



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KÜLTÜR BALIKLARINDA GÖRÜLEN STAFİLOKOKKAL
ENFEKSİYONLAR ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

Emre TURGAY

**Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı
Hastalıklar Programı**

Danışman

Prof.Dr. Akın CANDAN

Temmuz, 2009

İSTANBUL



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KÜLTÜR BALIKLARINDA GÖRÜLEN STAFİLOKOKKAL
ENFEKSİYONLAR ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

Emre TURGAY

**Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı
Hastalıklar Programı**

Danışman

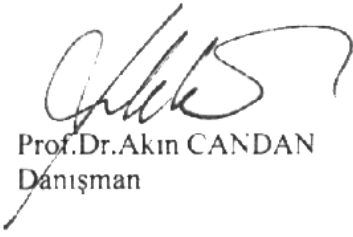
Prof.Dr. Akın CANDAN

Temmuz, 2009

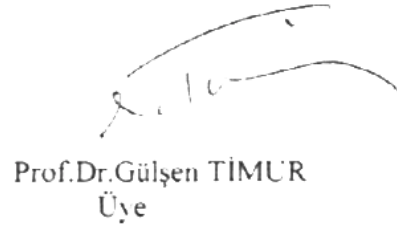
İSTANBUL

Bu çalışma 13/7/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı Hastalıklar programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi



Prof. Dr. Akın CANDAN
Danışman



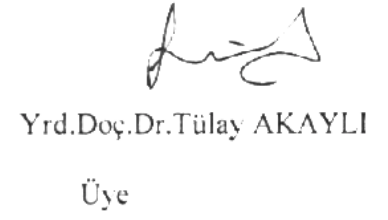
Prof. Dr. Gülşen TİMUR
Üye



Prof. Dr. Mine ANG KÜÇÜK
Üye



Doç. Dr. Süheyla KARATAŞ STEINUM
Üye



Yrd. Doç. Dr. Tülay AKAYLI
Üye

Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliđi'nin 3481 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans öğrenimim sırasında ve tez çalışmalarım boyunca gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli hocalarım Prof. Dr. Akın CANDAN, Prof. Dr. Gülşen TİMUR, Doç. Dr. Süheyla KARATAŞ STEINUM ve Yrd. Doç. Tülay AKAYLI'ya, tez çalışmamın uygulama kısmını destekleyen İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Temel Bilimler Bölümü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Mine ANĞ KÜÇÜKER ve İ.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden Yrd. Doç. Dr. İrfan TÜRETGEN'e, çalışma boyunca yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Araş. Gör. M. Didem ERCAN, Araş. Gör. R. Eda YARDIMCI, Araş. Gör. Didem ÜÇOK ALAKAVUK ve Araş. Gör. Ş. Yasemin TOSUN'a teşekkür ederim.

Emre TURGAY - Temmuz 2009

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
TABLO LİSTESİ	v
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR	3
2.1. STAFİLOKOKLAR HAKKINDA GENEL BİLGİLER	3
2.1.1 Tarihçe	3
2.1.2 Ekolojik Özellikler	4
2.1.2.1 Bazı Stafilocok Türlerinin Konak ve Niş Özellikleri	5
2.1.3 Cins Özellikleri	11
2.1.3.1 Morfolojik özellikler	11
2.1.3.2 Kültür özellikleri	11
2.1.3.3 Fiziksel ve Kimyasal Etkenlere Karşı Duyarlılık	13
2.1.3.4 Antimikrobiyal Maddelere Karşı Duyarlılık	13
2.2 BALIK DIŞINDAKİ CANLI GRUPLARINDA GÖRÜLEN STAFİLOKOK ENFEKSİYONLARI	14
2.3 STAFİLOKOKLARIN TANISINDA KULLANILAN YÖNTEMLER	17
2.3.1 <i>Staphylococcus</i> ve <i>Micrococcus</i> Ayrımı	18
2.3.2 Geleneksel Yöntemler	19
2.3.3 Moleküler Yöntemler	21
2.3.4 Hızlı Tanı Sistemleri	22
2.4 BALIKLARDA STAFİLOKOKKOZİS	23
2.4.1 Etiyoloji	23
2.4.2 Epizootiyoloji ve Klinik Bulgular	28
2.4.3. Tedavi	30

3. MALZEME VE YÖNTEM	32
3.1. MALZEME.....	32
3.1.1. Örneklemenin Yapıldığı İşletme	32
3.1.2. Balıkların Örneklenmesi	32
3.1.3. Kullanılan Besi Yerleri, Kimyasallar, Antibiyotikler ve Kitler	32
3.2 YÖNTEM.....	33
3.2.1 Klinik Muayene ve Otopsi	33
3.2.2 Bakteriolojik İnceleme	34
3.2.2.1 Hareket Muayenesi, Morfolojik ve Geleneksel Biyokimyasal Testler	34
3.2.2.2 API-Staph kiti.....	35
3.2.2.3 API-Zym kiti.....	35
3.2.2.4 Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	36
4. BULGULAR	37
4.1 KLİNİK VE OTOPSİ BULGULARI.....	37
4.2 BAKTERİYOLOJİK BULGULAR	40
4.3 API-STAPH BULGULARI.....	46
4.4 API-ZYM BULGULARI.....	47
4.5 ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTİ BULGULARI	47
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	49
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	64

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1.	: İnsan stafilokok türlerinin rutin tanımlanması için basitleştirilmiş yöntem	21
Şekil 4.1	: Gözlerde ekzoftalmus ve renkte koyulaşma	37
Şekil 4.2	: Karında şişkinlik, renkte koyulaşma ve gözlerde ekzoftalmus	38
Şekil 4.3	: Gözlerde ekzoftalmus	38
Şekil 4.4	: Gözde hemoraji	39
Şekil 4.5	: Büyümüş dalak ve solgun karaciğer	39
Şekil 4.6	: Suşun TSA besi yerinde görünümü	42
Şekil 4.7	: Suşun Gram boyanmış görüntüsü (x1000)	42
Şekil 4.8	: O/F besi yerinde fermantatif üreme	43
Şekil 4.9	: Şekerden asit oluşumu negatif sonuç (D-Mannitol)	44
Şekil 4.10	: Şekerden asit oluşumu pozitif sonuç (β -D-Fruktoz)	44
Şekil 4.11	: Kanlı agarda gama hemoliz görüntüsü	44
Şekil 4.12	: Pozitif üre testi sonucu	45
Şekil 4.13	: Pozitif sitrat testi sonucu	45
Şekil 4.14	: API-Staph sonucu	46
Şekil 4.15	: API-Zym sonucu	47
Şekil 4.16	: Suşun basitrasin (10 μ g), furazolidon (100 μ g), neomisin (30 μ g) ve polimiksin B (300 μ g) antibiyotiklerine ait duyarlılık testi	48

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. : Stafilokokların tanısı için üretilen bazı hızlı tanı sistemleri.....	23
Tablo 2.2. : Balık patojeni stafilokok türlerine ait fenotipik özellikler	24
Tablo 4.1. : İzole edilen suşun fenotipik özellikleri	40
Tablo 4.2. : Suşun API-Staph profili	46
Tablo 4.3. : Suşun API-Zym profili.....	47
Tablo 4.4. : Suşun antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.....	48

ÖZET

KÜLTÜR BALIKLARINDA GÖRÜLEN STAFİLOKOKKAL ENFEKSİYONLAR ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Birçok Gram pozitif bakteri balık patojeni olarak bilinmekte ve bunların içinde *Staphylococcus* cinsine ait bakterilerin de hasta balıklardan hastalık etkeni olarak izole edildiği çeşitli dönemlerde rapor edilmektedir.

Ülkemizde de bildirimlerin yapıldığı stafilocokkal enfeksiyonlara neden olan patojenler genellikle fırsatçı patojenler olarak tanımlanmıştır ve hastalık çıkışı büyük ölçüde stres yapıcı faktörlerle birlikte ilişkilendirilmiştir.

Bu çalışmada, kültür balıklarında görülen stafilocok enfeksiyonlarına neden olan patojen *Staphylococcus* cinsine ait bakterilerin örnekleme yapılan balıklardan izole edilerek tür düzeyinde belirlenmesi, karşılaştırılması ve çeşitli anti-mikrobiyal maddelere karşı duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır.

Çeşitli biyokimyasal testlerin ve API-Staph ve API-Zym tanı kitlerinin kullanıldığı testler sonucunda, hasta gökkuşağı alabalıklarından izole edilen suşun *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* olduğu saptanmıştır.

Yoğun mortalitenin görüldüğü hasta balıklarda iç ve dış bulgular; renkte koyulaşma, letarji, gözlerde ekzoftalmus ve hemoraji, ventral yüzgeçlerin dibinde hemoraji, abdominal boşlukta sıvı birikimi ve buna bağlı olarak şişkin karın, hemorajik anüs, splenomegali ve vişne kırmızısı renkte dalak, solgun veya kırmızımsı renge sahip karaciğer ve bağırsaklarda sarımsı mukoid sıvı toplanması gözlenmiştir.

Antibiyotik duyarlılık testinde tanımlanan suşun: ampisilin 10 µg, basitrasin 10 µg, kanamisin 30 µg, neomisin 30 µg, oksitetrasiklin 30 µg, polimiksin B 300 µg, streptomisin 10 µg, sülfametoksazol/trimetoprim 19:1 25µg antibiyotiklerine duyarlı; sefotaksim 30 µg, kloramfenikol 30 µg, eritromisin 5 µg, flumequin 30 µg, furazolidon 100 µg antibiyotiklerine dirençli olduğu bulunmuştur.

SUMMARY

A RESEARCH ON THE STAPHYLOCOCCAL INFECTIONS IN CULTURED FISH SPECIES

There are numerous Gram positive bacteria known as pathogenic for fish and the members of the genus *Staphylococcus* have been isolated occasionally from the moribund fish as the aetiological agent of disease.

The pathogenic *Staphylococcus* species have been considered as opportunistic pathogens and the outbreak of the disease which have also been reported in Turkey has been linked usually with stressor factors.

The aim of this study was to identify pathogenic members of the genus *Staphylococcus* which cause staphylococcal infections in fish, on species-level and to determine antibiotic susceptibility of the isolated strains.

After performing various biochemical tests and using API-Staph identification system, the isolated strain was identified as *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis*.

Moribund fish showed at least one of the symptoms such as darkening color, lethargy, exophthalmos and focal hemorrhages in the eyes, hemorrhages at the base of the fins, abdominal distension due to ascitic fluid, hemorrhagic anus, splenomegaly and cherry reddish spleen, pale or reddish liver and yellowish mucoid liquid in the intestine.

Antibiotic susceptibility test showed that identified strain was sensitive to ampicillin 10 µg, bacitracin 10 µg, kanamycin 30 µg, neomycin 30 µg, oxytetracycline 30 µg, polymyxin B 300 µg, streptomycin 10 µg, sulphamethoxazole/trimethoprim 19:1 25 µg and was resistant to cefotaxime 30 µg, chloramphenicol 30 µg, erythromycin 5 µg, flumequine 30 µg, furazolidone 100 µg antibiotics.

1. GİRİŞ

Balık hastalıkları, diğer canlılardaki hastalıklarda da gözlenen; konak, patojen ve çevre öğelerinin birbirleriyle etkileşimi sonucunda ortaya çıkan bir olgudur. Bu tablodaki konak, balığın kendisi; patojen ise bakteri, virüs, mantar veya parazit olmaktadır. Üçüncü öge olan çevre ise balık hastalıklarında büyük öneme sahip olan stres faktörlerinin şekillendiği ögedir. Suyun sıcaklık, pH, çözünmüş gazlar vb. fiziksel ve kimyasal değerlerinin türe özgü tolerans sınırlarının dışına çıkması; kemoterapi, taşıma, boylama, popülasyon yoğunluğu vb. balıkçılık uygulamaları, balıklarda stres oluşturan etkenlerden bazılarıdır. Balıklarda hastalık yapan bakterilerin çok azı stresin olmadığı veya çok düşük seviyede olduğu bir ortamda enfeksiyon yaratabilmekteyken, diğer çoğunluğu ise ancak ağır bir şekilde stres altında olan konağı istila ederek hastalık oluşturabilmektedir (Snieszko, 1972; Inglis ve diğ., 1993; Austin ve Austin, 2007).

Balık hastalıklarıyla ilgili çalışmalar esas olarak, hastalıkların ortaya çıkışıyla birlikte balık kayıplarının yaşandığı balık yetiştiriciliğindeki (akuakültür) problemler üzerine yoğunlaşmaktadır. Balık çiftliklerinde görülen bu hastalıklar; aniden başlayıp yüksek mortaliteyle seyrederek yine aynı hızla ortadan kalkan nitelikte olabildiği gibi (*akut* hastalık), daha yavaş ve az kayıpla seyreden ancak popülasyonda daha kalıcı nitelikte de (*kronik* hastalık) olabilmektedir (Austin ve Austin, 2007).

Günümüzde birçok bakteri balık hastalıklarıyla ilişkilendirilmektedir ancak bu bakterilerden sadece az bir kısmı birincil patojen olup, büyük bir kısmı da ancak konağın bağışıklık sisteminin zayıfladığı durumda hastalık oluşturan fırsatçı patojendirler. Ayrıca balık patojeni olan bakterilerin birçoğu balık dışında bağımsız olarak yaşayabilmekteyken, ancak küçük bir kısmı zorunlu balık patojenidirler. Balıklarda hastalık oluşumuna neden olan bu bakteriler tek bir türden oluşabileceği gibi, bazen birden fazla bakteri türü birbirleriyle etkileşimde bulunarak (sinerjik etki) hastalık oluşturmaktadırlar (Inglis ve diğ., 1993; Austin ve Austin, 2007).

Balıklarda patojen olduğu belirlenen birçok bakteri bilinmektedir. Günümüzde deniz ve tatlı su balıklarında hastalıklara neden olduğu belirlenen Gram pozitif bakteriler: *Clostridium botulinum*, *Eubacterium tarantellae*, *Enterococcus* (*Streptococcus*) *faecalis*, *Vagococcus salmoninarum*, *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus piscium*,

Streptococcus dysgalactiae, *Streptococcus difficilis* (= *S. agalactiae*), *Streptococcus iniae* (= *S. shiloi*), *Streptococcus anginosus* (*S. milleri*), *Streptococcus parauberis*, *Renibacterium salmoninarum*, *Bacillus* sp., *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Leifsonia aquatica* (*Corynebacterium aquaticum*), *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium* sp., *Nocardia* sp., *Rhodococcus* sp., *Rhodococcus erythropolis*, *Planococcus* sp., *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri* olarak rapor edilmiştir (Austin ve Austin, 2007; Euzéby, 2009)

Bu bakterilerden stafilocokların, sarı kuyruk (*Seriola quinqueradiata*) ve kırmızı mercan (*Pagrus major*) balıklarında (Kusuda ve Sugiyama, 1981), gümüş sazanlarında (*Hypophthalmichthys molitrix*) (Shah ve Tyagi, 1986), ot sazanlarında (*Ctenopharyngodon idella*) (Wang ve diğ., 1996), tilapia balıklarında (*Oreochromis* sp.) (Huang ve diğ., 1999), gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) (Gil ve diğ., 2000; Timur ve Akaylı, 2003), çipura balıklarında (*Sparus aurata*) (Kubilay ve Uluköy, 2004; Varvarigos, 2008) ve levrek balıklarında (*Dicentrarchus labrax*) (Varvarigos, 2008) hastalık oluşturduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada, kültür balıklarında görülen stafilocok enfeksiyonlarına neden olan *Staphylococcus* cinsine ait bakterilerin, örnekleme yapılan işletmedeki balıklardan izole edilerek tür düzeyinde belirlenmesi ve çeşitli antimikrobiyal maddelere karşı duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. STAFİLOKOKLAR HAKKINDA GENEL BİLGİLER

2.1.1. Tarihçe

Staphylococcus (Yunanca: staphylē=üzüm salkımı, kókkos=granül) ismi ilk olarak 1883 yılında Ogston tarafından, yangı ve iltihap oluşumuna neden olan mikrokoklar için kullanılmıştır. Ogston aynı zamanda piyojenik kokları, grup veya kitleler halinde düzenlenmiş “Stafilokoklar” ve zincir şeklinde düzenlenmiş “Bilroth’un Streptokokları” olmak üzere iki tip olarak ayıran ilk kişidir (Götz ve diğ., 2006).

Ogston’dan bir yıl sonra 1884’te, *Staphylococcus* ifadesini taksonomik anlamda kullanarak *Staphylococcus* cinsinin tanımını ilk olarak Rosenbach yapmıştır. Aynı araştırmacı, cins içinde *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus albus* olmak üzere iki tür tanımlamıştır (Götz ve diğ., 2006).

1885 yılında Zopf, yığın oluşturan stafilokokları ve tetrad oluşturan mikrokokları *Micrococcus* cinsi içine yerleştirmiştir. 1886 yılındaysa *Staphylococcus* cinsi *Micrococcus* cinsinden Flügge tarafından ayrılmıştır. Araştırmacı bu ayrımı yaparken, iki cinse ait bakterilerin jelatin üzerindeki etkilerini ve konaklarıyla olan ilişkilerini temel almıştır. Stafilokoklar jelatini sıvılaştırmasının yanında, konaklarıyla olan ilişkileri açısından parazitik karaktere sahipken, mikrokokların jelatin üzerindeki etkileri değişken olmakla birlikte, konaklarıyla olan ilişkilerinde saprofitik karakter sergilemektedir (Flügge, 1886). Sonraki yıllarda, Gram pozitif ve katalaz pozitif koklar olan *Staphylococcus*, *Micrococcus* ve *Planococcus* cinsleri *Micrococcaceae* familyası içine yerleştirilmişlerdir (Wilson ve diğ., 1990; Götz ve diğ., 2006).

Evans ve diğ. (1955), stafilokokları mikrokoklardan ayırmak için oksijenle olan ilişkilerinin temel alınmasını önermiştir ve buna göre fakültatif anaerobik koklar *Staphylococcus* cinsi içine, obligat aerobik koklar ise *Micrococcus* cinsi içine yerleştirilmiştir.

Stafilokoklarla mikrokoklar arasındaki ayrım, DNA baz dizilimlerinin 1960'lı yıllarda incelenmesiyle daha kesin bir hale getirilebilmiştir. *Staphylococcus* cinsi üyeleri düşük G+C mol oranına sahipken (%33-40) *Micrococcus* cinsi üyeleri yüksek G+C mol oranına (yaklaşık %70) sahiptir (Silvestri ve Hill, 1965).

İlerleyen yıllarda yapılan çalışmalarla stafilokokların, mikrokok ve diğer katalaz pozitif koklardan; hücre duvarı bileşenlerine, sitokrom profillerine, lizostafin, eritromisin, basitrasin ve furazolidona duyarlılıklarına göre ayrılabilceği gösterilmiştir (Schleifer ve Kandler, 1972; Endl ve diğ., 1983; Faller ve diğ., 1980; Schleifer ve Kloos, 1975a; Falk ve Guering, 1983; Baker, 1984).

Karşılaştırmalı DNA-DNA ve DNA-rRNA melezleme ve 16S rRNA oligonükleotid kitaplığı oluşturma çalışmaları, stafilokoklar ve mikrokoklar arasındaki epigenetik ve genetik farklılığı net bir şekilde ortaya koymuştur (Schleifer ve diğ., 1979; Kilpper ve diğ., 1980; Ludwig ve diğ., 1981).

Staphylococcus cinsi üyeleri, cins içinde çeşitli özellikleri bakımından belirli bir tutarlılık gösterirler ve *Micrococcus* cinsi üyelerinden oldukça ayrık bir yapı oluştururlar. 1970'li yılların başlarına kadar *Staphylococcus* cinsi, koagülaz pozitif tür olarak *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif türler olarak *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus saprophyticus* olmak üzere toplam üç tür içeren bir cins olarak inceleniyorken, günümüzde alt türleriyle birlikte 40'in üzerinde tür içermektedir (Götz ve diğ., 2006; Euzéby, 2009).

2.1.2. Ekolojik Özellikler

Staphylococcus cinsi üyeleri doğada oldukça geniş bir alana yayılmıştır. Stafilokoklar hem bu geniş dağılımın hem de ortam şartlarına uyabilme yeteneğinin bir sonucu olarak insanda, diğer memelilerde ve kuşlarda; deri bezlerinin, derinin ve mukozanın bakteriyel mikroflorasındaki başlıca bakteri grubudur. Stafilokokların çok yüksek ihtimalle tüm sıcakkanlı hayvanların üst solunum kanallarında ve vücutlarındaki diğer epiteliyal yüzeyler üzerinde bulunduğu düşünülmektedir (Hirsh ve Zee, 1999; Götz ve diğ., 2006).

Stafilokoklar deride kalıcı veya geçici olarak bulunabilmektedirler. Bunlardan kalıcı bakteriler konağa özgü olup ve popülasyon yoğunlukları göreceli olarak sabit kalmaktadır. Kalıcı bakterilerin sayıca artmaları da temel olarak, o bölgede bulunan kendi popülasyonlarının çoğalması şeklinde olmaktadır. Geçici bakterilerse dış kaynaklardan köken almakta ve birincil olarak temas yoluyla deri üzerine bulaşmaktadır ve buldukları ortamdan kolaylıkla uzaklaştırılabilmektedirler (Bilgehan, 2004; Götz ve diğ., 2006).

Stafilokoklarda çapraz kontaminasyon, farklı konak türlerin birbirleriyle teması sonucunda kolaylıkla gerçekleşebilmektedir. Ancak kontaminasyona uğrayan konağın normal savunma sisteminde bir aksaklık yoksa, bu geçici türler genellikle birkaç saat veya birkaç gün içinde bertaraf edilmektedir. Bunun yanında bazı az sayıda çalışmayla da belirli stafilokok türleri için konak ve niş özelliklerine ait bazı net modeller gösterilmiştir (Götz ve diğ., 2006).

2.1.2.1 Bazı Stafilokok Türlerinin Konak ve Niş Özellikleri

Staphylococcus arlettae: Kümes hayvanlarından ve keçilerden izole edilmiştir (Götz ve diğ., 2006).

Staphylococcus aureus subsp. *aureus*: Çeşitli evcil hayvanlarda ve kuşlarda yaşayan spesifik biyotiplerine zaman zaman rastlanabilmekle birlikte, primatlarda baskın türlerindedir (Meyer, 1967; Kloos, 1980). Bu tür, seyrek olmakla birlikte primat-dışı vahşi hayvanlarda da bulunmaktadır. İnsanlarda (özellikle yetişkinlerde) burun deliklerinin anteriyörü için niş tercihinde sahiptir. Bu bölgede normal floranın geçici veya kalıcı üyesi olarak bulunabilmektedir (Götz ve diğ., 2006). *S. aureus* subsp. *aureus*, seçici olarak nazal epitel hücrelerine (mukozal) yapışmaktadır (Aly ve diğ., 1981). Hasta balıklardan izole edilen türler arasındadır (Shah ve Tyagi, 1986; Timur ve Akaylı, 2003).

Staphylococcus aureus subsp. *anaerobius*: Koyunlarda yaşadığı bulunmuştur (De la Fuente ve diğ., 1985).

Staphylococcus auricularis: Yetişkin insanlarda dış işitme organlarına ait kanallarda yaşayan baskın türler arasında yer almaktadır. *S. auricularis*'in farklı bir alt türü, insan-dışı primatların kulaklarının içinde ve işaretlemeye kullanılan özelleşmiş koku bezlerinde bulunmuştur (Kloos ve Schleifer, 1983, 1986).

Staphylococcus capitis: İnsan kafa derisinde, ergenliği takiben büyük popülasyonlar oluşturmaktadırlar. Ayrıca yetişkinlerin alın, yüz, kaş ve dış işitme kanalları gibi diğer bazı baş bölgesine ait kısımlarda da orta büyüklükten geniş popülasyonlara kadar değişen yoğunluklarda bulunmaktadır. En kalabalık popülasyonlarıysa yağ bezlerinin çok ve gelişmiş olduğu bölgelerde yerleşiktir (Götz ve diğ., 2006). Hasta balıklardan izole edilen türler arasındadır (Varvarigos, 2008).

Staphylococcus capitis subsp. *ureolyticus*: Bu alt tür hem insan hem de insan dışı primatların derisinden izole edilmiştir. Baş bölgesinde küçük popülasyonlar halinde bulunmaktadır. *S. capitis* gibi bu tür de diğer vücut bölgelerinde nadiren bulunabilmektedir (Bannerman ve Kloos, 1991; Götz ve diğ., 2006).

Staphylococcus caprae: İlk olarak evcil keçilerin derisinden ve sütlerinden izole edilmiş olan tür, insan klinik örneklerinden de izole edilmektedir (Devriese ve diğ., 1983; Poutrel, 1984; Vandenesch ve diğ., 1995; Kawamura ve diğ., 1998).

Staphylococcus cohnii: İnsan ve diğer primatların derisi üzerinde geçici olarak bulunduğu tespit edilmiştir (Götz ve diğ., 2006). Hasta balıklardan izole edilen türler arasındadır (Varvarigos, 2008).

Staphylococcus cohnii subsp. *urealyticus*: Zaman zaman insan derisi üzerinde bulunmakla birlikte, sıklıkla insan dışı primatlarda (özellikle düşük primatlarda) baskın tür olarak bulunmaktadır (Kloos ve Wolfshohl, 1991).

Staphylococcus delphini: Yunusların derisinden izole edilmiştir (Varaldo ve diğ., 1988).

Staphylococcus epidermidis: İnsan derisindeki en yaygın ve en kalıcı popülasyonlar oluşturan stafilokok türüdür (Schleifer ve Kloos, 1975b). Vücut yüzeyinde birçok yerde bulunur ancak en kalabalık popülasyonlarını özellikle nem içeriği ve besinin yüksek miktarda olduğu yerlerde oluşturur: burun deliklerinin anteriyörü, koltuk altı, kasık, perineal bölge ve parmak araları. Bu türler bazen evcil hayvanlar gibi diğer bazı konaklarda da bulunur ancak bunun insan kaynaklı bir transfer olduğu tahmin edilmektedir (Götz ve diğ., 2006). Hasta balıklardan izole edilen türler arasındadır (Kusuda ve Sugiyama, 1981; Sugiyama ve Kusuda, 1981a, Sugiyama ve Kusuda, 1981b; Huang ve diğ., 1996; Wang ve diğ., 1996; Timur ve Akaylı, 2003; Kubilay ve Uluköy, 2004).

Staphylococcus equorum: Atlardan izole edilmiştir (Schleifer ve diğ., 1984).

Staphylococcus felis: Evcil kedilerde bulunan baskın türlerden biridir (Igimi ve diğ., 1989).

Staphylococcus gallinarum: Kümes hayvanlarından izole edilmiştir (Devriese ve diğ., 1983).

Staphylococcus haemolyticus: *S. hominis*'e ait habitatların birçoğunu onunla birlikte paylaşmakta ancak genellikle daha düşük popülasyonlar halinde bulunmaktadır (Schleifer ve Kloos, 1975b). Bazı bireyler, olağandan farklı şekilde bu türün büyük popülasyonlarını taşıyabilmektedirler. *S. haemolyticus*'un insandan başka primatların derisinde yaşadığı saptanan bir alt türü, insana uyum sağlamış olanlardan DNA-DNA melezleme yöntemiyle ayırt edilebilmektedir (Kloos ve Wolfshohl, 1979). Bu türün küçük ve geçici popülasyonları zaman zaman evcil hayvanlardan izole edilebilmektedir (Götz ve diğ., 2006).

Staphylococcus hominis: İnsan derisinde yaygın bir türdür. Popülasyon büyüklüğü, apokrin bezlerin fazla olduğu bölgelerde (koltuk altı, kasık ve perineal bölge gibi) *S. epidermidis* ile eşit veya ikinci sıradadır. Ayrıca derinin daha kuru olan bölgelerinde (ekstremiteler gibi) diğer türlerden daha başarılı kolonize olabilmektedir (Kloos ve

Schleifer, 1975a; Götz ve diğ., 2006). Hasta balıklardan izole edilen türler arasındadır (Varvarigos, 2008).

Staphylococcus hyicus ve *S. hyicus* subsp. *chromogenes* (*S. chromogenes*): Ağırlıklı olarak domuz, sığır, at vb. evcil toynaklı hayvanlarda bulunur (Devriese ve diğ., 1978; Phillips ve diğ., 1980; Phillips ve diğ., 1981). *S. chromogenes* hasta balıklardan izole edilen türler arasındadır (Varvarigos, 2008).

Staphylococcus intermedius: Evcil köpeklerde baskın türdür. Bu tür, köpeklerin derisinde göreceli olarak büyük popülasyonlar halinde bulunur ve bazı zamanlarda bakıcıları olan insanların derisine de geçebilmektedir. Bunun yanı sıra, yapılan çalışmalarla *S. intermedius*'un çeşitli karnivor hayvanlarda ayrıca endojen (doğal) bir tür olduğu düşünülmektedir. Türün endojen olarak bulunduğu hayvanlar: vizon, tilki ve rakun olarak bildirilmiştir. *S. intermedius* ayrıca atlardan ve güvercinlerden de izole edilmiştir. Karnivorların deri ve nazofarinksinde ve dış burun deliklerinde yaygın şekilde bulunmaktadır (Hájek, 1976; Kloos ve diğ., 1976a; Kloos, 1980; Jones ve diğ., 1997; Hirsh ve Zee, 1999).

Staphylococcus kloosii: Keseliler, kemirgenler, etçil hayvanlar ve daha az sıklıkta olmak üzere evcil hayvanlar gibi düşük organizasyonlu memelilerde yaşadığı bulunmuştur (Kloos, 1980; Schleifer ve diğ., 1984).

Staphylococcus lentus: Büyük popülasyonlar halinde evcil koyun ve keçilerden ve nadiren de diğer evcil hayvanlardan izole edilmektedir. Bu tür aynı zamanda tavşanların tükürüklerindeki bakteriler arasında baskın olarak bulunmaktadır (Kloos ve diğ., 1976a; Devriese ve diğ., 1985a). Hasta balıklardan izole edilen türler arasındadır (Varvarigos, 2008).

Staphylococcus lutrae: Su samurlarından izole edilmiştir (Foster ve diğ., 1997).

Staphylococcus saprophyticus: Konak aralığı insanlardan başlayıp daha düşük organizasyonlu memelilere ve kuşlara kadar çeşitlilik göstermektedir (Kloos, 1980; Devriese, 1986). Grup olarak bu stafilokoklar düşük organizasyonlu primatlarda ve

memelilerde daha yaygındır. *S. saprophyticus*, insan ve diğer primatların derisi üzerinde genellikle küçük ve geçici popülasyonlar halinde bulunmaktadır (Götz ve diğ., 2006). Bu tür, ürogenital hücrelere kolayca tutunabilen yüzey özelliklerine sahiptir (Colleen ve diğ., 1979) ve ayrıca daha düşük memelilerden ve çevresel kaynaklardan da izole edilebilmektedir (Götz ve diğ., 2006).

Staphylococcus saprophyticus subs. *bovis*: İneklerin burun deliklerinin anteriyöründe bulunmuştur (Hájek ve diğ., 1996).

Staphylococcus schleiferi subsp. *coagulans*: Köpeklerin dış işitme kanallarından kulak enfeksiyonlarıyla birlikte izole edilmekte olan koagülaz pozitif bir türdür (Igimi ve diğ., 1990).

Staphylococcus sciuri, *Staphylococcus sciuri* subsp. *carnaticus* ve *Staphylococcus sciuri* subsp. *rodentium*: Çok çeşitli düşük memelilerden ve evcil hayvanlardan izole edilmektedir (Kloos ve diğ., 1976b; Kloos ve diğ., 1997). *S. sciuri* alt türleri ayrıca insanlara ait klinik örneklerden de izole edilebilmektedir (Marsou ve diğ., 1999). *Staphylococcus sciuri*'nin metisilin direnci ve stafilolitik enzim genlerinin doğal rezervuarı olduğu düşünülmektedir (Kloos ve diğ., 1997) ancak daha patojenik bir tür olan *S. aureus* subsp. *aureus*'ta gözükten metisilin direncindeki rolü henüz tam olarak tespit edilememiştir (Götz ve diğ., 2006).

Staphylococcus simulans: Kedilere ait klinik örneklerden tespit edilmiştir (Quinn ve diğ., 1994)

Staphylococcus warneri: İnsanlarda bazı bireyler normalden farklı olarak bu türün büyük popülasyonlarını taşıyabilmekle birlikte, genellikle insan derisi üzerinde düşük miktarlarda bulunur (Kloos ve Schleifer, 1975a). *S. warneri*, insan dışı primatların derisi üzerinde (özellikle bazı gelişmiş familyalarda) baskın türdür. Bu türün de küçük ve geçici popülasyonları zaman zaman evcil hayvanlardan izole edilebilmektedir (Götz ve diğ., 2006). Hasta balıklardan izole edilen türler arasındadır (Gil ve diğ., 2000).

Staphylococcus xylosus: Düşük primatlarda, diğer memelilerde ve daha az sıklıkta kuşlarda, derinin geçici flora üyesi olarak bulunmaktadır (Schleifer ve Kloos, 1975b; Kloos ve diğ., 1976a; Akatov ve diğ., 1985; Devriese ve diğ., 1985b). Hasta balıklardan izole edilen türler arasındadır (Varvarigos, 2008).

Staphylococcus hominis subsp. *novobiosepticus*, *S. lugdunensis*, *S. pasteurii* ve *S. schleiferi*, insan örneklerinden izole edilen diğer klinik öneme sahip türlerdir (Freney ve diğ., 1988; Chesneau ve diğ., 1993; Kloos ve diğ., 1998). Bu türlerin niş özellikleri ve yaygınlığı belirsizdir (Götz ve diğ., 2006). *S. lugdunensis* hasta balıklardan izole edilen türler arasındadır (Varvarigos, 2008).

Stafilokoklar; topraktan, sahil kumundan, deniz suyundan, tatlı sudan, bitki yüzeylerinden ve bitkisel ürünlerden, yemlerden, insanlarca tüketilen et ürünlerinden, süt ürünlerinden, bunların yanı sıra mutfak eşyalarının, mobilyaların, giysilerin, halı ve kilimlerin, kağıt paraların yüzeylerinden ve çeşitli yaşam alanlarındaki toz ve havadan sporadik olarak izole edilmektedir (Götz ve diğ., 2006). *Staphylococcus carnosus*, *S. carnosus* subsp. *utilis*, *Staphylococcus condimenti*, *Staphylococcus fleurettii*, *Staphylococcus piscifermentans* ve *Staphylococcus vitulus* türleri çeşitli gıda ürünlerinden izole edilmektedir (Schleifer ve Fischer, 1982; Tanasupawat ve diğ., 1992; Probst ve diğ., 1998; Vernozy-Rozand ve diğ., 2000).

Hayvansal ürünlerden ayrı olarak birçok çevresel kaynak, düşük yoğunlukta ve geçici stafilocok popülasyonları içermektedir. Bu popülasyonların birçoğunun yüksek olasılıkla insan, hayvan veya kuş taşıyıcı konakları tarafından ortama yayılmış atıklar olduğu düşünülmektedir (Götz ve diğ., 2006). *S. sciuri* ve *S. xylosus* gibi bazı belirli türler, içinde sadece inorganik bir azot kaynağı olan habitatlarda bile gelişebilmektedirler. Bu nedenle bu türlerin, diğer stafilocok türlerine göre çok daha serbest yaşayabilir olabilmelerinin muhtemel olduğu düşünülmektedir (Emmett ve Kloos, 1975; Emmett ve Kloos, 1979). Bu türler düşük sayılarda olmak üzere sahil kumundan, doğal sulardan ve bataklık otlarından ve ayrıca bitkisel ürünlerden (Bucher ve diğ., 1980; Pioch ve diğ., 1988) izole edilmektedir.

İnsan ve hayvan habitatlarında bulunan bazı sinek türleri, bazı stafilocok popülasyonlarını (*Staphylococcus muscae* gibi) taşıyabilmektedir ve epizootiyolojik zincirde bu bakterilerin ciddi vektörleri olduğu düşünülmektedir (Hájek ve Balusek, 1985; Hájek ve diğ., 1992).

2.1.3. Cins Özellikleri

2.1.3.1. Morfolojik özellikler

Staphylococcus cinsi üyeleri; Gram pozitif, hareketsiz ve karakteristik olarak düzensiz kümeler oluşturacak şekilde birden fazla eksen boyunca bölünerek çoğalan bakterilerdir ve bu özellikleri nedeniyle üzüm salkımı benzeri kümeler oluşturmaktadırlar. Ancak bu görünüm daha çok katı besi yerlerinde üretildiğinde gözlenmekte, sıvı besi yerinde daha çok çiftler ve küçük zincirler halinde görünmektedirler ve bu görünümleri nedeniyle streptokoklarla karıştırılabilmektedirler. Küresel şekilli olan hücreler ortalama 0,5-1,5 µm çapındadır. Hücre boyutları suştan suşa farklılık göstermekle birlikte, kültürün yaşı ve üretildiği kültür ortamı gibi etkenler boyut üzerinde etkili olabilmektedir (Wilson ve diğ., 1990; Jones ve diğ., 1997; Hirsh ve Zee, 1999).

Cins üyelerinin kirpikleri yoktur ve spor oluşturmazlar, genellikle kapsülsüzdürler. Büyük çoğunluğu fakültatif anaerobik organizmalar olmakla birlikte bazı türler sadece anaerobik ortamda üremektedirler. Birçok anilin boya ile iyi boyanmakta ve genç kültürleri Gram yöntemiyle boyandığında homojen bir görünüm sergilemektedir (Wilson ve diğ., 1990; Jones ve diğ., 1997; Hirsh ve Zee, 1999).

2.1.3.2. Kültür özellikleri

Stafilokoklar genel besi yerlerinde iyi üreme göstermektedirler. Türe göre değişmekle birlikte, nutrient agar besi yerinde yumuşak, yuvarlak ve opak koloniler oluşturmaktadırlar. Kolonilerin çapı 37°C sıcaklıkta 12-18 saat inkübasyon sonrasında genellikle 1-2 mm kadardır. Bazı türler besiyerlerinde kendilerine has bir kokuya sahipken bazıları kokusuzdur. Kolayca emülsiyon haline getirilebilen türlerin yanında (*S. aureus* subsp. *aureus* gibi) bazı türler de yapışkan özelliğindedir ve katı besi yerine yapışan bu türlerin emülsiyon haline getirilmeleri zordur (*S. epidermidis* gibi). Yoğun

kapsüllü koloniler aşırı şekilde mukoid yapıda olabilirler (Wilson ve diğ., 1990; Jones ve diğ., 1997; Hirsh ve Zee, 1999).

Birçok suş, %10 NaCl içeren besi yerinde rahatlıkla üreyebilmektedir. Yaşam sıcaklık aralıkları geniş olmakla birlikte (10-45 °C) birçok suş en hızlı üremeyi 30-37 °C aralığında göstermektedir. Stafilocoklar pH değeri 4-9 aralığında olan ortamlarda üreyebilmekle birlikte en iyi üreme 7,0-7,5 değerleri arasında olmaktadır (Wilson ve diğ., 1990; Bilgehan, 2004).

Nutrient broth besi yerinde birçok suş, yoğunlukları türden türe değişmekle birlikte, homojen bir bulanıklık oluşturmaktadırlar. Bazı suşlar sıvı besi yerinde bulanıklıkla birlikte tüp dibinde hafif birikintiler oluştururken, bazı suşlarda bu birikintiler oldukça kalındır ve tüp içinde birikintilerin dışında kalan besi yeri kısmı tamamen şeffaf gözükmemektedir. (Wilson ve diğ., 1990).

Staphylococcus cinsi üyelerinin büyük çoğunluğu fakültatif anaerobik organizmalardır ancak aerobik koşullarda daha iyi üremektedirler. Bazı belirli türler ise (*S. saccharolyticus* gibi) aerobik ortamda çok az üremekte veya hiç ürememektedir (Wilson ve diğ., 1990; Jones ve diğ., 1997; Hirsh ve Zee, 1999).

Stafilocok türlerinde pigment oluşumu çok değişkendir ve içinde bulunduğu kültür koşullarının etkisi büyüktür (O'Connor ve diğ., 1966). Örneğin *S. aureus* subsp. *aureus*, hafif sarı ton içeren gri veya gri-beyaz renkten karakteristik altın sarısı renge kadar çeşitlilik göstermekle birlikte; koagülaz negatif türlerin koloni rengi genellikle beyaz, gri veya grimsi beyazdır ancak sarımsı, kahverengimsi veya mor renkte de olabilmektedir. Sıvı besi yerinde pigment oluşumu gözlenmemektedir (Wilson ve diğ., 1990). Pigment üretimi, kültürün yaşıyla veya buzdolabı sıcaklığında depolamayla birlikte artma eğilimindedir. Nutrient agarda maksimum pigmentasyonun; karanlıkta ve 37°C sıcaklıkta bir gecelik inkübasyon sonunda aydınlık ortamda ve oda sıcaklığında ise 48 saat sonunda oluştuğu rapor edilmiştir (Brown, 1965).

2.1.3.3. Fiziksel ve Kimyasal Etkenlere Karşı Duyarlılık

Bazı mikrokokların aksine, stafilokokların sıcaklığa karşı dirençleri zayıftır. Sıcaklığa dayanıklı bazı türleri olmasına karşın, birçok suş 62°C sıcaklıkta 30 dakika sonunda ölmektedir (Wilson ve diğ., 1990; Paniker, 2006).

Stafilokoklar, tuz konsantrasyonu yüksek besiyerlerinde rahatlıkla üreyebilmektedirler. Birçok bakterinin inhibe olacağı %10 NaCl içeren besi yerlerinde iyi üreme gösterebildiği gibi, bazı türler %15 NaCl konsantrasyonundaki besiyerlerinde de üreyebilmektedirler (Wilson ve diğ., 1990; Götz ve diğ., 2006).

Klorheksidin, heksaklorofan ve fenol gibi dezenfektanlar stafilokokları hızlı bir şekilde öldürürken, bazı dezenfektanlara (civa klorür gibi) stafilokoklar üzerinde fazla etkili değildir. Anilin boyalara karşı çok duyarlıdır, bundan dolayı streptokokların gelişebildiği 1/500000 oranında kristal viyole içeren kanlı agarda ürememektedirler (Wilson ve diğ., 1990). Yağ asitleri de ayrıca stafilokoklara karşı yüksek etkinlik gösterirler (Lacey ve Lord, 1981).

Stafilokoklar, lizostafinin neden olduğu lizise mikrokoklara göre daha duyarlıyken, lizozimin neden olduğu lizise daha dirençlidirler (Wilson ve diğ., 1990; Jones ve diğ., 1997; Götz ve diğ., 2006).

2.1.3.4. Antimikrobiyal Maddelere Karşı Duyarlılık

Benzylpenicillin kullanılmaya ilk başlandığında pek az *S. aureus* subsp. *aureus* suşu bu antibiyotiğe karşı dirençliyken, 1945 ve sonraki yıllarda penisilin parçalayan enzimlere sahip suşların görülme sıklığında artış başlamıştır. Bu tip suşlar ilk olarak hastanelerden ve daha sonra da toplumdan izole edilmiştir (Wilson ve diğ., 1990).

Penisilinlere karşı ikinci direnç mekanizması, sonradan “metisilin dirençli” (MRSA) olarak isimlendirilen suşlarla birlikte ortaya çıkmıştır. Bu mekanizmaya sahip suşlarda direnç, tüm penisilin ve sefalosporinlere karşı gelişmiştir (Wilson ve diğ., 1990; Bilgehan, 2004; Götz ve diğ., 2006).

Penisilinlere karşı direncin üçüncü formu “tolerans” şeklinde gözlenmektedir. Toleranslı türler, penisilinlerin inhibitör etkisinden çok, öldürücü (bakterisidal) etkisine karşı dirence sahip suşlar olarak tanımlanmaktadır. Tipik olarak toleranslı bir suş için penisilin öldürücü konsantrasyonu, inhibitör konsantrasyonundan 32 kat daha fazladır (Sabath ve diğ., 1977; Sabath, 1979).

Stafilokokkal enfeksiyonların tedavisi için kullanılan vankomisin dışındaki tüm antimikrobiyal ajanlara karşı gelişmiş olan direnç, *S. aureus* subsp. *aureus* ve klinik öneme sahip koagülaz negatif stafilokoklarda saptanmaktadır. Fusidik asit ve rifampisin ile tedavi edilen hastalardan izole edilen stafilokoklar arasında da bu antibiyotiklere direnç hızla gelişmektedir (Wilson ve diğ., 1990).

Stafilokoklardaki antimikrobiyal maddelere karşı direncin, genellikle plazmit genlerinden kaynaklandığı bilinmektedir. *S. aureus* subsp. *aureus* ve *S. epidermidis* türlerinde, bu iki türe ait direnç plazmitlerinin düşük seviyede DNA homolojisine sahip olduğu (%20) saptanmıştır (Shalita ve diğ., 1980; Wilson ve diğ., 1990).

Direnç mekanizmalarının türler arasında transfer edilebildiği bilinmektedir. *S. aureus* subsp. *aureus* ve *S. epidermidis* ile yapılan çalışmalarda; kloramfenikol, novobiosin ve gentamisin direncinin türler arasında transfer edilebildiği gösterilmiştir (Naidoo ve Noble, 1981; Wilson ve diğ., 1990).

2.2. BALIK DIŞINDAKİ CANLI GRUPLARINDA GÖRÜLEN STAFİLOKOK ENFEKSİYONLARI

Sistematik bakteriyolojide stafilokokların birbirinden ayrı 40'tan fazla türü tanımlanmış olmasına rağmen, bunların içinde sadece birkaç tanesi bazı hastalıklarla kesin olarak ilişkilendirilebilmiştir. Bu bakteriler diğerleri içinden; salgıladıkları koagülazlar, fibrinolizinler, hemolizinler (alfa, beta, gama ve delta), enteretoksinler vb. salgılarıyla ayrılırlar (Jones ve diğ., 1997; Hirsh ve Zee, 1999). *S. aureus* subsp. *aureus*, virulans faktörleri en detaylı çalışılmış türdür, diğer stafilokok türlerinde bu faktörler tam olarak belirlenmemiştir (Gyles ve diğ., 2004).

Stafilokoklar canlılar arasında yayılımlarını doğrudan veya dolaylı yoldan gerçekleşen temaslarla sağlamaktadır. Hayvanlarda görülen birçok enfeksiyonun endojen olduğu, yerleşik olan suşlar tarafından oluşturulduğu düşünülmektedir (Hirsh ve Zee, 1999). Hemen hemen tüm hayvan türlerinde; özellikle deride, meme bezlerinde, akciğerlerde, eklemlerde ve uterusda olmak üzere çok çeşitli organ ve dokularda stafilokok kaynaklı piyojenik enfeksiyonlar sıklıkla gözlenmektedir. Hayvanlarda önemli patojenik türler *S. aureus* subsp. *aureus*, *S. aureus* subsp. *anaerobiosus*, *S. epidermidis*, *S. intermedius* ve *S. hyicus* ve *S. schleiferi* subsp. *coagulans* olarak bildirilmektedir (Jones ve diğ., 1997; Hirsh ve Zee, 1999; Gyles ve diğ., 2004).

S. aureus subsp. *anaerobius*: Koyunlarda apse hastalığına neden olmaktadır (Hirsh ve Zee, 1999).

S. aureus subsp. *aureus*: İnsanlarda hastalık oluşturan en önemli fırsatçı patojendir. Deri enfeksiyonlarına, septisemik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Ayrıca toksik şok sendromunun etkenidir. *S. aureus* subsp. *aureus* enfeksiyonları toplum edinimli olabilmekle birlikte nozokomiyal (hastane kökenli) enfeksiyonlar açısından da önemlidir. *S. aureus* subsp. *aureus* enfeksiyonlarının kontrolündeki önemli engellerden birisi, bakterinin antimikrobiyal direncidir. Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA), insan hastanelerindeki en önemli klinik ve epidemiyolojik sorundur (Jones ve diğ., 1997; Gyles ve diğ., 2004).

İnsanlarda *S. aureus* subsp. *aureus* kaynaklı hastalıklar; septisemi, ciddi nekrotize ve iltihaplı pnömoni, endokardit, üst solunum yolu enfeksiyonları, subkutanöz apseler, cellulitis, enterokolit ve toksik şok sendromudur. Ayrıca bakteri ile kontamine olmuş gıdalarda bakterinin çoğalmasıyla birlikte ortamda biriken ısıya dayanıklı enterotoksinlerin sindirilmesi zehirlenmeye neden olmaktadır (Jones ve diğ., 1997).

Stafilokok türleri içinde, insan hekimliğinde olduğu gibi veteriner hekimlikte de en önemli patojen *S. aureus* subsp. *aureus*'tur. Büyükbaş hayvanlarda, küçük ruminantlarda, kümes hayvanlarında, tavşanlarda, domuzlarda, atlarda ve diğer birçok türde hastalıklara neden olurlar (Devriese, 1990; Gyles ve diğ., 2004).

Kümes hayvanlarında eklem enfeksiyonlarına, osteomyelitte ve septisemiye neden olduğu bildirilmiştir (McNamee ve Smyth, 2000). Tavşanlarda esas olarak mastitise, eksudatif dermatitise, subkutanöz apselere ve pododermatitise neden olmaktadır (Okerman ve diğ., 1984).

S. aureus subsp. *aureus*, hayvanlarda bazen tüm vücudu da kaplayabilen karakterde iltihaplı deri lezyonlarıyla (piyodermi, furunkulozis, impetigo) ilişkilendirilmiştir. Koyunlardaki kene piyemisi buna örnektir; koyun kenesi (*Ixodes ricinus*) ısırıkları sonucu genç kuzularda endojen suşlardan kaynaklanan stafilokokkal enfeksiyon gelişmektedir. Bu enfeksiyon tüm vücuda yayılan apseler ve poliartritle karakterizedir ve akut formu ölümcül olabilmektedir. Bu tip hastalıkların patogenezi tam olarak anlaşılammıştır; bakterinin virulansı, konaktaki travmanın durumu, beslenme durumu, birlikte geçirilen hastalıklar ve genel hijyen durumu bu hastalıkların gelişimini potansiyel olarak etkilemektedir (Jones ve diğ., 1997; Hirsh ve Zee, 1999).

S. aureus subsp. *aureus*'un neden olduğu bir diğer hastalık; büyükbaş hayvanlarda, koyunlarda, atlarda, köpeklerde, kedilerde, domuzlarda ve büyük ihtimalle diğer hayvanlarda da görülen Botryomycosis'dir (Jones ve diğ., 1997).

Sığır, koyun, keçi, domuz ve atlarda Stafilokokkal bovine mastitis'e neden olur. (Jones ve diğ., 1997; Hirsh ve Zee, 1999; Gyles ve diğ., 2004). Domuzlarda ayrıca sporadik olarak *S. aureus* subsp. *aureus* kaynaklı septisemiler görülebilmektedir (Devriese, 1990). Atlarda dermatitis ve cellulitise neden olabilmektedir (Devriese ve diğ., 1985b).

S. epidermidis: Hayvanlarda deri üzerinde ve mukozal yüzeylerde yaygın olarak bulunan fırsatçı bir patojendir. Daha çok apselerle ve diğer iltihaplı enflamasyon tepkileriyle ilişkilendirilmiştir (Jones ve diğ., 1997; Hirsh ve Zee, 1999). Bu tür ayrıca Bovine mastitis'e de neden olabilmektedir (Hirsh ve Zee, 1999).

S. hyicus: Domuzlarda bulunan suşlar poliartrit ve ölümcül seyrebilen Domuzların eksudatif epidermitisi'nde birincil etkidir (Jones ve diğ., 1997; Hirsh ve Zee, 1999; Gyles ve diğ., 2004; Wegener ve Skov-Jensen, 1992). Bunların dışında *S. hyicus* hem

domuzlarda hem de büyükbaşlarda mastitise neden olan bir diğer stafilokok türüdür (Jones ve diğ., 1997; Hirsh ve Zee, 1999).

S. intermedius: Köpeklerde piyodermiye neden olan esas bakteri türü olmakla birlikte, otitise, konjunktivite ve mastitise neden olabilmektedir (Devriese ve diğ., 1985b; Jones ve diğ., 1997; Hirsh ve Zee, 1999). Ördeklerde ve güvercinlerde septisemiye, vizon ve atlarda dermatitise neden olmaktadır (Devriese, 1990; Hesselbarth ve Schwarz, 1995).

S. schleiferi subsp. *coagulans*: *S. intermedius* ile birlikte köpeklerde otitise neden olmaktadır.

Veteriner hekimlikte koagülaz negatif birçok stafilokok türü, en çok “bovine mastitis” ile olan ilişkileri yönünden çalışılmıştır. Bu türler, potansiyel olarak birincil meme patojeni olarak kabul edilmektedir (Jarp, 1991). Ancak bu özelliklerinin yanı sıra, diğer patojen stafilokok türlerine karşı da çeşitli derecelerde koruma sağladıkları gösterilmiştir (Lam ve diğ., 1997). Süt ineklerinde klinik ve subklinik mastitis etkeni türler: *S. simulans*, *S. chromogenes*, *S. haemolyticus*, *S. xylosus*, *S. carnosus*, *S. warneri*, *S. hominis*, *S. epidermidis*, *S. sciuri* ve *S. cohnii*'dir (Jarp, 1991; Devriese ve diğ., 1994; Hirsh ve Zee, 1999). Bu türlerin patojeniteleri arasındaki farklılıkların ihmal edilebilir düzeyde olduğu belirtilmiştir (Jarp, 1991). Mastitik küçük ruminantların süt örneklerinden izole edilen türler ise: *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. xylosus*, *S. chromogenes*, *S. hyicus*, *S. sciuri*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. caprae*, *S. lentus*, *S. equorum*, *S. capitis*, *S. arlettae*, *S. saprophyticus* ve *S. lugdunensis*'tir (Deinhofer ve Pernthaner, 1993; Gyles ve diğ., 2004).

2.3. STAFİLOKOKLARIN TANISINDA KULLANILAN YÖNTEMLER

Stafilokokların biyokimyasal özellikleriyle ilgili olarak basit bir genelleme yapmak oldukça zor olmakta fakat belirgin sayılabilecek bazı özellikleri de bulunmaktadır. Örneğin cins içinde katalaz pozitiflik ve oksidaz negatiflik baskındır ve çoğu stafilokok türü nitratı nitrite indirgemektedir (Kloos ve Schleifer, 1986; Wilson ve diğ., 1990).

Stafilokoklarda, aynı zamanda patojeniteyi de belirleyen bir faktör olarak belirtilen koagülaz üretimi görülmektedir. Stafilocok suşları iki tip koagülaz üretmektedirler: bağlı koagülaz (kümeleşme faktörü) ve serbest koagülaz. Serbest koagülaz, hücre dışı bir enzimdir ve plazmada bulunan CRF (Coagulase Reacting Factor)'ü aktive ederek fibrinojeni fibrine çevirmektedir. Bağlı koagülaz ise hücre duvarı yüzeyinde bulunmakta ve CRF'ye gereksinim göstermeksizin fibrinojeni doğrudan fibrine çevirmektedir. Koagülaz aktivitesi sonucunda plazmada pıhtılaşma meydana gelmektedir (Wilson ve diğ., 1990; Cimolai, 2001).

Stafilokoklar hem ısıya hassas hem de ısıya dayanıklı nükleazlar üretebilmektedir. Bunlardan termonükleazlar DNA veya RNA'yı parçalamaktadır ve birçok *S. aureus* suşu bu nükleaza sahiptir. *S. aureus* dışında *S. hyicus*, *S. intermedius* ve *S. simulans* türleri de tespit edilebilir düzeyde ısıya dayanıklı nükleazlar üretebilmektedir (Hájek, 1976; Devriese ve diğ., 1978; Gramoli ve Wilkinson, 1978).

2.3.1. *Staphylococcus* ve *Micrococcus* Ayrımı

Anaerobik koşullarda glikozdan asit üretimi testi, stafilocokları mikrokoklardan ayırmak için kullanılan ilk laboratuvar yöntemidir (Evans ve diğ., 1955); bu test ile, asit oluşturan stafilocoklar, glikozu fermante etmeyen mikrokoklardan ayrılmaktadır. Cins ayrımının sadece bu test ile yapılması halen tartışılmaktadır. Çoğu kaynaklarca tavsiye edilmekle birlikte, *S. sacharolyticus* ve diğer bazı suşlar glikozdan aerobik veya anaerobik olarak çok az asit oluşturduğu için test sonucu negatif veya belirsiz olarak yorumlanabilmektedir (Wilson ve diğ., 1990). Buna ek olarak *Micrococcus kristinae* gibi bazı mikrokok türleri anaerobik koşullarda asit oluşturabilmektedir (Kocur ve Mortensen, 1967).

Her iki cinsi birbirinden ayırmak için kullanılan bir başka test, glikoz fermantasyon testine göre daha gelişmiş bir test olan tiyoglikolat testidir. Bu testte, yarı-katı tiyoglikolat besi yerinde glikozun anaerobik kullanımı incelenmektedir (Evans ve Kloos, 1972). Birçok stafilocok tüpte yapılan bu besi yerinin aşağı kısımlarında ürerken, mikrokokların çoğu üreyememektedir. Ancak iki cinsin ayrımı için bu teste de her zaman güvenilmemektedir (Brun ve diğ., 1978).

Stafilokoklarla mikrokoklar arasında ayırım yapmaya yardımcı olarak furazolidon ve basitrasin duyarlılık testlerinden de yararlanılmaktadır. Bu amaçla 100 µg furazolidon ve 0,04 birim basitrasin içeren diskler kullanılmaktadır. Stafilokokların büyük çoğunluğu furazolidona duyarlı ve basitrasine dirençliyken, mikrokoklar tam tersi şekilde furazolidona dirençli fakat basitrasine duyarlıdır (Baker, 1984; Wilson ve diğ., 1990).

Stafilokoklar aerobik koşullarda gliserolden asit oluşturuyorken, mikrokoklar genellikle asit oluşturmamaktadır. Bunun yanında birçok mikrokokun üremesi, düşük konsantrasyonda kullanılan (0,2 mg/l) eritromisin tarafından inhibe ediliyorken, stafilokokların büyük çoğunluğu en az 0,4 mg/l eritromisin konsantrasyonuna kadar direnç göstermektedir. Buna ek olarak stafilokoklar lizostafine (200 µg/ml) duyarlı ya da çok hafif düzeyde direnç göstermekteyken, lizozimin düşük konsantrasyonlarına (25 µg/ml) direnç gösterirler (Kloos ve diğ., 1974; Kloos ve Schleifer, 1975a; Schleifer ve Kloos, 1975a). Cinslerin bu özelliklerinden faydalanarak, hem gliserol hem de eritromisin içeren bir besi yerinin, lizostafin ve lizozim testleriyle de desteklenerek stafilokokları mikrokoklardan hızlı bir şekilde ayırmak için kullanılması önerilmiştir (Schleifer ve Kloos, 1975b).

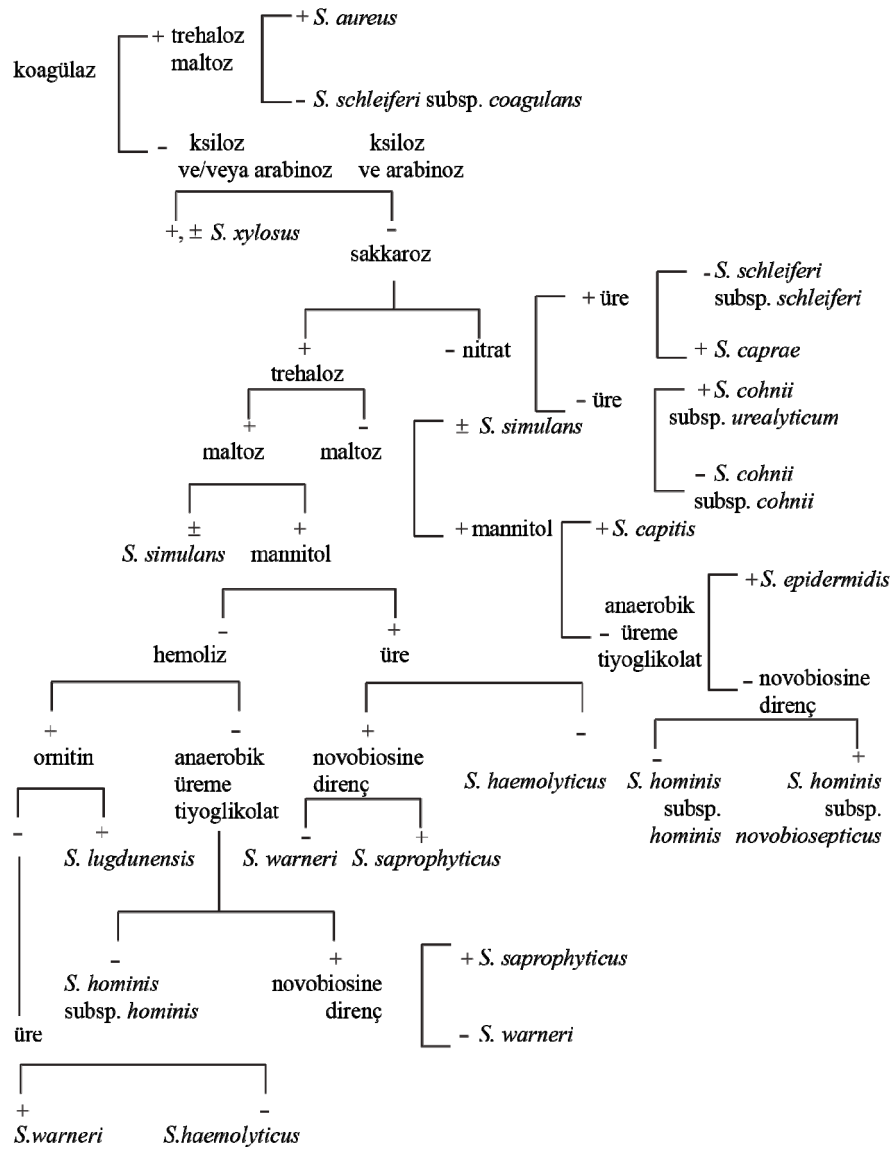
2.3.2. Geleneksel Yöntemler

Koagülaz aktivitesinin belirlenmesi, stafilokokların ayırımında oldukça büyük bir önem taşımaktadır. Referans yöntem olan tüp koagülaz testiyle hem serbest koagülaz hem de bağlı koagülaz (kümeleşme faktörü) tespit edilebilirken, lam koagülaz testinde sadece bağlı koagülaz tespit edilebilmektedir. Rutin laboratuvar testlerinde, koagülaz testi pozitif olan suşlara *S. aureus* subsp. *aureus* gözüyle bakılmaktadır. Ancak *Staphylococcus* cinsi içinde bu tür dışında koagülaz pozitif olan *S. delphini*, *S. intermedius*, *S. lutrae*, *S. pseudointermedius*, *S. schleiferi* subs. *coagulans* ve koagülaz değişken olan *S. hyicus* türleri de bulunmaktadır (Bannerman ve Peacock, 2007).

Tavşan plazması kullanılarak yapılan koagülaz testi insan hekimliği laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılmakta ve oldukça güvenilir sonuçlar alınmaktadır. Bununla birlikte, memeli plazmasını pıhtılaştırmak stafilokoklar içinde sadece *S. aureus*'a özgü

bir özellik olmadığı gibi, bu türün bazı suşlarının plazmayı pıhtılaştırmadığı saptanmıştır (Wilson ve diğ., 1990). Plazmayı pıhtılaştıramamak; plazmanın uygun olmaması, serbest koagülazın bulunmayışı ve yüksek miktarda fibrinolizin üretimi gibi nedenlere bağlı olabilmektedir (Baird-Parker, 1965).

İnsan stafilokok türlerinin rutin tanımlanması için basitleştirilmiş ve referans yöntem olarak önerilen şema Şekil 2.1’de verilmiştir (Kloos ve Schleifer, 1975b; Bannerman ve Peacock, 2007). Bu yöntemde; ksiloz, arabinoz, sakkaroz, trehaloz, maltoz, mannitol, laktoz, ksilitol, riboz, fruktoz ve mannoz şekerlerinin kullanımı yanında hemolizin üretimi, nitrat indirgemesi, üreaz ve ornitin dekarboksilaz varlığı ve novobiosin direnci olmak üzere bir dizi biyokimyasal test uygulanmaktadır.



Şekil 2.1: İnsan stafilokok türlerinin rutin tanımlanması için basitleştirilmiş yöntem (Kloos ve Schleifer, 1975b; Bannerman ve Peacock, 2007)

2.3.3. Moleküler Yöntemler

Stafilokokların tanısında kullanılan moleküler yöntemler, bakteri DNA'sını temel almaktadır ve genellikle konvansiyonel fenotipik yöntemlere göre ayırım güçleri ve tekrarlanabilirlikleri daha yüksektir (Stepan ve diğ., 2004; Zadoks ve Watts, 2008).

Koagülaz negatif türlerin 16S rRNA, *sodA*, *tuf*, *rpoB*, *dnaJ*, *cpn60* (*hsp60* veya *groEL*) ve *gap* genlerinin, PCR yöntemiyle çoğaltılarak tanısı yapılmıştır (Yugueros ve diğ.,

2000; Martineau ve diğ., 2001; Drancourt ve Raoult, 2002; Kwok ve Chow, 2003; Becker ve diğ., 2004; Fontana ve diğ., 2005; Mellmann ve diğ., 2006).

Martineau ve diğ. (2001) yaptıkları çalışmada, *tuf* genin 27 koagülaz negatif türün ayırımında kullanılmasının uygun olduğunu belirtmişlerdir. Daha sonra yapılan çalışmalarla da bu genin bu 27 tür için spesifik olduğu desteklenmiştir (Heikens ve diğ., 2005; Ghebremedhin ve diğ., 2008).

Staphylococcus cinsine ait türlerin tanımlanmasında kullanılmak üzere; 16S rRNA dizileme, ribotiplendirme, PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism Fingerprinting), DNA-DNA melezlemeleri gibi diğer bazı DNA tabanlı yöntemler de bildirilmekle birlikte, bu yöntemlerin bazı stafilokokların ayırımında yetersiz kalması ve pahalı işlemler olması gibi nedenlerden ötürü günümüzde rutin kontrol için uygun görülmemektedir (De Buyser ve diğ., 1992; Becker ve diğ., 2004; Svec ve diğ., 2004; Taponen ve diğ., 2007).

2.3.4. Hızlı Tanı Sistemleri

Stafilokokların tanısı için çeşitli üreticiler tarafından geliştirilmiş ve birkaç saat veya gün içinde sonuç veren birçok hızlı tanı sistemi bulunmaktadır. Bu sistemlerin çoğu tanı için birçok biyokimyasal testin aynı anda bakteri örneğine uygulanması esasına dayanmaktadır ve genellikle de insanlardan elde edilen izolatların tanımlanması için geliştirilmişlerdir. Bu sistemlerin tanımlamada doğruluk yüzdeleri %11-99 gibi büyük farklılıklar gösterebildiği gibi, aynı sistemde yapılan testlerin sonuçları da türe ait suşlar arasında değişkenlik gösterebilmektedir (Kloos ve Bannerman, 1994; Watts ve Yancey, 1994; Bascomb ve Manafi, 1998; Layer ve diğ., 2006). Bu sistemlerden bazıları, üreticileri ve ürün isimleriyle birlikte Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1.: Stafilokokların tanısı için üretilen bazı hızlı tanı sistemleri

Üretici	Ürün adı
bioMérieux Inc.	API Staph ID 32 Staph API RAPIDEC Staph Vitek GPI (Vitek 1) Vitek ID-GPC (Vitek 2)
BD Diagnostic Systems	BBL Crystal Gram-Positive ID Kit BBL Crystal Rapid Gram-Positive ID Kit Phoenix Gram-Positive ID panels
Siemens Healthcare Diagnostics Inc.	MicroScan Pos ID panels MicroScan Rapid Gram Pos ID panels
Biolog	Biolog GP/GP2 MicroPlate ID panels
MIDI Inc.	MIDI Sherlock
Rosco Diagnostica	Staph-zym

2.4. Balıklarda Stafilokokkozis

2.4.1. Etiyoloji

Balıklarda hastalık yaptığı bildirilen stafilokok türleri: *S. aureus*, *S. capitis*, *S. chromogenes*, *S. cohnii*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. lentus*, *S. lugdunensis*, *S. warneri* ve *S. xylosus* olarak rapor edilmiştir (Kusuda ve Sugiyama, 1981; Shah ve Tyagi, 1986; Wang ve diğ., 1996; Huang ve diğ., 1999; Gil ve diğ., 2000; Timur ve Akaylı, 2003; Kubilay ve Uluköy, 2004; Austin ve Austin, 2007; Varvarigos, 2008). Bu türlerin fenotipik özellikleri Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2: Balık patojeni staflokok türlerine ait fenotipik özellikler (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 1994; Götz ve diğ.; 2006)

Özellik	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	<i>S. chromogenes</i>	<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	<i>S. epidermidis</i>
Koloni çapı >5 mm	+	-	+	d	-
Koloni pigmenti (caretenoid)	+w	-	+	-	-
Aerobik üreme	+	+	+	+	+
Anaerobik üreme (thioglycolate)	+	(+)	+	d	+
NaCl konsantrasyonuna göre üreme:					
10% (w/v)	+	+	+	+	w
15% (w/v)	w	-w	-w	d	-
Sıcaklığa göre üreme:					
15°C	+	-	+	+	-w
45°C	+	+	-w	d	+
Sitokrom c (oksidaz testi)	-	-	-	-	-
Laktik asit üretimi:					
L(+)-Isomer	+	+	+	w	+
D(-)-Isomer	+	-w	-	-	-
Asetoin üretimi	+	d	-	d	+
FDP-aldolaz:					
Class I	+	+	ND	+	+
Class II	-	-	ND	-	-
Asit oluşumu (aerobik):					
D-Ksiloz	-	-	-	-	-
L-Arabinoz	-	-	-	-	-
D-Sellobiyoz	-	-	-	-	-
D-Fukoz	-	-	-	-	-
Rafinoz	-	-	-	-	-
Salisin	-	-	-	-	-
Sakkaroz	+	(+)	+	-	+
Maltroz	+	-	d	(d)	+
D-Mannitol	+	+	d	d	-
D-Mannoz	+	+	+	(d)	(+)

Tablo 2.2'nin devamı

Özellik	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	<i>S. chromogenes</i>	<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	<i>S. epidermidis</i>
D-Trehaloz	+	-	+	+	-
α -Laktoz	+	-	+	-	d
D-Galaktoz	+	-	+	-	d
β -D-Fruktoz	+	+	+	+	+
D-Melezitoz	-	-	-	-	(d)
D-Turanoz	+w	-	d	-	d
D-Riboz	+	-	+	-	d
Ksilitol	-	-	-	(d)	-
Hiyaluronidaz	+	ND	-	ND	d
Azot kaynağında $-(NH_4)_2SO_4$ -üreme	-	-	ND	d	-
Nitrat indirgemesi	+	d	+	-	+w
Alkalen fosfataz	+	-	+	-	+
Arjinin dihidrolaz	+w	d	+	-	+w
Üreaz	+w	-	d	-	+
Koagülaz (tavşan plazması)	+	-	-	-	-
Kümeleşme faktörü	+	-	-	-	-
Fibrinolizin	d	ND	-	ND	d
Hemoliz	+	-w	-	(d)	-w
Deoksiribonükleaz (Dnase agar)	+	w	w	-w	-w
Isıya-dayanıklı nükleaz	+	-	-w	-	-w
β -Glikosidaz	+	-	d	-	(d)
β -Glukuronidaz	-	-	-	-	-
β -Galaktosidaz	-	-	-	-	-
Novobiosin direnci ($MIC \geq 1.6 \mu g/ml$)	-	-	-	+	-

Tablo 2.2'nin devamı

Özellik	<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	<i>S. hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>	<i>S. lentus</i>	<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. warneri</i>	<i>S. xylofus</i>
Koloni çapı >5 mm	-	-	-	-	d	+
Koloni pigmenti (carenoid)	d	-	d	d	d	d
Aerobik üreme	+	+	+	+	+	+
Anaerobik üreme (thioglycolate)	-w	-	-w	+	+	d
NaCl konsantrasyonuna göre üreme:						
10% (w/v)	w		+	+	+	+
15% (w/v)	-		-w	+	w	d
Sıcaklığa göre üreme:						
15°C	-w		-w	ND	d	+
45°C	+		-	+	+	-w
Sitokrom c (oksidaz testi)	-		+	-	-	-
Laktik asit üretimi:						
L(+)-Isomer	d		+	w	+	w
D(-)-Isomer	+		-	+	+	-w
Asetoin üretimi	d		-	+	+	d
FDP-aldolaz:						
Class I	+		+	ND	+	+
Class II	-		-	ND	-	-
Asit oluşumu (aerobik):						
D-Ksiloz	-	-	-w	-	-	+
L-Arabinoz	-	-	d	-	-	+
D-Sellobiyoz	-	-	+	-	-	-
D-Fukoz	-	-	d	ND	-	-
Rafinoz	-	-	+	-	-	-
Salisin	-	-	d	ND	-	d
Sakkaroz	(+)	(+)	+	+	+	+
Maltoz	+	+	d	+	(+)	+
D-Mannitol	-	-	+	-	d	d
D-Mannoz	-	-	(+)	+	-	+
D-Trehaloz	d	-	+	+	+	+

Tablo 2.2'nin devamı

Özellik	<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	<i>S. hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>	<i>S. lentus</i>	<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. warneri</i>	<i>S. xyloso</i>
α -Laktöz	d		d	+	ds	d
D-Galaktoz	d		d	ND	d	d
β -D-Fruktöz	+		(+)	+	+	+
D-Melezitoz	d		-	ND	ds	-
D-Turanöz	d		-	d	d	d
D-Riboz	-		+	-	d	d
Ksilitol	-		-	-	-	-w
Hiyaluronidaz	ND		ND	ND	ND	ND
Azot kaynağında $-(NH_4)_2SO_4$ -üreme	-		+	ND	-	+
Nitrat indirgemesi	d	d	+	+	-w	d
Alkalen fosfataz	-	-	w	-	-	d
Arjinin dihidrolaz	d	-	-	-	d	-
Üreaz	+	+	-	d	+	+
Koagülaz (tavşan plazması)	-	-	-	-	-	-
Kümeleşme faktörü	-	-	-	+	-	-
Fibrinolizin	ND		ND	-	ND	ND
Hemoliz	-w	-	-	w	(ds)	-w
Deoksiribonükleaz (Dnase agar)	-w		+w	ND	ds	-w
Isiya-dayanıklı nükleaz	-	-	ND	-	-	-
β -Glikosidaz	-	-	+	ND	+	+
β -Glukuronidaz	-	-	-	-	d	d
β -Galaktosidaz	-	-	-	-	-	+
Novobiosin direnci (MIC \geq 1.6 μ g/ml)	-	+	+	-	-	+

+ : 90% veya daha fazla suş pozitif () : gecikmiş reaksiyon

- : 90% veya daha fazla suş negatif w : zayıf reaksiyon

d : 11-89% suş pozitif -w : zayıf negatif reaksiyon

+w : zayıf pozitif reaksiyon

ds : alt türleri ayırt edici test

ND : belirlenmemiş test

2.4.2. Epizootiyoloji ve Klinik Bulgular

Shah ve Tyagi (1986) yaptıkları çalışmada, yetiştiriciliği yapılan gümüş sazanlarında (*Hypophthalmichthys molitrix*) görülen mortaliteyle birlikte Gram pozitif koklar izole ettiklerini ve bunu *S. aureus* olarak tanımladıklarını bildirmiştir. Çalışmada kırmızımsı bir renk almasıyla birlikte belirgin bir göz hastalığı ve sonrasında gözün göz çukurundan ayrılarak göz dokusunun dejenerasyonu gözlenmiştir. Beyin ve optik sinirlerin etkilendiği, buna ek olarak hasta balıkta letarji ve renkte koyulaşma görüldüğü kaydedilmiştir. İç organlarda ise herhangi bir bulgu gözlenmediği bildirilmiştir. Ancak yapılan testlerin *S. aureus* ve *S. intermedius* ayrımının yapılabilmesi için yetersiz olduğu belirtilmiştir (Austin ve Austin, 2007).

Balık patojeni olarak *S. epidermidis* ilk kez, Japonya'da yetiştiriciliği yapılan sarı kuyruk (*Seriola quinqueradiata*) ve kırmızı mercan (*Pagrus major*) balıklarında, Temmuz-1976 ve Eylül-1977 arasında neden olduğu ciddi epizootiklerle bildirilmiştir. Hastalık görülen zamanlarda elde edilen toplam 6 izolat *S. epidermidis* olarak tanımlanmıştır (Kusuda ve Sugiyama, 1981; Sugiyama ve Kusuda, 1981a, 1981b). Hasta balıklarda ekzoftalmus, kuyrukta ülserleşme ve hiperemi görülmüştür (Kusuda ve Sugiyama, 1981). Sugiyama ve Kusuda (1981b) yaptıkları çalışmada, bakterinin insandan çok, sudan veya balıktan köken aldığını belirtmiştir.

S. epidermidis sonraki yıllarda, Tayvan'da kültürü yapılan hasta ot sazanlarından (*Ctenopharyngodon idella*) da izole edilmiştir. Bu çalışmada dış bulgu olarak operkulum ve pelvik yüzgeçler üzerinde hemorajiler, iç bulgu olarak ise peteşiyal hemorajiler ve karında kanlı sıvı toplanması gözlenmiştir. Ayrıca bağırsakların lümeninde bağırsak kurtları bulunmuşsa da, hazırlanan frotilerde oval bakteriler gözlenmiş ve dokulardan *S. epidermidis* izole edilmiştir (Wang ve diğ., 1996).

S. epidermidis'in tilapya balıklarında (*Oreochromis* sp.) hastalık oluşturduğuna dair ilk çalışma Tayvan'da, kültürü yapılan tilapya balıklarında yapılmıştır (Huang ve diğ., 1996). Çalışmada, 1992-1996 yılları arasında Tayvan'da görülen hastalık vakalarının %60'tan fazlasında *S. epidermidis*'in dominant patojenik tür olduğu ve bu türün tilapya balıklarında ve melezlerinin tümünde hastalık yaparken, tilapya balıklarıyla birlikte polikültürü yapılan diğer balıklarda hastalık oluşturmadığı ve bu nedenle hastalığın türe

özgü olabileceği kanısına varıldığı ifade edilmiştir. Hasta balıkların birçoğunun klinik dış bulgulara sahip olmadığı ancak birkaç balıkta ekzoftalmus, yüzgeçlerde ve deride lezyonlar ve karın içi sıvıyla dolu şişkin abdomen görüldüğü bildirilmiştir. Klinik bulgu olarak dalak hipertrofisi görüldüğü, dalak ve ön böbrekte birçok beyaz ve sarı renkli nodüller bildirilmiştir.

S. warneri'nin ilk kez hasta balıklardan izole edildiği, İspanya'da yetiştiriciliği yapılan gökkuşaağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) yapılan bir çalışmada bildirilmiştir. Bu çalışmada hastalık, Mayıs-Haziran 1997'de, su sıcaklığı 14-16 °C iken 50-100 g ağırlığında gökkuşaağı alabalıklarında yüzgeçlerde ülserleşmiş lezyonlar ve ekzoftalmus bulgularıyla birlikte rapor edilmiştir. Çalışmada abdomenin sıvı birikmesi nedeniyle şişkin olduğu, böbreklerin normal renkli ama karaciğerin solgun olduğu ifade edilmiştir (Gil ve diğ., 2000).

Ülkemizde ise stafilokokkozise ilk kez 2003 yılında gökkuşaağı alabalıklarında rastlanmıştır (Timur ve Akaylı, 2003). Çalışmada, enfeksiyonun Ocak ve Nisan ayları arasında yetiştiriciliği yapılan gökkuşaağı alabalıklarında yüksek mortaliteyle seyrettiği ve enfeksiyondan genellikle küçük balıkların (1,0-4,0 g) etkilendiği bildirilmiştir. Letarjik ve su yüzeyine yakın yüzme davranışlarının gözlemlendiği balıklarda ayrıca ekzoftalmus, korneada kırmızımsı veya opak bölgeler ve göz dokusunun dejenerasyonu veya nekrozuyla birlikte tamamen yuvasından ayrıldığı belirtilmiştir. Çalışmada ayrıca solungaçların solgun, hafif deri ülserleri ve yüzgeç kaybının yanı sıra, karaciğerin solgun, dalağın vişne kırmızısı renkte ve böbreklerde erime olduğu ifade edilmiştir. Bu çalışma sonucunda hasta balıklardan izole edilen bakterilerin *S. aureus* ve *S. epidermidis* olarak teşhis edildiği bildirilmiştir. Çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılık testlerinin de yapıldığı çalışmada, her iki türün de flumequine ve trimethoprime yüksek derecede duyarlı olduğu saptanmıştır.

Ülkemizde *S. epidermidis* kaynaklı ikinci hastalık Nisan-Mayıs 2003'te, su sıcaklığındaki ani yükselişle ortaya çıkmış ve ağ kafeslerdeki genç çipura balıklarında (3-5 g) günde %12'ye kadar mortalite gözlenmiştir. Hasta balıklarda pektoral ve kaudal yüzgeçlerde ve alt çenede hemoraji, deri renginin koyulaşması, letarji, deri ve solungaçlarda aşırı miktarda mukus üretimi bildirilmiştir. Solungaçların da anemik ve

hemorajik olduğu gözlenmiştir. İç bakıda ise abdominal boşlukta sıvı birikimi, iltihaplı koyu renkli bölgelere sahip anemik ve büyümüş karaciğer, büyümüş dalak, beyinde bazı bölgelerde hemoraji bulunduğu rapor edilmiştir (Kubilay ve Uluköy, 2004).

2.4.3. Tedavi

1996 yılında yapılmış ve hasta balıklardan *S. epidermidis*'in izole edildiği bir çalışmada, 20 mg/kg balık ağırlığına 10 gün süreyle eritromisin tedavisinin başarılı olduğu bildirilmiştir (Austin ve Austin, 2007).

Gil ve diğ. (2000) hasta gökkuşuğı alabalıklarından izole ettikleri *S. warneri* ile yaptıkları çalışmada, izole ettikleri suşların; clindamycin ve eritromisin (<0,5 µg/mL), gentamisin, oxacillin, rifampin, tetrasiklin (<1 µg/mL), cephalothin, trimethoprim/sulphamethoxazole (<2 µg/mL), ciprofloxacin ve vankomisin (2 µg/mL), imipenem, amoxicillin, norfloxacin (<4 µg/mL), cefotaxime ve chloramphenicol (<8µg/mL), teichoplanin (8µg/mL), amikacin (<16 µg/mL), nitrofurantoin (<32 µg/mL), ve sulphamethoxazole (256 µg/mL) duyarlıyken penicillin (>8 µg/mL) ve cipro-floxacin (2 µg/mL)'e dirençli olduklarını bildirmiştir. Yayında ayrıca suşların fosfomicine (<32 µg/mL) orta düzeyde duyarlı olduğu rapor edilmiştir.

Shah ve Tyagi (1986) *S. aureus* ile yaptıkları çalışmada; ilerlemiş vakalar hariç olmak üzere, 5-10 dakika uygulanacak 1 ml/L potasyum permanganat banyosuyla birlikte havuzun 4 günde bir 250 mg/L kireç ve 1 mg/L potasyum permanganatla muamele edilmesinin mortaliteyi durdurmada etkili olacağını bildirmiştir.

Timur ve Akaylı (2003) gökkuşuğı alabalıklarıyla yaptıkları çalışmada, izole edilen *S. aureus* suşlarının; trimetoprim, flumequine, kanamycine'e yüksek olmak üzere eritromisin, chloramphenicol, amfisilin, oxolinic acid, streptomisin ve furazolidona duyarlıyken sulphamerazine ve sulphonamid bileşiklerine dirençli olduklarını bildirmiştir. *S. epidermidis* suşlarının ise eritromisin, streptomisin, flumequine ve trimethoprim'e yüksek olmak üzere sulphamerazine, kanamycine, chloramphenicol, sulphonamid bileşikleri, furazolidona ve amfisiline duyarlı olduklarını bildirmiştir. Aynı çalışmada hasta balıklara yem içinde 50 mg/kg balık/gün dozunda 7 günlük flumequine uygulanmasının başarılı bulunduğu rapor edilmiştir.

Kubilay ve Uluköy (2004) *S. epidermidis* ile yaptıkları çalışmada izole ettikleri suşun; vankomisin (30 µg), amikasin (30 µg), ciprofloksacin (5 µg), norfloksacin (10 µg), trimetoprim (1,25 µg), sulphamethoxazole (23,75 µg), furazolidon (100 µg), chloramphenicol (30 µg) ve doxycyclin (4 mg/L), lincomycin (2 mg/L), pristanamycin (2 mg/L), tylosin (2 mg/L), enrofloxacin (0,5 mg/L), nitrofurantoin (25 mg/L), fusidic acid (2mg/L), rifampicin (4 mg/L) antibiyotiklerine duyarlı olduğunu bildirmiştir.

Huang ve diğ. (1999) tilapya balıklarıyla yaptıkları çalışmada, *S. epidermidis*'in amikacin (30 µg), ampicillin (10 µg), bacitracin (10 unit), sefalosporin (30 µg), chloramphenicol (30 µg), eritromisin (15 µg), gentamycin (10 µg), kanamycin (30 µg), lincomycin (2 µg), methicillin (5 µg), neomycin, novobiocin (30 µg), oxacillin (1 µg), oxytetracycline (30 µg), penicillin G (10 unit), Polymyxin (300 unit), streptomycin (10 µg) ve tetrasikline (30 µg) duyarlı, sulfadiazine (300 µg) ise dirençli olduğunu bildirmiştir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. MALZEME

3.1.1. Örneklemenin Yapıldığı İşletme

Çalışmada incelenen hasta balıklar, Sakarya ili Akyazı ilçesinde faaliyet göstermekte olan ticari bir alabalık işletmesinden elde edilmiştir. İşletme seçimi yapılırken, 2007 ve 2008 yıllarında işletmenin kullandığı suyun ve yöntemin özgünlüğünden kaynaklandığından şüphelenilen ve aynı dönemde tekrarlayan yavru mortalitesi değerlendirilmiş, iki yıl içinde yapılan ön çalışmalarda *Staphylococcus* sp.'nin bu işletmedeki hasta balıklardan izole edilmiş olması göz önünde bulundurulmuştur.

Örnekleme, ilgili işletmeden hastalık çıkışının bildirildiği Şubat ve Mart (2009) aylarında olmak üzere iki kez yapılmıştır. Örneklemenin yapıldığı tarihlerde, tank içindeki su sıcaklığı 13-15°C olarak ölçülmüştür.

3.1.2. Balıkların örnekleme

Hastalık belirtileri gösteren balıklar seçilmiş ve incelenmiştir. Hiçbir antibiyotiğe maruz kalmayan balık örneklerinin ortalama ağırlığı 0,75 g'dır. Yapılan örnekleme sonucunda incelenen toplam balık sayısı 25 adettir.

3.1.3. Kullanılan Besi Yerleri, Kimyasallar, Antibiyotikler ve Kitler

Tryptic Soya Agar (Fluka 22091), Nutrient Broth (Merck 105443), Baird Parker Agar (Merck 105406), Nitrat Broth (Merck 110204), Oksidasyon/Fermantasyon Besi Yeri (Merck 110282), Agar agar (Merck 101613), Hidrojen peroksit solüsyonu (\geq %30) (Merck 107209), Methyl Red/Voges Proskauer Besi Yeri (Merck 105712), Methyl red (Merck 106076), Phenol red (Merck 107241), Simmon's Sitrat Agar (Merck 102501), Tripton (Acumedia 7351), Kovac's ayırıcı (GBL 0525), L-arjinin-monohidroklorit (Merck 1015440), L-Lizin-monohidroklorit (Merck 105700), Ornitin (Merck 106906), Cresol red (Merck 105225), ONPG diskleri (Oxoid DD013A), Jelatin (Merck 104078), D-Mannitol (Merck 5980), Sakkaroz (Merck 107651), Lactose monohydrate (Merck 107657), L-Arabinose (Merck 101492), Trehalose (Merck 108353), Xylose (Merck 8689), D-Mannose (Merck 105984), D-Galactose (Merck 104058), D(+)Melezitose

Monohydrate (Merck 444201), Maltoz (Merck 105910), Fruktoz (Lachema), Sorbitol (Merck 56755), Üre (Merck 108486), Sodyum Klorür (Riedel-de Haen 13423), Ampicillin 10 µg (Oxoid CT0003B), Bacitracin 10 µg (Himedia), Cefotaxime 30 µg (Oxoid CT0166B), Chloramphenicol 30 µg (Oxoid CT0013B), Erythromycin 5 µg (Oxoid CT0066B), Flumequine 30 µg (Oxoid CT0666B), Furazolidone 100 µg (BD BBL 230809), Kanamycin 30 µg (Oxoid CT0026B), Neomycin 30 µg (Himedia), Oxytetracycline 30 µg (Oxoid CT0041B), Polymixin B 300 µg (Himedia), Streptomycin 10 µg (Oxoid CT0047B), Sulphamethoxazole/trimethoprim 19:1 25µg (Oxoid CT0052B), Koagülaz (Fluka 74226), Lizostafin (Sigma L7386).

Hızlı tanı kiti olarak ise, API-Staph (bioMérieux 20500) ve enzimatik profilin belirlenmesine yardımcı olmak üzere API-Zym (bioMérieux 25200) kitleri kullanılmıştır.

3.2 YÖNTEM

3.2.1 Klinik Muayene ve Otopsi

İşletmede hastalıkla ilgili anamnez alındıktan sonra, balıkların tank içindeki davranışları gözlenmiş ve şüpheli balıklar tanktan alınarak vücutları incelenmiştir. Bu balıklardan hastalık belirtisi gösterenler, içine yeterli miktarda hava verilmiş su içeren plastik taşıma kutularına ayrılmış ve bakteriyolojik ekim için İ.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Sapanca İçsu Uygulama ve Araştırma Birimi'ne getirilmiş ve birimin balık hastalıkları laboratuvarında balıklardan bakteriyel ekim yapılmıştır.

Otopsi işleminden önce balıklar 0,2 ml/L anestetik maddeye (2-phenoxyethanol) maruz bırakılarak hareketsiz hale getirilmiştir (Çetinkaya ve Şahin, 2005). Hareketsiz haldeki balıklarda; deri, solungaç ve yüzgeçlerin görünümü, gözlerin, ağız içinin ve anüsün durumu incelenmiş ve bulgular kaydedilmiştir.

Daha sonra otopsi işlemine geçilmiştir. Aseptik koşullarda karın boşluğu açılarak balıkların iç organlarının görünümü incelenmiştir.

3.2.2 Bakteriyolojik İnceleme

Karın boşluğu açılan balıkların steril bir öze ile böbrek, karaciğer ve dalak organlarından Tryptic Soya Agar (TSA) besi yerine ekim yapılmıştır. Ekim yapılan besi yerleri İ.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü Hastalıklar Anabilim Dalı'na ait mikrobiyoloji laboratuvarına getirilmiş ve 20-22°C sıcaklıkta 48-72 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası üremenin görüldüğü petri kutularındaki tek kolonilerden azaltma yöntemiyle yeni besi yerlerine ekimler yapılmış ve yine aynı koşullarda üremeleri sağlanmıştır. Bu süre sonunda elde edilen kolonilerin saflığı morfolojik özelliklerine göre incelenmiş; Gram pozitif, hareketsiz ve katalaz pozitif koloniler *Staphylococcus* şüpheli olarak diğer testlerde kullanılmak üzere ayrılmıştır.

3.2.2.1 Hareket Muayenesi, Morfolojik ve Geleneksel Biyokimyasal Testler

Saf olarak elde edilen ve *Staphylococcus* şüpheli koloniler üzerinde yapılan tüm testler İ.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü Hastalıklar Anabilim Dalı'na ait mikrobiyoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Şüpheli kolonilerden alınan örnekler üzerinde uygulanan testler şu şekildedir: Gram boyama, katalaz ve sitokrom oksidaz testleri, hareket testi (asılı damla yöntemiyle), O/F deneyi (Hugh-Leifson vasatı), MR/VP deneyi, sitrat deneyi (Simmon'un sitrat vasatı), üre deneyi, jelatin ve nitrat indirgeme testleri, karbonhidratlardan asit oluşturma testleri (mannitol, trehaloz, mannoz, laktoz, arabinoz, maltoz, galaktoz, fruktoz, sorbitol, sakkaroz, arjinin dihidrolaz, lizin ve ornitin dekarboksilaz testleri (Moeller besi yeri), ONPG testi, %10 ve %15 NaCl varlığında üreme testi, 45°C sıcaklıkta üreme testi, kanlı agar ve tiyoglikolat besi yerinde üreme özellikleri, seçici besi yeri Baird-Parker Agar'da üreme özelliği, koagülaz testi (tüp) (Çotuk, 2006; Whitman, 2004).

Koagülaz testi (tüp): Ticari EDTA'lı tavşan plazması kullanılmıştır. Üreticinin önerileri doğrultusunda, liyofilize haldeki 3 ml plazma, üzerine 3 ml distile su eklenmesiyle kullanıma hazır çözelti haline getirilmiştir. Test için bu çözüldüden 0,3 ml alınarak steril bir tüpe aktarılmış ve bu tüpe, daha önce Brain Heart Broth besi yerinde 21°C sıcaklıkta 24 saat süresince inkübe edilmiş kültürden alınan 0,1 ml örnek eklenmiştir. Daha sonra tüp, 21°C sıcaklığındaki inkübatöre konmuş ve saatte bir kez

olmak üzere 6 saat boyunca pıhtı oluşumu kontrol edilmiştir. Bu süre sonunda negatif sonuç veren suşlar için son karar verilmeden önce 24 saatlik inkübasyon süresi beklenmiştir. Tüp içeriğinin %75 veya daha fazlasının yapışık kitleler halinde pıhtı oluşturduğu testler pozitif kabul edilmiştir. Negatif kontrol için ekim yapılmamış Brain Heart Broth besi yeri içeren tüp kullanılmıştır (Whitman, 2004).

Lizostafin duyarlılık testi (tüp): Liyofilize halde ticari lizostafin kullanılmıştır. Liyofilize haldeki lizostafin, üretici firmanın önerileri doğrultusunda 0,1 M NaCl çözeltisiyle solüsyon haline getirilmiştir. Bu solüsyon, aynı çözeltiyle son konsantrasyonu 25 µg/mL olacak şekilde ayarlanarak test için kullanıma hazır hale getirilmiştir. Suşun Nutrient Broth besi yerindeki 24 saatlik kültüründen alınan 6 ml örnek iki tüpe paylaştırılmış; bunlardan kontrol tüpüne 5 damla serum fizyolojik, test tüpüne 5 damla lizostafin solüsyonu damlatılmış ve karıştırılmıştır. Etüvde 22°C sıcaklıkta bekletilen tüpler 30, 60 ve 120. dakikalarda incelenmiştir. Test sonucu, ekim yapılmış tüp içeriğinin saydamlaştığı durumda duyarlı, bulanık kaldığı durumda dirençli olarak kabul edilmiştir (Bilgehan, 2004).

3.2.2.2 API-Staph kiti

Şüpheli kolonilerin saf kültürlerinden alınan pasajlar TSA besiyerine ekilmiş ve 21°C sıcaklıkta 24 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda üreyen kolonilerden alınan örnekler, kite özel “API Staph Medium” içinde 0,5 McFarland standardına eşit bulanıklık oluşturacak şekilde homojenize edilmiş ve üreticinin kullanım kılavuzunda belirttiği şekilde kullanılmıştır. İnoküle edilmiş kit 24 saat 21°C sıcaklıkta inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda kit ayraçları damlatılarak kılavuzda belirtilen şekilde API-Staph profili çıkarılmıştır (Whitman, 2004).

3.2.2.3 API-Zym kiti

Şüpheli kolonilerin saf kültürlerinden alınan pasajlar TSA besi yerine ekilmiş ve 21°C sıcaklıkta 24 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda üreyen kolonilerden alınan örnekler, 2 ml’lik “API Suspension Medium” içinde 5-6 McFarland standardına eşit bulanıklık oluşturacak şekilde homojenize edilmiş ve üreticinin kullanım kılavuzunda belirttiği şekilde kullanılmıştır. İnoküle edilmiş kit 12 saat 21°C sıcaklıkta inkübasyona

bırakılmış ve süre sonunda kit ayraçları damlatılarak kılavuzda belirtilen şekilde API-Zym profili çıkarılmıştır (Whitman, 2004).

3.2.2.4 Antibiyotik Duyarlılık Testi

İzole edilen suşun antibiyotik duyarlılık testleri, Kirby-Bauer disk difüzyon tekniği ile Mueller Hinton Agar besi yerinde yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, her bir antibiyotik için CLSI (NCCLS) tarafından belirlenen zon çaplarına göre duyarlı veya dirençli olarak belirlenmiştir (Bauer ve diğ., 1966; Bilgehan, 2004).

4. BULGULAR

4.1 KLİNİK VE OTOPSİ BULGULARI

İşletmeden yapılan her iki örneklemede ortalama 0,75 g ağırlığında balıklarda gözlenen bulgular aşağıda listelenmiştir. İncelenen balıklar, aşağıdaki bulgulardan en az bir veya daha fazlasını göstermiştir.

İlk örneklemede, yedi balıkta anüsün hemorajik olduğu olduğu görülmüştür. Balıkların beşinde solungaçlar anemik bulunmuştur. Birinde anal yüzgeç de dahil olmak üzere toplam beş balıkta ventral yüzgeç dibinde hemoraji gözlenmiştir. İki balıkta ekzoftalmus görülmüştür (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: Gözlerde ekzoftalmus ve renkte koyulaşma

İncelenen balıkların üçünde gözde hemoraji görülmüştür. Üç balıkta karında sıvı toplanmasından dolayı şişlik (Şekil 4.2) izlenmiştir. Balıklarının ikisinde splenomegali gözlenmiştir.



Şekil 4.2: Karında şişkinlik, renkte koyulaşma ve gözlerde ekzoftalmus

Üç balıkta karaciğerin kırmızı renkte, birinde ileri derece olmak üzere iki balığın karaciğerinin ise solgun olduğu gözlenmiştir.

İki balıkta bağırsakta sarı mukoid sıvı görülmüştür.

İkinci örneklemede birer balıkta gözde ekzoftalmus (Şekil 4.3) ve hemoraji (Şekil 4.4) ve bir balıkta da dengesiz yüzme davranışı izlenmiştir.



Şekil 4.3: Gözlerde ekzoftalmus



Şekil 4.4: Gözde hemoraji

Yedi balıkta koyu vücut rengi, beş balıkta solungaçlarda anemi görülmüştür. İki balıkta anüs ve bir balıkta ventral yüzgeç dibinin kanamalı olduğu izlenmiştir. Balıklardan birinde karaciğerin solgun ve bir tanesinde de dalağın büyümüş olduğu görülmüştür (Şekil 4.5).



Şekil 4.5: Büyümüş dalak ve solgun karaciğer

Balıkların altısında dalağın solgun, üç balıktaysa dalağın hemorajik olduğu bulunmuştur. Balıkların üçünde bağırsakta sarımsı mukoid madde birikiminin olduğu ve birinin karnının şişkin olduğu gözlenmiştir.

4.2 BAKTERİYOLOJİK BULGULAR

Örnekleme yapılan balıkların iç organlarından yapılan ekim sonucu besi yerlerinde üreyen suşların tümüne hareket testi, Gram boyama ve katalaz testi yapılmış; Gram negatif suşlar tezin konusu dahilinde olmadığından çalışma dışında bırakılırken, Gram pozitif, hareketsiz ve katalaz pozitif iki suş *Staphylococcus* şüpheli olarak ayrılmıştır. Kolonilerden biri, yapılan ayırıcı testler ile (anaerobik glikoz fermantasyon testi, katalaz testi, API-Staph hızlı tanı kiti) *Micrococcus* sp. olarak tanımlanıp çalışma dışında bırakılmıştır.

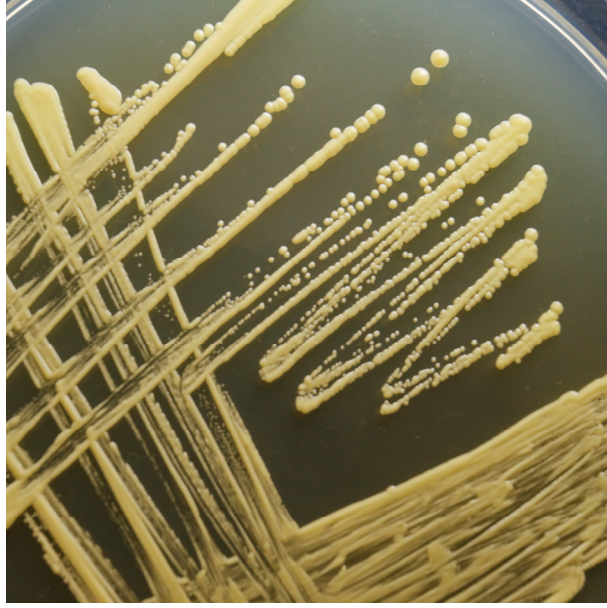
Elde edilen *Staphylococcus* şüpheli koloni üzerinde uygulanan tüm testler Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1: İzole edilen suşun fenotipik özellikleri

Test	Sonuç
Gram	+
Katalaz	+
Hareket	-
Oksidaz	-
O/F	F
MR (Methyl Red)	+
VP (Voges-Proskauer)	-
Indol	-
Asit oluşumu (aerobik):	
D-Mannitol	-
D-Trehaloz	-
D-Mannoz	-
Laktoz	-
L-Arabinoz	-

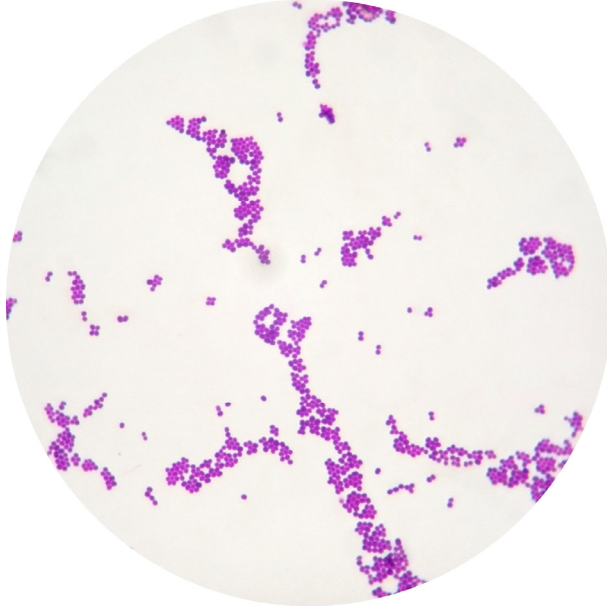
Maltoz	-
D-Galaktoz	-
β -D-Fruktoz	+
Sorbitol	-
Sakkaroz	+ (zayıf)
Glikoz	+
Ksilitol	-
Melibiyoz	-
Rafinoz	-
Ksiloz	-
α -metil-D-glikozit	-
N-Asetil-Glikozamin	-
Üre	+
Sitrat	+
Nitrat	+
ONPG	-
Arjinin dihidrolaz	-
Lizin dekarboksilaz	+
Ornitin dekarboksilaz	-
NaCl konsantrasyonuna göre üreme:	
%10 (w/v)	+ (zayıf)
%15 (w/v)	-
Sıcaklığa göre üreme:	
45 °C	-
Jelatin	-
Mannitol Salt Phenol Red Agar'da üreme özelliği	Üreme +, renk değişimi -
Baird Parker Agar'da üreme özelliği	Siyah, parlak ve konveks koloniler, zon oluşumu yok
Koagülaz (Tüp)	-
Lizostafin duyarlılık testi	Dirençli
Kanlı agar'da hemoliz oluşumu	Gama

İncelenen suş TSA besi yerinde sarı renkli, yuvarlak, 2-3 mm çapında düzgün kenarlı koloniler oluşturmuştur (Şekil 4.6).



Şekil 4.6: Suşun TSA besiyerinde görünümü

Gram boyalı preparatta suşun Gram pozitif, yuvarlak şekilli ve üzüm salkımı şeklinde dizilim özelliğine sahip olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7: Suşun Gram boyanmış görüntüsü (x1000)

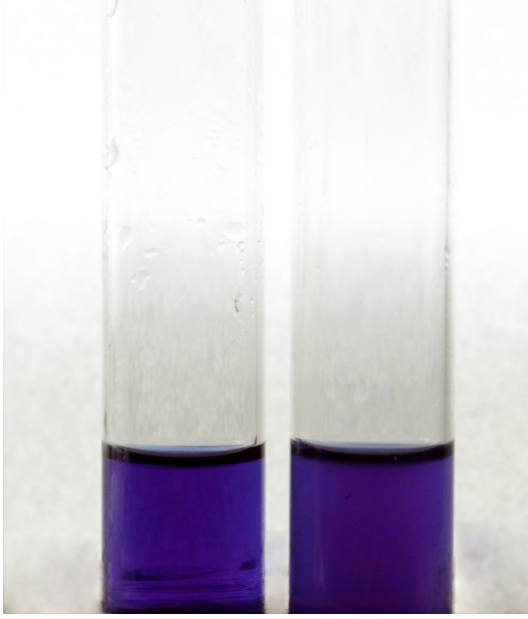
Asılı damla yöntemiyle yapılan hareket testinde hareketsiz olduğu tespit edilen suş, oksidaz testinde negatif, katalaz testinde pozitif sonuç vermiştir. O/F besiyerinde fermantatif üreme özelliği göstermiştir (Şekil 4.8).



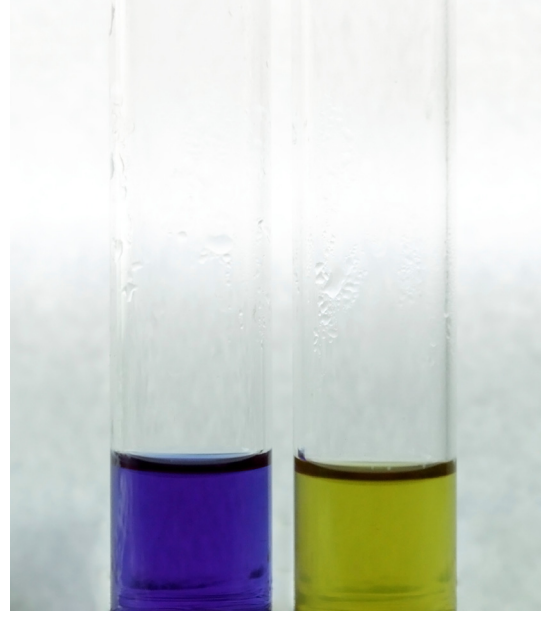
Şekil 4.8: O/F besi yerinde fermantatif üreme

Voges-Proskauer testinde negatif sonuç veren suş, Methyl Red testinde pozitif sonuç vermiştir. ONPG testinde negatif sonuç gözlenmiştir.

Glikoz ve fruktozdan asit oluşturduğu gözlenen suşun; mannitol, mannoz, laktoz, arabinoz, galaktoz, sorbitol, trehaloz, ksilitol, melibiyoz, rafinoz, ksiloz, N-asetil-glikozamin, α -metil-D-glikozit ve maltoz şekerlerinden asit oluşturmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.9 ve 4.10). Sakkarozdan asit oluşumunun ise çok zayıf olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.9: Şekerden asit oluşumu negatif sonuç (D-Mannitol)



Şekil 4.10: Şekerden asit oluşumu pozitif sonuç (β-D-Fruktoz)

Suşun indol oluşturmadığı ve jelatini kullanmadığı belirlenmiştir. Kanlı agarda hemoliz zonu oluşturmamıştır (Şekil 4.11).



Şekil 4.11: Kanlı agarda gama hemoliz görüntüsü

Suşun lizin dekarboksilaz testi pozitif iken, ornitin dekarboksilaz ve arjinin dihidrolaz testi negatif olarak belirlenmiştir. İzolat, tüp koagülaz yöntemiyle uygulanan koagülaz testinde negatif sonuç vermiştir.

Üre ve sitrat testlerinde pozitif sonuç veren suş, nitratı nitrite indirgemmiştir (Şekil 4.12 ve 4.13).



Şekil 4.12: Pozitif üre testi sonucu
(sol: negatif kontrol tüpü, sağ: ekim yapılmış tüp)



Şekil 4.13: Pozitif sitrat testi sonucu
(sol: negatif kontrol tüpü, sağ: ekim yapılmış tüp)

İçeriğinde %10 NaCl bulunan TSA besi yerinde üreyebilen suşun, tuz konsantrasyonunun %15 olduğu TSA besi yerinde üreyemediği gözlenmiştir. Aynı zamanda suş, 45 °C sıcaklıkta üreme göstermemiştir.

Mannitol Salt Phenol Red agarda üreyen ancak besi yerinde renk değişimine neden olmayan suş, Baird-Parker agarda siyah, yuvarlak ve parlak koloniler oluşturmuştur.

4.4 API-ZYM BULGULARI

İnoküle edilmiş kit, 21°C sıcaklıkta 12 saat inkübasyona bırakılmış ve ayıraçları damlatılarak renk değişimleri gözlenmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15: API-Zym sonucu

Kullanım kılavuzuna göre çıkarılan API-Zym profili Tablo 4.3'te verilmektedir.

Tablo 4.3: Suşun API-Zym profili

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
1	:	Kontrol				11	:	Asit fosfataz											
2	:	Alkalen fosfataz				12	:	Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase											
3	:	Esteraz (C 4)				13	:	α -galaktosidaz											
4	:	Esteraz Lipaz (C 8)				14	:	β -galaktosidaz											
5	:	Lipaz (C 14)				15	:	β -glucuronidase											
6	:	Leucine arylamidase				16	:	α -glucosidase											
7	:	Valine arylamidase				17	:	β -glucosidase											
8	:	Cystine arylamidase				18	:	N-asetil- β -glucosaminidase											
9	:	Trypsin				19	:	α -mannosidaz											
10	:	α -chymotrypsin				20	:	α -fucosidaz											

4.5 ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTİ BULGULARI

Antibiyotik duyarlılık testinde suşun: ampicilin 10 μ g, basitrasin 10 μ g, kanamisin 30 μ g, neomisin 30 μ g, oksitetrasiklin 30 μ g, polimiksin B 300 μ g, streptomisin 10 μ g, sülfametoksazol/trimetoprim 19:1 25 μ g antibiyotiklerine duyarlı; sefotaksim 30 μ g, kloramfenikol 30 μ g, eritromisin 5 μ g, flumekuin 30 μ g, furazolidon 100 μ g antibiyotiklerine dirençli olduğu bulunmuştur (Tablo 4.4) (Şekil 4.16).

Tablo 4.4 Suşun antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

Ampisilin 10 µg	AMP	Duyarlı
Basitrasin 10 µg	B	Duyarlı
Sefotaksim 30 µg	CTX	Dirençli
Kloramfenikol 30 µg	C	Dirençli
Eritromisin 5 µg	E	Dirençli
Flumequin 30 µg	UB	Dirençli
Furazolidon 100 µg	FX	Dirençli
Kanamisin 30 µg	K	Duyarlı
Neomisin 30 µg	N	Duyarlı
Novobiosin 5-30 µg	NV	Duyarlı
Oksitetrasiklin 30 µg	OT	Duyarlı
Polimiksin B 300 µg	Pb	Duyarlı
Streptomisin 10 µg	S	Duyarlı
Sülfametoksazol/trimetoprim 19:1 25µg	SXT	Duyarlı



Şekil 4.16: Suşun basitrasin (10 µg), furazolidon (100 µg), neomisin (30 µg) ve polimiksin B (300 µg) antibiyotiklerine ait duyarlılık testi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada; Sakarya ili Akyazı ilçesinde faaliyet göstermekte olan ticari bir alabalık üretim tesisindeki hasta balıkların iç organlarından izole edilen suş, standart biyokimyasal testler ve API-Staph tanı kiti ile *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* olarak tanımlanmıştır.

Stafilokoklar hem iç sularda hem de denizde yetiştiriciliği yapılan birçok balık türünden izole edilmiştir. Gümüş sazanlarında (*Hypophthalmichthys molitrix*) *S. aureus*'un, sarı kuyruk (*Seriola quinqueradiata*) ve kırmızı mercan (*Pagrus major*) balıklarında *S. epidermidis*'in, tilapia balıklarında (*Oreochromis* sp.) ve ot sazanlarında (*Ctenopharyngodon idella*) *S. epidermidis*'in, gökkuşacağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *S. aureus*, *S. chromogenes*, *S. capitis*, *S. cohnii*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. lentus*, *S. lugdunensis*, *S. warneri* ve *S. xylosum*'un, çipura balıklarında (*Sparus aurata*) ve levrek balıklarında (*Dicentrarchus labrax*) hastalık oluşturduğu bildirilmiştir (Kusuda ve Sugiyama, 1981; Shah ve Tyagi, 1986; Wang ve diğ., 1996; Huang ve diğ., 1999; Gil ve diğ., 2000; Timur ve Akaylı, 2003; Kubilay ve Uluköy, 2004; Austin ve Austin, 2007; Varvarigos, 2008).

S. hominis subsp. *hominis*'in hasta balıklardan izole edildiği bu çalışmada, balıklardaki iç ve dış bulgular; renkte koyulaşma, letarji, gözlerde ekzoftalmus ve odak şeklinde hemoraji, ventral yüzgeçlerin dibinde hemoraji, abdominal boşlukta sıvı birikimi ve buna bağlı olarak şişkin karın, hemorajik anüs, splenomegali ve vişne kırmızısı renkte dalak, bazı balıklarda solgun bazılarındaysa kırmızımsı renge sahip karaciğer ve bağırsaklarda sarı mukoid sıvı toplanması olarak gözlenmiştir. Bu bulgular, stafilokokkozis hastalığının görüldüğü diğer çalışmalarda elde edilen bulgularla benzerlik göstermektedir (Timur ve Akaylı, 2003; Kusuda ve Sugiyama, 1981; Wang ve diğ., 1996; Huang ve diğ., 1999; Kubilay ve Uluköy, 2004; Gil ve diğ., 2000; Varvarigos, 2008).

Gram pozitif, hareketsiz, sitokrom oksidaz negatif, katalaz pozitif ve O/F testinde fermantatif üreme gösteren suşun, Baird-Parker agarda siyah, konveks, parlak ve etrafi zonsuz koloniler ürettiği gözlenmiştir. Bu besi yerinde siyah ve parlak koloniler

oluşturması bu suşun *Staphylococcus* cinsine ait olduğunu desteklemektedir (Baird-Parker, 1965; Baird-Parker, 1990; Götz ve diğ., 2006).

Suşa uygulanan tüp koagülaz testiyle, suşun koagülaz negatif stafilokok (KNS) olduğu belirlenmiş ve koagülaz pozitif olan *S. aureus* subsp. *aureus*, *S. aureus* subsp. *anaerobiosus*, *S. delphini*, *S. intermedius*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans* türlerinden ayırımında yardımcı olmuştur (Hájek, 1976; De la Fuente ve diğ., 1985; Varaldo ve diğ., 1988; Igimi ve diğ., 1990; Götz ve diğ., 2006).

Novobiosine duyarlılık testinde suşun duyarlı olduğu gözlenmiş ve cins içinde novobiosine dirençli olan *S. arlettae*, *S. cohnii*, *S. cohnii* subsp. *urealyticus*, *S. equorum*, *S. fleuretti*, *S. gallinarum*, *S. hominis* subsp. *novobiosepticus*, *S. kloosi*, *S. lentus*, *S. saprophyticus*, *S. saprophyticus* subsp. *bovis*, *S. sciuri*, *S. sciuri* subsp. *carnaticus*, *S. sciuri* subsp. *rodentium*, *S. xylosus*, *S. vitulinus* türlerinden ayırımına yardımcı olmuştur (Baker, 1984; Götz ve diğ., 2006).

Suşa uygulanan Basitrasin ve Polimiksin B disk diffüzyon testlerinde, suşun bu maddelere duyarlı bulunması sonucunda *S. epidermidis* ve *S. hominis* subsp. *hominis* türlerinden birisi olabileceği öngörülmüş ve ayırıcı tanı için suşa çeşitli biyokimyasal testler yapılmıştır (Bergey's Manual of Determinative Microbiology, 1994; Götz ve diğ., 2006).

Bergey's Manual of Determinative Microbiology (1994) ve Götz ve diğ. (2006)'nin bildirdiği *Staphylococcus* cinsi üyelerinin ayırıcı tanı tablolarına göre incelenen suş; aerobik koşullarda D-glikoz ve β -D-fruktoz'dan asit oluştururken, L-arabinoz, D-galaktoz, ksilitol, ksiloz, laktoz, maltoz, D-mannitol, D-mannoz, α -metil-D-glikozit ve N-asetil-glikozamin şekerlerinden asit oluşturmaması, sakkarozdan asit oluşumunun ise çok zayıf olması; arjinin dihidrolaz ve ornitin dekarboksilaz üretmeyen suşun lizin dekarboksilaz üretimi yapması; üre ve nitrat testlerinin pozitif, sitrat testinin ise gecikmeli pozitif reaksiyon vermesine göre *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* olarak tanımlanmıştır. Bu biyokimyasal özellikler, Kloos ve Schleifer'in (1975a), Kloos ve diğ. (1998)'nin *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* için bildirdiği özelliklerle

örtüşmektedir. Bu türün çipura ve levrek balıklarında patojen olarak bildirimini yapılması, tanıyı destekler niteliktedir (Varvarigos, 2008).

Furazolidon duyarlılık testi, stafilokoklarla mikrokokları ayırmada oldukça yüksek özgüllüğe sahip olmakla birlikte (%100'e yakın), bazı nadir suşların furazolidona dirençli oldukları da bildirilmektedir. *S. hominis* subsp. *hominis*'in furazolidona dirençli suşlarının bildirilmiş olması, bu çalışmada çıkan sonucu desteklemektedir (Baker, 1984; Freney ve diğ., 1999; Bilgehan, 2004; Götz ve diğ., 2006).

Sonuç olarak; ön çalışmalarda *Staphylococcus* sp. olarak aynı dönemlerde tanımlanan etken, bu çalışmada *S. hominis* subsp. *hominis* olarak tanımlanmıştır. Daha önce yapılan bir çalışmada bu türün balıklarda hastalık oluşturduğu bildirilmişken (Varvarigos, 2008), ülkemizde daha önce rapor edilmediği dikkati çekmiştir. Bu çalışma, *S. hominis* subsp. *hominis*'in ülkemizde rapor edildiği ilk çalışma olarak, ileride gerçekleştirilecek detaylı çalışmalara kaynak teşkil edebilir.

KAYNAKLAR

AKATOV, A.K., HÁJEK, V., SAMSONOVA, T.M. and BALUSEK, J., 1985, Classification and drug resistance of coagulase-negative staphylococci isolated from wild birds In: *The Staphylococci: Proceedings of the 5th International Symposium on Staphylococci and Staphylococcal Infections*, Edited by: J. Jeljaszewicz, Gustav-Fischer Verlag Stuttgart, Germany, 125–127.

ALY, R., SHINEFIELD, H.R. and MAIBACH, H.I., 1981, *Staphylococcus aureus* adherence to nasal epithelial cells: studies of some parameters. In: *Skin Microbiology*, Edited by: Maibach H.I., Aly R., Springer-Verlag, New York, 171-179.

AUSTIN, B. and AUSTIN, A.D., 2007, *Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish*, 4th ed., Springer Verlag, Chichester, United Kingdom, 9781402060687.

BAIRD-PARKER, A.C., 1965, The classification of staphylococci and micrococci from world-wide sources, *Journal of General Microbiology*, 38:363-387.

BAIRD-PARKER, A.C., 1990, The staphylococci: an introduction, *Journal of Applied Bacteriology*, Suppl. 69 (1990), pp. 1S–8S.

BAKER, J.S., 1984, Comparison of various methods for differentiation of staphylococci and micrococci, *Journal of Clinical Microbiology*, 19: 875–879.

BANNERMAN, T.L. and KLOOS, W.E., 1991, *Staphylococcus capitis* subsp. *ureolyticus* subsp. nov. from human skin, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 41, 144-147.

BANNERMAN, T.L. and PEACOCK, S.J., 2007, *Staphylococcus, Micrococcus, and Other catalase- Positive Cocci*, In: *Manual of Clinical Microbiology 9th edition*, Edited by P.R. Murray, E. Jo- Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller. ASM Press, Washington, DC.

BASCOMB, S. and MANAFI, M., 1998, Use of enzyme tests in characterization and identification of aerobic and facultatively anaerobic gram-positive cocci, *Clinical Microbiology Reviews*, 11(2), 318-40.

BAUER, A.W., KIRBY, W.M.M., SHERRIS, J.C., TURCK, M., 1966, Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method, *American Journal of Clinical Pathology*, 45:493-496.

BECKER, K., HARMSSEN, D., MELLMANN, A., MEIER, C., SCHUMANN, P., PETERS, G. and VON EIFF, C., 2004, Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of *Staphylococcus* species, *Journal of Clinical Microbiology*, 42(11), 4988-95.

BİLGEHAN, H., 2004, *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*, 4. Baskı, Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, İzmir, 50060070057

BROWN, A.E., 1965, The Production of Pigment by *Staphylococcus pyogenes*, *Journal of Medical Laboratory Technology*, Jul:22:121-9.

BRUN, Y., FLEURETTE, J. and FOREY, F., 1978, Micromethod for biochemical identification of coagulase-negative staphylococci, *Journal of Clinical Microbiology*, 8:503-508.

BUCHER, E., BECK, G., SCHLEIFER, K.H., 1980, Occurrence and Distribution of Staphylococci and Micrococci in Soybean Oil Meal, *Zentralbl. Bakteriolog. Mikrobiol. Hyg. [B]*, Vol. 1, no. 4, pp. 320-329.

CHESNEAU, O., MORVAN, A., GRIMONT, F., LABISCHINSKI, H. and SOLH, N.E., 1993, *Staphylococcus pasteurii* sp. nov., isolated from human, animal, and food specimens, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 43:237-244.

CIMOLAI, N., 2001, *Laboratory diagnosis of bacterial infections*, Informa Health Care, 9780824705893.

COLLEEN, S., HOVELIUS, B., WIESLANDER, A. and MIRDH, P.A., 1979, Surface properties of *Staphylococcus saprophyticus* and *Staphylococcus epidermidis* as studied by adherence tests and twopolymer, aqueous phase systems, *Acta pathologica et microbiologica Scandinavica. Section B, Microbiology*, 87:321-328.

ÇETİNKAYA, O. ve ŞAHİN, A., 2005, Balıklarda Anestezi Uygulamaları ve Başlıca Anestezikler, *Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri*, Editör: M. Karataş, Nobel Yayın Dağıtım, 237-274, 9755917578.

ÇOTUK, A., 2006, *Genel Mikrobiyoloji Laboratuvar Yöntemleri*, Nobel Tıp Kitabevleri, 9754202907.

DE BUYSER, M.L., MORVAN, A., AUBERT, S., DILASSER, F. and EL SOLH, N., 1992, Evaluation of a ribosomal RNA gene probe for the identification of species and subspecies within the genus *Staphylococcus*, *Journal of General Microbiology*, 138(5), 889-99.

DE LA FUENTE, R., SUAREZ, G. and SCHLEIFER, K.H., 1985, *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* subsp. nov., the causal agent of abscess disease of sheep, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 35:99-102.

DEINHOFER, M. and PERNTHANER, A., 1993, Differentiation of staphylococci from sheep and goat milk samples. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrifte*, 100:234– 236.

DEVRIESE, L.A, 1986, Coagulase negative staphylococci in animals, In: *Coagulase negative staphylococci*, Edited by: P. A. Mardh and K. H. Schleifer, Almquist and Wiksell International, Stockholm.

DEVRIESE, L.A., 1990, Staphylococci in healthy and diseased animals, *Journal of Applied Bacteriology.*, 69, pp. S71–S80.

DEVRIESE, L.A., HÁJEK, V., OEDING, P., MEYER, S.A. and SCHLEIFER, K.H., 1978, *Staphylococcus hyicus* (Sompolinsky 1953) comb. nov. and *Staphylococcus hyicus* subsp. *chromogenes* subsp. nov., *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 28:482-490.

DEVRIESE, L.A., POUTREL, B., KILPPER-BALZ, R. and SCHLEIFER, K.H., 1983, *Staphylococcus gallinarum* and *Staphylococcus caprae*, two new *Staphylococcus* species from animals, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 33, 480–486.

DEVRIESE, L.A., SCHLEIFER, K.H. and ADEGOKE, G.O., 1985a, Identification of coagulase-negative staphylococci from farm animals, *Journal of Applied Bacteriology*, 58:45-55.

DEVRIESE, L.A., NZUAMBE, D., GODARD, C., 1985b, Identification and characteristics of staphylococci isolated from lesions and normal skin of horses, *Veterinary Microbiology*, 10: 269–77.

DEVRIESE, L.A., LAEVENS, H. and HAESEBROUCK, F., 1994, A simple identification scheme for coagulase negative staphylococci from bovine mastitis, *Research in Veterinary Science*, 57:240–244.

DRANCOURT, M. and RAOULT, D., 2002, *rpoB* gene sequence-based identification of *Staphylococcus* species, *Journal of Clinical Microbiology*, 40(4), 1333-8.

EMMETT, M. and KLOOS, W.E., 1975, Amino acid requirements of staphylococci isolated from human skin, *Canadian Journal of Microbiology*, 21:729-733.

EMMETT, M. and KLOOS, W.E., 1979, The nature of arginine auxotrophy in cutaneous populations of staphylococci, *Journal of General Microbiology*, 110:305-314.

ENDL, J., SEIDL, P.H., FIEDLER, F. and SCHLEIFER, K.H., 1983, Chemical composition and structure of cell wall teichoic acids of staphylococci, *Archives of Microbiology*, 135, 215–223.

EUZÉBY, J.P., 2009, *List of prokaryotic names with standing in nomenclature* [online], www.bacterio.cict.fr, [Ziyaret Tarihi: 22.6.2009]

EVANS, J.B., BRADFORD, W.L. and NIVEN, C.F., 1955, Comments concerning the taxonomy of the genera *Micrococcus* and *Staphylococcus*, *Intern Bull. Bacteriol. Nomen. Taxon.*, 5: 61-66.

EVANS J.B. and KLOOS, W.E., 1972, Use of Shake Cultures in a Semisolid Thioglycolate Medium for Differentiating *Staphylococci* from *Micrococci*, *Applied Microbiology*, 23:326-331

FALK, D. and GUERING, S.J., 1983, Differentiation of *Staphylococcus* and *Micrococcus spp.* with the Taxo A bacitracin disk, *Journal of Clinical Microbiology*, 18, 719–721.

FALLER, A.H., GÖTZ, F. and SCHLEIFER, K.H., 1980, Cytochrome patterns of staphylococci and micrococci and their taxonomic implications, *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. I. Abteilung Originale C1*, 26–39.

FLÜGGE, C., 1886, *Die Mikroorganismen*. Part 2. 3rd ed. Leipzig, Germany.

FONTANA, C., FAVARO, M., PELLICIONI, M., PISTOIA, E.S. and FAVALLI, C., 2005, Use of the MicroSeq 500 16S rRNA gene-based sequencing for identification of bacterial isolates that commercial automated systems failed to identify correctly, *Journal of Clinical Microbiology*, 43(2), 615-9.

FOSTER, G., ROSS, H.M., HUTSON, R.A. and COLLINS, M.D., 1997, *Staphylococcus lutrae* sp. nov., a new coagulase-positive species isolated from otters, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47, 724–726.

FRENEY, J., BRUN, Y., BES, M., MEUGNEIR, H., GRIMONT, F., GRIMONT, P.A.D., NERVI, C. and FLEURETTE, J., 1988, *Staphylococcus lugdunensis* sp. nov. and *Staphylococcus schleiferi* sp. nov., two species from human clinical specimens, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 38:168-172.

FRENEY, J., KLOOS, W.E., HAJEK, V. and WEBSTER, J.A., 1999, Recommended minimal standards for description of new staphylococcal species, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49, 489±502.

GHEBREMEDHIN, B., LAYER, F., KONIG, W. and KONIG, B., 2008, Genetic classification and distinguishing of *Staphylococcus* species based on different partial *gap*, 16S rRNA, *hsp60*, *rpoB*, *sodA*, and *tuf* gene sequences, *Journal of Clinical Microbiology*, 46(3), 1019-25.

GIL, P., VIVAS, J., GALLARDO, C.S. and RODRIGUEZ, L.A., 2000, First isolation of *Staphylococcus warneri*, from diseased rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in Northwest Spain, *Journal of Fish Diseases*, 23, 295-298.

GÖTZ, F., BANNERMAN, T. and SCHLEIFER, K.H., 2006, Chapter 1.2.1: The genera *Staphylococcus* and *Macrococcus*, In: *The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria Third edition*, vol. 4. Chief ed. M. Dworkin, eds. S. Falkow, E. Rosenberg, K.H. Schleifer, E. Stackebrandt, Springer Publisher, New York, 0387254935.

GRAMOLI, J.L. and WILKINSON, B.J., 1978, Characterization and identification of coagulase-negative heat-stable deoxyribonuclease-positive staphylococci, *Journal of General Microbiology*, 105, 275–285.

HÁJEK, V., 1976, *Staphylococcus intermedius*. a new species isolated from animals, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 26:401-408.

HÁJEK, V. and BALUSEK, J., 1985, Staphylococci from flies of different environments. In: *The staphylococci*, ed. Jeljaszewics, J., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Germany, 9780895742162.

HÁJEK, V., DEVRIESE, L.A., MORDARSKI, M., GOODFELLOW, M., PULVERER, G. and VARALDO, P.E., 1986, Elevation of *Staphylococcus hyicus* subsp. *chromogenes* (Devriese et al., 1978) to species status: *Staphylococcus chromogenes* (Devriese et al., 1978) comb. nov., *Syst. Appl. Microbiol.*, 8:169-173.

HÁJEK, V., LUDWIG, W., SCHLEIFER, K.H., SPRINGER, N., ZITZELSBERGER, W., KROPPESTEDT, R.M. and KOCUR, M., 1992, *Staphylococcus muscae*, a new species isolated from flies. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 42:97-101.

HÁJEK, V., MEUGNIER, H., BES, M., BRUN, Y., FIEDLER, F., CHMELA, Z., LASNE, Y., FLEURETTE, J. and FRENEY, J., 1996, *Staphylococcus saprophyticus* subsp. *bovis* subsp. nov., isolated from bovine nostrils, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46:792-796.

HEIKENS, E., FLEER, A., PAAUW, A., FLORIJN, A. and FLUIT, A.C., 2005, Comparison of genotypic and phenotypic methods for species-level identification of clinical isolates of coagulase-negative staphylococci, *Journal of Clinical Microbiology*, 43(5), 2286-90.

HERMANS, K. DEVRIESE, L. A. and HAESEBROUCK, F., 2004, Chapter 4. *Staphylococcus*, In: *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals 3rd edition*, edited by: C.L. Gyles, J.F. Prescott, J.G. Songer and C.O. Thoen, Wiley-Blackwell, Ames-Iowa, 9780813829395.

HESSELBARTH, J. and SCHWARZ, S., 1995, Comparative ribotyping of *Staphylococcus intermedius* from dogs, pigeons, horses and mink, *Veterinary Microbiology*, 45, pp. 11-17.

HIRSH, D.C. and ZEE, Y.C., 1999, *Veterinary Microbiology 2nd Edition*, Blackwell Science, Massachusetts, 9780865425439.

HOLT, J.G., 1994, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (9th ed)*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 9780683006032.

HUANG, S.L., CHEN, W.C., SHEI, M.C., LIAO, I.C. and CHEN, S.N., 1999, Studies on epizootiology and pathogenicity of *Staphylococcus epidermidis* in Tilapia (*Oreochromis spp.*) cultured in Taiwan, *Zoological Studies*, 38(2): 178-188.

IGIMI, S., KAWAMURA, S., TAKAHASHI, E. and MITSUOKA, T., 1989, *Staphylococcus felis*, a new species from clinical specimens from cats, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 39:373-377.

IGIMI, S., TAKAHASHI, E. and MITSUOKA, T., 1990, *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* subsp. nov., isolated from the external auditory meatus of dogs with external ear otitis, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 40:409-411.

INGLIS, V., ROBERTS, R.J. and BROMAGE, N.R., 1993, *Bacterial Diseases in Fish*, Blackwell Scientific Publications, London, 9780632034970.

JARP, J., 1991, Classification of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine clinical and subclinical mastitis, *Veterinary Microbiology*, 27:151–158.

JONES, T.C., HUNT, R.D., KING, N.W., 1997, *Veterinary Pathology 6th Edition*, Wiley-Blackwell, Baltimore, 978-0-683-04481-2.

KAWAMURA, Y., HOU, X.-G., SULTANA, F., HIROSE, K., MIYAKE, M., SHU, S.-E. and EZAKI, T., 1998, Distribution of Staphylococcus species among human clinical specimens and emended description of *Staphylococcus caprae*, *Journal of Clinical Microbiology*, 36:2038–2042.

KILPPER, R., BUHL, U. and SCHLEIFER, K.H., 1980, Nucleic acid homology studies between *Peptococcus saccharolyticus* and various anaerobic and facultative anaerobic Gram-positive cocci, *FEMS Microbiological Letters*, 8, 205–210.

KLOOS, W.E., 1980, Natural populations of the genus Staphylococcus, *Annual Review of Microbiology*, 34:559-592.

KLOOS, W.E., TORNABENE, T.G. and SCHLEIFER, K.H., 1974, Isolation and characterization of micrococci from human skin, including two new species: *Micrococcus lylae* and *Micrococcus kristinae*, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 24:79-101.

KLOOS, W.E. and SCHLEIFER, K.H., 1975a, Isolation and characterization of staphylococci from human skin. II. Descriptions of four new species: *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis*, and *Staphylococcus simulans*, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 25:62-79.

KLOOS, W.E. and SCHLEIFER, K.H., 1975b, Simplified scheme for routine identification of human Staphylococcus aureus species, *Journal of Clinical Microbiology*, 1:82–88.

KLOOS, W.E., ZIMMERMAN, R.J. and SMITH, R.F., 1976a, Preliminary studies on characterization and distribution of Staphylococcus and Micrococcus species on animal Skin, *Applied and Environmental Microbiology*, 31:53.

KLOOS, W.E., SCHLEIFER, K.H. and SMITH, R.F., 1976b. Characterization of *Staphylococcus sciuri* sp. nov. and its subspecies, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 26:22-37.

KLOOS, W.E. and WOLFSHOHL, J.F., 1979, Evidence for deoxyribonucleotide sequence divergence between staphylococci living on human and other primate skin, *Current Microbiology*, 3, 167-172.

KLOOS, W.E. and SCHLEIFER, K.H., 1983, *Staphylococcus auricularis* sp. nov.: an inhabitant of the human external ear, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 33: 9-14.

KLOOS, W.E. and SCHLEIFER, K.H., 1986, Genus IV. *Staphylococcus* (Rosenbach 1884), In: *Bergey's manual of systematic microbiology, vol. 2*. Edited by J. G. Holt, P. H. A. Sneath, N. S. Mair, and M. S. Sharpe, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 978-0387950402.

KLOOS, W.E. and WOLFSHOHL, J.F., 1991, *Staphylococcus cohnii* subspecies: *Staphylococcus cohnii* subsp. *cohnii* subsp. nov. and *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticum* subsp. nov., *International Journal of Systematic Bacteriology*, 41:284–289.

KLOOS, W.E. and BANNERMAN, T.L., 1994, Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci, *Clinical Microbiology Reviews*, 7:117–140.

KLOOS, W.E., BALLARD, D.N., WEBSTER, J.A., HUBNER, R.J., TOMASZ, A., COUTO, I., SLOAN, G., DEHART, H.P., FIEDLER, F., SCHUBERT, K., DE LENCASTRE, H., SANCHES, I.S., HEATH, H.E., LEBLANC, P.A. and LJUNGH, Å., 1997, Ribotype delineation and description of *Staphylococcus sciuri* subspecies and their potential as reservoirs of methicillin resistance and staphylolytic enzyme genes, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47:313–323.

KLOOS, W.E., GEORGE, C.G., OLGATE, J.S., VAN PELT, L., MCKINNON, M.L., ZIMMER, B.L., MULLER, E., WEINSTEIN, M.P. and MIRRETT, S., 1998, *Staphylococcus hominis* subsp. *novobiosepticus* subsp. nov., a novel trehalose- and N-acetyl-D-glucosamine-negative, novobiocin and multiple-antibiotic-resistant subspecies isolated from human blood cultures, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 48, 799-812.

KOCUR, M. and MORTENSEN, N., 1967, Comparison of methods for estimation of anaerobic production of acid from glucose and mannitol in staphylococci and micrococci, *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, 71:141-146.

KUBİLAY, A. and ULUKÖY, G., 2004, First isolation of *Staphylococcus epidermidis* from cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) in Turkey, *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 24(3): 137-143.

KUSUDA, R. and SUGIYAMA, A., 1981, Studies on the characters of *Staphylococcus epidermidis* isolated from diseased fishes – I. On the morphological, biological and biochemical properties, *Fish Pathology*, 16: 15-24.

KWOK, A.Y. and CHOW, A.W., 2003, Phylogenetic study of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species based on partial *hsp60* gene sequences, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(Pt 1), 87-92.

LACEY, R.W., and LORD, V.L., 1981, Sensitivity of staphylococci to fatty acids: novel inactivation of linolenic acid by serum, *Journal of Medical Microbiology*, 14:41.

LAM, T.J., SCHUKKEN, Y.H., VAN VLIET, J.H., GROMMERS, F.J., TIELEN, M.J. and BRAND, A., 1997, Effect of natural infection with minor pathogens on susceptibility to natural infection with major pathogens in the bovine mammary gland, *American Journal of Veterinary Research*, 58:17–22.

LAYER, F., GHEBREMEDHIN, B., MODER, K.-A., KÖNIG, W. and KÖNIG, B., 2006, Comparative study using various methods for identification of *Staphylococcus* species in clinical specimens, *Journal of Clinical Microbiology*, 44:2824-2830.

LUDWIG, W., SCHLEIFER, K.H., FOX, G.E., SEEWALDT, E. and STACKEBRANDT, E., 1981, A phylogenetic analysis of staphylococci, *Peptococcus saccharolyticus* and *Micrococcus mucilaginosus*, *Journal of General Microbiology*, 125, 357–366.

MAES, N., DE GHELDRE, Y., DE RYCK, R., VANEECHOUTTE, M., MEUGNIER, H., ETIENNE, J. and STRUELENS, M. J., 1997, Rapid and accurate identification of *Staphylococcus* species by tRNA intergenic spacer length polymorphism analysis, *Journal of Clinical Microbiology*, 35(10), 2477-81.

MARSOU, R., BES, M., BOUDOUMA, M., BRUN, Y., MEUGNIER, H., FRENEY, J., VANDENESCH F. and ETIENNE, J., 1999, Distribution of *Staphylococcus sciuri* subspecies among human clinical specimens and profile of antibiotic resistance, *Research in Microbiology*, 150:531-541.

MARTINEAU, F., PICARD, F. J., KE, D., PARADIS, S., ROY, P. H., OUELLETTE, M. and BERGERON, M. G., 2001, Development of a PCR assay for identification of staphylococci at genus and species levels, *Journal of Clinical Microbiology*, 39(7), 2541-7.

MCNAMEE, P. T. and SMYTH, J. A., 2000, Bacterial chondronecrosis with osteomyelitis (femoral head necrosis) of broiler chickens: A review, *Avian Pathology*, 29:253–270.

MELLMANN, A., BECKER, K., VON EIFF, C., KECKEVOET, U., SCHUMANN, P. and HARMSSEN, D., 2006, Sequencing and staphylococci identification, *Emerging Infectious Diseases*, 12(2), 333-6.

MEYER, W., 1967, A proposal for subdividing the species *Staphylococcus aureus*, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 17, 387-389.

NAIDOO J. and NOBLE W.C., 1981, Transfer of gentamicin resistance between coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci on skin, *The Journal of Hygiene*, Apr;86(2):183–187.

O'CONNOR, J.J., WILLIS, A.T., SMITH, J.A., 1966, Colonial pigmentation of *Staphylococcus aureus*, *Journal of Pathology and Bacteriology*, 92, 97-105.

OKERMAN, L., DEVRIESE, L.A., MAERTENS, L., OKERMAN, F. and GODARD, C., 1984, Cutaneous staphylococcosis in rabbits, *The Veterinary record*, 114, pp. 313–315.

PANIKER, C.K.J., 2006, *Textbook of Microbiology 7th Revised edition*, Orient Blackswan, 9788125028086.

PARKER, M. T. and DUERDEN, B. I., 1990, *Topley and Wilson's principles of bacteriology, virology and immunity, Eighth edition. Vol. 2. Systematic bacteriology*, 978-0713145946.

PHILLIPS, W. E., JR., KING, R.E., and KLOOS, W.E., 1980, Isolation of *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* from a pig with septic polyarthritis, *American Journal of Veterinary Research*, 41:274-276.

PHILLIPS, W.E., JR. and KLOOS, W.E., 1981, Identification of coagulase-positive *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* isolates from veterinary clinical specimens, *Journal of clinical microbiology*, 14:671-673.

PIOCH, G., HEYNE, H. and WITTE, W., 1988, Coagulase-negative *Staphylococcus* species in mixed fodder and on grain, *Zentralblatt für Mikrobiologie*, 143:157-171.

POUTREL, B., 1984a, Udder infection of goats by coagulase-negative *Staphylococci*, *Veterinary Microbiology*, 9, 131-137.

PROBST, A.J., HERTEL, C., RICHTER, L., WASSILL, L., LUDWIG, W. and HAMMES, W.P., 1998, *Staphylococcus condimenti* sp. nov., from soy sauce mash, and *Staphylococcus carnosus* (Schleifer and Fischer 1982) subsp. *utilis* subsp. nov., *International Journal of Systematic Bacteriology*, 48, 651-658.

QUINN P.J., CARTER, M.E., MARKEY, B., CARTER, G.R., 1994, *Clinical Veterinary Microbiology*, Wolfe Publishing Ltd., London, 978-0723417118.

SABATH, L.D., 1979, Staphylococcal tolerance to penicillins and cephalosporins, In: *Microbiology*, Edited by D. Schlessinger, American Society for Microbiology, Washington, D.C., 9780914826200.

SABATH L.D., WHEELER, N., LAVERDIERE, M., BLAZEVIC, D. and WILKINSON, B.J., 1977, A new type of penicillin resistance of *Staphylococcus aureus*, *Lancet*, 1:443-447.

SCHLEIFER, K.H. and KANDLER, O., 1972, Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications, *Bacteriological Reviews*, 36, 407-477.

SCHLEIFER, K.H. and KLOOS, W.E., 1975a, A simple test system for the separation of staphylococci from micrococci, *Journal of Clinical Microbiology*, 1, 327-338.

SCHLEIFER, K.H. and KLOOS, W.E., 1975b, Isolation and characterization of staphylococci from human skin. I. Amended descriptions of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus*, and descriptions of three new species: *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus haemolyticus* and *Staphylococcus xylosus*, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 25:50-61.

SCHLEIFER, K.H., MEYER, S.A. and HEISE, W., 1979, Deoxyribonucleic acid hybridisation studies among some micrococci, *FEMS Microbiology Letters*, 6, 33-36.

SCHLEIFER, K.H. and FISCHER, U., 1982, Description of a new species of the genus *Staphylococcus*: *Staphylococcus carnosus*, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 32:153–156.

SCHLEIFER, K.H., KILPPER-BÄLZ, R. and DEVRIESE, L.A., 1984, *Staphylococcus arlettae* sp. nov., *S. equorum* sp. nov. and *S. kloosii* sp. nov.: three new coagulase-negative *Staphylococci* from animals, *Systematic and Applied Microbiology*, 5, 501–509.

SHAH, K.L. and TYAGI, S.C., 1986, An eye disease in silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* held in tropical ponds associated with the bacterium *Staphylococcus aureus*, *Aquaculture*, 55: 1-4.

SHALITA, Z., MURPHY, E. and NOVICK, R.P., 1980, Penicillinase plasmids of *Staphylococcus aureus*: structural and evolutionary relationships, *Plasmid*, 3:291-311.

SILVESTRI, G. and HILL, L.R., 1965, Agreement between DNA base composition and taxometric classification of Gram-positive cocci, *J. Bact.*, 90, 136.

SNIESZKO, S.F., 1972, Progress in fish pathology in this century, p. 1-15. In: *Diseases of fish Symp. 2001* Edited by: L.E. Mawdesley-Thomas, Soc. London, Academic Press, New York, NY. Symp. No. 39: 380 p.

STEPAN, J., PANTUCEK, R. and DOSKAR, J., 2004, Molecular diagnostics of clinically important staphylococci, *Folia Microbiol*, 49, 353–386.

STEPHAN, R., ANNEMULLER, C., HASSAN, A.A. and LAMMLER, C., 2001, Characterization of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis in north-east Switzerland, *Veterinary Microbiology*, 78(4), 373-82.

SUGIYAMA, A. and KUSUDA, R., 1981a, Studies on the characters of *Staphylococcus epidermidis* isolated from diseased fishes– II. Serological properties of the isolates, *Fish Pathology*, 16, 25–33.

SUGIYAMA, A. and KUSUDA, R., 1981b, Studies on the characters of *Staphylococcus epidermidis* isolated from diseased fishes- III. A comparative study on the serological properties between the isolates and the strains of human origin, *Fish Pathology*, 16, 35–41.

SVEC, P., VANCANNEYT, M., SEDLACEK, I., ENGELBEEN, K., STETINA, V., SWINGS, J. and PETRAS, P., 2004, Reclassification of *Staphylococcus pulvereri* Zakrzewska-Czerwinska et al. 1995 as a later synonym of *Staphylococcus vitulinus* Webster et al. 1994, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(Pt 6), 2213-5.

TANASUPAWAT, S., HASHIMOTO, Y., EZAKI, T., KOZAKI, M. and KOMAGATA, K., 1992, *Staphylococcus piscifennentans* sp. nov., from fermented fish in Thailand, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 42:577-581.

TAPONEN, S., KOORT, J., BJORKROTH, J., SALONIEMI, H. and PYORALA, S., 2007, Bovine intramammary infections caused by coagulase-negative staphylococci may persist throughout lactation according to amplified fragment length polymorphism-based analysis, *Journal of Dairy Science*, 90(7), 3301-7.

TIMUR, G. and AKAYLI, T., 2003, First study of Staphylococcosis in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.1792) fry in Turkey, *International Symposium of Fisheries and Zoology*, 23-26 October 2003 Istanbul, p 67-79.

TİMUR, G. ve TİMUR, M., 2003, *Balık Hastalıkları*, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, 975-404-699-9.

VANDENESCH, F., EYKYN, S.J., BES, M., MEUGNIER, H., FLEURETTE, J. and ETIENNE, J., 1995, Identification and ribotypes of *Staphylococcus caprae* isolates isolated as human pathogens and from goat milk, *Journal of Clinical Microbiology*, 33:888–892.

VARALDO, P.E., KILPPER-BÄLZ, R., BIAVASCO, F., SATTA, G. and SCHLEIFER, K.H., 1988, *Staphylococcus delphini* sp. nov., a coagulase-positive species isolated from dolphins, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 38: 436–439.

VARVARIGOS, P., 2008, *Gram positive coccobacteria (Micrococcaceae, Streptococcaceae) causing systemic disease in intensively farmed fish, Brief review* [online], http://www.vetcare.gr/Gram_positive_cocci.htm [Ziyaret Tarihi: 27.10.2008].

VERNOZY-ROZAND, C., MAZUY, C., MEUGNIER, H., BES, M., LASNE, Y., FIEDLER, F., ETIENNE, J. and FRENEY, J., 2000, *Staphylococcus fleurettii* sp. nov., isolated from goat's milk cheeses, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, 1521–1527.

WANG, W.-S., CHANG, Y.-C., SHIEH, M.-T. and LIN, C.-C., 1996, *Staphylococcus epidermidis* and cestode infection of cultured grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) in Taiwan, *Reports on Fish Disease Research*, 17, 57-63.

WATTS, J. L. and YANCEY, R. J. Jr., 1994, Identification of veterinary pathogens by use of commercial identification systems and new trends in antimicrobial susceptibility testing of veterinary pathogens, *Clinical Microbiology Reviews*, 7(3), 346-56.

WEGENER H.C. and SKOV-JENSEN E.W., 1992, A longitudinal study of *Staphylococcus hyicus* colonization of vagina of gilts and transmission to piglets, *Epidemiology and Infection*, 109: 433–444.

WHITMAN, K.A., 2004, *Finfish and Shellfish Bacteriology Manual: Techniques and Procedures*, Iowa state press, USA, 0-8138-1952-0.

YUGUEROS, J., TEMPRANO, A., BERZAL, B., SANCHEZ, M., HERNANZ, C., LUENGO, J.M. and NAHARRO, G., 2000, Glycerinaldehyde-3-phosphate

dehydrogenase-encoding gene as a useful taxonomic tool for *Staphylococcus spp.*, *Journal of Clinical Microbiology*, 38(12), 4351-5.

ZADOKS R.N. and WATTS J.L., 2008, Species identification of coagulase-negative staphylococci: Genotyping is superior to phenotyping, *Veterinary Microbiology*, 134(1-2), 20-28

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında İstanbul'da doğdum. 1994-1997 yılları arasında Üsküdar Fen Lisesi ve Bilfen Lisesi'nde, 1997-2000 yılları arasında İ.Ü. Mühendislik Fakültesi Maden Mühendisliği Bölümü'nde öğrenim gördüm. 2000 yılında İ.Ü. Su Ürünleri Fakültesi'ni kazandım ve 2006 yılında mezun oldum. Aynı yıl İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü'ne bağlı olarak Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı Hastalıklar programında yüksek lisans öğrenimime başladım. Yabancı dilim İngilizcedir.