsa da Güneydoğu Asya'da *Chrysophrys major*'da lezyonlar görülerek izole edilmiştir [117;157].

Furunkulosis etkeni olarak bilinen *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* birçok tatlısu ve deniz balığında hastalık etkeni olarak bildirilmiş, özellikle Atlantik somon (*S. salar*), kahverengi alabalık (*S. trutta*), alp alabalığı (*Salvelinus alpinus*) ve kaynak alabalığı (*S. fontinalis*)'de yoğun şekilde karşılaştığı bildirilmiştir. Kronik ve akut vakaların seyri su sıcaklığı, balığın yaşı ve etkenin virulansıyla ilişkili olmakla birlikte, salgınlar genellikle su sıcaklığındaki ani değişimler, elle muamele, su kalitesi ve stok yoğunluğu gibi stres faktörlerinin oluşmasıyla meydana gelmektedir [158].

2.4.2 Laktokokkozis

Streptokokların neden olduğu enfeksiyonlar iki şekilde görülmektedir; su sıcaklığının 15 °C üzerinde olduğu sularda *Streptococcus iniae*, *S. agalactiae*, *S. parauberis* ve *L. garvieae*'nin hastalık etkeni olduğu sıcak su kok enfeksiyonları ve su sıcaklığının 15 °C'nin altında olduğu sularda *L. piscium* ve *V. salmoninarum*'un hastalık etkeni olduğu soğuk su kok enfeksiyonları [19]. Bir çeşit Streptokokkozis olan Laktokokkozis de *L. garvieae*'nin sebep olduğu ve kültürü yapılan salmonid ve deniz balıkları üretiminde % 50-80 oranında kayıplara neden olabilen bir hastalıktır.

L. garvieae'nin yüksek oranda organik materyal içeren sularda özellikle yılın en sıcak aylarında stres faktörleri doğrultusunda görüldüğü bildirilmiş [13;159] özellikle sıcaklığın 15 °C'nin üzerine çıkmasıyla mortaliteye ve ekonomik kayıplara sebep olduğu tespit edilmiştir [2].

Balık çiftliklerinde hastalık horizontal olarak taşınmakta [19] aynı kafeste bulunan sağlıklı ve yaralı balıkların birbirleri ile olan teması, fekal atıklar, kontamine havuzlar, enfekte balık transferi ve yabancı balıkçıl kuşların etken taşıyıcısı olmasıyla yayılma gerçekleşmektedir [160-162]. Özellikle asemptomatik vakalarda kontamine suyun ve bağırsak florasında bulunan etkenin enfeksiyonun yayılmasında başlıca sebepler olduğu belirtilmektedir [19;163;164].

Sarıkuayruk (*S. quinquerediata*) [62], kefal (*Mugil cephalus*) [66], tilapia (*Oreochromis niloticus*) [165], Japon yılan balığı (*A. japonica*) [62], Adriatik mersin

balığı (*Acipenser naccarii*) [166], büyük nehir karidesi (*Macrobrachium rosenbergii*) [167;168], gibi türlerden rapor edilen *L. garvieae*'e en duyarlı türün gökkuşağı alabalığı olduğu [169], sazan balığının ise (*C. carpio*) bu etkene karşı dayanıklı olduğu rapor edilmiştir [170].

Yapılan çalışmalarda *L. garvieae*'nin akut formunun yaklaşık 50 gramlık küçük balıklarda 100 gramlık erişkin balıklara oranla daha uzun süre gözlemlendiği ve ölüm oranlarının da daha yüksek olduğu tespit edilmiş [163], etkenin gökkuşağı alabalıklarında 5 gramdan 1 kilografa kadar tüm gruplarda gözlemlendiği belirtilmiştir [70;171].

Oportünist bir patojen olan *L. garvieae*'nin insanlarda enfeksiyona neden olduğu ilk kez 1991 yılında bildirilmiş [172], ardından birçok araştırmacı tarafından endokardit [173;174], karaciğer absesi [175], osteomyelit [176], spondilit [177] ve ikincil peritonit [178] vakalarından rapor edilmiştir.

2.4.3 Pseudomonas enfeksiyonları

Genellikle non-patojenik saprofit olarak nitelendirilen *P. fluorescens*, su, toprak ve balıkların bakteriyel florasında bulunmakla birlikte, fırsatçı bir patojen olarak doğa ve kültür balıklarında hastalık etkeni olarak görülebilmektedir [158]. Stres ve düşük su kalitesiyle birlikte seyredabilen hastalık etkeni, aşılama, travmatik yaralanmalar ve enfeksiyonları takiben görülebilmektedir [117].

Balıklardan en sık izole edilen *Pseudomonas* türü olan *P. anguilliseptica* Japon yılan balığı (*A. japonica*) [118], Avrupa yılan balığı (*A. anguilla*) [119], Atlantik somonu (*S. salar*), gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*), kahverengi alabalık (*S. trutta*) [73;120;121], çipura (*S. aurata*), levrek (*D. labrax*) ve kalkan [122] gibi farklı türlerden bildirilmiştir [179].

2.4.4 Vibriozis

İlk kez İtalya'da görülmesinin ardından hastalık Kanada [87], Norveç [86], Japonya, [88], Amerika [89], Avustralya [90] ve Danimarka [92] gibi pek çok ülkeden bildirilmiştir. Türkiye'de ise ilk kez çipura (*S. aurata*) balıklarından 1993 yılında rapor edilmiş [93;94] ardından levrek (*D. labrax*) [95-97], gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) [38;100] ve kefal (*Mugil cephalus*) [180] gibi farklı türlerden bildirilmiştir [181].

Vibriozis genellikle su sıcaklığının yüksek olduğu yaz aylarında, ortamda organik madde miktarının arttığı durumlarda görülmektedir [31;182]. Su sıcaklığı 13-16 °C dolaylarında hastalığın akut epizootilerde daha şiddetli görüldüğü, 9-10 °C ve aşağısındaki su sıcaklıklarında ise hastalığın oluşmasına rağmen ölümlerin azaldığı bildirilmiştir [42;183-185].

Su sıcaklığının arttığı yaz aylarında, özellikle su sıcaklığı 10 °C'yi aştığında, sudaki çözülmüş oksijen miktarı azaldığı ve stok yoğunluğunun fazla olduğu durumlarda hastalığın meydana geldiği bildirilmiştir [186].

Kanno ve diğ. (1989) vibriozisin yaygınlaşmasında su yoluyla bulaşmanın temel faktör olduğunu ancak direk temas, yüzgeçler, anüs ve solungaçlardan da patojenin vücuda girerek hastalık oluşturduğunu bildirmiştir [187]. Ayrıca kontamine deniz balıkları ile yapılan besleme sonucunda da vibriozisin görüldüğü belirtilmiştir [94;131;188].

2.4.5 Yersiniozis

Hastalık etkeni olan *Y. ruckeri* alabalık ve diğer salmonidlerde septisemi etkeni olup, gökkuşağı alabalığı en fazla etkilenen türdür. Ayrıca *S. clarki*, *S. fontinalis*, *S. trutta* ve *O.kisutch* gibi türlerin yanı sıra sazan (*C. carpio*) ve yılan balığı (*A. anguilla*)'nın da duyarlı olduğu bildirilmiştir [44;113;143;144].

Y. ruckeri'nin patojenik mekanizması hakkında yapılmış çalışmalar oldukça sınırlıdır. Genellikle insanlarda hastalık etkeni olan üç *Yersinia* türü (*Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* ve *Y. enterocolitica*) hakkında araştırmalar çoğunluktadır. İnsanları enfekte eden *Yersinia* türleri ile *Y. ruckeri*'nin patolojik mekanizmaları ve ortak virulens faktörleri arasında bağlantı kurmaya yönelik çalışmalar yürütülmüştür. Etkenlerin klinik belirtilerinin farklı olmalarına ve farklı şekilde yayılım göstermelerine rağmen, birçok ortak virulens faktörü tanımlanmıştır [189;190].

Balıklarda *Y. ruckeri* enfekte ya da taşıyıcı balıklarla direk temas yoluyla yayılmaktadır. Rucker (1966) *Y. ruckeri*'yle deneysel enfeksiyon yapılan balıklarda 2 ay sonra etken izole edilmiş ve taşıyıcı oldukları bildirilmiştir [101]. Lingg (1975) ise Yersiniozis geçiren gökkuşağı alabalığı popülasyonlarının yaklaşık % 25'inin kalın bağırsaklarında *Y. ruckeri* 'nin bulunduğunu ve hastalığın taşıyıcısı olduğunu rapor etmiştir [191].

Taşıyıcı balıklarda enfeksiyonun ortaya çıkmasında stres önemli bir faktördür. Hunter ve diğ. (1980) su sıcaklığı 25 °C'ye çıkarıldığında taşıyıcı balıklardan sağlıklı

balıklara *Y. ruckeri* bulaştığını bildirmişlerdir [192]. Rodgers (1992) ise ERM salgınından 2 ay sonra patojeni taşıyıcı balıkların fekal atıklarından izole edebildiklerini tespit etmiştir [193]. *Y. ruckeri*'nin sucul ortamda canlı ve inaktif olarak kalabildiği ve bakterinin fekal atıklar aracılığıyla düzenli olarak çevreye saçılmasının hastalığın yayılımında oldukça önemli olduğu bildirilmiştir [190].

2.5 Bakteriyel Balık Patojenlerinin Teşhisi

2.5.1 *Aeromonas* sp. enfeksiyonları

2.5.1.1 Klinik ve otopsi bulguları

A. hydrophila'nın etken olduğu hastalığın klinik bulgularında renkte kararma, iştahsızlık, ekzoftalmus, yüzgeçlerde erime, yüzgeç kaidelerinde hemoraji, abdomende şişlik, vücut yüzeyinde ve kaslarda hemoraji ile yüzeysel abseler görüldüğü bildirilmiştir [2;117]. Vücut yüzeyinde görülen hemorajilerin ülserli veya yüzeysel nekrotik lezyonlar şeklinde görülebileceği de rapor edilmiştir [117]. Akut vakalarda klinik belirtiler görülmeden ani ölümler olabileceği gibi, kronik vakalarda dermal lezyonlar ve inflamasyonlar gözlenmektedir [154]. *A. hydrophila* ile enfekte balıkların otopsi bulgularında ise asites, kas duvarlarında peteşiyel hemorajiler ve iç organlarda hemorajiler tespit edilmiştir [2].

A. salmonicida'nın etkeni olduğu furunkulozis hastalığı özellikle Atlantik somonlarda renkte kararma, iştahsızlık ve tank çıkışlarında toplanma ile belirti gösterirken, yüzgeç kaideleri ve solungaçlarda hemorajiye de rastlanabileceği bildirilmiştir. Daha büyük bireylerde ise hastalığın karakteristik belirtisi olan furunküllerin yanı sıra akut hemorajik septisemi de görülebilmektedir [117].

2.5.1.2 Histopatolojik bulgular

A. hydrophila ile enfekte balıkların histopatolojik incelemelerinde renal ve splenik hemopoietik dokuların yerini nekrotik hücrelere bırakması, kalp kası, karaciğer, gonad ve pankreasda fokal nekroz, dermiste yaygın ödem, epidermiste ülserasyonu takiben yaygın hemorajik nekroz belirlenmiştir [117].

2.5.1.3 İzolasyon

A. hydrophila'nın izolasyonunda nütrient agar veya TSA gibi seçici olmayan besiyerlerine böbrekten ekim yapılabileceği gibi, Rimler-Shotts besiyeri ya da pepton

beef ekstrakt glikojen agar da kullanılabilir [194-196]. 20-25 °C de 24-48 saatlik inkübasyon sonucunda, selektif olmayan besiyeri üzerinde krem renkli, yuvarlak, kabarık, 2-3 mm çapında yekpare koloniler görüldüğü bildirilmiştir [196]. Furunkulosis etkeni olan *A. salmonicida*'nın hasta balıklarda görülen lezyonlardan veya böbrekten standart, selektif olmayan besiyerlerine izole edilebileceği bildirilmiş, bu amaçla genel olarak TSA kullanıldığı belirtilmiştir. TSA'da 20-25 °C'de 3-4 gün inkübe edilen kolonilerin etrafında koyu kahve renkli pigment oluşumu gözlemlendiği, ancak pigment göstermeyen veya pigment oluşumu yavaş gelişen suşların da bulunduğu, bu nedenle hastalık şüphesi taşıyan en az 6 balığın furunkul ve böbreklerinden ekim yapılarak dikkatlice gözlenmesi önerilmiştir [2;197].

2.5.2 Laktokokkozis

2.5.2.1 Klinik ve otopsi bulguları

Laktokokkozisin klinik bulguları olarak eratik hareketler, renkte kararma, göz hasarı ve ekzofthalmus, gözde hemoraji, operküler bölgede hemoraji, yüzgeç kaidelerinde hemoraji ve abdomende şişlik görüldüğü bildirilmiştir [2].

Karın boşluğunda asidik/kanlı sıvı, karın duvarında hemoraji, şişmiş bağırsak, iç organlarda hemoraji ve solgun/benekli karaciğer hastalığının otopsi bulguları olarak rapor edilmiştir [2].

2.5.2.2 Histopatolojik bulgular

Laktokokkozisli balıkların histopatolojik incelemelerinde gözde retrobulbar ödem, hücresel infiltrasyon ve göz çukurunda hemoraji, solungaçlarda hiperemi, lamellerde infiltrasyon ile dalak, karaciğer ve kalpte enfarktüs nekroz görülebileceği bildirilmiştir [117].

2.5.2.3 İzolasyon

Hastalıktan ölmek üzere olan balıkların böbrek, dalak, bağırsak, karaciğer, göz ve kanından etkenin izole edilebileceği bildirilmiştir [169]. % 5 koyun kanı içeren Columbia Agar [198], BHIA, TSA [2], TSB, Bile Esculine Agar (BEA) [199] gibi zengin besiyerlerinde 22 °C'de 48 saat inkübasyon sonucu yoğun şekilde üreme

gözleendiği bildirilmiştir [2;62]. Cheng ve Chen (1999), *L. garvieae*'nin üremesi için optimum koşulların BHIA'da 25-30 °C ve pH 7-8 olduğunu rapor etmiştir [200].

2.5.3 Pseudomonas enfeksiyonları

2.5.3.1 Klinik ve otopsi bulguları

P. fluorescens enfeksiyonunun klinik belirtileri olarak kuyruk ve yüzgeçlerde erime, yüzgeç kaidelerinde hemoraji, abdomende şişlik, vücut yüzeyinde ve kaslarda hemoraji görüldüğü bildirilmiştir [2]. Hemorajik septiseminin akut veya kronik vakalarda görülebildiği, büyük hemorajik deri lezyonlarının en sık görülen klinik belirti olmakla birlikte, lezyonların görülmesini takiben yüksek oranda ölüm gözleendiği de belirtilmiştir [117]. *P. fluorescens* ile enfekte balıkların otopsi bulgularında ise karın boşluğunda sıvı birikmesi, kaslarda peteşiyel hemoraji, peritonda hemoraji ve kanlı eksüdat ile iç organlarda hemoraji gözlenmiştir [2].

P. anguilliseptica'nin etkeni olduğu hastalığın tipik klinik belirtileri olarak deride, ağız çevresinde, operkul ve vücudun ventral bölgesinde peteşiyel hemorajiler, otopsi bulguları olarak da peritoneumda hemoraji ve kanlı sıvı birikmesi ile iç organlarda hemoraji görülebileceği bildirilmiştir [2].

2.5.3.2 Histopatolojik bulgular

P. fluorescens enfeksiyonlarında histopatolojik olarak en temel değişim deri ve hemopoietik dokularda tespit edilmiştir. Dermal damarlarda hiperemi ve epidermiste ödem, dalak ve böbrek lezyonları interstisyel ve hemopoietik unsurlarda nekroz, melanomakrofaj merkezlerinde parçalanma belirlemiştir. Kronik vakalarda deri lezyonlarının tek belirgin anormallik olabileceği de bildirilmektedir [117].

2.5.3.3 İzolasyon

P. fluorescens'in izolasyonu birçok organdan *Pseudomonas* F agar, kanlı agar, TSA ve nütrient agar gibi standart besiyerlerine 22-28 °C'de 24-28 saat arasında gerçekleştirilebilmektedir [2;78;201].

P. anguilliseptica'nin izolasyonu balığın kan, böbrek, dalak ve karaciğerinden % 10 (v/v) at kanı ilaveli nütrient agara veya % 0,5 sodyum klorid (w/v) ilaveli nütrient agara ekim yapılarak 20-25 °C'de 7 gün inkübasyon sonucu gerçekleştirilebilmekte, küçük, yuvarlak, solgun gri renkli koloniler gözlenmektedir [2;118].

2.5.4 Vibriozis

2.5.4.1 Klinik ve otopsi bulguları

Hastalığın klinik belirtileri ilk kez Norveç’de yılan balıklarında Bergman (1909) [85], ardından İngiltere’de McCarthy (1976) tarafından tanımlanmıştır [114]. Uyuşukluk, yüzgeç kaidelerinde ve anüs etrafında hemoraji ve solungaç lamellerinde şişkinlik hastalığın klinik belirtilerdir [2;31;41]. Perakut vakalarda genç balıklarda ani ölümlerle birlikte renkte koyulaşma ve iştahta azalma görülürken, hastalığın akut formunda ise yüzgeç kaideleri ve anüs etrafında yoğun hemorajik lezyonlar ve kaslarda yer yer ülser ve şişkinlikler görülmektedir. Kronik vakalarda hastalığın klinik belirtileri daha bariz olmakla birlikte, pelvik ve pektoral yüzgeç ve anüs çevresinde, operkulumda, vücudun ventralinde ve ağız çevresinde kızarıklık şeklinde yoğun hemorajiler gözlenmektedir [2;12;31;202-204]. Hastalığın perakut formunun daha çok yavru balıklarda gözlendiği, büyük balıklarda enfeksiyonun şiddetli seyrettiği, genç ve yetişkin balıklarda ise daha çok akut ve kronik vakaların görüldüğü bildirilmiştir [10;31;42;205;206]. Ayrıca akut epizootiklerde, klinik bulgulara rastlanmaksızın ölümlerin görüldüğü de rapor edilmiştir [31;207-210]. Kas duvarlarında peteşiyel hemorajiler, peritoneumda hemoraji ve periton boşluğunda kanlı eksudat birikimi, iç organlarda hemoraji ve hiperemi, böbrek, karaciğer ve dalakta büyüme ve nekroz hastalığın otopsi bulguları olarak bildirilmiştir [2;12].

2.5.4.2 Histopatolojik bulgular

V. anguillarum’un histopatolojik etkileri olarak iskelet kaslarında ödem, hiperemi, nekroz, damar lümenlerinde bakteri kümeleri, solungaçlarda ödem ve nekroz, kalpte hücre infiltrasyonları, endomizyumlarda yırtılmalar, karaciğerde kanama ve hiperemi ile hepatositlerde intrasitoplazmik vakuoller, dalakta hiperemi, nekroz ve ödem ile mide, pilorik seka ve bağırsak epitellerinde nekrozlar tespit edildiği bildirilmiştir [42]. Perakut vakalarda kardiyak miyopati, renal ve splenik nekroz ile periorbital ödem, akut vakalarda daha az yaygın kardiyak lezyonlarla birlikte deri lezyonlarıyla karakterize, kas hücrelerine derin şekilde işlemiş olan hipodermal inflamatuvar odaklar görüldüğü rapor edilmiştir [117].

2.5.4.3 İzolasyon

Patojenin enfekte dokudan % 0,5-3,5 (w/v) oranında sodyum klorid ile zenginleştirilmiş TSA [211], nutrient agar [212;213], BHIA [214] ve etkenin izolasyonunda selektif besiyeri olan tiyosülfat sitrat safra tuzu sukroz agar (TCBS)'a yapılan ekim sonucunda 48 saat içerisinde izole edilebileceği bildirilmiştir [2;215]. TCBS agar üzerinde sarı renkli koloniler gözlenirken, diğer besiyerlerinde krem/beyaz renkli koloni oluşumu görülür [31]. Optimum üremenin 18-20 °C arasında gerçekleştiği, ancak 5-37 °C aralığında üremenin gözlemlendiği de rapor edilmiştir [4].

2.5.5 Yersiniozis

2.5.5.1 Klinik ve otopsi bulguları

Yersiniozis tüm boydaki balıklarda görülmektedir, ancak özellikle küçük balıklarda akut, büyük balıklarda ise kronik olarak seyretmektedir [190]. Hastalık öncelikle düşük mortaliteyle kendini göstermekte, ardından artan ölümlerle kitlesel kayıplara neden olmaktadır [190;216]. Kronik olarak enfekte balıkların yüksek stok yoğunluğu, su kalitesinin bozulması gibi yoğun stres koşullarına maruz kalmasıyla hastalığa bağlı kayıplar ciddi oranlara ulaşabilmektedir [216].

Hasta balıklarda yüzeye yakın yüzme, letarji, iştah kaybı, ekzoftalmus, renkte koyulaşma, abdomende sıvı toplanmasına bağlı asites, baş, ağız ve ağız çevresinde subkutan hemorajiler, vücut yüzeyinde, yüzgeç kaideleri ve yan al çizgi üzerinde hemorajiler gözlenmektedir [2;190;217]. Ekzoftalmusun genellikle orbital hemorajiler, bazen de gözün çevresinde tespit edilen hemorajik halkalar ile beraber görüldüğü bildirilmiştir [101;190;216;218].

Otopside karaciğer, pankreas, pilorik seka, hava kesesi ve lateral kaslarda peteşiyal hemorajiler gözlenmektedir. Dalak genellikle büyümüş ve siyah renktedir. Bağırsak yangılı, kalın, opak ve irinli sıvı ile doludur [2;101;190;216].

2.5.5.2 Histopatolojik bulgular

Histopatolojik çalışmalarda birçok organda inflamasyon ve genel septisemi, dalak, karaciğer, kalp, böbrek ve solungaçlarda peteşiyel hemoraji görüldüğü bildirilmiş, solungaçlarda ikinci lamellerin epitelyum hücrelerinde ödem, hiperemi ve

deskuamasyon şekillenmiştir [190;216;219]. Ayrıca, böbrek, dalak ve karaciğerde fokal nekrozlarla tespit edildiği bildirilmiştir [190;216;217;219].

2.5.5.3 İzolasyon

Patojenin BHIA ve TSA gibi rutin bakteriyolojik besiyerlerine böbreklerden yapılan ekim sonucunda izole edilebileceği, 20-25 °C de 48 saatlik inkübasyon sonucunda yuvarlak, kabarık, beyazımsı, 2-3 mm çapında yekpare koloniler gelişeceği bildirilmiştir [135]. Klasik besiyeri kullanımında hızlı üremenin gözleendiği patojenin Columbia blood agar besiyerinde [220] ve MacConkey agarda [220] kolaylıkla üredığı de rapor edilmiştir [190].

Y. ruckeri için 3 farklı selektif besiyeri geliştirilmiştir [193;222;223]. Waltman-Shotts besiyerinde patojenin Tween 80'i hidrolizi sonucunda koloniler etrafında çözünmeyen kalsiyum tuzları çökelti oluşturmaktadır. Rodgers (1992) tarafından geliştirilen ornitin deoksikolat besiyeri ile Furones ve diğ. (1993)'nin TSA'ya % 1 (w/v) oranında SDS, 100 µg/ml koomassie parlak mavi ve 100 µg/ml kongo kırmızı katarak geliştirdiği besiyeri de selektif amaçla kullanılmaktadır [2;193;223].

2.6 Bakteriyel Balık Patojenlerinin İdentifikasyonu

A. hydrophila, *L. garvieae*, *P. fluorescens*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri*'nin morfolojik ve biyokimyasal karakterleri Tablo 2.1'de sunulmuştur.

Tablo 2.1: *A. hydrophila*, *L. garvieae*, *P. fluorescens*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri*'nin morfolojik ve biyokimyasal özellikleri [2].

| | <i>A. hydrophila</i> | <i>L. garvieae</i> | <i>P. fluorescens</i> | <i>V. anguillarum</i> | <i>Y. ruckeri</i> |
|----------------------------|----------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|
| Koloni rengi | Beyaz | Beyaz | Beyaz/floresan | Beyaz | Beyaz |
| Çomak/kok | Çomak | Kok | Çomak | Çomak | Çomak |
| Hareket | + | - | + | + | + |
| Oksidaz | + | - | + | + | - |
| Katalaz | + | - | + | + | + |
| Gliding hareket | - | - | - | - | - |
| Flagella ile hareket | + | - | + | + | + |
| Aerial hif | - | - | - | - | - |
| Endospor | - | - | - | - | - |
| Asit fast boyama | - | - | - | - | - |
| O/F metabolizma | F | F | O | F | F |
| L-cysteine ihtiyacı | + | - | + | . | . |
| Aerobik üreme | + | + | + | + | + |
| Arjinin dihidroliz | Değişken | | Değişken | - | - |
| β-galaktozidaz | + | Belirtilmemiş | - | + | + |
| α-galaktosidaz | . | Belirtilmemiş | . | Belirtilmemiş | . |
| Indole | + | . | - | + (istisna olabilir) | - |
| Koagülaz | - | | | | |
| H ₂ S | | - | - | - | - |
| Lizin dekarboksilaz | - | . | - | - | + |
| Hemoliz | + | + | Belirtilmemiş | + | Belirtilmemiş |
| Metil red | - | | Belirtilmemiş | + | + |
| Voges Proskauer reaksiyonu | Değişken | . | - | Belirtilmemiş | - |
| Nişasta eritmesi | + | Belirtilmemiş | - | + | Belirtilmemiş |
| Jelatini eritmesi | + | . | + | + | + |
| Maltozdan asit üretimi | + | . | . | + | + |
| 10 °C'de üreme | . | + | . | . | . |
| 30 °C'de üreme | + | . | + | + | + |
| 37 °C'de üreme | + | + | + | - | + |

+: pozitif; -: negatif

2.7 Bakteriyel Balık Patojenlerinin Kontrol, Aşılama ve Tedavisi

2.7.1 *Aeromonas* sp. enfeksiyonları

İşletmelerde *Aeromonas* cinsine dahil tüm patojenlerin etkilerinden sakınmak için en öncelikli adım etkili bir yöneticilik olacaktır. Kapalı devre sistemler ile suyun tekrar kullanıldığı kuluçkahanelerde ozonlama, filtrasyon ve ultraviyole ile dezenfeksiyonun *A. hydrophila*'ya bağlı enfeksiyonların görülmesinde etkili olduğu bildirilmiştir [45;224;225]. Motil *Aeromonad* septisemiler genellikle stresle ilişkili olarak görüldüğünden, su sıcaklığının yükselmesi, sudaki çözülmüş oksijen

konsantrasyonunun düşmesi, suda amonyum ve karbondioksit oranının artması gibi faktörlerin balıklarda strese neden olarak motil *Aeromonas* enfeksiyonlarına sebebiyet verdiği bildirilmiştir [45;226;227].

A. hydrophila'nın kontrolü için rekombinant aşılarda deneysel olarak geliştirilmekte olup, henüz ticari aşı bulunmamaktadır. İnaktive tüm hücre, ECP (extracellular product) veya OMP (outer membrane protein) aşılarda immersiyon, enjeksiyon veya oral olarak uygulamasının olumlu sonuçlar verdiği belirtilmiştir [2;228-233]. Schachte (1978) en etkili immun tepkisinin enjeksiyon yöntemi ile uygulanan aşılarda tespit ettiklerini belirtmiş [228], Ruangpan ve diğ. (1986) nil tilapialarında intraperitoner olarak uyguladıkları aşılarda iki hafta içerisinde tam koruma sağladığını bildirmiştir [231]. Yasumoto ve diğ. (2006) lipozomlara *A. hydrophila* antijenleri sıkıştırarak ve günde 30 µl/balık/gün dozunda 3 gün süresince uyguladığı oral aşılamadan 2 ve 3 haftalarında humoral antikorların oluştuğunu ve 22 gün sonunda *A. hydrophila* ile deneysel olarak enfekte edilen balıklara koruma sağladığını bildirmiştir [234]. Lamers ve Haas (1983) ısı ile inaktive edilmiş aşılarda (60 °C/1 saat) formalin ile inaktive edilenlerden (% 0,3 formalin) daha etkili olduğunu, ancak aşının konsantrasyonu ile içerdiği hücre sayısının immün tepki oluşmasında önemli faktörler olarak göz önünde bulundurulması gerektiği de belirtilmiştir [2;230].

A. hydrophila enfeksiyonlarına karşı uygulanan kemoterapötikler *A. salmonicida* ile benzerlik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda *A. hydrophila*'nın kloramfenikol, nitrofurantoin, eritromisin, ampisilin, novobiosin, tetrasiklin, sulfonamid ve streptomisin de dahil olmak üzere birçok antimikrobiyal bileşiğe karşı dirençli olduğu bildirilmiştir [2;235;236]. Ayrıca De Paola (1988) *A. hydrophila* ile enfekte kedibalıklarının % 38 oranında oksitetrasikline karşı dirençli olduğunu da bildirmiştir [236].

2.7.2 Laktokokkozis

Laktokokkozis kaynaklı ölümlerin % 50'sinden fazlası yaz aylarında görülmekle birlikte hastalığın tedavisinde kemoterapötikler bakteri direnç geliştirdiğinden etkili olmamaktadır [237]. Antibiyotik tedavisi gün geçtikçe etkisini yitirmekte [238-240], aşılama hastalığın kontrolü için en etkili yöntem olarak bildirilmektedir [241]. Laktokokkozis'in kontrolü için inaktive aşılarda geliştirilmiş olup [198;242], aşılamadan mortalite oranlarının düşürülmesinde üç kat etkili olduğu tespit edilmiştir

[243]. Yapılan çalışmalarda intraperitoneal aşuların laktokokkozise karşı iyi bir koruma gerçekleştirdiği bildirilmiştir [244-246]. Vendrell ve diğ. (2007) inaktive *L. garvieae* aşısının gökkuşağı alabalığındaki etkisini araştırdıkları çalışmalarında aşılu grupta yaşama oranı % 94 iken, kontrol grubunda bu oranın % 4'e düştüğünü tespit etmiş [246], Ravelo ve diğ. (2005) ise mineral yağ içermeyen adjuvant aşuların koruma süresini artırdığını bildirmiştir [247].

L. garvieae'nin etkeni olduğu laktokokkozisin tedavisinde amoksisillin, oksitetrasiklin, eritromisin, doksisisiklin gibi çeşitli antibiyotiklerin kullanıldığı bilinmekle birlikte [248], suşların izole edildikleri bölgelere göre de duyarlılıklarının farklılık gösterebileceği belirtilmiştir [247;249]. Kubilay ve diğ. (2005) ise Türkiye'den izole edilen *L. garvieae* suşlarının eritromisine duyarlı olduğunu tespit etmiştir [250].

2.7.3 Pseudomonas enfeksiyonları

Pseudomonas enfeksiyonlarının direkt olarak kötü çevre koşullarıyla ilişkili olmasından dolayı, stok yoğunluğunun azaltılması, su kalitesinin artırılması gibi balığı doğrudan etkileyecek çevresel düzenlemelerin gerçekleştirilmesi hastalığın görülme olasılığını da düşürecektir. Ayrıca, intraperitoneal olarak enjekte edilen kanamycin ve oral olarak uygulanan oksitetrasiklinin de hastalıkla mücadelede etkili olduğu rapor edilmiştir [117;251].

Hastalığın klinik vakalarında benzalkonyum klorür (suya 1-2 mg/L oranında/1 saat), malaşit yeşili (suya 1-5 mg/L oranında / 1 saat) ve furanace (suya 0.5-L mg/l oranında/ 5-10 dakika) banyo tedavisinin etkili olduğu bildirilmiştir [252]. Ayrıca yapılan çalışmalarda etkenin tetrasiklin, kanamisin, gentamisin ve nalidixic aside karşı duyarlı, oksitetrasiklin ve amikasine orta duyarlı ve kloramfenikol, penisilin ve eritromisine karşı ise dirençli olduğu belirtilmiştir [2;79;82].

P. anguilliseptica'ya karşı antibiyotik tedavisinin etkili olmadığı bilinmekle birlikte, çevresel stresle ilişkili olan hastalığa karşı stres faktörlerinin ortadan kaldırılması önerilmektedir [117]. Ayrıca su sıcaklığının 26 °C'nin üzerine çıkarılmasının da ölüm oranlarını azalttığı bildirilmiştir [117;253].

P. fluorescens için ticari bir aşı olmamakla birlikte, çeşitli deneysel çalışmalar bulunmaktadır [254].

2.7.4 Vibriozis

Hastalığın erken evrelerinde kloramfenikol, flumekuın, nitrofurıl, oksitetrasiklin, oksolinik asit, furanace ve sülfamerazinin yeme ilave edilerek verilmesinin vibriozisin kontrolünde oldukça etkili olduğu bildirilmiştir [2;255]. Ancak antibiyotik kullanımının R-faktörüne bağlı olarak zamanla direnç riski oluşturduğu, özellikle streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol ve sülfonamidlerin kullanımında dikkatli davranılması gerekmektedir [2;256]. Parin ve diğ. (2016) Ege Bölgesi'ndeki gökkuşadı alabalığı çiftliklerinden izole edilen *V. anguillarum* suşlarının kloksasilin, trimetoprim/sulfametoksazol , ampilsilin ve eritromisine karşı % 100 dirençli olduğu da bildirilmiştir [257].

V. anguillarum ile ilgili oldukça başarılı birçok aşı çalışması bulunmaktadır. Ticari formalin-inaktive aşılarda sıklıkla kullanılmakla birlikte deneysel olarak banyo yöntemi ile aşılardan Atlantik halibut [258;259], Afrika kedibalığı [260] ve levrekte [261] hayatta kalma yüzdesi % 100 olarak bildirilmiştir. Ayrıca aşılardan balıkların daha sağlıklı olduğu ve büyüme parametrelerinin aşılardan balıklara göre çok daha verimli olduğu belirtilmiştir [2].

2.7.5 Yersiniozis

Y. ruckeri'nin tedavisinde genellikle antibiyotik kullanılmaktadır. Rucker (1966), 5 gün süresince sülfadimidin tedavisinin ardından takip eden 3 gün boyunca kloramfenikol veya oksitetrasiklin uygulaması önermiştir [101]. Deneysel ve doğal enfeksiyonlarda dozu artırılan sülfonamid tedavisinin tedavi için etkili olduğu bildirilmiştir [262]. Rodgers ve Austin (1983) gökkuşadı alabalıklarında ERM tedavisi ve profilaksi amacıyla oksolinik asit kullandıklarını rapor etmişlerdir [263]. Ayrıca *Y. ruckeri*'nin birçok antibiyotiğe karşı duyarlı olduğu bilinmektedir [190] ve çeşitli kemötörapatlara karşı ise sonradan kazanılmış direnç sahibidir. Post (1987) ABD'de *Y. ruckeri* izolatlarının farklı terapotik seviyelerdeki sülfamerazin ve oksitetrasikline karşı tam direnç gösterdiğini [264], De Grandis ve Stevenson (1985) ise etkenin tetrasiklin ve sülfonamid gruplarına dirençli olduğunu bildirmişleridir [265].

Yersiniozis aşı ile kontrol altına alınan ilk bakteriyel balık hastalıklarından biri olmakla birlikte kontrolünde uzun zamandan beri immersiyon, intraperitoneal ve oral olarak uygulanan birçok ticari aşı kullanılmaktadır [217;266].

2.8 Bakteriyel Balık Patojenlerinin Tanımlanmasında Alternatif İzolasyon Çalışmaları

2.8.1 Kromojenik besiyerleri

Bakterilerin izolasyonunda genel besiyerleri, kan, serum, maya, glikoz gibi maddelerle zenginleştirilmiş besiyerleri, sadece istenilen mikroorganizmaların üremesine yönelik hazırlanan selektif veya besiyeri üzerinde farklı morfoloji ve renkte koloni oluşturan differensiyal besiyerleri kullanılmaktadır [267]. Patojenik bakterilerin izolasyonunda geleneksel olarak genel besiyerleri kullanılmakta ve bu metotla çok çeşitli bakterinin üremesine olanak sağlanarak, koloni görünümüne bağlı olarak şüpheli patojenler belirlenmektedir. Ancak bu durumda birçok kommensal bakteri de ortamda üremekte, serolojik ve biyokimyasal testler ile ayırt edilmeleri gerekmektedir [268]. Bakteriyel balık patojenlerinin izolasyonunda da rutin olarak TSA ve BHIA gibi genel besiyerleri kullanılmaktadır. Ancak, saf kültür elde etmek için tek bir metot ya da inkübasyon koşulunun bulunmadığı, mutlaka farklı besiyerleri ve metot kombinasyonlarının da denenerek geliştirilmesi gerektiği bildirilmiştir [2].

Bakteriyel balık patojenlerinin öntanısı, hastalığın erken teşhisi ve buna bağlı olarak balık çiftliklerindeki kayıpların önüne geçilmesini sağladığından oldukça önemlidir. Bu nedenle seçici ve diferensiyal besiyerlerinin bakteriyel balık patojenlerinin izolasyon ve hızlı teşhisinde kullanılabilirliğinin ve başarı oranının belirlenmesine yönelik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Örneğin, Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBS) *Vibrio parahaemolyticus* ve *Vibrio cholerae*'nin izolasyonu için geliştirilmiş olup, aynı zamanda *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. fischeri*, *V. harveyi*, *V. ordalii*, *V. splendidus* ve *V. pelagus* gibi balık için infeksiyöz olan patojenlerin izolasyonunda da kullanılmaktadır. Waltman-Shotts mediyum önemli bir balık patojeni olan *Y. ruckeri*'nin izolasyonunda kullanılmakta, bakteri kolonilerinin etrafında Tween 80 hidrolizine bağlı olarak çözünmeyen kalsiyum tuzlarından meydana gelen çökelti görülmektedir. Genel olarak *Y. pseudotuberculosis* ve *Y. enterocolitica* gibi *Yersinia sp.* izolasyonunda kullanılan *Yersinia CIN* agar da *Y. ruckeri* izolasyonunda kullanılabilen bir diğer selektif besiyeridir. GSP agar balıklardan *Aeromonas* ve *Pseudomonas* türlerinin izolasyonunda kullanılmakta, *P. aeruginosa*'nın sarı/yeşil koloniler ile ürediği Cetrimide agar da *Pseudomonas* selektif besiyeri olarak değerlendirilmektedir. Eosin

Methylene-Blue (EMB) agar ise Enterobacteriaceae familyası, özellikle *Escherichia coli*'nin parlak, metalik yeşil koloniler ile ayırt edilmesini sağlayan seçici bir besiyeridir [2].

Son 20 yıldır hedef patojenlerin yüksek seçicilikle izole edilmesi amaçlanarak geliştirilen kromojenik besiyerleri, enzim-substrat ilişkisiyle renkli kolonilerin kommensal bakteri kolonilerinden ayırt edilmesi prensibine dayanmaktadır ve hedef dışı patojenlerin üremesini baskıladığından pratikte birçok avantaj sağlamaktadır [269]. *Salmonella* spp., *Candida* spp., üriner sistem patojenleri, *Acinetobacter* spp., *Clostridium difficile*, *Campylobacter* spp., *Vibrio* spp. ve *Yersinia enterocolitica* gibi patojenlerin izolasyonunun yanı sıra metisilin-dirençli *Staphylococcus aureus*'un spesifik tespitinde tercih edilen kromojenik besiyerlerinin balık patojenlerinin izolasyonu ve varsayımsal identifikasyonu için kullanılabilir olması hastalıkların erken teşhisi ve buna bağlı olarak hızlı ve etkin tedavinin uygulanabilmesi açısından büyük avantaj sağlayacaktır.

Günümüzde ticari olarak birçok farklı firma kromojenik besiyeri geliştirmiştir. HardyCHROM (Hardy Diagnostics, ABD), RTA Chromogenic Media (RTA Laboratories, Türkiye), NEOGEN Chromogenic Media (NEOGEN, ABD), E&O Chromogenic Pre Poured Petri Dishes (EO Labs, Birleşik Krallık), Conda Chromogenic Media (Laboratorios Conda, İspanya) ve chromID Culture Media (BioMerieux, Fransa) gibi farklı firmaların ürettiği ürünler bulunmakta ve birçok farklı çalışmada farklı bakteri türlerindeki kullanılabilirleri araştırılmaktadır [268-274].

2.9 Bakteriyel Balık Patojenlerinin Tanımlanmasında Alternatif İdentifikasyon Çalışmaları

Patojenlerin hızlı, doğru, güvenilir tespiti ve tanımlanması klinik ve endüstriyel mikrobiyoloji de dahil olmak üzere birçok farklı alanda büyük önem arz etmektedir. Mikroorganizmaların identifikasyonunda klasik metotların yoğun iş gücü ve zamana ihtiyaç duyması, daha hızlı teşhis için alternatif modern tekniklerin geliştirilmesi ihtiyacını ortaya çıkarmıştır. Günümüzde birçok alanda klasik yöntemlere alternatif olarak daha az iş gücü ile daha hızlı sonuç veren çeşitli biyokimyasal yöntemler ve kitler kullanılmaktadır. Örneğin; bakterilerin biyokimyasal profillerinin belirlenmesi amacıyla API 20NE, API Rapid ID 32, API ZYM, API 20E, API 50 CH, API 20AN

(BioMerieux, France), Bionor Aqua (Bionor, Skien, Norway), Enterotubes, BBL Crystal E/NF (Becton-Dickinson & Company, Franklin Lakes, NJ, USA) ve Biolog MicroPlates GN2, GP2, AN (Biolog, Inc., Hayward, CA, USA) gibi farklı ticari menşeilere sahip diagnostik testler kullanılmaktadır [275]. Özellikle API 20E hızlı identifikasyon sistemi genellikle Enterobacteriaceae'lerin tanımlanmasında laboratuvarlarda en sık tercih edilen testtir. Ancak hızlı identifikasyon sistemleri kolay uygulanabilir olmalarının yanı sıra kesin sonuç sağlamamaları ve ilave analizlere gereksinim duyulmasından dolayı kesin teşhiste tek başına yeterli olmamaktadır.

Geleneksel ve biyokimyasal yöntemlerin yanı sıra bakteriyel patojenlerin tespiti ve tanımlanmasında günümüzde en sık kullanılan yöntemlerden birisi de PCR metodudur. Ancak bu metodun maliyetli, zaman alıcı ve çoklu deney adımları içermesinden dolayı klinik çalışmalar, çevresel araştırmalar, veteriner ve diğer bilim dallarında mikrobiyal tanımlamada kullanılacak hızlı ve güvenilir tanımlama sistemlerine ihtiyaç duyulmaktadır [5;276]. Günümüzde sıklıkla kullanılan metotlardan bazıları Tablo 2.2'de sunulmuştur. Bu testlerden bazılarının uygulaması basit ve kısa süreli olsa da genellikle rutin mikrobiyolojik tanımlamalarda güvenilir bulunmamaktadır [5].

Tablo 2.2: Bakterilerin identifikasyonunda kullanılan bazı metotların avantajları ve eksik yönleri [4;5;277]

| Metot | Avantajları | Eksik yönleri |
|--|--|--|
| Biyokimyasal identifikasyon kitleri (API sistemleri) | Kullanımı kolay Sınırlı eğitimle uygulanabilirlik | Sık yanlış tanımlama Sınırlı profil indeksi Hedef organizmanın kültürü ve ek testlere gereksinim |
| Rasgele artırılmış polimorfik DNA (Random amplification of polymorphic DNA / RAPD) | Hızlı ve uygulanması kolay Farklı kaynakların ayırt edilmesinde kullanılabilir | Hedef organizmanın kültürüne ihtiyaç duyulur Oluşturulan kütüphaneler coğrafik olarak spesifik kalabilir |
| Çoğaltılmış Parça Uzunluk Poliformizmi (Amplifies Fragment Length Polymorphism / AFLP-PCR) | Yüksek tekrarlanabilirlik Farklı kaynakların ayırt edilmesinde kullanılabilir | İşgücü fazla ve özel eğitim gerektirir Hedef organizmanın kültürüne ihtiyaç duyulur Referans laboratuvara ihtiyaç duyulur Oluşturulan kütüphaneler coğrafik olarak spesifik kalabilir |
| Ribotiplendirme | Yüksek tekrarlanabilirlik Otomatize edilebilir Farklı kaynakların ayırt edilmesinde kullanılabilir | İşgücü fazla ve özel eğitim gerektirir Hedef organizmanın kültürüne ihtiyaç duyulur Referans laboratuvara ihtiyaç duyulur Oluşturulan kütüphaneler coğrafik olarak spesifik kalabilir |
| Gene-specific PCR | Gen kopya sayısını ölçmek için uyarlanabilir Virulens genleri hedeflenebilir Referans kütüphaneye ihtiyaç duyulmaz | Hedef organizmanın zenginleştirilmesini gerektirir Yeterli miktarda hedef gen mevcut olmayabilir |
| Host-specific PCR | Hızlı ve uygulanması kolay Hedef organizmanın kültüre alınması gerekmez | Primerlere ulaşılabilirlik sınırlıdır |
| Real-time PCR | Hızlı ve tekrarlanabilir Su kalitesinin mikrobiyal risk değerlendirmesi için kullanılabilir | Pahalı reaktifler gerektirir Multipleks analizler için önerilmez |
| 16S ribosomal RNA sekanslama | Hızlıdır Biyokimyasal testlerle birlikte kullanıldığında en iyi metottur | Özel eğitim gerektirir Tür düzeyinde daha az güvenilir Bütün primerler hedeflenen organizmanın DNA'sına bağlanmaz. |
| Fluorescence in situ hybridization (FISH) | Hızlı ve uygulanması kolay Özellikle klinik örneklerde bakteri identifikasyonunda kullanılmaktadır | Hedeflenen organizma için spesifik FISH deneylerinin geliştirilmesini gerektirir Primerlere ulaşılabilirlik sınırlıdır |

2.9.1 VITEK MS / MALDI –TOF

VITEK MS, Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization- Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) teknolojisine dayanan otomatik mikrobiyal identifikasyon sistemidir.

Bakterilerin MALDI-TOF MS kullanılarak tanımlanmasına dair ilk çalışmalara 1990'lı yıllarda kolonilerden bakteriyel proteinlerin tanımlanması prensibi ile başlanmıştır [278-281]. Ancak teknolojinin aktif olarak kullanılabilmesi etkili bir veriabanı ve informik aletlerin eksikliğinden dolayı gecikmiş ve metot laboratuvarlarda ticari olarak 2008 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır [282]. MALDI-TOF MS bakteri kolonisi ve matriks solüsyon kullanılarak birkaç dakika içerisinde maliyet oldukça azaltılarak kesin teşhis gerçekleştirmeyi mümkün kılan bir teknolojidir [283-285]. MALDI-TOF ile elde edilen kütle spektrumları türe özgü parmak izi olarak adlandırılmaktadır [286]. Ayrıca birçok araştırmacı tanımlanması zor olan maya, anaerob ve zor gelişen bakterilerin kesin teşhisinde de etkili bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir [282;287-293]. Bu yöntem ile bakterilerin ribozomal protein fraksiyonlarının belirlenmesiyle organizmaların klasifikasyonu gerçekleştirilmektedir [294]. Bakterilerin identifikasyonu genus, tür veya sub-grup seviyesinde proteinlerin kütle sinyallerinin tespit edilmesi ve ardından referans bakteriyel suşların bulunduğu kütüphanede kütle spektrumları ile karşılaştırılarak yapılmaktadır [5;295;296].

MALDI-TOF MS yöntemi MALDI Biotyper of Bruker Daltonics (Bremen, Almanya), ANDROMAS (Paris, Fransa), AXIMA/ARAMIS database (AnagnosTec, Potsdam, Almanya) ve VITEK MS (BioMerieux S.A.,Fransa) olmak üzere dört ticari sistem ile uygulanmaktadır [286;297;298].

MALDI-TOF kütle spektrometresinde, çalışılacak mikroorganizmaya uygun ön aşamalardan geçirilmiş örnekler 'target slayt' olarak adlandırılan metal plakalara yayılmakta ve uygun matriks solüsyonu eklenerek cihazda lazer atışlarına maruz bırakılmaktadır. Cihazın çalışma prensibi olarak; lazer enerjisini absorbe eden matriks molekülleri aktive olup, mikroorganizma-matriks karışımında mikro patlamalar gerçekleşmektedir. Mikroorganizmaya ait moleküller matriksle birlikte iyonize gaz haline dönüştürülerek slayttan ayrılarak serbest hale geçer ve kütlelerine bağlı olarak detektöre çarpar, çarpma zamanlarına bağlı olarak da kütle spektrumu

meydana getirilir. Ardından veri tabanında önceden tanımlı spektrumlarla karşılaştırılarak sonucun güvenliği yüzde olarak ifade edilmektedir [299].

MALDI-TOF MS'in oldukça hassas bir teknik olmasının yanı sıra analiz için çok az miktarda örneğe ihtiyaç duyması (bakteri için 104-106 CFU arası) sistemin önemli bir avantajıdır. Ayrıca klinik vakalarda örnek alındıktan 12-24 saat içerisinde sonuçların alınabilmesi, direk olarak koloniden Gram boyama ve herhangi bir biyokimyasal teste ihtiyaç duyulmadan birkaç dakika içerisinde teşhis konabilmesi ve tek bir MALDI-TOF MS sistemiyle Gram pozitif/negatif bakteri ve mayanın identifikasyonunun yapılabilmesi laboratuvarlarda kolaylık sağlamaktadır [284;300]. Sistemin dezavantajları olarak ise laboratuvara yeni sistem kurmanın getireceği maliyet ve bakteriyel direnç mekanizmalarının belirlenmesinde karşılaşılan limitasyonlar bildirilmiştir [300].

2.9.2 Raman spektroskopisi

Raman spektroskopisi, tek dalga boyuna sahip (monokromik) ışından oluşan bir lazer ışınının örnek ile etkileşime girerek esnek olmayan şekilde yayılması ve saçılan ışının ölçülmesine dayanan bir çalışma prensibine sahiptir [301;302]. Analiz sonucunda elde edilen pikler ile incelenen moleküllerin infrared spektrumları oluşturulmakta ve kayıtlı veriler ile karşılaştırılarak yorumlanmaktadır. Minerallerin karakterizasyonundan ilaç çalışmalarına geniş kullanım alanına olanak tanıyan raman spektroskopisi, farklı materyallerin kimyasal karakterizasyonuna olanak sağlamakla birlikte, son yıllarda biyolojik örneklerin çalışılmasıyla patojenik organizmaların ayırt edilmesi ve hızlı optik identifikasyonuna da imkân sağlamaktadır [303-305].

Bakteriyel patojenlerin hızlı teşhisi için kolay ve güvenilir bir yöntem olan Raman spektroskopisi, klinik materyalden kültürü yapılan birçok mikroorganizmanın teşhisinde alternatif bir metot olarak görülmektedir. Buijts ve diğ. (2008) tüberküloz etkeni olan *Mycobacterium tuberculosis*'in tanımlanmasında Raman spektroskopisini 16S rRNA sekanslaması ile karşılaştırmış, klinik teşhiste özgün bir metot olarak kullanılabileceğini belirtmiştir [306]. Ayrıca *Mycobacterium* türlerinin çalışılabilmesi için gerekli olan 3. seviye biyogüvenlik önlemlerinin sağlanamadığı koşullarda Raman spektroskopisi ile ısı veya formalin ile inaktive edilmiş bakterilerden tanımlama yapılabilmesinin, metodun önemli avantajlarından olduğunu da bildirmişlerdir.

Biyolojik örneklerin kompleks biyomoleküllerden oluşması, spektrumlarda birçok biyokimyasal verinin gözlenmesine neden olmakta, bu durum analiz sonuçlarının yorumlanmasını ve spesifik bantların tanımlanmasını zorlaştırmaktadır [307]. Bakterilerin Raman spektroskopisi ile ayırt edilebilmesi ve identifikasyonunun gerçekleştirilebilmesi için de hücre yapılarının ve biyokimyasal içeriklerinin bilinmesi önem teşkil etmektedir. Farklı morfolojik yapılara sahip olsalar da (kok, basil, spiral) temel içerikleri benzerlik göstermektedir (Tablo 2.3).

Tablo 2.3: Bakteri hücresindeki makromoleküller, buldukları yerler ve kuru ağırlıktaki yüzdeleri [308]

| Makromolekül | Altbirimi (monomer) | Hücrede bulunduğu yer | Kuru ağırlıktaki yüzdesi |
|---------------------|-------------------------------------|---|---------------------------------|
| Proteinler | Amino asitler | Hücre duvarı, hücre zarı, pili, flagella, ribozomlar, sitoplazmada enzimler | % 55 |
| Lipidler | Yağ asitleri | Zarlar, depolama birimleri | % 9 |
| Polisakkaritler | Şekerler (karbonhidrat molekülleri) | Hücre duvarı, kapsül, inküzyonlar (enerji ve karbon depoları) | % 5 |
| Lipopolisakkaritler | Şekerler ve yağ asitleri | Membranlar | % 3,4 |
| RNA | Nükleotitler | Ribozomlar | % 20,5 |
| DNA | Nükleotitler | Nükleotid, plasmid | % 3,1 |

Mikrobiyolojide Raman spektroskopisinin kullanım alanlarından bir diğeri de patojenlerin antibiyotik direnç mekanizmalarının belirlenmesidir. Wang ve diğ.

(2016) Raman spektroskopisi ile bir laktik asit bakterisi olan *Lactococcus lactis*'in ampisilin ve siprofloksasin tedavisine karşı gösterdiği biyokimyasal değişimleri incelemiş, her iki antibiyotiğin bakteri hücresinde farklı biyokimyasal değişimleri gösteren farklı spektrumlara neden olduğu bildirilmiştir [309]. Böylelikle metodun, bakterilerin antibiyotik direncinin belirlenmesinde kullanılabileceği, bakteri ve antimikrobiyal ilaçların etkileşimlerinin biyokimyasal düzeyde aydınlatılmasına olanak sağlayacağı da rapor edilmiştir.

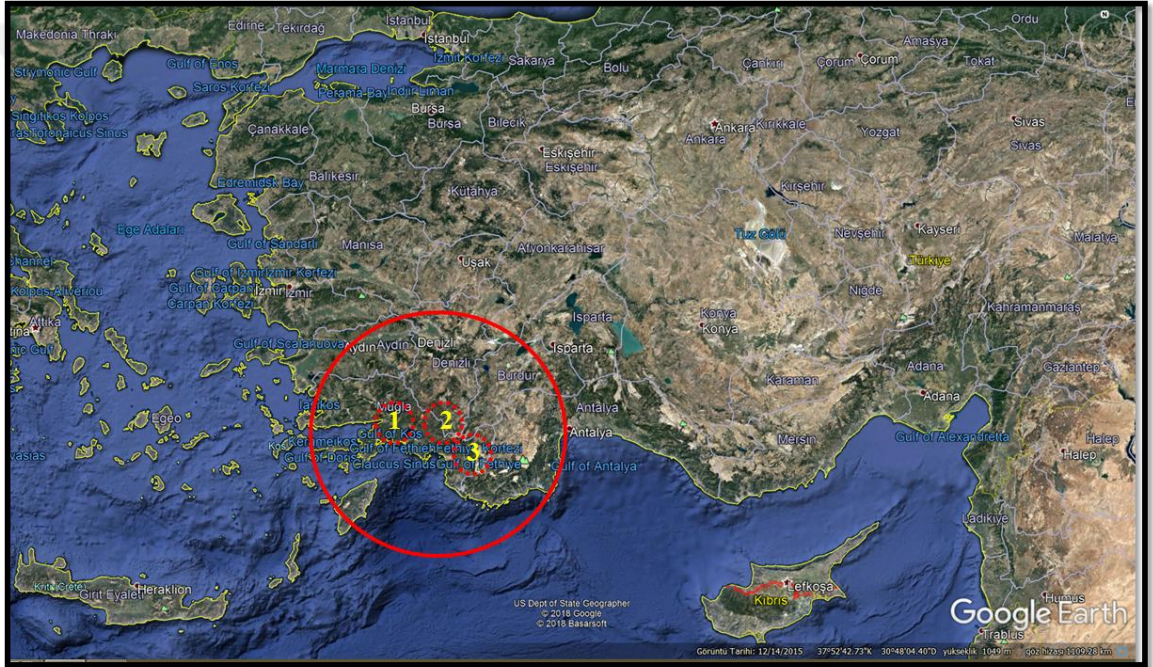
Escoriza ve diğ. 2006, Raman spektroskopisinin su kaynaklı patojenlerin nicel tespitindeki kullanılabilirliğini araştırdıkları çalışmalarında, Raman ölçümü sonucu elde edilen bantların, ölçümü gerçekteştirilen su örneğindeki hücre sayısı ile ilişkili olduğunu tespit etmiş, yöntemin mikrobiyal kontamine suların hızlı ve güvenilir olarak tespit edilmesinde etkili şekilde kullanılabileceğini belirtmiştir [310].

Elsayeh ve Kandil (2016) bakterilerin tespit, identifikasyon ve endotoksinlerinin belirlenmesinde Raman spektroskopisinin daha ucuz, basit, hassas ve hızlı bir yöntem olduğunu belirtmiştir [311].

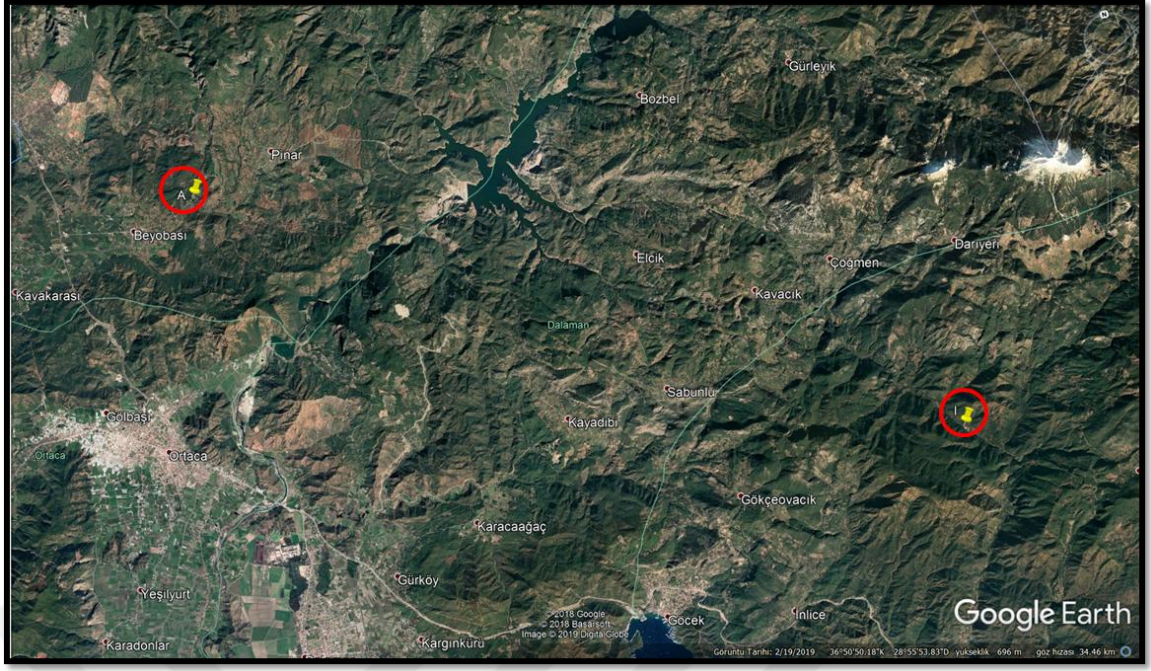
3. MATERYAL VE METOT

3.1 Örnekleme İstasyonları ve Tarihleri

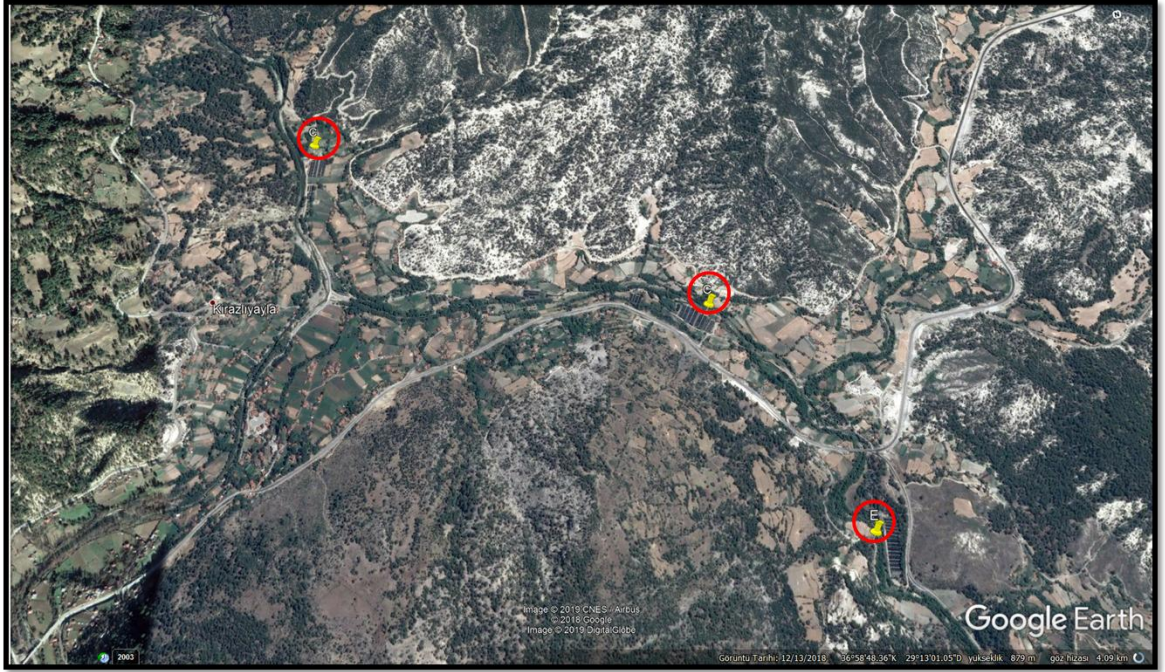
Eylül 2016 – Mayıs 2018 tarihleri arasında Güney Ege Bölgesi'nde 10 adet gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliğine gidilerek örneklemler gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1; 3.2; 3.3; 3.4).



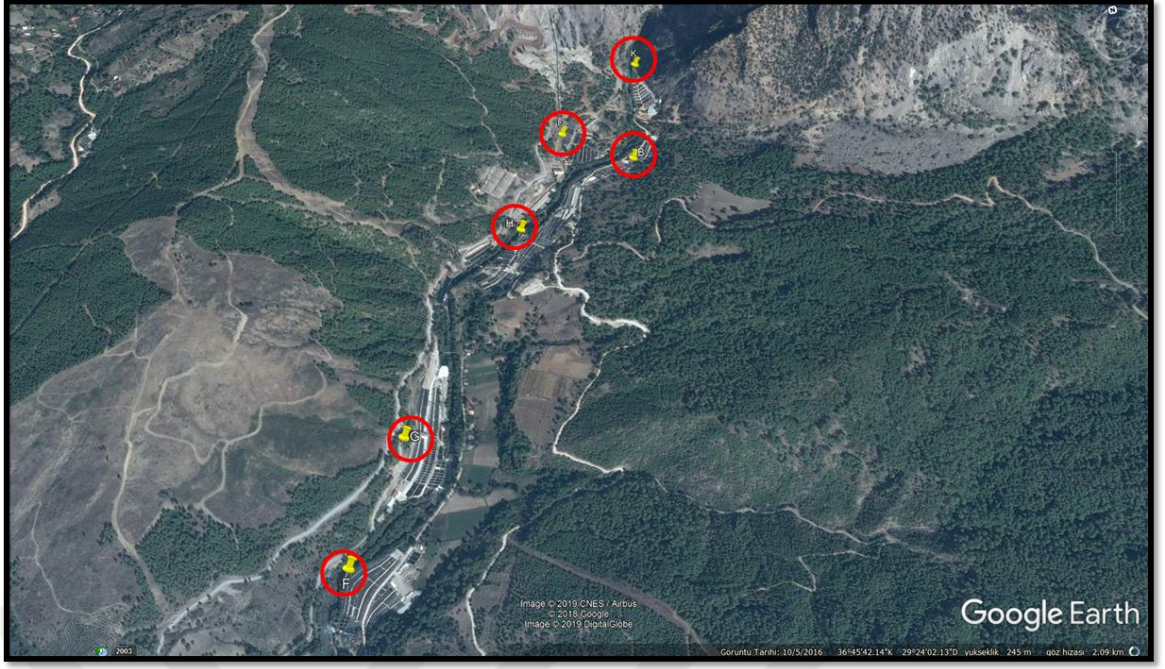
Şekil 3.1: Örnekleme bölgeleri.



Şekil 3.2: 1 nolu bölgede örneklenen gökkuşağı alabalığı çiftlikleri.



Şekil 3.3: 2 nolu bölgede örneklenen gökkuşağı alabalığı çiftlikleri.



Şekil 3.4: 3 nolu bölgede örneklenen gökkuşağı alabalığı çiftlikleri.

3.2 Bakteriyel Balık Patojenlerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Hastalık vakası tespit edilen işletmelerden ölmek üzere olan ve klinik semptom gösteren balıklardan örneklemeler yapılarak cerrahi ekipmanlarla otopsi gerçekleştirilmiştir. İç organlardaki patolojik bulgu olan dalak, karaciğer ve böbrekten aseptik koşullarda Tryptic Soy Agar (TSA-Merck)'a bakteriyolojik ekim yapılmıştır. Ekim gerçekleştirilen besiyerleri yüksek sıcaklığın olduğu günlerde agarların sıcaklıktan etkilenmemesi için laboratuvara seyyar buzluklar ile soğuk zincir sağlanarak ulaştırılmıştır (Şekil 3.5; 3.6; 3.7; 3.8; 3.9). Çalışma süresince 20-450 gr aralığındaki adet gökkuşağı alabalıkları örneklenmiş olup, akut vaka görülmesi durumunda kuluçkahane ve anaç ünitelerindeki balıklardan da mikrobiyolojik ekim gerçekleştirilmiş, toplam 1325 adet balık örneklenmiştir.



Şekil 3.5: Örnekleme için gerçekleştirildiği gökkuşuğu alabalığı çiftliklerinden örnekler.



Şekil 3.6: Beton havuzlarda hasta balıkların tespiti.



Şekil 3.7: Havuzlardan hasta balık numunelerinin alınması.



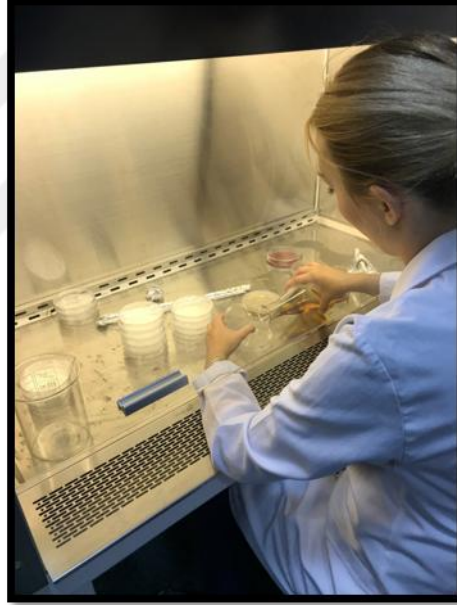
Şekil 3.8: Örnekleme yapılan anaç balık havuzları.



Şekil 3.9: Balıklardan mikrobiyolojik ekimin gerçekleştirilmesi.

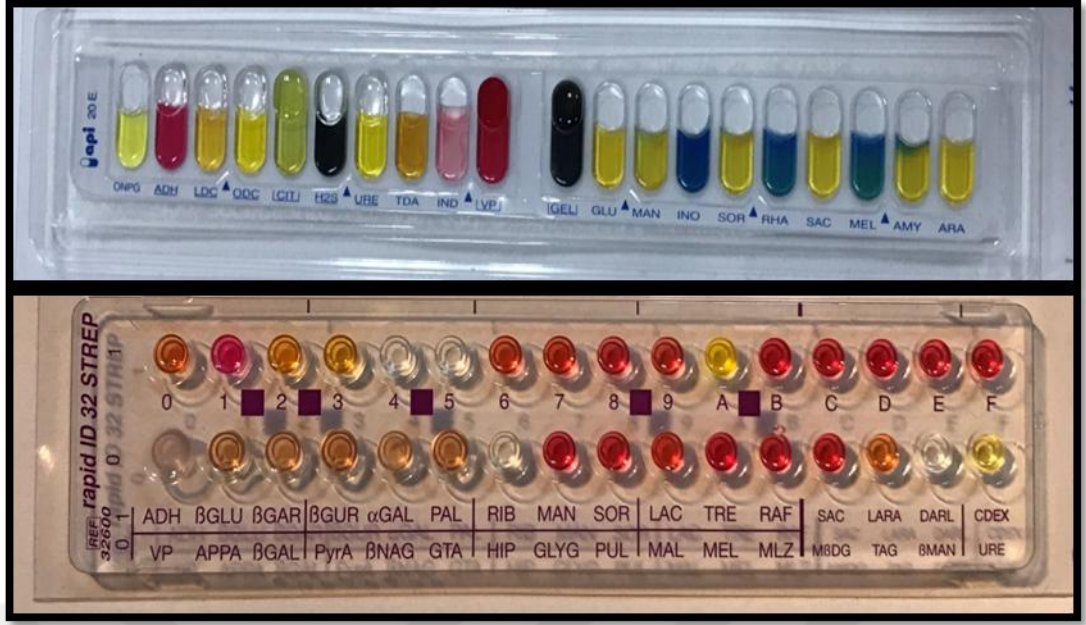
Örneklemlerin ardından ekim yapılan bakteriyolojik besiyerleri İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Balık Hastalıkları ve Biyoteknoloji Laboratuvarı'na getirilmiş, 21 °C'de

48 saate kadar inkübe edilmiştir. Bakteri kolonileri tespit edilmeye başlandığında öncelikle koloni morfolojileri incelenmiş, ardından hareket muayinesi, Gram boyama, oksidaz ve katalaz testleri standart prosedüre göre yapılmıştır [312]. İncelenen kolonilerde tipik hareket ve morfoloji belirlenenler saflaştırmak amacıyla TSA besiyerine pasaje edilmiştir. Ayrıca bakterilerin üreme performansı ve koloni morfolojilerinin belirlenmesi amacıyla selektif Thiosulfate Citrate Bile Sucrose (TCBS-Merck, Almanya) Agar, Cetrimide Agar (Merck, Almanya), Yersinia CIN Agar (Merck, Almanya), EMB Agar (Merck, Almanya), Glutamate Starch Phenol Red Agar - Pseudomonas Aeromonas Selective Agar (GSP, Merck, Almanya) ve Waltman-Shotts Medium'a ekim yapılarak karşılaştırılmıştır (Şekil 3.10). Çalışma süresince tüm besiyerleri 21 °C'de inkübe edilerek, 12, 24 ve 48. saatlerde gözlenmiştir. Her bir suş için ikili kontrol grubu oluşturulmuştur.



Şekil 3.10: Çalışmada kullanılan besiyerlerinin hazırlanması.

Saflaştırılan kolonilerde alınan bakterilerin Gram boyama yöntemiyle morfolojik özellikleri belirlendikten sonra uygun olan API 20E ve API rapid ID 32 STREP test kitleri (BioMerieux S.A., Fransa) üretici firmanın belirttiği kullanma talimatları takip edilerek uygulanmıştır. Striplerdeki renk değişimlerine göre pozitif veya negatif olarak tespit edilen biyokimyasal test sonuçları APIWEB™ veri tabanına girilerek biyokimyasal profile göre identifikasyon gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11: Çalışmada kullanılan API 20E ve API rapid ID 32 STREP biyokimyasal test kitleri.

Bakteriyel balık patojenlerinin moleküler identifikasyonu 16S rRNA gen amplifikasyonu ile gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonu için EurX GeneMATRIX Tissue & Bacterial DNA izolasyon kiti (Polonya) üretici firma talimatları doğrultusunda kullanılmıştır. DNA izolasyonunun ardından elde edilen DNA'ların miktarını kontrol etmek için Thermo Scientific Nanodrop 2000 (USA) cihazında spektrofotometrik ölçüm gerçekleştirilmiştir. PCR çalışmasında universal primer olarak 27F-1492R primerleri kullanılmış ve tür tayini için hedeflenen gen bölgesi çoğaltılmıştır. Kullanılan primer dizileri aşağıda belirtilmiştir.

27F 5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3'

1492R 5' TACGGYTACCTTGTTACGACTT 3'

PCR ürünleri Macrogen Laboratuvarları'na (Hollanda) sekans analizlerinin gerçekleştirilmesi için gönderilmiştir. Sekans dataları DNASTARLasergene SEQMAN programı ile işlenerek BLASTN 2.6.1 veritabanında tanımlanmıştır. MEGA 7 programı ile de yakınlık matrisleri oluşturulmuştur.

3.3 Bakteriyel Balık Patojenlerinin Alternatif Kromojenik Besiyerlerinde Üreme Performanslarının Belirlenmesi

Biyokimyasal ve moleküler olarak tanımlanmış bakteriyel balık patojenleri, kromojenik besiyerlerindeki üreme performansları ve koloni morfolojilerinin belirlenmesi amacıyla chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood (BioMerieux S.A., Fransa, ürün no. 418229), chromID® CPS® Elite (BioMerieux S.A.,Fransa, ürün no. 418284), chromID® S. aureus Elite (BioMerieux S.A., Fransa, ürün no. 419042), chromID® Vibrio (BioMerieux S.A., Fransa, ürün no. 43761) ve chromID® MRSA Smart (BioMerieux S.A., Fransa, ürün no. 413050) kromojenik besiyerlerine ekilmiştir (Şekil 3.12). Tüm besiyerleri 21 °C’de inkübe edilerek, 12, 24 ve 48. saatlerde gözlenmiştir. Her bir suş için ikili kontrol grubu oluşturulmuştur.



Şekil 3.12: Kromojenik besiyerine ekim.

3.4 VITEK MS İle Bakteriye Balık Patojenlerinin İdentifikasyonu

VITEK MS cihazı ile gerçekleştirilen identifikasyon çalışmasında VITEK MS/IVD/V.3.0 (BioMerieux, France) veritabanı kullanılmıştır.

Kanlı agarda alt kiltire alınan balık patojenlerine ait birer koloni VITEK MS plakasına ince bir tabaka halinde yayılarak izolatlar hazırlanmıştır. 48 b6lumluk plağın her 16 b6l6m6n6n ortasına ince bir film oluşturacak şekilde *Escherichia coli* ATCC 8739 kontrol amacıyla kalibrasyon kuyucuklarına inokule edilmiş, ardından hazırlanan her bir kuyucuğa matriks sol6syonu olan CHCA (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid) den 1'er μ l eklenmiş ve oda ısısında 1-2 dakika kurumaya bırakılmıştır. Ardından plaka cihaza yerleştirilerek vakum ve kalibrasyonun ardından her bir izolatın spektrumu belirlenmiştir. 6l6mler 6retici firmanın belirttiği ayarlar doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

3.5 Bakteriye Balık Patojenlerinin SEM (Scanning Electron Microscope) ile G6r6nt6lenmesi

SEM ekimi gerçekleştirilecek olan balık patojenleri TSB'ye ekilerek 21 6C'de 12-24 saat arasında ink6be edilmiş ve ardından Piroeva ve diğ. (2013)'de belirtilen protokol doğrultusunda SEM ekimi için belirtilen adımlar uygulanmıştır. 400 mg agar 50 mL distile suda 6zd6r6lerek, kaynamasına m6saade etmeden mikrodalgada ısıtılmıştır. 10 dakika s6resince UV ile sterilize edilmiş olan lamalar 50-60 6C'ye kadar soğutulan agar sol6syonuna daldırılmış ve 6zerinde bir agar film oluşması sağlanmıştır. Hazırlanan lamalar horizontal olarak kurumaya bırakılmış, daha sonra pipet ile TSB'deki bakteri 6rneği damlatılarak steril pipet yardımıyla yayılmıştır. 6rnekler fiksasyon için 30-45 dakika bekletilmıştir. Ardından lamalar 37 6C sıcaklıktaki ink6bat6rde agarın dehidre olması amacıyla 12 saat bekletilmıştir. 6rneklerin dehidrasyonu için ise klasik dehidrasyon protokol6 uygulanmış (6rnekler her birinde 30 dakika olmak 6zere sırasıyla % 10, 25, 50, 75, 96 ve 99,99 oranlarında etanol sol6syonlarında bekletilmıştir) ve en sonunda dehidrasyonun tamamlanması için 37 6C'de 1 saat bekletilmışlerdir [313]. İzmire Katip elebi 6niversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi b6nyesinde bulunan QUORUM Q150 RES kaplama cihazı kullanılarak ayrıntılı ve net g6r6nt6 alınabilmesi için lamalar ince bir altın tabakayla (<10 nm) kaplanmış (şekil 3.13), ardından Carl Zeiss 300 VP SEM cihazı (İzmire Katip elebi 6niversitesi Merkezi

Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi) ile bakterilerin görüntülenmesi yapılmıştır (Şekil 3.14).



Şekil 3.13: QUORUM Q150 RES kaplama cihazı / İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı (<http://merkeziarastirmalab.ikc.edu.tr/S/15260/sem>).



Şekil 3.14: Carl Zeiss 300 VP SEM cihazı / İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı (<http://merkeziarastirmalab.ikc.edu.tr/S/15260/sem>).

3.6 Raman Spektroskopisi İle Bakteriyel Balık Patojenlerinin Spektrumlarının Belirlenmesi

3.6.1 Mikrobiyal suşların hazırlanması

250 mL Tryptic Soy Broth (TSB, Merck)'de 21 °C'de 12 saat inkübe edilen patojenler 10 dakika 6000 rpm'de sentrifüj edilerek (Hermle Labortechnik GmbH 2206A), süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra bakteriyel pelet izotonik sodyum klorid ile 2 kez yıkanmıştır. Ardından 1 Pa, - 40 °C'de XO-Instrument Freeze Dry (XO-12B) da liyofilize edilmiştir.

3.6.2 Raman spektrometresi ile ölçümlerin gerçekleştirilmesi

Spektrometrik ölçümler Renishaw Raman Spektrometresi ile İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerde 50x objektif ve 785 nm lazer kullanılmıştır (Şekil 3.15).

Spektrumlar SpectraGryph 1.2.8 Spectroscopy Software (Almanya) kullanılarak grafikleştirilmiş, spektrumların değerlendirilmesi literatürde bildirilmiş verilere göre gerçekleştirilmiştir [217;310;314;315]. Prof. Dr. Erik Goormaghtigh'dan temin edilen Kinetics yazılımı MATLAB içerisinde kullanılarak spektrumların düzenlenmesi, spektrumlar arasındaki farklılıklar, Principle Component Analizi (PCA) ve kümeleme analizleri gerçekleştirilerek spektrumlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.15: Raman Spektrometresi

(<http://merkeziarastirmalab.ikc.edu.tr/S/15566/raman-spektrometresi-cihazı-foto-galeri>).

4. BULGULAR

4.1 İzole Edilen Bakteriyel Balık Patojenleri

Gökkuşığı alabalığı çiftliklerinde tespit edilen akut ve kronik vakalardan izole edilen bakteriyel balık patojenleri, izolasyon tarihleri ve suş kodları Tablo 4.1 ve Tablo 4.2’de sunulmuştur. Çalışma süresince örneklenen toplam 1325 adet gökkuşığı alabalığın 675 adedinden *L. garvieae*, 355 adedinden *Y. ruckeri*, 175 adedinden *V. anguillarum*, 60 adedinden *P. fluorescens* ve 60 adedinden de *A. hydrophila* izole edilmiştir.

Tablo 4.1: Çalışma süresince örneklenen balık çiftlikleri, izole edilen patojenler, izolasyon tarihleri ve çalışma bulgularında belirtilen suş kodları.

| BALIK ÇİFTLİĞİ | İZOLE EDİLEN PATOJENLER | İZOLASYON TARİHİ | SUŞ KODU |
|-------------------------|-----------------------------|------------------|----------|
| A | <i>Lactococcus garvieae</i> | 29.09.2016 | ALG1 |
| | | 20.02.2017 | ALG2 |
| | | 13.03.2017 | ALG3 |
| | | 20.03.2017 | ALG4 |
| | | 13.05.2017 | ALG5 |
| | | 08.07.2017 | ALG6 |
| | | 10.08.2017 | ALG7 |
| | | 12.03.2018 | ALG8 |
| | | 19.03.2018 | ALG9 |
| | <i>Vibrio anguillarum</i> | 15.11.2016 | AVA1 |
| | | 24.12.2016 | AVA2 |
| | | 26.09.2017 | AVA3 |
| | | 22.03.2018 | AVA4 |
| <i>Yersinia ruckeri</i> | 18.10.2016 | AYR1 | |
| | 24.12.2016 | AYR2 | |
| | 20.03.2017 | AYR3 | |
| | 01.05.2017 | AYR4 | |
| B | <i>Lactococcus garvieae</i> | 25.07.2017 | BLG1 |
| | | 25.09.2017 | BLG2 |
| | | 04.05.2018 | BLG3 |
| | | 07.07.2018 | BLG4 |
| | <i>Yersinia ruckeri</i> | 25.07.2017 | BYR1 |
| | <i>Vibrio anguillarum</i> | 25.07.2017 | BVA1 |

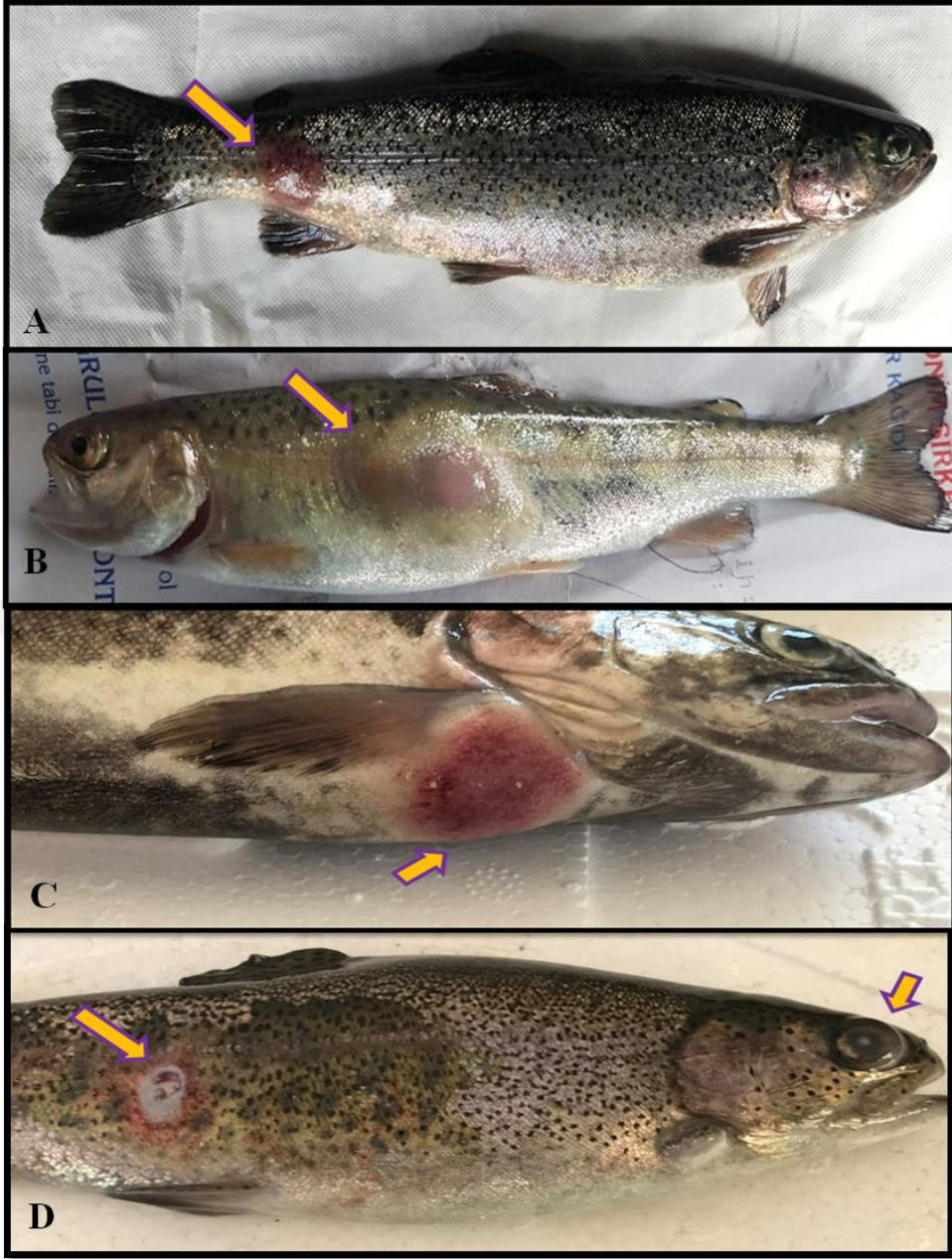
Tablo 4.2: Çalışma süresince örneklenen balık çiftlikleri, izole edilen patojenler, izolasyon tarihleri ve çalışma bulgularında belirtilen suş kodları (Devam).

| BALIK ÇİFTLİĞİ | İZOLE EDİLEN PATOJENLER | İZOLASYON TARİHİ | SUŞ KODU |
|----------------|--------------------------------|------------------|----------|
| C | <i>Aeromonas hydrophila</i> | 09.06.2017 | CAH1 |
| | <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 09.06.2017 | CPF1 |
| | | 06.07.2017 | CPF2 |
| | <i>Yersinia ruckeri</i> | 06.07.2017 | CYR1 |
| | | 14.03.2018 | CYR2 |
| D | <i>Lactococcus garvieae</i> | 14.12.2017 | DLG1 |
| | | 15.02.2018 | DLG2 |
| | | 19.03.2018 | DLG3 |
| | | 19.05.2018 | DLG4 |
| | <i>Yersinia ruckeri</i> | 15.02.2018 | DYR1 |
| E | <i>Aeromonas hydrophila</i> | 22.06.17 | EAH1 |
| | <i>Vibrio anguillarum</i> | 20.06.2017 | EVA1 |
| F | <i>Yersinia ruckeri</i> | 24.03.2017 | FYR1 |
| | | 04.01.2018 | FYR2 |
| | <i>Lactococcus garvieae</i> | 24.03.2017 | FLG1 |
| G | <i>Lactococcus garvieae</i> | 09.09.2017 | GLG1 |
| | <i>Yersinia ruckeri</i> | 03.02.2018 | GYR1 |
| H | <i>Yersinia ruckeri</i> | 02.01.2017 | HYR1 |
| I | <i>Lactococcus garvieae</i> | 30.10.2017 | ILG1 |
| K | <i>Lactococcus garvieae</i> | 31.08.2018 | KLG1 |
| | | 22.09.2018 | KLG2 |
| | <i>Vibrio anguillarum</i> | 22.09.2018 | KVA1 |
| | <i>Yersinia ruckeri</i> | 22.09.2018 | KYR1 |

4.2 Klinik ve Patolojik Bulgular

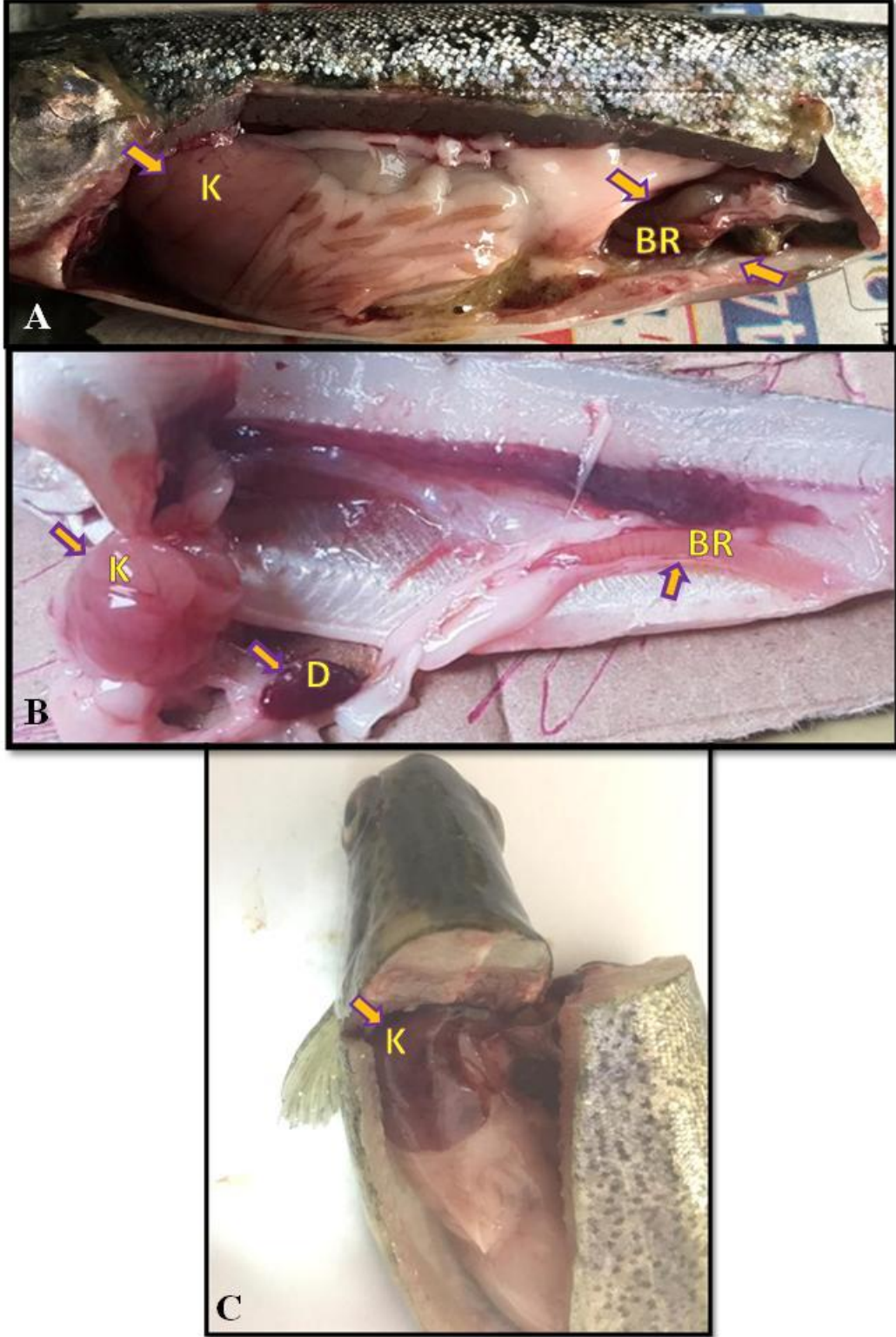
4.2.1 *Aeromonas hydrophila*

A. hydrophila izole edilen ölmek üzere olan, hasta gökkuşağı alabalıklarında klinik bulgu olarak vücut yüzeyinde furunkul, ülser, gözlerde ekzoftalmus ve vücudun ventral bölgesinde hemorajilere rastlanmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: A, B: Vücut yüzeyinde furunkul oluşumu; C: Ventralde hemoraji; D: Vücut yüzeyinde ülser ve ekzoftalmus.

Otopsi bulgularında ise karaciğer ve dalakta büyüme, karaciğerde peteşiyel hemoraji ve bağırsakta hemorajik diyare tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2: A: Karaciğerde büyüme ve bağırsakta hemoraji; B: Karaciğer ve dalakta büyüme, bağırsakta hemorajik diyare; C: Karaciğerde peteşiyel hemoraji (K: karaciğer, BR: bağırsak, D: dalak).

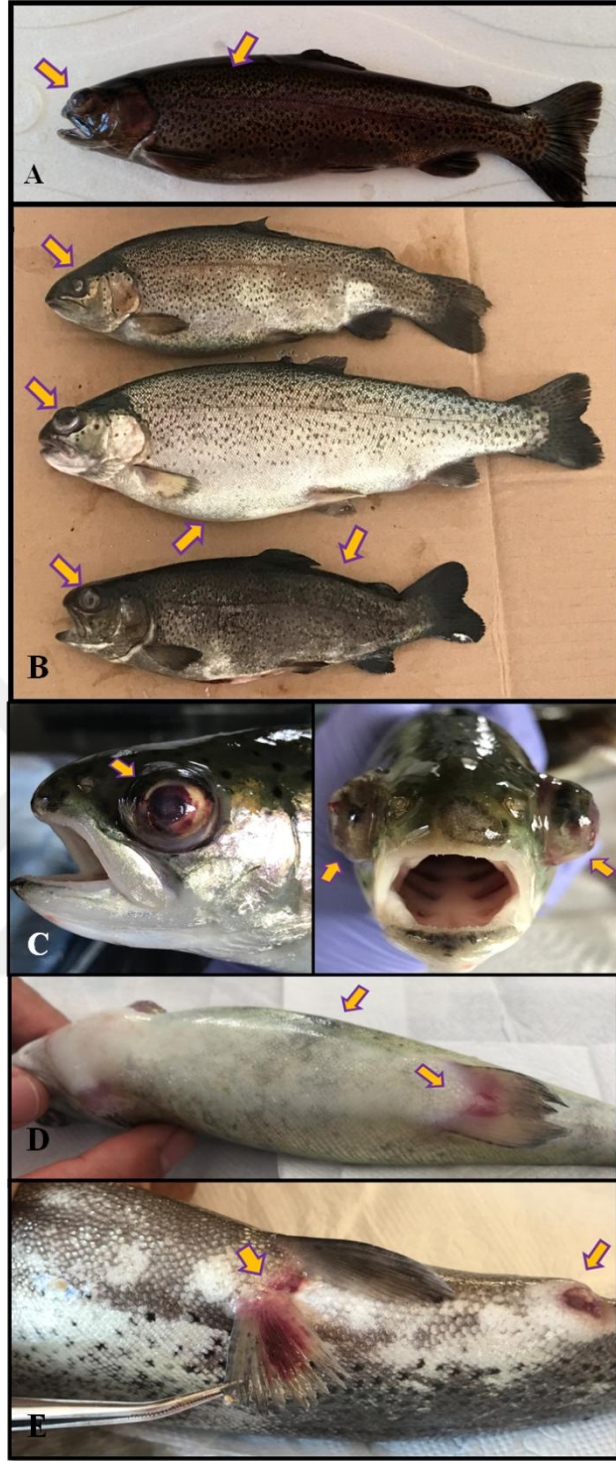
4.2.2 *Lactococcus garvieae*

Laktokokkozis hastalığı etkeni olan *L. garvieae* genel olarak havuz yüzeyinde durgun yüzen ve rengi kararmış gökkuşağı alabalıklarından izole edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: Havuz yüzeyinde durgun yüzen gökkuşağı alabalıkları.

Klinik belirtilerde tek veya çift taraflı ekzoftalmus, korneada opaklık, asites, perioküler kanama, pelvik yüzgeç kaidelerinde hemoraji ve prolapsus tespit edilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4: A, B: Ekzoftalmus, asites ve renkte kararma, C: Perioküler kanama ve çift taraflı ekzoftalmus; D, E: Asites ve pelvik yüzgeç kaidelerinde hemoraji ve prolapsus.

Çalışma süresince örneklenen anaç balıklardan da *L. garvieae* izole edilmiştir. Anaç balıklarda görülen klinik belirtiler ise renkte kararma, perioküler kanama, asites ve prolapsustur (Şekil 4.5).



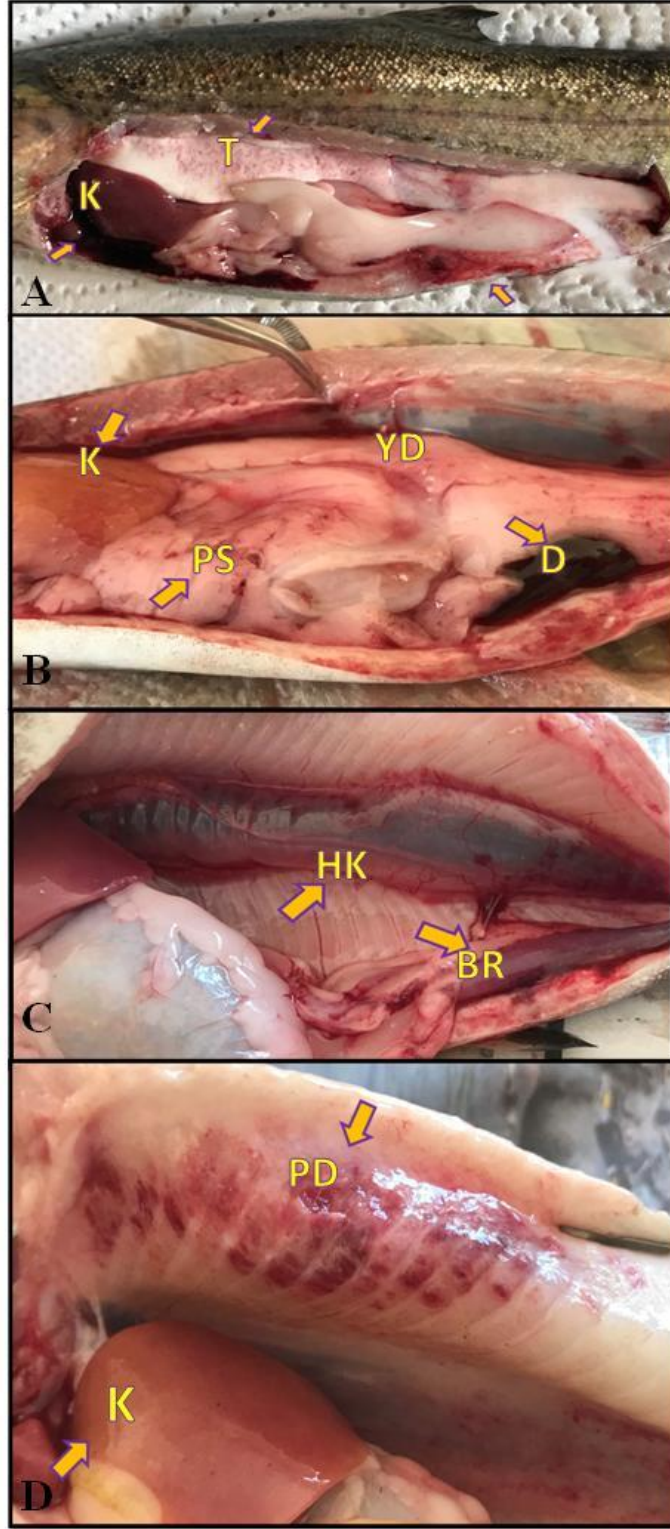
Şekil 4.5: A: Örneklenen anaç balıklarda renkte kararma, periokuler kanama ve asites; B: Örneklenen anaç balıklarda periokuler kanama; C: Anaç balıkta prolapsus.

Saha çalışmalarında 3-4 gr ağırlığa sahip yavru balıklardan da *L. garvieae* izole edilmiştir. Rengi kararmış balıklarda çift taraflı ekzoftalmus tespit edilmiştir (Şekil 4.6).



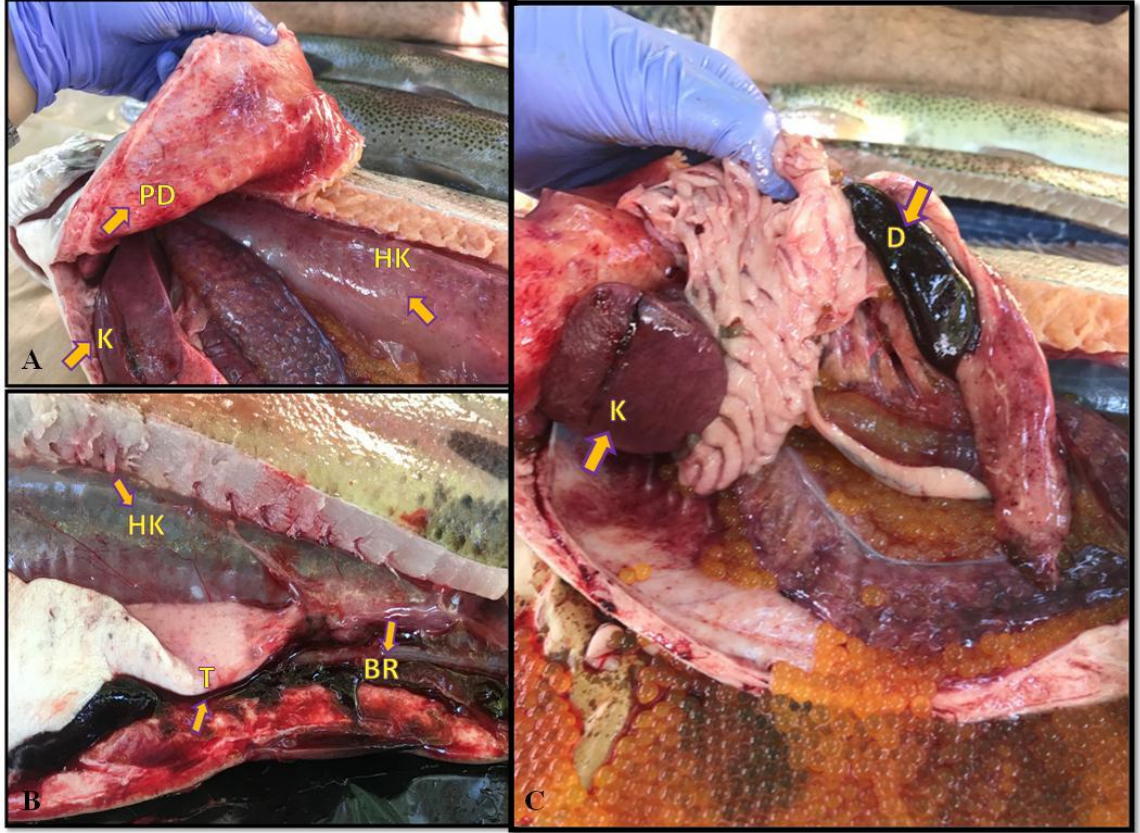
Şekil 4.6: Yavru balıkta çift taraflı ekzoftalmus.

Laktokokkozis görülen balıların otopsi bulgularında karaciğerde soluk renk, karaciğer ve dalakta büyüme, yağ doku, testisler, hava kesesi ve pilorik sekada peteşiyel hemoraji, bağırsakta hemorajik diyare, abdominal boşlukta kanlı sıvı birikmesi ve periton duvarında ekimoz görülmüştür (Şekil 4.7).



Şekil 4.7: A: Abdominal boşlukta kanlı sıvı birikmesi, testislerde peteşiyel hemoraji ve hemorajik diyare; B: Karaciğer ve dalakta büyüme, yağ doku ve pilorik sekada peteşiyel hemoraji; C: Hava kesesinde peteşiyel hemoraji, bağırsakta hemorajik diyare; D: Periton duvarında ekimoz ve karaciğerde soluk renk ve peteşiyel kanama (K: karaciğer, T: testis, D: dalak, YD: yağ doku, PS: pilorik seka, HK: hava kesesi, PD: periton duvarı, BR: bağırsak).

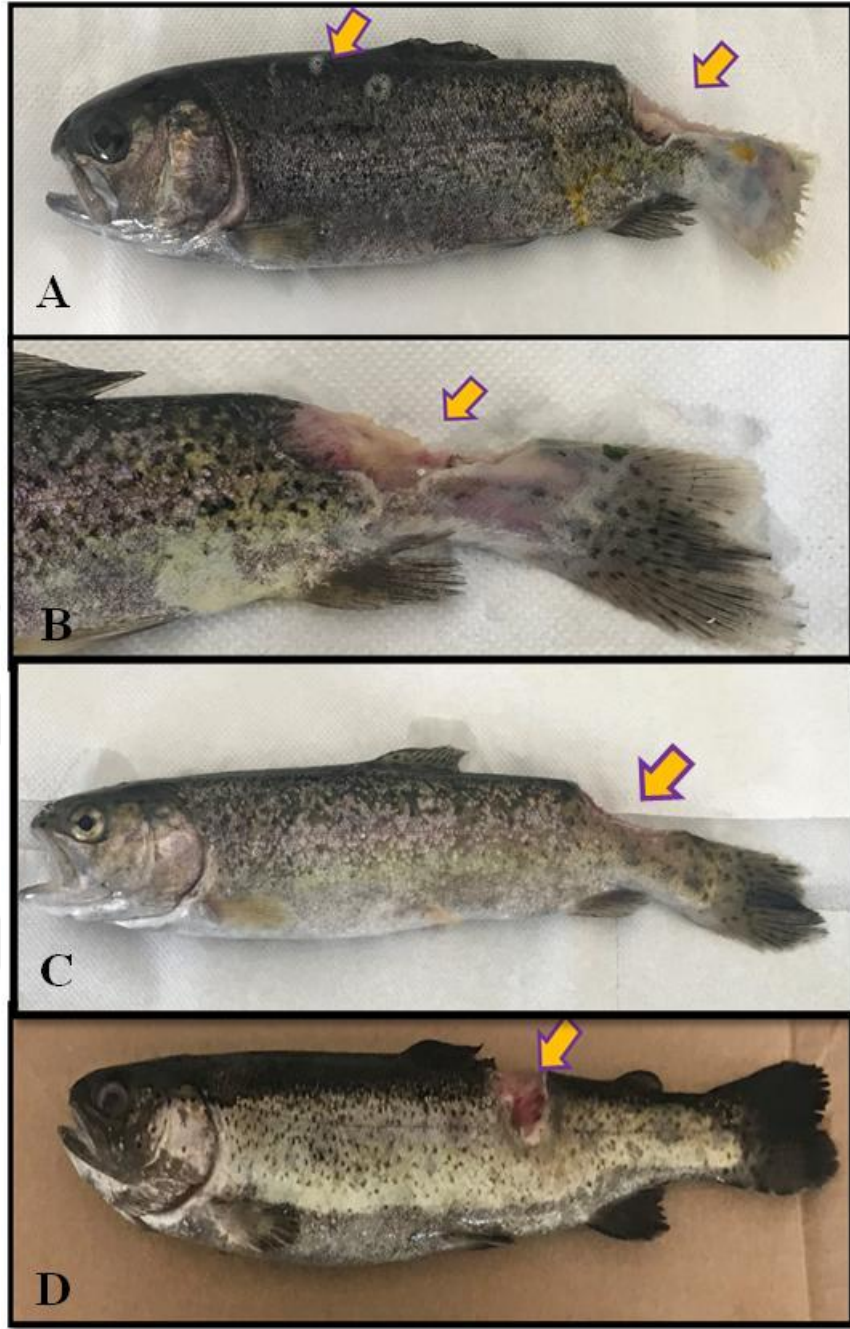
Anaç balıklara yapılan otopside periton duvarı ve hava kesesinde ekimoz, dalak ve karaciğerde büyüme ve yaygın hemoraji, hava kesesi ve testislerde yaygın hemoraji ile karaciğerde peteşiyel hemoraji tespit edilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: A: Anaç balıkta periton duvarında ve hava kesesinde ekimoz; B: Anaç balıkta hava kesesi ve testislerde yaygın hemoraji, bağırsaklarda hemorajik diyare; C: Anaç balıkta dalak ve karaciğerde büyüme ve peteşiyel hemoroji ile yaygın hemoraji (PD: periton duvarı, T: testis, K: karaciğer; D: dalak, HK: hava kesesi, BR: bağırsak)

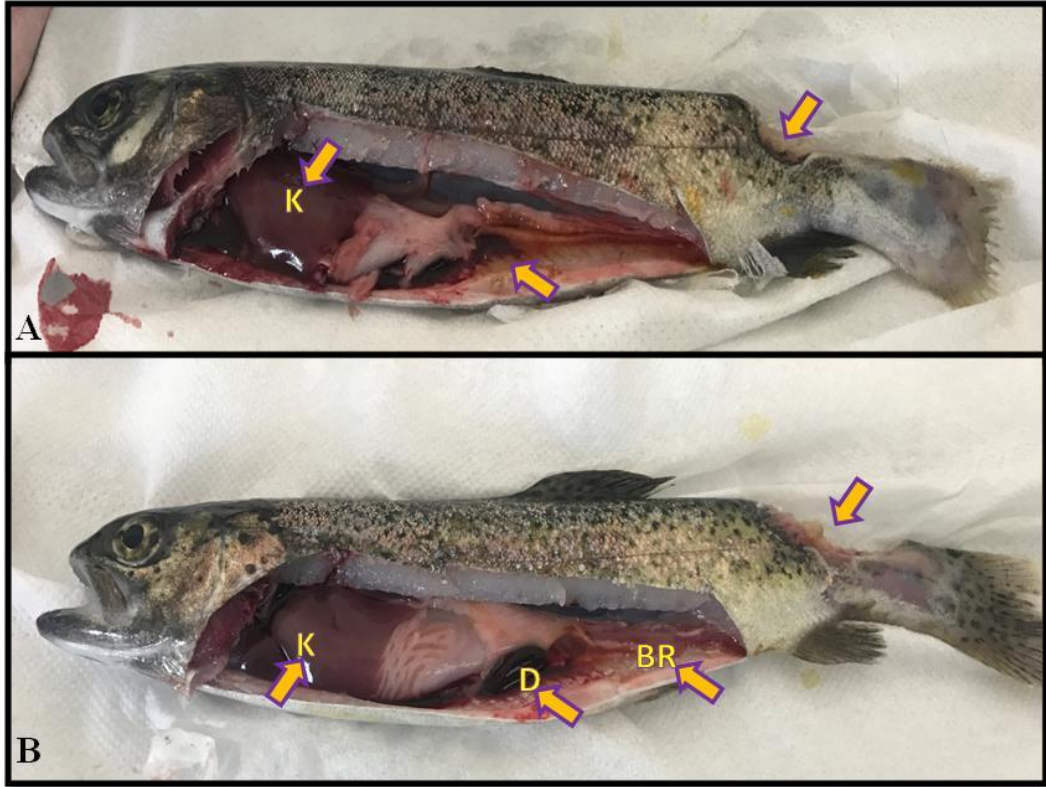
4.2.3 *Pseudomonas fluorescens*

P. fluorescens izole edilen balıklarda klinik olarak renkte kararma, kaudal yüzgeç ve çevresi ile dorsal yüzgeç gerisinde erime belirlenmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: A, B: Renkte kararırma, kaudal yüzgeç ve dorsal yüzgeç gerisinde erime, kaudal yüzgeçte erime; C, D: Dorsal yüzgeç gerisinde erime.

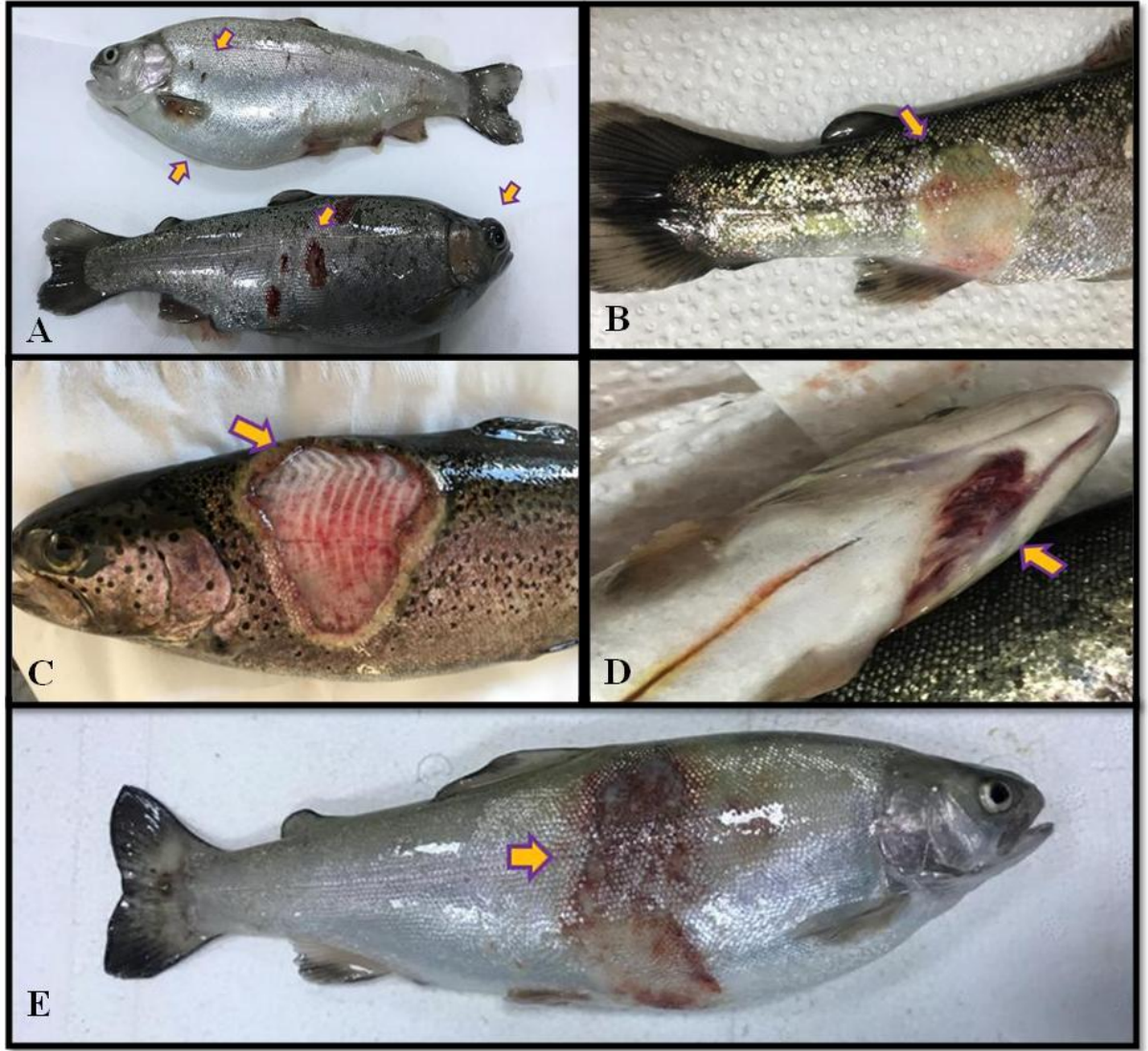
P. fluorescens izole edilen balıkların otopsi bulguları olarak ise karaciğer ve dalakta büyüme, abdominal boşlukta kanlı sıvı toplanması ve bağırsakta kanlı diyare tespit edilmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10: A: Dorsal yüzgeç gerisinde ve kaudal yüzgeçte erime, karaciğerde büyüme ve abdominal boşlukta kanlı sıvı toplanması; B: Dorsal yüzgeç gerisinde erime, karaciğer ve dalakta büyüme, bağırsakta kanlı diyare (K: karaciğer, D: dalak, BR: bağırsak).

4.2.4 *Vibrio anguillarum*

Vibriosis hastalığı etkeni olan *V. anguillarum*'un izole edildiği balıklarda klinik bulgular özellikle vücudun çeşitli bölgelerinde ekimoz, ülserler, asites, ekzoftalmus, pektoral ve anal yüzgeç kaidesinde hemoraji, yüzgeçlerde erime, operkul altında derin ülser, ağız içi ve çevresinde hemoraji ile prolapsus gözlenmiştir (Şekil 4.11; 4.12).

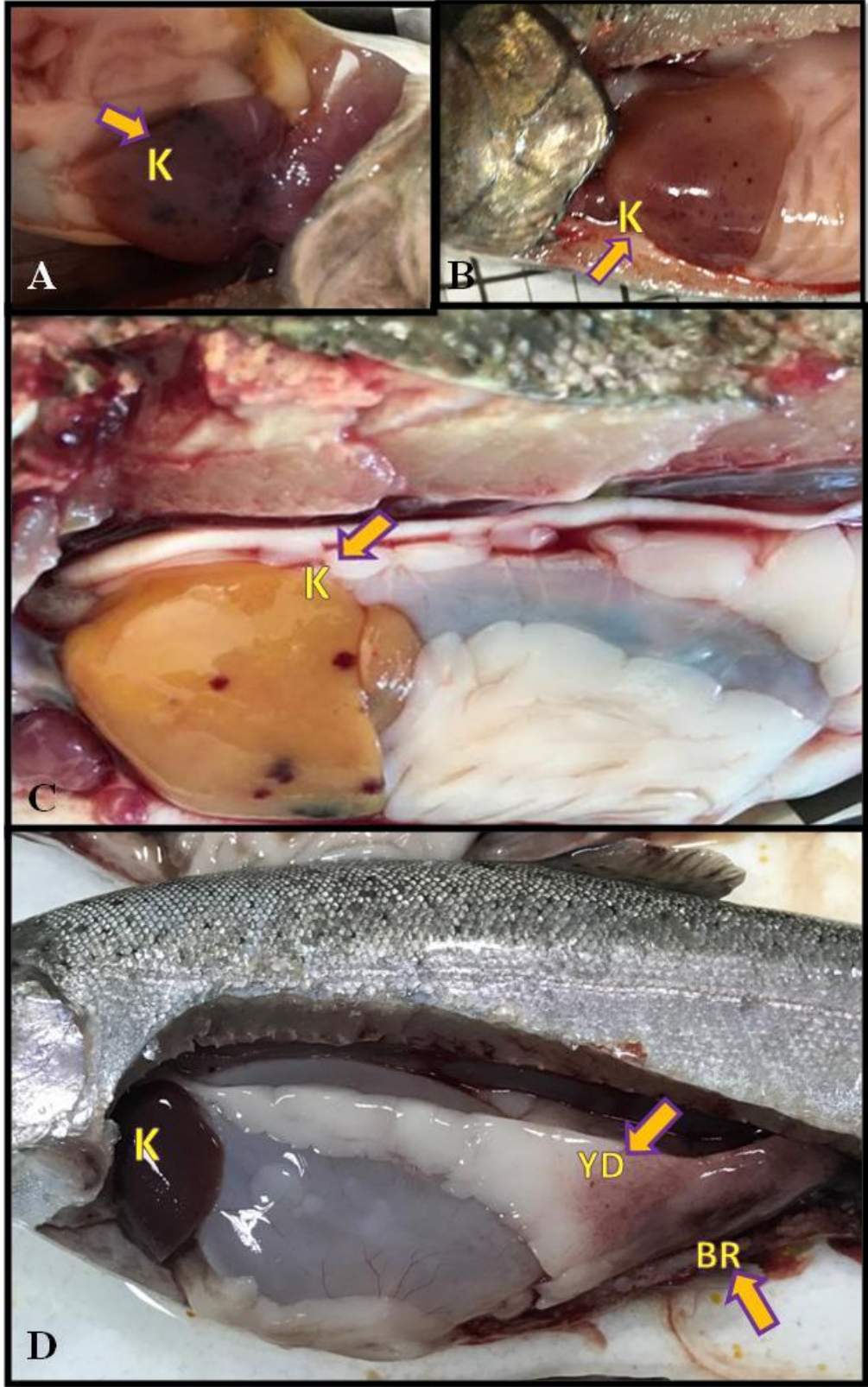


Şekil 4.11: A: Vücut yüzeyinde ülserler, asites ve ekzoftalmus; B: Vücut yüzeyinde ülser; C: Vücut yüzeyinde hemorajili fokal derin ülser; D: Solungaç kapağı altında derin ülser; E: Vücut yüzeyinde ekimoz.



Şekil 4.12: A: Vücut yüzeyinde ülser, pektoral yüzgeç kaidesinde hemoraji ve yüzgeç erimesi; B: Dilde ve alt çenede hemoraji; C: Anal yüzgeç kaidelerinde hemoraji ve prolapsus.

Vibriozisli balıkların otopsi bulgularında ise karaciğerde soluk renk ve peteşiyel hemoraji, midede sıvı birikmesi, yağ dokuda yaygın hemoraji ve bağırsakta hemorajik diyare gözlenmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13: A, B: Karaciğerde peteşiyel hemoraji; C: Karaciğerde soluk renk ve peteşiyel hemoraji; D: Midede sıvı birikmesi, yağ dokuda yaygın hemoraji, bağırsakta hemorajik diyare (K: karaciğer, BR: bağırsak, YD: yağ doku).

4.2.5 *Yersinia ruckeri*

Yersiniozis hastalığı etkeni olan *Y. ruckeri*'nin izole edildiği balıklarda renkte kararma, perioküler kanama ve göz çevresinde hemoraji, ağız ve ağız çevresinde hemoraji, operkul çevresi ve yüzgeçlerde yaygın hemoraji olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.14; 4.15).

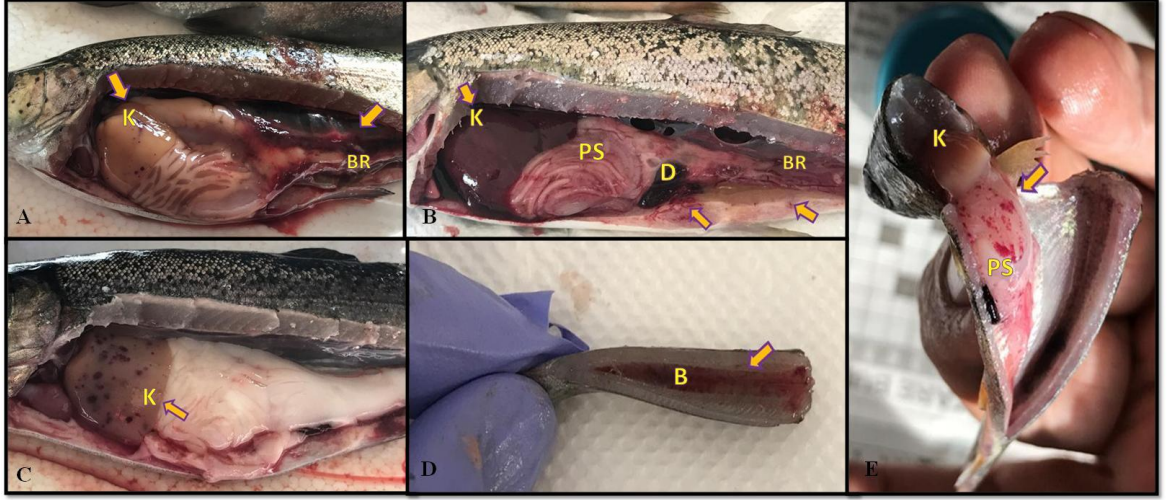


Şekil 4.14: A: Perioküler kanama ve renkte kararma; B: Ağız çevresinde hemoraji; C: Yüzgeçlerde hemoraji.



Şekil 4.15: A: Perioküler kanama; B: Operkul çevresinde yaygın hemoraji; C: Ağızda hemoraji.

Yersiniozisli balıkların otopsi bulgularında ise karaciğerde soluk renk ve peteşiyel hemoraji, bağırsakta hemorajik diyare, karaciğer ve dalakta büyüme, pilorik seka, böbrek, yağ doku ve testislerde yaygın hemoraji ve abdomen boşluğunda kanlı sıvı toplanması tespit edilmiştir (Şekil 4.16).

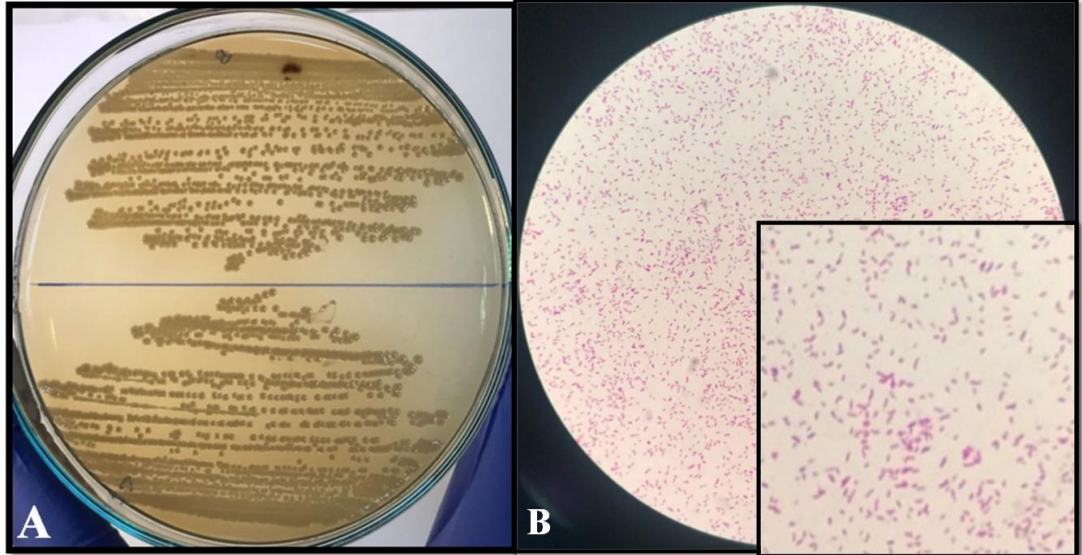


Şekil 4.16: A: Karaciğerde soluk renk ve peteşiyel hemoraji ve hemorajik diyare; B: Karaciğer ve dalakta büyüme, pilorik sekada yaygın hemoraji, bağırsakta hemorajik diyare; C: Karaciğer renginde solma ve peteşiyel hemoraji; D: Böbreklerde yaygın hemoraji; E: Pilorik sekada peteşiyel hemoraji (K: karaciğer, D: dalak, PS: pilorik seka, BR: bağırsak, B: böbrek).

4.3 İzolasyon ve İdentifikasyon

4.3.1 *Aeromonas hydrophila*

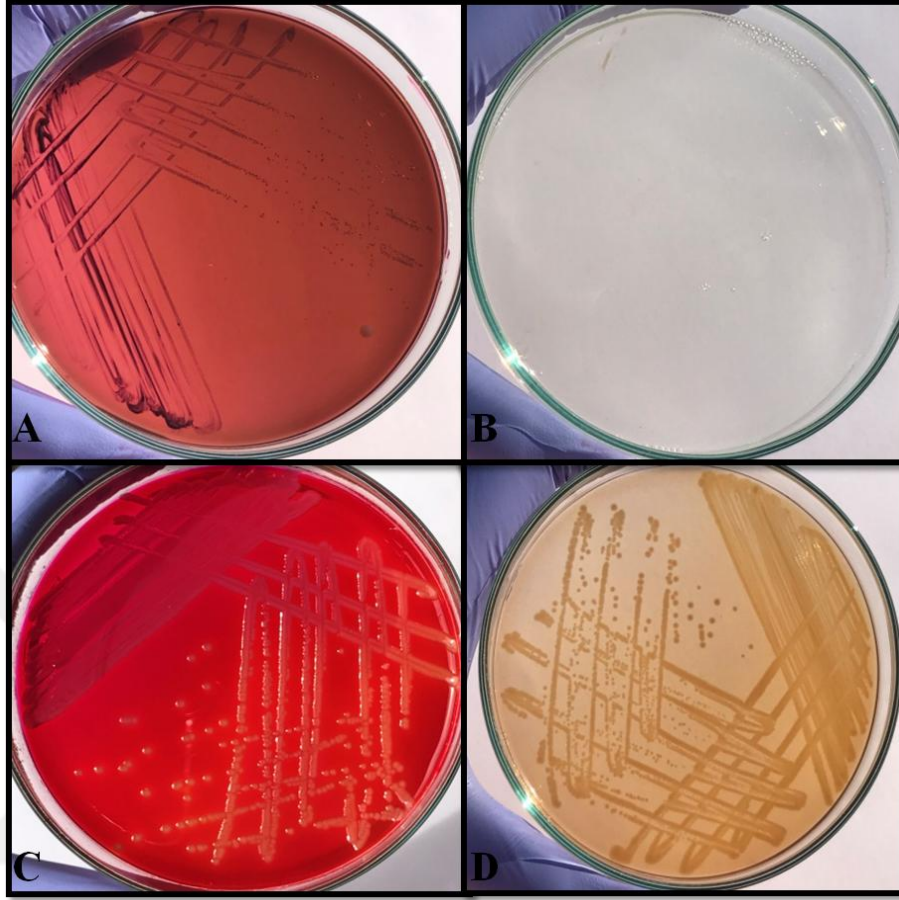
A. hydrophila suşlarının TSA besiyerinde primer izolasyonda göstermiş olduğu koloni morfolojisi ve Gram boyama görüntüsü Şekil 4.17’de sunulmuştur.



Şekil 4.17: A: TSA’da *A. hydrophila* kolonileri B: *A. hydrophila* Gram boyama.

A. hydrophila’nın seçici besiyerlerinde üreme kabiliyetleri karşılaştırıldığında EMB besiyerinde zayıf bir üreme olmuş, Cetrimide agarda ise üreme gerçekleşmediği

tespit edilmiştir. GSP besiyerinde sarı/yeşil koloni oluşumları, Yersinia CIN besiyerinde ise turuncu renkli koloniler oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18: A: EMB besiyerinde *A. hydrophila*, B: Cetrimide besiyerinde *A. hydrophila*, C: GSP besiyerinde *A. hydrophila*, D: Yersinia CIN besiyerinde *A. hydrophila*.

2 farklı çiftlikten izole edilen *A. hydrophila* suşlarının biyokimyasal özellikleri API 20E test kitleri ile belirlenmiş ve sonuçlar APIWEB™ veritabanında kontrol edilmiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: İzole edilen *A. hydrophila* suşlarının morfolojik ve API 20E test profilleri.

| | CAH1 | EAH1 |
|-----------------------|------|------|
| Gram boyama | - | - |
| Hareket | + | + |
| Oksidaz | + | + |
| Katalaz | + | + |
| ONPG | + | + |
| ADH | + | + |
| LDC | - | - |
| ODC | - | - |
| Sitrat | - | - |
| H₂S | + | + |
| Urease | - | - |
| TDA | - | - |
| Indol | + | + |
| VP | + | + |
| Gelatin | + | + |
| Glukoz | + | + |
| Mannitol | + | + |
| Inositol | - | - |
| Sorbitol | + | + |
| Rhamnose | - | - |
| Sucrose | + | + |
| Melibiose | - | - |
| Amygdalin | + | + |
| Arabinose | + | + |

+: Pozitif; -: Negatif O/F (Oxidative-Fermentative Medium), O/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine), ONPG (ortho-Nitrophenyl-β-galactoside), ADH (Arginine dihydrolase), LDC (Lysine decarboxylase), ODC (Ornithine decarboxylase), TDA (Deaminase), VP (Asetoin üretimi)

İzole edilen ve biyokimyasal tanımlaması gerçekleştirilen *A. hydrophila* suşlarının 16S rRNA gen sekanslarının belirlenmesi sonucu GenBank'ta MK880338.1 ve MK014495.1 suşlarıyla %100 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan dizileme işlemleriyle suşların elde edilen sonuç dizisi aşağıda sunulmuştur.

>CAH1

```
TGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCA
ACGAGCGCAACCCCTGTCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGA ACTCA
AGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGT
CATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCGTAC
AGAGGGCTGCAAGCTAGCGATAGTGAGCGAATCCCAAAAAGCGCGTCGT
AGTCCGGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGTCGGAATCGCTAGT
```

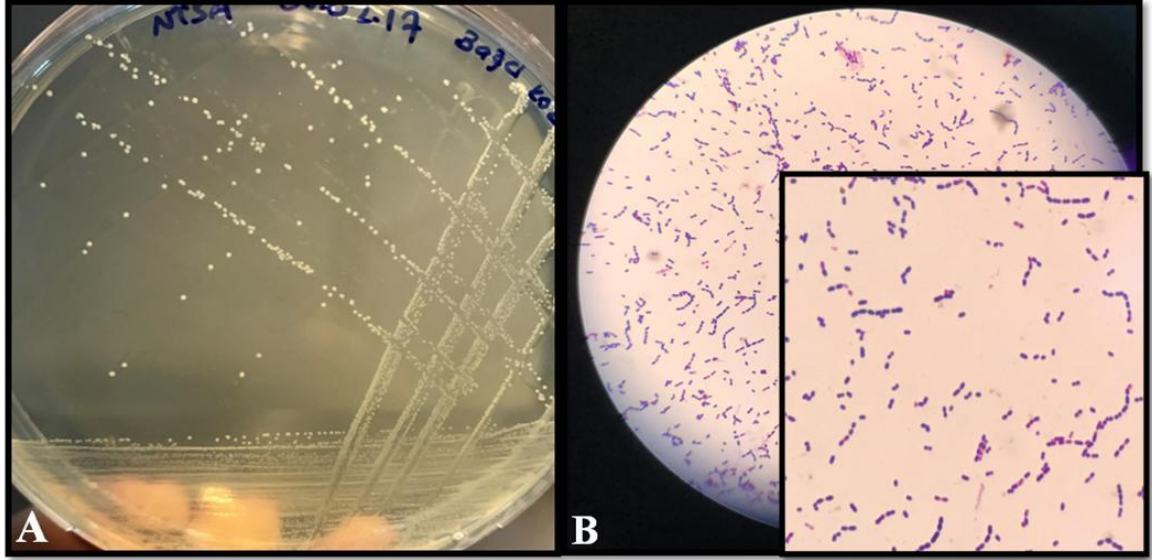
AATCGCAAATCAGAATGTTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACA
CCGCCCCGTCACACCATGGGAG

>**EAH1**

AGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTGGGGATCTGCCAGTCGAGGGGGA
TAACAGTTGGAAACGACTGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAG
GAGGGGACCTTCGGGCCTTTCGCGATTGGATGAACCCAGGTGGGATTAG
CTAGTTGGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTG
AGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACG
GGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGC
CATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGA
GGAGGAAAGGTTGGCAGCTAATATCTGTCAGCTGTGACGTTACTCGCAG
AAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGT
GCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGG
ATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAA
ACTGTTTAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCG
GTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCC
TGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGAT
TAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGATTTGGAGGCTGTG
TCCTTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGG
AGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACA
AGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTG
GCCTTGACATGTCTGGAATCCTGTAGAGATACGGGAGTGCCTTCGGGAAT
CAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTG
GGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCCTTTGTTGCCAGCACGTA
ATGGTGGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGG
GGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTGCT
ACAATGGCGCGTACAGAGGGCTGCAAGCTAGCGATAGTGAGCGAATCCC
AAAAAGCGCGTCGTAGTCCGGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGAA
GTCGGAATCGCTAGTAATCGCAAATCAGAATGTTGCGGTGAATACGTTCC
CGGGCCTTGTACACACCGCCCCGTCAC

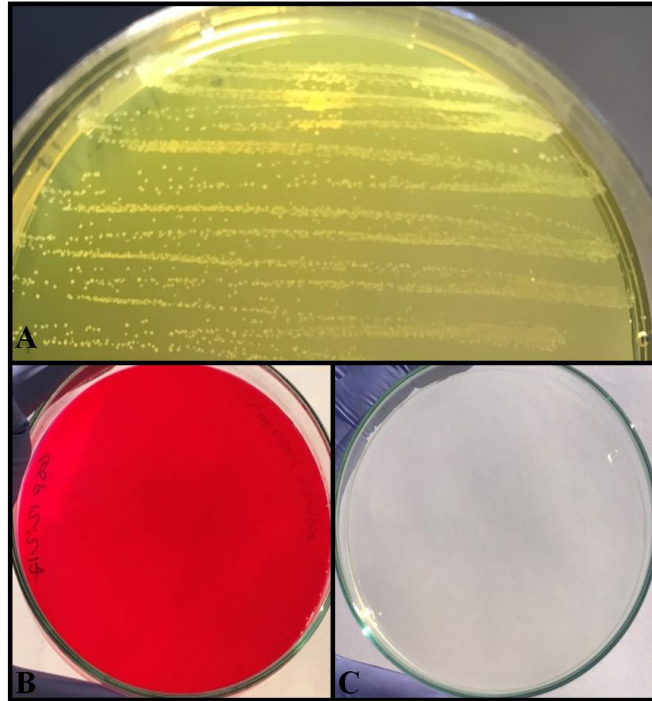
4.3.2 *Lactococcus garvieae*

L. garvieae suşlarının TSA'daki koloni ve Gram boyama görünüşleri Şekil 4.19'da sunulmuştur.



Şekil 4.19: A: TSA'da *L. garvieae* kolonileri B: *L. garvieae* Gram boyama.

Seçici besiyerlerinde WS, GSP ve Cetrimide agara mikrobiyolojik ekimi yapılan *L. garvieae* suşlarının sadece WS besiyerinde koloni oluşturduğu görülmüş, diğer iki besiyerinde üreme gözlenmemiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20: A: WS besiyerinde *L. garvieae*, B: GSP besiyerinde *L. garvieae* C: Cetrimide besiyerinde *L. garvieae*.

7 farklı çiftlikteki hasta balıklardan izole edilen 22 adet *L. garvieae* suşuna ait API Rapid ID 32 STREP biyokimyasal test kiti sonuçları Tablo 4.4 ve 4.5’de sunulmuştur.



Tablo 4.4: İzole edilen *L. garvieae* suşlarının morfolojik ve API Rapid ID 32 STREP test profilleri.

| | ALG1 | ALG2 | ALG3 | ALG4 | ALG5 | ALG6 | ALG7 | ALG8 | ALG9 | BLG1 | BLG2 | BLG3 | BLG4 | DLG1 | DLG2 | DLG3 | DLG4 | FLG1 | GLG1 | ILG1 | KLG1 | KLG2 | |
|-------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|---|
| Gram boyama | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Hareket | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Oksidaz | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Katalaz | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| ADH | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| βGLU | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| βGAR | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| βGUR | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| GAL | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| PAL | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| RIB | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| MAN | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| SOR | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| LAC | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TRE | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| RAF | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| VP | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| APPA | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| βGAL | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| PyrA | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| βNAG | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| GTA | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| HIP | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| GLYG | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| PUL | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

+: Pozitif; -: Negatif

Tablo 4.5: İzole edilen *L. garvieae* suşlarının morfolojik ve API Rapid ID 32 STREP test profilleri (Devam).

| | ALG1 | ALG2 | ALG3 | ALG4 | ALG5 | ALG6 | ALG7 | ALG8 | ALG9 | BLG1 | BLG2 | BLG3 | BLG4 | DLG1 | DLG2 | DLG3 | DLG4 | FLG1 | GLG1 | ILG1 | KLG1 | KLG2 | |
|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|---|
| MAL | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| MEL | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| MLZ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| SAC | + | - | - | + | - | - | - | + | - | - | - | + | - | - | - | + | - | - | - | - | - | + | - |
| LARA | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| DARL | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| MβDG | + | + | - | + | + | + | - | + | + | + | - | + | + | + | - | + | + | + | + | - | + | + | + |
| TAG | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| βMAN | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| CDEX | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| URE | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

+: Pozitif; -: Negatif O/F: Oxidation/Fermentation; ADH: L-arginine, βGLU: β-glucosidase; βGAR: β-Galactosidase; βGUR, β-glucuronidase αGAL: α-galactosidase; PAL: alkaline phosphatase, RIB: D-ribose; MAN: Mannitol; SOR: Sorbitol; LAC: Lactose; TRE: D-trehalose; RAF: D-raffinose; VP: Voges Proskauer; APPA: L-alanyl-L-phenylalanyl-L-prolineβ-naphthylamide, βGAL: β-galactosidase; PYRA: pyroglutamic acid-β-naphthylamide, β-NAG: N-Acetylβ-Glucosaminidase, GTA: Glycyl-Tryptophan Arylamidase, HIP: Hydrolysis of HIPpurate, GLYG: Glycogen; PUL: Pullulan; MAL: D-maltose; MEL: D-Melibiose; MLZ: D-melezitose; SAC: D-saccharose; LARA: L-arabinose; DARL: D-arabitol; MβDG: methyl-βD-glucopyranoside; TAG: D-tagatose; β MAN: β-mannosidase; CDEX: Dcyclodextrin; URE: Ureaz

İzole edilen ve biyokimyasal tanımlaması gerçekleştirilen *L. garvieae* suşlarının 16S rRNA gen sekanslarının belirlenmesi sonucu Lactococcus genusuna ait olduğu belirlenmiş, GenBank'ta MK559554.1, CP026502.1 ve LC377165.1 suşlarıyla %100 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmanın ilerleyen adımlarında kullanılacak olan *L. garvieae* suşlarının çift yönlü dizi analizi sonuçları aşağıda belirtilmiştir.

>ALG4

CAATGAGAATCCCATGATTCTTATTTAAAAGAAGCAATTGCTTCACTACT
TGATGATCCCGCGTTGTATTAGCTAGTTGGTAGTGTAAGGACTACCAAG
GCGATGATACATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTG
AGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCA
ATGGGGGCAACCCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTC
GGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAGAAGAACGTTAAGTAGAGTGGA
TTACTTAAGTGACGGTATCTAACCAGAAAGGGACGGCTAACTACGTGCC
AGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTCCCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGC
GTAAAGCGAGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTAAAAGGCAGTGGC
TCAACCATTGTGTGCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGGAGAGGA
GAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAAC
ACCGGAGGCGAAAGCGGCTCTCTGGCCTGTAAGTACTGACTGAGGCTCGA
AAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAA
ACGATGAGTGCTAGCTGTAGGGAGCTATAAGTTCTCTGTAGCGCAGCTAA
CGCATTAAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAA
AGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCG
AAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATACTCGTGCTATCCTTA
GAGATAAGGAGTTCCTTCGGGACACGGGATACAGGTGGTGCATGGTTGT
CGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
CCTTATTACTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCG
GTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTT
ATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTCGCCA
ACCCGCGAGGGTGCCTAATCTCTTAAAACCATTCTCAGTTCGGATTGCA
GGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGT

>GLG1

CTAGTTGGTAGTGTAAGGACTACCAAGGCGATGATACATAGCCGACCT
GAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTAC
GGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGGGGCAACCCTGACCGAG

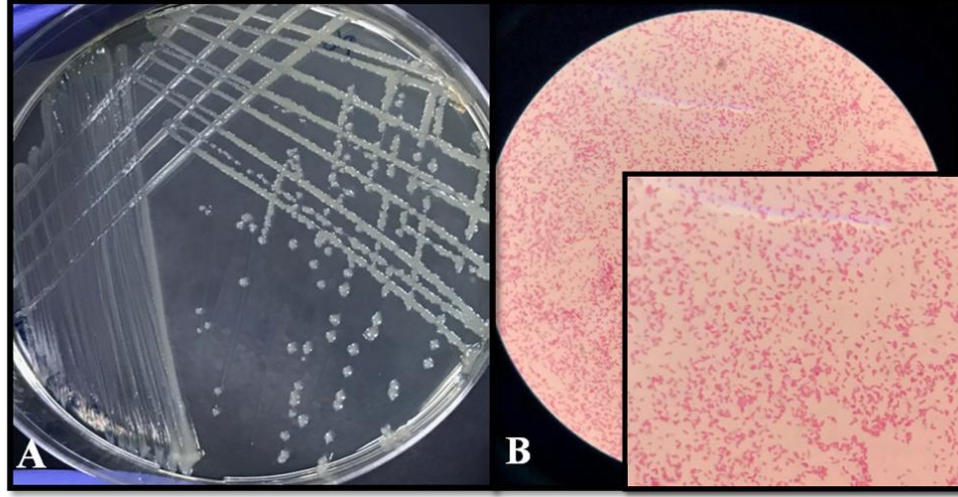
CAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTGTTA
GAGAAGAACGTTAAGTAGAGTGGAAAATTACTTAAGTGACGGTATCTAA
CCAGAAAGGGACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGG
TCCCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGTGGTTT
CTTAAGTCTGATGTAAAAGGCAGTGGCTCAACCATTGTGTGCATTGGAAA
CTGGGAGACTTGAGTGCAGGAGAGGAGAGTGGAAATTCATGTGTAGCGG
TGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCGGAGGCGAAAGCGGCTCTCT
GGCCTGTAACCTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATT
AGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAGCTGTAGGGA
GCTATAAGTTCTCTGTAGCGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGG
AGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACA
AGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAAAACCTTACCA
GGTCTTGACATACTCGTGCTATCCTTAGAGATAAGGAGTTCCTTCGGGAC
ACGGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTTCGTCAACTCGGGTTCGTGAGATGTT
GGGTAA

>ILG1

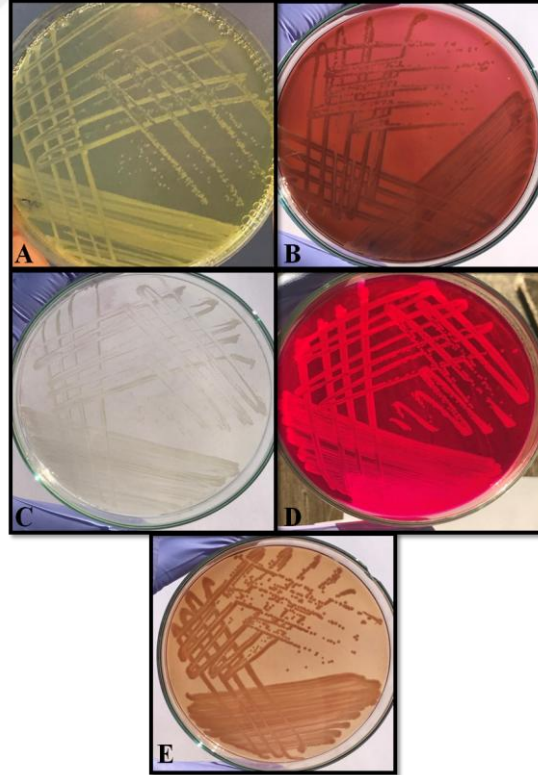
CTAGTTGGTAGTGTAAAGGACTACCAAGGCGATGATACATAGCCGACCT
GAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTAC
GGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGGGGCAACCCTGACCGAG
CAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTGTTA
GAGAAGAACGTTAAGTAGAGTGGAAAATTACTTAAGTGACGGTATCTAA
CCAGAAAGGGACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGG
TCCCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGTGGTTT
CTTAAGTCTGATGTAAAAGGCAGTGGCTCAACCATTGTGTGCATTGGAAA
CTGGGAGACTTGAGTGCAGGAGAGGAGAGTGGAAATTCATGTGTAGCGG
TGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCGGAGGCGAAAGCGGCTCTCT
GGCCTGTAACCTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATT
AGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAGCTGTAGGGA
GCTATAAGTTCTCTGTAGCGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGG
AGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACA
AGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAAAACCTTACCA
GGTCTTGACATACTCGTGCTATCCTTAGAGATAAGGAGTTCCTTCGGGAC
ACGGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTTCGTCAACTCGGGTTCGTGAGATGTT
GGGTAA

4.3.3 *Pseudomonas fluorescens*

P. fluorescens'in genel besiyeri olan TSA daki koloni görünümü ile Gram boyama görüntüsü Şekil 4.21'de verilmiştir.



Şekil 4.21: A: TSA'da *P. fluorescens* kolonileri B: *P. fluorescens* Gram boyama. *P. fluorescens* mikrobiyolojik ekim yapılan WS, EMB, Cetrimide, GSP ve Yersinia CIN besiyerinde üreme kabiliyeti göstermiş, koloni morfolojileri ve renkleri de Şekil 4.22'de sunulmuştur.



Şekil 4.22: A: WS besiyerinde *P. fluorescens*, B: EMB besiyerinde *P. fluorescens*, C: Cetrimide besiyerinde *P. fluorescens*, D: GSP besiyerinde *P. fluorescens*, E: Yersinia CIN besiyerinde *P. fluorescens*.

Çalışma süresince aynı çiftlikten 2 farklı tarihte *P. fluorescens* izole edilmiştir. Suşlara ait API 20E test sonuçları ile morfolojik profilleri Tablo 4.6’da sunulmuştur.

Tablo 4.6: İzole edilen *P. fluorescens* suşlarının morfolojik ve API 20E test profilleri.

| | CPF1 | CPF2 |
|-----------------------|------|------|
| Gram boyama | - | - |
| Hareket | + | + |
| Oksidaz | + | + |
| Katalaz | + | + |
| ONPG | - | - |
| ADH | + | + |
| LDC | - | - |
| ODC | - | - |
| Sitrat | + | + |
| H₂S | - | - |
| Urease | - | - |
| TDA | - | - |
| Indol | - | - |
| VP | + | + |
| Gelatin | + | + |
| Glucose | + | + |
| Mannitol | - | - |
| Inositol | - | - |
| Sorbitol | - | - |
| Rhamnose | - | - |
| Sucrose | - | - |
| Melibiose | + | + |
| Amygdalin | - | - |
| Arabinose | + | + |

+: Pozitif; -: Negatif O/F (Oxidative-Fermentative Medium), O/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine), ONPG (ortho-Nitrophenyl- β -galactoside), ADH (Arginine dihidrolaze), LDC (Lysine decarboxylase), ODC (Ornithine decarboxylase), TDA (Deaminase), VP (Asetoin üretimi)

P. fluorescens suşlarının 16S rRNA gen sekanslarının belirlenmesi sonucu GenBank’ta CP017296.1 suşuyla %100 benzerlik gösterdiği tespit edilmiş olup, yapılan dizileme işlemleriyle suşların elde edilen sonuç dizisi aşağıda gösterilmiştir.

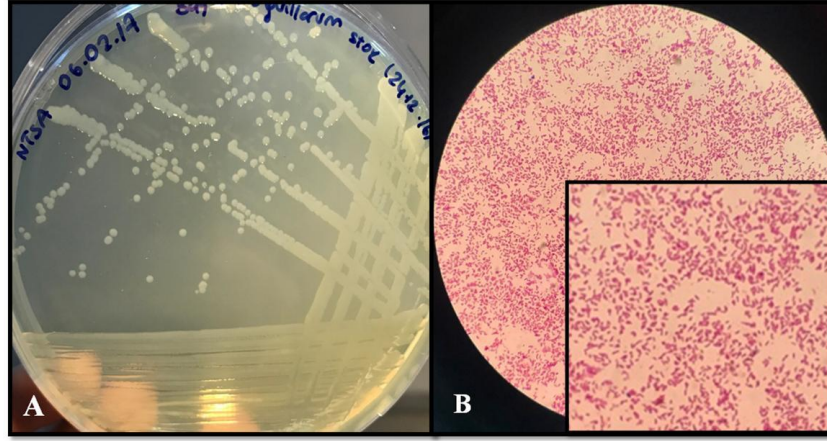
>CPF1 – CPF2

TGCAGTCGAGCGGTAGAGAGAAGCTTGCCTTCTCTTGAGAGCGGCGGAC
GGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCCG
AAACGGACGCTAATACCGCATAACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCT
TCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGA
GGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGATGAT

CAGTCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCA
GTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGT
GTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGG
GTTGTAGATTAATACTCTGCAATTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACC
GGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTTTGTTAAGTTGGAT
GTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAACTGACTGACTA
GAGTATGGTAGAGGGTGGTGGAAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTA
GATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTAATACT
GACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCGTGG
TAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGAAGCCTTGAGCTTT
TAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGC
AAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGC
ATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCCTTGACATC
CAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGGGAACATTGAGACAGG
TGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC
GTAACGAGCGCAACCCTTGTCTTAGTTACCAGCACGTTATGGTGGGCAC
TCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCA
AGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGG
TACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCCATAAAACCGAT
CGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCT
AGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAC
ACACCGCCCGTACACCATGGGAGTGGGTTGCTACCAGAAGTAGCTAGT
CTAACCTTCGGGAGGACGGTA

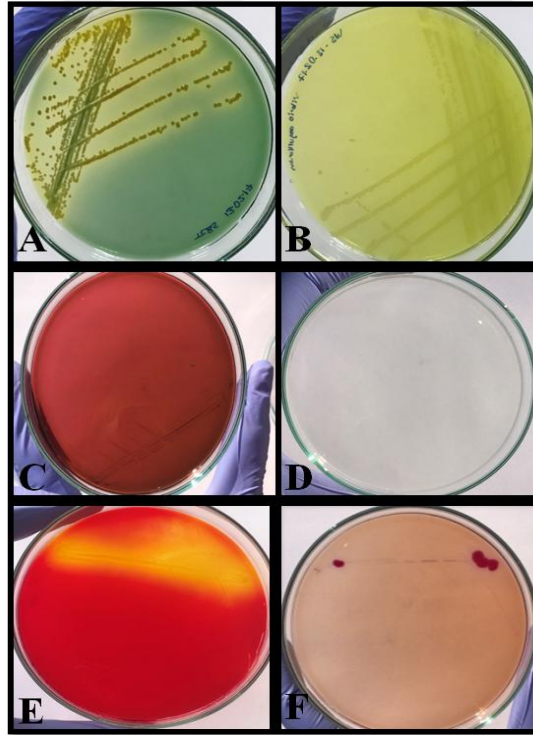
4.3.4 Vibrio anguillarum

V. anguillarum'un TSA'da genel koloni morfolojisi ile Gram boyama görüntüsü Şekil 4.23'de sunulmuştur.



Şekil 4.23: A: TSA'da *V. anguillarum* kolonileri B: *V. anguillarum* Gram boyama.

İdentifiye edilen *V. anguillarum* suşlarının çeşitli selektif besiyerleri üzerinde üreme kabiliyeti, koloni morfolojisi ve pigmentasyonu gözlenmiş, *Vibrio* türleri için seçici olan TCBS agar da sarı renkli homojen koloniler görülürken, *Yersinia* türleri için selektif olan WS besiyerinde üreme gözlenmiş, ancak pigmentasyon tespit edilmemiştir. EMB ve Cetrimide besiyerlerinde üreme gözlenmezken, GSP ve *Yersinia* CIN besiyerlerinde hafif pigmentasyon görülmüş ancak koloni oluşumu tespit edilmemiştir (Şekil 4.24).



Şekil 4.24: A: TCBS agarda *V. anguillarum*, B: WS besiyerinde *V. anguillarum*, C: EMB besiyerinde *V. anguillarum*, D: Cetrimide besiyerinde *V. anguillarum*, E: GSP besiyerinde *V. anguillarum*, F: *Yersinia* CIN besiyerinde *V. anguillarum*.

Çalışma süresince 4 farklı gökkuşağı alabalığı çiftliğinden izole edilen 7 adet *V. anguillarum* suşuna ait bazı morfolojik değerleri ile API 20E biyokimyasal test sonuçları Tablo 4.7’de sunulmuştur.

Tablo 4.7: İzole edilen *V. anguillarum* suşlarının morfolojik ve API 20E test profilleri.

| | AVA1 | AVA2 | AVA3 | AVA4 | BVA1 | EVA1 | KVA1 |
|------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| Gram boyama | - | - | - | - | - | - | - |
| Hareket | + | + | + | + | + | + | + |
| Oksidaz | + | + | + | + | + | + | + |
| Katalaz | + | + | + | + | + | + | + |
| O/F | F | F | F | F | F | F | F |
| O/129 | + | + | + | + | + | + | + |
| ONPG | + | + | + | + | + | + | + |
| ADH | + | + | + | + | + | + | + |
| LDC | - | - | - | - | - | - | - |
| ODC | - | - | - | - | - | - | - |
| Sitrat | + | + | + | + | + | + | + |
| H ₂ S | - | - | - | - | - | - | - |
| Urease | - | - | - | - | - | - | - |
| TDA | - | - | - | - | - | - | - |
| Indol | - | - | - | - | - | - | - |
| VP | + | + | + | + | + | + | + |
| Gelatin | + | + | + | + | + | + | + |
| Glucose | + | + | + | + | + | + | + |
| Mannitol | + | + | + | + | + | + | + |
| Inositol | + | + | + | + | + | + | + |
| Sorbitol | + | + | + | + | + | + | + |
| Rhamnose | - | - | - | - | - | - | - |
| Sucrose | + | + | + | + | + | + | + |
| Melibiose | - | - | - | - | - | - | - |
| Amygdalin | - | - | - | - | - | - | - |
| Arabinose | + | + | + | + | + | + | + |

+: Pozitif; -: Negatif O/F (Oxidative-Fermentative Medium), O/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine), ONPG (ortho-Nitrophenyl-β-galactoside), ADH (Arginine dihidrolaze), LDC (Lysine decarboxylase), ODC (Ornithine decarboxylase), TDA (Deaminase), VP (Asetoin üretimi)

İzole edilen ve biyokimyasal tanımlaması gerçekleştirilen *V. anguillarum* suşlarının 16S rRNA gen sekanslarının belirlenmesiyle GenBank’ta CP020534.1,CP011436.1 ve LC475108.1 suşlarıyla %100 benzerlik gösterdiği tespit edilmiş, yapılan dizileme işlemleriyle, ilerleyen aşamalarda kullanılacak suşların elde edilen sonuç dizisi aşağıda gösterilmiştir.

>AVA1

AAACTGGTTCACTAGAGTACTGTAGAGGGGGGTAGAATTTTCAGGTGTAG
CGGTGAAATGCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCC

CCTGGACAGATACTGACACTCAGATGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGG
ATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTTGGAGGTTG
TGGCCTTGAGCCGTGGCTTTCGGAGCTAACGCGTTAAGTAGACCGCCTGG
GGAGTACGGTCGCAAGATTA AAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTAC
CTACTCTTGACATCCAGAGAAGCCAGCGGAGACGCAGGTGTGCCTTCGG
GAGCTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAAT
GTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTGTTTGCCAGCG
AGTCATGTCGGGAACTCCAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAG
GTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGTTACACA

>**BVA1**

CAGTCGAGCGGCAGCACAGAGGAACTTGTTCCCTTGGGTGGCGAGCGGCG
GACGGGTGAGTAATGCCTAGGAAATTGCCCTGATGTGGGGGATAACCAT
TGAAACGATGGCTAATAACCGCATGATGCCTACGGGCCAAAGAGGGGGA
CCTTCGGGCCTCTCGCGTCAGGATATGCCTAGGTGGGATTAGCTAGTTGG
TGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGAT
GATCAGCCACACTGGA ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCA
GCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCG
CGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGTCGTGAGGAA
GGTGGTGTGTTAATAGCAGCATCATTTGACGTTAGCGACAGAAGAAGC
ACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCGAGCG
TTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCATGCAGGTGGTGGATTAAGTC
AGATGTGAAAGCCCGGGGCTCAACCTCGGAACCGCATTGAAACTGGTT
CACTAGAGTACTGTAGAGGGGGGTAGAATTTAGGTGTAGCGGTGAAAT
GCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAG
ATACTGACACTCAGATGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAC
CCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTTGGAGGTTGTGGCCTTGA
GCCGTGGCTTTCGGAGCTAACGCGTTAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACG
GTCGCAAGATTA AAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGT
GGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTG
ACATCCAGAGAAGCCAGCGGAGACGCAGGTGTGCCTTCGGGAGCTCTGA
GACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTA
AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTGTTTGCCAGCGAGTCATGTC
GGGAACTCCAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGAC

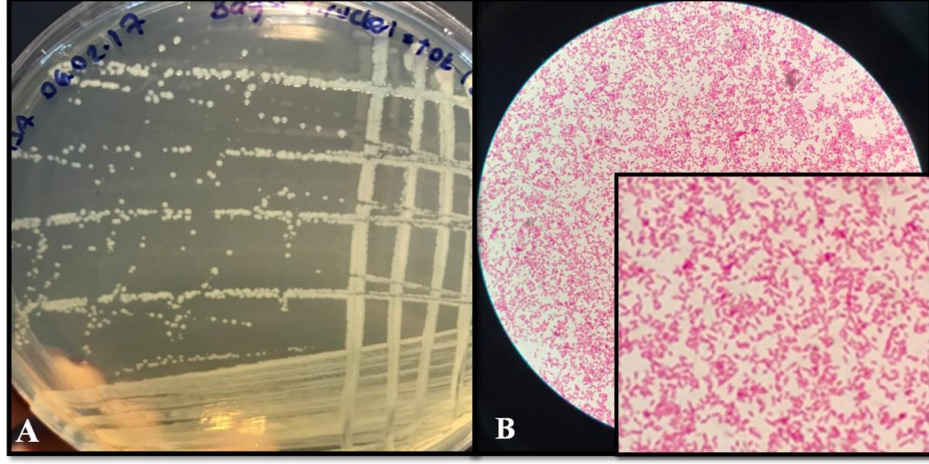
GACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGCGCATAACAGAGGGCAGCAAGCTAGCGATAGTGAGCGAATCCCAAAA
AGTGCGTTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGG
AATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGC
CTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGCTGCAAAGAAGTG
GGTAGTTTAACCTTTCGAGGAGGACGCTCACC

>EVA1

GGACAACATTCCGAAAGGAATGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGA
AAGCAGGGGATCTTCGGACCTTGCGCTAATAGATGAGCCTAAGTCAGATT
AGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCTGTAGCGGGT
CTGAGAGGATGATCCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCT
ACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCC
AGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTGGTTGTAAAGCACTTTAAG
CGAGGAGGAGGCTACTTAGATTAATACTCTAGGATAGTGGACGTTACTCG
CAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAG
GGTGCGAGCGTTAATCGGATTTACTGGGCGTAAAGCGTGCGTAGGGCGGC
TTTTTAAGTCGGATGTGAAATCCCTGAGCTTAACTTAGGAATTGCATTCG
ATACTGGGAAGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAATTCCAGGTGTAG
CGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCA
TCTGGCCTAATACTGACGCTGAGGTACGAAAGCATGGGGAGCAAACAGG
ATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGTCTACTAGCCGTTGG
GGCCTTTGAGGCTTTAGTGGCGCAGCTAACGCGATAAGTAGACCGCCTGG
GGAGTACGGTCGCAAGACTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTAC
CTGGTCTTGACATAGTAAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGG
AACTTACATAACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATG
TTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTTTCCTTATTTGCCAGCGG
GTTAAGCCGGGAACCTTTAAGGATACTGCCAGTGACAAACTGGAGGAAGG
CGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACG
TGCTACAATGGTCGGTACAAAGGGTTGCTACCTAGCGATAGGATGCTAAT
CTCAAAAAGCCGATCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATG
AAGTCGGAATCGTTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAATACGT
TCCC

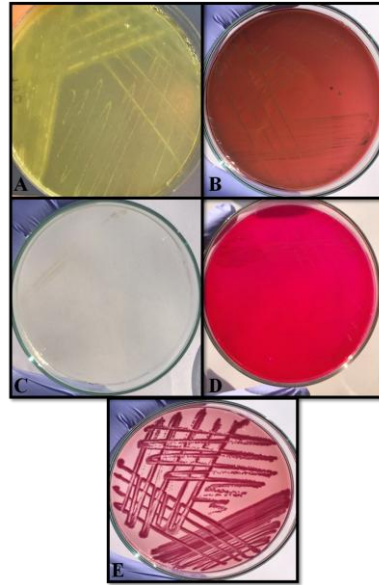
4.3.5 *Yersinia ruckeri*

Y. ruckeri'nin TSA'daki koloni görünümü ile Gram boyama görünümü Şekil 4.25'de sunulmuştur.



Şekil 4.25: A: TSA'da *Y. ruckeri* kolonileri B: *Y. ruckeri* Gram boyama.

İdentifikasyonun ardından selektif besiyerleri üzerine ekim yapılan *Y. ruckeri* suşlarının üzerinde üreme kabiliyeti, koloni morfolojisi ve besiyerlerinin içeriklerine göre renk değişiklikleri gözlenmiş, *Yersinia* türleri için selektif özellikte olan WS besiyerinde bakterilerin Tween 80 hidrolizi sonucu koloniler etrafında çözünmeyen kalsiyum tuzları tespit edilmiştir. EMB ve *Yersinia* CIN besiyerlerinde üreme görülürken, Cetrimide ve GSP besiyerlerinde herhangi bir koloni oluşumu olmamıştır (Şekil 4.26).



Şekil 4.26: A: WS besiyerinde *Y. ruckeri*, B: EMB besiyerinde *Y. ruckeri*, C: Cetrimide besiyerinde *Y. ruckeri*, D: GSP besiyerinde *Y. ruckeri*, E: *Yersinia* CIN besiyerinde *Y. ruckeri*.

8 farklı işletmeden izole edilen 13 adet *Y. ruckeri* suşunun bazı morfolojik ve API 20E test kitleri sonuçları doğrultusunda belirlenen biyokimyasal profilleri Tablo 4.8’de sunulmuştur.



Tablo 4.8: İzole edilen *Y. ruckeri* suşlarının morfolojik ve API 20E test profilleri.

| | AYR1 | AYR2 | AYR3 | AYR4 | BYR1 | CYR1 | CYR2 | DYR1 | FYR1 | FYR2 | GYR1 | HYR1 | KYR1 |
|-----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Gram boyama | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Hareket | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Oksidaz | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Katalaz | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| ONPG | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| ADH | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| LDC | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| ODC | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Sitrat | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| H₂S | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Urease | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TDA | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Indol | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| VP | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Gelatin | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Glucose | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Mannitol | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Inositol | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sorbitol | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Rhamnose | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sucrose | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Melibiose | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Amygdalin | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Arabinose | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

+: Pozitif; -: Negatif O/F (Oxidative-Fermentative Medium), O/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine), ONPG (ortho-Nitrophenyl-β-galactoside), ADH (Arginine dihidrolaze), LDC (Lysine decarboxylase), ODC (Ornithine decarboxylase), TDA (Deaminase), VP (Asetoin üretimi)

Y. ruckeri suşlarının 16S rRNA gen sekanslarının belirlenmesi sonucu GenBank'ta CP025800.1, MK548507.1 ve CP011078.1 suşlarıyla %100 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. İzole edilen *Y. ruckeri* suşları arasında ilerleyen aşamalarda kullanılacak suşların elde edilen sonuç dizisi aşağıda belirtilmiştir.

>AYR1

```
GGGGATCTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATA
CCGCATAACCTCGCAAGAGCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCA
TCGGATGAACCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACC
TAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAA
CTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGC
ACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCC
TTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAGGGTTAAGTGTTAATA
GCACTGAACATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTG
CCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTG
GGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCCCG
AGCTTAACTTGGGAACTGCATTTGAAACTGGCAAGCTAGAGTCTTGTAGA
GGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGG
AATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTG
CGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCTG
TAAACGATGTGCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGC
TAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAAC
CAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAAT
TCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCACAGAACTTGG
CAGAGATGCCTTGGTGCCTTCGGGAACTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCT
GTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA
ACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAGGGAGACT
GCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGC
CCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCAGATACAAAGTGAA
GCCAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCACATAAAGTCTGTGCTAGTCCGGA
TTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAG
ATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCC
```

>BYR1

```
GAAGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACCTCGCAA
GAGCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACGCCATCGGATGAACCCAGAT
```

GGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTA
GCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAG
ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCC
TGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCA
CTTTCAGCGAGGAGGAAGGGTTAAGTGTTAATAGCACTGAACATTGACG
TACTCGCAGAAGAAGCACCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGC
AGGCGGTTTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAACT
GCATTTGAAACTGGCAAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCA
GGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAG
GCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGC
AACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTTG
GAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGAC
CGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGG
GCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGA
ACCTTACCTACTCTTGACATCCACAGAACTTGGCAGAGATGCCTTGGTGC
CTTCGGGAACTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTG
TGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTG
CCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGACAAACCGG
AGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCT
ACACACGTGCTACAATGGCAGATACAAAGTGAAGCGAACTCGCGAGAGC
AAGCGGACCACATAAAGTCTGTTCGTAAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCG
ACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTG
AATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCC

>FYR1

AATGTCTGGGGATCTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTA
GCTAATACCGCATAACCTCGCAAGAGCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCT
CACGCCATCGGATGAACCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATG
GCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCAC
ACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGA
ATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAA
GAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAGGGTTAAGT
GTTAATAGCACTGAACATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCCGGCTAA
CTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGA

ATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTGTTAAGTCAGATGTGAA
ATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAGTGCATTTGAAACTGGCAAGCTAGAGTC
TTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAT
CTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGC
TCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC
CACGCTGTAAACGATGTCTGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTT
CCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGT
TAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTG
GTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCACAG
AACTTGGCAGAGATGCCTTGGTGCCTTCGGGAACTGTGAGACAGGTGCTG
CATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAAC
GAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAG
GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCA
TCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCAGATACA
AAGTGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCACATAAAGTCTGTCTGTA
GTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTA
ATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACAC
CGCC

Tez çalışması süresince gökkuşığı alabalığı çiftliklerinden 22 adet *L. garvieae*, 7 adet *V. anguillarum*, 13 adet *Y. ruckeri*, 2'şer adet ise *P. fluorescens* ve *A. hydrophila* suşu izole edilmiş olup, izolasyon yüzdeleri Tablo 4.9'da sunulmuştur.

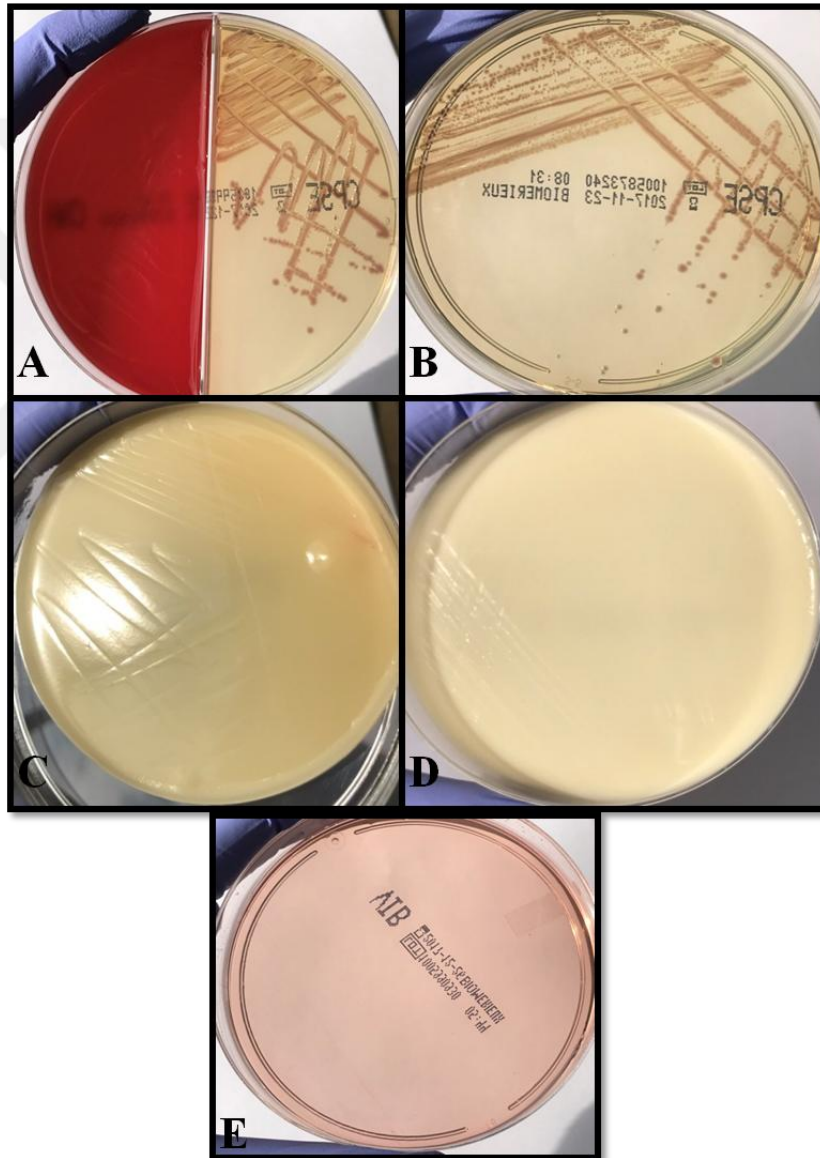
Tablo 4.9: Çalışmada izole edilen bakteriyel balık patojenleri.

| Patojen | İdentifiye Edilen Suş Sayısı (Adet) | İzolasyon Yüzdesi (%) |
|-----------------------|--|------------------------------|
| <i>A. hydrophila</i> | 2 | 4,3 |
| <i>L. garvieae</i> | 22 | 47,8 |
| <i>P. fluorescens</i> | 2 | 4,3 |
| <i>V. anguillarum</i> | 7 | 15,2 |
| <i>Y. ruckeri</i> | 13 | 28,3 |
| TOPLAM | 46 | 100,0 |

4.4 Bakteriyeel Balık Patojenlerinin Alternatif Kromojenik Besiyerlerinde Üreme Performansları

4.4.1 *Aeromonas hydrophila*

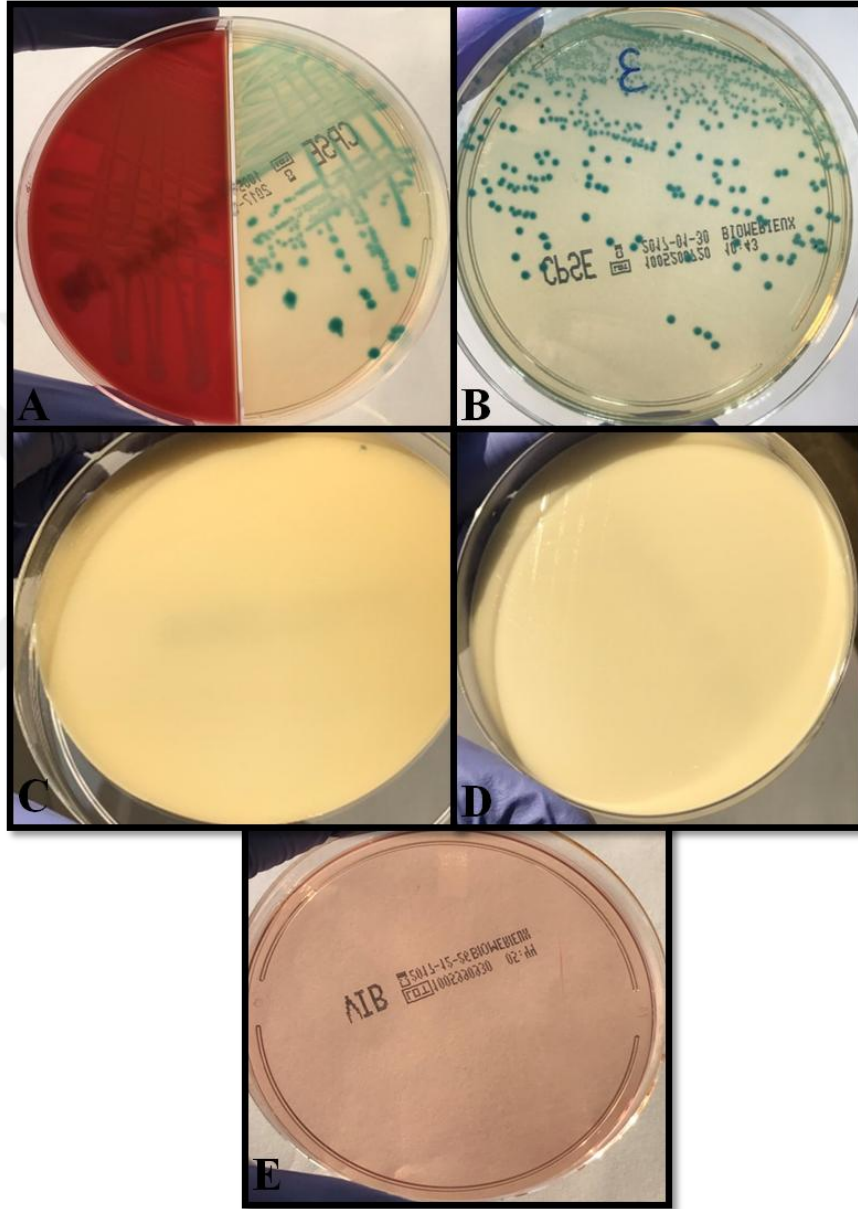
Bakteriyel balık patojenlerinin üreme kabiliyetlerinin ilk kez denendiği besiyerlerinde *A. hydrophila* yalnızca chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood ve chromID® CPS® Elite besiyerinde üreme gösterip, açık kahverengi koloniler oluştururken, chromID® MRSA Smart, chromID® *S. aureus* Elite ve chromID® Vibrio besiyerinde üreme gözlenmemiştir (Şekil 4.27).



Şekil 4.27: A: chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood besiyerinde *A. hydrophila*, B: chromID® CPS® Elite besiyerinde *A. hydrophila*, C: chromID® MRSA Smart besiyerinde *A. hydrophila*, D: chromID® *S. aureus* Elite besiyerinde *A. hydrophila*, E: chromID® Vibrio besiyerinde *A. hydrophila*.

4.4.2 *Lactococcus garvieae*

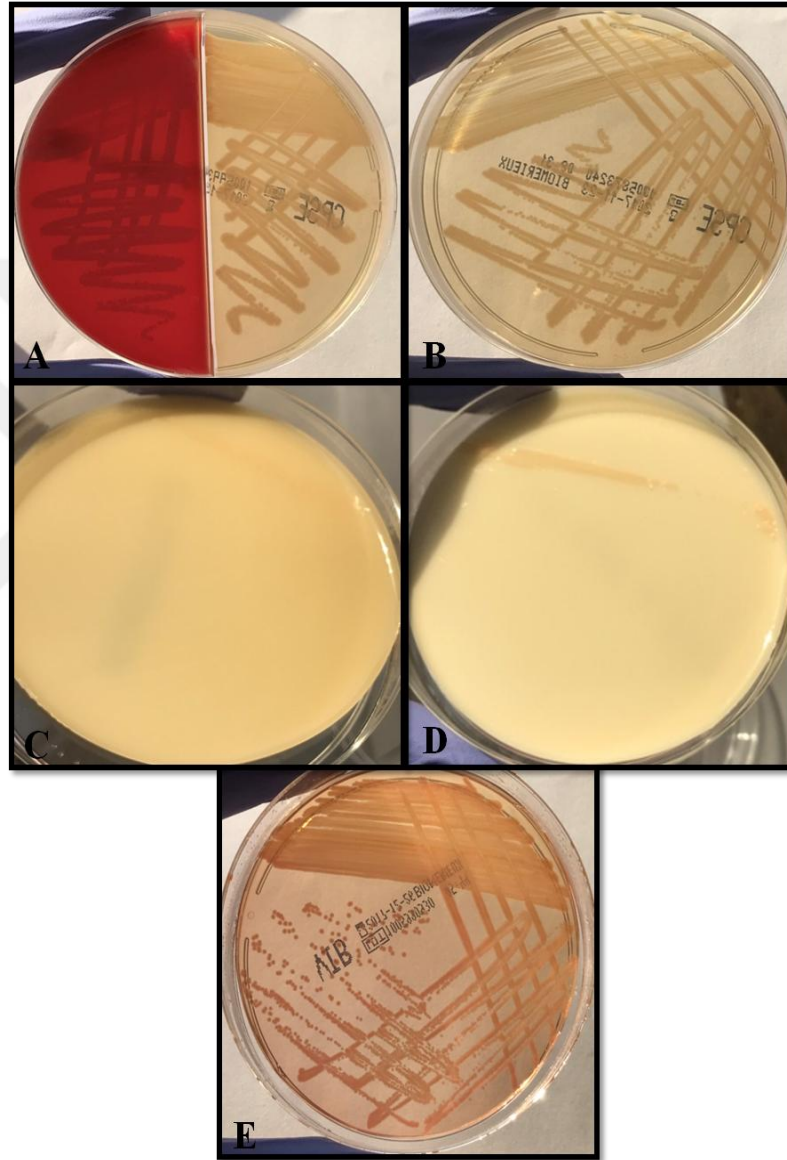
L. garvieae suşlarının chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood ve chromID® CPS® Elite besiyerlerinde yeşil koloniler oluşturduğu tespit edilirken, chromID® MRSA Smart, chromID® *S. aureus* Elite ve chromID® Vibrio besiyerinde üreme olmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.28).



Şekil 4.28: A: chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood besiyerinde *L. garvieae*, B: chromID® CPS® Elite besiyerinde *L. garvieae*, C: chromID® MRSA Smart besiyerinde *L. garvieae*, D: chromID® *S. aureus* Elite besiyerinde *L. garvieae*, E: chromID® Vibrio besiyerinde *L. garvieae*.

4.4.3 *Pseudomonas fluorescens*

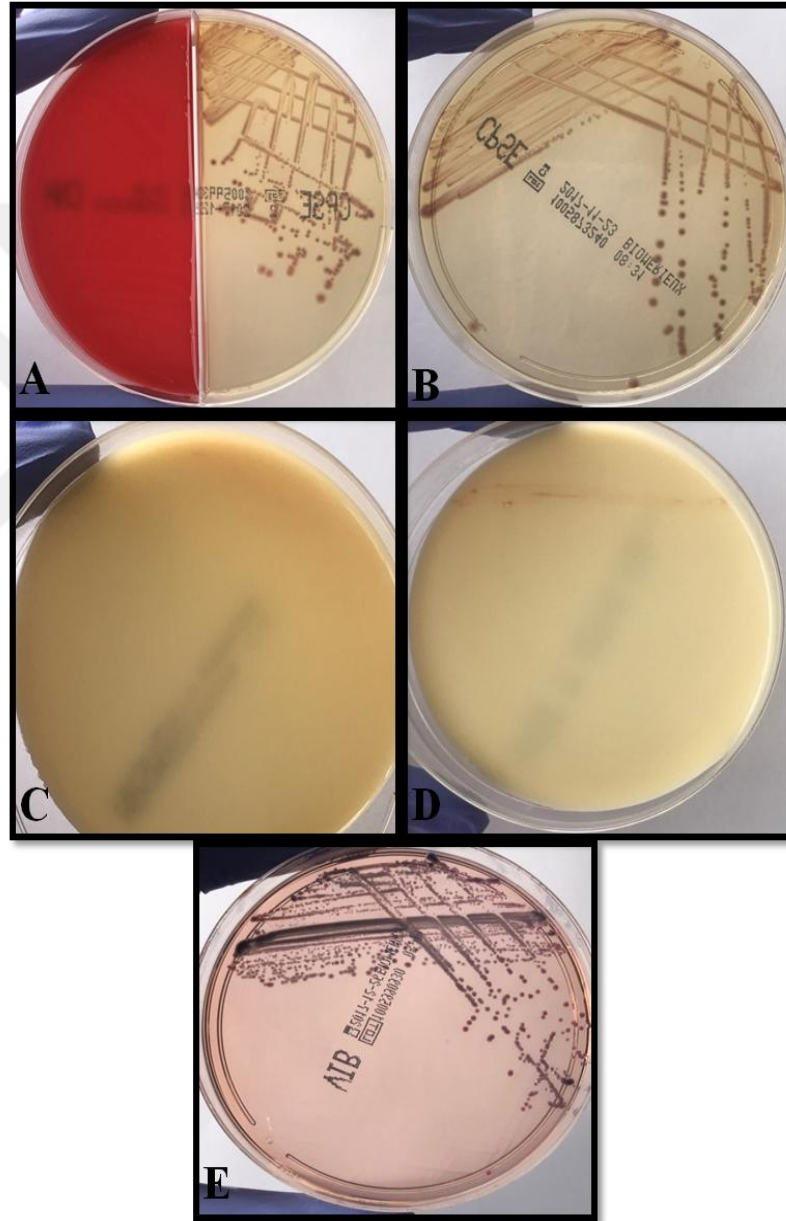
chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood, chromID® CPS® Elite ve chromID® Vibrio besiyerinde koloni oluşumu gösteren *P. fluorescens* chromID® Vibrio besiyerinde turuncu renkli koloniler oluşturmuştur. chromID® MRSA Smart ve chromID® *S. aureus* Elite besiyerinde ise üreme gözlenmemiştir (Şekil 4.29).



Şekil 4.29: A: chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood besiyerinde *P. fluorescens*, B: chromID® CPS® Elite besiyerinde *P. fluorescens*, C: chromID® MRSA Smart besiyerinde *P. fluorescens*, D: chromID® *S. aureus* Elite besiyerinde *P. fluorescens*, E: chromID® Vibrio besiyerinde *P. fluorescens*.

4.4.4 *Vibrio anguillarum*

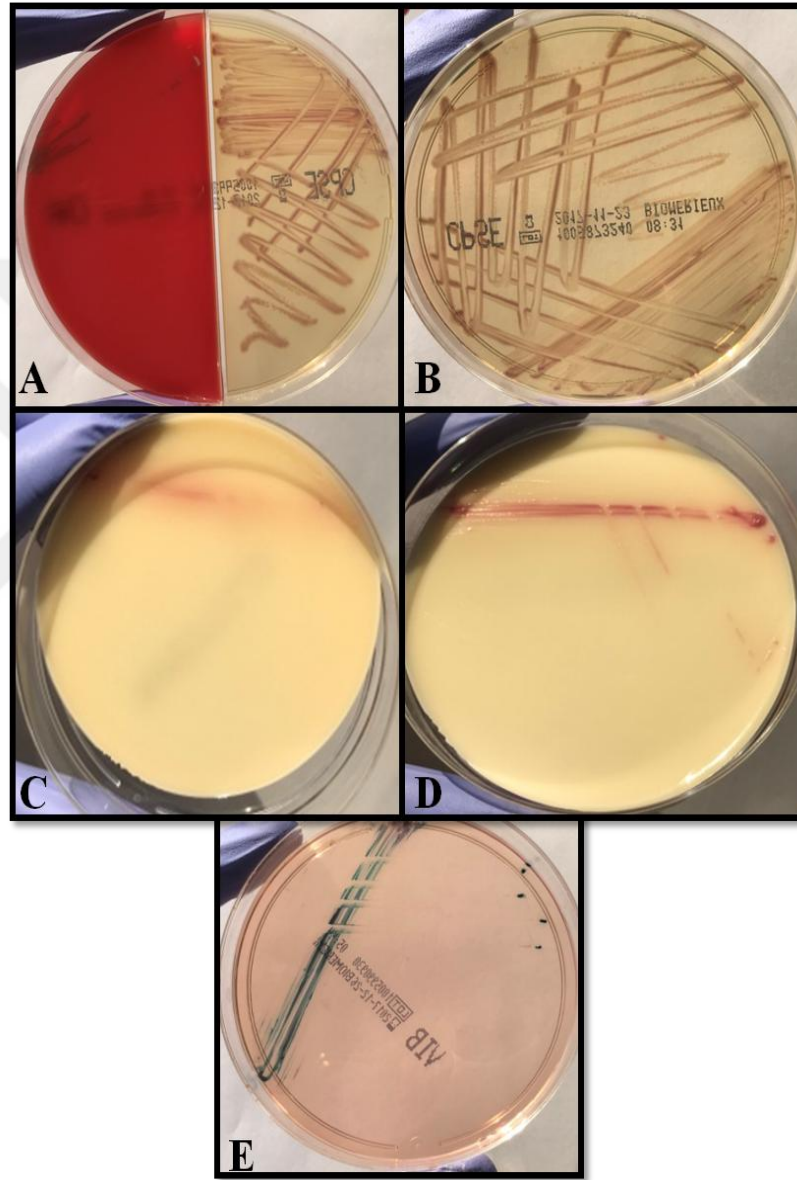
chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood ve chromID® CPS® Elite besiyerinde *V. anguillarum* suşları kahverengi koloniler oluşturmuş, *Vibrio* türleri için seçici olarak belirtilen chromID® Vibrio besiyerinde ise koyu pembe/mor koloniler gözlemlenmiştir. *V. anguillarum*, chromID® MRSA Smart ve chromID® *S. aureus* Elite besiyerlerinde ise üreme göstermemiştir (Şekil 4.30).



Şekil 4.30: A: chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood besiyerinde *V. anguillarum*, B: chromID® CPS® Elite besiyerinde *V. anguillarum*, C: chromID® MRSA Smart besiyerinde *V. anguillarum*, D: chromID® *S. aureus* Elite besiyerinde *V. anguillarum*, E: chromID® Vibrio besiyerinde *V. anguillarum*.

4.4.5 *Yersinia ruckeri*

chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood ve chromID® CPS® Elite besiyerinde kahverengi koloni oluşumu gözlenen *Y. ruckeri*, chromID® MRSA Smart ve chromID® *S. aureus* Elite besiyerinde hafif pembe, Vibrio türleri için seçici olan chromID® Vibrio besiyerinde ise yeşil renk oluşturmakla birlikte koloni oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.31).



Şekil 4.31: A: chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood besiyerinde *Y. ruckeri*, B: chromID® CPS® Elite besiyerinde *Y. ruckeri*, C: chromID® MRSA Smart besiyerinde *Y. ruckeri*, D: chromID® *S. aureus* Elite besiyerinde *Y. ruckeri*, E: chromID® Vibrio besiyerinde *Y. ruckeri*.

Beş farklı bakteriyel balık patojeninin 5 farklı kromojenik besiyerinde 21 °C 48 saat inkübasyonu sonucu üreme performansları Tablo 4.8’de sunulmuş olup en fazla üremenin tüm patojenlerde chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood ve chromID® CPS® Elite besiyerlerinde görüldüğü tespit edilmiştir (Tablo 4.10).

Tablo 4.10: 5 farklı bakteriyel balık patojeninin 5 farklı kromojenik besiyerindeki üreme performansları.

| Patojenler | Toplam suş sayısı | chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood besiyerinde üreyen suş sayısı | chromID® CPS® Elite besiyerinde üreyen suş sayısı | chromID® Vibrio besiyerinde üreyen suş sayısı | chromID® MRSA Smart besiyerinde üreyen suş sayısı | chromID® S. aureus Elite besiyerinde üreyen suş sayısı |
|-----------------------|-------------------|--|---|---|---|--|
| <i>A. hydrophila</i> | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| <i>L. garvieae</i> | 21 | 21 | 21 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P. fluorescens</i> | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 |
| <i>V. anguillarum</i> | 6 | 6 | 6 | 6 | 0 | 0 |
| <i>Y. ruckeri</i> | 14 | 14 | 14 | 3 | 2 | 3 |

4.5 VITEK MS Sonuçları

VITEK MS ile gerçekleştirilen analizler sonucunda izole edilen *A. hydrophila*, *L. garvieae*, *P. fluorescens*, *Y. ruckeri* ve *V. anguillarum* suşları VITEK MS/IVD/V.3.0 (BioMérieux, France) veritabanında % 99.9 oranında benzerlik oranıyla tanımlanmıştır (Şekil 4.32, Tablo 4.11).

| Kategori | Adı | Turu | Değeri | Seviyesi | Durumu | Durumu |
|-----------|----------------------------|------|--------|----------|--------------------|-----------|
| KATY30-1 | Yersinia ruckeri | | 99.9 | Tümü | Gözden Geçirilecek | Beklemede |
| KATL40-1 | Lactococcus garvieae | | 99.9 | Tümü | Gözden Geçirilecek | Beklemede |
| KATP6-1 | Pseudomonas fluorescens | | 99.9 | Tümü | Gözden Geçirilecek | Beklemede |
| TEK-1 | Pandoraea norimbergensis | | 99.9 | Tümü | Gözden Geçirilecek | Beklemede |
| KATL29-1 | Lactococcus garvieae | | 99.9 | Tümü | Gözden Geçirilecek | Beklemede |
| KATM1-1 | Lactococcus garvieae | | 99.9 | Tümü | Gözden Geçirilecek | Beklemede |
| KATH51-1 | Yersinia ruckeri | | 99.9 | Tümü | Gözden Geçirilecek | Beklemede |
| KATV66-1 | Listonella anguillarum | | 99.9 | Tümü | Gözden Geçirilecek | Beklemede |
| 8768143-1 | Achromobacter xylosoxidans | | 50.0 | Tümü | Gözden Geçirilecek | Beklemede |

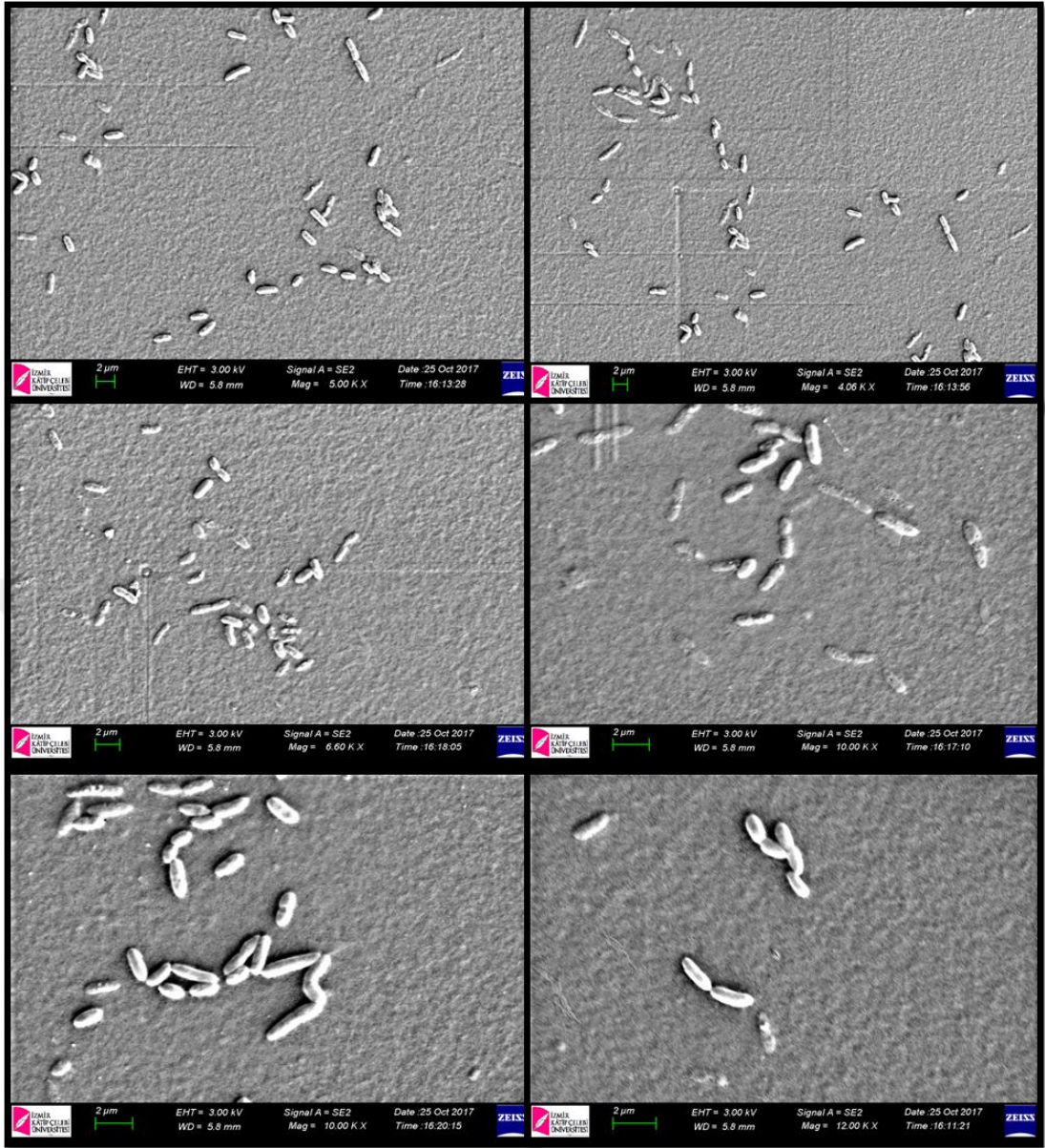
Şekil 4.32: VITEK MS/IVD/V.3.0 (bioMérieux, France) veritabanında sonuçların değerlendirilmesi.

Tablo 4.11: Bakteriyel balık patojenlerinin VITEK MS (MALDI-TOF MS) identifikasyon sonuçları.

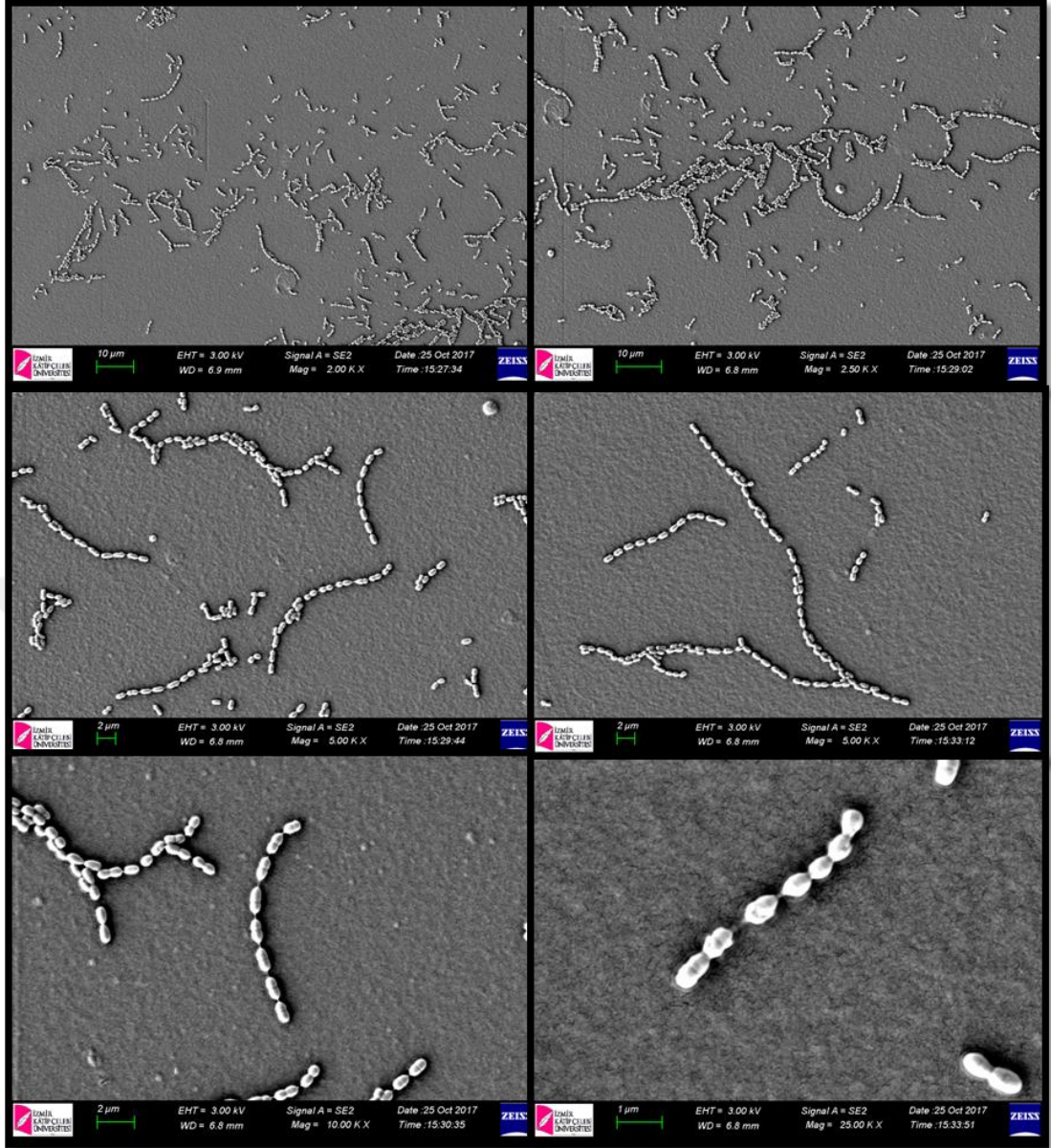
| NUMUNE KODU | VITEK MS (MALDI-TOF MS) İDENTİFİKASYON SONUCU | VITEK MS YÜZDESİ (%) |
|-------------|---|----------------------|
| CAH1 | <i>Aeromonas hydrophila</i> | 99.9 |
| EAH1 | <i>Aeromonas hydrophila</i> | 99.9 |
| ALG4 | <i>Lactococcus garvieae</i> | 99.9 |
| GLG1 | <i>Lactococcus garvieae</i> | 99.9 |
| ILG1 | <i>Lactococcus garvieae</i> | 99.9 |
| CPF1 | <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 99.9 |
| CPF2 | <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 99.9 |
| AVA1 | <i>Vibrio anguillarum</i> | 99.9 |
| BVA1 | <i>Vibrio anguillarum</i> | 99.9 |
| EVA1 | <i>Vibrio anguillarum</i> | 99.9 |
| AYR1 | <i>Yersinia ruckeri</i> | 99.9 |
| BYR1 | <i>Yersinia ruckeri</i> | 99.9 |
| FYR1 | <i>Yersinia ruckeri</i> | 99.9 |

4.6 Bakteriyel Balık Patojenlerinin Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope – SEM) Görüntüleri

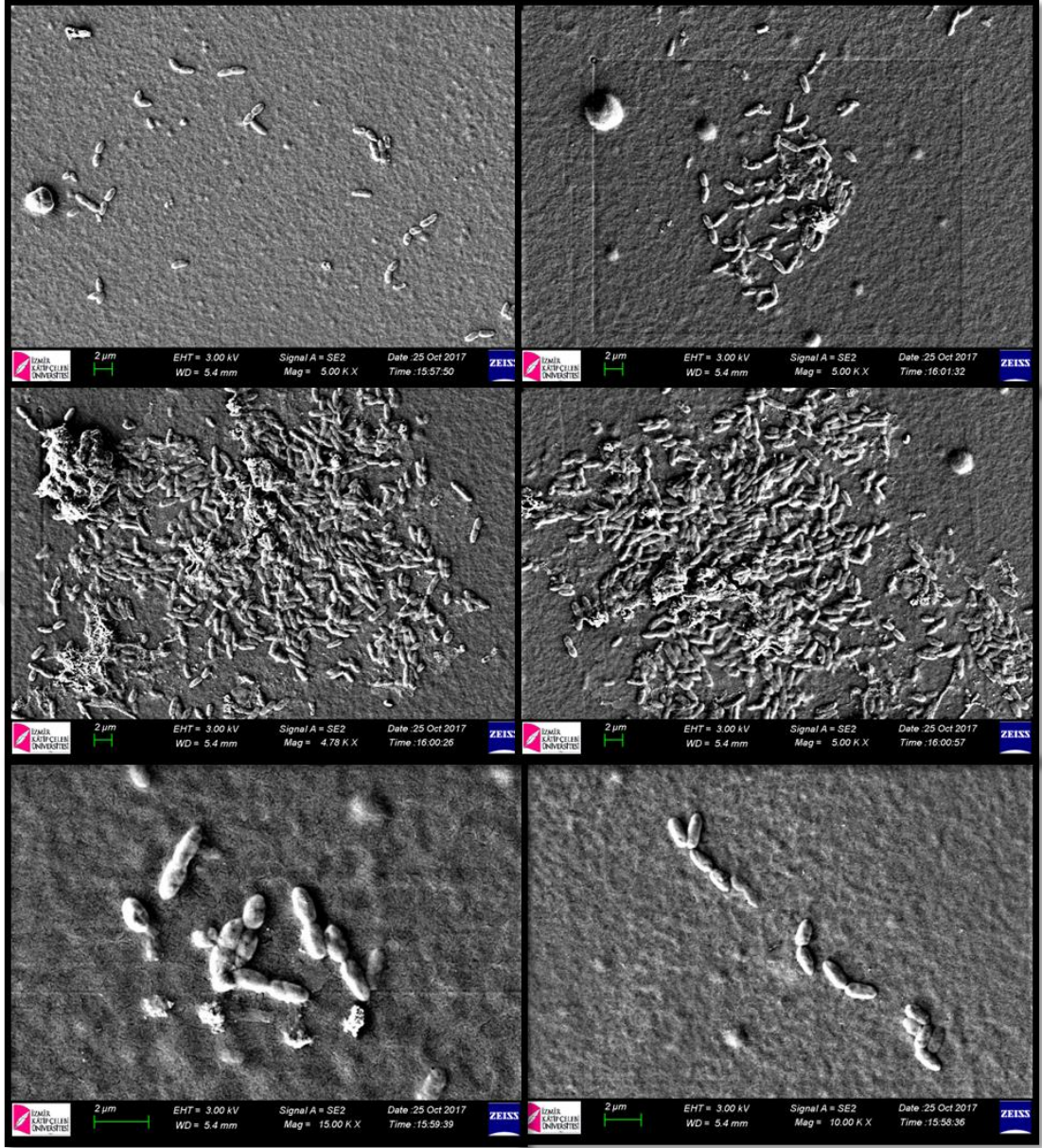
Çalışmada izole ve identifiye edilen *A. hydrophila*, *L. garvieae*, *P. fluorescens*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri*'ye ait SEM görüntüleri Şekil 4.33; 4.34; 4.35; 4.36; 4.37'de sunulmuştur. Raman spektroskopisinde pik değerleri belirlenen bakterilerin besiyeri kalıntısı içermediği ve herhangi bir deformasyona uğramadığı tespit edilerek, Raman analizleri için uygunluğu belirlenmiştir.



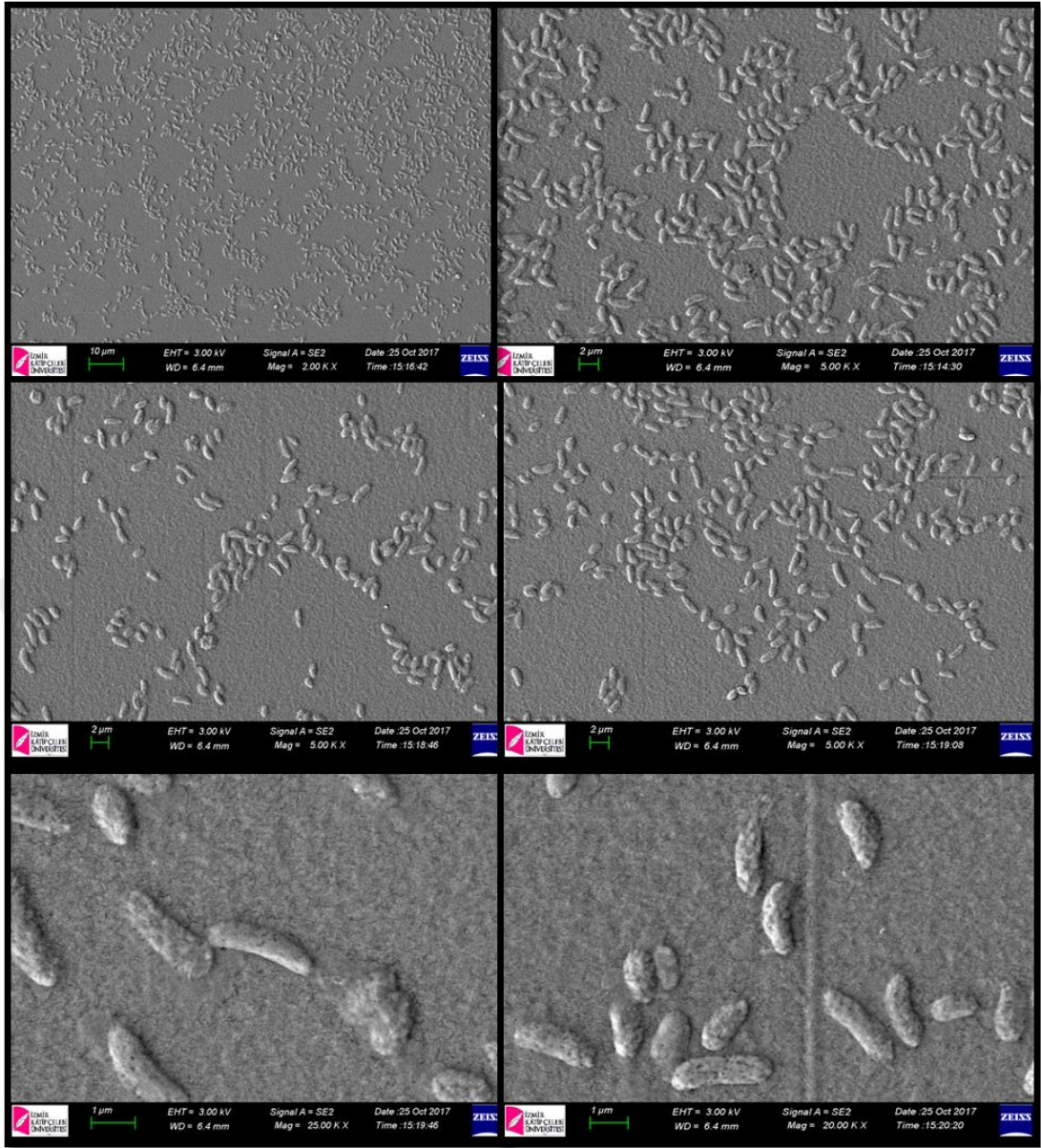
Şekil 4.33: *Aeromonas hydrophila* SEM görüntüleri.



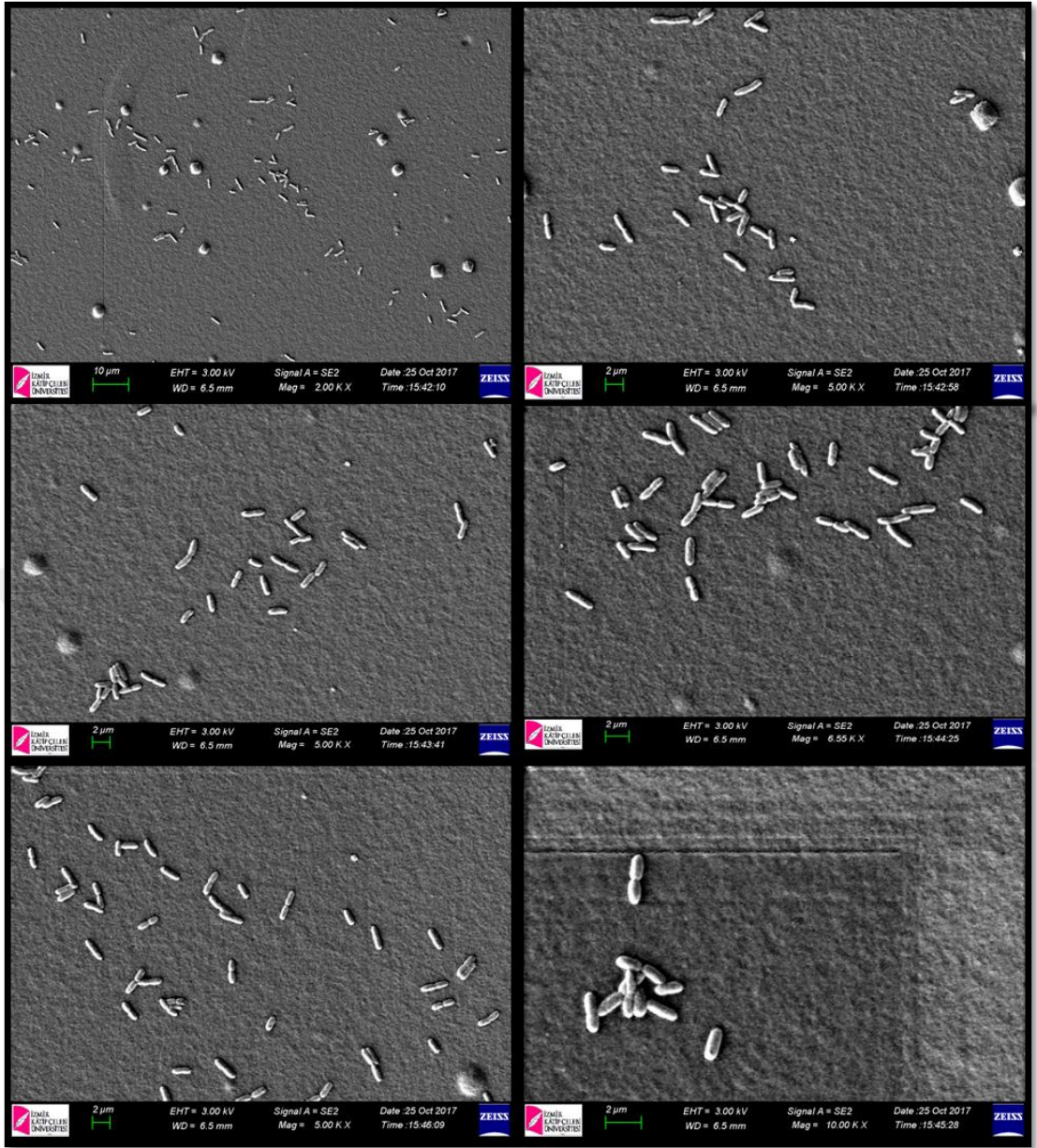
Şekil 4.34: *Lactococcus garvieae* SEM görüntüleri.



Şekil 4.35: *Pseudomonas fluorescens* SEM görüntüleri.



Şekil 4.36: *Vibrio anguillarum* SEM görüntüleri.



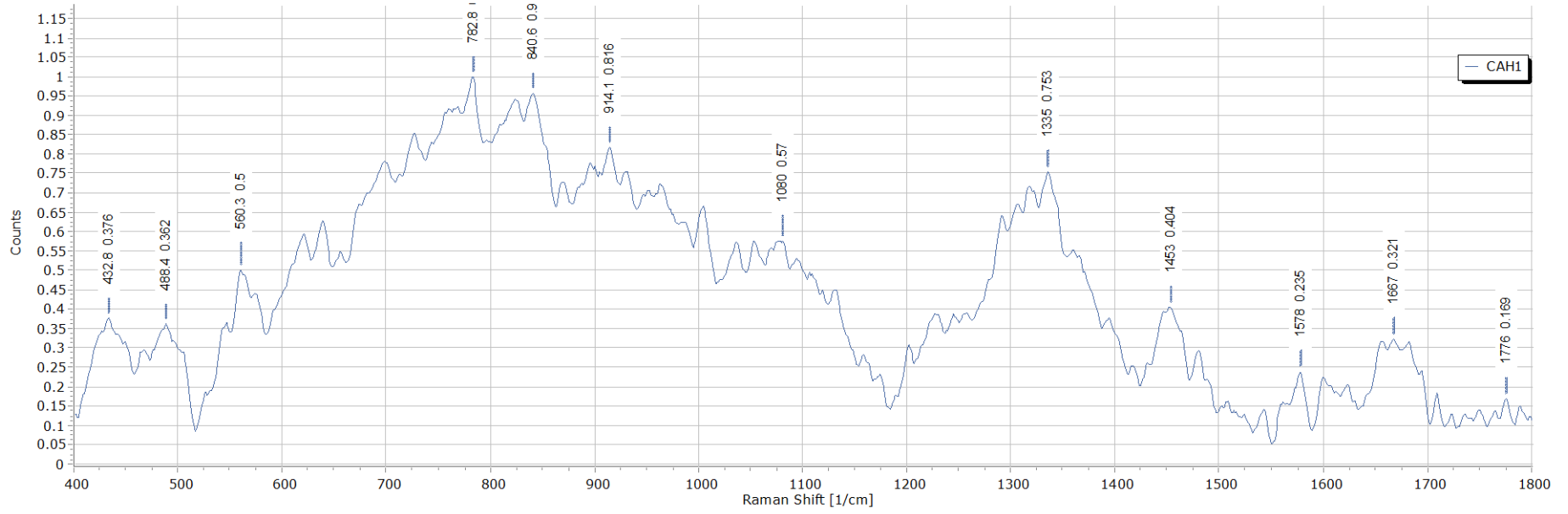
Şekil 4.37: *Yersinia ruckeri* SEM görüntüleri.

4.7 İzole Edilen Bakteriyel Balık Patojenlerinin Raman Spektrumları

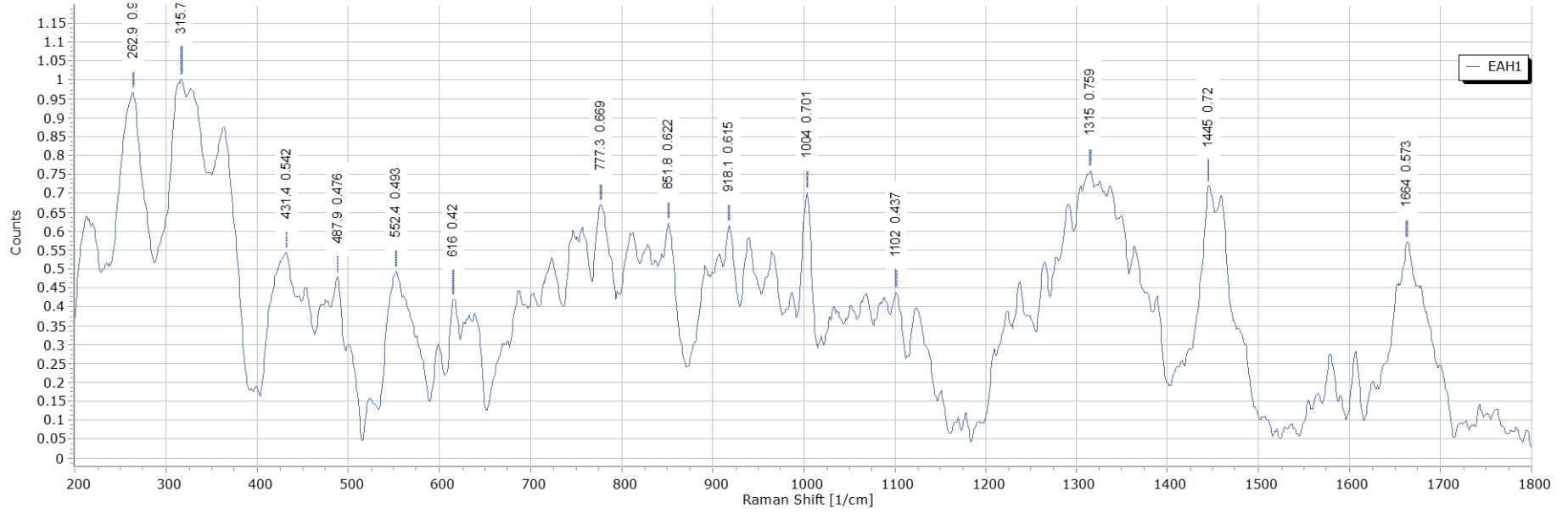
Gökkuşığı alabalıklarından izole edilen ve identifikasyonu gerçekleştirilen *Aeromonas hydrophila*, *Lactococcus garvieae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Yersinia ruckeri* ve *Vibrio anguillarum* patojenlerinin Raman spektrumları tespit edilmiş ve aşağıda sunulmuştur.

4.7.1 *Aeromonas hydrophila*

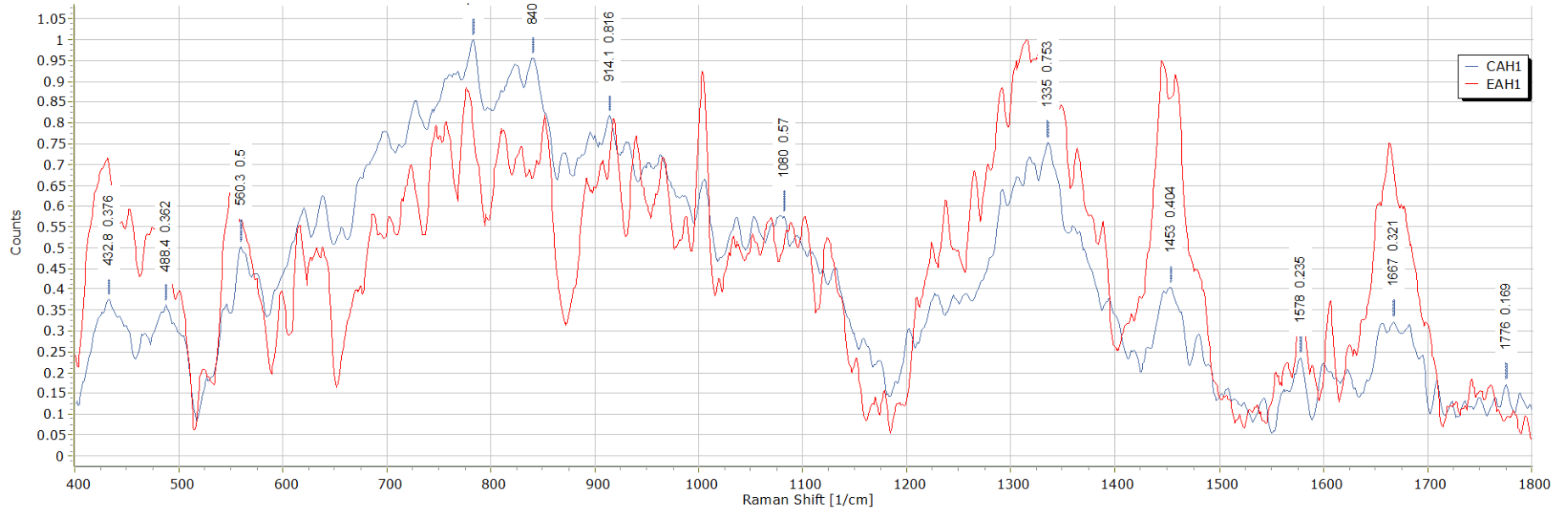
Tanımlı *A. hydrophila* suşlarına ait Raman spektrumları tespit edilmiş olup, 785 nm dalga boyunda gerçekleştirilen tarama sonuçlarında CAH1 ve EAH1 suşlarında en belirgin anlamlı pikler 552, 560 cm⁻¹ şiddetleri ile polisakkaritler, 777, 782, 840 ve 852 cm⁻¹ şiddetleri ile nükleik asitler, 1004 ve 1080 cm⁻¹ ile aminoasitler ve 1445, 1453, 1664 ve 1667 cm⁻¹ şiddetleri ile de yağ asitlerinin temsil edildiği bölgelerde gözlenmiştir (Şekil 4.38; 4.39). *A. hydrophila* suşlarının Raman spektrum şiddetlerinin karşılaştırılması Şekil 4.40'da spektrumların ortalaması ise Şekil 4.41'de sunulmuştur.



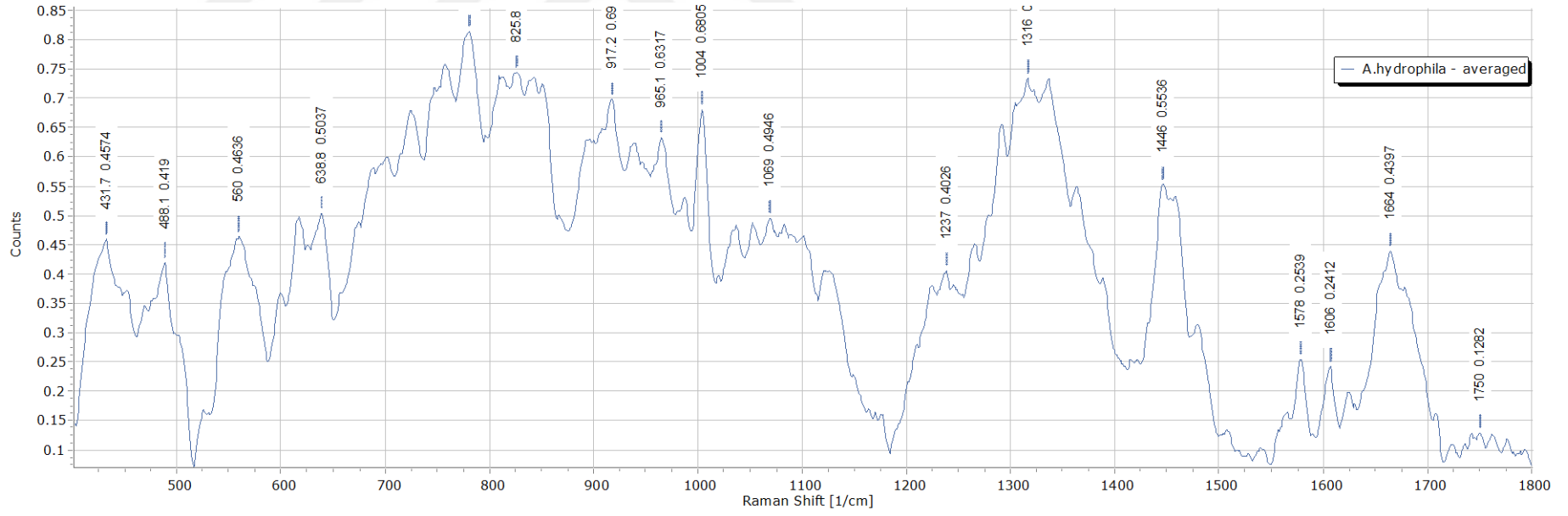
Şekil 4.38: CAH1 suşunun Raman spektrumu.



Şekil 4.39: EAH1 suşunun Raman spektrumu.



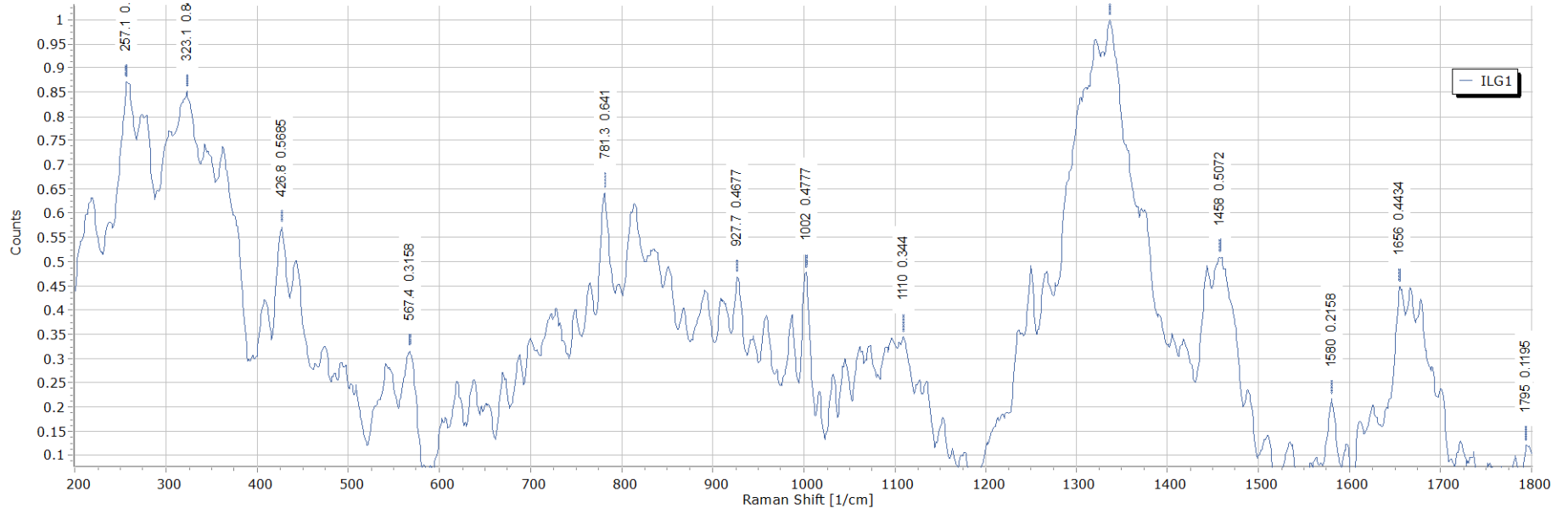
Şekil 4.40: CAH1 ve EAH1 suşlarının Raman spektrumları.



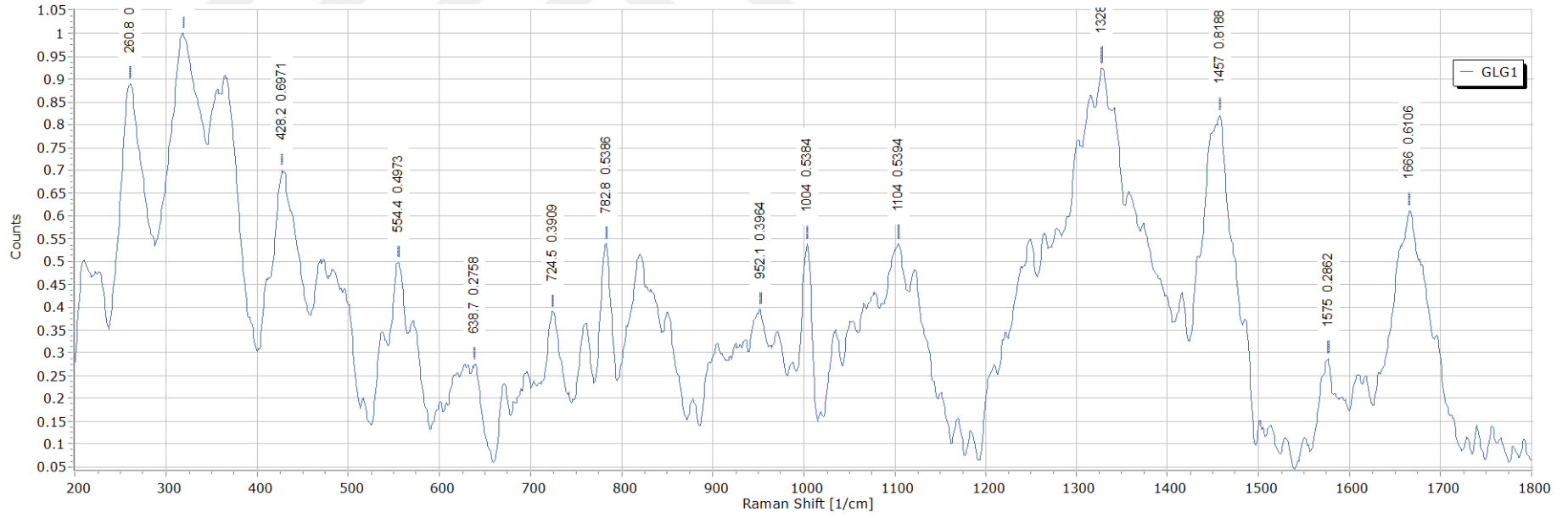
Şekil 4.41: CAH1 ve EAH1 suşlarının ortalama değerleri.

4.7.2 *Lactococcus garvieae*

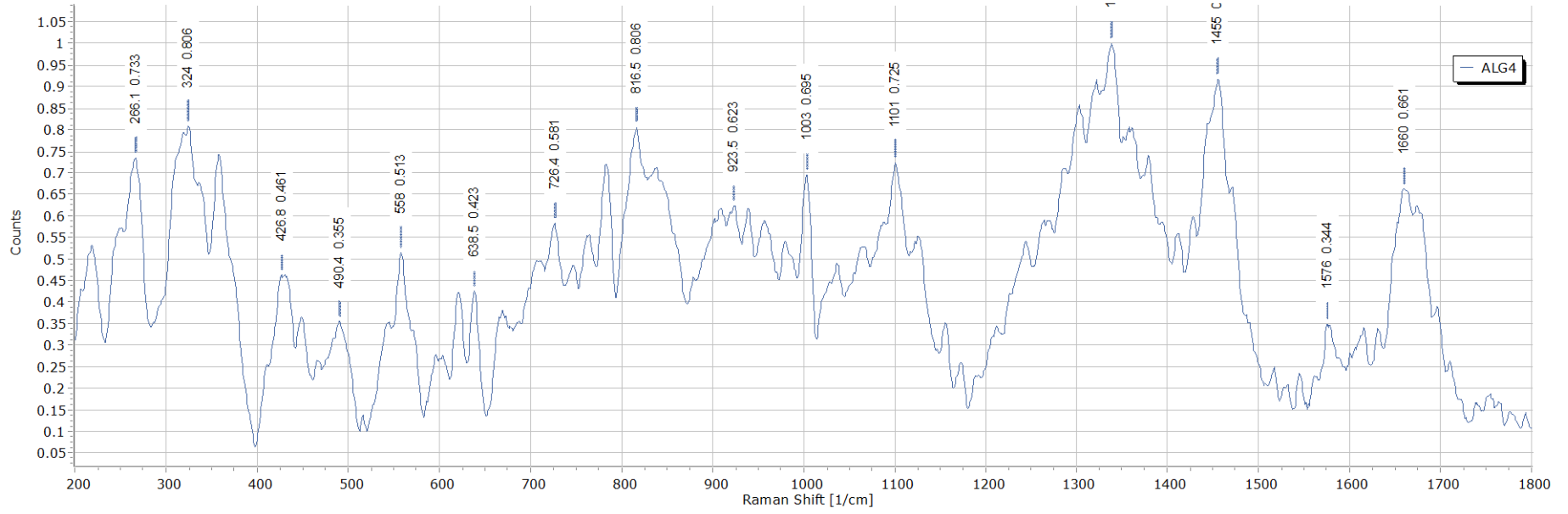
Tanımlı ILG1, GLG1 ve ALG4 *L. garvieae* suşlarının 785 nm dalga boyunda gerçekleştirilen tarama sonuçlarına ait Raman spektrumları tespit edilmiş olup, en güçlü raman pikleri polisakkaritlerin karakteristik olduğu 323, 324, 426, 428, 490, 554, 558 ve 567 cm⁻¹, nükleik asitlerin karakteristik olduğu 724, 726, 781, 782, 816, 923, 927 ve 952 cm⁻¹, aminoasitlerin temsil edildiği 1002, 1003, 1004, 1101, 1104, 1110 ve 1328 cm⁻¹ ve yağ asitlerinin gözlemlendiği 1455, 1457, 1458, 1575, 1576, 1580, 1656, 1660, 1666 ve 1795 cm⁻¹ noktalarında tespit edilmiştir (Şekil 4.42; 4.43; 4.44). *L. garvieae* suşlarının Raman spektrum şiddetlerinin karşılaştırılması Şekil 4.45’de, spektrumların ortalaması ise Şekil 4.46’da sunulmuştur.



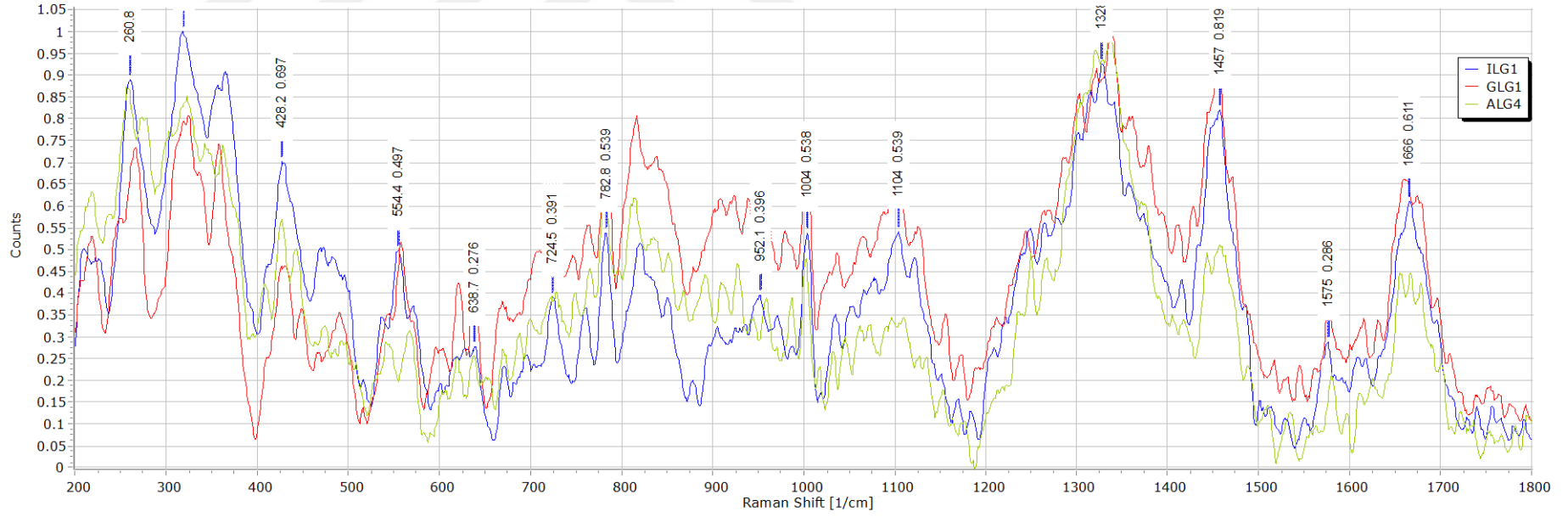
Şekil 4.42: ILG1 suşunun Raman spektrumu.



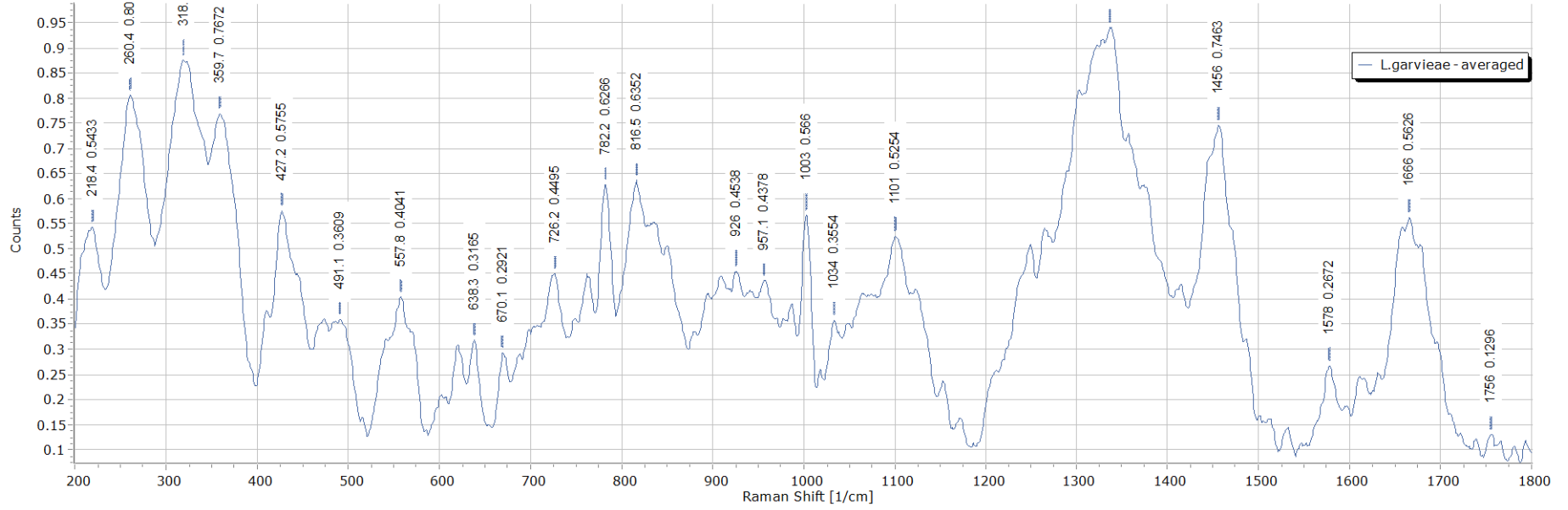
Şekil 4.43: GLG1 suşunun Raman spektrumu.



Şekil 4.44: ALG4 suşunun Raman spektrumu.



Şekil 4.45: ILG1, GLG1 VE ALG4 suşlarının Raman spektrumları.

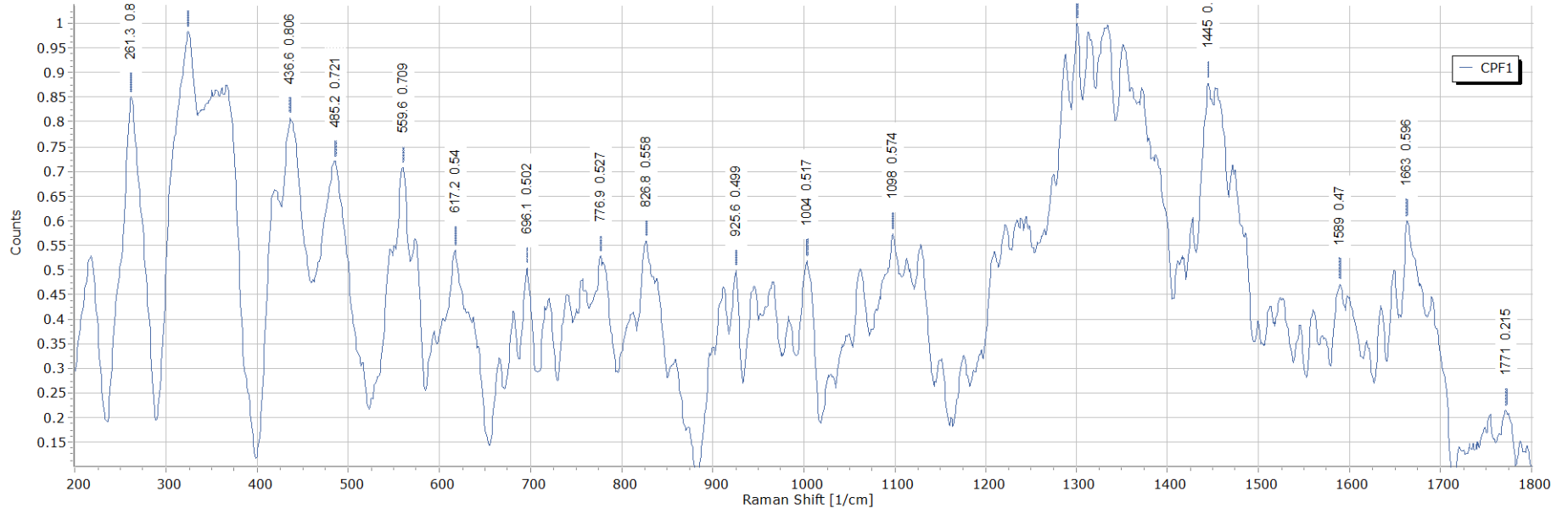


Şekil 4.46: ILG1, GLG1 VE ALG4 suşlarının ortalama değerleri.

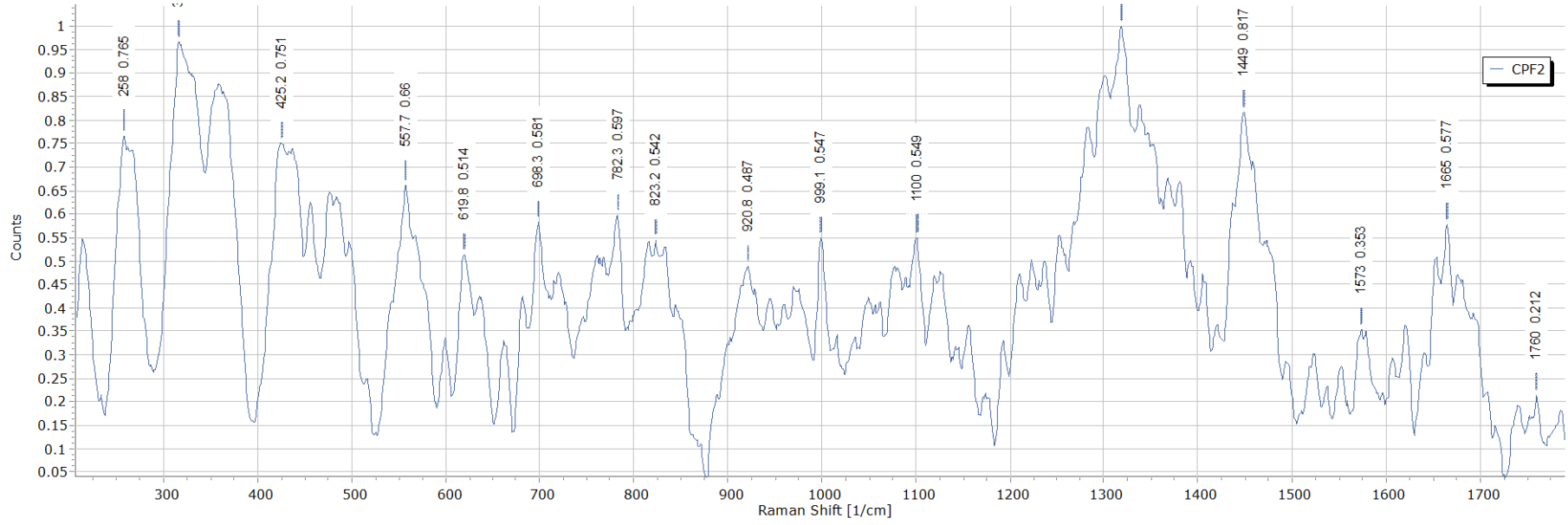
4.7.3 *Pseudomonas fluorescens*

Tanımlı CPF1 ve CPF2 *P. fluorescens* suşlarının Raman spektrumları belirlemiş, 785 nm dalga boyunda gerçekleştirilen tarama sonuçlarında en belirgin anlamlı pikler 425, 436, 485, 557, 559, 617, 619, 696 ve 698 cm⁻¹ şiddetinde polisakkaritler, 776, 782, 823, 826, 920, 925 cm⁻¹ de nükleik asitler, 1004, 1098 ve 1100 cm⁻¹ şiddetinde amino asitler ve 1445, 1449, 1573, 1589, 1663 ve 1665 cm⁻¹ şiddetinde yağ asitlerinin temsil edildiği bölgelerde gözlenmiş, fluresan ışımaya kaynaklı dalga boylarının titreşimlerinde karışmalar olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.47; 4.48). *P. fluorescens* suşlarının Raman spektrum şiddetlerinin karşılaştırılması Şekil 4.49'da, spektrumların ortalaması ise Şekil 4.50'de sunulmuştur.

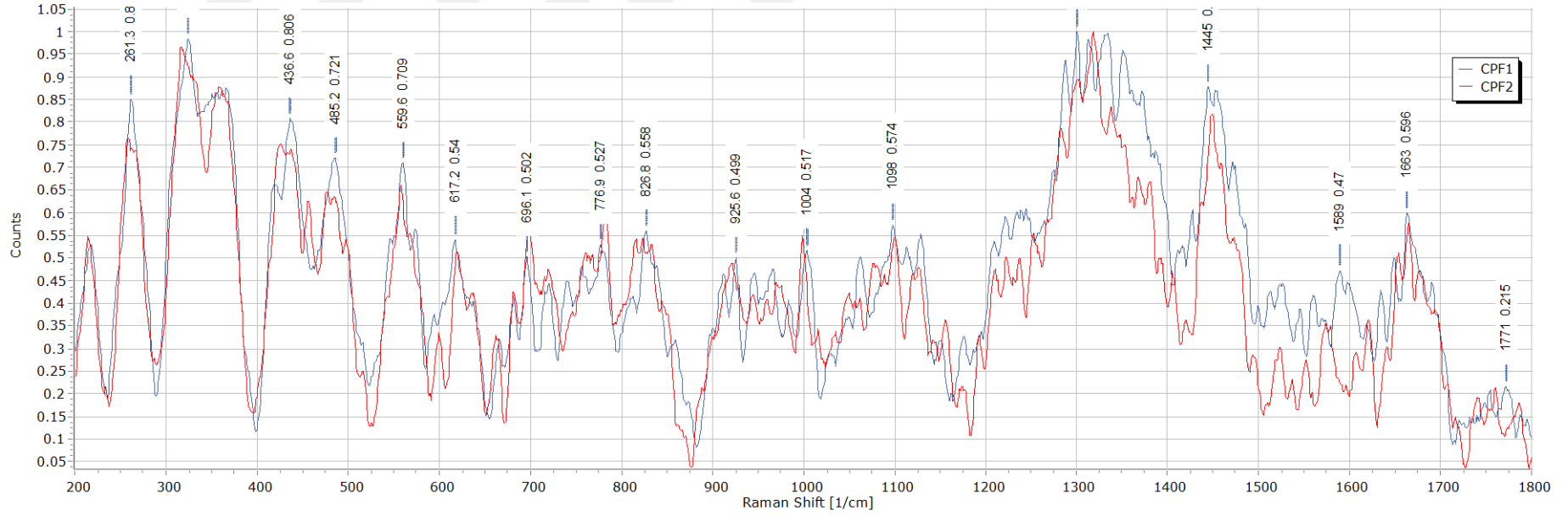




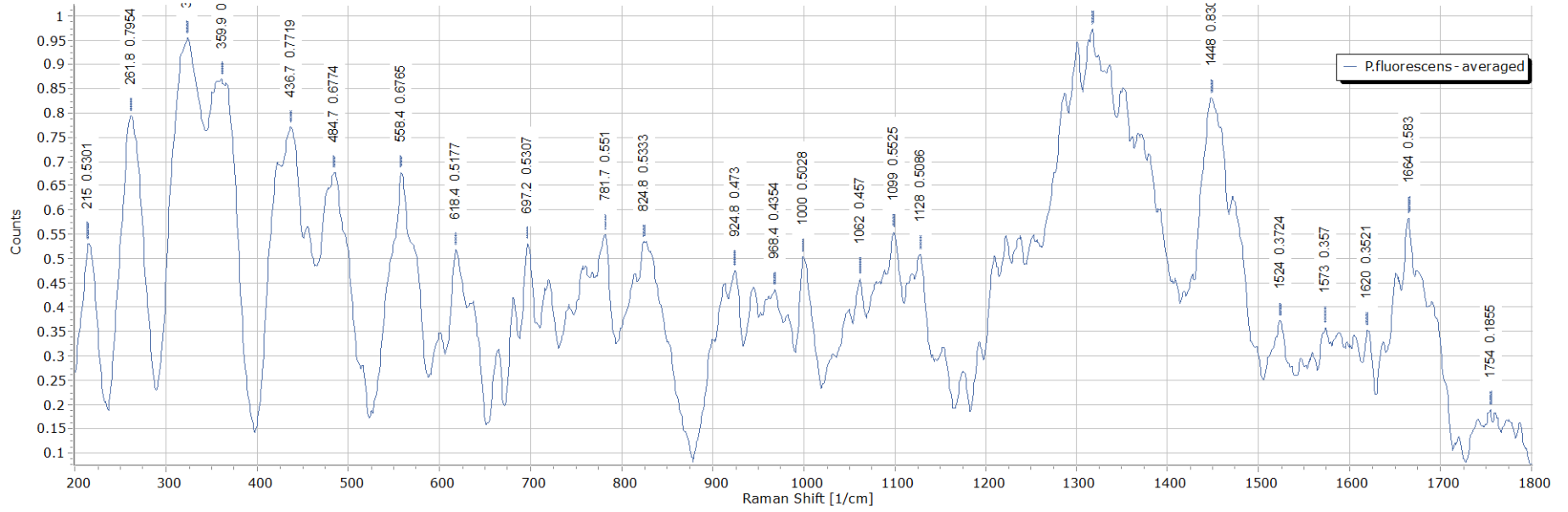
Şekil 4.47: CPF1 suşunun Raman spektrumu.



Şekil 4.48: CPF2 suşunun Raman spektrumu.



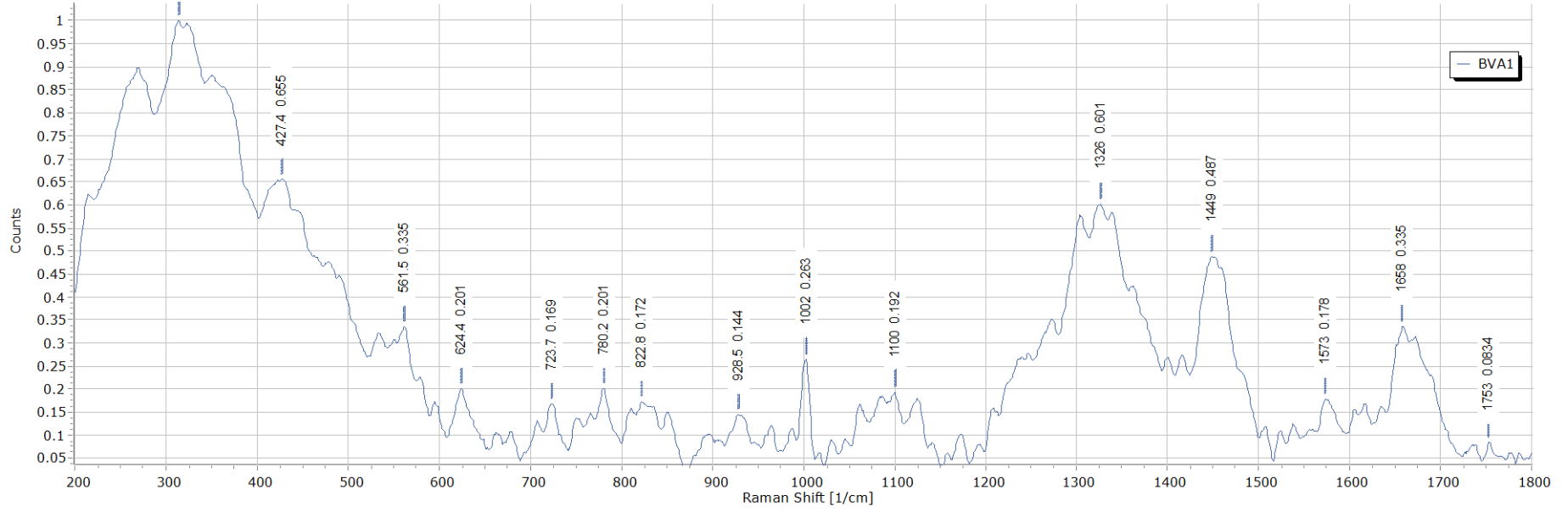
Şekil 4.49: CPF1 ve CPF2 suşlarının Raman spektrumları.



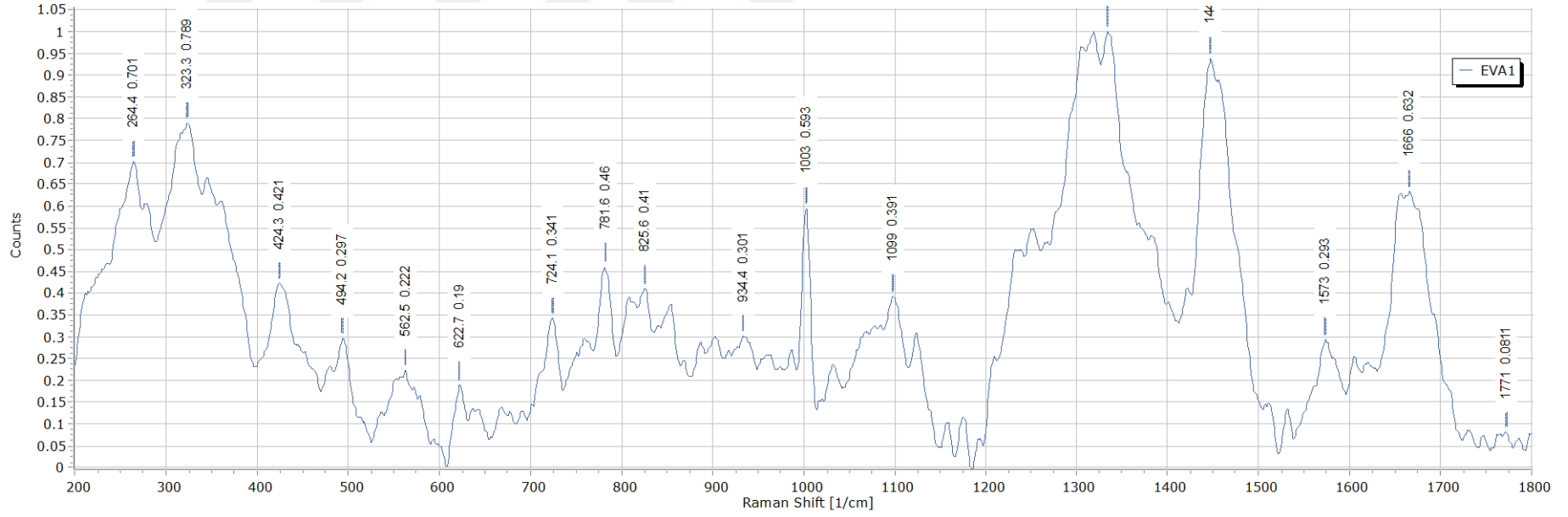
Şekil 4.50: CPF1 ve CPF2 suşlarının ortalama değerleri.

4.7.4 *Vibrio anguillarum*

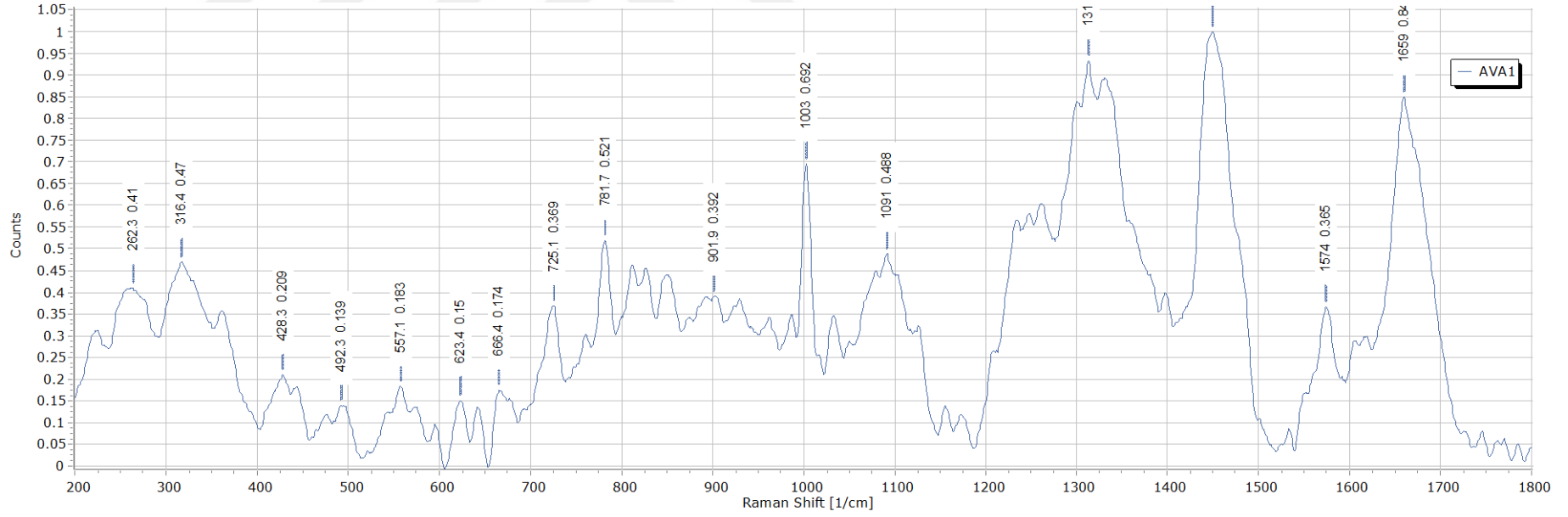
Tanımlı BVA1, EVA1 ve AVA1 *V. anguillarum* suşlarına ait Raman spektrumları belirlenmiş, 785 nm dalga boyunda gerçekleştirilen tarama sonuçlarında en belirgin anlamlı pikler 313, 316, 323, 424, 427, 428, 492, 494, 557, 561, 562, 622, 623, 624 ve 666 cm⁻¹ şiddetleri ile polisakkaritler, 723, 724, 725, 780, 781, 822, 825, 901, 928 ve 934 cm⁻¹ şiddetleri ile nükleik asitler, 1002, 1003, 1091, 1099, 1100, 1312, 1326 ve 1352 cm⁻¹ şiddetleri ile aminoasitler ve 1443, 1444, 1449, 1573, 1574, 1658, 1659 ve 1666 cm⁻¹ şiddetleri ile de yağ asitlerinin temsil edildiği bölgelerde gözlenmiştir (Şekil 4.51; 4.52; 4.53). *V. anguillarum* suşlarının Raman spektrum şiddetlerinin karşılaştırılması Şekil 4.54’de, spektrumların ortalaması ise Şekil 4.55’de sunulmuştur.



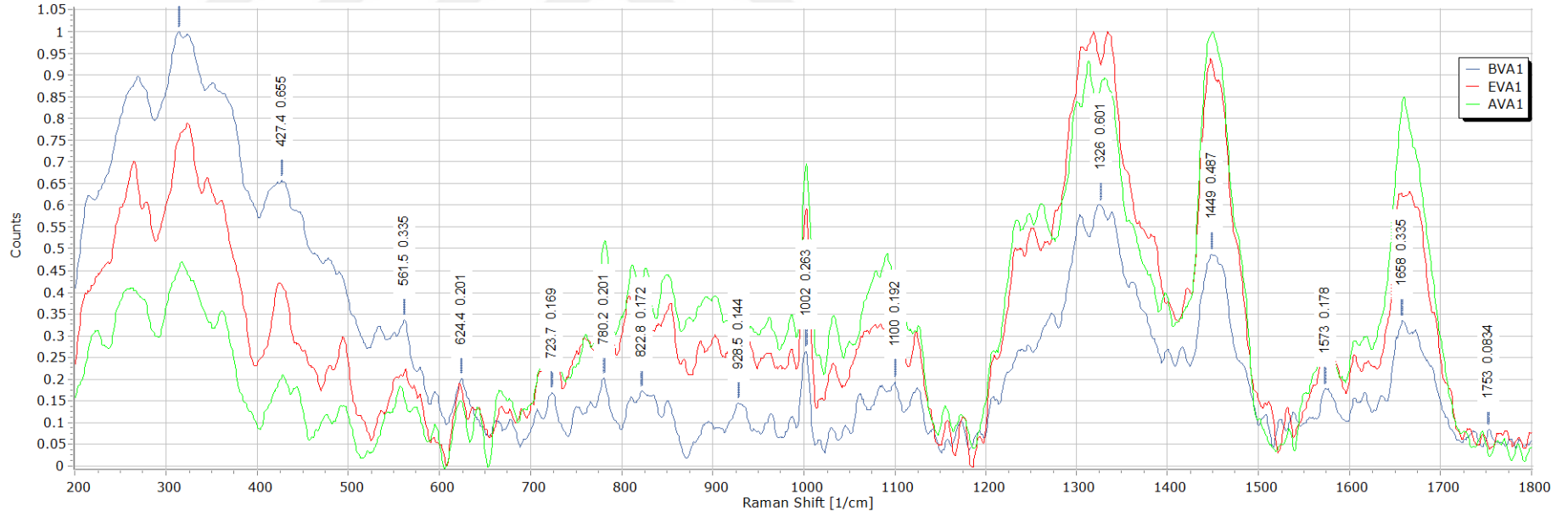
Şekil 4.51: BVA1 suşunun Raman spektrumu.



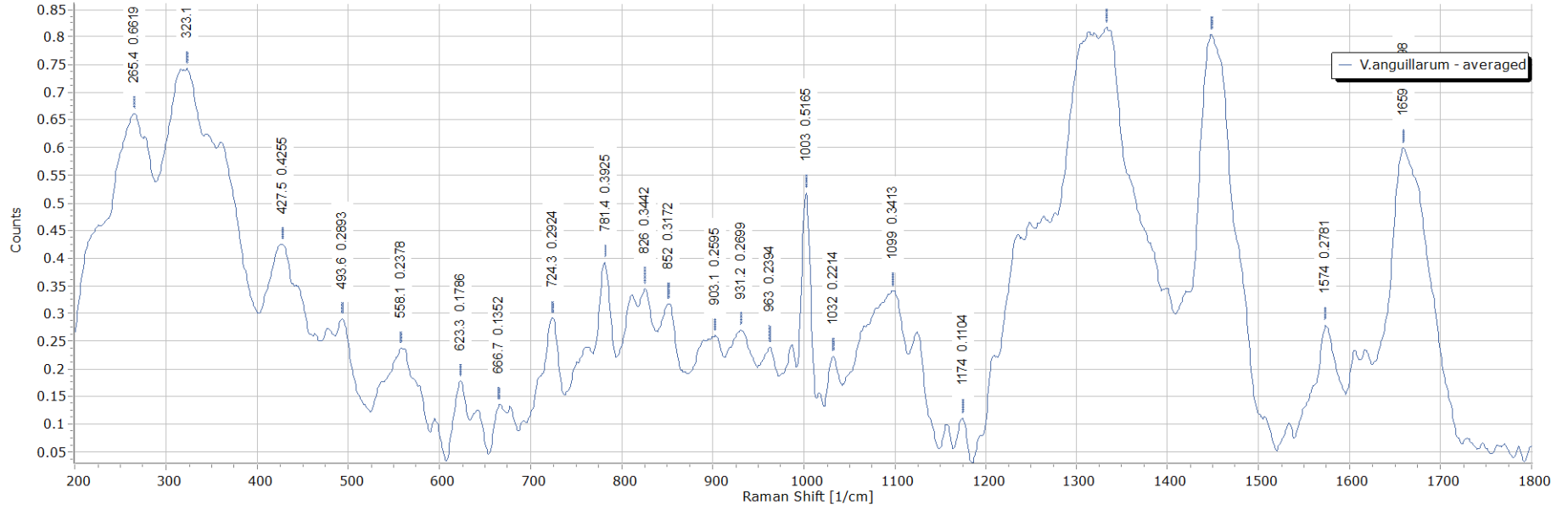
Şekil 4.52: EVA1 suşunun Raman spektrumu.



Şekil 4.53: AVA1 suşunun Raman spektrumu.



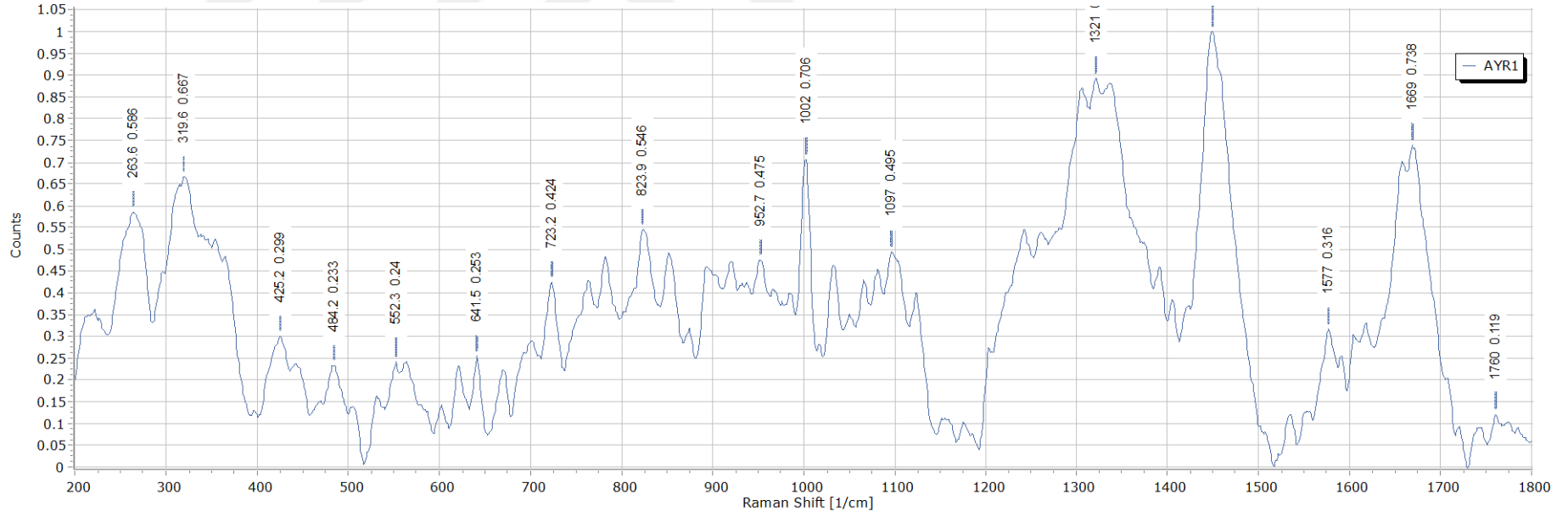
Şekil 4.54: BVA1, EVA1 ve AVA1 suşlarının Raman spektrumları.



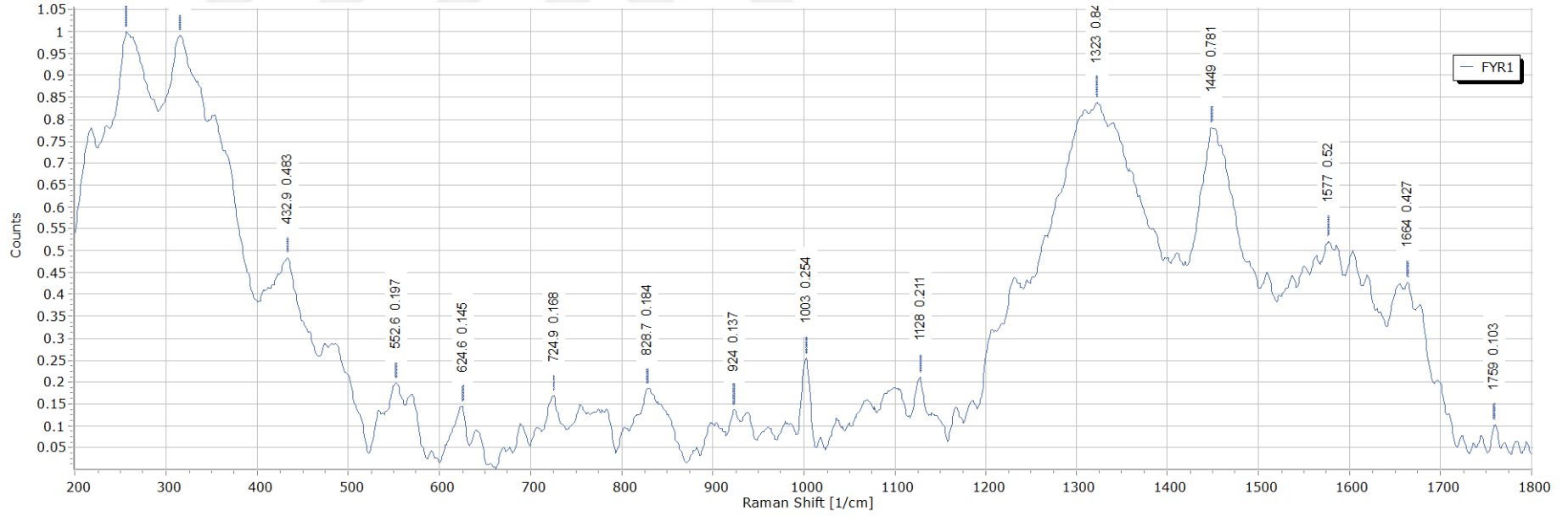
Şekil 4.55: BVA1, EVA1 ve AVA1 suşlarının ortalama değerleri.

4.7.5 *Yersinia ruckeri*

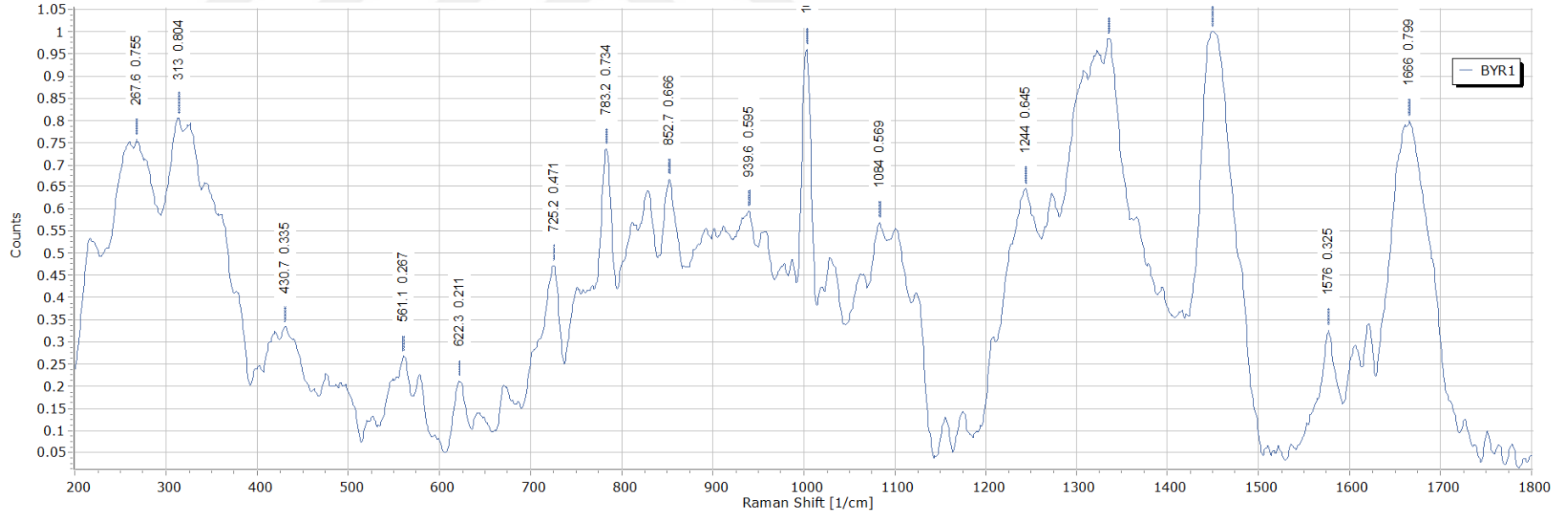
Tanımlı AYR1, FYR1 ve BYR1 *Y. ruckeri* suşlarının Raman spektrumları tespit edilerek 785 nm dalga boyunda gerçekleştirilen tarana sonuçlarında en güçlü Raman pikleri 313, 319, 425, 430, 432, 484, 552, 561, 622, 624 ve 641 cm⁻¹ şiddetlerindeki polisakkaritler, 723, 724, 725, 783, 823, 828, 852, 924, 939 ve 952 cm⁻¹ şiddetlerindeki nükleik asitler, 1002, 1003, 1008, 1084, 1097, 1128, 1244, 1321, 1323 ve 1343 cm⁻¹ şiddetlerindeki aminoasitler ve 1445, 1449, 1576, 1577, 1664, 1666, 1669, 1759 ve 1760 cm⁻¹ şiddetlerinde görülen yağ asitleri ile karakteristik olduğu bölgelerde tespit edilmiştir (Şekil 4.56; 4.57; 4.58). *Y. ruckeri* suşlarının Raman spektrum şiddetlerinin karşılaştırılması Şekil 4.59'da, spektrumların ortalaması ise Şekil 4.60'da sunulmuştur.



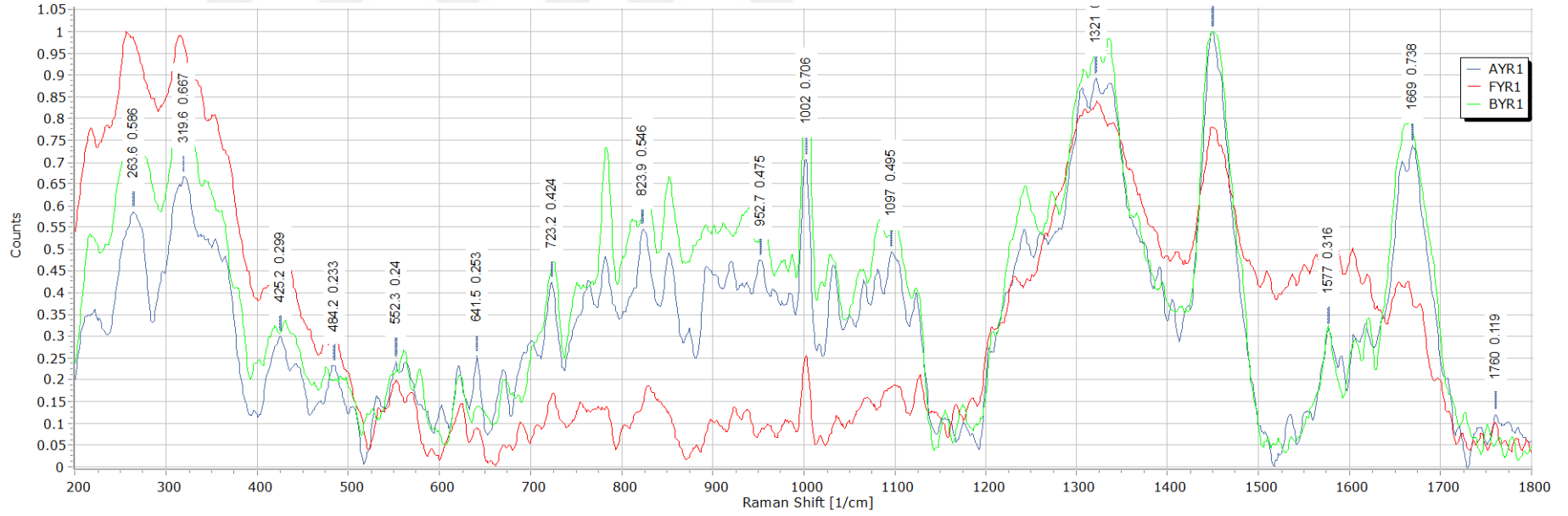
Şekil 4.56: AYR1 suşunun Raman spektrumu.



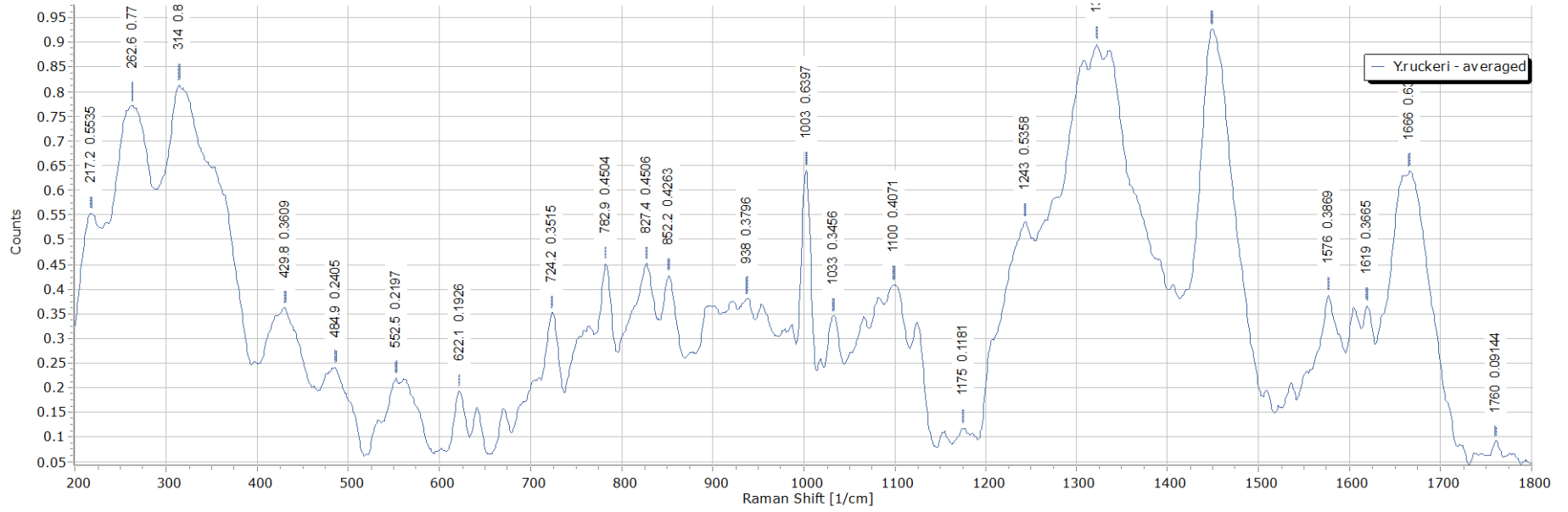
Şekil 4.57: FYR1 suşunun Raman spektrumu.



Şekil 4.58: BYR1 suşunun Raman spektrumu.

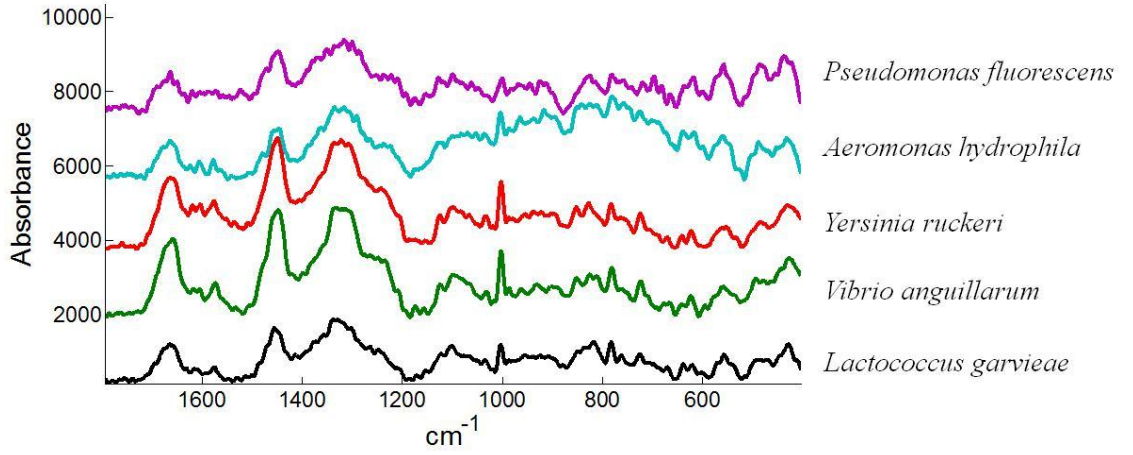


Şekil 4.59: AYR1, FYR1 ve BYR1 suşlarının Raman spektrumları.

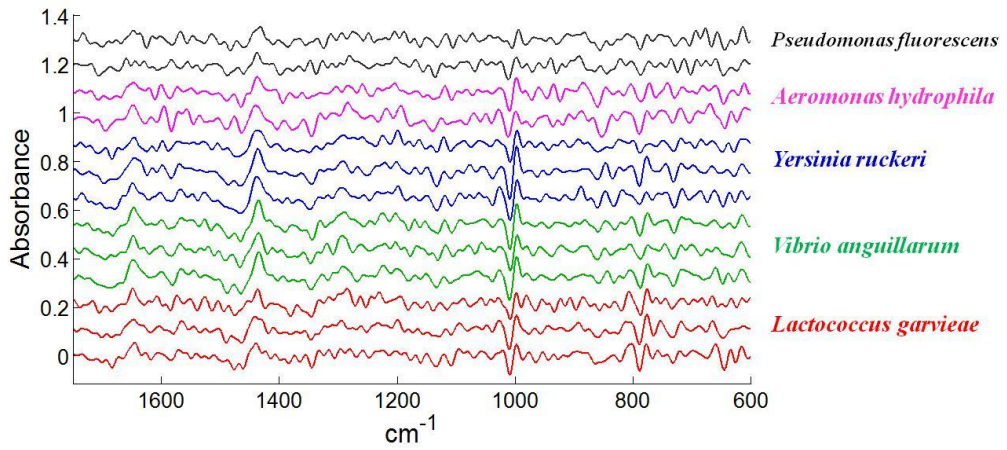


Şekil 4.60: AYR1, FYR1 ve BYR1 suşlarının ortalama değerleri.

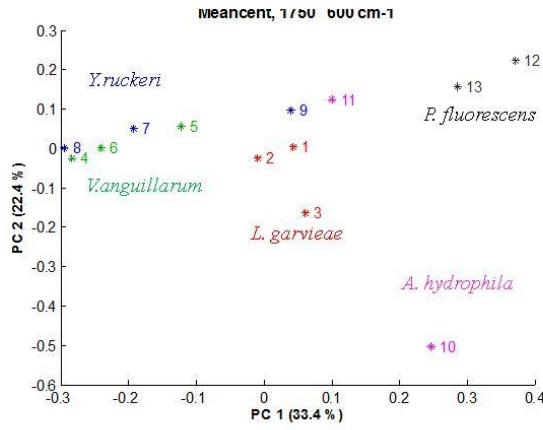
Raman spektrumları arasındaki farklılıklar ve PCA analiz sonuçları Şekil 4.61; 4.62; 4.63 ve 4.64’de sunulmuştur.



Şekil 4.61: Bakteriyel balık patojenlerinin ortalama Raman spektroskopik sinyalleri.



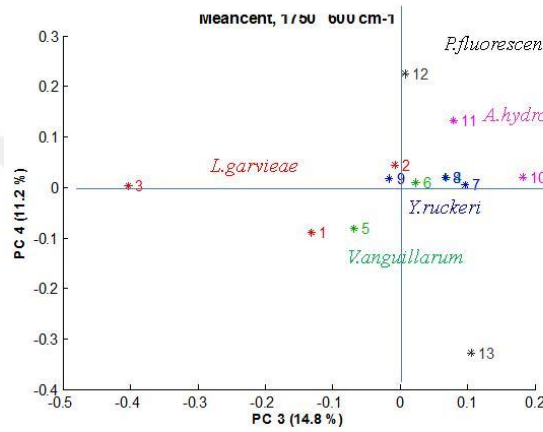
Şekil 4.62: Bakteriyel balık patojenlerinin Raman spektrumlarının karşılaştırılması.



(+) PC1: *L. garvieae*, *P. fluorescens*, *A. hydrophila*
 (-) PC1: *Y. ruckeri*, *V. anguillarum*

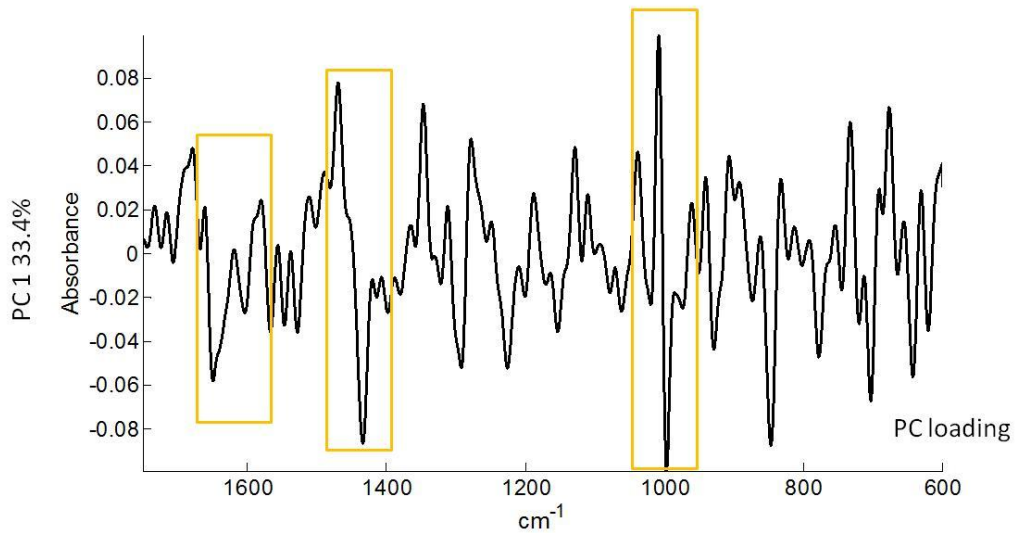
(+) PC2: *P. fluorescens*, *Y. ruckeri*
 (-) PC2: *L. garvieae*

(+) PC3: *P. fluorescens*, *Y. ruckeri*, *A. hydrophila*
 (-) PC3: *L. garvieae*



(+) PC4: *P. fluorescens*, *Y. ruckeri*, *A. hydrophila*
 (-) PC4: -

Şekil 4.63: Bakteriye balık patojenlerinin Raman spektrumlarının PCA sonuçları: *L. garvieae*, *P. fluorescens*, *A. hydrophila* kümeleri PC1'in pozitif tarafında gruplanırken, *Y. ruckeri* ve *V. anguillarum* PC1 ekseninin negatif tarafında gruplanmıştır.

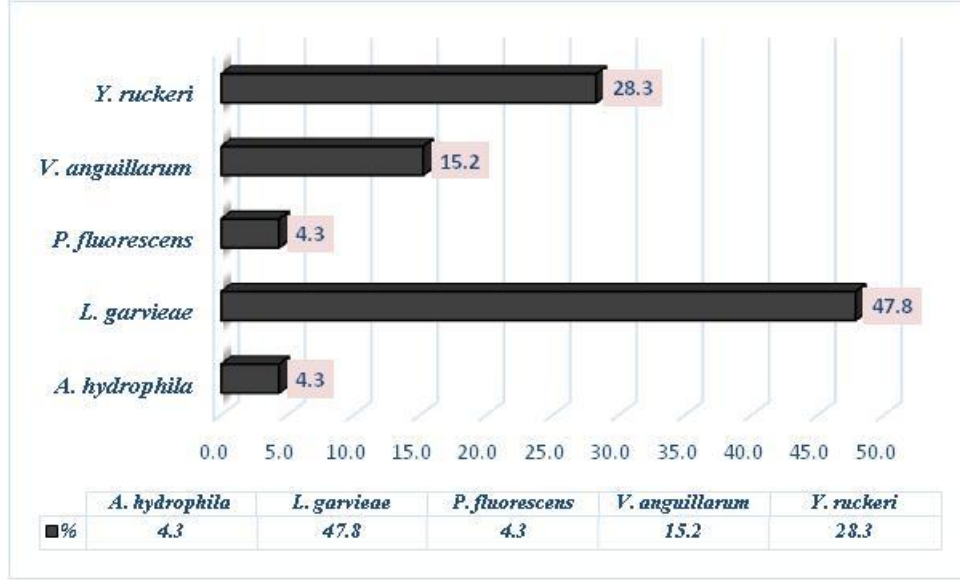


Şekil 4.64: Hüresel biyokimyasallarda gözlenen farklılıklar (protein, lipid ve karbonhidrat bölgeleri arasındaki farklılıklar).

5. TARTIŞMA

Bakteriyel balık patojenleri kültür balıkçılığında büyük kayıplara neden olan başlıca etkenlerden biri olmakla birlikte genellikle stres faktörlerinin bulunmasıyla ortaya çıkan fırsatçı patojenlerdir [117]. Balıklarda görülen klinik ve patolojik vakaların meydana getirdiği ekonomik zararlar, yanlış tedavi uygulamalarının çevre ve insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri ve yüksek ölüm oranlarına bağlı kayıplar hızlı ve doğru identifikasyonu oldukça önemli kılmaktadır. Bu amaç doğrultusunda Eylül 2016 – Mayıs 2018 tarihleri arasında Güney Ege Bölgesi'ndeki gökkuşuğu alabalığı çiftliklerinde görülen hastalık vakalarından izole edilen *A. hydrophila*, *L. garvieae*, *P. fluorescens*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri*'nin klinik ve patolojik bulguları ile mikrobiyolojik ve biyokimyasal özellikleri belirlenmiş, hızlı ve güvenli identifikasyon için alternatif besiyeri ve tanımlama metotları denenmiştir.

Çalışma süresince 10 farklı gökkuşuğu alabalığı çiftliğinden farklı zamanlarda izole edilen bakteriyel balık patojenleri ve görülme yüzdeleri Şekil 5.1'de sunulmuştur. % 47,8'lik oranla *L. garvieae*'nin etken olduğu Laktokokkozis en çok tespit edilen hastalık olmakla birlikte, 3-4 gramlık gökkuşuğu alabalıklarından anaç balıklara kadar tüm gramajlardan izole edilmiş olması, hastalığın yaygınlığı ve etkinliğinin boyutunu göstermektedir.



Şekil 5.1: Çalışma süresince gökkuşağı alabalığı çiftliklerindeki hasta balıklardan izole edilen bakteriyel balık patojenlerinin yüzde oranları.

Gökkuşağı alabalığı çiftliklerinde *A. hydrophila* izole edilen balıklarda klinik ve patolojik bulgular olarak vücut yüzeyinde ülser ve furunkullar, ekzofthalmus, vücudun ventral bölgesinde hemoroji, karaciğerde peteşiyel hemoraji ile karaciğer ve dalakta büyüme ve bağırsakta hemorajik diyare gözlenmiştir. Köprücü (2001), gökkuşağı alabalıklarında deneysel olarak oluşturulan *A. hydrophila* enfeksiyonunun patolojik etkilerinin araştırdığı doktora çalışmasında, benzer şekilde balıkların vücut yüzeyinde hemorajili lezyonlar, anüs bölgesinde hemoraji ve ventral yüzgeç tabanında peteşiyel hemoraji görüldüğünü bildirmiştir [316]. Denizci (2007) çeşitli tatlı su balıklarında *A. hydrophila*'nın identifikasyonunu gerçekleştirdiği çalışmasında ise hastalığın klinik ve otopsi bulguları olarak vücut yüzeyinde ülseratif lezyonlar, abdominal boşlukta sıvı ve karaciğerde hemoraji görüldüğünü raporlamıştır [317]. Cipriano (2001) hastalığın akut formunda fatal septiseminin balık ölmeden hemen önce şekillenebileceğini, enfeksiyona ait klinik semptom görülen vakalarda ise, eksoftalmus, deride kızarma, abdomenin ödeme bağlı olarak şiş olması ve dermiste ülser şekillenmesinin görülebileceğini bildirmiştir [318]. *A. hydrophila*'nın etken olduğu bu vakalarda görülen klinik ve patolojik bulguların, mevcut çalışmada belirlenen bulgularla benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Laktokokkozis tespit edilen balıkların klinik belirtileri durgun yüzme, renkte kararma, tek veya çift taraflı ekzofthalmus, korneada opaklık, perioküler kanama, asites, pelvik ve pektoral yüzgeç kaidelerinde hemoraji ve prolapsus olarak tespit edilmiş, otopsi bulgularında ise karaciğerde soluk renk, karaciğer ve dalakta büyüme,

testisler, yağ doku, hava kesesi ve pilorik sekada peteşiyel hemoraji, bağırsakta hemorajik diyare, abdominal boşlukta kanlı sıvı birikmesi ve periton duvarında ekimoz olduğu belirlenmiştir. Avcı ve diğ. (2010), *L. garvieae* ile doğal enfekte gökkuşığı alabalıklarında gerçekleştirdikleri patolojik incelemelerde letarji, anoreksi, renkte kararma, pelvik ve pektoral yüzgeç kaideleri ile anüs çevresinde hemoraji tespit etmiş, nekropside abdominal boşlukta seröz hemorajik sıvı, mide, pilorik seka ve hava kesesinde peteşiyel hemorajiler görüldüğünü bildirmiştir [319]. Benzer şekilde Didinen ve diğ. (2014) *L. garvieae* ile doğal enfekte gökkuşığı alabalıklarında mono ve bilateral ekzoftalmus, iç organlarda peteşiyel ve fokal hemorajiler ile karaciğer ve dalakta büyüme görüldüğünü raporlamıştır [320]. Avcı ve diğ. (2014) *L. garvieae* ile deneysel enfeksiyon oluşturdukları gökkuşığı alabalıklarında ise birçok balıkta perikardiyal boşlukta hemoraji, solungaç yayları çevresinde peteşiyel hemoraji, hava kesesi, peritoneum ve abdominal yağ dokuda hemoaji, lateral abdominal duvarlardaki kaslarda derin hemorajiler ve anüs çevresinde vasküler lezyonlar tespit etmiştir [321]. Ayrıca özellikle bağırsaklarda hiperemi ve hemorajinin yaygın olduğunu da bildirmiştir. Durmaz ve Kılıçoğlu (2015) ise bir gökkuşığı alabalığı çiftliğinde gözlenen Laktokokkozis vakasında klinik ve nekropsi bulguları olarak balıklarda durgun yüzme, iştahsızlık, korneada konjesyon, yüzgeç kaideleri ve dalak, böbrek, karaciğerde hemoraji, hava kesesinde şişkinlik ile birlikte yangı ve bağırsaklarda sarımtırak sıvı tespit ettiklerini sunmuştur [322]. Öztürk ve diğ. (2013) Karadeniz bölgesinde görülen bir Laktokokkozis salgınında gökkuşığı alabalıklarında iştahsızlık, durgunluk, tek ve çift taraflı ekzoftalmus, renkte koyulaşma, korneada opaklık, karında şişlik ve nekropside vücut boşluğunda kanlı sıvı, böbrek, dalak ve karaciğerde büyüme, karaciğerde peteşiyel kanama ve karaciğer renginde açılma olduğunu raporlamıştır [323]. Pereira ve diğ. (2004) Portekiz'de yetiştiriciliği yapılan ve *L. garvieae* izole edilen gökkuşığı alabalıklarında tek veya çift taraflı ekzoftalmus, perioküler hemoraji ve bazı vakalarda gözün kaybedilmesinin yanı sıra klinik olarak peritoneal boşlukta asidik sıvı birikmesi, karaciğer ve kaslarda hemoraji tespit ettiklerini bildirmişlerdir [171]. Sharifiyazdi ve diğ. (2010) İran'da gökkuşığı alabalığı yetiştiren çiftliklerde gözlemledikleri Laktokokkozis vakalarında yüzme bozuklukları, renkte kararma, tek veya çift taraflı ekzoftalmus görüldüğünü tespit etmişlerdir [324]. Bu çalışmada Laktokokkozis vakalarında tespit edilen klinik ve otopsi bulgularının, önceki

çalışmalarda sunulan verilerle benzerlik gösterdiği ve hastalığın farklı klinik ve patolojik bulgular ile seyrettiği görölmektedir.

P. fluorescens izole edilen hasta gökkuşağı alabalıklarında renkte kararma, kaudal yüzgeç ve çevresi ile dorsal yüzgeç gerisinde erime, nekropside abdominal boşlukta sıvı toplanması, karaciğer ve dalakta büyüme ve bağırsakta kanlı diyare tespit edilmiştir. Kayış ve diğ. (2009) Güney Karadeniz Bölgesi'nde gökkuşağı alabalıklarında görölen bakteriyel patojenleri araştırdıkları çalışmalarında *P. fluorescens* izole edilen bireylerde abdomende peteşiyel hemorajiler göröldüğünü bildirmiştir [325]. Akaylı ve Timur (2004) 3-4 gramlık gökkuşağı alabalığı yavrularında ani ölüm ile seyreden *P. fluorescens* vakasında deri rengine koyulaşma, iştahsızlık, yüzgeçlerde erime, solungaçlarda solgunluk, deride ve dorsal yüzgeç kaidelerinde yüzeysel ülseratif lezyonlar, ekzoftalmus, iç organlarda ise dalakta büyüme, böbreklerde erime ve karaciğerde solgun görünüm tespit etmiştir [326]. Mevcut çalışmaya benzer şekilde Sakai ve diğ. (1989) hastalık etkenini izole ettikleri gökkuşağı alabalıklarının yüzgeç kaidelerinde ve anal bölgede hemoraji, iç organlarda, özellikle bağırsaklarda yaygın hemoraji göröldüğünü bildirmişlerdir [327]. *P. fluorescens*'in etkeni olduğu hastalık vakalarında gözlenen klinik ve patolojik bulguların benzerlik gösterdiği belirlenmiş, literatürde bildirilen bulguların mevcut çalışmadaki verileri desteklediği tespit edilmiştir.

Çalışma süresince Vibriosis vakası görölen gökkuşağı alabalıklarının vücutlarının çeşitli bölgelerinde ekimoz ve ülser, asites, ekzoftalmus, yüzgeçlerde erime, pektoral ve anal yüzgeç kaidelerinde hemoraji, ağız içi ve çevresinde hemoraji ile prolapsus gözlenmiş, otopside yağ dokuda yaygın hemoraji, midede sıvı birikmesi, karaciğerde solgun renk ve peteşiyel hemoraji ile bağırsakta hemorajik diyare tespit edilmiştir. Avcı (2009) *V. anguillarum* ile enfekte edilen gökkuşağı alabalıklarında morfolojik ve immunohistokimyasal değişimleri incelediği doktora tez çalışmasında ekzoftalmus, renkte koyulaşma, periokuler kanama, vücudun ventralinde 1-3 cm çağında hiperemi ve kanamalı deri lezyonları, deride düzensiz dağılımlı peteşiyel kanamalar karaciğerde peteşiyel kanamalar, solungaç lamellerinde hiperemi, karın boşluğu yağ tabakasında peteşiyel kanamalar göröldüğünü bildirmiştir [42]. Tanrıkul (2007) Güney Ege Bölgesi'nde 8 farklı gökkuşağı alabalığı çiftliğinde Vibriosis vakalarını incelediği çalışmasında balıklarda düzensiz yüzme davranışları, renkte kararma, ekzoftalmus, anal ve pektoral yüzgeç kaideleri ile abdomende hemoraji, vücut yüzeyinde ülser, kaslarda yaygın veya peteşiyel hemoraji ile karaciğer, pilorik

seka, peritoneal ve subperitoneal membranlarda, periviseral yağ ve bağırsaklarda yaygın veya peteşiyel hemorajiler tespit etmiştir [38]. Lamas ve diğ. (1994) gökkuşağı alabalıklarında deneysel olarak oluşturdukları Vibriozis enfeksiyonlarında benzer şekilde vücudun ventral bölgesinde peteşi, abdomende şişlik, otopsi bulgularında ise dalakta büyüme ve karaciğer renginde koyulaşma tespit edildiğini bildirmiştir [328]. Vibriozisin gökkuşağı alabalıklarında genellikle kanamalı deri lezyonları ve yaygın hemorajiler ile gözlendiği ve bu çalışmada tespit edilen vakalarla benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Yersiniozisli gökkuşağı alabalıklarında klinik belirtiler; renkte kararma, göz çevresinde hemoraji, periokuler kanama, karakteristik belirti olan ağız ve ağız çevresinde hemoraji, operkul çevresi ve yüzgeçlerde hemorajinin yanı sıra otopside abdomen boşluğunda sıvı toplanması, karaciğer ve dalakta büyüme, karaciğerde soluk renk ve peteşiyel hemoraji, pilorik seka, böbrek, yağ doku ve testislerde yaygın hemoraji le bağırsaklarda hemorajik diyare gözlenmiştir. Avcı (2004) deneysel olarak *Y. ruckeri* ile enfekte edilmiş gökkuşağı alabalıklarında akut formda balıkların su yüzeyine yakın yüzdüklerini ve nekropside dorsal, ventral ve anal yüzgeçlerin tabanlarında, anüs çevresinde, gözlerde ve solungaçlarda kanama, karaciğer ve dalakta büyüme, karaciğer, hava kesesi, mide ve kaslarda peteşiyel kanamalar görüldüğünü bildirmiştir [109]. Hastalığın kronik formunda ise anoreksi, yüzeye yakın yüzme, nekropside gözde kanama, ekzoftalmus, hafif şişkin karaciğer, mide, pilorik seka ve bağırsaklarda koyu kıvamlı içerik belirlenmiştir. Guguanu ve diğ. (2009) Kuzey Romanya'da bulunan gökkuşağı alabalığı çiftliğinde gözlenen Yersiniozis salgınında balıklarda melanosiz, vücut yüzeyinde peteşiler, deride ülser, ekzoftalmus ve oküler hemoraji, otopside ise periviseral yağ dokuda hemorajiler görüldüğünü bildirmiştir [329]. Chettri ve diğ. (2012) gökkuşağı alabalığı larva ve yavrularında *Y. ruckeri*'nin balıkların ağız çevresinde hiperemik bölgeler ile vücudun dorsal bölgesinde inflamasyon oluşumuna neden olduğunu rapor etmiştir [330]. Karataş ve diğ. (2004) Karadeniz Bölgesi'nde kültürü yapılan gökkuşağı alabalıklarında Yersiniozis vakalarında ekzoftalmus, ventral yüzgeç ve ağızda hemoraji, abdominal bölgede şişlik, prolapsus ve anüs çevresinde hemoraji ile hava kesesi ve kas dokuda hemoraji, karaciğer, böbrek ve dalakta büyüme olduğunu bildirmişlerdir [331]. Timur ve Timur (1991) da benzer şekilde gökkuşağı alabalıklarında Yersiniozis semptomları olarak ekzoftalmus, genellikle gözde hemoraji, balığın renginde koyulaşma, dalakta büyüme, mide, pilorik seka, karaciğer

ve peritoneal yüzeyde hemorajiler ile mide ve bağırsakta sarımsı sıvı tespit etmişlerdir [111].

Gökkuşığı alabalığı çiftliklerinden izole edilen *A. hydrophila* suşlarına ait biyokimyasal özellikler ile önceki çalışmalar ile karşılaştırmaları Tablo 5.1'de sunulmuştur. Biyokimyasal parametreler arasında farklılık olmadığı belirlenmiştir.

Tablo 5.1: İzole edilen *A. hydrophila* suşları ile diğer araştırmacıların izolatlarının morfolojik ve biyokimyasal test profillerinin karşılaştırılması.

| | Mevcut çalışma | Köprücü (2001) [334] | Gonzalez-Sarrano ve diğ. (2002) [333] | Öztürk ve diğ. (2007) [336] | Austin ve Austin (2007) [2] | Denizci (2007) [332] | Orozova ve diğ. (2010) [335] | Laith ve Najiah (2013) [7] |
|-----------------------|----------------|----------------------|---------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------|------------------------------|----------------------------|
| Gram boyama | -(2/2) | - | . | - | . | -(12/12) | -(16/16) | -(11/11) |
| Hareket | +(2/2) | + | . | . | + | +(12/12) | +(16/16) | +(11/11) |
| Oksidaz | +(2/2) | . | . | + | + | +(12/12) | . | +(11/11) |
| Katalaz | +(2/2) | . | . | + | + | +(12/12) | . | +(11/11) |
| ONPG | +(2/2) | . | . | + | . | +(12/12) | . | . |
| ADH | +(2/2) | . | +(12/12) | . | v | +(12/12) | . | . |
| LDC | -(2/2) | . | +(12/12) | - | . | +(10/12) | +(12/16) | . |
| ODC | -(2/2) | . | -(12/12) | . | - | -(12/12) | -(16/16) | . |
| Sitrat | -(2/2) | . | . | . | . | +(10/12) | . | +(11/11) |
| H₂S | +(2/2) | + | . | - | . | . | -(16/16) | . |
| Urease | -(2/2) | - | . | - | . | -(12/12) | . | -(11/11) |
| TDA | -(2/2) | . | . | . | . | . | . | . |
| Indole | +(2/2) | . | . | + | + | +(12/12) | . | +(11/11) |
| VP | +(2/2) | + | +(12/12) | . | v | +(12/12) | +(13/16) | +(11/11) |
| Gelatin | +(2/2) | . | . | . | + | +(12/12) | . | +(11/11) |
| Glucose | +(2/2) | + | +(12/12) | + | . | +(12/12) | +(16/16) | +(11/11) |
| Mannitol | +(2/2) | + | +(12/12) | + | . | +(12/12) | . | . |
| Inositol | -(2/2) | - | . | + | . | -(12/12) | . | . |
| Sorbitol | +(2/2) | + | . | . | . | . | -(16/16) | . |
| Rhamnose | -(2/2) | . | . | . | . | . | . | . |
| Sucrose | +(2/2) | + | +(12/12) | . | . | +(10/12) | . | . |
| Melibiose | -(2/2) | . | . | . | . | . | . | . |
| Amygdalin | +(2/2) | . | . | . | . | . | . | . |
| Arabinose | +(2/2) | . | +(9/12) | . | . | +(12/12) | +(13/16) | . |

+: Pozitif; -: Negatif

Çalışma süresince izole edilen 11 adet *L. garvieae* suşunun biyokimyasal özellikleri önceki çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Tablo 5.2).

Tablo 5.2: İzole edilen *L. garvieae* suşları ile diğer araştırmacıların izolatlarının morfolojik ve biyokimyasal test profillerinin karşılaştırılması.

| | Mevcut çalışma | Diler ve diğ. (2002) [70] | Çağırğan (2004) [96] | Sharifiyazdi ve diğ. (2010) [324] | Tanrık ul (2012) [241] | Didinen ve diğ. (2014) [320] | Durmaz ve Kılıçoğlu (2015) [322] | Duman ve diğ. (2018) [337] |
|--------------------|----------------|---------------------------|----------------------|-----------------------------------|------------------------|------------------------------|----------------------------------|----------------------------|
| Gram boyama | +(22/22) | + (3/3) | +(20/20) | +(32/32) | . | +(25/25) | +(4/4) | +(20/20) |
| Hareket | -(22/22) | -(3/3) | -(20/20) | -(32/32) | . | -(25/25) | -(4/4) | -(20/20) |
| Oksidaz | -(22/22) | -(3/3) | -(20/20) | -(32/32) | . | -(25/25) | -(4/4) | -(20/20) |
| Katalaz | -(22/22) | -(3/3) | -(20/20) | -(32/32) | . | -(25/25) | -(4/4) | -(20/20) |
| ADH | +(21/22) | +(3/3) | +(20/20) | +(32/32) | + | +(25/25) | . | +(20/20) |
| βGLU | +(21/22) | +(3/3) | . | . | . | . | . | +(20/20) |
| βGAR | -(22/22) | -(3/3) | -(20/20) | . | - | -(25/25) | -(4/4) | -(20/20) |
| βGUR | -(22/22) | -(3/3) | -(20/20) | . | - | -(25/25) | . | -(20/20) |
| GAL | -(22/22) | -(3/3) | -(20/20) | . | - | -(25/25) | . | -(20/20) |
| PAL | -(22/22) | -(3/3) | -(20/20) | . | - | -(25/25) | . | -(20/20) |
| RIB | +(22/22) | +(3/3) | +(20/20) | V | + | V | . | +(15/20) |
| MAN | +(22/22) | +(3/3) | +(20/20) | +(32/32) | + | V | +(4/4) | +(20/20) |
| SOR | -(22/22) | -(3/3) | -(20/20) | +(32/32) | - | -(25/25) | -(4/4) | -(20/20) |
| LAC | -(21/22) | -(3/3) | -(20/20) | +(32/32) | - | -(25/25) | +(4/4) | -(20/20) |
| TRE | +(22/22) | +(3/3) | +(20/20) | +(32/32) | + | +(25/25) | . | +(18/20) |
| RAF | -(22/22) | -(3/3) | -(20/20) | -(32/32) | - | -(25/25) | . | -(20/20) |
| VP | +(22/22) | +(3/3) | +(20/20) | . | + | +(25/25) | . | +(20/20) |
| APPA | +(22/22) | +(3/3) | . | . | . | . | . | +(20/20) |
| βGAL | -(22/22) | -(3/3) | -(20/20) | . | . | . | . | -(20/20) |
| PyrA | +(22/22) | +(3/3) | +(20/20) | . | . | . | . | +(20/20) |
| βNAG | -(22/22) | -(3/3) | +(20/20) | . | . | . | . | -(20/20) |
| GTA | -(21/22) | -(3/3) | . | . | . | . | . | -(20/20) |
| HIP | -(22/22) | +(3/3) | +(20/20) | . | - | . | . | -(17/20) |
| GLYG | -(22/22) | . | -(20/20) | . | - | -(25/25) | . | -(20/20) |
| PUL | -(22/22) | -(3/3) | . | . | . | . | . | -(20/20) |
| MAL | +(22/22) | +(3/3) | +(19/20) | +(32/32) | . | +(25/25) | +(4/4) | +(20/20) |
| MEL | -(22/22) | -(3/3) | -(20/20) | . | . | V | . | -(20/20) |
| MLZ | -(22/22) | -(3/3) | -(20/20) | . | . | -(25/25) | . | -(20/20) |
| SAC | -(16/22) | +(3/3) | +(20/20) | . | . | +(25/25) | . | -(16/20) |
| LARA | -(22/22) | -(3/3) | -(20/20) | . | . | -(25/25) | -(4/4) | -(20/20) |
| DARL | -(22/22) | -(3/3) | -(20/20) | . | . | -(25/25) | . | -(20/20) |
| MBDG | +(17/22) | +(3/3) | -(20/20) | . | . | -(25/25) | . | +(20/20) |
| TAG | +(22/22) | +(3/3) | +(20/20) | . | . | +(25/25) | . | +(16/20) |
| βMAN | -(22/22) | . | . | . | . | . | . | -(20/20) |
| CDEX | -(22/22) | -(3/3) | . | . | . | . | . | -(18/20) |
| URE | -(22/22) | -(3/3) | -(20/20) | . | . | -(25/25) | . | -(20/20) |

+: Pozitif; -: Negatif

P. fluorescens mevcut çalışmada sadece bir adet çiftlikten iki farklı suş olarak izole edilmiş, biyokimyasal test sonuçlarının benzer çalışmalarla karşılaştırması Tablo 5.3'de sunulmuştur. Urease, VP, mannitol, sorbitol ve sucrose parametrelerinde farklılıklar görülebildiği tespit edilmiştir.

Tablo 5.3: İzole edilen *P. fluorescens* suşları ile diğer araştırmacıların izolatlarının morfolojik ve biyokimyasal test profillerinin karşılaştırılması.

| | Mevcut çalışma | Akaylı ve Timur (2004) [326] | Austin ve Austin (2007) [2] | Eissa ve diğ. (2010) [339] | Darak ve Barde (2015) [338] |
|-----------------------|----------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Gram boyama | -(2/2) | - | - | -(3/3) | - |
| Hareket | +(2/2) | + | + | +(3/3) | . |
| Oxidase | +(2/2) | + | + | +(3/3) | + |
| Catalase | +(2/2) | . | + | +(3/3) | + |
| ONPG | -(2/2) | - | . | . | . |
| ADH | +(2/2) | + | V | . | . |
| LDC | -(2/2) | - | - | . | . |
| ODC | -(2/2) | - | . | . | . |
| Sitrat | +(2/2) | . | . | +(3/3) | - |
| H₂S | -(2/2) | . | - | -(3/3) | - |
| Urease | -(2/2) | . | . | +(3/3) | - |
| TDA | -(2/2) | . | . | . | . |
| Indole | -(2/2) | . | - | -(3/3) | - |
| VP | +(2/2) | + | - | -(3/3) | - |
| Gelatin | +(2/2) | . | + | . | + |
| Glucose | +(2/2) | + | . | +(2/3) | . |
| Mannitol | -(2/2) | . | . | +(3/3) | . |
| Inositol | -(2/2) | - | . | . | . |
| Sorbitol | -(2/2) | . | . | +(2/3) | . |
| Rhamnose | -(2/2) | . | . | . | . |
| Sucrose | -(2/2) | - | . | +(3/3) | . |
| Melibiose | +(2/2) | . | . | . | . |
| Amygdalin | -(2/2) | . | . | . | . |
| Arabinose | +(2/2) | + | . | . | . |

+: Pozitif; -: Negatif

Bu çalışmada izole edilen *V. anguillarum* şuşlarının biyokimyasal test sonuçları ile literatürde bildirilen bazı çalışmaların karşılaştırılması Tablo 5.4’de sunulmuştur. Özellikle indole ve inositol sonuçlarının farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

Tablo 5.4: İzole edilen *V. anguillarum* şuşları ile diğer araştırmacıların izolatlarının morfolojik ve biyokimyasal test profillerinin karşılaştırılması.

| | Mevcut çalışma | Çağırğan (1993) [94] | Tanrıkul ve diğ. (2004) [97] | Demircan ve Candan (2006) [180] | Tanrıkul (2007) [38] | Tanrıkul ve Gültepe (2011) [341] | Dinçtürk ve Tanrıkul (2018) [340] |
|-----------------------|----------------|----------------------|------------------------------|---------------------------------|----------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| Gram boyama | - (7/7) | - (6/6) | -(13/13) | -(34/34) | -(12/12) | - | -(12/12) |
| Hareket | +(7/7) | + (6/6) | +(13/13) | +(34/34) | +(12/12) | + | +(12/12) |
| Oksidaz | +(7/7) | +(6/6) | +(13/13) | +(34/34) | +(12/12) | + | +(12/12) |
| Katalaz | +(7/7) | +(6/6) | +(13/13) | +(34/34) | +(12/12) | + | +(12/12) |
| O/F | F(7/7) | F(6/6) | | F(34/34) | F(12/12) | F | F(12/12) |
| O/129 | +(7/7) | +(6/6) | +(13/13) | +(31/34) | +(12/12) | + | +(12/12) |
| ONPG | +(7/7) | . | +(11/13) | +(34/34) | +(12/12) | + | +(12/12) |
| ADH | +(7/7) | +(6/6) | +(12/13) | +(34/34) | +(12/12) | + | +(12/12) |
| LDC | -(7/7) | -(6/6) | -(13/13) | -(34/34) | -(12/12) | - | -(12/12) |
| ODC | -(7/7) | . | -(13/13) | -(34/34) | -(12/12) | - | -(12/12) |
| Sitrat | +(7/7) | +(6/6) | +(9/13) | +(32/34) | +(12/12) | + | +(12/12) |
| H₂S | -(7/7) | -(5/6) | -(13/13) | -(34/34) | -(12/12) | - | -(12/12) |
| Urease | -(7/7) | -(6/6) | -(13/13) | -(34/34) | -(12/12) | - | -(12/12) |
| TDA | -(7/7) | . | -(13/13) | -(34/34) | -(12/12) | - | -(12/12) |
| Indole | -(7/7) | . | +(7/13) | +(30/34) | -(12/12) | - | -(12/12) |
| VP | +(7/7) | +(5/6) | +(12/13) | +(34/34) | +(12/12) | + | +(12/12) |
| Gelatin | +(7/7) | +(6/6) | +(13/13) | +(34/34) | +(12/12) | + | +(12/12) |
| Glucose | +(7/7) | +(6/6) | +(13/13) | +(34/34) | +(12/12) | + | +(12/12) |
| Mannitol | +(7/7) | +(6/6) | +(13/13) | +(23/34) | +(12/12) | + | +(12/12) |
| Inositol | +(7/7) | -(6/6) | -(8/13) | -(34/34) | +(12/12) | + | +(12/12) |
| Sorbitol | +(7/7) | . | +(9/13) | +(34/34) | +(12/12) | + | +(12/12) |
| Rhamnose | -(7/7) | . | -(13/13) | -(34/34) | -(12/12) | - | -(12/12) |
| Sucrose | +(7/7) | +(6/6) | +(13/13) | +(34/34) | +(12/12) | + | +(12/12) |
| Melibiose | -(7/7) | . | -(13/13) | -(34/34) | -(12/12) | - | -(12/12) |
| Amygdalin | -(7/7) | . | -(9/13) | -(34/34) | -(12/12) | - | -(12/12) |
| Arabinose | +(7/7) | +(6/6) | -(12/13) | +(20/34) | +(12/12) | + | +(12/12) |

+: Pozitif; -: Negatif

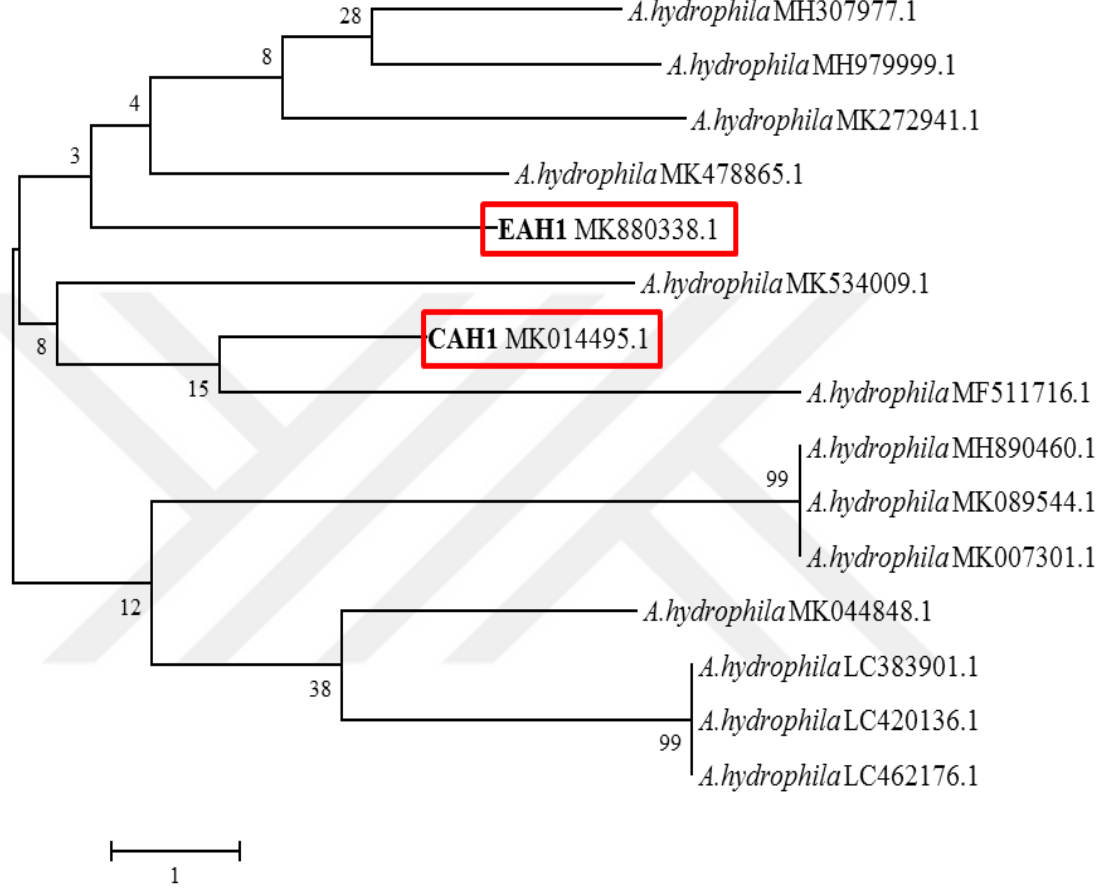
Çalışma süresince izole edilen *Y. ruckeri* suşlarının biyokimyasal test sonuçlarının daha önce gerçekleştirilmiş analiz sonuçlarıyla karşılaştırması Tablo 5.5’de sunulmuştur. *Y. ruckeri* suşlarının biyokimyasal test sonuçlarının diğer çalışmalarla büyük ölçüde benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Tablo 5.5: İzole edilen *Y. ruckeri* suşları ile diğer araştırmacıların izolatlarının morfolojik ve biyokimyasal test profillerinin karşılaştırılması.

| | Mevcut çalışma | Tanrikul (1994) [44] | Guguianu ve diğ. (2009) [329] | Tinsley (2010) [344] | Altun ve diğ. (2010) [237] | Altun ve diğ. (2013) [342] | Altınok ve diğ. (2016) [343] |
|-----------------------|----------------|----------------------|-------------------------------|----------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|
| Gram boyama | - (13/13) | +(3/3) | - (20/20) | . | - (21/21) | - (17/17) | . |
| Hareket | +(13/13) | +(3/3) | . | . | . | . | . |
| Oksidaz | - (13/13) | -(3/3) | - (20/20) | . | - (21/21) | - (17/17) | . |
| Katalaz | +(13/13) | +(3/3) | +(20/20) | . | +(21/21) | +(17/17) | . |
| ONPG | +(13/13) | . | +(20/20) | . | +(21/21) | . | . |
| ADH | - (13/13) | -(3/3) | - (20/20) | - (7/7) | - (21/21) | . | - (31/40) |
| LDC | +(13/13) | +(3/3) | +(20/20) | +(7/7) | +(21/21) | . | +(27/40) |
| ODC | +(13/13) | +(3/3) | +(20/20) | +(7/7) | +(21/21) | . | +(32/40) |
| Sitrat | +(13/13) | . | +(20/20) | - (7/7) | +(16/21) | +(17/17) | +(31/40) |
| H₂S | - (13/13) | -(3/3) | - (20/20) | - (7/7) | - (21/21) | - (17/17) | . |
| Urease | - (13/13) | -(3/3) | - (20/20) | - (7/7) | - (21/21) | . | - (23/40) |
| TDA | - (13/13) | . | - (20/20) | - (7/7) | - (21/21) | . | - (36/40) |
| Indole | - (13/13) | -(3/3) | - (20/20) | - (7/7) | - (21/21) | - (17/17) | . |
| VP | +(13/13) | -(3/3) | - (20/20) | - (4/7) | - (17/21) | - (17/17) | +(29/40) |
| Gelatin | +(13/13) | +(3/3) | - (20/20) | +(5/7) | +(16/21) | +(17/17) | - (21/40) |
| Glucose | +(13/13) | +(3/3) | +(20/20) | +(7/7) | +(21/21) | . | +(38/40) |
| Mannitol | +(13/13) | +(3/3) | +(20/20) | +(7/7) | +(21/21) | +(16/17) | +(32/40) |
| Inositol | - (13/13) | -(3/3) | - (20/20) | - (7/7) | - (21/21) | . | . |
| Sorbitol | - (13/13) | -(2/3) | - (20/20) | - (4/7) | - (19/21) | - (12/17) | - (31/40) |
| Rhamnose | - (13/13) | -(3/3) | - (20/20) | - (7/7) | - (21/21) | - (17/17) | . |
| Sucrose | - (13/13) | . | - (20/20) | - (7/7) | - (21/21) | . | - (31/40) |
| Melibiose | - (13/13) | -(3/3) | - (20/20) | - (7/7) | - (21/21) | . | . |
| Amygdalin | - (13/13) | . | - (20/20) | - (7/7) | - (21/21) | . | . |
| Arabinose | - (13/13) | -(3/3) | - (20/20) | - (7/7) | - (21/21) | . | - (30/40) |

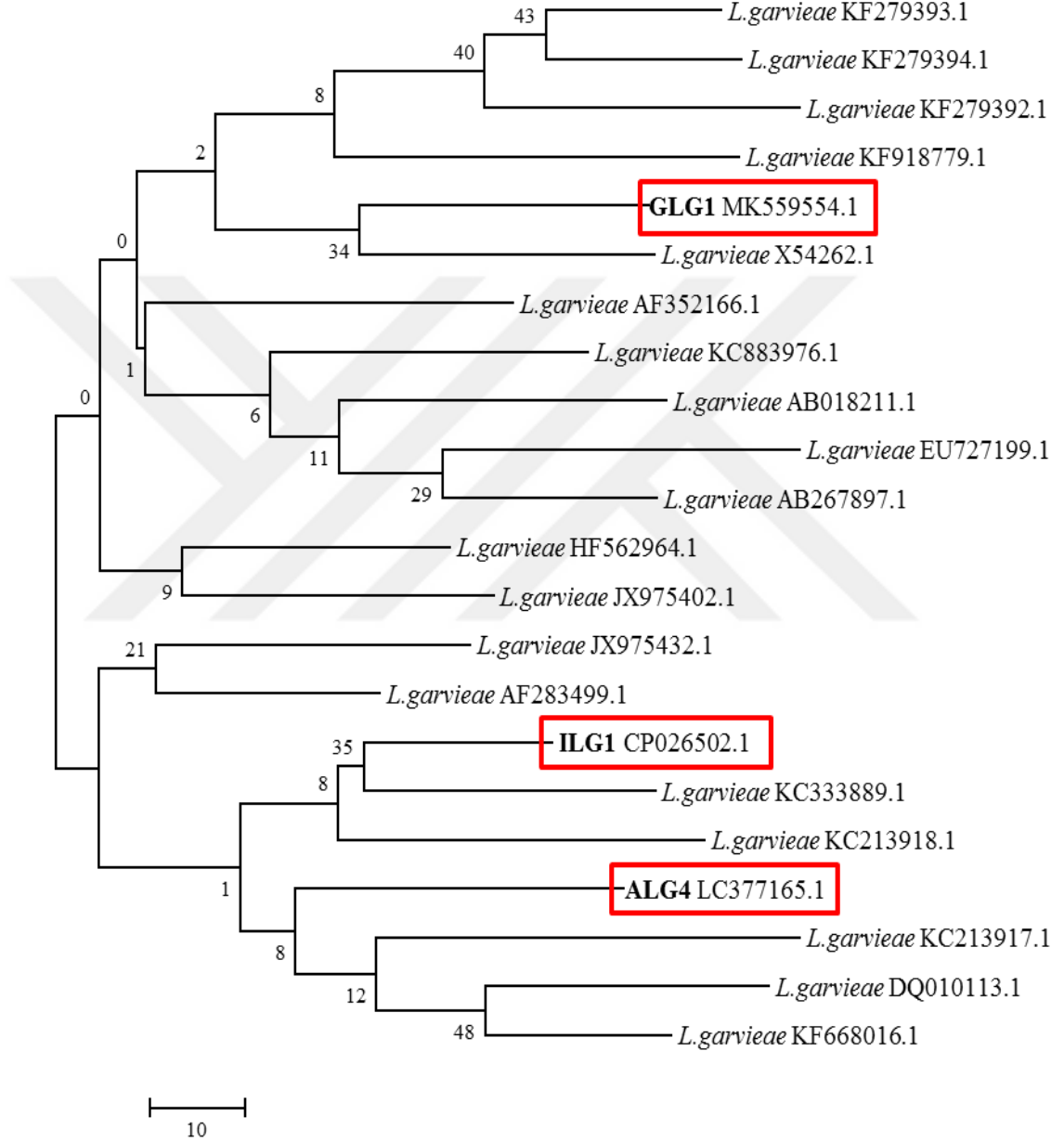
+: Pozitif; -: Negatif

İzole edilen ve biyokimyasal tanımlaması gerçekleştirilen *A. hydrophila* suşlarının 16S rRNA gen sekanslarının belirlenmesiyle GenBank'ta MK880338.1 ve MK014495.1 suşlarıyla % 100 benzerlik gösterdiği tespit edilmiş olup, filogenetik ağaçta benzer taksonlarla karşılaştırılması Şekil 5.2'de sunulmuştur.



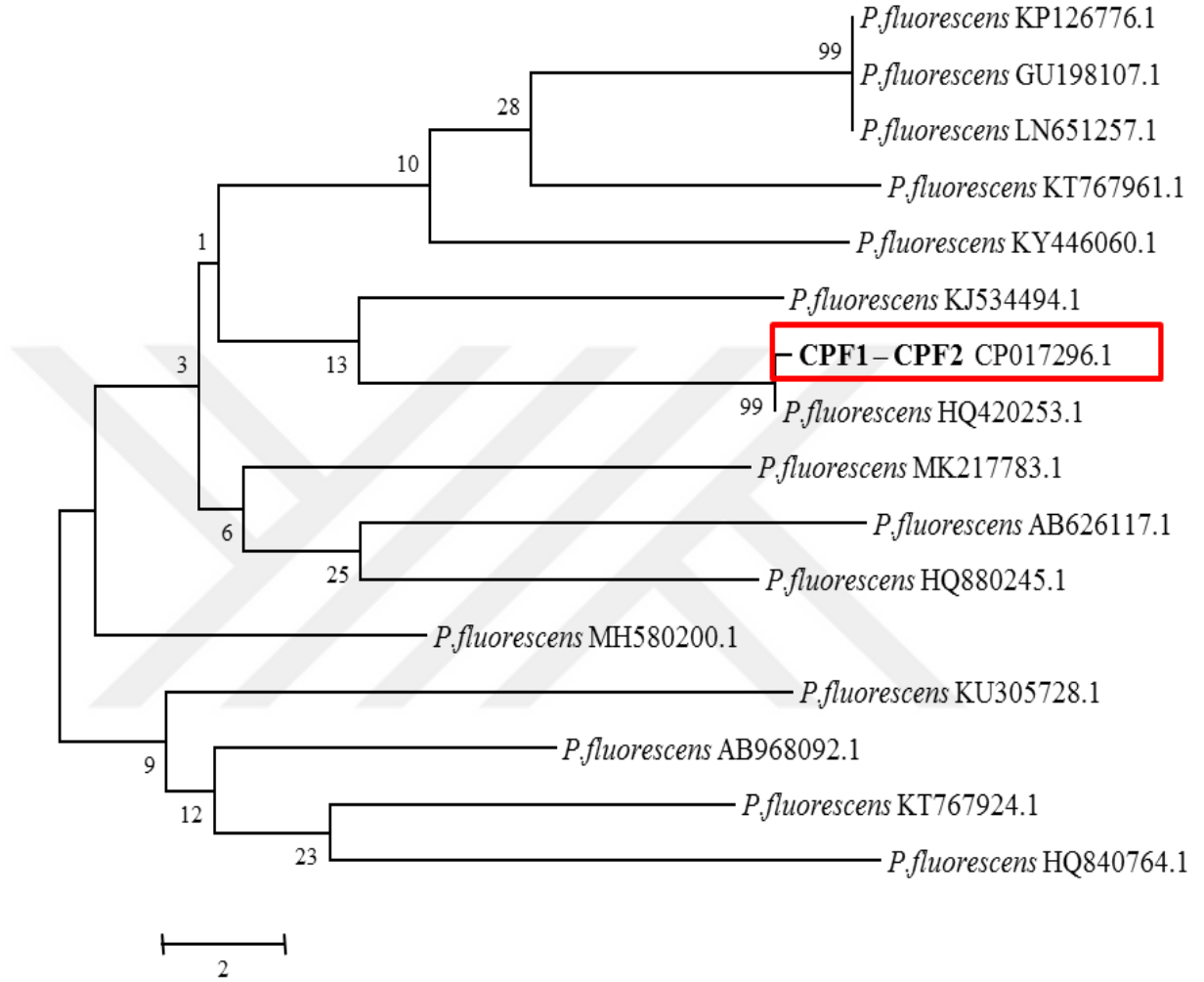
Şekil 5.2: 16s rRNA gen sekanslarına göre izole edilen *A. hydrophila* suşlarının benzer taksonlarla karşılaştırılması.

İzole edilen ve biyokimyasal tanımlaması gerçekleştirilen *L. garvieae* suşlarının 16S rRNA gen sekanslarının belirlenmesi sonucu Lactococcus genusuna ait olduğu belirlenmiş, GenBank'ta MK559554.1, CP026502.1 ve LC377165.1 suşlarıyla % 100 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Suşların gen sekanslarının karşılaştırılması Şekil 5.3'de sunulmuştur.



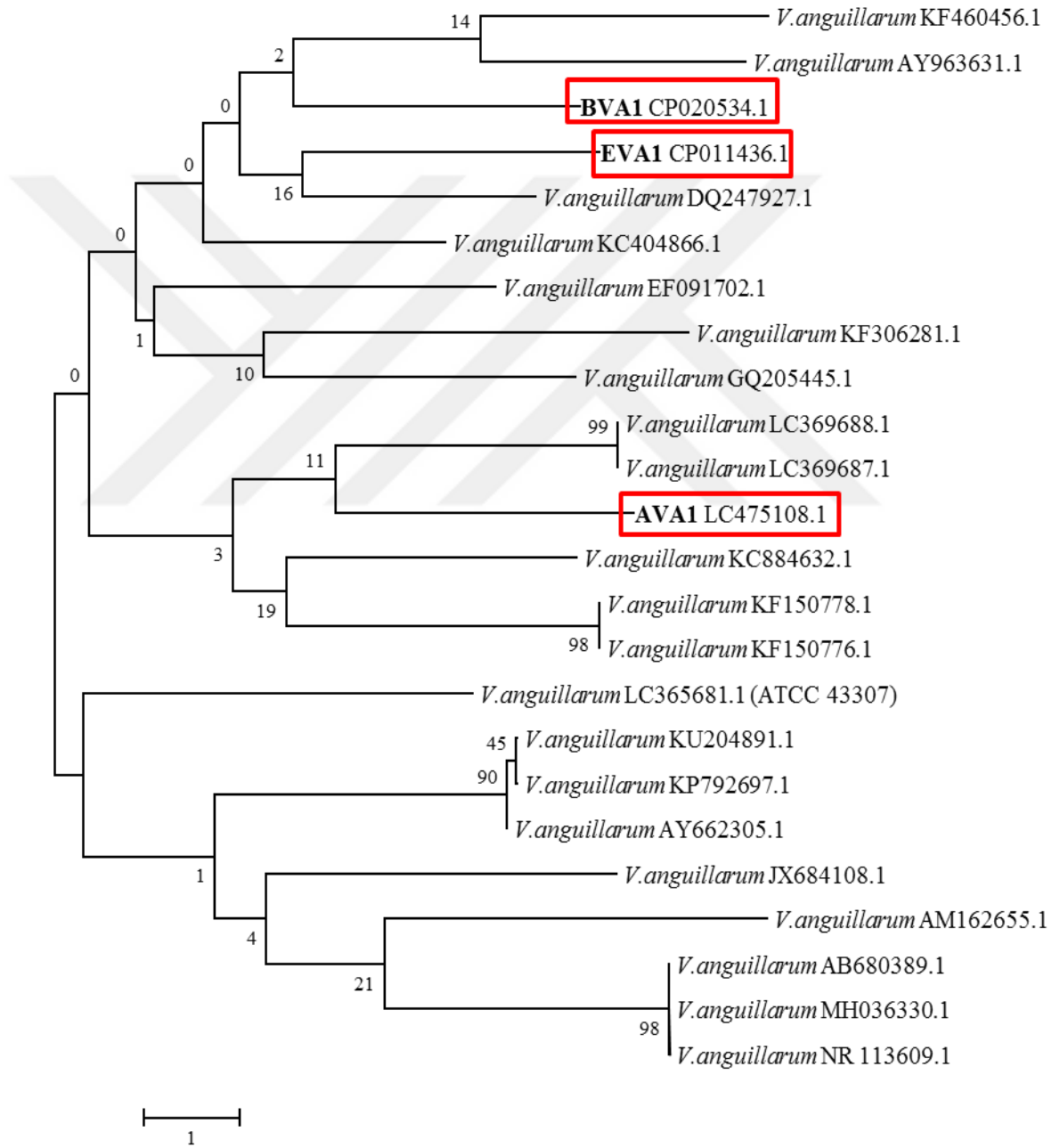
Şekil 5.3: 16s rRNA gen sekanslarına göre izole edilen *L. garvieae* suşlarının benzer taksonlarla karşılaştırılması.

P. fluorescens suşlarının 16S rRNA gen sekanslarının belirlenmesi sonucu GenBank'ta CP017296.1 suşuyla % 100 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Suşların gen sekanslarının benzer taksonlarla filogenetik ağaçta karşılaştırılması Şekil 5.4'de sunulmuştur.



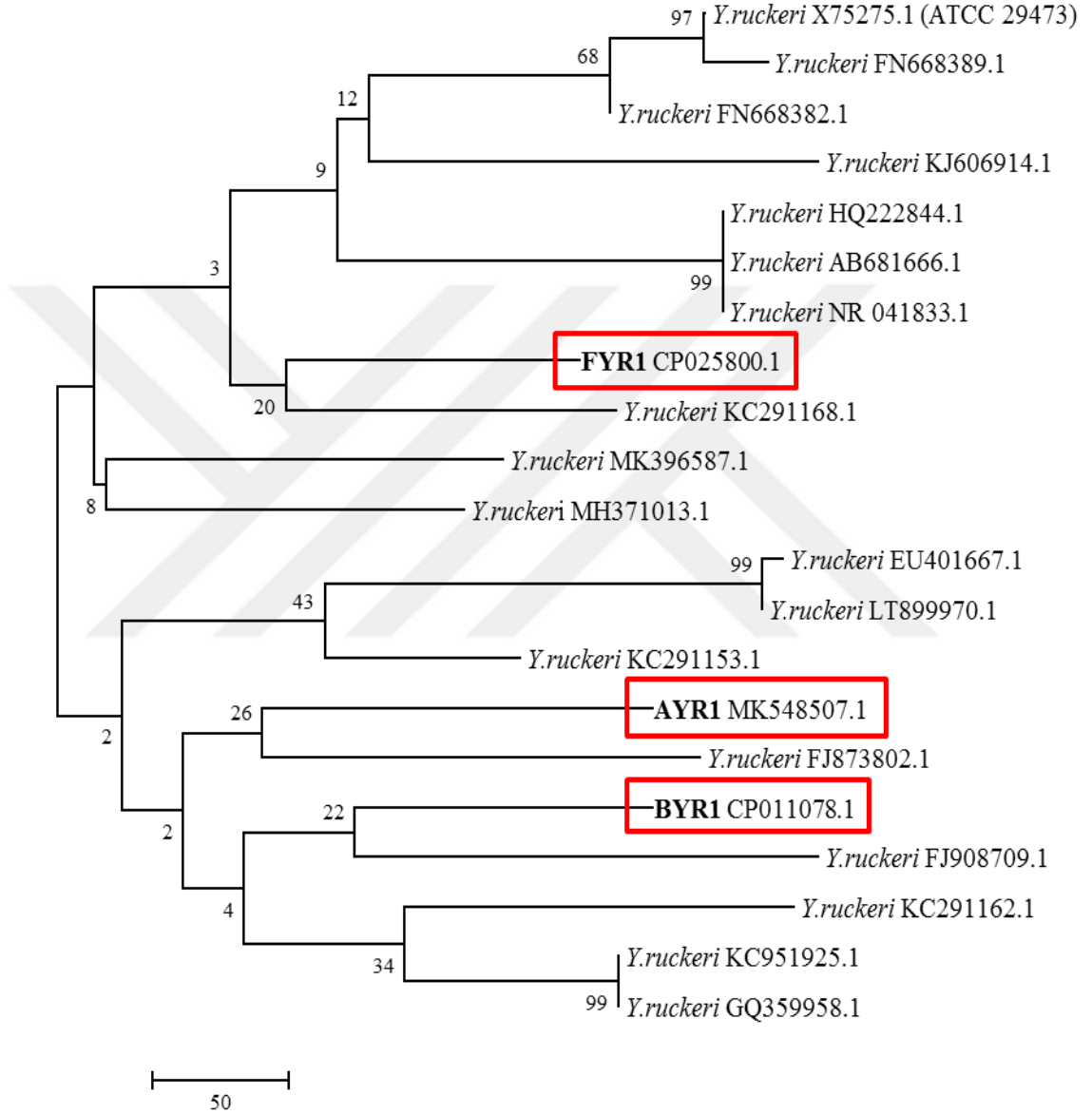
Şekil 5.4: 16s rRNA gen sekanslarına göre izole edilen *P. fluorescens* suşlarının benzer taksonlarla karşılaştırılması.

İzole edilen ve biyokimyasal tanımlaması gerçekleştirilen *V. anguillarum* suşlarının 16S rRNA gen sekanslarının belirlenmesi sonucu GenBank'ta CP020534.1,CP011436.1 ve LC475108.1 suşlarıyla % 100 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Suşların gen sekanslarının filogenetik ağaçta benzer taksonlarla karşılaştırılması Şekil 5.5'de sunulmuştur.



Şekil 5.5: 16s rRNA gen sekanslarına göre izole edilen *V. anguillarum* suşlarının benzer taksonlarla karşılaştırılması.

Çalışmada izole edilen *Y. ruckeri* suşlarının 16S rRNA gen sekanslarının belirlenmesi sonucu GenBank'ta CP025800.1, MK548507.1 ve CP011078.1 suşlarıyla % 100 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Suşların gen sekanslarının filogenetik ağaçta benzer taksonlarla karşılaştırılması Şekil 5.6'da sunulmuştur.



Şekil 5.6: 16s rRNA gen sekanslarına göre izole edilen *Y. ruckeri* suşlarının benzer taksonlarla karşılaştırılması.

Çalışma süresince izole edilen enfeksiyöz balık patojenleri 5 farklı kromojenik besiyerine ekilmiş ve bu patojenlerin izolasyonunda kullanılan selektif besiyerleriyle koloni morfolojileri, üremesi, bakteriyel balık patojenlerinin tespit ve identifikasyon özellikleri karşılaştırılmıştır.

chromID® CPS® Elite agar son yıllarda üriner sistem enfeksiyonlarındaki bakteri izolasyonu ve identifikasyonu ile koloni morfolojileri temel alınarak, özellikle *E. coli*, Enterococcus ve bazı Proteaeae grubu üyelerinin tespitinde kolaylık sağlanması amacıyla geliştirilmiş kromojenik bir besiyeridir. Yarbrough ve diğ (2016) *E. coli*'nin chromID® CPS® Elite besiyerinde Gram boyama ve biyokimyasal testlere gerek olmadan koloni görünümüne bağlı olarak direk identifiye edilebileceğini bildirmiştir [274]. Bu çalışmada ise bakteriyel balık patojeni etkenlerinden *A. hydrophila*, *P. fluorescens*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri* chromID® CPS® Elite agarda koyu bej renginde ürerken, sadece *L. garvieae* kolonileri yeşil renk vermiştir. Ayrıca chromID® CPS® Elite / Columbia CNA +5% sheep blood aynı petri kabında iki farklı besiyeri bulunduğundan aynı anda kullanma ve sonuçlarını gözlemlene açısından kolaylık sağlamaktadır. Özellikle Gram (+) bakterilerin izolasyonu için kullanılan Columbia CNA +5% sheep blood agarın *L. garvieae* izolasyonu ve identifikasyonu için oldukça avantajlı olduğu tespit edilmiştir. Bu kombine besiyerinin kullanımı laboratuvarlarda standart besiyeri kullanımını azaltacak ve ekonomik olarak avantaj sağlayacaktır. Ayrıca, her iki besiyerinde koloni morfolojilerini aynı anda gözlemlenin de mikrobiyolojik çalışmalarda daha kolay, güvenilir izolasyon ve identifikasyon sağladığı tespit edilmiştir.

Vibrio cinsine ait türler özellikle insanlarda hastalığa neden olan *V. cholerae* (epidemik kolera etkeni) ve *V. parahaemolyticus* (deniz ürünleri tüketimine bağlı olarak gelişen gastroenteritis etkeni) büyük öneme sahiptir [345-348]. chromID® Vibrio *V. cholerae* ve *V. parahaemolyticus*'un diğer *Vibrio* türlerinden kolayca ayrılması amacıyla geliştirilmiştir. Besiyeri üzerinde *V. cholerae* mavi/yeşil renkli koloniler ile gözlenirken, *V. parahaemolyticus* pembe koloni görünümünü vermektedir. *Vibrio* selektif besiyeri olarak kullanılan TCBS agar *Vibrio* türleri arasında düşük seçiciliğe sahiptir. Örneğin; koloni morfolojileri dikkate alındığında *V. cholerae* ile *V. alginolyticus* ve *V. fluvialis*; *V. parahaemolyticus* ile de *V. mimicus* ve *V. vulnificus* ayırt edilememektedir [348]. chromID® Vibrio koloni rengine bağlı olarak farklı bir seçicilik sunmaktadır. TCBS ile kıyaslandığında kromojenik olan bu besiyerinin herhangi bir doğrulamaya gerek olmaksızın *Vibrio* türleri için 2 kat daha seçici olduğu belirtilmiştir [348]. *V. cholerae* beta-galaktosidaz üretiminden dolayı chromID® Vibrio besiyeri üzerinde mavi/yeşil renkli koloniler ile görülmekte iken, *V. parahaemolyticus* ise arabinose asimilasyonundan kaynaklı pembe renkli koloniler ile tespit edilmektedir. Pinto ve diğ. (2011) *Vibrio* CHROMagar plates (CAV, PBI

International, Milan, Italy)'in TCBS agara göre *V. parahaemolyticus* ve *V. fluvialis* izolasyonunda daha yüksek spesifikliğe ve kesinliğe sahip olduğunu rapor etmiştir [349]. Balık patojeni olan *V. anguillarum*'un ise bu çalışmada chromID® Vibrio besiyerindeki üreme performansı gözlenmiş, koyu pembe/mor renkli koloniler tespit edilmiştir. Koloni renklenmesinin nedenine ilişkin bir bilgi bulunmamakla birlikte, aydınlatılması için çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

chromID® MRSA Smart methicillin dirençli *S. aureus* (MRSA) izolasyonu için tasarlanmış olup, chromID® *S. aureus* Elite ise *S. aureus*'un direk identifikasyonu için geliştirilmiştir. chromID® *S. aureus* Elite besiyeri üzerinde *S. aureus* glukosidaz üretiminden dolayı yeşil koloniler ile gözlenmektedir. Staphylococcus genusu balıklarda septisemi benzeri belirtiler ile birlikte ekzoftalmus ve yüzgeç çevrelerinde lezyonlar ile seyreden klinik belirtilere neden olmaktadır [350;351]. Diğer bir önemli bakteriyel balık patojeni olan *L. garvieae* ise gökkuşağı alabalığı çiftliklerinde toplam üretimin yaklaşık % 50'sinin kaybına neden olabilen bir hastalık etkenidir [64;241;352]. Ayrıca enfekte ve taşıyıcı balıklarla hastalığın sağlıklı balıklara yayılması da çiftliklerde büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır [353]. Türkiye'de enrofloksasin, florfenikol ve oksitetrasiklin gibi birçok farklı antibiyotik tedavisi Laktokokkozis ile mücadele amacıyla gökkuşağı alabalığı çiftliklerinde kullanılmaktadır [325;354]. Antibiyotiklere karşı dirençli bakteri ile hayvanlar ve insanlar arasındaki potansiyel transfer ve sonuç olarak antibiyotik tedavisinin etkili olmaması antibiyotik kullanımında başlıca kaygılardır [354;355;356].

Bu çalışmada Gram (+) koklar içerisinde olan *Staphylococcus* türlerinin kolay izole edilmesi amacıyla kullanılan chromID® MRSA Smart ve chromID® *S. aureus* Elite kromojenik besiyerleri gökkuşağı alabalığı çiftliklerinde önemli kayıplara neden olan *L. garvieae*'nın üremesini inhibe etmiştir. Bu nedenle bu iki besiyerinin balıklarda stafilokokla streptokok enfeksiyonlarının teşhisinde *L. garvieae* gibi streptokok türlerinden kaynaklanan hastalıklarla beraber mix kok enfeksiyonlarında stafilokokların daha kolay izole edilmesinde faydalanılabileceği düşünülmektedir. Tez çalışması süresince hastalık vakalarından yapılan izolasyonlarda stafilokokun üreyeceği genel besiyerleri de kullanılmasına rağmen stafilokok enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Ancak bu iki kromojenik besiyerinde laboratuvarlarda yapılan çalışmalarda stafilokokların çok baskın ve yoğun bir şekilde ürediği bildirilmektedir [269].

Mikrobiyolojide son zamanlarda organizmaların tanımlanmasında fenotipik ve genetik özellikler temel alınarak çeşitli metotların kombinasyonları kullanılmaktadır. Klasik bakteriyel taksonomi, morfoloji, beslenme, fizyoloji ve habitat gibi parametrelere dayanmakla birlikte, endospor, flagella gibi morfolojik karakterlerin varlığı da mikroorganizmaların klasifiye edilmesine yardımcı olmaktadır. Farklı boyama yöntemlerinin kullanılması da (Gram boyama, asit-fast boyama gibi) bakterilerin hücre duvarının kimyasal yapısına bağlı olarak tanımlanmak istenen mikroorganizmaya dair hızlı bilgi edinilmesini sağlamaktadır. Biyokimyasal testler, günümüzde çeşitli ticari kitler ile kolaylıkla uygulanabilmekte olup, bakterilerin spesifik kültür koşullarındaki enzimatik aktivitelerine bağlı olarak sonuç vermektedir. Moleküler taksonomi ise organizmaların genomik DNA'larına bağlı olarak geliştirilen çeşitli tekniklerle gerçekleştirilmektedir [357].

rRNA gen dizilemesi bakteri ve mantar türlerinin identifikasyonunda genellikle tercih edilen bir yöntem olmakla birlikte özel cihazlar ve laboratuvar altyapısı ile bu konuda özel eğitilmiş kişilere ihtiyaç sağlamaktadır. Son 20 yıldır başarılı diağnoz sağlamasına rağmen rutin uygulamada etkili şekilde kullanılamaması çeşitli zorluklara neden olmaktadır. Bu önemli boşlukları doldurabilecek geçerli, alternatif bir hızlı tanı yöntemi olarak MALDI-TOF MS teknolojisi geliştirilmiştir [358].

Güvenilirliği yüksek olan moleküler yöntemlerle aynı potansiyele sahip, ancak uygulamada daha pratik, hızlı ve ucuz olan MALDI-TOF MS sistemleri teknolojinin daha ulaşılabilir olmasıyla birlikte klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılmaya başlanmıştır [359].

Bu çalışmada MALDI-TOF MS teknolojisini kullanarak identifikasyon yapan VITEK-MS cihazı ile gökkuşağı alabalığından izole edilmiş olan *A. hydrophila*, *L. garvieae*, *P. fluorescens*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri* Türkiye'de ilk kez çalışılmış olup, % 99.9 başarı oranıyla identifiye edilmiştir.

Konvansiyonel mikrobiyolojik tekniklerle MALDI-TOF MS teknolojisinin karşılaştırıldığı birçok çalışmada MALDI-TOF MS'in yakın zamanda geleneksel ve sınırlı tekniklerin yerini alabileceği bildirilmiştir [282;360-362]. Dubois ve diğ., (2012) VITEK-MS teknolojisini klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin tanımlamada denedikleri çalışmalarında, sistemin % 96.2 oranında doğru identifikasyon gerçekleştirdiğini ve veritabanının zenginleştirilmesi ile bu oranın daha da artabileceğini rapor etmişlerdir [363]. Martiny ve diğ. (2012), MALDI-TOF MS teknolojisini enterik hastalıkların teşhisinde laboratuvarlarda rutin olarak

kullanılabileceğini ve özellikle klinik mikrobiyolojide dışkı örneklerinde normal floradan potansiyel patojenleri ayırt etmede oldukça kullanışlı bir araç olduğunu belirtmiştir [282].

Van Veen ve diğ. (2010) Gram (+) ve Gram (-) bakterilerin identifikasyonunda konvansiyonel metotların MALDI-TOF MS sistemiyle karşılaştırıldığında daha yüksek hata oranıyla daha az sayıda tür tanımlamasına olanak sağladığını bildirmiş [285], Kierzkowska ve diğ. (2013) ise Gram (+) anaerobik kokların identifikasyonunda tür seviyesinde kesin teşhisin sadece MALDI TOF MS ile gerçekleştirilebildiğini belirtmiştir [364]. Sala-Comorera ve diğ. (2016) aynı bakteriye ait farklı mevsimlerde farklı su kaynaklarından izole edilen 300 adet suşun tanımlanmasında MALDI-TOF MS sisteminin API identifikasyon kitleri ve 16s rRNA gen sekanslaması ile karşılaştırıldığında daha güvenilir bulunduğunu bildirmiştir [365].

Lopez-Fabal ve diğ. (2015), *Streptococcus pneumoniae* (43 adet), *Moraxella catarrhalis* (44 adet) ve *Haemophilus influenzae* (64 adet) türlerinin identifikasyonunda MALDI-TOF MS VITEK ile fenotipik metotların karşılaştırmasını yapmış, sonuçları da 16s rRNA gen dizilemesi ile kıyaslamışlardır. Çalışma sonucunda biyokimyasal ve otomatik identifikasyon sistemlerinin % 75 oranında doğru identifiye ederken MALDI-TOF MS VITEK ile *S. pneumoniae*'nin % 86, *H. influenzae*'nin % 79, *M. catarrhalis*'in ise % 100 oranında identifiye edilebildiği, kütle spektrometrisinin bakterilerin identifikasyonunda daha hızlı ve konvansiyonel metotlara göre daha güvenilir olduğunu bildirmişlerdir [366].

Moon ve diğ., (2013) klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak izole edilen Gram pozitif koklardan 424 suşun VITEK MS, 16s rRNA ve geleneksel yöntemler ile identifikasyonunu karşılaştırmış, VITEK MS sisteminin tür seviyesinde % 97.9 oranında doğru tanımlama yaptığını belirtmiştir [367]. Wieser ve diğ. (2012) ise tek bir MALDI-TOF MS sistemi ile Gram pozitif ve Gram negatif bakteri ile maya türlerinin biyokimyasal testlere ihtiyaç duyulmadan identifiye edilebileceği avantajına dikkat çekmiştir [300].

Çalışma süresince MALDI-TOF MS teknolojisi ile VITEK-MS kullanarak ve 16S rRNA gen sekanslaması ile identifiye edilen bakteriyel balık patojenlerinin karşılaştırılması Tablo 5.6'da sunulmuştur. VITEK-MS ile moleküler tanımlamanın benzer sonuçlar verdiği ve MALDI-TOF MS teknolojisinin balık patojenlerinin tanımlanmasında kullanılabileceği belirlenmiştir.

Tablo 5.6: Bakteriyel balık patojenlerinin VITEK MS (MALDI-TOF MS) ve 16s rRNA gen sekanslarına göre identifikasyon yüzdelerinin karşılaştırılması.

| NUMUNE KODU | VITEK MS (%) | 16s rRNA gen sekanslarına göre identifikasyon (%) | İDENTİFİKASYON SONUCU |
|-------------|--------------|---|--------------------------------|
| CAH1 | 99.9 | 100 | <i>Aeromonas hydrophila</i> |
| EAH1 | 99.9 | 100 | <i>Aeromonas hydrophila</i> |
| ALG4 | 99.9 | 100 | <i>Lactococcus garvieae</i> |
| GLG1 | 99.9 | 100 | <i>Lactococcus garvieae</i> |
| ILG1 | 99.9 | 100 | <i>Lactococcus garvieae</i> |
| CPF1 | 99.9 | 100 | <i>Pseudomonas fluorescens</i> |
| CPF2 | 99.9 | 100 | <i>Pseudomonas fluorescens</i> |
| AVA1 | 99.9 | 100 | <i>Vibrio anguillarum</i> |
| BVA1 | 99.9 | 100 | <i>Vibrio anguillarum</i> |
| EVA1 | 99.9 | 100 | <i>Vibrio anguillarum</i> |
| AYR1 | 99.9 | 100 | <i>Yersinia ruckeri</i> |
| BYR1 | 99.9 | 100 | <i>Yersinia ruckeri</i> |
| FYR1 | 99.9 | 100 | <i>Yersinia ruckeri</i> |

Bu çalışma ile VITEK MS sistemi kullanılarak bakteriyel balık patojenlerinin identifikasyonun mümkün olduğu belirlenmiştir. Diğer yöntemlere göre daha hızlı ve güvenilir olarak bildirilen MALDI-TOF MS teknolojisi ile hastalık etkenleri daha çabuk teşhis edilebilecek, böylelikle özellikle akut vakalarda hızlıca tedaviye gidilebilecektir. Ayrıca son yıllarda bakterilerin kültürü yapılmadan direkt olarak hastalık etkenini içeren karışık kültür örneklerinden (vücut sıvıları, kan, idrar) identifikasyonun gerçekleştirilebilmesi amacıyla protokoller geliştirilmektedir [368]. Patojen mikroorganizmaların tanımlanmasında klasik mikrobiyolojik yöntemlere hızlı ve güvenilir bir alternatif olarak kullanılan spektroskopik yöntemler kütle ve titreşimsel spektroskopiler olarak ikiye ayrılmakta ve tüm dünyada farklı çalışmalarda kullanılmaktadır. En çok tercih edilen kütle spektroskopisi olan VITEK MS hızlı, pratik ve güvenilir sonuç vermesinin yanı sıra, pahalı olması ve geniş çalışma alanına ihtiyaç duyması dolayısıyla birçok laboratuvar tarafından değerlendirilememektedir [369]. Titreşimsel spektroskopiler ise kütle spektroskopilerine benzer olarak pratik uygulama alanı sunmakta, çalışılan kültürün kimyasal kompozisyonuna bağlı olarak sonuç vermektedir. Dipol moment değişimine bağlı olarak absorpsiyon spektrumu veren FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) ile mikroorganizmaların identifikasyonuna yönelik farklı çalışmalar gerçekleştirilmiş ve tanımlamaya uygun alternatif bir metot olarak önerilmiştir [369-373]. IR spektroskopisinden farklı olarak polarite değişimine bağlı

saçılma spektrumu elde edilen Raman spektroskopisinde ise suyun spektruma girişinin az olması birçok avantaj sağlamaktadır. Biyolojik örneklerin değerlendirilmesi ve sulu çözeltilerden de ölçüm alınabilmesi mikroorganizmaların identifikasyonunda kolaylık sağlayarak FTIR'a göre Raman spektroskopisini avantajlı kılmaktadır [373;374].

Yöntemin, bakteri hücrelerinin spektrumlarının belirlenmesiyle birkaç dakika içerisinde yüksek seçicilik sağlayarak sonuç vermesi diğer metotlara göre en büyük avantajıdır. Özellikle bakterilerin kültür ortamından veya kültür ortamında üretilmeden de tanımlanabiliyor olması zamandan büyük tasarruf sağlayarak birçok avantajı da beraberinde getirmektedir. Yöntem bu avantajlarıyla birçok farklı alanda ve konuda çalışma imkanı sunmaktadır. Ayrıca Raman spektroskopisi ile spektrumları belirlenen örneklerin farklı analizler için tekrar kullanılabilir olması da yöntemin bir diğer avantajıdır [375].

Bu çalışmada *A. hydrophila*, *L. garvieae*, *P. fluorescens*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri* olmak üzere 5 farklı bakteriyel balık patojeninin Raman spektrumları belirlenerek metodun bakteriyel balık patojenlerinde uygulanabilirliğini değerlendirmek ve spektrumlara ait bilgi elde etmek amaçlanmıştır ve Raman spektroskopisinin bakteriyel balık patojenlerinin identifikasyonunda kullanılabilirliği belirlenmiştir. Bakterilerin polisakkarit, nükleik asit, aminoasit ve yağ asitlerinin bulunduğu band bölgelerinde gözlenen farklılıkların identifikasyonda ayırt edici nitelikler olacağı düşünülmektedir.

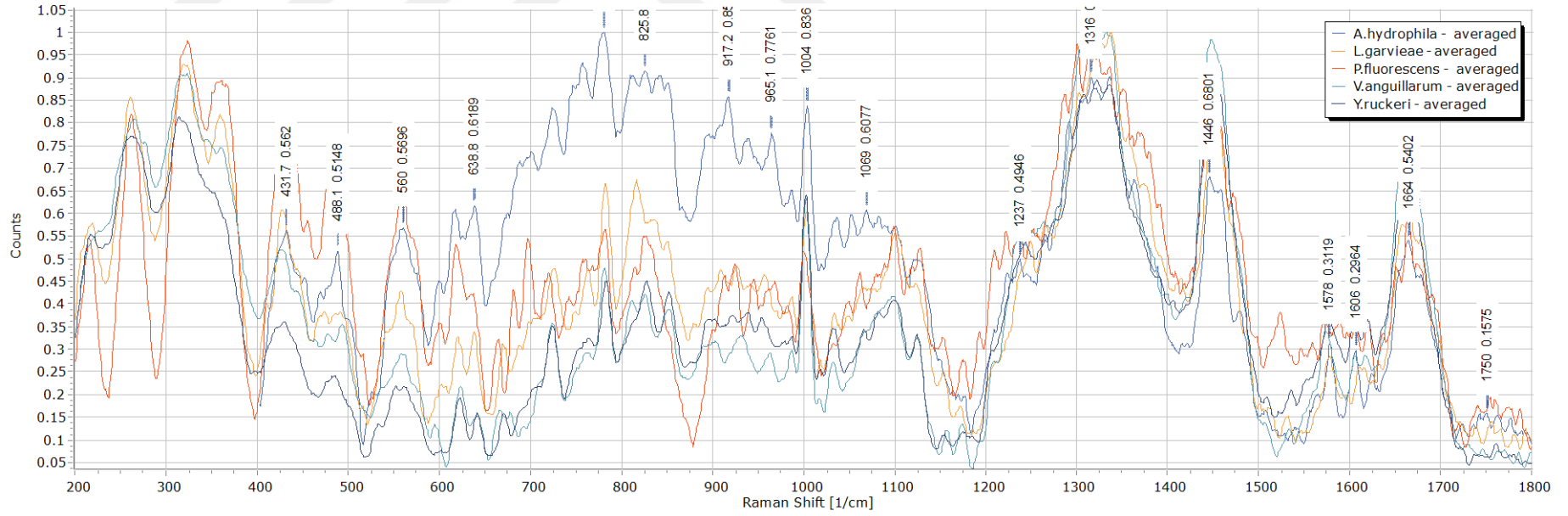
Gram (-) bakteriler olan *A. hydrophila*, *P. fluorescens*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri* patojenlerinde polisakkaritler *A. hydrophila* suşlarında 552 ve 560 cm⁻¹ şiddetlerinde, *P. fluorescens* suşlarında 425 ile 698 cm⁻¹ arasındaki piklerde, *V. anguillarum* suşlarında 313 ile 666 cm⁻¹ arasındaki piklerde, *Y. ruckeri*'de ise 313 ile 641 cm⁻¹ şiddetleri arasında değerler göstermişlerdir. Nükleik asitler *A. hydrophila* suşlarında 777 ve 852 cm⁻¹ arasında, *P. fluorescens* suşlarında 776 ve 925 cm⁻¹ arasında, *V. anguillarum* suşlarında 723 ve 934 cm⁻¹ arasında, *Y. ruckeri* suşlarında ise 723 ve 952 cm⁻¹ arasında anlamlı pikler belirlenmiştir. Aminoasitler Gram (-) bakteriyel balık patojenlerinde benzer spektrum aralıklarında tespit edilmiş olup, *A. hydrophila* suşlarında 1004 ile 1080 cm⁻¹ arasında, *P. fluorescens* suşlarında 1004, 1098 ve 1100 piklerinde, *V. anguillarum* suşlarında 1002 ve 1352 cm⁻¹ arasında, *Y. ruckeri* suşlarında ise 1002 ile 1343 cm⁻¹ arasında anlamlı pikler ile tespit edilmiştir. Yağ asitleri *A. hydrophila* suşlarında 1445 ile 1667 cm⁻¹ arasında,

P. fluorescens suşlarında 1445 ile 1665 cm⁻¹ arasında, *V. anguillarum* suşlarında 1443 ile 1666 cm⁻¹ arasında, *Y. ruckeri* suşlarında ise 1445 ile 1760 cm⁻¹ arasında anlamlı pikler ile belirlenmiştir (Şekil 5.7). Özellikle *P. fluorescens* suşlarında dikkat çeken dalga boylarındaki titreşimlerde meydana gelen karışımlar, bakterinin flüoresan ışığa özelliğinden kaynaklandığı, Raman spektrumlarının belirlenmesinde de en önemli dezavantajlardan biri olduğu bildirilmiştir [357;376].

Sil ve diğ. (2017) bir başka Gram (-) bakteri olan *Escherichia coli* (*E. coli*)'nin Raman spektroskopisi ile tespiti ve sınıflandırılmasını gerçekleştirdiği çalışmasında Raman piklerinin 622 ve 643 cm⁻¹ çevresinde aminoasitlere, 724 ve 783 cm⁻¹ çevresinde bakteri DNA'sının purin ve pirimidin bazlarına (720 cm⁻¹'de adenin, 783 cm⁻¹ çevresinde timin ve sitozin), en güçlü Raman piklerinin gözlemlendiği ve *E. coli* için karakteristik olduğu belirtilen 1004, 1034 ve 1668 cm⁻¹ piklerinde proteinlere, 1094 cm⁻¹ band bölgesi ve çevresinde ise karbonhidratlara ait bölgelerin belirlendiği bildirilmiştir [377]. Goeller ve Riley (2007) benzer şekilde *E. coli* ve iki farklı bakteriyofajının Raman spektroskopisi ile karakteristik piklerini belirledikleri çalışmalarında *E. coli*'de anlamlı piklerin 1449 cm⁻¹'de karbonhidratlar, 1002, 1128 ve 1320 cm⁻¹'de proteinler, 1301 cm⁻¹'de lipitler ile lokalize olduklarını tespit etmiş, MS2 ve PRD1 bakteriyofajlarında ise 1249 ve 1607 cm⁻¹ çevresinde güçlü pikler ile protein sinyalleri belirlemişlerdir [378]. Protein içeriğinin birden fazla noktada gözlenmesinin *E. coli*'nin yaklaşık % 55 oranında protein içeriğine sahip olmasıyla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Strola ve diğ. (2014) *Bacillus subtilis* ve *E. coli* suşlarının Raman spektrumlarında genel olarak 784, 1001, 1170, 1242, 1338, 1445, 1573, 1605, 1655 ve 2925 cm⁻¹ pikleri ile temel hücre bileşenleri olan protein, lipid ve nükleik asitlerin görüldüğünü bildirmişlerdir. Özellikle 1655 cm⁻¹ çevresinde çeşitli protein bantlarının görüldüğü, DNA bantlarının ise 1573 cm⁻¹ çevresinde guanin ve adenin ile temsil edildiğini belirtmişlerdir [314]. Strola ve diğ. (2013) *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus epidermidis*'in 1320-1340 cm⁻¹ bölgesinde DNA titreşimleri, 1650-1680 cm⁻¹ arasında çeşitli proteinlerin, 1440-1460 cm⁻¹ arasında çeşitli yağların, 1605-1615 cm⁻¹ arasında aminoasit zincirlerinin ve 1040-1100 cm⁻¹ arasında da karbonhidrat sinyallerinin dağılım gösterdiği Raman spektralarını belirlemişlerdir [379].

Gram (+) streptokok türü olan *L. garvieae* suşlarında polisakkaritler 323 ile 567 cm⁻¹ arasında, nükleik asitler 724 ve 952 cm⁻¹ arasında, aminoasitler 1002 ve 1328 cm⁻¹ arasında, yağ asitleri ise 1455 ile 1795 cm⁻¹ arasında tespit edilen piklerle

tanımlanmıştır. Harz ve diğ. (2005) farklı stafilokok suşlarının farklı kültür koşulları altında Raman spektrumlarını belirledikleri çalışmalarında en anlamlı piklerin 1001 cm^{-1} ile aminoasit olan fenilalanin, 778 cm^{-1} ile sitozin ve urasilin gözleendiği bölgelerde tespit edildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca suşların farklı sıcaklıklarda (30 °C ve 37 °C) ve farklı besiyerleri kullanılarak (CASO-agar ve CA-agar) kültüre edilmesi sonucu elde edilen Raman piklerinin de eşit olduğunu tespit etmişler, böylelikle 778 cm^{-1} bandının karakteristik olduğu sonucuna varmışlardır. Stafilokok suşlarının 6 ve 72 saatlik kültürlerinin Raman spektrumlarının karşılaştırılmasında ise neredeyse aynı bantların elde edildiğini, ancak 1575 cm^{-1} bölgesinde kültür saatine bağlı olarak iniş ve çıkışlar olduğunu belirtmişlerdir [380]. Wang ve diğ. (2016) süttten izole ettikleri *Lactococcus lactis*'in ampisilin ve siprofloksasine karşı gösterdiği etkiyi Raman spektroskopisiyle belirlemiş, antibiyotik uygulanmasından 30 dakika sonra hücrelerin biyokimyasal içeriklerinde herhangi bir değişiklik görülmezken, 60 ve 90 dakikalarda ciddi spektral değişimler olduğu gözlenmiştir [309]. Gökkuşuğı alabalığı yetiştiriciliğinde birçok çiftlikte yaygın olarak izole edilen ve geliştirdiği antibiyotik direnci ile mücadelede ciddi problemler yaşanan Bu çalışma ile *L. garvieae*'nin Raman spektroskopisi'nde tanımlayıcı piklerinin belirlenmesinin, antibiyotik direncinin hızlı ve güvenilir şekilde belirlenebilmesinde referans veri olması beklenmektedir.



Şekil 5.7: *A. hydrophila*, *L. garvieae*, *P. fluorescens*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri* suşlarının Raman spektroskopisi ortalama değerleri.

Bu araştırma bakterilerin identifikasyonu için oluşturulacak veritabanına yönelik ilk çalışmadır. Bakteriyel hücrelerin Raman spektrumları zengin bir bilgi kaynağı olmasının yanı sıra, oldukça komplekstir. Birçok avantajının yanı sıra bakteri örneklerinden identifikasyonun gerçekleştirilebilmesi için veri tabanına ihtiyaç duyulması da metodun gerekliliğidir. Ayrıca bakteriyel hücre bileşenlerinin ayrıntılı olarak analiz edilebilmesi için geliştirilmiş yaklaşımların çalışılması gerekmektedir.

Raman spektroskopisi ile bakteriyel hücre bileşenlerinin tespitinde, hücre kompozisyonunun doğru şekilde belirlenebilmesi, kültür koşullarıyla yakından ilişkilidir [357]. Bu nedenle çalışma süresince her bir denemede aynı bakterilerin farklı suşlarıyla çalışılmış, güvenilir Raman piklerinin elde edilebilmesi için bakteriler aynı koşullarda kültüre alınarak çalışılmıştır. Kültür koşullarından oluşabilecek farklılıkların sonuçlara olan etkilerinin belirlenebilmesi için de istatistiksel olarak karşılaştırmalar yapılmıştır.

Raman spektroskopisi ile tanımlanmış bakterilerin analize hazırlanması, üreme fazı, üreme sıcaklığı, üreme süresi gibi parametrelerin elde edilen spektrumlara etki edebileceği bildirilmiştir ve metodun kesinleştirilebilmesi için halen tartışmalar sürmektedir [375]. Ancak bakterilerin kültürü ve analize hazırlanmasının diğer metotlarda uygulandığı gibi uygun ve stabil koşullarda gerçekleştirilmesi durumunda analiz sonuçlarının güvenilir olacağı düşünülmektedir [375;381-384].

Veritabanı için yeterli veri elde edildiğinde Raman spektroskopisi ile istatistiksel modellerin bir arada kullanılacağı bir klasifikasyon modelinin oluşturulabileceği bildirilmiştir [375]. Modelin güvenilirliğinin sağlanması ve bilinmeyen örneklerin identifikasyonunun yapılabilmesi için aynı türe ait örneklerin farklı suşlarının da veritabanında tanımlanması oldukça önemlidir. Bu doğrultuda bakteriyel balık patojenlerinin Raman spektroskopisiyle identifikasyonunun doğru, hızlı ve güvenilir şekilde gerçekleştirilebilmesi için farklı bölgelerden izole edilen suşlardan bir veritabanı için çalışmalar yapılması önerilmektedir. İlerleyen aşamalarda Raman spektroskopisi ile direk identifikasyonun sağlanabilmesi, gerek az miktarda örnek ile ölçüm alınabilmesi, gerekse örneklerin analize hazırlanmadan önce kısa ön işleme ihtiyaç duyması bakteriyel balık hastalıklarının hızlı identifikasyonunda önemli bir adım olacaktır. Ayrıca bakteriyel balık hastalıklarının izlenmesi ve rutin kontrollerde de yeni bir yöntem olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir.

Cam ve diğ. (2010) bakteriyel karışımda surface enhanced Raman spektroskopisi (SERS)'in kullanılabilirliğini araştırdıkları çalışmalarında birbiriyle bağlantılı 3

bakteri cinsini içeren (*Shigella sonnei*, *Erwinia amylovora* ve *Proteus vulgaris*) karışımında bakterilerin başarılı şekilde ayrı ayrı identifiye edilebildiğini bildirmişlerdir [385]. Gökkuşığı alabalıklarında yaygın olarak görülen *V. anguillarum* ve *L. garvieae*'den kaynaklanan mix enfeksiyonlar kültür balıkçılığında kayıplara neden olmaktadır [341]. Bununla beraber farklı bakteriyel etkenlerin oluşturduğu mix enfeksiyonlarla son yıllarda daha çok karşılaşılmakta, bu enfeksiyonlardan hastalık etkenlerinin izolasyon ve identifikasyonu zor olmaktadır. Bakteri spektrumlarının Raman spektroskopisi ile belirlenmesiyle de mix-enfeksiyonların da teşhisinde kolaylık sağlanacağı düşünülmektedir.

Günümüzde klinik mikrobiyolojide Raman spektroskopisi ile bakteri identifikasyonu amacıyla ticari olarak geliştirilmekte olan bazı ürünler bulunmakla birlikte (BioParticle Explorer, rapID, Germany; SpectraCell RA, RiverD, the Netherlands), hızlı, kolay ve güvenilir teşhis imkanı sunduğundan önümüzdeki yıllarda bakteri tanımlamada yaygın şekilde kullanılıyor olacağı ön görülmektedir [375].

Bakteriyel balık patojenlerinin güvenli ve hızlı identifikasyonu doğru tedavinin zamanında belirlenip uygulanabilmesi için oldukça önemli olup, diğer akuatik canlılar ve insan sağlığı ile de ilişkilidir [386]. Wang ve diğ. (2007) enfekte balıkların tüketiminin insanlarda gastrointestinal hastalıklara neden olduğunu bildirmiş [178], Maquelin ve diğ. (2002) gıda zehirlenmesine neden olan bu mikroorganizmaların ve endosporlarının identifiye edilmesinin, tedavi ve hastalıklarla kontrol açısından oldukça önemli olduğunu vurgulamıştır [387]. Bu çalışmada izole edilen bakteriyel balık patojenlerinden biri olan *A. hydrophila* suda, toprakta ve sağlıklı balığın sindirim sisteminde bulunan fırsatçı bir patojen olup, zoonotik hastalıklara ve gıda kaynaklı enfeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir [7;388-392]. Balıklarda septisemi ve ülseratif lezyonlara neden olan *P. fluorescens*'in insanlarda kontamine ekipman kullanımına bağlı olarak bakteriyemiye [30;338], balıklarda enterik kızılğaz hastalığı etkeni olan *Y. ruckeri*'nin ise nadir vakalarda da olsa insanlarda klinik vakalara sebep olabileceği rapor edilmiştir [345]. Mezofilik bir bakteri olan ve gökkuşığı alabalığında sıklıkla görülen laktokokkozis etkeni *L. garvieae* ise zoonoz ve oportünist karaktere sahiptir [15;178]. İnsanlarda neden olduğu ilk enfeksiyon 1991 yılında bildirilmiş [172], ardından birçok araştırmacı tarafından endokardit [173;174], karaciğer absesi [175], osteomyelit [176], spondilit [177] ve ikincil peritonit [178] etkeni olarak izole edildiği bildirilmiştir. Raman spektroskopisi son yıllarda medikal ve gıda kaynaklı patojen mikroorganizmaların

hızlı ve güvenilir teşhisinde kullanılmaya başlanmış, özellikle vücut sıvıları ve gıdadan patojenlerin direkt olarak belirlenebilmesi konusunda sağladığı avantajla gelecek vaad eden bir yöntem olduğu birçok çalışmada belirtilmiştir [309;311;375;380;393]. Bu patojenler akuakültür sektöründe ciddi ekonomik kayıplara neden olmalarının yanı sıra toplum sağlığı için de zoonoz olmaları nedeniyle risk oluşturmaktadır. Bu sebepten etkenlerin hızlı ve güvenilir şekilde teşhis edilebilmesi uygun kontrol ve tedavi yöntemlerinin hızlı şekilde belirlenebilmesi açısından büyük önem arz etmektedir. Raman spektroskopisinin balıklarda zoonoz olan bu bakteriyel patojenlerin teşhisinde de etkili şekilde kullanılabileceği düşünülmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Su ürünleri yetiştiricilik sektörünün sürdürülebilirliği açısından balık hastalıkları başarıyı etkileyen en önemli faktördür. Hastalık etkenlerinin hızlı teşhis edilerek tanımlanması, erken ve etkili tedavi sağlanacağından ekonomik kayıpların önüne geçilebilmesi açısından oldukça önemlidir. Bakterilerin kültür ve identifikasyonunda biyokimyasal yöntemler 5 gün, moleküler yöntemlerle tanımlama ise kimi zaman 20 güne varan sürelerle gerçekleştirilmekte, bu durum etken patojenlerin hızlı teşhis edilebilmesi için alternatif yöntemlere olan ihtiyacı göstermektedir. Ayrıca moleküler tanımlamada uzman kişilere ve spesifik laboratuvarlara ihtiyaç duyulması da hastalıklara hızlı müdahalede karşılaşılan problemlerdir. Raman spektroskopisi kullanılarak bakteriyel balık patojenlerinin tanımlanması durumunda, identifikasyon süresi birkaç dakikaya düşmekle birlikte patojenlere özgü parmak izi niteliğinde biyokimyasal karakterleri temel alınarak elde edilecek olan analiz sonuçları yüksek oranda kesinlik içerecektir. Bu yöntem ile vücut sıvıları veya organlardan direk identifikasyonla ilgili çalışmaların yapılması gerekmekte, ancak direk tanımlama yapılabilmesi için aynı tür bakteriye ait çok sayıda spektrumun, farklı bakteriyel patojenlere ait spektrumların, ülke içerisinde farklı lokasyonlardan izole edilecek bakterilere ait spektrumların ve farklı ülkelerden temin edilecek farklı patojenlere ait spektrumların elde edilerek bir veri bankası oluşturulması ve bir identifikasyon yazılımına ihtiyaç duyulmaktadır. Böylelikle, etken patojenlerin teşhisi kısa sürede yüksek doğruluk oranıyla gerçekleştirilebilecektir.

Çalışmada gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğinde akut hastalık vakalarından izole edilen bakteriyel patojenlere ait Raman spektrumları ilk kez belirlenmiş olup, hızlı identifikasyon için gerek metodolojinin gerekse elde edilen spektrumların bu alandaki çalışmalar için öncü nitelikte olacağı düşünülmektedir. Raman spektroskopisi kullanılarak rutin identifikasyonun gerçekleştirilebilmesi durumunda, hızlı ve kesin teşhise bağlı olarak etkin tedavi, uygun antibiyotik kullanımına bağlı olarak patojenlerde direnç mekanizmalarının önüne geçilebilmesi ve mortalite oranlarının düşürülmesi ile balık hastalıklarına bağlı ekonomik kayıplar önlenecek ve

su ürünleri sektörüne büyük oranda katkı sağlanmış olacaktır. Ayrıca bakteriyel balık patojenlerinin izolasyonunda bu çalışma ile önerilen kromojenik besiyerlerinin kullanımı ile *V. anguillarum* ve *L. garvieae*'nin hızlı ön tanısı mümkün olacaktır.

Sonuç olarak; bu çalışmada gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliğinde ciddi ekonomik kayıplara sebep olan bakteriyel balık patojenlerinin kromojenik besiyerlerinde üreme performansları belirlenmiştir. Ayrıca bakteriyel balık patojenlerinin tanımlanmasında MALDI-TOF MS teknolojisine sahip VITEK MS ilk kez denenerek rutin kullanıma uygun bulunmuş, patojenlerin Raman spektroskopisinde belirgin anlamlı pikleri ilk kez tanımlanmıştır. Daha önce bakteriyel balık patojenlerinin tanımlanmasında kullanılmamış olan bu yeni kütle ve titreşimsel spektroskopik metotların, rutin olarak kullanılmakta olan biyokimyasal ve moleküler yöntemlere alternatif olarak kullanılabileceği ortaya konmaya çalışılmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Assefa, A., & Abunna, F. (2018). Maintenance of fish health in aquaculture: review of epidemiological approaches for prevention and control of Infectious disease of fish. *Veterinary Medicine International*, vol. 2018, Article ID 5432497, 10 pages, <https://doi.org/10.1155/2018/5432497>.
- [2] Austin, B., & Austin, D. A. (2007). *Bacterial Fish Pathogens* (p. 652). Heidelberg: Springer.
- [3] Varadi, L., Luo, J. L., Hibbs, D. E., Perry, J. D., Anderson, R. J., Orenge, S., & Groundwater, P. W. (2017). Methods for the detection and identification of pathogenic bacteria: past, present, and future. *Chemical Society Reviews*, 46(16), 4818-4832.
- [4] Buller, N. B. (2004) *Bacteria From Fish and Other Aquatic Animals: A Practical Identification Manual*. CABI Publishing, Wall-ingford, UK.
- [5] Popović, N. T., Kazazić, S. P., Strunjak-Perović, I., & Čož-Rakovac, R. (2017). Differentiation of environmental aquatic bacterial isolates by MALDI-TOF MS. *Environmental Research*, 152(2017), 7-16.
- [6] Miguel Gomez, M. A., Bratos Perez, M. A., Martin Gil, F. J., Duenas Diez, A., Martin Rodriguez, J. F., Gutierrez Rodriguez, P., Domingo, A. O., & Torres, A. R. (2003). Identification of species of Brucella using Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Microbiological Methods*, 55(2003), 121–131.
- [7] Laith, A. R., & Najiah, M. (2013). *Aeromonas hydrophila*: antimicrobial susceptibility and histopathology of isolates from diseased catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). *Journal of Aquaculture Research and Development*, 5, 215. DOI: 10.4172/2155-9546.1000215.
- [8] Cipriano, R. C., & Bullock, G. L. (2001). Furunculosis and other diseases caused by *Aeromonas salmonicida*. National Fish Health Research Laboratory, Fish Disease Leaflet 2001;66:1-32.
- [9] Hazen, T.C., Raker, M.L., Esch, G.W., & Fliermans, C.B. (1978). Ultrastructure of red-sore lesions on largemouth bass (*Micropterus salmoides*) association of the ciliate *Epistylis* sp. and the bacterium *Aeromonas hydrophila*. *J. Protozool.*, 25: 351-355.
- [10] Roberts, R.J. (2001), Miscellaneous non-infectious diseases R.J. Roberts (Ed.), *Fish Pathology*, WB Saunders, London (2001), pp. 367-379
- [11] Munro, A. L. S., & Hastings, T. S. (1993). Furunculosis. In *Bacterial Diseases of Fish* (V. Inglis, R. J. Roberts & N. R. Bromage, eds) pp. 122–142. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- [12] Noga, E.J. (2000). *Fish Diseases: Diagnosis and Treatment*. Iowa State University Press, pp.367, Ames.
- [13] Kusuda, R., & Salati, F. (1999). *Enterococcus seriolicida* and *Streptococcus iniae*. In (eds. Woo, PTK, Bruno, D.W.) *Fish Diseases and Disorders*, vol:3, Viral, Bacterial and Fungal infections. CABI Publishing, 303-317pp.
- [14] Hoshina, T. (1958). A Streptococcus pathogenic to fish. *J. Tokyo Univ. Fish.*, 44, 57-68.
- [15] Schleifer K. H., Kraus, J., Dvorak, C., Kilpper-Balz, R., Collins, M. D., & Fischer, W. (1985). Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus Lactococcus gen nov. *Syst Appl Microbiol*, 6:183–95.

- [16] Collins, M. D., Farrow, J. A., Phillips, B. A., Ferusu, S., & Jones, D. (1987). Classification of *Lactococcus divergens*, *Lactococcus piscicola*, and some catalase negative, asporogenous, rod-shaped bacteria from poultry in a new genus, *Carnobacterium*. *Int J Syst Bacteriol*, 37:310–6.
- [17] Wallbanks, S., Martinez-Murcia, A. J., Fryer, J. L., Phillips, B. A., & Collins, M. D. (1990). 16S rRNA sequence determination for members of the genus *Carnobacterium* and related lactic acid bacteria and description of *Vagococcus salmoninarum* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol*, 40:224–30.
- [18] Michel, C., Nougayrede, P., Eldar, A., Sochon, E., & de Kinkelin, P. (1997). *Vagococcus salmoninarum*, a bacterium of pathological significance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farming. *Dis Aquat Org.*, 30:189–208.
- [19] Vendrell, D., Balcázar, J. L., Ruiz-Zarzuela, I., De Blas, I., Gironés, O., & Múzquiz, J. L. (2006). *Lactococcus garvieae* in fish: a review. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 29(4), 177-198.
- [20] Eldar, A., & Ghittino, C. (1999). *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): similar but different diseases. *Dis Aquat Org*, 36:227–31.
- [21] Austin, B., Austin, D., Sutherland, R., Thompson, F., & Swings, J. (2005). Pathogenicity of vibrios to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) and *Artemia nauplii*. *Environmental Microbiology*, 7 (9): 1488-1495.
- [22] Angelini, N. M., Seigneur, G. N. (1987). Disease of the fins of *Rhamdia sapo*. Isolation of the etiological agents and experimental infection. *Revista Argentina de Microbiologia*, 20 (1): 37-48.
- [23] Roberts, R. J. (1989). Nutritional pathology of teleosts in *Fish pathology*. London: Bailliere Tindall, 337, 62.
- [24] Mohammed, K. A. (2017). *Investigation for zoonotic disease pathogens (Aeromonas hydrophila, Pseudomonas fluorescens, Streptococcus iniae) seen in carp farms in Duhok region of northern Iraq by molecular methods* (M.Sc. Thesis). Yuzuncu Yil University / Institute of Natural And Applied Sciences Department Of Aquaculture Engineering.
- [25] Ibraheem, A.S. (2017). *Investigation of zoonotic disease pathogen (Aeromonas hydrophila, Pseudomonas fluorescens, Streptococcus iniae) seen in carp farms in the Northern Iraq-Erbil region by molecular methods* (M.Sc. Thesis). Yuzuncu Yil University / Institute of Natural And Applied Sciences Department Of Aquaculture Engineering.
- [26] Richards, R. H., & Roberts, R. J. (1978). The bacteriology of teleosts. *Fish pathology*, Bailliere-Tindall. London, 183-204.
- [27] Somsiri, T., & Soontornvit, S. (2002). Bacterial diseases of cultured tiger frog (*Rana tigrina*). In C.R. Lavilla-Pitogo and E. R. Cruz-Lacierda (eds.), *Diseases in Asian Aquaculture IV*, Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila.
- [28] Schäperclaus, W. (1979) *Fischkrankheiten*. Berlin, Akademie Verlag.
- [29] Allen, D. A., Austin, B., & Colwell, R. R. (1983a) *Aeromonas media*, a new species isolated from river water. *Int J Syst Bacteriol* 33:599-604.
- [30] Scales, B. S., Dickson, R. P., LiPuma, J. J., & 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.

- [31] Actis, L. A., Tolmasky, M. E., Crosa, J. H. (1999). Vibriosis, Whoo PTK, Bruno DW (eds), *Fish Diseases and Disorders*, CABI Publishing, pp: 523-558, London.
- [32] Egidius, M. (1987) Vibriosis: pathogenicity and pathology. A review, *Aquaculture*, 67: 15-28.
- [33] Olsson, J. C., Joborn, A., Westerdahl, A., Blomberg, L., Kjelleberg, S., & Conway, P. L. (1998) Survival, persistence and proliferation of *Vibrio anguillarum* in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), intestine and faeces, *Journal of Fish Diseases*, 21: 1-10.
- [34] Toranzo, A. E., Magariños, B., & Romalde, J. L. (2005). A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. *Aquaculture*, 246(1-4), 37-61.
- [35] MacDonell, M. T., & Colwell, R. R. (1985). Phylogeny of the Vibrionaceae, and recommendation for two new genera, Listonella and Shewanella. *Systematic and Applied Microbiology*, 6(2), 171-182.
- [36] Hickey, M. E., Lee, J. L. (2017). A comprehensive review of *Vibrio (Listonella) anguillarum*: ecology, pathology and prevention. *Rev Aquacult*, 2017; (Feb):1-26.
- [37] Pedersen, K., Grisez, L., Houdt, V. R., Tiainen, T., Ollevier, F., & Larsen, J. L. (1999) Extended serotyping schema for *Vibrio anguillarum* with the definition and characterization of seven provisional O-Serogroups, *Current Microbiology*, 38: 183-189.
- [38] Tanrikul, T. T. (2007). Vibriosis as an epizootic disease of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10: 1733-1737.
- [39] Bullock, G. (1987). Vibriosis in Fish. *Fish Disease Leaflet 77*. US Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Division of Fisheries and Wetlands Research, Washington, D.C. 20240.
- [40] Reed, P. A., & Francis-Floyd, R. (1996). *Vibrio infections of fish*. University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Sciences, EDIS.
- [41] Woo, P. T. K., & Bruno, D. W. (Eds.). (1999). *Fish Diseases and Fungal Infections: Viral, Bacterial and Fungal Infections*. CABI Publishing.
- [42] Avcı, H. (2009). *Vibrio anguillarum ile enfekte edilen gökkuşağı alabalıklarında (Oncorhynchus mykiss Walbaum, 1792) morfolojik ve immunohistokimyasal incelemeler* (Doktora tezi). Adnan Menderes Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü Patoloji Anabilim Dalı, Aydın.
- [43] Bercovier, H., & Mollaret H. H. (1984). Genus XIV. Yersinia Van Loghem 1944 15. AL. In: Krieg, N.R. (ed.), *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1. Baltimore, Williams Wilkins, pp. 489-506.
- [44] Tanrikul, T.T. (1994). *Yersinioz hastalığından korunmada aşı uygulamaları ve bu uygulamaların sonuçlarının değerlendirilmesi* (Doktora Tezi). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı, İzmir.
- [45] Cipriano, R. C., & Austin, B. (2011). 12 Furunculosis and Other Aeromonad Diseases. *Fish Diseases and Disorders*, 3, 424.
- [46] McFadden, T.W. (1970). Furunculosis in non-salmonids. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 27: 2365-2370
- [47] Bernoth, E.M. (1977). Diagnosis of furunculosis: The tools. In: E.M. Bernoth, A.E. Ellis, P.J. Midtlyng, G. Oliver and P. Smith (Ed.), *Furunculosis: Multidisciplinary Fish Disease Research*, Academic Press, London: 98- 1158

- [48] Barker, G. A., & Kehoe, E. (1995). Assessment of disc diffusion methods for susceptibility testing of *Aeromonas salmonicida*. *Aquaculture*, 134: 1-8
- [49] Kirkan, S., Goksoy, E.O., & Kaya, O. (2003). Isolation and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas salmonicida* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey hatchery farms. *Journal of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 50(7):339-342.10.1046/j.1439-0450.2003.00671.x
- [50] Timur, G., Karataş, S., Çolak, S., & Akaylı, T. (1999). Gökkuşluğu alabalık yavrularında görülen furunkulozis hastalığı üzerine bir çalışma. *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 461-467.
- [51] Öztürk, R. Ç., & Altınok, İ. (2014). Bacterial and viral fish diseases in Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14(1), 275-297.
- [52] Otte, E. (1963). Die heutigen Ansichten Über die Aetiologie der Infektiosen Bauchwassersucht der Karpfen. *Wien. Tieraertzl. Monatsschr.* 50: 996 - 1005.
- [53] Baran, I., Timur, M., Aydın, N., İstanbulluoğlu, E., & Aydıntuğ, M.K. (1980). Çifteler-Sakaryabaşı balık üretim ve araştırma istasyonunda, alabalıklarda (*Salmo gairdneri*) görülen bakteriyel hemorajik septisemi hastalığı üzerine incelemeler. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 27(1): 467- 473
- [54] Timur, M. (1986). Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio* L.) ve Japon Balıklarında (*Carassius auratus*) Görülen Bakteriyel Hemorajik Septisemi Hastalığı Üzerinde Karşılaştırmalı Bir Araştırma. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Su Ürünleri Dergisi*, 3, 95-105.
- [55] Diler, Ö., & Altun, S. (1995). Gökkuşluğu alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*) hemorajik septisemi etkeni olarak izole edilen bazı *Aeromonas hydrophila* suşlarının biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Su Ürünleri Mühendislik Dergisi*, 4, 169-178.
- [56] Timur, M. (1983). An outbreak of disease of farmed eel (*Anguilla anguilla*) due to *Aeromonas hydrophila* in Turkey. *Histopathological and bacteriological studies. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 30 (3): 361-367.
- [57] Türk, N. (2002). Çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) yavrularından bakteri izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi. *Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 27: 7-14
- [58] Ozturk, D., Adanır, R., & Turutoğlu, H. (2007). Bir sazan (*Cyprinus carpio*) işletmesinde *Aeromonas hydrophila* izolasyonu ve antibiyotik duyarlılığı. *Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu*, Mugla.
- [59] Tel, O.Y., Irgare, G., Karahan, M., & Keskin, O. (2007). Şanlıurfa Balıklıgöl balıklarından *Aeromonas hydrophila* izolasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanması. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 18 (1): 1-4
- [60] Timur, G., Korun, J., & Güvener, R.P. (2003). Lepistes (*Poecilia reticulata*) üretim ünitesindeki anaç ve yavru balıklarda ağır mortalite ile seyreden aeromonad septisemisi üzerine bir çalışma. *Istanbul University Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 15: 1-11.
- [61] Akayli, T., & Zeybek, Z. (2005). Bazı akvaryum balıklarında *Plesiomonas shigelloides* enfeksiyonu üzerinde bir araştırma. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 22 (1-2): 31-34.
- [62] Kusuda, K., Kawai, K., Salati, F., Banner, C. R., & Fryer, J. L. (1991). *Enterococcus seriolicida* sp. nov, a fish pathogen. *Int J Syst Bacteriol* 41:406-409.

- [63] Palacios, M. A., Zamora, M. J., Velazquez, J., Zamora, E., & Duran, A. (1993). Streptococcus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Spain. *Boll Sci Ital Pathol*, 13:11–14.
- [64] Ghittino, C., & Prearo, M. (1992). Report of streptococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Italy: preliminary note. *Soc It Pat01 Ittica Bull*, 8:4-11.
- [65] Bark, S., & McGregor, D. (2001). The first occurrence of Lactococcosis in farmed trout in England. *Trout News*, 9-10.
- [66] Chen, S. C., Liaw, L. L., Su, H. Y., Ko, S. C., Wu, C. Y., Chaung, H. C., Tsai, Y. H., Yang, K. L., Chen, Y. C., Chen, T. H., Lin, G. R., Cheng, S. Y., Lin, Y. D., Lee, J. L., Lai, C. C., Weng, Y. J., & Chu, S. Y. (2002). *Lactococcus garvieae*, a cause of disease in grey mullet, *Mugil cephalus* L., in Taiwan. *Journal of Fish Diseases*, 25(12), 727-732.
- [67] Eynogor, M., Zlotkin, A., Ghittino, C., Prearo, M., Douet, D. G., Chilmonczyk, S., Eldar, A. (2004). Clonality and diversity of the fish pathogen *Lactococcus garvieae* in Mediterranean countries, *Appl. Environ. Microbiol.*, v70, 5132-5137.
- [68] Savvidis, G. K., Anatoliotis, C., Kanaki, Z., & Vafeas G. (2007). Epizootic outbreaks of lactococcosis disease in rainbow trout, *O. mykiss* (Walbaum), culture in Greece. *Bull Eur Ass Fish Pathol.*, 28(5), 223-8.
- [69] Cagirgan, H., & Tanrikul, T. T. (1995). A new problem Enterococcus-like infection in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Turkey. *Vet Kont ve Arast Enst Md Derg C*, 19, 33.
- [70] Diler, Ö., Altun, S., Adilo_lu, A.K., Kubilay, A. & Isikli, B., (2002) First occurrence of Streptococcosis affecting farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 22:21-26.
- [71] Mulet, M., Lalucat, J., & García-Valdés, E. (2010). DNA sequence-based analysis of the *Pseudomonas* species. *Environmental Microbiology*, 12(6), 1513-1530.
- [72] Peix, A., Ramirez-Bahena, M. H., & Velazquez, E. (2018). The current status on the taxonomy of *Pseudomonas* revisited: an update. *Infection, Genetics and Evolution*, 57, 106-116.
- [73] Lönnström, L., Wiklund, T., & Bylund, G. (1994). *Pseudomonas anguilliseptica* isolated from Baltic herring *Clupea harengus* membras with eye lesions. *Diseases of Aquatic Organisms* 18, 143–147.
- [74] Doménech, A., Frenández-Garayzabal, J.F., Garc'ia, J.A., Cutuli, M.T., Blanco, M., Gibello, A., Moreno, M.A., & Dom'nguez, L. (1999). Association of *Pseudomonas anguilliseptica* infection with winter disease in sea bream (*Sparus aurata*). *J. Fish Dis.* 22, 69–71
- [75] López-Romalde, S., Magariños, B., Ravelo, C., Toranzo, A. E., & Romalde, J. L. (2003). Existence of two O-serotypes in the fish pathogen *Pseudomonas anguilliseptica*. *Veterinary Microbiology*, 94(4), 325-333.
- [76] Türk, N. (2002). Çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) yavrularından bakteri izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi. *Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 27: 7-14
- [77] Canak, O. (2011). *Determination of the protein profiles of some pathogenic bacteria isolated from cultured Gilthead sea bream (Sparus aurata, 1758)* (Msc. Thesis). İstanbul Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- [78] Csaba, Gy., PrigH, M., Bekesi, L., Kovacs-Gayer, E., Bajmocy, E. and Fazekas, B. (1981). Septicaemia in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*, Val.) and bighead (*Aristichthys nobilis* Rich.) caused by *Pseudomonas fluorescens*. In: Olah, J., Molnar, K. and Jeney, S. (eds). *Fish, Pathogens and Environment in European Polyculture*. Szarvas, Hungary, F. Muller (Fisheries Research Institute), pp. 111-123.
- [79] Markovic, M., Radojicic, M., Cosic, S., & Levnaic, D. (1996). Massive death of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) and bid head (*Aristichthys nobilis* Rich.) caused by *Pseudomonas fluorescens* bacteria. *Veterinarski Glasnik*, 50, 761-765.
- [80] Li, M. F., & Flemming, C. (1967). A proteolytic pseudomonad from skin lesions of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). I. Characteristics of the pathogenic effects and the extracellular proteinase. *Canadian Journal of Microbiology* 13, 405-416
- [81] Li, M. F., & Traxler, G. S. (1971). A proteolytic pseudomonad from skin lesions of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). III. Morphological studies. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 28(1), 104-105.
- [82] Sakai, M., Atsuta, S., & Kobayashi, M. (1989). *Pseudomonas fluorescens* isolated from the diseased rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Kitasato Archives of Experimental Medicine*, 62, 157-162.
- [83] Bullock, G. L. (1971). Identification of fish pathogenic bacteria. In: *Diseases of Fishes, Book 2B*, Eds.:B.S.F.Sniezsko and H.R.Axelrod, T.F.H. Publications, Inc., Jersey City, N.J. p: 10-18.
- [84] Haastein, T., & Holt, G. (1972). The occurrence of vibrio disease in wild Norwegian fish. *Journal of Fish Biology*, 4(1), 33-37.
- [85] Bergman, A.M. (1909) Die rote Beulenkrankheit des Aals. Bericht aus der Koniglichen Bayerischen Versuchsstation 2, 10-54.
- [86] Hastein, T., & Smith, J. E. (1977). A study of *Vibrio anguillarum* from farms and wild fish using principal components analysis. *Journal of Fish Biology*, 11, 69-75.
- [87] Hacking, M. A., & Budd, J. (1971). Vibrio infection in tropical fish in a freshwater aquarium. *Journal of wildlife diseases*, 7(4), 273-280.
- [88] Kitao, T., Aoki, T., Fukodome, M., Kawano, K., Wada, Y., & Mizuno, Y. (1983). Serotyping of *Vibrio anguillarum* isolated from diseased freshwater fish in Japan. *Journal of Fish Diseases* 6, 175-181.
- [89] Lewis, D H. (1985). Vibriosis in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *J. Fish Dis*, 8: 539-545.
- [90] Humphrey, J. D., Lancaster, C. E., Gudkovs, N., & Copland, J. W. (1987). The disease status of Australian salmonids: bacteria and bacterial diseases. *Journal of Fish Diseases*, 10(5), 403-410.
- [91] Hoff, K.A. (1989). Survival of *Vibrio anguillarum* and *Vibrio salmonicida* at different salinities. *Applied and Environmental Microbiology* 55, 1775-1786.
- [92] Larsen, M.H., Larsen, J.L., & Olsen, J.E. (2001). Chemotaxis of *Vibrio anguillarum* to fish mucus: role of the origin of fish mucus, fish species and serogroup of the pathogen. *FEMS Microbiol. Ecol.* 38, 77-80.
- [93] Candan A. (1993). Cipura (*Sparus aurata* L. 1758) balıklarında *V. ordalii* infeksiyonu üzerinde bir araştırma. *I.U. Su Urunleri Der.*, 1-2:91-94 (in Turkish).
- [94] Çağırğan, H. (1993). *Kültürü yapılan çipura (Sparus aurata L.) ve levrek (Dicentrarchus labrax L.) balıklarında görülen bakteriyel hastalıkların teşhis*

- ve tedavisi üzerine bir araştırma (Doktora Tezi). Ege Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı, İzmir.
- [95] Akan, M., Yıldız, H., İzgür, M., & Atay, D. (1996). Levreklerde *Vibrio anguillarum*'a bağlı vibriosis olgusu. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2: 40-43.
- [96] Çağırğan H., (2004). Vaccine development in sea bass fry (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) against vibriosis. *EU Su Ürünleri Dergisi*, 21, 271-274.
- [97] Tanrıku, T. T., Çağırğan, H., & Tokşen, E. (2004). Levrek'lerden (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) izole edilen vibrio türlerinin API 20E yöntemiyle identifikasyonu. *Su Ürünleri Dergisi*, 21(3).
- [98] Savaş, H., Yıldırım, Y., Kurtoğlu, I.Z., Bascinar, N., Alkan, A., Gürel, M., Ergun, H., Firidin, S., Kutlu, I., Serdar, S., & Zengin, B. (2006). Ordu ili Perşembe ilçesinde faaliyet gösteren yüzer kafes işletmelerinin çevresel etki ve su ürünleri sağlığı yönünden izlenmesi projesi, Sonuç raporu , SUMAE, 58pp.
- [99] Korun, J., & Gokoglu, M. (2007). *Listonella anguillarum* isolated from hatchery cultured red porgy *Pagrus pagrus* in Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6(6), 823-827.
- [100] Timur, G., & Korun, J. (2004). First outbreak of vibriosis in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 18(18), 1-9.
- [101] Rucker, R.R. (1966) Redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Bulletin de l'Office International des Epizooties*, 65, 825-830.
- [102] Bullock, G. L., & Snieszko, S. F. (1979). *Enteric redmouth disease of salmonids* (No. 57). US Fish and Wildlife Service.
- [103] Llewellyn, L.C. (1980). A bacterium with similarities to the redmouth bacterium and *Serratia liquifaciens* causing mortalities in hatchery reared salmonids in Australia. *J. Fish Dis.* 3: 29-39.
- [104] Roberts, S.M. (1983). A report of an epizootic in hatchery reared rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, at an English trout farm, caused by *Yersinia ruckeri*. *J Fish Dis.* 6: 551-552.
- [105] Sparboe, O., Koren, C., Hastein, T., Poppe, T., & Stenwing, H. (1986). The first isolation of *Yersinia ruckeri* from farmed Norwegian Salmon. *Bull.Eur.Ass.Fish.Pathol.* 6 (2): 41.
- [106] Vuillaume, A., Brun, R., Chene, P., & Sochon Lesel, R. (1987). First isolation of *Yersinia ruckeri* from sturgeon, *Acipenser baeri* Brandt, In South West of France. *Bull.Eur.Ass.Fish Pathol.* 7 (1): 18.
- [107] Giorgetti, G., Ceschia, G., & Bovo, G. (1985). First isolation of *Yersinia ruckeri* in farmed rainbow trout in Italy. *Fish and Shellfish Patology*. Academic Pres London pp: 161-166.
- [108] Bragg, R. R., & Henton, M. M. (1986). Isolation of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout in South Africa. *Bull.Eur.Ass.Fish Pathol.* 6: 5-7.
- [109] Avcı, H. (2004). *Deneyisel Olarak Yersinia ruckeri ile Enfekte Edilmiş Gökkuşaklı Alabalıklarında (Oncorhynchus mykiss Walbaum, 1972) Patolojik Bulgular (Yüksek Lisans Tezi)*. Adnan Menderes Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü Patoloji Anabilim Dalı, Aydın.
- [110] Çağırğan, H., & Yürekli Türk O. (1991). First isolation of *Yersinia ruckeri* from Rainbow trout farm in Turkey. In: The Fifth Conference of EAAP, *Disease of Fish and Shellfish*. 24-29 August 1991, Book of Abstract, p. 131.

- [111] Timur, G., & Timur, M. (1991). An outbreak of Enteric Redmouth Disease in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol.* 11, 5, 181-182.
- [112] Busch, A. R., & Lingg, A.J. (1975). Establishment of an asymptomatic carrier state infection of enteric redmouth disease in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish Res Board Can.* 32 (12): 2429-2432.
- [113] Busch, A.R. (1982). Enteric red mouth disease (*Yersinia ruckeri*). Symposium international de Talloires 10-12 May. 1982 Les Antigenes Des Microorganismes Pathogenes de Poissons. Collection Foundation Marcel Mereux, pp: 201-224.
- [114] McCarthy, D.H. (1978). *A study of the taxonomic status of some bacteria currently assigned to the genus Aeromonas* (Ph.D. thesis). Council of National Academic Awards, UK.
- [115] Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. & Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th edn. Baltimore: Williams & Wilkins.
- [116] Martin-Carnahan, A., & Joseph, S. W. (2005). *Aeromonadales* ord. nov. In *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology* (pp. 556-587). Springer, Boston, MA.
- [117] Roberts, R. J. (2012). *Fish Pathology*. John Wiley & Sons.
- [118] Wakabayashi, H., & Egusa, S. (1972). Characteristics of SL *Pseudomonas* sp. from an epizootic of pond-cultured eels (*Anguilla japonica*). *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 38, 577-587.
- [119] Stewart, D. J., Woldemanam, K., Dear, G., & Mochaba, F. M. (1983). An outbreak of 'sekiten-byo' among cultured European eels, *Anguilla anguilla* L, in Scotland. *J Fish Dis* 6:75-76.
- [120] Wiklund, T., & Bylund, G. (1990). *Pseudomonas anguilliseptica* as a pathogen of salmonid fish in Finland. *Dis. Aquat. Org.* 8, 13-19.
- [121] Wiklund, T., & Lönnström, L. (1994). Occurrence of *Pseudomonas anguilliseptica* in Finnish fish farms during 1986-1991. *Aquaculture*, 126(3-4), 211-217.
- [122] Berthe, F. C. J., Michel, C., & Bemardet, J. F. (1995). Identification of *Pseudomonas anguilliseptica* isolated from several fish species in France. *Dis. Aquat. Org.* 21, 151-155.
- [123] Nakai, T., Muroga, K., Vakabayashi, H. (1981). Serological properties of *Pseudomonas anguilliseptica* in agglutination. *Bull Jap Soc scient Fish*, 47:699-703.
- [124] Romalde, J. L., Lopez-Romalde, S., Ravelo, C., Magarinos, B., & Toranzo, A. E. (2003). Evidences of two clonal lineages within the emerging fish pathogen *Pseudomonas anguilliseptica* by serological and genetic techniques. *AFS/FHS Newslett.*, 31, 8-9.
- [125] Tan, D. (2015). *Exploration of Phage-host Interactions in the Fish Pathogen Vibrio anguillarum and Anti-phage Defense Strategies* (PhD Thesis). University of Copenhagen / Marine Biological Section.
- [126] Toranzo A., Baya, A., Roberson, B., Barja, J. L., Grimes, D., & Hetrick, F. (1987). Specificity of slide agglutination test for detecting bacterial fish pathogens. *Aquaculture* 61,81-97.
- [127] Grisez, L., & Ollevier, F. (1995). Comparative serology of the marine fish pathogen *Vibrio anguillarum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 61,4367-4373.

- [128] Toranzo, A.E., & Barja, J.L. (1990). A review of the taxonomy and seroepizootiology of *Vibrio anguillarum* with special reference to aquaculture in the northwest of Spain. *Dis. Aquat. Org.* 9, 73–82.
- [129] West, P. A., & Lee, J. V. (1982). Ecology of *Vibrio* species, including *Vibrio cholerae*, in natural waters of Kent, England. *Journal of Applied Bacteriology*, 52(3), 435-448.
- [130] Paperna, I., Colorni, A., Gordin, H., & Kissil, G. W. (1977). Diseases of *Sparus aurata* in marine culture at Elat. *Aquaculture*, 10(3), 195-213.
- [131] Colorni, A., Paperna, I., & Gordin, H. (1981). Bacterial infections in gilt-head sea bream *Sparus aurata* cultured at Elat. *Aquaculture*, 23(1-4), 257-267.
- [132] de Kinkelin, P., Michel, C., & Ghittino, P. (1985). Précis de pathologie des poissons. Institut national de la recherche agronomique.
- [133] Baudin-Laurencin, F. (1981). Fish *Vibrio* strains antisera in France. International Symposium on Fish Biologics: Serodiagnostics and Vaccines, leetown, W. Va. USA 1981, Develop. Biol. Standard. 49, 257-259 (S. Karger, Basel 1981).
- [134] Breu, G., & Hafner, P. (1989). A field report on vibrio disease of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the South of France. Advances in Tropical Aquaculture. Tahiti Feb 20-March 1 1989 Aquacop IFREMER pp 161-169 Symposium book.
- [135] Ross, A. J., Rucker, R., & Ewing, W.N. (1966). Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian Journal of Microbiology*. 12. 763-770.
- [136] Bullock, G. L., Shotts, E. B., & Starliper, C. (1981). Biochemical, serological and virulence studies with *Yersinia ruckeri*. Proc. Fifth Ann. FHS/AFS Workshop, Starkville, MS., pp 53-54.
- [137] Bullock G. L., Stuckey, H. M., & Shotts, E. B. (1977). Early records of North American and Australian outbreaks of enteric redmouth bacterium. *Fish Health. News*, 6, 2, 06-97
- [138] Daly, J. G., Lindvik, B., & Stevenson, R. M. W. (1986). Serological heterogeneity of recent isolates of *Yersinia ruckeri* from Ontario and British Columbia. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1(2), 151-153.
- [139] Stevenson, R. M. V., Airdrie, D. W. (1984a). Isolation of *Yersinia ruckeri* bacteriophages. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 1201-1205.
- [140] Stevenson, R. M. V., Airdrie, D. W. (1984b). Serological variation among *Yersinia ruckeri* strains. *J. Fish. Dis.* 7, 247-254.
- [141] Ellis, A.E. (1988). Vaccination against Enteric Redmouth. In: *Fish Vaccination* (Ellis, A.E., ed) Academic Press Ltd. London 85-92.
- [142] Kubilay, A. (1997). *Gökkuşluğu alabalıklarında (Oncorhynchus mykiss) patojen bakteri Yersinia ruckeri'ye karşı antikor üretimi ve tespiti üzerine bir araştırma* (Doktora Tez). Süleyman Demirel Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta.
- [143] Fuhrman, H., Böhm, K. H., & Schlotfeldt, H. J. (1984). On the importance of enteric bacteria in the bacteriology of freshwater fish. *Bull. Eur. Ass. Fish Path.*, 4, 42-46.
- [144] Austin, B., & Austin, D. A. (1987). *Bacterial Fish Pathogens Disease in Farmed and Wild Fish*. Ellis Horwood Ltd. Chichester, 364p.
- [145] Heuschmann-Brunner, G. (1978). Aeromonads of the 'hydrophila-punctata group' in freshwater fishes. *Arch Hydrobiol* 83:99–125.

- [146] Allen, D. A., Austin, B., & Colwell, R. R. (1983b) Numerical taxonomy of bacterial isolates associated with a freshwater fishery. *J Gen Microbiol*, 129:2043–2062.
- [147] Trust, T. J., & Sparrow, R. A. H. (1974). The bacterial flora in the alimentary tract of freshwater salmonid fishes. *Can J Microbiol*, 20:1219 -1228.
- [148] Ugajin, M. (1979). Studies on the taxonomy of major microflora on the intestinal contents of salmonids. *Bull Jpn Soc Sci Fish*, 45:721–731.
- [149] Hansen, G. H., & Olafsen, J. A. (1989). Bacterial colonization of cod (*Gadus morhua* L.) and halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs in marine aquaculture. *Appl Environ Microbiol*, 55:1435–1446.
- [150] King, C. H., & Shotts, E. B. (1988). Enhancement of *Edwardsiella tarda* and *Aeromonas salmonicida* through ingestion by the ciliated protozoan *Tetrahymena pyriformis*. *FEMS Microbiol Lett*, 51:95–100.
- [151] Trust, T.J., Bull, M.L., Currie, B.R., & Buckley, J.T. (1974). Obligate anaerobic bacteria in the gastrointestinal microflora of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), goldfish (*Carassius auratus*), and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 36: 1174-1179.
- [152] Bardach, J.E., Ryther, J.H., & McLaren, W.O. (1976). The farming and husbandry of fresh water and marine organisms. In: *Aquaculture*. Ed.: J.E., Bardach, J.H., Ryther, W.O., McLaren, USA.
- [153] Bullock, G. L., Conroy, D. A., & Snieszko, S. F. (1971). Bacterial diseases of fishes. In: Snieszko SF, Axelrod HR (eds) *Diseases of Fishes*, Book 2A. T.F.H. Publications, Neptune, 151p.
- [154] Huizinga, H. W., Esch, G. W., & Hazen, T.C. (1979). Histopathology of red-sore disease (*Aeromonas hydrophila*) in naturally and experimentally infected largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacépède). *J Fish Dis* 2:263–277.
- [155] Groberg, W. J., McCoy, R. H., Pilcher, K. S., & Fryer, J. L. (1978). Relation of water temperature to infections of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), chinook salmon (*O. tshawytscha*), and steelhead trout (*Salmo gairdneri*) with *Aeromonas salmonicida* and *A. hydrophila*. *J Fish Res Board Can*, 35:1–7.
- [156] Nieto, T. P., Corcobado, M. J. R., Toranzo, A. E., & Barja, J. L. (1985). Relation of water temperature to infection of *Salmo gairdneri* with motile *Aeromonas*. *Fish Pathol* 20:99–105
- [157] Munro, R. (1973). Spinal damage to sea bream, *Chrysophrys major*, by *Aeromonas liquefaciens*. In *Pacific Science Association Symposium on Marine Sciences* (pp. 77-80).
- [158] Bruno, D. W., Noguera, P. A., & Poppe, T. T. (2013). *A Colour Atlas of Salmonid Diseases* (Vol. 91). Springer Science & Business Media.
- [159] Eldar, A., Gorla, M., Ghittino, C., Zlotkin, A., & Bercovier, H. (1999). Biodiversity of *Lactococcus garvieae* isolated from fish in Europe, Asia and Australia. *Appl Environ Microbiol*, 65: 1005-1008.
- [160] Afonso, A., Silva, J. C. R., & Gomes, S. (2003). *Lactococcus garvieae* trout infections in Portugal: a new challenge on fish vaccinology. *IBMC News*, 7, 4–6.
- [161] Ghittino, C., & Muzquiz, J. L. (1998). La Estreptococosis de la Trucha Arco Iris en España. Reunion de Piscicultores. Zaragoza. *Rev. Aquatic.*, 2, 1998.
- [162] Romalde, J. L. (2004). Present and future of aquaculture vaccines against fish bacterial diseases. In: Seminario internacional enfermedades emergentes en la acuicultura. Chile: Puerto Varas.

- [163] Muzquiz, J. L., Royo, F. M., Orgega, C., Deblas, I., Ruiz, I., & Alonso, J. L. (1999). Pathogenicity of streptococcosis in rainbow trout (*O. mykiss*): dependence on age of diseased fish. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 19, 114-119.
- [164] Vela, A. I., Va'zquez, J., Gibello, A., Blanco, M. M., Moreno, M. A., Lie'bana, P., Albendea, C., Alcala', B., Mendez, A., Dom'nguez, L., & Fern'ndez-Garayza'bal, J.F. (2000). Phenotypic and genetic characterization of *Lactococcus garvieae* isolated in Spain from lactococcosis outbreaks and comparison with isolates of other countries and sources. *J. Clin. Microbiol.* 38, 3791–3795.
- [165] Evans, J. J., Klesius, P. H., & Shoemaker, C. A. (2009). First isolation and characterization of *Lactococcus garvieae* from Brazilian Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), and pintado, *Pseudoplathystoma corruscans* (Spix & Agassiz). *Journal of fish diseases*, 32(11), 943-951.
- [166] Salati, F., Tassi, P., & Bronzi, P. (1996). Isolation of Enterococcus like bacterium from diseased Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii*, farmed Italy. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 16 (3) 96-99.
- [167] Cheng, W. & Chen, J. C. (1998a). Isolation and characterization of an Enterococcus-like bacterium causing muscle necrosis and mortality in *Macrobrachium rosenbergii* in Taiwan. *Diseases of Aquatic Organisms*, 34, 93- 101.
- [168] Chen, S. C., Lin, Y. D., Liaw, L. L., & Wang, P. C. (2001). *Lactococcus garvieae* infection in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* confirmed by polymerase chain reaction and 16S rDNA sequencing. *Dis Aquat Organ* 2001; 45: 45–52.
- [169] Ghittino, C., Eldar, A., Prearo, M., Bozzetta, E., Livvof, A., & Bercovier, H. (1995). Comparative pathology and experimental vaccination in diseased rainbow trout infected by *Streptococcus iniae* and *Lactococcus garvieae*. VII International Conference of the European Association of Fish Pathologists (EAFP). Palma de Mallorca European Association of Fish Pathologists, Spain, p. 27.
- [170] Eldar, A., Frelie, P. F., Asanta, L., Varner, P. W., Lawhon, S., & Bercovier, H. (1995). *Streptococcus shiloi*, the name for an agent causing septicemic infection in fish, is a junior synonym of *Streptococcus iniae*. *Int J Syst Bacteriol* 45: 840-842.
- [171] Pereira, F., Ravelo, C., Toranzo, A. E., & Romalde, J. L. (2004). *Lactococcus garvieae*, an emerging pathogen for the Portuguese trout culture. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 24, 274-279.
- [172] Elliot, J. A., Collins, M. D., Pigott, N. E., Facklam, R. R. (1991). Differentiation of *Lactococcus lactis* and *Lactococcus garvieae* from humans by comparison of whole-cell protein patterns. *J. Clin. Microbiol.* 20, 2731–2734.
- [173] Fefer, J. J., Ratzan, K. R., Sharp, S. E., & Saiz, E. (1998). *Lactococcus garvieae* endocarditis: report of a case and review of the literature. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 1998; 32: 127–30.
- [174] Yiu, K. H., Siu, C. W., To, K. K., Jim, M. H., Lee, K. L., Lau, C. P., & Tse, H. F. (2007). A rare cause of infective endocarditis; *Lactococcus garvieae*. *Int. J. Cardiol.* 114 (2), 286-287.

- [175] Mofredj, A., Baraka, D., Kloeti, G., & Dumont, J. L. (2000). *Lactococcus garvieae* septicemia with liver abscess in an immunosuppressed patient. *Am J Med* 2000; 109: 513-4.
- [176] James, P. R., Hardman, S. M., & Patterson, D. L. (2000). Osteomyelitis and possible endocarditis secondary to *Lactococcus garvieae*: a first case report. *Postgrad Med J* 2000; 76: 301-3.
- [177] Chan, J. F., Woo, P. C., Teng, J. L., Lau, S. K., Leung, S. S., Tam, F. C., & Yuen, K. Y. (2011). Primary infective spondylodiscitis caused by *Lactococcus garvieae* and a review of human *L. garvieae* infections. *Infection*. 39 (3), 259-264.
- [178] Wang, C. Y., Shie, H. S., Chen, S. C., Huang, J. P., Hsieh, I. C., Wen, M. S., Lin, F. C., & Wu, D. (2007). *Lactococcus garvieae* infections in humans: possible association with aquaculture outbreaks. *Int. J. Clin. Pract.* 61 (1), 68-73.
- [179] Daly, J. G., & Aoki, T. (2011). Pasteurellosis and Other Bacterial Diseases In: Woo, P. T., Leatherland, J. F., & Bruno, D. W. (Eds.). (2011). *Fish Diseases and Disorders* (Vol. 3). CABI.
- [180] Demircan, D., & Candan, A. (2006). Identification of *Vibrio anguillarum* by PCR (rpoN gene) associated with vibriosis in marine fish in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 30(3), 305-310.
- [181] Donat, E. (2015). *Kahramanmaraş ilinde gökkuşağı alabalığı (Oncorhynchus mykiss, Walbaum 1792) kafes işletmelerinde Vibrio anguillarum suşlarının izolasyonu, biyolog GEN III, PCR ve sekans analizi ile tanımlanması* (Yüksek Lisans Tezi). Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.
- [182] Frans, I., Michiels, C. W., Bossier, P., Willems, K. A., Lievens, B., & Rediers, H. (2011). *Vibrio anguillarum* as a fish pathogen: virulence factors, diagnosis and prevention. *Journal of fish diseases*, 34(9), 643-661.
- [183] Giorgetti, G., & Ceschia, G. (1982). Vibriosis in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, in fresh water in north-eastern Italy. *Journal of Fish Diseases*, 5(2), 125-130.
- [184] Jones, M., Cockerill, D. J., Birkbeck, T. H., & Cox, D. I. (2000). Clinical infection of cod (*Gadus morhua* L.) in Scotland by *Vibrio anguillarum*: a case history. *Bulletin-European Association of Fish Pathologists*, 20(3), 125-128.
- [185] Korun, J., & Timur, G. (2008). Marine vibrios associated with diseased sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in Turkey. *Journal of Fisheries Sciences*. com, 2(1), 66-76.
- [186] Anderson, J. I. W., & Conroy, D. A. (1970). *Vibrio* disease in marine fishes. In *A symposium on diseases of fishes and shellfishes* (pp. 266-272). Am. Fish. Soc Washington, DC.
- [187] Kanno, T., Nakai, T., & Muroga, K. (1989). Mode of transmission of vibriosis among ayu *Plecoglossus altivelis*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 1(1), 2-6.
- [188] Conroy, D. A. (1984). Agents: bacteria. *Diseases of Marine Animals* I, 4, 48-88.
- [189] Revell, P. A., & Miller, V. L. (2001). *Yersinia* virulence: more than a plasmid. *FEMS Microbiology Letters*, 205, 159-164.

- [190] Tobback, E., Decostere, A., Hermans, K., Haesebrouck, F., & Chiers, K. (2007). *Yersinia ruckeri* infections in salmonid fish. *Journal of fish diseases*, 30(5), 257-268.
- [191] Hansen, C. B., & Lingg, A.J. (1976). Inert particle agglutination tests for detection of antibody to enteric redmouth bacterium. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 33, 2857-2860.
- [192] Hunter, V. A., Knittel, M. D., & Fryer, J. L. (1980). Stress-induced transmission of *Yersinia ruckeri* infection from carriers to recipient steelhead trout *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases* 3, 467-472.
- [193] Rodgers, C. J. (1992). Development of a selective-differential medium for the isolation of *Yersinia ruckeri* and its application in epidemiological studies. *Journal of Fish Diseases*, 15, 243-254.
- [194] Shotts, E. B., & Rimler, R. (1973). Medium for the isolation of *Aeromonas hydrophila*. *Applied Microbiology* 26, 550-553.
- [195] McCoy, R. H., & Pilcher, K.S. (1974). Peptone beef extract glycogen agar, a selective and differential *Aeromonas* medium. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 31, 1553-1555.
- [196] Austin, B., & Austin, D. A. (2016). *Bacterial Fish Pathogens Disease of Farmed and Wild Fish*, 6th Edition. Springer International Publishing Switzerland, 2016.
- [197] McCarthy, D. H., & Roberts, R. J. (1980). Furunculosis of fish: The present state of our knowledge. In: Droop, M.A. and Jannasch, H.W. (eds). *Advances in Aquatic Microbiology*. London, Academic Press, pp. 293-341.
- [198] Eldar, A., Ghittino, C., Asanta, L., Bvozzetz, E., & Gorla, M., (1996). *Enterococcus seriolicida* is a junior synonym of *L. garvieae*, a causative agent of septicemia and meningoencephalitis in fish. *Current Microbiology*, 32, 85–88.
- [199] Toranzo, A. E., Devesa, S., Heinen, P., Riaza, A., Nunez, S., & Barja, J. L. (1994). Streptococcosis in cultured turbot caused by an Enterococcus-like bacterium. *Bulletin-European Association of Fish Pathologists*, 14, 19-19.
- [200] Cheng, W., & Chen, J. C. (1998b). Enterococcus-like infections in *Macrobrachium rosenbergii* are exacerbated by high pH and temperature but reduced by low salinity. *Dis Aquat Org*, 34:103–108.
- [201] Ahne, W., Popp, W., & Hoffmann, R. (1982). *Pseudomonas fluorescens* as a pathogen of tench (*Tinca tinca*). *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 4, 56-57.
- [202] Hjeltnes, B., & Roberts, R. J. (1993). Vibriosis. *Bacterial diseases of fish*, 109-121.
- [203] Timur, G., & Timur, M. (2003). *Balık Hastalıkları*. Eds; Timur G, Timur M, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayını, İstanbul.
- [204] Gratacap, R. M. (2008). *Characterisation of Vibrio anguillarum for the development of vaccine in cod (Gadus morhua)* (Degree of Doctor of Philosophy). University of Stirling / Institute of Aquaculture, Stirling, Scotland.
- [205] McCarthy, D. H., Stevenson, J. P., & Salsbury, A. W. (1974). Therapeutic efficacy of a potentiated sulphonamide in experimental furunculosis. *Aquaculture*, 4, 407-410.
- [206] Arda, M., Seçer, S., & Sarıeyyüboğlu, M. (2002) *Balık Hastalıkları*, Medisan Yayın Serisi, Ankara.

- [207] Austin, B., & Austin, D. (1999). *Bacterial Fish Pathogens: Disease of farmed and wild fish 3rd (revised) edition*. Springer-Praxis Publishing, Chichester.
- [208] Kent, M. L., & Poppe, T. T. (2002). Infectious Diseases of Coldwater Fish in Marine and Brackish Water. *Diseases and Disorders of Finfish in Cage Culture*, Eds P.T.K. Woo, D.W. Bruno and L.H.S. Lim, CAB International, 0851994431.
- [209] Leong, T. S., & Colorni, A. (2002). Infectious Diseases of Warmwater Fish in Marine and Brackish Waters. *Diseases and Disorders of Finfish in Cage Culture*, Eds P.T.K. Woo, D.W. Bruno and L.H.S. Lim, CAB International, 0851994431.
- [210] Demircan, M. D. (2004). *Deniz balıklarında Vibriosis'e neden olan Vibrio anguillarum'un PCR yöntemi ile tanısı* (Yüksek Lisans Tezi). T.C. İstanbul Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [211] Traxler, G. S., & Li, M. F. (1972). *Vibrio anguillarum* isolated from a nasal abscess of the cod fish (*Gadus morhua*). *Journal of Wildlife Diseases*, 8, 207-214.
- [212] Muroga, K., Jo, Y., & Nishibuchi, M. (1976a). Pathogenic *Vibrio* isolated from cultured eels. I. Characteristics and taxonomic status. *Fish Pathology*, 12, 141-145.
- [213] Muroga, K., Nishibuchi, M., & Jo, Y. (1976b). Pathogenic *Vibrio* isolated from cultured eels. 11. Physiological characteristics and pathogenicity. *Fish Pathology*, 12, 147-151.
- [214] Tajima, K., Yoshimizu, M., Ezura, Y., & Kimura, T. (1981). Studies on the causative organisms of vibriosis among the pen cultured coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in Japan. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 47, 35-42.
- [215] Bolinches, J., Romalde, J. L., & Toranzo, A. E. (1988). Evaluation of selective media for isolation and enumeration of vibrios from estuarine waters. *Journal of Microbiological Methods*, 8(3), 151-160.
- [216] Horne, M. T., & Barnes, A. C. (1999). Enteric redmouth disease (*Y. ruckeri*). In: *Fish Diseases and Disorders*, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections (ed. by P.T.K. Woo & D.W. Bruno), pp. 455-477. CABI Publishing, Oxfordshire
- [217] Kumar, G., Menanteau-Ledouble, S., Saleh, M., & El-Matbouli, M. (2015). *Yersinia ruckeri*, the causative agent of enteric redmouth disease in fish. *Veterinary research*, 46(1), 103.
- [218] Avcı, H., & Birincioğlu, S. S. (2005). Pathological findings in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) experimentally infected with *Yersinia ruckeri*. *Turk J. Vet. Anim. Sci.*, 29, 1321-1328.
- [219] Tobback, E., Decostere, A., Hermans, K., Ryckaert, J., Duchateau, L., Haesebrouck, F., & Chiers, K. (2009). Route of entry and tissue distribution of *Yersinia ruckeri* in experimentally infected rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Dis Aquat Org*, 84:219-228.
- [220] Bomo, A. M., Husby, A., Stevik, T. K., & Hanssen, J. F. (2003). Removal of fish pathogenic bacteria in biological sand filters. *Water Research*, 37(11), 2618-2626.
- [221] Gibello, A., Blanco, M. M., Moreno, M. A., Cutuli, M. T., Domenech, A., Dominguez, L. & Fernandez-Garayzabal J. F. (1999). Development of a PCR assay for detection of *Yersinia ruckeri* in tissues of inoculated and naturally infected trout. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 346-350.

- [222] Waltman, W. D., & Shotts, E. B. (1984). A medium for the isolation and differentiation of *Yersinia ruckeri*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41, 804-806.
- [223] Furones, M. D., Gilpin, M. L., & Munn, C. B. (1993). Culture media for the differentiation of isolates of *Yersinia ruckeri*, based on detection of a virulence factor. *Journal of Applied Bacteriology* 74, 360-366.
- [224] Colberg, P. J., & Lingg, A.J. (1978). Effect of ozonation on microbial fish pathogens, ammonia, nitrate, nitrite and biological oxygen demand in simulated reuse hatchery water. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 35, 1290-1296.
- [225] Bullock, G. L., & Stuckey, H. M. (1977). Ultraviolet treatment of water for destruction of five Gram-negative bacteria pathogenic to fishes. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 34, 1244-1249.
- [226] Esch, G. W., & Hazen, T. C. (1980). Stress and body condition in a population of largemouth bass: implications for red-sore disease. *Transactions of the American Fisheries Society*, 109, 532-536.
- [227] Walters, G. R., & Plumb, J. A. (1980). Environmental stress and bacterial infection in channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. *Journal of Fish Biology*, 17, 177-185.
- [228] Schachte, J. H. (1978). Immunization of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, against two bacterial diseases. *Marine Fisheries Review* 40, 18-19.
- [229] Acuigrup, (1980). Trial vaccination of rainbow trout against *Aeromonas liquefaciens*. In: Ahne, W. (ed.), *Fish Diseases*, Third COPRAQ Session. Berlin, Springer-Verlag, pp. 206-211.
- [230] Lamers, C. H. L., & de Haas, M. J. M. (1983). The development of immunological memory in carp (*Cyprinus carpio* L.) to a bacterial antigen. *Developmental and Comparative Immunology*, 7, 713-714.
- [231] Ruangpan, L., Kitao, T. A., & Yoshida, T. (1986). Protective efficacy of *Aeromonas hydrophila* vaccines in Nile tilapia. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 12, 345-350.
- [232] Rahman, M. H., & Kawai, K. (2000). Outer membrane proteins of *Aeromonas hydrophila* induce protective immunity in goldfish. *Fish & Shellfish Immunology*, 10, 379-382.
- [233] Chandran, M. R., Aruna, B. V., Logambal, S. M., & Michael, R. D. (2002). Immunisation of Indian major carps against *Aeromonas hydrophila* by intraperitoneal injection. *Fish & Shellfish Immunology*, 13, 1-9.
- [234] Yasumoto, S., Yoshimura, T., & Miyazaki, T. (2006). Oral immunization of common carp with a liposome vaccine containing *Aeromonas hydrophila* antigens. *Fish Pathology*, 41, 45-49.
- [235] Aoki, T. (1988). Drug-resistant plasmids from fish pathogens. *Microbiological Sciences*, 5, 219-223.
- [236] De Paola, A., Flynn, P. A., McPhearson, R. M., & Levy, S. B. (1988). Phenotypic and genotypic characterization of tetracycline- and oxytetracycline-resistant *Aeromonas hydrophila* from cultured channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and their environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 54, 1861-1863.
- [237] Altun, S., Kubilay, A., Ekici, S., Didinen, B., & Diler, O. (2010). Oral vaccination against lactococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using sodium alginate and poly (lactide-co-glycolide) carrier. *J Fac Vet Med Univ Kafkas Kars* 2010;16:211-7.

- [238] Khorvash, F., Mostafavizadeh, K., Mobasherizadeh, S., Behjati, M., Naeini, A. E., Rostami, S., Abbasi S., Memarzadeh, M. & Khorvash, F. A. (2008). Antimicrobial susceptibility pattern of microorganisms involved in the pathogenesis of surgical site infection (SSI); A 1 year of surveillance. *Pak J Biol Sci*, 11(15), 1940-4.
- [239] Najiah, M., Nadirah, M., Sakri, I., & Shaharom-Harrison, F. (2010). Bacteria associated with wild mud crab (*Scylla serrata*) from Setiu Wetland, Malaysia with emphasis on antibiotic resistances. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13(6), 293.
- [240] Raissy, M., & Ansari, M. (2011). Antibiotic susceptibility of *Lactococcus garvieae* isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran fish farms. *African Journal of Biotechnology*, 10(8), 1473-1476.
- [241] Tanrikul, T.T. (2012). Efficacy of a whole cell *Lactococcus garvieae* vaccine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2012, 11 (7): 886-889.
- [242] Romalde, J. L., Luzardo-Alvarez, A., Ravelo, C., Toranzo, A. E., Blanco-Mendez, J. (2004). Oral immunization using alginate micro-particles as a useful strategy for booster vaccination against fish lactococcosis. *Aquaculture*, 236, 119-129.
- [243] Prieta, J., Domenech, A. M., Fernandez-Garaizabal, J. F., Collins, M. D., Rodrigues, U. M., & Jones, D., (1993). Lactococcosis De la Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*). *Medical Veterinary*, 10, 367-373.
- [244] Bercovier, H., Ghittino, C., & Eldar, A. (1997). Immunization with bacterial antigens: infections with streptococci and related organisms. *Developments in Biological Standardization*, 90, 153-160.
- [245] Romalde, J. L., Ravelo, C., Lo'pez-Romalde, S., Avendan~o-Herrera, R., Magarin~os, B., Toranzo, A. E. (2005). Vaccination strategies to prevent important emerging diseases for Spanish aquaculture. In: Midtlyng, P.J. (Ed.), *Fish Vaccinology*. Karger, Switzerland, pp. 85- 95.
- [246] Vendrell, D., Balcázar, J. L., Ruiz-Zarzuola, I., de Blas, I., Gironés, O., & Múzquiz, J. L. (2007). Safety and efficacy of an inactivated vaccine against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Preventive Veterinary Medicine*, 80(2-3), 222-229.
- [247] Ravelo, C., Magarinos, B., Herrero, M. C., Costa, L., Toranzo, A. E, Romalde, J. L. (2006). Use of adjuvanted vaccines to lengthen the protection against Lactococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquacult*, 251:153-158.
- [248] Munday, B. L. (1994). Fish. In: Coopert SB, editor. Antimicrobial Prescribing Guidelines for Veterinarians: a Post Graduate Foundation Publication. University of Sydney, Australia, In association with the National Health and Medical Research Council, 305-325.
- [249] Dolgun, O. (2015). *Gökuşuğu alabalıklarından Lactococcus garvieae identifikasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması* (Master's thesis). Adnan Menderes Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- [250] Kubilay, A., Altun, S., Uluköy, G., & Diler, Ö. (2005). *Lactococcus garvieae* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 1(1).
- [251] Meyer, F. P., & Collar, J. D. (1964). Description and treatment of a Pseudomonas infection in white catfish. *Applied Microbiology*, 12(3), 201-203.

- [252] Austin, B. (1984). The future of bacterial fish vaccines. *Vaccine* 2, 249-254.
- [253] Muroga, K., Jo, Y., & Yano, M. (1973). Studies on red spot disease of pond-cultured eels I. *Fish Pathology*, 8(1), 1-9.
- [254] Wang, H. R., Hu, Y. H., Zhang, W. W., & Sun, L. (2009). Construction of an attenuated *Pseudomonas fluorescens* strain and evaluation of its potential as a cross-protective vaccine. *Vaccine*, 27(30), 4047-4055.
- [255] Vik-Mo, F. T., Bergh, O., & Samuelsen, O. B. (2005). Efficacy of orally administered flumequine in the treatment of vibriosis caused by *Listonella anguillarum* in Atlantic cod *Gadus morhua*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 67, 87-92.
- [256] Aoki, T., Egusa, S., & Aral, T. (1974). Detection of R factor in naturally occurring *Vibrio anguillarum* strains. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 6, 534-538.
- [257] Parin, U., Savasan, E. S., Yuksei, H. T., Gurpinar, S., & Kirkan, S. (2017). Antimicrobial resistance of *Vibrio (Listonella) anguillarum* isolated from rainbow trout (*Onchrhynchus mykiss*). *Indian J Ani Res*, B-623. <http://doi.org/10.18805/ijar.v0iOF.7251>.
- [258] Bricknell, I. R., Bowden, T. J., Verner-Jeffreys, D. W., Bruno, D. W., Shields, R. J., & Elhs, A. E. (2000). Susceptibility of juvenile and sub-adult Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) to infection by *Vibrio anguillarum* and efficacy of protection induced by vaccination. *Fish & Shellfish Immunology*, 10, 319-327.
- [259] Bowden, T. J., Menoyo-Luque, D., Bricknell, I. R. and Wegeland, H. (2002). Efficacy of different administration routes for vaccination against *Vibrio anguillarum* in Atlantic hahbut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 12, 283-285.
- [260] Vervarcke, S., Lescroart, O., Ollevier, F., Kinget, R., & Michoel, A. (2004). Vaccination of African catfish with *Vibrio anguillarum* 02: 1. ELISA development and response to IP and immersion vaccination. *Journal of Applied Ichthyology* 20, 128-133.
- [261] Angelidis, P., Karagiannis, D., & Crump, E.M. (2006). Efficacy of a *Listonella anguillarum* (syn. *Vibrio anguillarum*) vaccine for juvenile sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 71, 19-24.
- [262] Bullock, G. L., Maestrone, G., Starliper, C., & Schill, B. (1983). Potentiated sulfonamide therapy of enteric redmouth disease. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40, 101-102.
- [263] Rodgers, C. J., & Austin, B. (1982). Oxolinic acid for control of enteric redmouth disease in rainbow trout. *Veterinary Record*, 112, 83.
- [264] Post, G. (1987). *Textbook of Fish Health*. TFH Publication. Inc, Neptune City, NJ.
- [265] De Grandis, S. A., & Stevenson, R. M. W. (1985). Antimicrobial susceptibility patterns and R plasmid-mediated resistance of the fish pathogen *Yersinia ruckeri*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 27, 938-942.
- [266] Thompson, K. D., Adams, A. (2004). Current trends in immunotherapy and vaccine development for bacterial diseases of fish – In: *Molecular Aspects of Fish and Marine Biology* Vol. 3. Current trends in the study of bacterial and viral fish and shrimp diseases (Ed.) K.Y. Leung, World Scientific Publishing. River Edge, NJ, USA: 313-362.
- [267] Arda, M. (2015). *Temel Mikrobiyoloji*. Medisan Yayınevi, Ankara.

- [268] Perry, J. D., & Freydiere, A. M. (2007). The application of chromogenic media in clinical microbiology. *Journal of Applied Microbiology*, *103*(6), 2046-2055.
- [269] Perry, J. D. (2017). A decade of development of chromogenic culture media for clinical microbiology in an era of molecular diagnostics. *Clinical Microbiology Reviews*, *30*(2), 449-479.
- [270] Denis, M., Houard, E., Labbé, A., Fondrevez, M., & Salvat, G. (2011). A selective chromogenic plate, YECA, for the detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica*: specificity, sensitivity, and capacity to detect pathogenic *Y. enterocolitica* from pig tonsils. *J Pathog* 2011:296275. <https://doi.org/10.4061/2011/296275>.
- [271] Vrioni, G., Daniil, I., Voulgari, E., Ranellou, K., Koumaki, V., Ghirardi, S., Kimouli, M., Zambardi, G., & Tsakris, A. (2012). Comparative evaluation of a prototype chromogenic medium (ChromID CARBA) for detecting carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in surveillance rectal swabs. *J Clin Microbiol* *50*:1841–1846. <https://doi.org/10.1128/JCM.06848-11>.
- [272] Rigail, J., Verhoeven, P. O., Mahinc, C., Jeraiby, M., Grattard, F., Fonsale, N., Pozzetto, B., & Carricajo, A. (2015). Evaluation of new bioMérieux chromogenic CPS media for detection of urinary tract pathogens. *J Clin Microbiol* *53*:2701–2702. <https://doi.org/10.1128/JCM.00941-15>.
- [273] Le Bars, H., Kayal, S., Bonnaure-Mallet, M., & Minet, J. (2011). CASA chromogenic medium for enteric *Campylobacter* species. *J Clin Microbiol* *49*: 3675–3677. <https://doi.org/10.1128/JCM.00899-11>.
- [274] Yarbrough, M. L., Wallace, M. A., Marshall, C., Mathias, E., & Burnham, C. A. D. (2016). Culture of urine specimens by use of chromID CPS Elite medium can expedite *Escherichia coli* identification and reduce hands-on time in the clinical laboratory. *Journal of clinical microbiology*, *54*(11), 2767-2773.
- [275] Topić Popović, N., Čož-Rakovac, R., & Strunjak-Perović, I. (2007). Commercial phenotypic tests (API 20E) in diagnosis of fish bacteria: a review. *Vet. Med. -Czech* *52*, 49–53.
- [276] Campos Braga, P. A., Tata, A., Goncalves dos Santos, V., Barreiro, J. R., Vilczaki Schwab, N., Veiga dos Santos, M., Eberlin, M. N., & Ramires Ferreira, C. (2013). Bacterial identification: from the agar plate to the mass spectrometer. *RSC Adv.* *3*, 994–1008.
- [277] Okafor, N. (2011). *Environmental Microbiology of Aquatic and Waste Systems*. Springer, Dordrecht Heidelberg London New York, 303. <http://dx.doi.org/10.1007/978-94-007-1460-1>.
- [278] Demirev, P. A., Ho, Y. P., Ryzhov, V., & Fenselau, C. (1999). Microorganisms identification by mass spectrometry and protein database searches. *Anal. Chem.* *71*:2732–2738.
- [279] Claydon, M. A., Davey, S. N., Edwards-Jones, V., & Gordon, D. B. (1996). The rapid identification of intact microorganisms using mass spectrometry. *Nat. Biotechnol.* *14* (11), 1584–1586.
- [280] Holland, R. D., Wilkes, J. G., Rafii, F., Sutherland, J. B., Persons, C. C., Voorhees, K. J., & Lay, J. O. Jr. (1996). Rapid identification of intact whole bacteria based on spectral pattern using matrix-assisted laser desorption/ionization with time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass. Spectrom.* *10* (10), 1227–1232.

- [281] Lavigne, J. P., Espinal, P., Dunyach-Remy, C., Messad, N., Pantel, A., & Sotto, A. (2013). Mass spectrometry: a revolution in clinical microbiology? *Clin. Chem. Lab. Med.* 51 (2), 257–270.
- [282] Martiny, D., Busson, L., Wybo, I., El Haj, R. A., Dediste, A., & Vandenberg, O. (2012). Comparison of the MICROFLEX LT and VITEK® MS systems for the routine identification of bacteria by Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(4), 1313-1325.
- [283] Neville, S. A., LeCordier, A., Ziochos, H., Chater, M. J., Gosbell, I. B., Maley, M. W., & van Hal, S. J. (2011). Utility of matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry following introduction for routine laboratory bacterial identification. *Journal of clinical microbiology*, 49(8), 2980-2984.
- [284] Seng, P., Drancourt, M., Gouriet, F., La Scola, B., Fournier, P. E., Rolain, J. M., & Raoult, D. (2009). Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical Infectious Diseases*, 49(4), 543-551.
- [285] van Veen, S. Q., Claas, E. C. J., & Kuijper E. J. (2010). High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization– time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *J. Clin. Microbiol.* 48:900 –907.
- [286] Akkoyun Bilgi E. (2014). *Klinik örneklerden izole edilen Aspergillus spp. türlerinin tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler MALDI-TOF MS ve dizi analizi yöntemlerinin araştırılması* (Tıpta Uzmanlık Tezi). İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
- [287] Bader, O., Weig, M., Taverne-Ghadwal, L., Lugert, R., Gross, U., & Kuhns, M. (2011). Improved clinical laboratory identification of human pathogenic yeasts by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(9), 1359-1365.
- [288] Barbuddhe, S. B., Maier, T., Schwarz, G., Kostrzewa, M., Hof, H., Domann, E., Chakraborty, T., & Hain, T. (2008). Rapid identification and typing of listeria species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(17), 5402-5407.
- [289] Couturier, M. R., Mehinovic, E., Croft, A. C., Fisher, M. A. (2011). Identification of HACEK clinical isolates by matrix-assisted laser desorption ionizationtime of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 49:1104 – 1106.
- [290] Ferreira, L., Castaño, S. V., Sánchez-Juanes, F., González-Cabrero, S., Menegotto, F., Orduña-Domingo, A., Gonzalez-Buitrago, J. M., & Muñoz-Bellido, J. L. (2010). Identification of Brucella by MALDI-TOF mass spectrometry. Fast and reliable identification from agar plates and blood cultures. *PLoS One*, 5(12), e14235.
- [291] Gaia, V., Casati, S., & Tonolla, M. (2011). Rapid identification of Legionella spp. by MALDI-TOF MS based protein mass fingerprinting. *Systematic and applied microbiology*, 34(1), 40-44.
- [292] Martiny, D., Dediste, A., Debryne, L., Vlaes, L., Haddou, N. B., Vandamme, P., & Vandenberg, O. (2011). Accuracy of the API Campy system, the Vitek 2 Neisseria–Haemophilus card and matrix-assisted laser desorption ionization

- time-of-flight mass spectrometry for the identification of *Campylobacter* and related organisms. *Clinical microbiology and infection*, 17(7), 1001-1006.
- [293] Veloo, A. C. M., Knoester, M., Degener, J. E., & Kuijper, E. J. (2011). Comparison of two matrix-assisted laser desorption ionisation-time of flight mass spectrometry methods for the identification of clinically relevant anaerobic bacteria. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(10), 1501-1506.
- [294] Lay Jr, J. O. (2001). MALDI-TOF mass spectrometry of bacteria. *Mass spectrometry reviews*, 20(4), 172-194.
- [295] Sandrin, T. R., Goldstein, J. E., & Schumaker, S. (2013). MALDI TOF MS profiling of bacteria at the strain level: a review. *Mass spectrometry reviews*, 32(3), 188-217.
- [296] Benagli, C., Demarta, A., Caminada, A., Ziegler, D., Petrini, O., & Tonolla, M. (2012). A rapid MALDI-TOF MS identification database at genospecies level for clinical and environmental *Aeromonas* strains. *PLoS One*, 7(10), e48441.
- [297] Willinger, B., Kienzl, D., & Kurzai, R. (2014). Diagnostic of fungal infections. In: Esser K, Kurzai O. *The Mycota. Human fungal Pathogens*. 2nd edn. Vol 12. New York: Springer 2014;229-253.
- [298] Bader, O. (2013). MALDI-TOF-MS-based species identification and typing approaches in medical mycology. *Proteomics*. 2013;13(5):788-99.
- [299] Tanır, T. (2017). *Siğır mastitiserine neden olan stafilokok türlerinin maldi-tof ms ile identifikasyonlarının yapılması* (Master's thesis). Adnan Menders Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın.
- [300] Wieser, A., Schneider, L., Jung, J., & Schubert, S. (2012). MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics—identification of microorganisms and beyond (mini review). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(3), 965-974.
- [301] Schmitt, M., & Popp, J. (2006). Raman spectroscopy at the beginning of the twenty-first century. *J. Raman Spectrosc.*, 37 (2006) 20–28.
- [302] Pacheco, M. T. T., & Moreira, L. M. (2013). Raman spectroscopy: Newperspectives for its clinical application in diagnosis, *Photomed. Laser Surg.*, 31(2013) 463–465.
- [303] Hanlon, E. B., Manoharan, R., Koo, T., Shafer, K. E., Motz, J. T., Fitzmaurice, M., Kramer J.R., Itzkan, I., Dasani, R.R. & Feld, M. S. (2000). Prospects for in vivo Raman spectroscopy. *Physics in Medicine & Biology*, 45(2), R1.
- [304] Taylor, P.D., Vinn, O., Kudryavtsev, A., & Schopf, J. W. (2010). “Raman spectroscopic study of the mineral composition of cirratulid tubes (Annelida, Polychaeta),” *Journal of Structural Biology*, 171:402-405.
- [305] Choo-Smith, L. P., Edwards, H. G. M., Endtz, H. P., Kros, J. M., Heule, F., Barr, H., Robinson, J. S., Jr. Bruining, H. A., & Puppels, G. J. (2002). “Medical applications of Raman spectroscopy: from prof of principal to clinical implementation,” *Biopolymers*, 67:1-9.
- [306] Buijtels, P. C. A. M., Willemsse-Erix, H. F. M., Petit, P. L. C., Endtz, H. P., Puppels, G. J., Verbrugh, H., van Belkum, A., van Soolingen, D., & Maquelin, K. (2008). Rapid identification of mycobacteria by Raman spectroscopy. *Journal of clinical microbiology*, 46(3), 961-965.
- [307] Hamasha, K. M. (2011). Raman spectroscopy for the microbiological characterization and identification of medically relevant bacteria. *Wayne State University Dissertations*. Paper 311.
- [308] Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (1997). *Brock biology of microorganisms* (Vol. 11). Upper Saddle River, NJ: Prentice hall.

- [309] Wang, P., Pang, S., Chen, J., McLandsborough, L., Nugen, S. R., Fan, M., & He, L. (2016). Label-free mapping of single bacterial cells using surface-enhanced Raman spectroscopy. *Analyst*, *141*(4), 1356-1362.
- [310] Escoriza, M. F., Vanbriesen, J. M., Stewart, S., & Maier, J. (2006). Studying bacterial metabolic states using Raman spectroscopy. *Applied spectroscopy*, *60*(9), 971-976.
- [311] Elsayeh, M., & Kandil, A. H. (2016). Detection and identification system of bacteria and bacterial endotoxin based on Raman spectroscopy. *Int. J. Adv. Comput. Sci. Appl*, *7*, 201-205.
- [312] Arda, M. 2006. *Temel Mikrobiyoloji*. Medisan Yayınevi, Ankara.
- [313] Piroeva, I., Atanassova-Vladimirova, S., Dimowa, L., Sbirikova, H., Radoslavov, G., Hristov, P., & Shivachev, B. L. (2013). A simple and rapid scanning electron microscope preparative technique for observation of biological samples: application on bacteria and DNA samples. *Bulg. Chem. Commun*, *45*(4), 510-515.
- [314] Strola, S. A., Baritoux, J. C., Schultz, E., Simon, A. C., Allier, C., Espagnon, I., Jary, D., & Dinten, J. M. (2014). Single bacteria identification by Raman spectroscopy. *Journal of biomedical optics*, *19*(11), 111610.
- [315] De Gelder, J., De Gussem, K., Vandenaabeele, P., & Moens, L. (2007). Reference database of Raman spectra of biological molecules. *Journal of Raman Spectroscopy*, *38*(9), 1133-1147.
- [316] Köprücü, S. Ş., (2001). *Aeromonas hydrophila ile gökkuşağı alabalığında (Oncorhynchus mykiss Walbaum, 1972) oluşturulan enfeksiyonun patolojik yönden araştırılması* (Doktora Tezi). Fırat Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Elazığ.
- [317] Denizci E. F. (2007). *Tatlısu balıklarında hemorajik septisemiye neden olan Aeromonas hydrophila'nın 16S rDNA RFLP VE RAPD analizleri ile identifikasyonu* (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [318] Cipriano, R. C. (2001). Revision of Fish Disease Leaflet 68 (1984), "Aeromonas hydrophila and Motile Aeromonad Septicemias of Fish" by R. C. Cipriano, G. L. Bullock, and S. W. Pyle.
- [319] Avcı, H., Aydoğan, A., Tanrikul, T. T., Birincioğlu, S. S. (2010). Pathological and microbiological investigations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) naturally infected with *Lactococcus garvieae*. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *16*: 313-318.
- [320] Didinen, B. I., Yardımcı, B., Onuk, E. E., Metin, S., & Yıldırım, P. (2014). Naturally *Lactococcus garvieae* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792): new histopathological observations, phenotypic and molecular identification. *Revue Méd Vét*, *165*(1-2), 12-19
- [321] Avcı, H., Birincioğlu, S.S., Tanrikul, T.T., Epikmen, E.T., Metin, N.G., & Avsever, M.L. (2014). Experimental *Lactococcus garvieae* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792: a comparative histopathological and immunohistochemical study. *Journal of Fish Diseases*, *37* 5, 481-95 .
- [322] Durmaz, Y., & Kılıçoğlu, Y. (2015). Bir Alabalık Çiftliğinde Doğal Enfekte Gökkuşağı Alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) *Lactococcus garvieae*'nin Kültür ve PCR ile Saptanması ve Etkenin Antibiyotik Duyarlılık Profillerinin Belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, *10*(2).

- [323] Öztürk, T., Didinen, B. I., Doğan, G., Özer, A., & Bircan, R. (2013). Lactococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) in the middle Black Sea Region in Turkey and antimicrobial susceptibility of the aetiological agent, *Lactococcus garvieae*. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 24, 7-12.
- [324] Sharifiyazdi, H., Akhlaghi, M., Tabatabaei, M., & Mostafavi Zadeh, S. M. (2010). Isolation and characterization of *Lactococcus garvieae* from diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) cultured in Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 11(4), 342-350.
- [325] Kayis S., Capkin E., Balta F., & Altınok I. (2009). Bacteria in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the southern Black Sea Region of Turkey - A survey. *Isr J Aquacult-Bamid* 2009, 61, 339-344.
- [326] Akaylı, T., & Timur, G. (2004). Yavru alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) Pseudomonad septisemisi üzerinde bir çalışma. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 30(1), 121-131.
- [327] Sakai, M., Atsuta, S., & Kobayashi, M. (1989). *Pseudomonas fluorescens* isolated from the diseased rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Kitasato Archives of Experimental Medicine*, 62, 157-162.
- [328] Lamas, J., Santos, Y., Bruno, D. W., Toranzo, A. E., & Anadon, R. (1994). Non-specific cellular responses of rainbow trout to *Vibrio anguillarum* and its extracellular products (ECPs). *Journal of Fish Biology*, 45(5), 839-854.
- [329] Guguianu, E., Vulpe, V., Lazăr, M., & Rimbu, C. (2009). Yersiniosis outbreak in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at a fish farm from northern Romania. *Cercetari Agronomice în Moldova*, 42, 75-80.
- [330] Chettri, J. K., Raida, M. K., Kania, P. W., & Buchmann, K. (2012). Differential immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at early developmental stages (larvae and fry) against the bacterial pathogen *Yersinia ruckeri*. *Developmental & Comparative Immunology*, 36(2), 463-474.
- [331] Karatas, S., Candan, A., & Demircan, D. (2004). Enteric red mouth disease in cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) on the black sea coast of Turkey. *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh* 56(3), 2004, 226-231.
- [332] Denizci, E. F. (2007). *Tatlısu balıklarında hemorajik septisemiye neden olan Aeromonas hydrophila'nın 16S rDNA RFLP VE RAPD analizleriyle identifikasyonu* (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı Hastalıklar Programı, İstanbul.
- [333] González-Serrano, C. J., Santos, J. A., García-López, M. L., & Otero, A. (2002). Virulence markers in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii biovar sobria* isolates from freshwater fish and from a diarrhoea case. *Journal of Applied Microbiology*, 93(3), 414-419.
- [334] Köprücü, S. Ş. (2001). *Aeromonas hydrophila* ile gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1972) oluşturulan enfeksiyonun patolojik yönden araştırılması (Doktora Tezi). Fırat Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Elazığ.
- [335] Orozova, P., Chikova, V., & Najdenski, H. (2010). Antibiotic resistance of pathogenic for fish isolates of *Aeromonas* spp. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 16(3), 376-386.

- [336] Öztürk, D., Adanır, R., & Türütoğlu, H. (2007). Isolation and antibiotic susceptibility of *Aeromonas hydrophila* in a carp (*Cyprinus carpio*) hatchery farm. *Bull Vet Inst Pulawy* 51, 361-364.
- [337] Duman, M., Saticioğlu, I. B., & Altun, S. (2018). Biochemical Differences and Rapid Identification of *Yersinia ruckeri* and *Lactococcus garvieae* Isolated from Aquaculture. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 37(1), 37-47.
- [338] Darak, O., & Barde, R. D. (2015). *Pseudomonas fluorescens* associated with bacterial disease in *Catla catla* in Marathwada region of Maharashtra. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 6(2), 189-195.
- [339] Eissa, N. M. E., El-Ghiet, E. A., Shaheen, A. A., & Abbass, A. (2010). Characterization of *Pseudomonas* species isolated from tilapia "*Oreochromis niloticus*" in Qaroun and Wadi-El-Rayan lakes, Egypt. *Global Veterinaria*, 5(2), 116-121.
- [340] Dinçtürk, E., & Tanrıkul, T. T. (2018). Clinical listonellosis in meagre (*Argyrosomus regius*) from recirculated aquaculture system in Turkey. *Acta Veterinaria Brno*, 87(3), 269-275.
- [341] Tanrıkul, T. T., & Gultepe, N. (2011). Mix infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum): *Lactococcus garvieae* and *Vibrio anguillarum* O1. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(8), 1019-1023.
- [342] Altun, S., Onuk, E. E., Ciftci, A., Duman, M., & Büyükekiz, A. G. (2013). Determination of phenotypic, serotypic and genetic diversity and antibiotyping of *Yersinia ruckeri* isolated from rainbow trout. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(2), 225-232.
- [343] Altınok, I., Capkin, E., & Boran, H. (2016). Comparison of molecular and biochemical heterogeneity of *Yersinia ruckeri* strains isolated from Turkey and the USA. *Aquaculture*, 450, 80-88.
- [344] Tinsley, J. (2010). *Studies on the pathogenicity of Yersinia ruckeri biotype 2 to rainbow trout (Oncorhynchus mykiss, Walbaum)* (Doctoral dissertation). Heriot-Watt University.
- [345] Farmer, J. J., Hickman-Brenner, F. W., & Kelly, M. T. (1985). *Vibrio*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 4th edn. ASM Press, Washington DC, pp 282–301.
- [346] Grimes, D. J. (1991). Ecology of estuarine bacteria capable of causing human disease: a review. *Estuaries*, 14:345–360.
- [347] Blanco-Abad, V., Ansedo-Bermejo, J., Rodriguez-Castro, A., & Martinez-Urtaza, J. (2009). Evaluation of different procedures for the optimized detection of *Vibrio parahaemolyticus* in mussels and environmental samples. *Int J Food Microbiol*, 129:229–236.
- [348] Eddabra, R., Piemont, Y., & Scheftel, J. M. (2011). Evaluation of a new chromogenic medium, chromID™ *Vibrio*, for the isolation and presumptive identification of *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* from human clinical specimens. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 30(6), 733.
- [349] Di Pinto, A., Terio, V., Novello, L., & Tantillo, G. (2011). Comparison between thiosulphate-citrate-bile salt sucrose (TCBS) agar and CHROMagar *Vibrio* for isolating *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Control*, 22(1), 124-127.

- [350] Gil, P., Vivas, J., Gallardo, C. S., & Rodriguez, L. A. (2000). First isolation of *Staphylococcus warneri*, from diseased rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in northwest Spain. *Journal of Fish Diseases*, 23(4), 295-298.
- [351] Shotts, E. B., & Teska, J. D. (1989). Bacterial pathogens of aquatic vertebrates. *Methods for the microbiological examination of fish and shellfish*, 21, 164-186. Ellis Horwood, Oxford.
- [352] Alrabadi, N. I. (2012). The effect of several antibiotics on *Lactococcus garvieae* isolated from jordanian dairy products. *Am. J. Agric. Biol. Sci*, 7(4), 468-472.
- [353] Algöet, M., Bayley, A. E., Roberts, E. G., Feist, S. W., Wheeler, R. W., & Verner-Jeffreys, D. W. (2009). Susceptibility of selected freshwater fish species to a UK *Lactococcus garvieae* isolate. *Journal of fish diseases*, 32(10), 825-834.
- [354] Ture, M., & Boran, H. (2015). Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance of *Lactococcus sp.* strains isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 59(1), 37-42.
- [355] Cabello, F. C., Godfrey, H. P., Tomova, A., Ivanova, L., Dölz, H., Millanao, A., & Buschmann, A. H. (2013). Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. *Environmental microbiology*, 15(7), 1917-1942.
- [356] Muziasari, W. I., Managaki, S., Pärnänen, K., Karkman, A., Lyra, C., Tamminen, M., Suzuki, S. & Virta, M. (2014). Sulphonamide and trimethoprim resistance genes persist in sediments at Baltic Sea aquaculture farms but are not detected in the surrounding environment. *PLoS One*, 9(3), e92702.
- [357] De Gelder, J. (2008). *Raman spectroscopy as a tool for studying bacterial cell compounds* (Doctoral dissertation). Ghent University.
- [358] Clark, A. E., Kaleta, E. J., Arora, A., & Wolk, D. M. (2013). Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. *Clinical microbiology reviews*, 26(3), 547-603.
- [359] Özcan, N. (2015). *Klinik örneklerden izole edilen çoklu ilaç dirençli Acinetobacter baumannii suşlarında bazı karbapenemazların genotipik yöntemlerle araştırılması* (Tıpta Uzmanlık Tezi). Dicle Üniversitesi / Tıp Fakültesi / Temel Tıp Bilimleri Bölümü / Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Elazığ.
- [360] Benagli, C., Rossi, V., Dolina, M., Tonolla, M., & Petrini, O. (2011). Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry for the identification of clinically relevant bacteria. *PloS one*, 6(1), e16424.
- [361] Bizzini, A., Jatón, K., Romo, D., Bille, J., Prod'hom, G., & Greub, G. (2011). Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry as an alternative to 16S rRNA gene sequencing for identification of difficult-to-identify bacterial strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(2), 693-696.
- [362] Saffert, R. T., Cunningham, S. A., Ihde, S. M., Jobe, K. E. M., Mandrekar, J., & Patel, R. (2011). Comparison of Bruker Biotyper matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometer to BD Phoenix automated microbiology system for identification of gram-negative bacilli. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(3), 887-892.

- [363] Dubois, D., Grare, M., Prere, M. F., Segonds, C., Marty, N., & Oswald, E. (2012). Performances of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry system for rapid identification of bacteria in routine clinical microbiology. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(8), 2568-2576.
- [364] Kierzkowska, M., Majewska, A., Kuthan, R. T., Sawicka-Grzelak, A., & Młynarczyk, G. (2013). A comparison of Api 20A vs MALDI-TOF MS for routine identification of clinically significant anaerobic bacterial strains to the species level. *Journal of microbiological methods*, 92(2), 209-212.
- [365] Sala-Comorera, L., Vilaró, C., Galofré, B., Blanch, A. R., & García-Aljaro, C. (2016). Use of matrix-assisted laser desorption/ionization–time of flight (MALDI–TOF) mass spectrometry for bacterial monitoring in routine analysis at a drinking water treatment plant. *International journal of hygiene and environmental health*, 219(7), 577-584.
- [366] López-Fabal, M. F., Gómez-Garcés, J. L., López-Hontangas, J. L., Sanz, N., Muñoz, C., & Regodón, M. (2015). Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identifying respiratory bacterial pathogens: a fast and efficient method. *Rev Esp Quimioter*, 28(5), 242-246.
- [367] Moon, H. W., Lee, S. H., Chung, H. S., Lee, M., & Lee, K. (2013). Performance of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry system for identification of Gram-positive cocci routinely isolated in clinical microbiology laboratories. *Journal of Medical Microbiology*, 62(9), 1301-1306.
- [368] Oputa, O., Croxatto, A., Prod'hom, G., & Greub, G. (2015). Blood culture-based diagnosis of bacteraemia: state of the art. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(4), 313-322.
- [369] Suntsova, A. Y. U., Guliev, R. R., Popov, D. A., Vostrikova, T. Y. U., Dubodelov, D. V., Schegolikhin, A. N., Laypanov, B. K., Priputnevich, T. V., Shevelev, A. B., & Kurochkin, I. N. (2018). Identification of microorganisms by Fourier-Transform Infrared Spectroscopy. *Bulletin of Russian State Medical University*, (4), 50-57 DOI: 10.24075/vrgmu.2018.046
- [370] Garip, S., Gozen, A. C., & Severcan, F. (2009). Use of Fourier transform infrared spectroscopy for rapid comparative analysis of Bacillus and Micrococcus isolates. *Food Chemistry*, 113(4), 1301-1307.
- [371] Dziuba, B., Babuchowski, A., Nałęcz, D., & Niklewicz, M. (2007). Identification of lactic acid bacteria using FTIR spectroscopy and cluster analysis. *International Dairy Journal*, 17(3), 183-189.
- [372] Erukhimovitch, V., Pavlov, V., Talyshinsky, M., Souprun, Y., & Huleihel, M. (2005). FTIR microscopy as a method for identification of bacterial and fungal infections. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37(5), 1105-1108.
- [373] Kahraman, M. (2007). *Bakterilerin yüzeyde zenginleştirilmiş raman spektrumlarını etkileyen parametrelerin incelenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). Yıldız Teknik Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Bölümü, İstanbul.
- [374] Oztoprak, B. G., Akman, E., Hanon, M. M., Günes, M., Gümüş, S., Kacar, E., Gundugdu, O., Zeren, M., & Demir, A. (2013). Laser welding of copper with stellite 6 powder and investigation using LIBS technique. *Optics & Laser Technology*, 45, 748-755.

- [375] Pahlow, S., Meisel, S., Cialla-May, D., Weber, K., Rösch, P., & Popp, J. (2015). Isolation and identification of bacteria by means of Raman spectroscopy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 89, 105-120.
- [376] McCreery, R.L. (2000). *Raman Spectroscopy For Chemical Analysis* (chemical analysis series vol. 157). Chapter 1 Introduction and scope. John Wiley and Sons, New York, 1-14.
- [377] Sil, S., Mukherjee, R., Kumar, N. S., Aravind, S., Kingston, J., & Singh, U. K. (2017). Detection and classification of bacteria using Raman spectroscopy combined with multivariate analysis. *Defence Life Science Journal*, 2(4), 435-441.
- [378] Goeller, L. J., & Riley, M. R. (2007). Discrimination of bacteria and bacteriophages by Raman spectroscopy and surface-enhanced Raman spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, 61(7), 679-685.
- [379] Strola, S. A., Schultz, E., Allier, C. P., DesRoches, B., Lemmonier, J., & Dinten, J. M. (2013). Raman microspectrometer combined with scattering microscopy and lensless imaging for bacteria identification. In *Advanced Biomedical and Clinical Diagnostic Systems XI* (Vol. 8572, p. 85720X). International Society for Optics and Photonics.
- [380] Harz, M., Rösch, P., Peschke, K. D., Ronneberger, O., Burkhardt, H., & Popp, J. (2005). Micro-Raman spectroscopic identification of bacterial cells of the genus *Staphylococcus* and dependence on their cultivation conditions. *Analyst*, 130(11), 1543-1550.
- [381] Walter, A., März, A., Schumacher, W., Rösch, P., & Popp, J. (2011). Towards a fast, high specific and reliable discrimination of bacteria on strain level by means of SERS in a microfluidic device. *Lab on a Chip*, 11(6), 1013-1021.
- [382] Almarashi, J. F., Kapel, N., Wilkinson, T. S., & Telle, H. H. (2012). Raman spectroscopy of bacterial species and strains cultivated under reproducible conditions. *Journal of Spectroscopy*, 27(5-6), 361-365.
- [383] Assaf, A., Cordella, C. B., & Thouand, G. (2014). Raman spectroscopy applied to the horizontal methods ISO 6579: 2002 to identify *Salmonella* spp. in the food industry. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 406(20), 4899-4910.
- [384] Bocklitz, T., Walter, A., Hartmann, K., Rösch, P., & Popp, J. (2011). How to pre-process Raman spectra for reliable and stable models?. *Analytica chimica acta*, 704(1-2), 47-56.
- [385] Cam, D., Keseroglu, K., Kahraman, M., Sahin, F., & Culha, M. (2010). Multiplex identification of bacteria in bacterial mixtures with surface-enhanced Raman scattering. *Journal of Raman Spectroscopy: An International Journal for Original Work in all Aspects of Raman Spectroscopy, Including Higher Order Processes, and also Brillouin and Rayleigh Scattering*, 41(5), 484-489.
- [386] Haenen, O. L., Evans, J. J., & Berthe, F. (2013). Bacterial infections from aquatic species: potential for and prevention of contact zoonoses. *Revue scientifique et technique* (International Office of Epizootics), 32(2), 497-507.
- [387] Maquelin, K., Kirschner, C., Choo-Smith, L. P., van den Braak, N., Endtz, H. P., Naumann, D., & Puppels, G. J. (2002). Identification of medically relevant microorganisms by vibrational spectroscopy. *Journal of microbiological methods*, 51(3), 255-271.
- [388] Rey, A., Verjan, N., Ferguson, H. W., & Iregui, C. (2009). Pathogenesis of *Aeromonas hydrophila* strain KJ99 infection and its extracellular products in two species of fish. *Veterinary Record*, 164(16), 493-499.

- [389] Kirov, S. M. (1993). The public health significance of *Aeromonas spp.* in foods. *International Journal Food Microbiology*, 20(4): 179–198.
- [390] Krovacek, K., Dumontet, S., Eriksson, E., & Baloda, S. B. (1995). Isolation, and virulence profiles, of *Aeromonas hydrophila* implicated in an outbreak of food poisoning in Sweden. *Microbiology and immunology*, 39(9), 655-661.
- [391] Daskalov, H. (2006). The importance of *Aeromonas hydrophila* in food safety. *Food Control*, 17(6): 474–483.
- [392] Ye, Y. W., Fan, T. F., Li, H., Lu, J. F., Jiang, H., Hu, W., & Jiang, Q. H. (2013). Characterization of *Aeromonas hydrophila* from hemorrhagic diseased freshwater fishes in Anhui Province, China. *International Food Research Journal*, 20(3), 1449.
- [393] Wang, K., Li, S., Petersen, M., Wang, S., & Lu, X. (2018). Detection and characterization of antibiotic-resistant bacteria using surface-enhanced raman spectroscopy. *Nanomaterials*, 8(10), 762.



ÖZGEÇMİŞ VE YAYINLAR LİSTESİ

Email: ezgidincturk@gmail.com

ÖĞRENİM BİLGİSİ

| | |
|----------------------|--|
| Doktora | İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (2014/2019) Universidade de Santiago de Compostela – İspanya Temmuz 2018 Erasmus+ Personel Hareketliliği Programı |
| Yüksek Lisans | İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (2012/2014) |
| Lisans | Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği (2007 / 2012) Universita del Salento – Lecce / İtalya (2010/2011) Erasmus+ Öğrenci Hareketliliği Programı |
| Önlisans | Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Laborant ve Veteriner Sağlık Önlisans Programı (2017–2019) |

YABANCI DİL BİLGİSİ

| | |
|------------------|--|
| İngilizce | TOEFL Score: 87 – Reading : 20/30 Listening : 23/30 Speaking : 22/30 Writing : 22/30 |
|------------------|--|

YDS: 80 (01.04.2018)

YÖKDİL: 87.5 (10.03.2019)

| | |
|------------------|---|
| İtalyanca | CILS (Certificazione di Italiano come Lingua Straniera) : 74/100 |
|------------------|---|

Il Centro Culturale Italiano B2 (06.2018)

A- Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

A1- Dinçtürk, E., Tanrıkul, T. T., & Birincioğlu, S. (2019). First Report of *Saprolegnia parasitica* from a Marine Species: Gilthead Seabream (*Sparus aurata*) in Brackish Water Conditions. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 70(2), 1503-1510. doi:<http://dx.doi.org/10.12681/jhvms.20825> (SCIE)

A2 - Dinçtürk, E , Tanrıkul, T , Dereli, H . (2019). The Infestation of *Eustrongylides excisus* in Pike Perch (*Sander lucioperca* L., 1758) (Teleostei: Percidae). *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4 (2) , 122-126 . DOI: 10.35229/jaes.544875

A3 - Dinçtürk, E., & Tanrıkul, T. T. (2018). Clinical listonellosis in meagre (*Argyrosomus regius*) from recirculated aquaculture system in Turkey. *Acta Vet. Brno*, 87: 269-275; <https://doi.org/10.2754/avb201887030269> (SCIE)

A4- Dinçtürk, E., Tanrıkul, T. T., & Çulha, S. T. (2018). Fungal and Bacterial Co-Infection of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus 1758) in a Recirculating Aquaculture System: *Saprolegnia parasitica* and *Aeromonas hydrophila*. *Aquatic Sciences and Engineering*, 33(3), 67-71

A5- Dereli, H. & Dincturk, E. (2016). Population Structure and Some Growth Properties of Gibel Carp (*Carassius gibelio*) in a Mesotrophic Lake. *Not Sci Biol*, 8(3):286-291.

B- Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler

B1- Tanrıkul, T. T. & Dinçtürk, E., 2018. Use of New Bacteriological Mediums in The Isolation of Bacterial Fish Pathogens, International Congress on Engineering and Life Science (Oral Presentation)

B2- Deniz, M., Dinçtürk, E. & Karaduman, F. R., 2018. Reproduction of Bushymouth Catfish in Aquarium Conditions, International Congress on Engineering and Life Science (Poster Presentation)

B3- Doğan, M., Tanrıkul, T. T. & Dinçtürk, E., 2018. Lerneosis in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Cage Culture, International Congress on Engineering and Life Science (Poster Presentation)

B4- Tanrıkul, T. T. & Dinçtürk, E., 2017. Antibacterial Susceptibility of Hydrolysable Tannins (Silvafeed® Tsp) Against Bacterial Fish Pathogens, Aquaculture Europe 2017 (Poster Presentation)

B5- Tanrıku, T. T. & Dinçtürk, E., 2017. Prevalence of Lactococcosis from Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Farms in South Aegean Region, III. International Congress on Zoology and Technology (Oral Presentation)

PROJELERDE YAPTIĞI GÖREVLER

1. Bakteriyel Balık Patojenlerinin İzolasyonunda Yeni Bakteriyolojik Besi Yerlerinin Kullanımı Ve Modifiye Besi Yerlerinin Geliştirilmesi, Araştırmacı, (2017-2019), İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Genel Araştırma Projesi (2017-GAP-SUÜF-0005)
2. Ege Bölgesi'ndeki Alabalık İşletmelerinde Ortaya Çıkan Bakteriyel Hastalıklar Üzerine Bir Araştırma, Araştırmacı, (2017-2019), İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Doktora Tez Projesi (2017-TDR-FEBE-0033)
3. İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama Ve Araştırma Merkezi Altyapı Projesi, Araştırmacı, (2017-Devam ediyor), İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Koordinatörlüğü Altyapı Projesi (2017-ALT-SUÜF-0001)
4. Lactococcosis'in Güney Ege Bölgesindeki Alabalık İşletmelerinde Yaygınlığının Araştırılması, Araştırmacı, (2014 - 2016), İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Genel Araştırma Projesi (2014-1-SUÜ-01)
5. Beyşehir Ekosistem Rehabilitasyon Projesi II : Beyşehir Gölü Balıklarının Kültürü, Araştırmacı, (2014), Tarım ve Orman Bakanlığı Projesi
6. Beyşehir Gölü'nde Gümüşi Havuz Balığının Bazı Populasyon Özellikleri ve Göl Balıkçılığına Etkisinin Belirlenmesi, Araştırmacı, (2013-2014), İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Yüksek Lisans Tez Projesi (2014-1-TEZ-42)
7. Dip Trol Ağlarında Baklava ve Kare Gözlü Torbaların Seçiciliğinin Araştırılması, Araştırmacı, (2013-2014), İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Genel Araştırma Projesi (2013-2-FMBP-03)
8. Beyşehir Gölü Ekosistem Rehabilitasyon Projesi, Araştırmacı, (2012-2013), Tarım ve Orman Bakanlığı Projesi

EĞİTİM-ÖĞRETİM FAALİYETLERİ

1. **Balık Hastalıkları** – Laboratuvar Uygulama Dersi – Araştırma Görevlisi
2. **Genel Mikrobiyoloji** – Laboratuvar Uygulama Dersi – Araştırma Görevlisi
3. **Balık Sağlığı Yönetimi**– Laboratuvar Uygulama Dersi – Araştırma Görevlisi
4. **Paraziter Balık Hastalıkları**– Laboratuvar Uygulama Dersi – Araştırma Görevlisi
5. **Plankton Bilgisi**– Laboratuvar Uygulama Dersi – Araştırma Görevlisi

DİĞER EĞİTİM VE SERTİFİKALAR

| | |
|------------|---|
| 07/2019 | Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Su Ürünleri Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası |
| 11/2017 | Ege Üniversitesi Deney Hayvanı Kullanımı Kursu |
| 12/2013 | EU Grant Funds Project Cycle Management Course (PCM) |
| 03/2013 | Izmir Development Agency (IZKA) Aquaculture Workshop |
| 2012/ 2013 | Izmir Konak Municipality Spanish Course |
| 11/2012 | Harmonization of Biodiversity and Marine Endustries Turkey-Japan Marine Forum |
| 10/2012 | How to Write a Scientific Paper Harol Rosenthal One Day Course Programme |
| 03/2012 | ISO 14001 Certificate Program |
| 03/2012 | ISO 9001 Certificate Program |
| 03/2012 | OHSAS 18001 Certificate Program |
| 03/2012 | ISO 22000 Certificate Program |
| 03/2012 | ISO 19011 Certificate Program |
| 03/2012 | ISO 19011 Certificate Program |
| 2010/2011 | Centro Linguistico di Ateneo - Corso di Italiano / Università del Salento |
| 11/2009 | Ege Water Forum EGESKUT |