



T.C.

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KAHRAMANMARAŞ İLİNDEKİ GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞI İŞLETMELERİNDE *Yersinia ruckeri*'NİN
KONVEKSİYONEL KÜLTÜR VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE TEŞHİSİ VE ANTİBİYOTİK
DUYARLILIKLARININ SAPTANMASI**

MESUT RECEP GÖK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

KAHRAMANMARAŞ 2015

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAHRAMANMARAŞ İLİNDEKİ GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞI İŞLETMELERİNDE *Yersinia ruckeri*'NİN
KONVEKSİYONEL KÜLTÜR VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE TEŞHİSİ VE ANTİBİYOTİK
DUYARLILIKLARININ SAPTANMASI

MESUT RECEP GÖK

Bu tez,
Su Ürünleri Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS
derecesi için hazırlanmıştır.

KAHRAMANMARAŞ 2015

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Mesut Recep GÖK tarafından hazırlanan “KAHRAMANMARAŞ İLİNDEKİ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI İŞLETMELERİNDE *Yersinia ruckeri* ’NİN KONVEKSİYONEL KÜLTÜR VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE TEŞHİSİ VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ SAPTANMASI” adlı bu tez, jürimiz tarafından 04/02/2015 tarihinde oy birliği ile Su Ürünleri Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Yard. Doç. Dr. Mikail ÖZCAN (DANIŞMAN)

Su Ürünleri Bölümü
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Prof. Dr. Ahmet ALP (ÜYE)

Su Ürünleri Bölümü
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Yard.Doç. Dr. Mustafa KÜSEK (ÜYE)

Bitki Koruma Bölümü
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç.Dr. Mustafa ŞEKKELİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Mesut Recep GÖK

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2013/5-1YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

**KAHRAMANMARAŞ İLİNDEKİ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI
İŞLETMELERİNDE *Yersinia ruckeri*'NİN KONVEKSİYONEL KÜLTÜR VE
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE TEŞHİSİ VE ANTİBİYOTİK
DUYARLILIKLARININ SAPTANMASI
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

MESUT RECEP GÖK

ÖZET

Yaptığımız çalışma; Kahramanmaraş ilinde bulunan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) işletmelerinde balıklardan alınan örneklerden *Yersinia ruckeri*'nin bakteriyolojik kültür yöntemi ile izolasyon ve identifikasyonu yanı sıra Polimeraz Zincir Reaksiyonu kullanılarak etken DNA'sının amplifikasyonu amaçlanmıştır. Bu amaçla Nisan 2013 ve Eylül 2014 tarihleri arasında 16 farklı alabalık işletmesinden, Gökkuşağı alabalıklarından, karaciğer, dalak, böbrek ve bağırsaklardan örnekler alınmıştır. Toplam 115 örnek incelenmiştir. Bunlardan 14 örnekte *Yersinia ruckeri* tespit edilmiştir. Çalışma yapılan 16 farklı işletmeden, 7 tanesinde hastalık tespiti yapılmıştır.

Enterik kızıl ağız hastalığı etkeni olan *Yersinia ruckeri*, 10 °C ve üzeri su sıcaklığında hastalık oluşturmaktadır. Hastalık belirtileri bu su sıcaklığı değerinden sonra görülmektedir. Bu nedenle numune alımında su sıcaklıklarının arttığı dönemler seçilmiştir. Bölge ortalama 800 metre rakıma sahip olup, genellikle bahar ve yaz dönemlerinde su sıcaklıkları artmaktadır. Bu nedenle özellikle 2013 yılı ilkbahar, yaz ve sonbahar ile 2014 yılı ilkbahar ve yaz mevsiminde alabalık işletmelerinde kontroller yapılmıştır. Balık numunelerinin seçiminde; rengin koyulaşması, ağız iç ve dış kısımlarında, operkulumlarda, vücudun dış yüzeyinde ve yüzgeçlerin tabanında kanamalar, karında şişlik, ekzofalmus belirtisinin bir veya birkaçını gösteren ya da gagesizce su yüzeyinde yüzen 5-200 gram arası balıklar tercih edildi. Hastalık belirtisi tespit edilmeyen bazı alabalık işletmelerinde bazen hiçbir belirti göstermeyen balıklar numune olarak alındı. Bu amaçla, gökkuşağı alabalık işletmeleri tarandı. Alınan numunelerde laboratuvar koşullarında otopsi yapıldı.

Yersinia ruckeri 'nin tespiti ve ayrıştırılması için balıkların karaciğer, dalak, böbrek ve bağırsaklarından alınan örneklerin önce besi yerlerine ekimi yapıldı. Bu amaçla Brain Heart Infusion Agar (BHIA) ve Tryptic Soy Agar (TSA) tercih edildi.

Alabalık işletmelerinden alınan bu örneklerden elde edilen saf suşlara biyokimyasal tanımlama testleri; Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) uygulanıp fenotipik özellikleri incelenmiştir.

Bakterinin fenotipik ve biyokimyasal özelliklerine göre belirlenen 14 adet *Yersinia ruckeri* suşunun Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tekniğiyle teyit edilmesinde spesifik primer kullanıldı. Takiben bu suşların tamamının moleküler olarak *Yersinia ruckeri* olduğu teyit edildi. Ayrıca antibiyotiğe karşı duyarlılığını saptamak için antibiyogram testi yapıldı.

Sonuç olarak; Kahramanmaraş ilinde *Yersinia ruckeri* teşhisi doğru ve kesin olarak yapıldı. Kahramanmaraş ilinde gökkuşağı alabalık yetiştiricilik tesislerinin bazılarında Enterik Kıızıl Ağız Hastalığı mevcuttur. Bu nedenle, bölgede bulunan işletmeler; aşı uygulamalı, balıklarda bağışıklık sistemini artırıcı vitaminler kullanmalı, kültürel önlemleri almalı, balıklarda oluşacak stres faktörlerini en aza indirmeli, aşırı stoklamadan kaçınılmalıdır. Buna rağmen, hastalık tesiste görülmüş ise önce hastalık laboratuvar koşullarında tam olarak tespit edilmeli, antibiyotiğe duyarlılığı saptanmalı, hastalığa karşı ilaçlı mücadele başlatılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşağı Alabalığı, Yersiniozis, *Yersinia ruckeri*, BIOLOG GEN III, PCR, antibiyogram test

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Anabilim Dalı, Şubat / 2015

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Mikail ÖZCAN

Sayfa sayısı: 46

***Yersinia ruckeri* RAINBOW TROUT of KAHRAMANMARAŞ DIAGNOSIS and
ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITIES of CULTURE and MOLECULAR
CONVECTION METHODS ASSESSMENT
(M.Sc THESIS)**

MESUT RECEP GÖK

ABSTRACT

What we do is work; Located in the province of Kahramanmaras of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) in fish taken from the sample of *Yersinia ruckeri*'s bacteriological culture method with insulation and appreciation as well as polymerase chain reaction amplification factors using DNA was aimed. For this purpose, from business 16 different trout between September 2014 and April 2013 were taken in samples the gut and kidney, spleen, liver rainbow trout. Total of 115 samples were examined. Of these, 14 have been identified in *Yersinia ruckeri* example. Working in 16 different from business, 7 of them were the detection of the disease.

Enteric red mouth disease factor is *Yersini ruckeri*, 10 °C and higher water temperature constitute illness. Symptoms of the disease that are seen after the water temperature value. Therefore the temperature of the water increases in the purchase of a sample chosen periods. At an altitude of 800 meters on average, the region has generally been increasing water temperatures in the spring and summer period. For this reason, especially the year 2013 spring, summer and fall, the season of spring and summer of 2014 with trout in control again. In the selection of the sample of fish; darkening, the internal and external parts of the mouth, the body's outer surface and fins in operkulum are at the base of the bleeding, abdominal swelling, indicating that one or more of the symptoms of ekzofalmus or other flots floating on the water's surface from 5 to 200 grams of fish were preferred. Some trout have not been detected signs of disease in fish samples did not show any symptoms, sometimes taken as. To this end, we screened businesses in rainbow trout. Samples taken at autopsy was performed under laboratory conditions.

Yersinia ruckeri to fish identification and parsing of the liver, spleen, kidney and intestines taken from specimens before fattening their cultivation was made. For this purpose, Brain Heart produced by Agar (BHIA) and Tryptic Soy Agar (TSA) were preferred.

The pure strains obtained from these samples from trout farms were evaluated phenotypic characteristics applied with Biolog System Connection (The Genie biolog micro plate) and Biochemical tests.

Specific primer were used to confirm 14 *Yersinia ruckeri* with PCR after determined according to bacteria the phenotype and genotype characteristics. Subsequently, these strains were confirmed as *Yersinia ruckeri* with DNA.

As a result; In the province of Kahramanmaraş *Yersinia ruckeri* diagnosis was made correctly and precisely. In the province of Kahramanmaraş, when rainbow trout aquaculture in some of Enteric Red mouth disease is available. Therefore, enterprises located in the zone; vaccination is applied, the fish immune system booster vitamins should I use, cultural measures will occur in fish stress factors, minimize, refrain from excessive buffer at. Despite this, the disease was seen in the facility before the disease must be found exactly under laboratory conditions, they must be started to fight against disease, antibiotic sensitivity identified medicated.

Key Words: Rainbow trout, Yersiniozis, *Yersinia ruckeri*, BIOLOG GEN III, PCR, Antibiotic susceptibility testing.

University of Kahramanmaraş Sütçü İmam
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of fisheries, January / 2015

Supervisor: Assistant Proffesor Mikail ÖZCAN

Page Numbers: 46

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanmasında, yürütülmesinde ve tamamlanmasında bilgi ve desteğini esirgemeyen, karşılaştığım sıkıntı ve engelleri aşmamda her zaman yardımcı olan sayın danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Mikail ÖZCAN'a çalışmalarım sırasında görüş ve önerilerinden yararlandığım değerli hocam Prof. Dr. Ahmet ALP ve Prof. Dr. Hakan Murat BÜYÜKÇAPAR'a, analiz çalışmalarımda bana yardımcı olan KSÜ Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Doktora öğrencisi Yasemin BARIŞ'a, bölüm asistanı arkadaşlarım ve bölüm yüksek lisans öğrencilerine ve çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen, bilgisi ile bana destek ve yardımcı olan kardeşim Biyolog Tamer GÖK'e, tez çalışmam için balık yetiştiricilik tesislerinde çalışmamıza ve örnekler almamıza izin veren Kahramanmaraş il ve ilçelerindeki tüm alabalık yetiştiricilik tesisleri yetkililerine ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Buraya ismini yazamadığım ancak tez çalışmalarım boyunca bana destek olan değerli hocalarıma ve tüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkürler.

Mesut Recep GÖK
KAHRAMANMARAŞ, 2015

İÇİNDEKİLER

	Safya No
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
3. MATERYAL VE METOT	12
3.1. Materyal	12
3.1.1. Hastalıktan şüpheli balıkların morfolojik olarak incelenmesi	13
3.1.2. Mikrobiyal izolasyon	13
3.1.3. Biyokimyasal identifikasyon	13
3.1.4. Moleküler identifikasyon	14
3.2. Metot	15
3.2.1. <i>Yersinia ruckeri</i> 'nin mikrobiyal izolasyonu	15
3.2.2. Biyokimyasal identifikasyon	18
3.2.2.1. Koloni morfolojisi	18
3.2.2.2. Gram boyama	18
3.2.2.3. Potasyum hidroksit (KOH) ile gram reaksiyon testi	18
3.2.2.4. Oksidaz testi	19
3.2.2.5. Katalaz testi	19
3.2.2.6. Voges proskauer (VP)-Metil kırmızısı (MR) testleri	19
3.2.2.7. Oksidasyon/Fermentasyon (O/F) testleri	20
3.2.2.8. İndol testi	20
3.2.2.9. Hareket testi	20
3.2.2.10. Antibakteriyel duyarlılık testi	20
3.2.2.11. Biolog sistemi ile identifikasyonu	21
3.2.3. Moleküler identifikasyon	23
3.2.3.1. Kromozomal DNA izolasyonu	23
3.2.3.2. DNA'nın jel elektroforezi	23
3.2.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	23

3.2.3.4. İzolatların moleküler olarak tanımlanması	24
3.2.3.5. Bakterilerin stoklanması	24
4. BULGULAR	25
4.1. Morfolojik bulgular.....	25
4.2. Biyokimyasal bulgular.....	27
4.3. Moleküler bulgular	31
5. TARTIŞMA.....	33
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	36
KAYNAKLAR.....	38
EK1.....	45
ÖZGEÇMİŞ.....	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3.1. Gökkuşığı alabalığı örneklerinin toplandığı işletmelerinin yeri ve konumu	12
Şekil 4.1. Balıkta kararma	25
Şekil 4.2. Örnek balıklarda laboratuvar ortamında otopsi	26
Şekil 4.3. İç organlarda meydana gelen kanama ve tahribatlar-1	26
Şekil 4.4. İç organlarda meydana gelen kanama ve tahribatlar-2	26
Şekil 4.5. İç organlarda meydana gelen kanama ve tahribatlar-3	27
Şekil 4.6. <i>Yersinia ruckeri</i> 'nin koloni oluşturması	27
Şekil 4.7. 1-9 nolu örneklerin PCR görüntüsü	32
Şekil 4.8. 10-14 nolu örneklerin PCR görüntüsü	32

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Kahramanmaraş il ve ilçelerindeki alabalık tesisleri (Anonim, 2015)	11
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan antibakteriyel diskler, miktarları ve standart zon çapları (Anonim, 2000; Anonim, 2001)	14
Çizelge 3.2. Alınan örneklerin isimleri, alınan işletme, örneğin alındığı tarih, su sıcaklığı, kullanılan besiyeri ve <i>Yersinia ruckeri</i> varlığı	15
Çizelge 3.3. Mikroplakalarda kodlanan 94 adet karbon kaynağı ve kimyasal listesi.....	22
Çizelge 4.1. Gökkuşuğu Alabalıklarından izole edilen 14 <i>Yersinia ruckeri</i> morfolojik ve biyokimyasal özellikleri.....	28
Çizelge 4.2. Gökkuşuğu Alabalıklarından izole edilen <i>Yersinia ruckeri</i> 'nin Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri	29
Çizelge 4.3. Gökkuşuğu Alabalıklarından izole edilen 14 <i>Yersinia ruckeri</i> antibiyogram testi sonucu	31

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

KSÜ	: Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
LAB.	: Laboratuvar
<i>Y.ruckeri</i>	: <i>Yersinia ruckeri</i>
CA	: Canlı Ağırlık
ERM	: Enteric Red mouth Disease
SW	: Shotts-Waltman Besiyeri
MR	: Metil Kırmızısı
PZR	: Polimeraz zincirleme tepkimesi (Polymerase Chain Reaction, PCR)
TSA	: Triptik Soy Agar
BHIA	: Brain Heart Infusion Agar
VP	: Voger Proskauer
ROD	: Ribose Ornithine Desoxycholate
DNA	: Deoksiribonükleik asit
Gr (-)	: Gram Negatif
RFLP	: Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi
L	: Litre
µl	: Mikrolitre
dH₂O	: Saf Su
UV	: Ultraviolet

1.GİRİŞ

Sürekli olarak gelişen ve büyüyen dünyanın karşılaştığı ve karşılanacak olduğu en büyük sorunlardan biri, nüfus artışına bağlı olarak dengeli, sağlıklı ve yeterli gıdalarla beslenme sorunudur.

Nüfus artışına paralel olarak dünyada, hayvansal protein açığı giderek büyümektedir. Bu grupta yer alan su ürünleri daha da önem kazanmaktadır. Sanayileşme ile birlikte içsuların ve denizlerin kirlenmesi, su kaynaklarından ve su ürünlerinden yararlanma miktarını giderek düşürmektedir. Bu nedenle dünyada ve ülkemizde kültür balıkçılığına verilen önem her geçen gün artmaktadır. Su ürünlerinin önemini anlayan ülkeler, hayvansal protein elde edebilmek için su ürünleri kaynaklarını en iyi şekilde kullanarak, su ürünleri elde edebilmenin yollarını aramaktadırlar (Tekelioğlu ve ark., 2007).

Kültür balıkçılığı son 20 yılda hızla gelişmiştir. Birçok ülkede kültür balıkçılığı endüstri halini almıştır. Kültür balıkçılığında birim alandan en çok balık elde edilmesi amaçlandığından, yoğun stoklama balık hastalıklarını artırmıştır. Hastalıklara karşı başarılı mücadele, balık yetiştiriciliğinin geleceği için çok önem kazanmıştır (Tekelioğlu ve ark., 2007).

Kültür balıkçılığında balıkların içinde yaşadıkları ortamın, fiziksel, kimyasal, biyotik ve abiyotik optimal yaşam koşullarının olumsuz yönde değişmesi bunların kısa süre içinde düzelmemesi ve devam etmesi, özellikle, bir çok infeksiyöz hastalığın çıkmasına neden olmaktadır (Arda ve ark., 2005).

Enterik Red Mouth (ERM) ya da Yersiniozis olarak bilinen Enterik Kızıl ağız hastalığı ilk defa 1950'li yıllarda ABD'deki gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan işletmelerde yüksek mortalite ile seyreden, subakut ve akut formda septisemik bir hastalık olarak rapor edilmiştir (Bullock ve Anderson, 1984; Busch, 1982; Frerich ve Roberts, 1989; Lucangeli ve ark., 2000; Ross ve ark., 1966). ERM hastalığı dünyanın birçok bölgesinde yayılmış durumdadır (Bullock ve ark., 1977; Roberts, 1983; Lesel ve ark., 1983; Stevenson ve Daly, 1982).

Türkiye'de *Yersinia ruckeri*'nin neden olduğu Yersiniozis 1991 yılında gökkuşağı alabalıklarında saptanmıştır. Alabalık işletmelerinin yaygınlaşması ile birlikte hastalık miktarı artmış ve ekonomik kayıplara neden olmaya başlamıştır. Halen bu hastalık alabalık

işletmelerinde yaygın halde görülmektedir ve ülkemizin en önemli bakteriyel hastalığı haline gelmiştir (Çağırğan ve Yürekli Türk, 1991; Kubilay, 1997; Kubilay ve Diler, 1999; Timur ve Timur, 1991). Tedavisi masraflıdır ve iş gücü gerektirmektedir. Ayrıca tedavisi için antibiyotik kullanımı gerektirdiğinden, antibiyotiğin uygun ve yeterli dozda kullanılmaması durumunda antibiyotiğe karşı dirençli bakteriler gelişmekte ve bu durum tedaviyi zorlaştırmaktadır. Antibiyotiğe karşı dirençli bakterilerin oluşması insan ve hayvan sağlığını tehdit etmektedir. Bu nedenlerle bu hastalığa karşı ilaçlı mücadele değil, hastalıktan korunma yolları araştırılmakta ve uygulanmaktadır. *Yersinia ruckeri*'den korunma yolları uygulandığında başarısız sonuç elde edilirse, ilaçlı mücadeleye geçilmektedir (Timur ve Timur, 1991).

Gram negatif, enterik bir bakteri olan *Yersinia ruckeri*, genel olarak 0,5 x 1,5 - 2 µm boyutunda, hafif kıvrık, çomak şeklinde, 7 – 8 peritirik flagellaya sahip hareketli, tek tek yada kısa zincirler oluşturan kokobasil yada basil formlarında olabilir (Ross ve ark., 1966; Busch, 1982; Frerichs ve Roberts, 1989; Arda ve ark., 2005). *Yersinia ruckeri*, 15-27 °C'de aktif hareket gösterirken, 9 °C'deki inkubasyonda flagellalar mevcut olmasına rağmen hareketsiz, 35 °C'de inkübe edildiğinde ise flagella olmadığından dolayı tamamen hareketlerini kaybederler (O'Leary ve ark., 1979; Busch, 1982; Davies ve Frerichs, 1989).

Hastalık; renkte koyulaşma, ağzın iç ve dışında, operkulumda ve vücudun dış yüzeyi ile yüzgeçlerin tabanında kanamalar, karında şişkinlik ve sıvı toplanması, tek yada çift taraflı ekzoftalmus gibi belirtilerle kendini gösterir. Bu belirtilere bakarak değil, laboratuvar çalışmaları ile kesin teşhis konabilir (Arda ve ark., 2002). Ayrıca; anüs civarında, yüzgeçler ve deride erimeler, göz çukurunda ve iriste kanamalar görülür. Otopsi sonucu yapılan incelemede iç organlarda kanamalar, karın boşluğunda ve mide de sarımsı bir sıvı görülebilir (Diler, 2004).

Yersinia ruckeri'nin patojenitesi özellikle su sıcaklığı ve balık büyüklüğüne göre ayrıca ortam şartları, beslenme ve stres koşulları gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Su sıcaklığının 10 °C'nin üzerinde olması halinde hastalık oluşmaktadır, 10 °C'nin altında mortalitesi oldukça düşüktür. Aşırı yemleme, stres şartları ve 7,5 cm den küçük balıklarda ölümler artmaktadır (Busch, 1982; Frerichs ve Roberts, 1989; Austin ve Austin, 1993; Arda ve ark., 2005). Bu enfeksiyon temel olarak genç gökkuşağı alabalıklarında görülmektedir (Bullock ve Cipriano, 1990; Horne ve Barnes, 1999).

Yersiniozis etkeni önce sağlıklı balıkların bağırsaklarına yerleşmektedir. Stres, portör balıklarda re-enfeksiyonu, sağlıklı balıklarda ise enfeksiyon sürecini başlatmaktadır (Busch ve Lingg, 1975; Hunter ve ark., 1980). Gerek taşıyıcı gerekse bağırsaklarında kolonize olmuş halde *Yersinia ruckeri* bulunduran balıkların ellenmesi, aşırı kalabalık halde stoklanması, sudaki amonyak ve diğer zararlı maddelerin artması, oksijen düzeyinin azalması gibi istenmeyen durumlarda enfeksiyon akut bir seyir izlemektedir (Busch, 1982).

Gerek beşeri ve gerekse veteriner hekimlikte bakteriyel hastalıkların teşhisinde, kültür metodu ve biyokimyasal analizlerin yanı sıra, aglutinasyon, immunodiffüzyon, immunofloresans, hemaglutinasyon, radioimmun assay, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), komplement fikzasyon gibi serolojik testler, histopatolojik yöntemler ve moleküler biyolojide büyük önem kazanan Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) tekniği de kullanılmaktadır (Anderson, 1974; Bullock, 1989; Plumb ve Bowser, 1983; Tanrıkul ve ark., 1996).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu - PZR (Polymerase Chain Reaction - PCR); kısa bir zaman içinde aranan etkenlerin genetik materyalini saptamak amacıyla hedeflenen nükleik asitin (DNA) biyokimyasal olarak çoğaltmasını sağlayan bir yöntemdir (Saiki ve ark., 1988; Mullis, 1990; Bej ve ark., 1991; Taylor, 1993). Bu yöntemde; hedef organizmadan elde edilen genin bir parçası milyonlarca çoğaltılarak kolayca tespit edilebilecek seviyeye getirilmektedir. PZR, halen mevcut kültür tekniklerine göre 12–24 saat gibi kısa sürede sonuç vermektedir. Bu teknik hastalık teşhisinde doğrudan uygulamaya sahip olduğu gibi aynı zamanda nedeni bilinmeyen hastalıklarda, epidemiyoloji sahasında patojen etkenin identifikasyonunda ve mikroorganizmaların sınıflandırılmasında da kullanılmaktadır (Marx, 1988; Coote, 1990; Quirke, 1992; Arda, 1995; Arı, 1999).

Antibakteriyel ilaçlara karşı duyarlılık birçok yöntem ile saptanabilmektedir. Rutin laboratuvarlarda uygulanan testlerle genellikle ilaçların bakteriyostatik ve bakterisit aktivitesi değerlendirilir (Baker ve ark., 1991; Jorgensen, 1997; Gülay, 1999; Lalitha, 2004).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

İlk defa 1950'de Amerika'da Hagerman Vadisinde gökkuşağı alabalığı çiftliklerinde tespit edilmiştir. Buralarda büyük kayıplar vererek, kendini göstermiştir. Günümüzde hemen hemen dünyanın her yerine yayılmıştır. Birçok tesiste sorunlar meydana getirmektedir. Hastalık 1966 yılında Rucker tarafından belirlenmiştir. 1978 yılında Ewing ile birlikte arkadaşları DNA çalışması yapmış ve hastalığı ilk izole eden Rucker'e saygı için *Yersinia ruckeri* olarak adlandırmışlardır (Diler, 2004; Alvarez ve ark., 1992, Bullock ve ark., 1978; Bullock ve Snieszko, 1975; Gelev ve ark., 1984; Cengizler, 2000).

Yersinia ruckeri'nin belirtileri diğer bakteriyolojik belirtilerle benzemektedir. Hastalığa önce Hagerman Kızılağız Hastalığı, Kızıl Boğaz Hastalığı, Kızıl Karın Hastalığı ve Bakteriyolojik Hemoraji şeklinde değişik isimler verilmiştir. Ancak, 1975 yılında Amerikan Balıkçılık Birliği, Balık Sağlığı Bölümü (American Fisheries Society, Fish Health Section AFS/FHS) tarafından "Enteric Red mouth Disease" (ERM) olarak adlandırılmıştır. Hastalık günümüzde daha çok Kızılağız Hastalığı veya Yersiniozis olarak isimlendirilmektedir (Post, 1987).

Yersinia ruckeri Amerika'da ortaya çıktıktan sonra hızla önce Amerika'nın çeşitli bölgelerine sonra da tüm dünyaya yayılmıştır. 1978 yılında Avustralya, 1982 yılında Kanada, 1983 yılında İngiltere ve Almanya, 1985 yılında Kuzey Avrupa, 1990 yılında Yunanistan ve 1999 yılında İran'da görülmüştür. Bu hastalık ilk ortaya çıktığı zamanlarda sadece enfekte olan balıklar yoluyla geçebildiği ve kuzey Amerika'nın dışına çıkamayacağı düşünülmekteydi. Ancak hızla dünyanın çeşitli alanlarına yayılması, hastalığa dikkatleri çekmiştir (Tıravoğlu, 2006; Yonar, 2008).

Yersiniozis; bakteriyel hemorajik sepsisemi (*Aeromonas hydrophila* ve *Pseudomonas fluorescens*), vibriozis ve furunkulozis gibi diğer bakteriyel hastalıklarla benzer belirtiler verebilir. Özellikle furunkulozise benzer. Yani kasta, bağırsaklarda, karaciğer yüzeyinde kanamalar vardır. Ama Yersiniozis'te özellikle gözde, damarlarda ve beyin kılcallarında kan birikmesi söz konusudur, bu Furunkulozis'ten ayıran belirtidir (Kocabatmaz ve Ekingen, 1984; İspir ve ark., 2004).

Balıkları hastalıktan korumak için, aşırı stok yoğunluğundan kaçınılmalı ve strese neden olan faktörler en aza indirilmelidir. Karantina uygulamaları mutlaka yapılmalıdır.

Özellikle hastalık görülen bölgelerden, hastalık görülmeyen bölgelere canlı balık ve balık yumurtası taşırken gerekli dezenfeksiyon önlemleri mutlaka alınmalıdır (Cengizler, 2000; Diler, 2004). *Yersinia ruckeri*, yumurta yoluyla geçmemektedir. Fakat yumurtaların yüzeyinde taşınabilmektedir. Bu nedenle yumurtalar iyot ile dezenfekte edilmelidir. Gerektiğinde balıkların bağışıklık sistemlerini güçlendirmek için özellikle vitamin C ve vitamin E, sabah yemlerine katılarak verilebilir. Bu vitaminlerin su sıcaklarının arttığı ilkbaharda verilmesi uygun olacaktır (Arda ve ark., 2002).

Balık yetiştiricilik işletmelerinde hastalıkların çıkmaması için önce olumsuz tüm koşullar düzeltilmeli yada minimal düzeye indirilmelidir sonra da genel koruma önlemleri alınmalıdır. Bunlara rağmen hastalık bulaşmışsa ilaçlı mücadeleye geçilmelidir (Arda ve ark., 2002).

Yersinia ruckeri ile en iyi ve en etkili mücadele şekli aşılama değildir. Aşılama yöntemi seçiminde balığın büyüklüğü ve bölgenin durumu göz önüne alınmalıdır. Bu hastalık için hazırlanmış ticari aşılar piyasada bulunmaktadır. Aşılama yaklaşık 6–12 ay koruma sağlayabilmektedir (Diler, 2004).

Hastalığı belirlemenin en güvenilir yolu genetik kriterleridir. *Yersinia ruckeri* gram negatif, kokobasil yada basil şeklinde, oksidaz negatif, periferik flagellaları sayesinde aktif hareketli, aerobik koşullarda üreyebilen, fermentatif bir bakteri olmasından dolayı Enterobacteriaceae familyasında, Yersiniozis cinsinde yer alan bir basildir. Biyokimyasal reaksiyonları, guanin sitozin oranı ve DNA hibridizasyon çalışmalarına göre *Yersinia ruckeri* olarak isminin kullanılmasına karar verilmiştir (Stevenson, 1997).

Laboratuvarlarda kullanılan genel besi yerleri olan Triptik Soy Agar (TSA), Brain Heart İnfusion Agar (BHIA) ve Ribose Ornithine Desoxycholate Agar (ROD) besiyerinde kolayca ürer. Bu genel besi ortamlarında etken, 20-25 °C’de 24-48 saatte ürer. Genel besi yerlerinde 48 saat sonunda, kenarları düzgün, hafif bombeli, kabarık, yuvarlak, parlak renkte, krem ile beyaz renk arasında bir renkte koloniler oluşturur (Cengizler, 2000; Arda ve ark., 2002).

Ayrıca son zamanlarda kullanılan Shotss-Watman(SW) besi yeri bakteri için ayırt edici besi yeri olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu besiyerinde 20–25 °C’de 48 saat sonunda yeşil renkli, hidroliz zonlu *Yersinia ruckeri* kolonileri görülmektedir (Diler, 2004). Enterik bakteriler içinde yer alan *Edwardsiella*’nın iki türü de bu besi yerinde yeşil

koloniler oluştururlar. Fakat her iki türde de hidroliz zonu oluşmaz. Bu besiyerinde *Enterobacter* ve *Aeromonas hydrophila* sarı renkli koloniler oluşturur ve bu kolonilerin etrafında hidroliz zonu bulunmayabilir yada bulunabilir. Ama koloni sarı renklidir (Kubilay, 1997).

Hastalık genellikle akut seyretmekte ve yüksek ölüm oranıyla sonuçlanmaktadır. Bu nedenle hastalığa karşı mücadele için doğru ve hızlı teşhis yöntemlerine ihtiyaç duyulmuştur. Bu amaçla kullanılan Polimeraz Zincir Tepkimesi (PCR) en çok kullanılan yöntemdir. Bu yöntem hızlı ve doğru sonuçlar vermektedir. Gibello ve ark. (1999), tarafından yapılan bir çalışmada, PCR'in enfekte olmuş balık dokularında da *Yersinia ruckeri*' yi tespit edebildiği anlaşılmıştır. Bundan başka API-20, ELISA, Immunperoksidaz ve FAT gibi hızlı teşhis yöntemleri de mevcuttur (Arda ve ark., 2002).

Bakterinin 5 Tipi vardır. Tip 1 ve Tip 2 patojen tiplerdir. Tip I, Hagermann serotipi olarak adlandırılmakta ve bu tip ile enfeksiyonlarda ölüm %100'e ulaşabilmektedir. Lizin dekarboksilaz, voges proskauer (VP), jelatin hidrolizi ve hareketlilik testlerinin suşlar arasında farklılık gösterdiği bildirilmiştir. *Yersinia ruckeri*, *Yersinia* cinsinin diğer türlerinden dekarboksilazı ve jelatini eritmesi ile farklılık göstermektedir. Bakterinin tip farklılıkları sorbitolü fermente etme yeteneğine göre belirlenir. Tip 1'in virülansı yüksektir. Bunun serolojik olarak belirlenmesi için floresan antikor yada aglutinasyon testleri uygulanır. Tip 1'in lethal dozu 3×10^5 hücre/ml'dir. Serotiplerle çalışılması aşuların ortaya çıkarılması bakımından önem taşımaktadır (Diler, 2004).

Yersinia ruckeri, sıvı ortamlarda kokoid-çomakcıklar $0,5-0,8 \times 1,0-2$ µm boyutunda olup, sıvı olmayan kültürlerde ise kısa boyda filamentler meydana getirir. İzolat yönünden ve biyokimyasal aktiviteleri yönünden değişmeyen özellikler gösterirler. Plasmidin varlığı olduğu bazı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir. Vücutta oluşturduğu immun yanıt farkları mevcuttur. *Yersinia ruckeri*'de, H-antijenleri ve somatik-O antijeni bulunduğu bildirilmiştir (Arda ve ark., 2002).

Yersinia ruckeri'nin izolatları incelendiğinde; hareketli, gram negatif, katalaz pozitif, oksidaz negatif, nitritleri nitratlara indirgemesi ve O/F glikoz ortamında fermantatif özellikleri ile enterik bakterilerin tüm karakteristik özelliklerini yansıtmaktadır. Sitrat kullanım testi, ornitin dekarboksilaz testleri ve metil kırmızısı (MR) test sonuçları pozitifdir. H₂S üretimi, indol üretimi, glikozdan gaz üretimi, sitokrom oksidaz, üreaz, testlerinin ise negatif reaksiyon verdiği gözlemlenmiştir. Karbonhidrat fermantasyon

testlerinden; mannoz, galaktoz, mannitol, maltoz, trehaloz, ve dekstrozu fermentte ettiği, salisin, sorbitol, laktoz, adonitol, sakaroz, adonitol, ramnoz, ve arabinozu ise fermente edemediği bildirilmiştir (Kılıç ve ark., 2007).

Yersiniosis akut, subakut ve kronik olarak görülür. Akut durumda hastalık hızlı gelişir. Daha nce *Yersinia ruckeri* geçirmiş ya da ilk kez geçirmekte olan balıklarda suyun sıcaklığının artması, elleme, yoğun stoklama, sudaki oksijen oranının düşmesi, suda zararlı maddelerin ve amonyağın artması durumlarında ve suyun aniden ısındığı ilkbahar aylarında hastalık akut olarak görülür. Akut durumda hastalık hiçbir belirti vermeden aniden görülmektedir (Cengizler, 2000). Akut durumda balıklar yem almaz ve durgunlaşır. Hastalık belirtileri oluşmadan balığın rengi koyulaşır ve yzeeye yakın yüzer (Frerichs ve ark., 1985). İç organlarda tahribat yapar. Böbrek ve dalak şişer, karaciğerin rengi değişir, solar. Gözlerde kanama ve tek ya da çift taraflı ekzoftalmus görülebilir. İleri aşamasında körlük oluşabilir (Emre ve Kürüm, 1998).

Subakut durumlarda özellikle deri ve yzgelerde belirtiler biraz daha belirgindir. Dalak ve böbrek çok daha fazla şişkindir. Kronik durumlarında akut ya da subakut durumlardan daha farklı bir görünüm söz konusudur. Hasta balıklar, uyuşuk bir görünüm alır, havuz kenarında gagesizce yüzerler. Karın aşağıya doğru sarkmıştır. Solungaçlar solmuştur. Yem almadığı için sindirim kanalında gıda bulunmaz. Bazı balıklarda aşırı zayıflama görülür. Ölüm oranı kronik durumlarda % 10–60 arasında değişmektedir (Emre ve Kürüm, 1998; Arda ve ark., 2002).

Etkenin bulaşmasında daha önce hastalık geçirmiş portör balıkların etkisi büyüktür. Daha önce hastalık geçirmiş taşıyıcı durumundaki balıkların dışkısıyla etken, suya dağılmaktadır ve diğer balıklara hastalığın bulaşmasına neden olmaktadır. Hastalığın balıklar arasındaki geçisi su yoluyla gerçekleşir. Hastalığı geçiren ve lmeyen balıkların %60-70'i portrdr. Hastalık geçiren ve taşıyıcı olarak kalan balıklar stres koşulları oluşmadıkça hastalığı sağlıklı balıklara bulaştırmazlar (Diler, 2004).

Yersinia ruckeri geçiren balıklar taşıyıcı olarak kalmaktadırlar. Uygun şartları sağladığında hastalık kendini tekrar göstermektedir (Austin ve Austin, 1993; Kubilay, 1997).

Yersinia ruckeri, bağımlı bir patojendir, yaşayabileceği konakçı bulamazsa remeye gücü yetmez, dışarıda sınırlı süre yaşayabilir (Emre ve Kürüm, 1998).

Göl, akarsu ve sedimentte 4 aya kadar yaşayabilmektedir. Mutlaka konakçıya ihtiyacı vardır (Austin ve Austin, 1993; Altun, 2001).

Etken, en başta salmonidlerde görülür. En çok etkilenen ise genç gökkuşağı alabalıklarıdır. Ayrıca diğer doğal alabalık türleri ve kültür alabalıkları da hastalığa duyarlıdır. Gökkuşağı alabalıklarında ölüm oranı %25-75 iken, bu hastalığa karşı daha dirençli olan Kahverengi alabalıkta bu oran %5-10 arasındadır (Austin ve Austin, 1993; Arda ve ark., 2005).

Mersin balığı, sudak, kalkan balığı ve Levrek'te de görülmüştür. Fakat bunlarda ölüm oranının oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir (Cengizler, 2000; Diler, 2004).

Yersinia ruckeri birçok deniz ile tatlı su balığı türlerinde ve su samuru, martı, rat, misk sıçanı, kerkenes gibi diğer hayvanlarda da görülmüştür. Kaldı ki, bu hayvanlarda hastalığı taşıyabilmektedir. Bunların içinde özellikle martı hastalığının diğer bölgelere taşınmasında etkilidir. Kısaca doğada hastalığın taşınmasında kuşlar, omurgasızlar ve yabani balıklar etkilidir (Horne ve Barnes, 1999).

Rucker tarafından 1966 yılında yapılan bir çalışmada *Yersinia ruckeri* taşıyan bir alabalığın bulunduğu suya sağlıklı bir alabalık bırakılmış ve sağlıklı balığın hastalandığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde atlantik salmonunda yapılan araştırma da da benzer sonuç elde edilmiştir (Bullock ve ark., 1976). Hasta balığın dışkı yoluyla yada temas yoluyla etkeni sağlıklı balıklara geçirdiği tespit edilmiştir. Hastalık durumlarında hastalığın inkubasyon süreci ısı, çözünmüş oksijen gibi çevresel faktörlerden etkilenmektedir (Emre ve Kürüm, 1998; Cengizler, 2000).

Zarar görmüş deri, yaralanmalar ve solungaç yoluyla etken diğer balıklara geçer (Ellis, 1988; Austin ve Austin, 1993; Arda ve ark., 2005). Hastalık daha çok su sıcaklığının arttığı nisan ve eylül ayları arasında görülür. Daha çok 5 ile 200 gram arası balıkları etkiler. Hastalık, mutlaka tüm balıkları öldürür denilemez. Ölüm oranı şartlara göre değişir (Diler, 2004).

Etken bağırsak, böbrek, dalak ve karaciğerde hemen kendini gösterir. Hastalık ilk kez görülüyorsa, uygun su sıcaklığında, stres altında balıkları 5-7 gün içinde hasta eder. Ama daha önce bu hastalık görülmüş ve balıklar taşıyıcı durumunda ise 3-5 gün içinde hastalık görülür (Arda ve ark., 2005).

Hastalık taşıyan balıkların uygun su sıcaklığında strese bağlı olarak hastalığı yayabildiği, stres şartlarında bulunmayan balıkların ise etkeni diğer balıklara yayamadığı tespit edilmiştir (Rodgers, 1991).

İlaçlı tedavide antibiyotiğin yetersiz kullanımı, değişken dozda kullanımı, tedavi süresinin dikkate alınmaması, yeterli olmayacak şekilde kısa süre antibiyotik kullandıktan sonra tekrar ve kısa dönemli olarak antibiyotik kullanımı antibiyotiğe karşı dirençli *Yersinia ruckeri* suşlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Cengizler, 2000).

Amerika'da çoğu bölgede sulfamerazin veya oksitetrasiklinlerin yanlış uygulanmasına bağlı olarak bu antibiyotiklere tamamen dirençli *Yersinia ruckeri* suşları gelişmiştir (Cengizler, 2000).

Yersinia ruckeri'nin tedavisinde kullanılacak antibiyotikler, antibiyogram test sonuçları doğrultusunda uygulanmalıdır (Arda ve ark., 2002).

Hastalık belirtilerinde yemlere katılmak üzere şu antibiyotikler kullanılmaktadır;

- a) Kloramfenikol 50 mg / kg canlı balık /günlük doz / 5 gün süreyle,
- b) Sülfamerazin 66 mg / kg canlı balık / günlük doz / 5 gün süreyle,
- veya, Sülfamerazin 200 mg / kg balık CA / 3 gün süreyle,,
- c) Oksitetrasiklin 50–60 mg / kg balık CA / 10 gün süreyle,
- d) Tribressen 30 mg / kg balık CA / 10 gün süreyle,
- e) Oksolinikasıit 10 mg / kg CA / 10 gün süreyle,

Kahramanmaraş bölgesi tatlısu kaynakları bakımından oldukça zengin olmasına rağmen bu kaynaklar yıllarca sadece sulama ve içme suyu amaçlı kullanılmıştır. 1980'li yıllardan sonra bölgede barajlar kurulmaya ve su kaynakları elektrik üretimi amaçlı da kullanılmaya başlanmıştır. Söz konusu barajlarda su tutulmasıyla birlikte bu rezervuarlar balıklandırılmış ve avlanabilir balık stokları oluşmaya başlamıştır. Bu durgun suların yanında çok sayıda kaynak suları mevcut olup, bu kaynaklar alabalık tesisi kurulması açısından uygundur. Ancak, 1990'lara kadar söz konusu kaynak sularından yararlanılmamıştır. Buradan da anlaşılacağı üzere ülkemizdeki su ürünleri sektörünün gelişme süreci, Kahramanmaraş Bölgesi'ne çok geç gelmiştir. Kahramanmaraş Bölgesi'ndeki su kaynaklarında su ürünleri açısından 1990'lara kadar herhangi bir çalışma bulunmamaktadır (Alp ve Büyükçapar, 2006).

Kahramanmaraş ilinde, su ürünleri açısından önem arz eden ve debisi 1000 litre/sn'nin üzerinde olan toplam 20 civarında akarsu varlığı mevcuttur. Bunların toplam uzunluğu 1034 km ve toplam debisi ise 60721 litre/sn dir. Bölgede 8 adet baraj gölü ve 7 adet gölet mevcut olup bunların oluşturduğu toplam yüzey alanı 18317 hektardır (Alp ve Büyükçapar, 2006).

Sonuç olarak, Kahramanmaraş'ta toplam balık üretiminin yılda yaklaşık 5000 tonu bulunduğu ve bölgedeki su kaynaklarının yeterince kullanılması halinde ise bunun 12000 ton/yıl'ı aşabileceği tahmin edilmektedir (Alp ve Büyükçapar, 2006).

Kahramanmaraş Bölgesi'nde su ürünleri açısından iç sular; kaynak suları, akarsular ve durgun sular bulunmaktadır.

Bölgede balık yetiştiriciliği tek bir tür üzerine olup, gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üretimine dayanmaktadır. Kahramanmaraş iç sularında iki tür yetiştiricilik yöntemi olup, bunlardan birincisi kaynak yada akarsular üzerinde kurulan beton havuzlarda alabalık yetiştiriciliği ve ikincisi ise baraj göllerinde yapılan kafeslerde alabalık yetiştiriciliğidir (Alp ve Büyükçapar, 2006).

Bölgede toplam 34 adet alabalık tesisi bulunmaktadır. Bu işletmelerin proje bazında yıllık kapasiteleri 3-950 ton/yıl arasında değişmektedir. Proje bazında, bölge de bulunan işletmelerin toplam üretim kapasitesinin 4.838 ton/yıl dır (Çizelge 2.1).

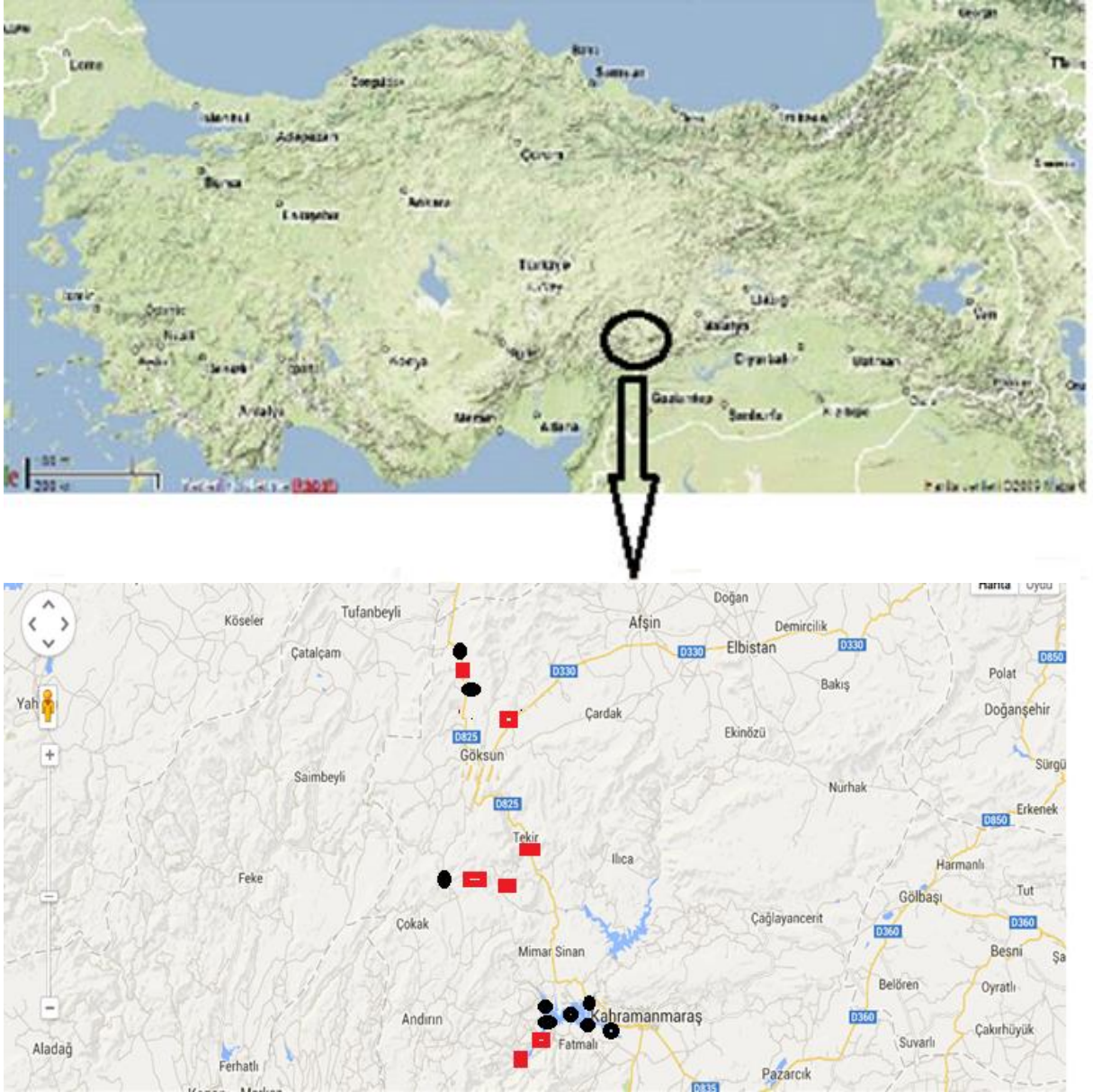
Çizelge 2.1. Kahramanmaraş il ve ilçelerindeki alabalık tesisleri (Anonim, 2015)

SıraNo	İlçe	Tesis Adı	Kapasite (ton)
1	Afşin	Gölpınar Tic.Ltd.Şti	20
2	Andırın	Harun Kuş	25
3	Andırın	Kasım Durmuş Dalaklıoğlu	7
4	Andırın	Mehmet Güngör	25
5	Andırın	S.Köksalan-İ.Durmuşoğlu-M.Cinkara	75
6	Andırın	Süleyman Köksalan	150
7	Çağlayancerit	Mehmet Zorkun (M.Toydaş dan devir)	25
8	Elbistan	Ahmet Savur	20
9	Elbistan	Ali Soysüren	48
10	Elbistan	Alima Ltd.	0
11	Elbistan	Aydın Gözüaçık	20
12	Elbistan	Kemal Kara	20
13	Elbistan	Şeref Alagöz	25
14	Göksun	Bahri Darıcı	6
15	Göksun	Göksun Su Ür. (Muammer Işık'dan devir)	50
16	Göksun	Ramazan Kaya(Kaya Alabalık)	20
17	Göksun	S.S.Mehmetbey Köyü Tarım. Kal. Koop.	30
18	Merkez	Ali Soysüren (C. Soysüren den devir)	90
19	Merkez	Bafa Su Ürn.	950
20	Merkez	Bafa Su Ürn.	950
21	Merkez	Bafa Su Ürn.	950
22	Merkez	Bafa Su Ürünleri A.Ş.	0
23	Merkez	Bafa Su Ürünleri A.Ş.	25
24	Merkez	Bafa Su Ürünleri Yavru A.Ş.	950
25	Merkez	Çağlayan Alabalık 2	29
26	Merkez	Çağlayan Alb.Ltd. Şti.	90
27	Merkez	Ersin Aras	29
28	Merkez	Fırınız Alabalık-1	125
29	Merkez	Fırınız Alabalık-2	20
30	Merkez	H.Öngel-A.Görgülü(Em-Te Alabalık)	50
31	Merkez	Kar-Su Alabalık	150
32	Merkez	Mehmet Karataş	3
33	Merkez	Tekir Ltd.	115
34	Nurhak	Adil Gevrek	12

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmada örnek almış olduğumuz Gökkuşuğu alabalık yetiştiricilik tesislerinin konumu Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Gökkuşuğu alabalığı örneklerinin toplandığı işletmelerinin yeri ve konumu

- *Yersinia ruckeri* izole edilmeyen işletmeler
- *Yersinia ruckeri* izole edilen işletmeler

3.1.1. Hastalıktan şüpheli balıkların morfolojik olarak incelenmesi

Balık havuzlarında tespit edilen hastalıklı balıkları, havuzdan çıkaracağımız ve taşımada kullanılacağımız alet ve ekipmanlar titizlikle hazırlandı. Numune olarak alınan balıklarda; rengin koyulaşması, ağzın iç ve dış kısımlarında, operkulumlarda, vücudun dış yüzeyinde ve yüzgeçlerin tabanında kanamalar, karında sıvı toplanması, şişkinlik, ekzoftalmus olup olmadığı kontrol edilerek morfolojik incelemesi yapılmıştır.

Hastalıktan şüpheli balıklar havuzdan çıkarıldıktan sonra su içerisinde canlı olarak değişik zamanlarda Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Anabilim Dalı Laboratuvarına getirildi.

3.1.2. Mikrobiyal izolasyon

İzolasyon için klasik besi yerleri kullanıldı. Kullandığımız besi yerleri Tryptic Soy Agar ve Brain Heart Infusion Agar'dır. Bunları hazırlamak için 40 gr Tryptic Soy Agar'ın üzerine 1000 ml distile su ilave edildi. Brain Heart Infusion Agar 52 gr tartılarak, üzerine 1000 ml distile su ilave edildi. Bu sıvılar, 121 °C'de 15 dakika boyunca otoklavda steril edildi. Besiyerleri 50 °C'ye kadar soğutuldu. Otoklavdan çıkarıldıktan sonra sıvı halde bulunan hazırladığımız karışımlar, steril petri kaplarına dökülerek, katı hal almaları için bekletildi (Arda, 2002). Katı hal almaları ile TSA ve BHIA besiyerleri hazırlanmış oldu.

3.1.3. Biyokimyasal identifikasyon

Biyokimyasal identifikasyon için ayrı bir besi yeri hazırlandı. Hugh-Leifson besiyerinden 11 gram, Vogas Proskauer-Metil Kırmızısı(VP-MR) 17 gram ve Simmons Sitrat 23 gram olacak şekilde tartıldı. Sonra da 1000 ml distile su eklenerek bunlar eriyene kadar benmaride bekletildi. Besiyerleri 121 °C'de 15 dakika süreyle otoklavda steril edildi ve 50 °C'ye kadar soğutuldu. Sonra da steril petri kaplarına döküldü.

Yaptığımız çalışmada kullandığımız antibakteriyel tanı disklerinin adları ve miktarları Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan antibakteriyel diskler, miktarları ve standart zon çapları (Anonim, 2000; Anonim, 2001)

Antibakteriler ve disk içerikleri (µg /Ü)	Dirençli ≤ mm (R)	Orta derece duyarlı mm (I)	Duyarlı ≥ mm (S)
Eritromisin (E) (15 µg)	13	14–22	23
Streptomisin (S) (10 µg)	11	12–14	15
Enrofloksasin (ENR) (5 µg)	15	16–20	21
Florfenikol (FFC) (30 µg)	14	15–18	19
Amoksisilin (AX) (25 µg)	8	9–10	11
Ampisilin (AMP) (10 µg)	13	14–16	17
Basitrasin (B) (30 µg)	8	9–12	13
Gentamisin (CN) (10 µg)	12	13–14	15
Nalidiksik Asit (NA) (30µg)	13	14–18	19
Oksitetrasiklin (OT) (30 µg)	14	15–18	19
Neomisin (N) (30 µg)	12	13–16	17
Batrim - Trimetoprim + Sulfametoksazol (BC) (1,25µg+23,7 µg)	19	20–28	29

Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) Biolog Dehydrated Growth Agar kullanılmıştır.

3.1.4. Moleküler identifikasyon

Gökkuşığı alabalığı yetiştiricilik tesislerinden alınan örneklerden izole edilen *Yersinia ruckeri* şüphesi bulunan izolatların fenotipik özellikleri belirlendi. PZR tekniğinin uygulanması aşamasında oluşabilecek kontaminasyonları tespit etmek ve uygun DNA ekstraksiyon tekniğinin uygulanması için 10 defa tekrarlandı.

3.2. Metot

3.2.1. *Yersinia ruckeri*'nin mikrobiyal izolasyonu

Örnek almış olduğumuz gökkuşağı alabalık yetiştiricilik tesislerinden *Yersinia ruckeri*'nin izolasyonu için; alınan örneklerin önce vücut yüzeyi % 70'lik etil alkolle dezenfekte edildi. Balık çiftliklerinden hastalık taşıma şüphesi nedeniyle alınan balıkların otopsisinde belirti durumuna göre böbrek, karaciğer, dalak ve bağırsaklarından öze yardımıyla örnek alınarak klasik besi yerleri olan Brain Heart Infusion Agar (BHIA) ve Tryptic Soy Agar (TSA) besi yerine ekimleri yapıldı. Besiyerleri 24 °C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Alınan örneklerin listesi Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Alınan örneklerin isimleri, alınan işletme, örneğin alındığı tarih, su sıcaklığı, kullanılan besiyerleri ve *Yersinia ruckeri* varlığı

No	Örnek adı	Alınan işletme	Örneğin alındığı tarih	Su ısısı (°C)	Kullanılan Besiyeri	<i>Y.ruckeri</i> varlığı
1	Karaciğer	1.işletme	17.04.2013	8	TSA	-
2	Bağırsak	1.işletme	17.04.2013	8	TSA	-
3	Dalak	1.işletme	17.04.2013	8	BHIA	-
4	Böbrek	1.işletme	17.04.2013	8	TSA	-
5	Karaciğer	1.İşletme	11.06.2013	11	TSA	-
6	Bağırsak	1.işletme	11.06.2013	11	BHIA	-
7	Dalak	1.işletme	11.06.2013	11	TSA	-
8	Karaciğer	1.işletme	20.08.2013	13	BHIA	-
9	Dalak	1.işletme	20.08.2013	13	BHIA	-
10	Böbrek	1.işletme	20.08.2013	13	TSA	-
11	Karaciğer	2.işletme	17.04.2013	8	TSA	-
12	Böbrek	2.işletme	17.04.2013	8	BHIA	-
13	Böbrek	2.işletme	17.04.2013	8	BHIA	-
14	Karaciğer	2.işletme	20.08.2013	13	TSA	+
15	Bağırsak	2.işletme	20.08.2013	13	BHIA	+
16	Bağırsak	3.işletme	17.04.2013	8	TSA	-
17	Karaciğer	3.işletme	17.04.2013	8	TSA	-
18	Dalak	3.işletme	17.04.2013	8	BHIA	-
19	Böbrek	3.işletme	17.04.2013	8	TSA	-
20	Karaciğer	3.işletme	03.07.2013	11	TSA	-
21	Bağırsak	3.işletme	03.07.2013	11	TSA	-
22	Böbrek	3.işletme	03.07.2013	11	BHIA	-
23	Dalak	3.işletme	03.07.2013	11	BHIA	-
24	Karaciğer	3.işletme	18.10.2013	10	TSA	-
25	Böbrek	3.işletme	18.10.2013	10	BHIA	-
26	Karaciğer	4.işletme	03.04.2013	8	TSA	-
27	Böbrek	4.işletme	03.04.2013	8	BHIA	-

Çizelge 3.2. devamı

No	Örnek adı	Alınan işletme	Örneğin alındığı tarih	Su ısı (°C)	Kullanılan Besiyeri	Y.ruckeri varlığı
28	Dalak	4. işletme	03.04.2013	8	TSA	-
29	Böbrek	4. işletme	20.08.2013	15	TSA	+
30	Bağırsak	4. işletme	20.08.2013	15	BHIA	+
31	Bağırsak	5. işletme	17.04.2013	8	TSA	-
32	Karaciğer	5. işletme	17.04.2013	8	TSA	-
33	Dalak	5. işletme	17.04.2013	8	BHIA	-
34	Böbrek	5. işletme	17.04.2013	8	TSA	-
35	Karaciğer	5. işletme	20.08.2013	13	TSA	-
36	Bağırsak	5. işletme	20.08.2013	13	TSA	-
37	Böbrek	5. işletme	20.08.2013	13	TSA	-
38	Dalak	5. işletme	20.08.2013	13	BHIA	-
39	Bağırsak	5. işletme	18.10.2013	11	TSA	-
40	Dalak	5. işletme	18.10.2013	11	TSA	-
41	Karaciğer	6. işletme	03.07.2013	12	BHIA	-
42	Bağırsak	6. işletme	03.07.2013	12	TSA	-
43	Böbrek	6. işletme	03.07.2013	12	BHIA	-
44	Karaciğer	6. işletme	18.10.2013	10	TSA	-
45	Böbrek	6. işletme	18.10.2013	10	TSA	-
46	Karaciğer	7. işletme	17.04.2013	9	BHIA	-
47	Bağırsak	7. işletme	17.04.2013	9	BHIA	-
48	Dalak	7. işletme	17.04.2013	9	BHIA	-
49	Böbrek	7. işletme	17.04.2013	9	TSA	-
50	Karaciğer	7. işletme	20.08.2013	13	TSA	-
51	Böbrek	7. işletme	20.08.2013	13	BHIA	-
52	Karaciğer	7. işletme	18.10.2013	11	TSA	-
53	Böbrek	7. işletme	18.10.2013	11	TSA	-
54	Karaciğer	8. işletme	16.08.2014	17	BHIA	+
55	Böbrek	8. işletme	16.08.2014	17	TSA	+
56	Bağırsak	8. işletme	16.08.2014	17	BHIA	+
57	Karaciğer	9. işletme	16.08.2014	17	BHIA	+
58	Böbrek	9. işletme	16.08.2014	17	BHIA	+
59	Karaciğer	10. işletme	03.07.2013	12	TSA	-
60	Böbrek	10. işletme	03.07.2013	12	TSA	-
61	Bağırsak	10. işletme	03.07.2013	12	BHIA	-
62	Dalak	10. işletme	03.07.2013	12	BHIA	-
63	Karaciğer	10. işletme	14.04.2014	9	TSA	-
64	Böbrek	10. işletme	14.04.2014	9	TSA	-
65	Bağırsak	10. işletme	14.04.2014	9	BHIA	-
66	Dalak	10. işletme	14.04.2014	9	BHIA	-
67	Karaciğer	10. işletme	16.08.2014	13	BHIA	-
68	Böbrek	10. işletme	16.08.2014	13	TSA	-
69	Dalak	10. işletme	16.08.2014	13	BHIA	-
70	Bağırsak	10. işletme	16.08.2014	13	BHIA	-
71	Böbrek	11. işletme	03.07.2013	12	TSA	-
72	Karaciğer	11. işletme	03.07.2013	12	TSA	-
73	Dalak	11. işletme	03.07.2013	12	BHIA	-

Çizelge 3.2. devamı

No	Örnek adı	Alınan işletme	Örneğin alındığı tarih	Su ısı (°C)	Kullanılan Besiyeri	Y.ruckeri varlığı
74	Bağırsak	11. işletme	03.07.2013	12	BHIA	-
75	Karaciğer	11. işletme	14.04.2014	9	TSA	-
76	Dalak	11. işletme	14.04.2014	9	BHIA	-
77	Bağırsak	11. işletme	14.04.2014	9	BHIA	-
78	Böbrek	11. işletme	14.04.2014	9	TSA	-
79	Böbrek	11. işletme	16.08.2014	13	TSA	-
80	Karaciğer	11. işletme	16.08.2014	13	BHIA	-
81	Bağırsak	11. işletme	16.08.2014	13	BHIA	-
82	Dalak	11. işletme	16.08.2014	13	BHIA	-
83	Karaciğer	12. işletme	11.03.2014	8	TSA	-
84	Böbrek	12. işletme	11.03.2014	8	TSA	-
85	Dalak	12. işletme	11.03.2014	8	BHIA	-
86	Bağırsak	12. işletme	11.03.2014	8	BHIA	-
87	Karaciğer	12. işletme	27.08.2014	13	TSA	+
88	Karaciğer	13. işletme	10.05.2014	10	BHIA	-
89	Dalak	13. işletme	10.05.2014	10	BHIA	-
90	Bağırsak	13. işletme	10.05.2014	10	BHIA	-
91	Karaciğer	13. işletme	27.08.2014	14	TSA	-
92	Böbrek	13. işletme	27.08.2014	14	TSA	-
93	Bağırsak	13. işletme	27.08.2014	14	BHIA	-
94	Dalak	13. işletme	27.08.2014	14	BHIA	-
95	Böbrek	14. işletme	11.03.2014	8	TSA	-
96	Dalak	14. işletme	11.03.2014	8	BHIA	-
97	Bağırsak	14. işletme	11.03.2014	8	BHIA	-
98	Böbrek	14. işletme	27.08.2014	13	TSA	+
99	Bağırsak	14. işletme	27.08.2014	13	BHIA	+
100	Karaciğer	14. işletme	27.08.2014	13	TSA	+
101	Böbrek	15. işletme	11.03.2014	8	TSA	-
102	Dalak	15. işletme	11.03.2014	8	BHIA	-
103	Bağırsak	15. işletme	11.03.2014	8	BHIA	-
104	Karaciğer	15. işletme	16.08.2014	13	TSA	+
105	Karaciğer	16. işletme	03.04.2014	8	BHIA	-
106	Böbrek	16. işletme	03.04.2014	8	BHIA	-
107	Dalak	16. işletme	03.04.2014	8	TSA	-
108	Bağırsak	16. işletme	03.04.2014	8	BHIA	-
109	Bağırsak	16. işletme	04.06.2014	10	TSA	-
110	Karaciğer	16. işletme	04.06.2014	10	BHIA	-
111	Böbrek	16. işletme	04.06.2014	10	TSA	-
112	Karaciğer	16. işletme	27.08.2014	13	TSA	-
113	Bağırsak	16. işletme	27.08.2014	13	TSA	-
114	Dalak	16. işletme	27.08.2014	13	BHIA	-
115	Böbrek	16. işletme	27.08.2014	13	TSA	-

Bölge’de bulunan 16 işletmeden alınan örnekler içinden 2. İşletme’de 2; 4 işletme’de 2; 8. işletme’de 3; 9. işletme’de 2; 12. işletme’de 1; 14. işletme’de 3; 15.

işletme’de 1 örnekte olmak üzere toplam 7 farklı işletme’de 14 örnekte *Yersinia ruckeri* izole edilmiştir.

3.2.2. Biyokimyasal identifikasyon

Tryptic Soy Agar (TSA) ve Brain Heart (Infusion) Agar (BHIA)’a ekilip üremesini tamamlayan kolonilerden subkültür elde etmek için Tryptic Soy Agar (TSA) ve Brain Heart (Infusion) Agar (BHIA)’a ekildi. Agarlar 24°C’de 24 saat inkübe edilmiştir.

3.2.2.1. Koloni morfolojisi

Tryptic Soy Agar (TSA) ve Brain Heart (Infusion) Agar (BHIA)’da ortamında 24°C’de 1 günlük inkübasyondan sonra gelişen bakterilerin, petrilere kolonilerinin makroskopik görünüşlerine renklerine ve şekline bakılarak değerlendirme yapıldı.

3.2.2.2. Gram boyama

Yersinia ruckeri’nin izolatları Tryptic Soy Agar (TSA) ve Brain Heart (Infusion) Agar (BHIA) ortamında 24°C’de üretildi. Bir öze yardımıyla tek düşmüş koloni alınarak lam üzerine konuldu ve steril su ile lam yüzeyine iyice yayıldı. Lam, steril kabın içerisinde kuruyana kadar bekletildikten sonra bakterileri fikse etmek için lam 3 defa alevden geçirildi. Bakterilerin fikse edildiği lam üzerine kristal viyole çözeltisi damlatılarak 1 dakika beklendi ve su ile yıkanarak kristal viyole uzaklaştırıldı. Kristal viyole ile boyanmış lama lugol çözeltisi damlatılarak 1-2 dak bekletildi ve sonra distile su ile yıkanarak lugol çözeltisi uzaklaştırıldı. Lugal solüsyonu uzaklaştırılan lam üzerine %96’lık etil alkol damlatılarak 15-30 saniye beklendi ve daha sonra distile su ile yıkandı. Karşıt boya olarak safranin damlatıldı ve 40 - 50 saniye beklendi. Lam distile su ile yıkanarak kendi haline kurumaya bırakıldı. Lam üzerine immersiyon yağı damlatıldı ve 100’lük objektifle OLYMPUS (BX51) mikroskopta incelendi ve fotoğrafı çekildi. Boyama sonucu mor renkli bakteriler Gram pozitif, pembe-kırmızı renkli bakteriler ise Gram negatif olarak değerlendirildi (Lelliott ve Stead, 1987).

3.2.2.3. Potasyum hidroksit (KOH) ile gram reaksiyon testi

Lam üzerine bir damla %3’lük potasyum hidroksit solüsyonu damlatıldı. Brain Heart Infusion Agar (BHIA) ve Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerinde üremiş taze bakteri izolatlarından öze yardımıyla lam üzerine alınarak dairesel hareket yapılarak karıştırıldı. Sonra 15-20 saniye beklendi ve öze yukarı doğru yavaşça kaldırıldı. Öze yukarı doğru yavaşça kaldırılırken meydana gelecek yapışkanimsı sünme durumu gözlemlendi. Öze yavaşça

kaldırıldığında 0,5 cm den fazla sünme oluşursa gram negatif bakteri olarak değerlendirildi (Sands, 1990).

3.2.2.4. Oksidaz testi

Şeritler halinde kesilmiş steril kurutma kağıdı üzerine oksidaz ayırıcı damlatılarak emdirildi. Steril bir öze yardımıyla Tryptic Soy Agar (TSA) ve Brain Heart (Infusion) Agar (BHIA) besiyerlerinden alınan şüpheli *Yersinia ruckeri* kolonileri bu şerit üzerine sürüldü. Bir dakika içinde mor renk görülmesi halinde oksidaz pozitif olarak değerlendirildi (Covan, 1974; Bilgehan, 1995).

3.2.2.5. Katalaz testi

Katı besiyerinde geliştirilen bakteri kültürüne H₂O₂ (hidrojen peroksit) ilave edildiğinde, serbest oksijenin gaz kabarcıkları haline gelmesi ve bunun gözlenebilmesi, hidrojen peroksitin ayrışmasını dolayısıyla katalaz enziminin varlığını gösteren bir testtir. Steril bir öze yardımıyla besiyerlerinde üreyen şüpheli *Yersinia ruckeri* kolonileri yeterince alınarak, lam üzerine konulmuştur. Distile su ile iyice yayılmıştır. Sonra bir kaç damla % 30'luk hidrojen peroksit damlatılmış ve laboratuvar çubuğu ile karıştırılmıştır. Oksijen açığa çıkmasıyla hava kabarcıkları oluşturanlar, katalaz pozitif olarak değerlendirildi. Negatif olan bakterilerde ise gaz oluşumu gerçekleşmedi (Bilgehan, 1995; Arda, 2000).

3.2.2.6. Voges proskauer (VP)-Metil kırmızısı (MR) testleri

Tryptic Soy Agar (TSA) ve Brain Heart (Infusion) Agar (BHIA) besiyerinde üreyen şüpheli *Yersinia ruckeri* kolonilerinden steril bir öze yardımıyla yeterli miktarda alınarak tüplerdeki Clark – Lups broth'a ekim yapıldı ve 24 °C'de 24 saat süreyle inkubasyona bırakıldı. Üretilen kültürün, yarısı alınarak üzerine 4–5 damla metil red solüsyonundan damlatıldı. Kırmızı renk oluşumu pozitif metil kırmızısı testi kabul edildi. Kültürün kalan yarısına ise 3 ml % 5'lik alfa-naftol solüsyonundan ilave edilerek karıştırıldı. Bunun üzerine % 40'lık KOH çözeltisinden 1 ml ilave edilerek 2–5 dakika içerisinde pembe renk oluşumu Voges Proskauer (VP) testi pozitif olarak değerlendirildi (Bilgehan, 1995; Arda, 2000).

3.2.2.7. Oksidasyon/Fermentasyon (O/F) testleri

Tryptic Soy Agar (TSA) ve Brain Heart (Infusion) Agar (BHIA) besiyerinde üreyen şüpheli *Yersinia ruckeri* kolonilerinden steril iğne uçlu bir öze yardımıyla yeterli miktarda alınarak, 2 tüpte bulunan Hugh ve Leifson besiyerine dik bir şekilde ekim yapıldı. Tüplerden birisine 1cm kalınlıkta olacak biçiminde sıvı steril parafin ilave edildi. Diğer

tüpe ise herhangi bir işlem uygulanmadı. Tüplerin ağzı iyice kapatılarak 24° C’de 24 saat süreyle inkübe edildi. Parafinsiz tüpte sarı renk oluşması ve parafinli tüpte renk değişimi olmaması oksidasyon pozitif, her iki tüpte de sarı renk oluşması fermentasyon pozitif olarak değerlendirildi (Bilgehan, 1995; Arda, 2000).

3.2.2.8. İndol testi

Triptofan bulunan bir besiyerinde geliştirilen bakterilerin, triptofanı hidrolize uğratarak indol oluşturup oluşturmadıklarını belirlemek amacıyla, BHIA ve TSA besiyerinde bulunan şüpheli *Yersinia ruckeri* kolonileri içinden iğne uçlu bir öze kullanılarak fazla miktarda koloni alındı. Sülfat-İndole-Motility (SIM) besiyerine ekim yapıldı. Besiyeri 20°C’de 4 gün süreyle inkübe edildi. Bu kültür üzerine 0.4 ml’lik kovacs ayırıcı ilave edildi. Üç dakika içinde oluşan halkalara göre yorumlama yapıldı. Üzerinde kırmızı halka oluşmuşsa pozitif, sarı-kahverengi halka oluşmuşsa negatif indol olarak değerlendirildi.

3.2.2.9. Hareket testi

Hareketli bakteriler flagellaya sahiptir. Hareket testi ile flagellaların gösterilmesi değil, hareketin gösterilmesi amaçlanmıştır. BHIA ve TSA besiyerinde bulunan şüpheli *Y. ruckeri* kolonileri içinden iğne uçlu bir öze kullanılarak fazla miktarda koloni alındı. Sülfat-İndole-Motility (SIM) besiyerine ekim yapıldı. Besiyeri 20°C’de 4 gün süreyle inkübe edildi. Besiyerinde batırma hattı boyunca sınırlı bir üreme oluşması hareket negatif, besiyerinde homojen bir bulanıklık meydana gelmesi hareket pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.2.10. Antibakteriyel duyarlılık testi

Bu test disk difüzyon yöntemine göre yapıldı. Bu test, disklere emdirilen antibiyotik, duyarlılığı araştırılan organizmanın inoküle edildiği besiyerine difüze olması esasına dayanır. Tespiti yapılan *Yersinia ruckeri* 4 ml nutrient broth bulunan tüplere ekildi. Besiyeri 24 saat 20°C’de etüvde bekletildi (Bauer ve ark., 1966; Plumb, ve Browser, 1983; Koneman ve ark., 1997; Arda, 2000; Furones 2001). Tüplerdeki bakteri miktarı 0,5 McFarland standart miktarına gelinceye kadar etüvde bekletildi. Nutrient broth besiyerlerinde üreyen kültürden 0,1 ml steril pipet ile Mueller-Hinton agar besiyerine aktararak yayma işlemi yapıldı. Pens kullanılarak Standart antibakteriyel diskleri, petrideki besiyeri üzerine eşit aralıklarla yerleşmesi sağlandı. Bu şekilde hazırlanan petri 5-6 gün 20°C’de inkübasyona bırakıldı. Mikroorganizma çoğalmaya başladı. Bu süre sonunda her diskin çevresinde bulunan inhibisyon zonun çapları milimetrik olarak ölçüldü.

Ölçülen bu değerler standart zon çapları ile karşılaştırılarak değerlendirildi (Anonim, 2000; Anonim, 2001). Mikroorganizma ilaca ne kadar duyarlıysa, diskin etrafında oluşan zon o kadar geniş olacaktır. Çünkü ilacın etkili olduğu konsantrasyonlarda diskin çevresinde üreme görülmez.

3.2.2.11. Biolog sistemi ile identifikasyonu

Mikroorganizmayı, 71 farklı karbon kaynağının kullanımı ve 23 kimyasala karşı (belirlenen kimyasallara dayanıklılık) hassasiyet yönünden olmak üzere 94 fenotipik test (Çizelge 3.3) yönünden analiz eden sisteme, Biolog Sistemi (The Biolog GEN III MicroPlate) denilmektedir.

The Biolog GEN III MicroPlate plakaları (BIOLOG 21124 Cabot Blvd. Hayward, CA 94545) sistemi ile 94 biyokimyasal testi yapılabilmektedir. Böylece gram-negatif ve gram-pozitif bakterilerin tür seviyesinde belirlenmesi mümkündür (Bochner, 1989a ve 1989b).

Çizelge 3.3. Mikroplakalarda kodlanan 94 adet karbon kaynağı ve kimyasal listesi (Anonim, 2008)

A1 Nega tive Cont rol	A2 Dext rin	A3 D- Mal tose	A4 D- Treh alose	A5 D- Cell obiose	A6 Genti obiose	A7 Sucro se	A8 D- Turan ose	A9 Stac hyose	A10 Positi ve Contr ol	A11 pH 6	A12 pH 5
B1 D- Raffi nose	B2 α -D- Lact ose	B3 D- Mel ibiose	B4 β - Met hyl- DGl ucoside	B5 D- Sali cin	B6 N- Acety l- DGluc osamine	B7 N- Acety l- β - DMan nosamine	B8 N- Acetyl - DGala ctosamine	B9 N- Acet yl Neu raminic acid.	B10 1% NaCl	B11 4% NaCl	B12 8% NaCl
C1 α -D- Glucose	C2 D- Man nose	C3 D- Fru ctose	C4 D- Gala ctose	C5 3- Met hyl Glucose	C6 D- Fucose	C7 L- Fucose	C8 L- Rham nose	C9 Inos ine	C10 1% Sodium Lactate	C11 Fusi dic Acid	C12 D- Seri ne
D1 D- Sorb itol	D2 D- Man nitol	D3 D- Ara bitol	D4 myo - Inos itol	D5 Gly cero l	D6 D- Glucose- 6- PO4	D7 D- Fructose- 6- PO4	D8 D- Aspartic Acid	D9 D- Seri ne	D10 Trolea ndom ycin	D11 Rifa mycin SV	D12 Min ocyc line
E1 Gela tin	E2 Glyc yl-L- Proli ne	E3 L- Ala nine	E4 L- Argi nine	E5 L- Asp artic Acid	E6 L- Gluta mic Acid	E7 L- Histid ine	E8 L- Pyrogl utamic Acid	E9 L- Seri ne	E10 Linco mycin	E11 Gua nidine HCl	E12 Niap roof 4
F1 Pecti n	F2 D- Gala cturo nic Acid	F3 L- Gal actonic Acid Lact one	F4 D- Gluc onic Acid	F5 D- Glu curo nic Acid	F6 Glucu ronam ide	F7 Mucic Acid	F8 Quinic Acid	F9 D- Sacc hari c Acid	F10 Vanco mycin	F11 Tetr azoli um Viol et	F12 Tetr azoli um Blue
G1 p- Hydr oxy-	G2 Meth yl Pyru	G3 D- Lact ic	G4 L- Lact ic	G5 Citri c Aci	G6 α - Keto- Glutar	G7 D- Malic Acid	G8 L- Malic Acid	G9 Bro mo- Succ	G10 Nalidi xic Acid	G11 Lithi um Chlo	G12 Pota ssiu m

Phenylacetic Acid	vate	Acid Methyl Ester	Acid	d	ic Acid			inic Acid		ride	Tellurite
H1 Tween 40	H2 γ -Amino-Butyric Acid	H3 α -Hydroxy-Butyric Acid	H4 β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	H5 α -Keto-Butyric Acid	H6 Acetoacetic Acid	H7 Propionic Acid	H8 Acetic Acid	H9 Formic Acid	H10 Aztreonam	H11 Sodium Butyrate	H12 Sodium Bromate

Bakterilerin metabolik faaliyetlerine göre tanımlanması yapılacaktır. Bu amaçla; tanısı yapılacak bakteri izolatları BHIA ve TSA besiyerinde 2 gün boyunca 20°C'de inkubasyona bırakılmıştır. Tampon çözelti olarak kullanılacak olan BIOLOG IF-A çözeltisinden, süspansiyon hazır hale getirilmiştir. Bakteri konsantrasyonu turbidimetre ile %92-98 olarak, standart turbidity tüpünde ayarlanmıştır. Bakteriyel süspansiyonlar, yoğunlukları ayarlanarak, mikropalakardaki her çukura 100 μ l konulmuştur. Bu mikropalakalar 4-24 saat 26 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. (Anonim, 2008). En son olarak, mikropalaka okuyucuda okutularak sistemin veri bankası ile karşılaştırılmış ve bakterinin teşhisi gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. Moleküler identifikasyon

3.2.3.1. Kromozomal DNA izolasyonu

Kromozomal DNA, klonlanacak genlerin çoğaltılmasında kullanılmak için *Yersinia ruckeri* suşundan kromozomal DNA izolasyon kiti kullanılarak yapılmıştır. DNA izolasyonu TSA besiyeri ortamında 24 °C'de 24 saatte büyütülmüş bakteriler kullanılarak yapılmıştır.

3.2.3.2. DNA'nın jel elektroforezi

Tez kapsamında; izole edilen kromozomal DNA, plazmit DNA ve PCR ürünleri %0.6 ile %2 arasında değişen konsantrasyonda Agaroz jelde koşturulmuştur. Agaroz 1X TBE (90 mM Tris Base; 90mM Borik Asit; 2 mM EDTA; pH 8.0) tamponu içerisinde uygun konsantrasyonlarda eritilerek tanklara dökülmüştür. Analiz edilecek örneklerin

uygun dilüsyonlarından genellikle 5 µL alınarak, 1 µL 6X yükleme ile karıştırılmıştır. DNA kontrolü olarak uygun boyutlardaki DNA referansı; λ DNA 100 baz çiftlik ya da 1000 baz çiftlik DNA markörleri (Thermo Scientific) kullanılmıştır. Agaroz jel EtBr (0.5 µg/mL) ile 30 dakika boyanarak UV ışığında görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır.

3.2.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Toplam 40 µl'lik hacimde hazırlanan PCR karışımında; 1 µL (20 pikomol) ileri primer, 1 µL (20 pikomol) geri primer, 1 µL dNTP (1 mM), 4 µL buffer (NH₄)₂SO₄ (10X), 1,6 µL MgCl₂, 1 µL DNA polimeraz (5 u/µL) [25 mM Tris-HCl (pH 7,5), 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT ve %50 (v/v) gliserol], 1 µL kalıp DNA (~400 ng/mL), 29,4 µL dH₂O ile toplam hacim (40 µL) tamamlanarak hazırlanmıştır. PCR amplifikasyonunda 94 °C'de 1 dakika ön denaturasyon aşamasını takiben, toplam 35 PCR siklusu 94 °C'de 1 dakika denaturasyon, 55 °C'de 1 dakika hibridizasyon, 72 °C'de 1 dakika DNA sentezi ve 72 °C'de 8 dakika son uzatma işlemi yapıldı.

3.2.3.4. İzolatların moleküler olarak tanımlanması

Yersinia ruckeri'nin 16S rRNA geninden türetilen YER8 (5'-GCGAGGAGGAAGGGTTAAGTG-3') ve YER10 (5'-GAAGGCACCAAGGCATCTCTG-3') primer çifti (Gibello ve ark., 1999) kullanıldı.

3.2.3.5. Bakterilerin stoklanması

Bakteriler kısa süreli kullanımlar için %15'lik gliserol içerisine alınarak -20°C'de saklanmıştır. Uzun süreli saklama ise, besiyerinde 16 saat büyütülen bakterilerden 200 µl alınarak 12000 rpm (14515 g)'de 3 dakika çöktürülerek pelletlerin %30 gliserol içeren LB veya GM17 besi yerinde çözündürüp, şok soğutma ile -80°C'de saklanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Morfolojik bulgular

Kahramanmaraş'ta faaliyet gösteren gökkuşuğu alabalık tesislerinden alınan numuneler genellikle hastalık şüphesi taşıyan numunelerdir. Havaların ısınması ve su sıcaklarının artması ile birlikte tesislerde hastalık belirtisi gösteren numuneler aranmıştır. Bazı tesislerde de belirti olmadığı halde numune alımı gerçekleşmiştir. Alınan numune sayısında çiftliklerin üretim miktarı, çiftlik ve çiftlik sahiplerinin durumları dikkate alınmıştır. Havaların ısınmasını beklememizin sebebi, daha önce yapılan araştırmalarda, 10 °C'yi geçmeyen su sıcaklıklarında bu hastalığın görülmemesidir. Çiftliklerde; rengi koyulaşan, ağzın iç ve dış kısımlarında, operkulumlarda, vücudun dış yüzeyinde ve yüzgeçlerin tabanında kanamalar, karında şişkinlik, gözlerde ekzoftalmus görülen ve havuz kenarlarında, su yüzeyinde uyuşuk, hareketsiz duran yada gayesizce yüzen balıklar gözle ve elle muayene edilerek numune olarak seçilmiştir. Alınan numuneler 5-200 gram arası balıklardır. Hasta balıklarda, deride kararma ve ekzoftalmus (Şekil 4.1 ve 4.2), İç organda meydana gelen kanama ve tahribatlar (Şekil 4.3-4.4 ve 4.5) görüldü.



Şekil 4.1. Balıkta kararma



Şekil 4.2. Örnek balıklarda laboratuvar ortamında otopsi



Şekil 4.3. İç organlarda meydana gelen kanama ve tahribatlar-1



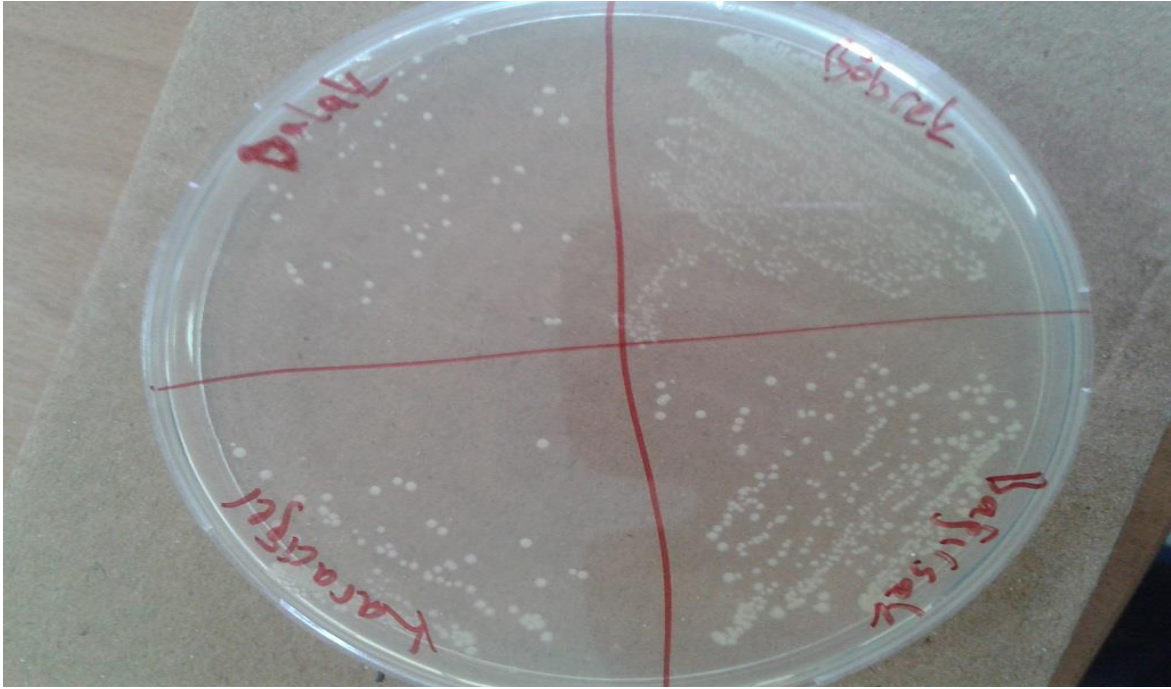
Şekil 4.4. İç organlarda meydana gelen kanama ve tahribatlar-2



Şekil 4.5. İç organlarda meydana gelen kanama ve tahribatlar-3

4.2. Biyokimyasal bulgular

İzole edilen gram negatif çomak şekilli 14 adet *Yersinia ruckeri* suşun saf kültürlerinden (Şekil 4.6.) fenotipik ve biyokimyasal özellikleri belirlendi. Ayrıca biyokimyasal testlerin doğrulamak ve diğer fenotipik özellikleri (Çizelge 4.1.) belirlemek amacıyla Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı kullanıldı (Çizelge 4.2.).



Şekil 4.6. *Yersinia ruckeri*'nin koloni oluşurması

Çizelge 4.1. Gökkuşığı Alabalıklarından izole edilen 14 *Yersinia ruckeri* morfolojik ve biyokimyasal özellikleri

	<i>Yersinia ruckeri</i> (n:14)
Koloni rengi	Beyaz
Gram Boyama	-
Şekli	Çomak
Oksidaz	-
Katalaz	+
Hareket	+
H ₂ S	-
Metil Red	+
Voges Proskauer	-
İndol	-
Üreaz Oluşumu	-
O/F	F
MacConkey Agar	+
Mueller-Hinton Agar	+
0°C'de üreme	-
5°C'de üreme	-
15°C'de üreme	+
20°C'de üreme	+
25°C'de üreme	+
30°C'de üreme	+
37°C'de üreme	+
% 0,0 NaCl'de üreme	+
% 0,5 NaCl'de üreme	+
% 1,0 NaCl'de üreme	+
% 2,0 NaCl'de üreme	+
% 6,5 NaCl'de üreme	-

Çizelge 4.2. Gökkuşuğu Alabalıklarından izole edilen *Yersinia ruckeri*'nin Biolog Sistemi (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile diğer fenotipik özellikleri

Biyokimyasal Kriter	İzolat reaksiyonu (n:14)	Biyokimyasal Kriter	İzolat reaksiyonu (n:14)
pH 5	-	%8 NaCl	-
pH 6	+	%4 NaCl	-
Positif Kontrol	+	%1 NaCl	+
Stachyose	-	N-Acetyl NeuraminicAcid	+
D- Turanose	+/-	N-Acetyl-D- Galactosamine	+
Sucrose	-	N-Acetyl- β -D- Mannosa-mine	+
Gentiobiose	-	N-Acetyl-D- Glucosamine	+
D-Cellobiose	-	D-Salicin	-
D-Trehalose	+	β - Methyl-D- Glucoside	+/-
D-Maltose	+	D-Melibiose	-
Dextrin	+	α -D-Lactose	-
Negatif Kontrol	-	D-Raffinose	-
D-Serine	-	Minocycline	-
Fusidic Acid	-	Rifamycin SV	-
%1 Sodium Lactate	+	Troleando-mycin	+
I Nosine	+	D-Serine	-
L-Rhamnose	-	D-Aspartic Acid	-
L-Fucose	-	D-Fructose-6- Phosphate	+
D-Fucose	+/-	D-Glucose-6- Phosphate	+
3-Methyl Glucose	+/-	Glycerol	+

D-Galactose	+	myo-Inositol	-
D-Fructose	+	D-Arabitol	+-
D-Mannose	+	D-Mannitol	+
α -D-Glucose	+	D-Sorbitol	+-
Niaproof 4	-	Tetrazolium Blue	+-
Guanidine HCl	+-	Tetrazolium Violet	+-
Lincomycin	+	Vanco-mycin	+
L-Serine	+	D-Saccharic Acid	-
L-Pyroglutamic Acid	-	Quinic Acid	-
L-Histidine	-	Mucic Acid	-
L-Glutamic Acid	+	Glucoronamide	+
L-Aspartic Acid	+	D-Glucuronic Acid	+
L-Arginine	-	D-Gluconic Acid	+
L-Alanine	+	L-Galactonic Acid Lactone	+
Glycyl-L-Proline	+	D-Galacturonic Acid	+
Gelatin	-	Pectin	-
Potassium Tellurite	-	Sodium Bromate	-
Lithium Chloride	+-	Sodium Butyrate	+
Nalidixic Acid	+	Aztreonam	-
Bromo-Succinic Acid	+	Formic Acid	-
L-Malic Acid	+	Acetic Acid	+
D-Malic Acid	-	Propionic Acid	-
α -Keto-Glutaric Acid	+-	Acetoacetic Acid	+-
Citric Acid	+-	α -Keto- Butyric Acid	-
L-Lactic Acid	+	β - Hydroxy-D,L- Butyric Acid	-
D-Lactic Acid	+-	α -Hydroxybutyric	+-

Methyl Ester		Acid	
Methyl Pyruvate	+	γ -Amino-Butyric Acid	-
p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Tween 40	+/-

Yersinia ruckeri izole edildikten sonra antibiyotiğe karşı duyarlılığını ölçebilmek için Antibiyogram duyarlılık testi uygulandı ve bu amaçla 5 farklı antibiyogram disk kullanılmıştır.(Çizelge 4.3.)

Çizelge 4.3. Gökkuşluğu Alabalıklarından izole edilen 14 *Yersinia ruckeri* antibiyogram testi sonucu

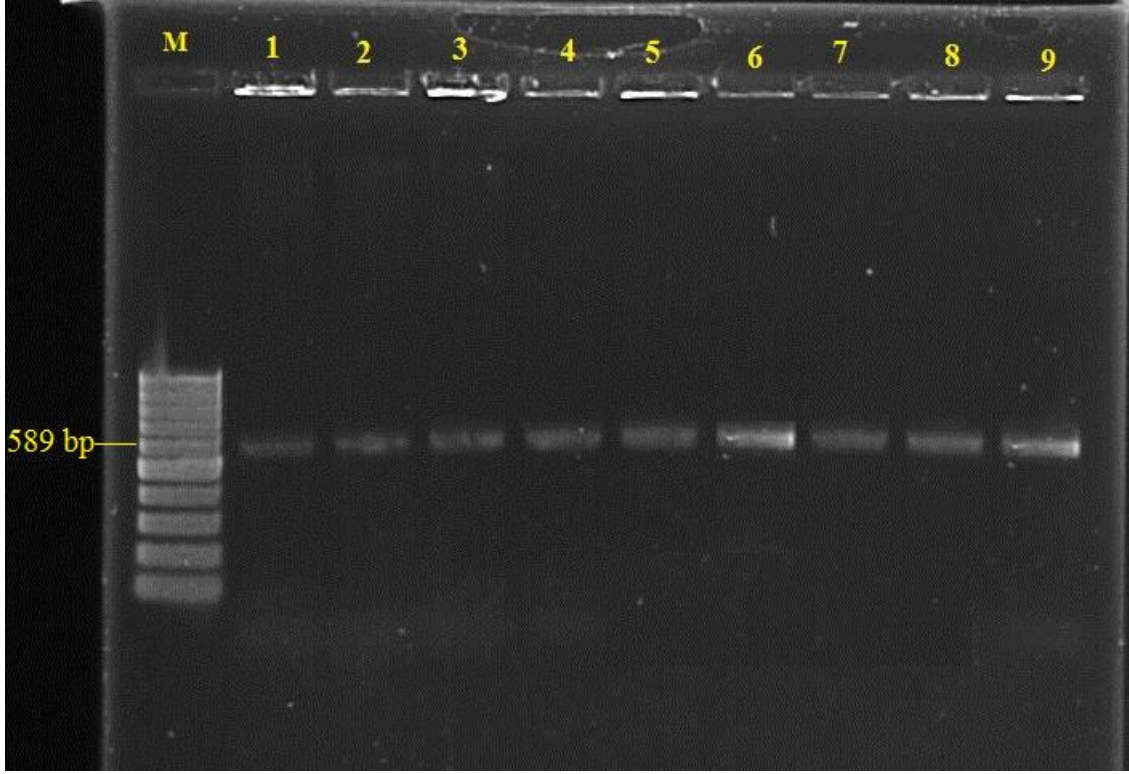
Antibiyotikler	Duyarlılık (mm)
Eritromisin (15 µg)	R (0)
Streptomisin (10 µg)	R (0)
Enrofloksasin (5 µg)	S (22)
Florfenikol (30 µg)	S (30)
Amoksisilin (AX) (25 µg)	R (6)
Ampisilin (AMP) (10 µg)	R (10)
Basitrasin (B) (30 µg)	R (7)
Gentamisin (CN) (10 µg)	S (16)
Nalidiksik Asit (NA) (30µg)	S (21)
Oksitetrasiklin (OT) (30 µg)	R (13)
Neomisin (N) (30 µg)	R (10)
Batrim - Trimetoprim + Sulfametoksazol (BC) (1,25µg+23,7 µg)	R (18)

S: Sensitive (Duyarlı)

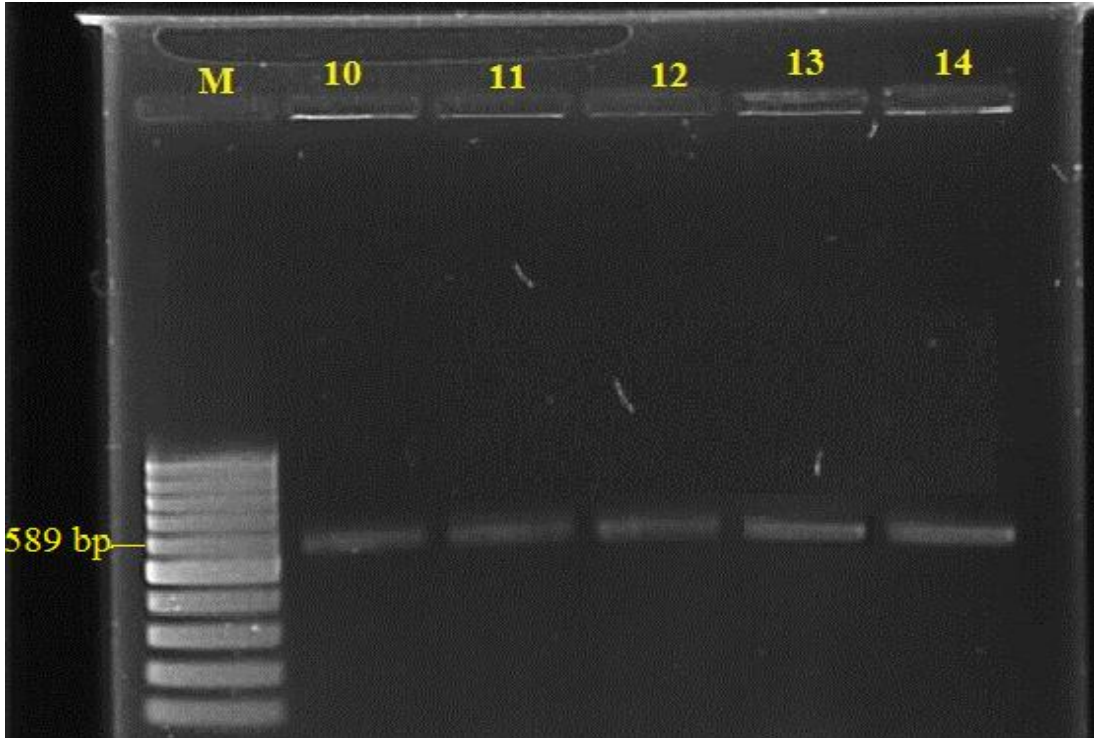
R: Resistant (Dirençli)

4.3. Moleküler bulgular

İzole edilen gram negatif, çomak şekilli 14 adet *Yersinia ruckeri* suşun saf kültürleri kullanılarak yapılan PCR fotoğrafları Şekil 4.7 -4.8.'de verilmiştir.



Şekil 4.7. 1-9 nolu örneklerin PCR görüntüsü



Şekil 4.8. 10-14 nolu örneklerin PCR görüntüsü

5. TARTIŞMA

Yersinia ruckeri varlığının Kahramanmaraş bölgesindeki günümüzdeki durumunu ortaya koymayı amaçlayan bu çalışmada, su ısındıkça hastalığı taşıyan balıklarda hastalık etkileri görülmeye başlamış, hastalıklı balıkla sağlıklı balığı morfolojik olarak ayırt etmek kolaylaşmıştır. Su sıcaklığının artması ile birlikte hastalık taşıyan balıklarda belirtiler artmıştır. Laboratuvar çalışmaların da da suların ısınması ile birlikte *Y.ruckeri* varlığı tespit sayısı artmıştır. Özellikle su sıcaklıklarının arttığı Haziran, Temmuz aylarında daha yüksek oranda izole edilmiştir. Bu durum sıcaklık artışı ile hastalığın görülme sıklığı arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. Scallan (1983), yaptığı çalışmada, *Yersinia ruckeri* salgınlarının su sıcaklıklarının arttığı dönemde arttığını belirtmiştir.

Alınan numunelerin birçoğunda, yüzgeçler, ağız, göz, operkulum çevresinde kızarıklıklar, hemorojiler görülmüştür ve yapılan analizleri sonucunda *Yersinia ruckeri* tespiti yapılmıştır. Bu durum, Yersiniozis çeşitli doku ve organlarda hemorajik zonların oluşması ile karakterize bir hastalıktır ve hastalık genel hemorojik septisemi bulgularıyla seyrederek. Özellikle çene etrafı, ağız boşluğu, yüzgeç tabanları ve anüste subkutan hemorojiler görülür (Bullock ve Snieszko, 1975; Fuhrman ve ark., 1983). Şeklindeki açıklamayı doğrulamaktadır.

Bazı çiftliklerden morfolojik belirti gösteren numune bulunamadığı için rastgele numune alınmıştır ancak analizi sonucunda *Yersinia ruckeri* teşhis edilmiştir. Bu durum, Diler ve ark. (1998), yaptıkları bir çalışmada Fethiye bölgesindeki bazı alabalık işletmelerinde hastalığa özgü klinik belirti göstermeyen balıkların iç organlarından *Yersinia ruckeri* izole etmişlerdir. Ayrıca Kılıç ve ark. (2007)'nin yaptıkları bir çalışmada da yersiniozis bakımından herhangi bir belirti göstermeyen balıklardan bakterinin izolasyonu gerçekleştirilmiştir, şeklindeki araştırmaları desteklemektedir.

Yersinia ruckeri'nin neden olduğu yersiniozis gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerde yüksek mortalite ile seyreden ve ciddi ekonomik kayıplara neden olan bir hastalıktır (Austin ve Austin, 1993). Özellikle yavru döneminde % 75'lara ulaşan mortaliteye neden olmaktadır (Tanrıkul, 1994).

Hastalığın ortaya çıkmasında strese neden olan ortamın organik kirliliği, ısı, yoğun stoklama, elle temas ve oksijen yetersizliği gibi faktörlerin rolü olduğu tespit edilmiştir (Bullock ve Snieszko, 1975). Yaptığımız araştırmada, aşırı derecede suyu bulanana, su

sıcaklığı artan, aşırı stoklanmış balık çiftliklerinde *Yersinia ruckeri* daha çok izole edilmiştir.

Stres şartlarına bağlı olarak değişmekle birlikte hastalık su ısısının aniden yükselmeye başladığı bahar aylarında ve genç balıklarda genellikle perakut ve akut, su ısısının düştüğü sonbahar aylarında ve 1 yaşındaki balıklarda ise kronik seyirlidir (Collins ve ark., 1996; Willumsen, 2006). Yaptığımız çalışmada özellikle bahar döneminde *Yersinia ruckeri* sebebiyle balık ölümlerinin artması bu çalışmayı desteklemektedir. Scallan (1983), bakteriyel salgınların hem su sıcaklıklarının artması hem de su sıcaklıklarındaki ani değişikliklerle balıkların strese girmesi sonucunda meydana geldiğini belirtmiştir.

Austin ve Austin (1993) ve Cabello (2006), izole edilen bakteriyel etkenlerin suyun normal mikroflorasında bulunabileceğini ancak başta mevsimlere bağlı olarak su sıcaklık değerlerinde meydana gelen ani değişiklikler ile hijyenik kusurlar, üretim alanında yoğun balık olması ve temiz bariyerlerinin olmaması gibi stresin artmasına yol açan durumlarda hastalıkların görülme sıklığının arttığını bildirmişlerdir.

Genelde bakteriyel enfeksiyon balıkların fizyolojik olarak stresli olduğu durumlar ile hijyen şartlarının kötü olduğu dönemlerde meydana gelir. Aşırı stoklama, düşük oksijen ve kötü işçilikten kaçınmak enfeksiyondan korunmanın en iyi yolları olarak bildirilmektedir (Aoki, 1999).

Bir su kaynağı üzerinde ve birbirine çok yakın mesafelerde kurulmuş olan balık çiftliklerinde olabilecek herhangi bir hastalık ya da zararlının çok kısa sürede aynı su kaynağı üzerinde tüm tesislerde görülebileceği, ayrıca bölgede bulunan çiftlikler arasında sürekli olarak yumurta, larva ve balık nakillerinin yapılması nedeniyle hastalığın yayılmasının oldukça kolaylaşabileceği düşünülmektedir.

Hastalığın bu bölgede bazı çiftliklerde görülmesine rağmen, daha yüksek seviyelerde ölümlerin görülmesi beklenirken, daha az sayıda balık ölümlerinin gerçekleşmesinin sebebi olarak, bölgenin ortalama rakımının yüksek olması, su sıcaklıklarının yıl boyu çok fazla değişiklik göstermemesi, oldukça düşük seviyelerde seyretmesi ve düşük stok yoğunluğunun olabileceği düşünülmektedir.

Numune toplanması sırasında yapılan görüşmelerde hastalık hakkında bölgedeki tüm üreticilerin az ya da çok bir bilgisinin olduğu tespit edilmiştir. Üreticiler çiftliklerinde

bugüne kadar yersiniozis nedeniyle çok büyük balık ölümleri ve ekonomik anlamda kayıplar yaşanmadığını, diğer çiftliklerde de bu hastalıkla ilgili olarak çok büyük oranda kayıpların yaşandığına dair şikayetler duymadıklarını ifade etmişlerdir.

Hastalığa karşı aşı ve aşı uygulamaları ile ilgili olarak bölgede yapılan görüşme ve tespitler sonucunda bazı çiftliklerde düzenli olarak aşılama yapıldığı anlaşılmıştır. Ancak son yıllarda mevsimlerdeki değişiklik, bölgeye çok sayıda yapılan göl ve göletlerin etkisiyle havaların eskisi kadar soğuk gitmemesi nedeniyle bu hastalık oranında sürekli olarak bir artış görüldüğü ve küçük işletmeler şeklinde faaliyet gösteren çiftlik sahiplerinin de konuya ilgi duymaya başladığı üreticiler tarafından ifade edilmiştir. İlaç uygulamalarında bir su ürünleri mühendisi ya da veteriner hekim tavsiyesi olmadan sadece başka üreticilerin tavsiyeleri ya da uygulamalarına göre hareket edildiği anlaşılmıştır. Genel anlamda çiftliklerde bilinçsizce antibiyotik uygulanmakta olduğu görülmüştür.

Kültür balıkçılığında bakteriyel hastalıkların sağaltımı veya kontrol altında tutulmasının temelinde iyi bir bakımın yattığı vurgulanmakla birlikte aşılama ve immun sistemi uyarıcı ilaç uygulamalarının da kullanılabileceği ifade edilmektedir. Ancak stres, su kirliliği ve beslenme yetersizliği gibi çeşitli nedenlerle ortaya çıkan hastalıklarla etkin bir şekilde mücadele sınırlı da olsa antibakteriyel ilaç uygulamalarının göz ardı edilemeyeceği belirtilmektedir (Burhan ve ark., 1996; Kum ve ark., 2004).

Antibakteriyel ilaçlar; insan, hayvan ve bitki enfeksiyonlarının kontrol ve önlenmesi için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Fakat birçok çalışma, bu bakteriyel ilaçların aşırı kullanılmasının dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına neden olduğunu göstermektedir (Cabello, 2006).

Tesis çalışanlarının genel anlamda sterilizasyona önem vermedikleri, tesislerin genel anlamda kontrol havuzları kullanmadıkları anlaşılmıştır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan bu araştırmada Kahramanmaraş ilinde bulunan 16 farklı gökkuşağı alabalığı yetiştiricilik tesisinden *Yersinia ruckeri* şüpheli 5-200 gram arası numuneler alınmıştır. Değişik zamanlarda ve değişik miktarlarda numune alınan 16 işletmeden, 2. işletme, 4. işletme, 8. işletme, 9. işletme, 12. işletme, 14. işletme ve 15. işletmeler olmak üzere toplam 7 farklı işletmede *Yersinia ruckeri* izole edilmiştir. Toplam 115 örnek incelenmiştir. *Yersinia ruckeri*'nin klasik kültür yöntemleriyle izolasyonu ve identifikasyonunu gerçekleştirmek için çalışmalar yapılmıştır. Sonra da Biolog (The biolog GENIII micro plate) cihazı ile biyokimyasal testler doğrulanmış ve diğer fenotipik özellikler belirlenmiştir. 94 fenotipik test başarılı bir şekilde yapılmıştır. PCR' da DNA çalışması yapılarak kesin teşhis konulmuştur. Moleküler olarak 14 örnekte *Yersinia ruckeri* izole edilmiştir. En son olarak ise; bölgede tespiti yapılan *Yersinia ruckeri*'nin antibiyotiklere karşı duyarlılığını ölçebilmek için antibiyogram testi yapılmıştır. Yapılan tüm bu çalışmalar sonucunda *Yersinia ruckeri*'nin fenotipik ve genotipik özellikleri ortaya çıkarılmıştır. Hastalıktan şüpheli balıkların morfolojik özelliklerine bakılarak kesin ve doğru teşhisi mümkün değildir. Bu nedenle yukarıda saymış olduğumuz analiz ve testler yapılmıştır.

Kahramanmaraş ilinde bazı gökkuşağı alabalık yetiştiricilik tesislerinde *Yersinia ruckeri* tespit edilmiştir. Bölgede *Yersinia ruckeri* izole edildiğinden, bölgede bulunan tüm tesislere *Yersinia ruckeri*'nin (kızıl ağız hastalığı) bulaşma riski de vardır.

Bölge dağlık ve ortalama rakımı yüksektir. Genel olarak görülmüştür ki, su sıcaklığı 9-10 ve üzeri derecelerde hastalık belirtileri ve hastalık sayısında artış görülmüştür. Takibi yapılan bölgede genel olarak, nisan ayında su sıcaklığı henüz 9-10 dereceye ulaşmamıştır. Mayıs ayından itibaren su sıcaklıklarının artması ile birlikte *Yersinia ruckeri* izolasyonu artmıştır. Sıcaklıkların kış yaklaşırken tekrar düşmesi ile birlikte *Yersinia ruckeri* izolasyonu sayısında bir azalma olmuştur.

Bölgede bulunan alabalık tesisleri, birbirlerinden yavru balık ve porsiyonluk balık alışverişi yapmaktadırlar. Bu nedenle, işletmeler sterilizasyona gerekli önemi vermeli mutlaka kontrol havuzları kullanmalıdır.

Çalışma sonucunda hastalığın bölgede ekonomik anlamda büyük zararlar meydana getirmediği görülmüştür. Üreticilerin hastalıklara karşı ilaç uygulamaları konusunda tam

ve yeterli bilgiye sahip olmamalarının yanında bakteriyel patojenlerin zaman içinde antibakteriyellere karşı farklı duyarlılık düzeyleri geliştirdikleri göz önünde bulundurularak üreticilerin bilinçsiz ilaç uygulamalarından kaçınmaları sağlanmalıdır. Balık hastalık ve zararlılarına karşı kullanılan her türlü aşı, ilaç, hormon, dezenfektan ve kimyasalların satışı kontrol altına alınmalı, bilgisiz ve yetkisiz kişilerin çiftliklerde satış yapmaları engellenmelidir. Hastalık etkeni ve sus ları tam olarak tespit edilmeli, rastgele ilaç kullanmaktan kaçınılmalıdır.

İşletmeler, koruyucu olarak ve balıkların bağışıklık sistemini artırması için özellikle bahar dönemlerinde yemlere katılmak üzere Vitamin C ve Vitamin E kullanımı konusunda bilinçlendirilmelidir.

İşletme sahipleri ve çalışanları; kültürel önlemler, dezenfektan tedbirleri, hastalık belirtileri, numune seçme, numune taşıma, müracaat edeceği yerler hakkında bilgilendirilmeli ve eğitilmelidir.

İşletmelerde; önce kültürel önlemler alınmalı, aşı uygulamaları yapılmalı, hastalık bulaşmasını önleyecek dezenfektan tedbirleri alınmalıdır. Bunlara rağmen hastalık görülmüş ise önce hastalık tam olarak tespit edilmeli, antibiyotik duyarlılık testi yapılmalı ve hastalığa karşı ilaçlı mücadele başlatılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Alp, A., Büyükçapar, H.M., 2006. Kahramanmaraş'ta su ürünleri sektörünün gelişimi ve balıkçılığa uygun su kaynakları. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, *Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9, (1), 104-109.
- Altun, S., 2001. *Yersinia ruckeri* şuslarının bazı antijen ve fenotipik özelliklerinin belirlenmesi. Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta. 105s.
- Altun, S., Diler Ö., 1999. *Yersinia ruckeri* ile infekte edilmiş gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) hematolojik incelemeler. *Tr.J.of Veterinary and Animal Sciences*, 23, 301–309.
- Altun, S., Diler, Ö., 1996. *Yersinia ruckeri* ile infekte edilmiş gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) hematolojik incelemeler. *Tr.J.of Veterinary and Animal Sciences*, 23, 301–309.
- Altun, S., Kubilay, A., Diler, Ö., 2010. *Yersinia ruckeri* suslarının fenotipik ve serolojik özelliklerinin incelenmesi. *Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dergisi*, Makale. Makale kodu:KVFD-2009-1386.
- Alvarez, J.D., Austin, B., Conroy, D.A., 1992. First outbreak of Enteric redmouth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) cultured in Venezuela, *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol*, 12, 189–190.
- Anderson, D.P., 1974. Fish Immunology. T.F.h. Publications Inc. Ltd., USA, 239s.
- Anonim, 2000. Performance Standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 5th Informational Supplement, M100-S5, Volume 14, No:16, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA.
- Anonim, 2001. Performance Standards for Antimicrobial disk susceptibility tests, 5th Edition, Approved Standard, M2-A5, Volume 13, No:24, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA.
- Anonim, 2008. Biolog Gen III Microplate Instruction for Use.
- Anonim., 2015. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü, İstatistikler, Su Ürünleri İstatistikleri, (erişim tarihi: 15.01.2015) <http://www.tarim.gov.tr/BSGM/Sayfalar/BirimDetay.aspx?>
- Aoki, T., 1999. *Motile aeromonads (Aeromonas hydrophila)*. Fish Diseases and Disorders, volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections (eds P.T.K. Woo and D.W.Bruno), Cab International, 427–453.
- Arda, M., 1995. Biyoteknoloji, (Bazı Temel İlkeler), Kükem Derneği Bilimsel Yayınlar No:3, Armoni Ltd. Şti., Ankara.
- Arda, M., 2000. Temel Mikrobiyoloji; "Genişletilmiş İkinci Baskı.. Medisan Yayın Serisi No 46. Ankara".
- Arda, M., Seçer, S., Sarıyüpoğlu, M., 2002. Balık Hastalıkları. Medisan Yayın Serisi, Ankara. 56, 60–61.
- Arda, M., Seçer, S., ve Sarıyüpoğlu, M., 2005. Balık Hastalıkları. Medisan Yayın serisi: 61, II. Baskı Ankara 230s.

- Arı, Ş., 1999. DNA' nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) İle Çoğaltılması, Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, ed.: Temizkan, G, Arda, M, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul Üniversitesi Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama.
- Ateşoğlu, A., 1999. Gökkuşığı alabalıklarından *Yersinia ruckeri* izolasyonu, identifikasyonu ve dokularda indirekt floresan antikor (IFA) testiyle antijen aranması. *Pendik Vet. Mikrobiyol Dergisi*. 30, (2), 43-53.
- Austin, B., Austin D.A., 1993. Bacterial fish pathogens disease in farmed and wild Fish. Second Edition. Ellis Norwood Ltd. Kingland, 208-227.
- Austin, B., Green, M., Rodgers, C.J., 1982. Morphological diversity among strain of *Yersinia ruckeri*, *Aquaculture*, 27, 73-78.
- Aydın, F., Yıldız, H., 1993. Su ürünleri sağlığı. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası Su Ürünleri Sempozyumu, Dünya Gıda Günü, 14-15 Ekim, Ankara. 88-89.
- Baker, C.N., Stocker, S.A., Culver, D.M., 1991. Comparison of E-test to agar dilution, broth microdilution and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria. *J Clin Microbiol*;29:533-538.
- Balta, F., 2006. Kültürü yapılan Gökkuşığı alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*) izole edilen *Yersinia ruckeri*'nin identifikasyonunda Apı 20E Testinin kullanılabilirliği. Doktora Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Rize Su Ürünleri Fakültesi, Rize. 437s.
- Bauer, AU., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Track M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method, *Journal Clinical Pathology*, 45, 493-494.
- Bej, A.K., Mahbubani, M.H., Atlas, R.M., 1991. Amplification of Nucleic Acids by Polymerase Chain Reaction (PZR) and Other Method and Their Applications. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 26, 301-34.
- Bilgehan, H., 1995. Klinik Mikrobiyolojik Tanı, 2. Baskı, Fakülteler Kitapevi Barış Yayınları, Ankara, 641-705s.
- Bochner, B.R., 1989a. Sleuthing out Bacterial Identities. *Nature* 339, 157-158.
- Bochner, B.R., 1989b. "Breathprints" at the Microbial Level. *ASM News* 55, 536-539.
- Bullock, G.L., 1989. Enteric Redmouth Disease. Fish Health Bulletin 4. department of the Interior U.S. *Fish and Wildlife Service*.3,
- Bullock, G.L., Anderson D.P., 1984. Immunization Against *Yersinia ruckeri*, Cause and Enteric Redmouth Disease. (Symposium on fish Vaccination. Theoretical Background and Practical Results on Immunization Against Infectious Diseases). 20-22 February, O.T.E. PARIS. 66-151.
- Bullock, G.L., Cipriano, R.C., 1990. Enteric Redmouth Disease in Salmonids. United States Department of the Interior Fish and Wild life service, fish disease Leaflet 67, 4.
- Bullock, G.L., Snieszko, S.F., 1975. Enteric redmouth disease of salmonids, Fish Dis. Leaflet, sayı 42, 1-7s.
- Bullock, G.L., Stuckey, H.M, Shotts, E.B., 1977. Early Records of North American and australian outbreaks of enteric redmouth bacterium. *Fish Health. News*, 6, 96-97.

- Bullock, G.L., Stuckey, H.M., Herman, R.L., 1976. Comparative susceptibility of Atlantic salmon (*Salmo salar*) to the enteric redmouth bacterium and *Aeromonas salmonicida*, *J. Wildl. Dis.* 12, 376–379.
- Bullock, G.L., Stuckey, H.M., Shotts, E.B., 1978. Enteric redmouth bacterium comparison of isolates from different geographic areas, *J. Fish Dis.* 1, 351–356.
- Burhan, E., Akalin, N., Yılmaz, H., 1996. Balık sağlığı, çevre ilişkisi ve stres mekanizması. *Bornova Vet. Kont. Araşt. Enst. Dergisi. Sayı 20*, 173–188.
- Busch, R. A., Lingg, A., 1975. Establishment of an asymptomatic carrier state infection of enteric redmouth disease in rainbow trout. *J. Fish. Res. Bd Can.* 32, 242-243.
- Busch, R.A., 1982. Enteric Redmouth Disease. Symposium International de Talloires. 10-12 May., 1982, Les Antigenes des Micro-organismes Pathogenes des Poissons. *Collection Fondation Marcel merieux.* 201-24.
- Cabello, FC., 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health for the environment, *Environ. Microbiol.* 8 (7), 1137–1144.
- Cengizler, İ., 2000. Balık Hastalıkları Ders Kitabı. Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 7, Adana, 17s.
- Collins, R.O., Foster, G., Ross, HM., 1996. Isolation of *Yersinia ruckeri* from otter and salmonid fish from adjacent fresh water catchments, *Vet. Rec.* 139 (7), 169.
- Coote, U.G., 1990. Amplification of Nucleic Acids by the Polymerase Chain Reaction. *Article*, 57-59.
- Cossarini, D.M., 1986. Protection against enteric redmouth disease in rainbow trout, *salmo gairdneri* Richardson after vaccination with *Yersinia ruckeri* bacterin, *J. Fish Dis.* 9, 27–33.
- Cowan, S.T., 1974. Manual for The Identification of Medical Bacteria, University Printing House, Cambridge, 238s.
- Çağırğan, H., Tanrıkul, T.T., Toksen, E., 1996. Balık hastalıklarından korunmada genel hijyenik tedbirler. *Bornova Vet. Kont. Araşt. Enst. Derg. Sayı 20*, 39–55.
- Çağırğan, H., Yürekli Türk, O., 1991. First isolation of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout farm in Turkey, In: The Fifth Conference of EAFP, Disease of Fish and Shellfish, 24–29 August 1991, Book of Abstract, 131.
- Davies, RI., Frerichs GN., 1989. Morphological and biochemical differences among isolates of *Yersinia ruckeri* obtained from wide geographical areas. *J. Fish Dis*, 12, 357-365.
- Demirtaş Tıravoğlu, Y., 2006. Gökkuşluğu alabalıklarında enterik kızılbaş hastalığına karşı *Yersinia ruckeri* serotip 1 ve saha suşlarında hazırlanan monovalan ve polivalan aşuların bağışıklık güçlerinin karşılaştırmalı incelemeleri. Doktora Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın. 84s.
- Diler, Ö., 2004. Balık Hastalıkları. Süleyman Demirel Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Eğirdir.

- Diler, Ö., Demirkan, T., Altun, S., Tural, F., 1998. Fethiye bölgesindeki bazı alabalık işletmelerinde yersiniozisin mevsimsel dağılımı üzerine bir araştırma. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, III. Su Ürünleri Sempozyumu. 207-220.
- Diler, Ö., Ekici, S., 2003. Farklı Tuzluluk ve Ph Değerlerinin *Yersinia ruckeri* Susularının Büyüme Oranı Üzerine Etkisi. S.D.Ü. *Eğridir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*. Sayı 1, 63-70.
- Ellis, A.E., 1988. Vaccination against enteric redmouth (ERM). In: Ellis, A.E. (ed) Fish vaccination, Academic Press, London, 85-92s.
- Emre, Y., Kürüm, V., 1998. Havuz ve Ağ Kafeslerde Alabalık Yetiştiriciliği Teknikleri: Minpa Matbaacılık Tic. Ltd. Şti. Ulus-Ankara.
- Frerichs, G.N., Roberts R.J., 1989. The bacteriology of Teleosts. In: Fish pathology (ROBERTS, R.J. ed.) Second Edition. Bailliere Tindall, London 289-320.
- Frerichs, G.N., Steward, J.A., Collins, R.O., 1985. Atypical infection of rainbow trout, *salmo gairdneri* Richardson, with *Yersinia ruckeri*, *J. Fish Dis.*8, 383-387.
- Fuhrman, H., Böhm, K.M., Schletfeld, H.C., 1983. An outbreak of enteric redmouth disease in West Germany, *J.Fish Dis.* 6, 309-311.
- Furones, M.D., 2001. Sampling for antimicrobial sensitivity testing: a practical consideration, *Aquaculture*, 196: 303-309. Gall, G.A.E., De Groot, S.j., 1990. Taxonomic names for northern pasific trout species editorial, 86,1.
- Gelev, I., Khvoinev, A., Dimitrov, K.h., Strashimirova, N., 1984. Hemorrhagic septicemia in rainbow trout due to *Yersinia ruckeri* sp. nov. *Vet. Med. Nauki* 21 (6), 84-90.
- Gibello, A., Blanco, M.M., Morena, M.A., Cutuli, M.T., Domenench, A., Dominguez, L., Fernandez-Garayzabal, J.F., 1999. Development of a PCR assay for detection of *Yersinia ruckeri* in tissues of inoculated and naturally infected trout. *Appl. Environ Microbiol* 65, 346-350.
- Gülay, Z., 1999. Antimikrobiyal ilaçlara direnç. In: Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö, (editörler). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara. Güneş Kitabevi. 91-108.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H., Stanley, J.T., 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9 th. ed., U.S.A. 137-138.
- Horne, M.T., Barnes, A.C., 1999. Enteric redmouth disease (*Yersinia ruckeri*) , In: Woo PTK, Bruno DW (eds) *Fish diseases and disorders*, Vol. 3. Viral, bacterial and fungal infections. CABI Publishing, Wallingford, 455-477.
- Hunter, VA., Knittel, M.D., Fryer, J.L., 1980. Stress-induced transmission of *Yersinia ruckeri* infection from carriers to recipient steelhead trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). *Journal of Fish Diseases* 3, 467-472.
- İspir, Ü., 2001. Levamisol'ün Gökkuşığı alabalığının immun sistemine etkisinin araştırılması. Yüksek lisan tezi. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Elazığ. 44s.
- İspir, Ü., Şeker, E., Sarıyüpoğlu, M., 2004. *Yersinia ruckeri* ile infekte edilen gökkuşığı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) oluşan immunolojik değişimlerin araştırılması. *F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*. Sayı 16 (2), 393-400.

- Jorgensen, J.H., 1997. Laboratory issues in the detection and reporting of antibacterial resistance. *Infect Dis Clin North Am*; 11, 785–802.
- Karakaş, H.H., Türkoğlu, H., 2005. Su ürünlerinin dünyada ve Türkiye'deki durumu. *Harran Üniv. Zir. Fak. Dergisi*. Sayı 9 (3), 21.
- Karataş, S., Candan, A., Demircan, D., 2004. *Enteric redmouth disease* in cultured rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*) on the black sea coast of Turkey, *Israeli J. Aquacult.- Bamidgeh*, sayı 56 (3), 226–231.
- Kılıç, A., Şeker, E., Özcan, M., İspir, Ü., 2007. Elazığ'daki gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmelerinin bakteriyel yönden incelenmesi. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*. Sayı 19 (2), 129–132.
- Kocabatmaz, M., Ekingen, G., 1984. Değişik tür balıklarda kan örneği alınması ve hematolojik metotların standardizasyonu. *Doğa Dergisi, Veteriner ve Hayvancılık*. Sayı 8 (2), 149- 159.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C., 1997. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th Edition, Lippincott, Philadelphia. 689s.
- Kubilay, A. ve Timur, G., 1997. Gökkuşağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Yersinia ruckeri* Bakterisine Karşı Antikor Üretiminin Aglutinasyon Yöntemleriyle Tespiti Üzerine Bir Araştırma. IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, cilt II, Eğirdir/Isparta. 642-650.
- Kubilay, A., 1997. Gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) patojen bakteri *Yersinia ruckeri*'ye karşı antikor üretimi ve tespiti. Doktora Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Burdur. 118s.
- Kubilay, A., Diler, Ö., 1999. Gökkuşağı alabalıklarından izole edilen *Yersinia ruckeri* suşlarının serotiplerinin Lam Aglutinasyon testi ve tespiti. *Süleyman Demirel Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*. Sayı 6, 40-47.
- Kum, C., Gökbulut, C., Akar, F., Kırkan, S., Sekin, S., 2004. Gökkuşağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Enterococcus seriolicida* İzolasyonu ve Etkili Antibakteriyel Sağıltım Seçeneğinin Belirlenmesi, *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*. 75, 3, 47-53.
- Lalitha, M.K., 2004. Manual on Antimicrobial Susceptibility Testing Department of Microbiology Christian Medical College Vellore, Tamil Nadu 47s.
- Lelliott, R.A. ve Stead, D.E., 1987. Methods for Diagnosis of Bacterial Diseases Of Plants. Blackwell Scientific Publications, 216s.
- Lesel, R., Lesel, M., Gavini, F., Vuillaume, A., 1983. Outbreak of *enteric red mouth disease* in rainbow trout, *Salmo gairdneri richhardson*, in France. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 6, 385-7.
- Lucangeli, C., Morabito, A., Caprioli, A., Achene, L., Busani, L., Mazzolini, E., Fabris, A., Macri, A., 2000. Molecular fingerprinting of strains of *Yersinia ruckeri* serovar O1 and *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* isolated in Italy. *Veterinary Microbiology* 76, 273-281.
- Marx, J.L., 1988. Multiplying Genes by Leaps and Bounds. *Science*, 240, 1408-10.

- Mullis, K.B., 1990. The Unusual Origin of The Polymerase Chain Reaction. *Scientific American*, 262, 56-65.
- O'leary, P.J., Rohovec, J.S., Fryer, J.L., 1979. A further characterisation of *Yersinia ruckeri* (enteric redmouth bacterium). *Fish Pathol*, 14, 71-78.
- Özden, O., 2005. Ege Denizi'nde ağ kafes balık üretimine teknik yaklaşımlar. *Aqua Life of Turkey 'Suda Yaşam Dergisi'*, *Alsancak(Izmir)*. Sayı:5, 30-31.
- Plumb, J.A. and Browser, P.R., 1983. "Microbial Fish Disease Laboratory Manual " Brown Printing Company Montgomery, *First printing, Alabama*. 95s.
- Post, G., 1987. Textbook of Fish Health, T.F.H. Publications Inc., Neptune City, USA. 388s.
- Quirke, P., 1992. Molecular biology and infections of the Gut. *Gut*, 33, 1441-1443.
- Roberts, M.S., 1983. A report of an epizootic in hatchery reared rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson at an English trout from, caused by *Yersinia ruckeri*. *J. Fish. Dis.* 6, 551-552.
- Rodgers, C.F., 1991. The usage of vaccination and antimicrobial agents for control of *Yersinia ruckeri*, *J. Fish. Dis.* Sayı:14, 291-301.
- Rodgers, C.F., 1992. Development of a selective-differential medium for the isolation of *Yersinia ruckeri* and its application in epidemiological studies, *J. Fish Dis.* 15, 243-254.
- Ross, A.J., Rucker, R.R., Ewing, W.N., 1966. Description of a bacterium associated with remouth disease of rainbow trout. *Canadian journal of Microbiology*. 12, 763-70.
- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B., ve Erlich, H.A., 1988. Primer-Directed Enzymatic Amplification of DNA With a Thermostable DNA Polymerase. *Science* 239, 487-491.
- Sanders, E., Fryer, J.L. 1988. Bacteria of Fish . In: Methods in Aquatic Bacteriology, (Austin, B., ed.) John Wiley & Sons, Cichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, 115-170.
- Sands, D.C., 1990. Physiological criteria-determinate tests. In Methods in Phytobacteriology, ed: Klement, Z., Rhudolp, K., Sands, D.C., Academia Kiado, Budapest, Hungary.
- Savaşer, S., Diler, Ö., 1997. Enterik kızılbaş hastalığı etkeni *Yersinia ruckeri* suşlarının morfolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerinde bir araştırma. Akdeniz Balıkçılık Kongresi, 9-11 Nisan, İzmir. 391-405.
- Scallan, A., 1983. Investigations into symptomatic carriers of furunculosis, Ph.D Thesis, National University of Ireland, Dublin.
- Sparboe, O., Koren, C., Haastein, T., Poppe, T., Stenwig, H., 1986. The first isolation of *Yersinia ruckeri* from farmed Norwegian salmon, *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathologists*, 6 (2), 41-42.
- Stevenson, R. M. W., 1997. Immunization with bacterial antigen: yersiniosis, *Dev. Biol. Stand.* 90, 117-124.
- Stevenson, R. M. W., Daly, J. G., 1982. Biochemical and serological characteristic of Ontario isolates of *Yersinia ruckeri*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39, 870-876.

- Tanrıkul, T., Çağırğan, H. ve Tokşen, E., 1996. Bakteriyel balık hastalıkları. *Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi*, Bornova. 20, 105-127.
- Tanrıkul, T.T., 1994. Yersiniozis hastalığından korunmada aşı uygulamaları ve bu uygulamaların sonuçlarının değerlendirilmesi. Doktora tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Bornova(İzmir). 33s.
- Taylor, G.R., 1993. Polymerase Chain Reaction: Basic principles and automation. In PZR: A Practical Approach, Eds:McPherson, M.J., Quirke, P., Taylor, G.R. Oxford University Press, Oxford, 1-14.
- Tekelioğlu, N., Kumlu, M., Yanar, M., Erçen, Z., 2007. Türkiye’de su ürünleri üretimi sektörünün durumu ve sorunları, Ulusal Su Günleri Şurası, 16–18 Mayıs 2007, Ankara.
- Tıravoğlu, Demirtaş, Y., 2006. Gökkuşacağı alabalıklarında Enterik Kızılağız Hastalığına karşı *Yersinia ruckeri* serotip I ve saha suşlarından hazırlanan monovalan ve polivalan aşularının bağışıklık güçlerinin karşılaştırmalı incelenmeleri. Doktora tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.50s.
- Timur, G., 1985. Kültür balıklarında bakteriyel ve viral hastalıkların teşhis metodları ile koruma yöntemleri. Isparta Mühendislik Fakültesi matbaası II. Mühendislik haftası tebliğleri.23-26 Mayıs 1984. 250-257s.
- Timur, G., Timur, M., 1991. An Outbreak of Enteric redmouth disease in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 11, 182-183.
- Timur, M., 1983. İçsu balıklarının yetiştiriciliğinde hastalıklar, hijyen ve tedavi yöntemleri, İçsularda balık yetiştiriciliği ve sorunları semineri, Ankara. 8s.
- Türküstün, M.K., 2008. Balık çiftliklerine karşı aktivitelerin nedenleri. *Su Ürünleri Mühendisler Derneği Dergisi*, İstanbul. Sayı: 32.
- Willumsen, B., 2006. Birds and wild fish as potential vectors of *Yersinia ruckeri*, *J. Fish Dis.* 12 (3), 275-277.
- Yonar, M.E., 2002. Sulfamerazinin gökkuşacağı alabalığının immun sistemine etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı, Elazığ. 38s.
- Yonar, M.E., 2008. *Yersinia ruckeri* ile enfekte edilen Gökkuşacağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nın tedavisinde propolisin kullanılması. Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ. 187s.

Ek 1. Gökkuşığı Alabalıklarından izole edilen *Yersinia ruckeri*'nin biolog sonuçları

Program MicroLog 3/5.2.01 33
 Project ML5
 File Name 23.05.2014.D5E
 User biolog
 Instrument MicroStation 2 Reader
 Instrument S/N 0
 Incubation Hours 18.00
 Plate Number 1
 Plate Type GEN III
 Protocol A

Örnek No Fatih Ka
 İzole edildiği yer Balık
 İzole eden Mikail ÖZCAN
 Tanımlayan Mustafa KÜSEK
 Tarih 23/05/2014

Date & Time of Read May 23 2014 9:18 AM
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2_6_1_08.I5G

Result	Species ID: <i>Yersinia ruckeri</i>
Comment	
Notice	

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.990	0.668	4.635	GN-Ent	<i>Yersinia ruckeri</i>
2	0.007	0.003	7.825	GN-Ent	<i>Edwardsiella ictaluri</i>
3	0.003	0.001	8.397	GN-Ent	<i>Leclercia adecarboxylata</i>
4	0.000	0.000	9.708	GN-Ent	<i>Yersinia kristensenii</i>

Key: <x: positive, x: negative, <x: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	86	{ 136	{ 150	< 166	89	81	76	{ 101	80	< 186	< 167	- 61
B	80	80	85	94	80	< 216	{ 148	< 152	< 174	{ 137	41	42
C	< 162	{ 146	< 164	{ 117	+ 95	98	87	79	{ 126	{ 151	43	56
D	{ 108	< 174	47	87	{ 134	{ 119	52	90	59	74	+ < 197	40
E	77	{ 112	{ 121	87	{ 121	{ 130	94	91	< 168	{ 123	{ 95	< 172
F	54	< 163	< 156	- < 155	{ 149	{ 129	83	88	88	< 162	< 197	< 198
G	82	{ 117	94	{ 149	{ 128	- 98	49	{ 144	{ 130	43	58	41
H	{ 110	78	55	87	32	{ 128	52	{ 115	48	53	60	72

Report Date May 23 2014 3:06 PM

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Mesut Recep GÖK
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 1973-Boyabat/Sinop
Medeni hali : Evli
Telefon : 0.530.561.54.22
Faks : -
e-posta : mesutsinop@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	KSÜ / Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü	2015
Lisans	19 Mayıs Üniv./ Su Ürünleri Müh. Bölümü	2007
Lise	Sinop Boyabat Lisesi	1991

İş Denevimi

Yıl	Yer	Görev
1999-Devam	Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Personeli	Su Ürünl.Müh

Yabancı Dil

İngilizce

Yayımlar

1. -

2.-

Hobiler

Balıkçılık, Yüzme, Futbol, Dalgıçlık