

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ELMA, NAR VE ÜZÜM SİRKESİNİN *Flavobacterium psychrophilum* BAKTERİYEL BALIK PATOJENİNE KARŞI *In vitro* ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTE VE BİYOFİLM OLUŞUMUNA ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Ahmet DURU

**Danışman
Prof. Dr. Ayşegül KUBİLAY**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANABİLİM DALI
ISPARTA – 2016**



© 2016 [AHMET DURU]

TEZ ONAYI

Ahmet Duru tarafından hazırlanan "**Elma, Nar ve Üzüm Sirkesinin *Flavobacterium psychrophilum* Bakteriyel Balık Patojenine Karşı *In vitro* Antibakteriyel Aktivite ve Biyofilm Oluşumuna Etkisinin İncelenmesi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman **Prof. Dr. Ayşegül KUBİLAY**

Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyesi **Prof. Dr. Soner ALTUN**

Uludağ Üniversitesi

Jüri Üyesi **Doç. Dr.Mehmet Rüştü ÖZEN**

Süleyman Demirel Üniversitesi

Enstitü Müdürü **Doç.Dr.Yasin TUNCER**

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Ahmet DURU

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
RESİM DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Hastalık Önemi	3
2. KAYNAK ÖZETLERİ	7
2.1. Sirke	7
2.1.1. Elma Sirkesi	9
2.1.2. Nar Sirkesi	9
2.1.3. Üzüm Sirkesi	10
2.2. <i>Flavobacterium psychrophilum</i>	10
2.3. Biyofilm	13
2.4. Antimikrobiyal Aktivite.....	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM.	14
3.1. Elma, Üzüm ve Nar Sirke Temini.....	14
3.2. Elma, Üzüm ve Nar Sirkesinin Kimyasal Özellikleri.....	14
3.3. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> 'un Antimikrobiyal Aktivitesi.....	15
3.3.1. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> Kullanılan Suşları.....	15
3.3.2. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> 'un Antibiyotik Duyarlılık Tesi	16
3.3.3. Elma, Nar ve Üzüm Sirkesinin <i>Flavobacterium psychrophilum</i> karşı Antibakteriyel Aktivitesinin Tespiti	17
3.4. Sirkelerin <i>Flavobacterium psychrophilum</i> 'a karşı Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)	17
3.5. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> Biyofilm Testi	18
3.6. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> Adezyon Testi	19
3.7. Sirkelerin <i>Flavobacterium psychrophilum</i> 'un Adezyon Oluşturmasına Etkisi.....	19
3.8. İstatistiksel Hesaplamalar.....	19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	20
4.1. Elma, Üzüm ve Nar Sirkesinin Kimyasal Özellikleri.	20
4.2. Antibiyotik Duyarlılık Testi	20
4.2.1. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> Patojenine Karşı Sirkelerin Antibakteriyel Aktivitelerinin Tespiti	24
4.3. Mikrodilüsyon Metodu.....	26
4.4. Biyofilm Testi	32
4.5. Adezyon Testi	35
4.6. Sirkelerin Adezyon Oluşturmasına Etkisi	36
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	37
6. KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	55

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ELMA, NAR VE ÜZÜM SİRKESİNİN *Flavobacterium psychrophilum* BAKTERİYEL BALIK PATOJENİNE KARŞI *In vitro* ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTE VE BİYOFİLM OLUŞUMUNA ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Ahmet DURU

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Yetiştiriciliği

Danışman: Prof. Dr. Ayşegül KUBİLAY

Geleneksel olarak elde edilen üzüm, elma ve nar sirkesinin gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kuluçkahanelerinde büyük bir problem oluşturan *Flavobacterium psychrophilum* patojenine karşı antimikrobiyel aktivitesi ve sirkelerin biyofilm oluşturmaya etkileri incelenmiştir.

Çalışmada *F. psychrophilum*'a karşı yapılan antibiyotik duyarlılık testinde suşların, ampisilin, nalidiksik asit, oksalinik asit antibiyotiklerine karşı % 83.4 oranı ile duyarlı iken, tetrasiklin, nitrofurantoin, kanamisin, penisilin G antibiyotiklerine karşı %100 dirençli olduğu bulunmuştur. Sirkelerin antibakteriyel aktivitesinde; *F. psychrophilum* suşlarına karşı en etkili üzüm (55 mm) bunu takiben nar (54 mm) ve elma (50 mm) sirkeleri bulunmuştur. Yapılan adezyon ve biyofilm testlerinde *F. psychrophilum*'un adezyon kabiliyetinin çok iyi olduğu tespit edilmiştir. Sirkelerin adezyon oluşumuna etkisi incelenmiş olup tüm sirkelerin adezyon oluşumunu engellediği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, doğal bir madde olan sirkelerin *F. psychrophilum* için iyi bir antibakteriyel aktivite oluşturduğu ve adezyon oluşumunu engellediği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Üzüm sirkesi, nar sirkesi, elma sirkesi, *Flavobacterium psychrophilum*, *Oncorhynchus mykiss*, antibakteriyel aktivite, biyofilm, adezyon

2016, 56 Sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

INVESTIGATION THE EFFECT OF APPLE, POMEGRANATE AND GRAPE VINEGAR ON THE *In vitro* ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND BIOFILM FORMATION AGAINST *Flavobacterium psychrophilum* BACTERIAL FISH PATHOGEN

Ahmet DURU

Süleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Aquaculture

Supervisor: Prof. Dr. Ayşegül KUBİLAY

This study was carried out to examine the antimicrobial activity of the traditional grape, apple and pomegranate vinegar against the pathogen of *Flavobacterium psychrophilum*, which constitute a major problem in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hatcheries, and effects on biofilm forming of vinegars.

It has been found that strains are sensitive to ampicillin, nalidixic acid, Oxalanic acid antibiotics with a rate of 83.4%, also they are resistant against Tetracycline, nitrofurantoin, kanamycin, penicillin G antibiotics with a rate of 100 % in the study of antibiotic susceptibility testing against *F. psychrophilum*. It has been found that grape is the most effective in the antibacterial activity of vinegars against strains of *F. psychrophilum*, then pomegranate and apple vinegar, respectively (55 mm, 54 mm, 50 mm). It has been identified that *F. psychrophilum* has very good adhesion capability in adhesion and biofilm tests. Vinegar has been examined the effect on adhesion formation, and then it has been identified that all vinegars inhibit the adhesion formation.

As a result, vinegars which are a natural substance have a good antibacterial activity for *F. psychrophilum*. Vinegars also inhibit the adhesion formation.

Keywords: Grape vinegar, pomegranate vinegar, apple vinegar, *Flavobacterium psychrophilum*, *Oncorhynchus mykiss*, antibacterial activity, biofilm, adhesion

2016, 56 page

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında bilgi ve deneyimlerini hiçbir zaman esirgemeyen, teknik ve manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli danışman hocam Prof. Dr. Ayşegül KUBİLAY'a, ayrıca öğrenimim süresince bilgi ve görüşleri ile beni aydınlatan, bana yol gösteren Eğirdir Su Ürünleri Fakültesinin değerli öğretim üyelerine teşekkürü bir borç bilirim. *Flavobacterium psychrophilum* suşlarının temininde yardımcı olan Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Soner ALTUN'a teşekkürü bir borç bilirim. Son olarak maddi ve manevi tüm desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, varlıkları ile beni cesaretlendiren babam Satılmış, annem Sathime, ablam Pınar ve kız arkadaşım Duygu'ya tüm kalbimle teşekkür ederim.

Ahmet DURU
ISPARTA, 2016

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Su Ürünleri Kaynaklı Zoonotik Hastalıklar Ve Toksinler.....	3
Çizelge 1.2. Kültür Balıkçılığında Başlıca Kullanılan Antibiyotik, Antiparaziter Ve Dezenfektanlar.....	4
Çizelge 2.1. Farklı Sirkelerdeki Fenolik Bileşikler.....	9
Çizelge 3.1. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> Suşları.....	16
Çizelge 4.1. Elma, Üzüm ve Nar Sirkesinin Ph ve Asit Değeri	20
Çizelge 4.2. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> suşlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi	21
Çizelge 4.3. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> Suşları İçin Uygulanan Antibiyotik Disklerinden Elde Edilen Zon Çapları İçin Varyans Analizi Sonuçları	22
Çizelge 4.4. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> Antibiyotik Diskleri Duyarlı ve Dirençleri.....	23
Çizelge 4.5. İzole Edilen <i>F. psychrophilum</i> Suşlarının (n=6) Disk Difüzyon Metoduyla Antimikrobiyal Ajanlara Karşı Belirlenen Duyarlılık ve Dirençlilik Durumları	23
Çizelge 4.6. Üzüm Sirkesinin Zon Çapları (mm)	25
Çizelge 4.7. Nar Sirkesinin Zon Çapları (mm)	25
Çizelge 4.8. Elma Sirkesinin Zon Çapları (mm)	26
Çizelge 4.9. Üzüm Sirkesinin MİK Değerleri İçin Varyans Analizi Sonuçları..	27
Çizelge 4.10. Üzüm Sirkesinin 3.Gün MİK Değerleri	28
Çizelge 4.11. Gölkentten Alınan Elma Sirkesinin MİK Değerleri İçin Varyans Analizi Sonuçları.....	29
Çizelge 4.12. Elma Sirkesinin 3.Gün MİK Değerleri	29
Çizelge 4.13. Nar Sirkesinin 3.Gün MİK Değerleri.....	29
Çizelge 4.14. Nar Sirkesinin 3.Gün MİK Değerleri	30
Çizelge 4.15. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> Biyofilmi İçin Varyans Analizi Sonuçları	31
Çizelge 4.17. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> Biyofilm Değerleri	32
Çizelge 4.18. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> Adezyon Testi İçin Varyans Analizi Sonuçları.....	34
Çizelge 4.20. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> Adezyon Değerleri.....	34
Çizelge 4.21. Sirkelerin Adezyon Oluşumu Üzerinde Etkisi.....	35
Çizelge 4.22. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> adezyon testi için varyans analizi Sonuçları	35
Çizelge 4.23. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> adezyon değerleri.....	36
Çizelge 4.24. Sirkelerin adezyon oluşumu üzerine etkisi	36

ŞEKİL DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Balıklarda Hastalık Nedenleri.....	2
Şekil 3.1. Tryptone yeast extracts Agar'da <i>F. psychrophilum</i> Suşu.....	15
Şekil 3.2. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> TYES Agar'da Koloni Sayımı.....	16
Şekil 4.1. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> 'un Antibiyotik Duyarlılık Testi	21
Şekil 4.2. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> Patojenine Karşı Sirkelerin Antibakteriyel Aktivitesi.....	24
Şekil 4.3. Sirkelerin %1, %2,5, %5, %7,5 ve %10 Oranlarında Dilüsyonları İle Antibakteriyel Aktivite	25
Şekil 4.4. Sirkelerin <i>Flavobacterium psychrophilum</i> 'a Karşı Mikrodilüsyon Metodu	26
Şekil 4.5. Üzüm Sirkesinin MİK Değerleri.....	28
Şekil 4.6. Elma Sirkesinin MİK Değerleri	30
Şekil 4.7. Nar Sirkesinin MİK Değerleri	32
Şekil 4.8. Kristal Viyole İle Boyanmış Plaklarda Biyofilm Oluşumu	33
Şekil 4.9. Kristal Viyole İle Boyanmış Çukurlarda Biyofilm Oluşumu	33
Şekil 4.10. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> Çukurlarda Adezyon Oluşumu.....	35
Şekil 4.11. Sirkelerin adezyon oluşuma engel olması.....	36

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FFC	Florfenikol
R	Dirençli
S	Duyarlı
μ l	Mikrolitre
μ m	Mikrometre



1.GİRİŞ

Tarih boyunca insanlar yaşam alanlarını, genellikle su kaynaklarına yakın bölgelere kurmuştur. Kıyılar ve denizler, tüm canlıların kullanımları için önemli doğal kaynaklardır. İnsanlar, eski yıllardan günümüze bu kaynaklara sahip olmak ve onları kontrol altına almak için çaba göstermektedirler. Üç tarafı denizlerle çevrili, 8333 km deniz kıyı şeridine sahip bir yarımada olan ülkemiz, su ürünleri avcılığı ve yetiştiriciliğinde oldukça yüksek bir potansiyele sahiptir. 2015 yılı içerisinde 397.731 ton deniz ürünleri, 240.334 ton yetiştiricilik üretimi, 36.134 ton tatlı su ürünleri elde edilmiştir. Üretimin % 59.16'sını deniz balıkları, % 35.75'ini yetiştiricilik ürünleri oluştururken yalnızca % 5.09'unu iç su ürünleri oluşturmaktadır (TUİK, 2015). İnsanlar günlük diyetlerinde önemli miktarlarda hayvansal protein tüketmek zorundadır. Vücudumuzun ihtiyacı olan hayvansal protein gereksinimini daha ucuz ve bitkisel besinlere göre daha zengin protein şeklinde karşılayan su ürünleri, besin endüstrisinin önemli bir sektörünü oluşturur (Dağtekin vd., 2007). Balık proteinleri vücut dokularının korunması ve gelişmesi için gerekli tüm aminoasitleri içermektedir.

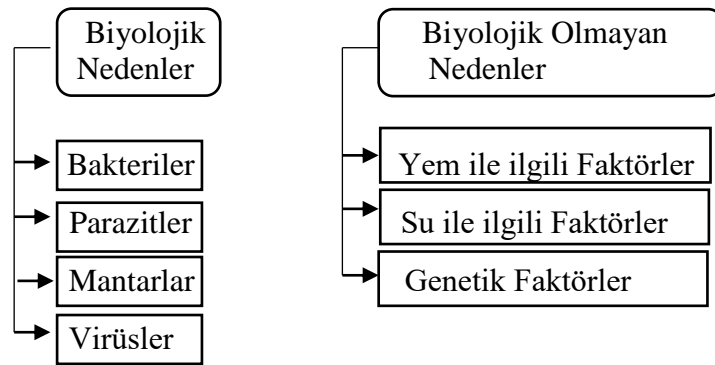
Balıklardaki yağ asitlerinin migren türü baş ağrılarına, eklem, tansiyon, kalp damar hastalıklarına ve bazı alerjenlere karşı vücudu koruduğu bildirilmektedir. Balıklarda insanlar için gerekli olan en az 13 vitamin bulunmaktadır (Turan vd., 2006).

Günümüzde, artan nüfus ve sağlıklı beslenme ihtiyacı nedeniyle gerek dünyada gerekse Türkiye'de su canlılarına olan ilgi ve ihtiyaç her geçen gün artmaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliği dünyada hala en hızlı büyüyen gıda üretim sektörüdür (Boran, 2009). Entansif balık yetiştiriciliğinde artan üretime paralel olarak hastalık problemleri sıklıkla yaşanmaktadır. Yüksek stoklama yoğunluğu, su kalitesindeki değişimler bakteriyel hastalıkların yaygın olarak görülmesine sebebiyet vermektedir. Sonuç olarak, yetiştiriciliği yapılan balıklarda büyümenin yavaşlaması ve ölümlerinin görülmesi büyük ekonomik kayıplara neden olabilmektedir (Bjorklund ve Bylund, 1990). Bu nedenle balık yetiştiriciliğinde hastalıklar oluşmadan etkin koruma yöntemlerinin belirlenmesi ve geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Balık hastalıklarının tedavisinde kullanılan bazı antimikrobiyal maddeler, hem su hem de balıkta kalıntıya (rezidü) neden olabilmektedir. Ayrıca bazı balık patojenlerinde bulunan direnç genlerinin insanlarda patojen olduğu bilinen bakterilere aktarabildikleri ve bu yüzden bazı antibiyotiklerin insan sağlığı için oldukça zararlı olduğu tespit edilmiş ve su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanımları sınırlandırılmıştır (Schnick vd., 1997; Daly 1999). Bu nedenlerle, son yıllarda yapılan çalışmalarda su ürünleri yetiştiriciliğinde balıkları sağlıklı tutmak amacıyla özellikle doğal maddelerin kullanımına dikkat çekilmektedir (Sivaram vd., 2004).

Organik su canlıları yetiştiriciliği konusundaki çalışmalar Avrupa'da 1990'lı yılların ortalarında başlamıştır. Organik su canlıları ile ilgili resmi istatistik bulunmamaktadır. Ancak 2005 yılında yaklaşık 25.000 tonluk bir üretimin gerçekleştiği bildirilmektedir. Organik bitkisel üretimdeki kural ve standartların organik balık yetiştiriciliğinde de uygulanmasının zorluğu sebebiyle daha yavaş bir seyirle gelişmektedir. Şimdiye kadar somon, karides, sazan ve alabalık organik olarak yetiştirilen önemli türlerdir (Harms vd., 2003).

Balıklarda ilaç kullanımını gerektirebilecek hastalık nedenleri ise Şekil 1.1'de gösterildiği gibi sınıflandırılabilir (Arda vd., 2005, Timur ve Timur, 2003).



Şekil 1.1. Balıklarda hastalık nedenleri
(Türk ve Oğuz, 2013)

Su canlılarından insanlara geçen zoonotik hastalıklar istiridyeye, midye gibi deniz canlıları ya da balıkların az pişmiş veya çiğ olarak tüketilmeleri ile bulaşmaktadır. İnsanlarda hastalık yaptığı bildirilen veya enfeksiyon oluşturabilme potansiyeline

sahip su ürünleri orijinli zoonotik hastalıklar ve toksinler ise Çizelge 1.1’de verilmiştir (Talat vd., 1997).

Çizelge 1.1. Su ürünleri orijinli zoonotik hastalıklar ve toksinler (Talat vd., 1997).

Gram-Negatif Bakteri Türleri	Vibrio türleri Aeromonas türleri Photobacterium domsalae subsp. damsaliae Plestomonas shigelloides Pseudomonas türleri Salmonella türleri Klebsiella türleri Edwardsiella tarda <i>Hafniaalvet</i> Campylobacter türleri
Gram-Pozitif Bakteri Türleri	Clostridium türleri Listeria türleri Mycobacterium türleri Erysipelothrix türleri Streptococcus siniae
Parazitler	Anisakiasis türleri Diphyllobothrium türleri Capillaria philippinensis
Virüsler	Poxvirus
Mantarlar	Balık mantarları ile ilgili insan enfeksiyonları bildirilmemiştir
Toksinler	Histamin balık zehirlenmesi Ciguatera zehirlenmesi Paralitik kabuklu zehirlenmesi

1.1. Hastalıklar Önemi

- Ekonomik kayıplara neden olmakta
- İhracatı olumsuz yönde etkilemekte
- İlaç masrafları maliyeti artırmakta
- Bilinçsiz kullanılan ilaçlar; Rezidü sorunu yaratmakta
- Çevre kirliliği oluşturmakta
- Bakteriyel direnci artırmakta
- İş ve zaman kaybına yol açmaktadır.

Ülkemiz önemli kültür balıkçılığı potansiyeline sahip olmakla birlikte kültür balıkçılığında çok sayıda balığın bir arada ve yakın temas halinde bulunması nedeniyle doğada serbest yaşayanlara oranla, daha fazla hastalık görülme riski

taşımaktadır (Arda vd., 2005). Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de kültür balığı yetiştiriciliğinde hem havuz ve yetiştiricilikte kullanılan ekipmanları dezenfekte etmek hem de paraziter, fungal ve bakteriyel hastalıklarla mücadele etmek için çok çeşitli ilaçlar kullanılmaktadır (Çizelge 1.2) (Prearo vd., 2004).

Çizelge 1.2. Kültür Balıkçılığında Başlıca Kullanılan Antibiyotik, Antiparaziter ve Dezenfektanlar (Prearo vd., 2004).

Antibiyotikler	Antiparaziter İlaçlar	Dezenfeksiyon maddeleri
Basitrasin	Akinitrazol	Baylusit
Kloromfenikol*	Amonyum hidroksit	Zephirol
Klortetrasiklin	Atebrin	Kloramain T
Doksisiklin	Dyloks*	Formol
Eritromisin	Bakır sülfat	Fenoller ve fenol derivatları
Furaldaton*	Bazik brilant yeşili	Iodofor
Furazolidon*	Triklorfon*	Kalsiyum siyanamid
Ronidazol*	Enheptin	Klorlu kireç
Griseofulvin	Di-n-butyl çinkooksit	Potasyum permanganat
Kanamisin	Gabbrokol	Sodyum hidroksit
Neomisin	Kollargol	Sodyum pentaklorfenalat
Nitrofarazon*	Lysol	Sönmemiş kireç
Oleandomisin	Malaşit yeşili*	Sönmüş kireç
Oksitetrasiklin	Metilen mavisi	Sodyum hipoklorit
Polimiksin	Metrifonat	
Sulfadiazin	Niklosamid	
Sulfamerazin	Piavetrin	
Sulfanilamid	Potasyum permanganat	
Sulfasol	Rivanol	
Streptomisin	Salisilik asit	
Tiamfenikol*	Dimetridazole*	
Dapsone*	Trypaflavin	

*Gıda değeri olan hayvanlara uygulanması yasaklanan veteriner ilaç etkin maddeleridir

Yenilebilir balıklarda kullanılan antibiyotik sayısı ve çeşitliliği son yıllarda oldukça sınırlandırılmıştır. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) balıklarda sadece sulfamerazin, oksitetrasiklin dihidrat, sulfadimetoksin-ormetoprim ve florfenikolün (FFC) yasal kullanımına izin vermektedir (Floyd, 2011). Bazı Avrupa Birliği (AB) ülkelerinde florfenikol, sulfadiazin+trimetoprim, oksitetrasiklin, amoksisilin, aksolinik asit, sarofloksasin, flumekuın su ürünlerinde kullanım için lisanslıdır (Wallace, 1979). Türkiye’de ise florfenikol, sulfadiazin+trimetoprim, oksitetrasiklin, amoksisilin, oksolinik asit, enrofloksasin etkin maddelerini kapsayan ruhsatlı 35 balık preparatı vardır (GTHB, 2013).

Antibakteriyel ilaçlara karşı mikroorganizmalarda gelişen direnç günümüzün küresel bir sağlık problemidir. Antibiyotiklerin bilinçsiz kullanımı bu süreci hızlandırmaktadır. Bir antibiyotiğe karşı duyarlılığını kaybetmiş bakteri veya bakteri topluluklarının, o antibiyotiğe yakın kimyasal yapıya veya benzer etki mekanizmasına sahip diğer antibiyotiklere karşıda dirençli olması durumu olarak bilinen "çapraz direnç" nedeni ile hayati önemdeki birçok antibiyotik grubu etkisiz ve kullanılamaz hale gelmektedir (Yavuz, 2015). Tedavi seçeneği sınırlı mikroorganizmalar arasında görülen çapraz direnç insanların sağlığını tehdit eder hale gelmiştir. Bugünkü boyutlarda antibiyotik kullanımı sebebiyle çapraz direncin tamamen önüne geçmek mümkün görünmemektedir. Ancak, antibiyotik kullanımının mümkün olduğunca azaltılması ve alternatif tedavi yöntemlerinin kullanılması geçmişten günümüze söylenegelen bir öneridir (Yavuz, 2015).

Bu çalışmada kolay elde edilmesi ve ucuz olması nedeni ile geleneksel olarak da kullandığımız önemli bir kümyasal madde olan sirkelerin antimikrobiyal aktivitesi çalışılmıştır. Sirke; tarım kökenli sıvılar veya diğer maddelerden, iki ayrı fermantasyonla (alkol ve asetik asit fermantasyonu) biyolojik yoldan üretilen, kendine özgü ürünlerdir. Sirkelerin kalitesini kimyasal bileşimleri belirlemekle birlikte, kalite hem hammaddeye hem de üretim yöntemine bağlıdır. Hammaddenin bileşimi sirkenin bileşimi üzerinde doğrudan etkilidir. Sirke kullanımı enfeksiyonlar ve diğer akut koşullar ile mücadelede modern tıbbın babası sayılan Hipokrata (MÖ 460-377) kadar uzanmaktadır (Diggs, 2000). Antimikrobiyal özelliklere sahip olan sirkedeki organik asitler ve asetik asit mikroorganizmanın hücre membranından geçerek bakteriyel hücrenin ölümüne, bakterisid etki göstermektedir (Chang ve Fang, 2007). Genellikle gıdalardaki patojenik mikroorganizmaların çoğalmasını engellemek amacıyla kullanılmaktadır (Rauha vd., 2000). Ayrıca temizlik amaçlı kullanılabilirdiği gibi tırnak mantarı, baş bitleri, siğiller ve kulak enfeksiyonları gibi sağlık problemlerinin giderilmesinde de etkilidir (Dohar, 2003). Meyve sirkelerindeki fenolikler, kardiovasküler hastalıklar, kanser ve beyin dejenerasyonu gibi hastalıklara karşı pozitif sağlık etkisine ve önemli antioksidan aktiviteye sahiptirler (Gey vd., 1990). Bu nedenle insan sağlığını olumlu yönde etkilemektedirler. *Flavobacterium psychrophilum*, Gram negatif, sporsuz, kapsülsüz, aerobik ve fakültatif anaerobik uzun basil şeklindedir. Hastalık 3- 15 °C su sıcaklığında meydana gelir. *F. psychrophilum* A.B.D.'de ilk kez 1948'de

Cohosalmonlardan (*O. kisutch*) izole edilmiştir. *F. psychrophilum* salmonid bakteriyel soğuk su hastalığı (Bacterial Cold Water Diseases, BCWD) ya da pedünkül hastalığı etkeni olarak bilinmektedir. Özellikle tatlı suda yetiştirilen salmonidler patojene duyarlı olmasına rağmen, patojen ilk olarak Japonya'da, daha sonra Bernardet ve Kerouault, 1989 yılında müren ve Avrupa'da sazan ve alabalıklarda izole edilmiştir.

Klinik bulgular; çok çeşitli olmakla birlikte, önce sırt yüzgecinde başlar, sonra kaudal yüzgece ulaşır. Lezyonlar küçük, gri-beyaz lekeler halinde görülürler. Yüzgeçlerin dış kısımlarında başlayan bozukluklar zamanla yüzgeç tabanına yayılır, bütün yüzgeç dejenere olabilir ve radiusları ortaya çıkabilir (Arda vd., 2005). Hasta fry'in dorsal yüzgeç bölgesinde ve yüzgecin altındaki dokunun beyaz benekden derin nekroza değişen bir lezyon oluşur. Buda karakteristik eyer görünümü yani çökük sırt ya da eyerli sırt görüntüsünü oluşturur. Solungaçlar soluk renktedir. Derinin renginde koyulaşma ve ekzoftalmus gözlemlenebilir. Etken iç organlarda mevcut olabilir. Genel septisemik enfeksiyon bulguları, anemi dalağın dikkati çekecek kadar büyümesi abdominal yağ dokusundaki hemorajiler görülmektedir (Timur ve timur, 2003). Hastalık genellikle genç balıklarda dalak hipertrofisi ve akut septisemi oluşturur. Yavru balıklarda spiral yüzme hareketi, vücut daha koyu renkli, omurga da deformasyon ve dorsal yüzgeçte erezyon gözlemlenir (Arda vd., 2005).

Bu çalışmanın amacı, ülkemizde entensif kültürü yaygın olarak yapılan gökkuşığı alabalık üretim sektöründe kuluçkahanelerin en büyük problemi olan *F. psychrophilum* patojenine karşı sirkelerin antimikrobiyal etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. İnsan sağlığına ve çevreye zarar vermeyecek şekilde sağlıklı balık üretimi yapılması yetiştiricilik ünitelerinde kimyasal olmayan doğal ürünlerin kullanılması önem taşımaktadır. Profilaksi ve tedavide doğal maddelerin kullanılması sağlıklı balık yetiştirme, sağlıklı çevre ve antibiyotik dirençliliğini önleyecektir. Bu amaçla gökkuşığı alabalığından izole edilmiş suşlara karşı elma, üzüm ve nar sirkisinin *In vitro* olarak antibakteriyel aktivitesi etkisi incelenecektir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Balık hastalıklarının tedavisinde antimikrobiyal maddelerin kullanılması, balıkta kalıntı sorununa neden olmaktadır. Bunun yanı sıra antibiyotik uygulamaları ile dirençli bakteri gelişimi ortaya çıkmakta, dezenfeksiyon uygulamaları ile yararlı bakteriyel flora ortadan kaldırılmaktadır. Dolayısıyla istenmeyen çevre etkileri görülmektedir. Balıktan yeterince arınmayan kimyasal maddelerinin tüketiciye zarar vermesi söz konusudur. Ayrıca bazı balık patojenlerinin direnç genlerini insanlarda patojeniteye yol açan bakterilere aktarabildikleri ve bu yüzden bazı antibiyotiklerin insan sağlığı için zararlı olduğu tespit edilmiş ve kullanımlarını sınırlamalar getirilmiştir (Ekman vd., 1993; Decostere vd., 2000). Günümüzde bitkiler ve bitkisel ilaç hammaddeleri, tedavilerde kullanılan ilaçların büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Son yıllarda artan hastalıklara karşı sentetik yapılı ilaçların ve terapötik maddelerin yetersiz kalması ve yan etkilerinin saptanması, doğal ürünlerin kullanılma zorunluluğunu artırmıştır. Bu nedenle akuakültürde balık patojenleri ile mücadelede bitkisel ürünlerin kullanımı bir alternatif olarak görülmektedir. İnfeksiyöz etkenlerin tedavisi için kullanılacak doğal, güvenilir ve ucuz alternatif ürünlere ihtiyaç vardır (Toroğlu ve Çenet, 2006).

2.1. Sirke

Enfeksiyonlar ve diğer akut koşullar ile mücadelede sirke kullanımı modern tıbbın babası sayılan Hipokrata (MÖ 460-377) kadar uzanmaktadır (Diggs, 2000). Antimikrobiyal özelliklere sahip olan sirkedeki organik asitler ve asetik asit mikroorganizmanın hücre membranından geçerek bakteriyel hücrenin ölümüne neden olmaktadır (Chang ve Fang, 2007). Genellikle gıdalardaki patojenik mikroorganizmaların çoğalmasını engellemek amacıyla kullanılmaktadır (Rauha vd., 2000). Ayrıca temizlik amaçlı kullanılabildiği gibi tırnak mantarı, baş bitleri, siğiller ve kulak enfeksiyonları gibi sağlık problemlerinin giderilmesinde de etkilidir (Dohar, 2003).

Meyve sirkelerindeki fenolikler, kardiovasküler hastalıklar, kanser ve beyin dejenerasyonu gibi hastalıklara karşı pozitif sağlık etkisine ve önemli antioksidan

aktiviteye sahiptirler (Gey vd., 1990). Bu nedenle insan sağlığını olumlu yönde etkilemektedirler (Ye vd., 2008).

Sirkenin kullanımına ilişkin ilk bilgiler 10 bin yıl öncesine kadar dayanmaktadır (Tan, 2005; Johnston ve Gaas, 2006). Meyveli sirkeler yaklaşık 5 bin yıldır üretilmekte ve ticari olarak satılmaktadır. Babilliler 6. Yüzyıla kadar sirkeyi meyve, bal ve malt ile tatlandırarak üretimini ve satışını gerçekleştirmişlerdir. Hipokrat'ın bildirdiğine göre sirkeler yaraların tedavisinde kullanılmıştır. in'de enfeksiyonlar'dan korunmak için el dezenfektanı olarak kullanılmıştır. Yine mide ağrısı, yüksek ateş, zehirlenme, dem ve yaralar gibi pek çok hastalıkların tedavisinde sirke kullanılmıştır (Tan, 2005). Günümüzde, sirkeler meyve ve sebzelerin asitli yıkamalarında, mayonez hazırlama, salata, hardal ve diğer gıda eşnilerinde tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır. Fonksiyonel zellik ve tatlandırıcı amacıyla gıda maddesi olarak kullanılmasına karşın son yıllarda sirke çeşitlerinin gıdalarda potansiyel sağlık faydaları üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır (Tan, 2005; Ou ve Chang, 2009; Budak vd., 2014).

Sirke antimikrobiyal özelliklere sahiptir (Rauha vd., 2000; Dohar, 2003). Temizlik amaçlı kullanılabil-diği gibi tırnak mantarı, baş bitleri, siğiller ve kulak enfeksiyonları gibi sağlık problemlerinin giderilmesinde de kullanılmaktadır (Rauha vd., 2000; Dohar, 2003).

Sirkelerle ilgili olan araştırmalar daha çok gıdalardaki patojenik mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri bakılmıştır. Sirkelere gıda patojenlerinin çoğalmasını engellemek için tercih edilmektedir (Rauha vd., 2000). Sirkedeki organik asitler ve asetik asit mikroorganizmanın hücre membranından geçerek bakteriyel hücrenin ölümüne neden olmaktadır (Chang ve Fang, 2007). Yapılan çalışmalarda, sirkenin hayvan ve insanların diyabetik tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir. Sirkenin kandaki glikoz konsantrasyonu üzerine etkisi araştırıldığında asetik asitin kompleks karbonhidratların emilimini engellediği veya mide boşalımını hızlandırdığı yada kandaki glikoz seviyesinin azaltılmasında dokuların glikozun alımını arttırmasıyla açıklanmıştır (Lilijeberg ve Fjorck, 1998; Ogawa vd., 2000; Fushimi vd., 2002; Fushimi ve Sato, 2005). Uzak doğuda özellikle Japon pirinç sirkesinin (Kurusu) kanser riskinin azaltılmasında fenolikbilesiklerin en önemli kaynaklardan birisi

olduğu bildirilmektedir (Shimoji vd., 2004). Bu sirkenin etil asetat ekstraktının antioksidan aktivitesi oldukça yüksek olup, özellikle kanser hücrelerinin tedavisi üzerinde etkili olduğu rapor edilmiştir (Nanda vd., 2004).

Çeşitli sirkelerde bulunan polifenol ve vitamin gibi biyoaktif maddeler antioksidan aktivitelerinden dolayı oksidatif strese karşı savunma görevi görürler (Dávalos vd., 2005; Nishino vd., 2005). Çeşitli sirke tiplerinin fenolik içerikleri Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Farklı sirkelerdeki fenolik bileşikler

Sirke Tipleri	Fenolik Bileşikler	Toplam Fenolik İndeksi (mg/L GAE)	Kaynaklar
Elma sirkesi	Gallik asit, kateşin, epikateşin, klorojenik asit, kafeik asit, pkumarik asit	400-10000	Budak vd., 2011
Üzüm sirkesi	Gallik asit, kateşin, epikateşin, klorojenik asit, kafeik asit, sirinjik asit, ferulik asit	2000-3000	Garcia-Parrilla vd., 1997 Budak ve Güzel-Seydim., 2010

2.1.1. Elma Sirkesi

Elma meyvesinin (*Malus domestica*) ana bileşenleri karbonhidratlar, asitler, azotlu bileşikler, polifenoller, mineraller ve vitaminlerdir (Alvarez vd., 2006). Elma, içerdiği fenolik bileşikler sayesinde antioksidan özellik göstermekte ve kalp rahatsızlıklarını, bağışıklık sistemindeki hasarları, astım ve diyabet hastalıklarının riskini azalttığı bildirilmektedir. Ayrıca, elma sirkesinin *Candida* türlerine karşı antifungal özellik gösterdiği ve diş protez stomatitlerinde hastalar için alternatif bir tedavi olacağı bildirilmektedir.

2.1.2. Nar Sirkesi

Nar güçlü bir antioksidan olup flavonoidler, antosiyaninler, punisinik asit, ellagitannins, alkaloidler, früktoz, sükroz, glükoz, basit organik asitler ve diğer bileşenler açısından zengindir. Aynı zamanda antiaterojenik, antihipertansif ve anti-inflamatuar özelliklere sahiptir. Nar çeşitli kanser türlerinin, kardiyovasküler

hastalıkların, osteoartrit, romatoidartrit önlenmesi ve tedavisinde kullanılabilir. Ayrıca yara iyileşmesini hızlandırır ve üreme sistemi için faydalıdır (Zarfeshany vd., 2014). Nar sirkesinin fazla kilolu ve obez kişilerde ki yağlanma ve ilgili metabolik bozukluklar üzerinde yararlı etkilerinin olabileceği de bildirilmektedir (Park vd., 2014).

2.1.3. Üzüm Sirkesi

Meyve kabuğunda antosiyaninler, flavanoller, proantosiyaninler ve hidroksisinnamik asitler (Bartolome vd., 2004; Amico vd., 2004; Kammerer vd., 2005); üzüm çekirdeğinde gallik asit, proantosiyaninler ve flavanoller bulunur (Gonzalez-Paramas vd., 2004; Yılmaz ve Toledo, 2004; Guendez vd., 2005). Üzüm sapında flavanoller, proantosiyaninler, flavonoller ve hidroksisinnamik asit (Souquet vd., 2000; Alonso vd., 2002), soyulmuş kırmızı elma da flavanoller, proantosiyaninler, flavonoller ve hidroksisinnamik asit (Lu ve Foo, 2000; Schieber vd., 2003; Chinnici vd., 2004) polifenollerini bulunmaktadır. Sirkede bulunan fenolikler insan sağlığını olumlu yönde etkilemektedir.

2.2. *Flavobacterium psychrophilum*

Ülkemizde su ürünleri endüstrisinde en yaygın yetiştiriciliği yapılan bir tür olan gökkuşacağı alabalığında (Anonim, 2009) epizootilere neden olan bakteriyel etkenler zaman zaman izole edilmiştir (Timur ve Timur, 1991; Çağırğan ve Yürekli Türk, 1991; Diler vd., 2002). Ülkemizde; Çağırğan vd. (1991) Ege, Marmara, Karadeniz ve İç Anadolu Bölgesi'nden; Korun ve Timur (2001) Marmara Bölgesi'ndeki alabalık işletmelerinden *F. psychrophilum* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Diler vd., (2003) ise Akdeniz bölgesindeki bir işletmeden *F. psychrophilum*'u izole etmişlerdir. İspir vd., 2004'de Doğu Anadolu Bölgesi'nde bazı gökkuşacağı alabalığı işletmelerinde *F. psychrophilum* enfeksiyonlarının varlığını bildirmişlerdir. Gultepe ve Tanrıkul 2006 yılında yaptıkları çalışmada *F. psychrophilum* patojeninin 2000-2006 yılında hastalıkla ilgili çalışmalar yapmış ve en iyi tedavi metodunu vermişlerdir. Kubilay vd., (2009) gökkuşacağı alabalığı kuluçkahanelerinde yaptığı çalışmada *F. psychrophilum* 'u inkübasyon suyunda ovaryum sıvısında, yumurtada tespit

etmişlerdir. Özcan ve Sarıyüpoğlu 2014 de Keban Barajı alabalık çiftliklerinden izole etikleri *F. psychrophilum*' un genotipik ve fenotipik özelliklerini çalışmışlardır. Gökkuşığı alabalığı üretiminde kuluçkahanelerde en sık görülen hastalıklar arasında *F. psychrophilum* patojenin neden olduğu bakteriyel hastalıklar olduğu tespit edilirken, bu hastalıkların işletmeler açısından yetiştiriciliğin başlangıç döneminde çok büyük ekonomik kayıplara neden olduğu saptanmıştır (Timur ve Timur, 2003; Kubilay vd., 2009; Özcan ve Sarıyüpoğlu, 2014).

F. psychrophilum' un sebep olduğu enfeksiyon bakteriyel soğuksu hastalığı olarak bilinmektedir. Hastalığa yakalanan balıkların sırt kısmında içeriye doğru bir oyuk oluşturduğu için hastalığa “Eyer hastalığı” da denmektedir. Ayrıca gökkuşığı alabalığı fry sendromu (Rainbow Trout Fry Syndrome, RTFS) olarak da isimlendirilmektedir (Balta, 1997; Timur vd., 2003). RTFS son 10-15 yıl boyunca Avrupa'nın büyük bir bölümünde özellikle gökkuşığı alabalıkları haçerilerinde en ciddi bakteriyel hastalıklarından biri olarak bildirilmektedir (Madsen vd., 2008; Barker vd., 1989).

F. psychrophilum 0.2-2gr'lık salmonid balıkların çok duyarlı olduğu, fingerling ve daha büyük balıkların ise bu hastalıktan etkilene bildiklerini ancak mortalitenin düşük olduğu tespit edilmiştir (Balta, 1997; Toranzo vd., 1993). *F. psychrophilum* hasta balıklardan izole edilebildiği gibi sağlıklı görünen balıklarından da izole edilebilmektedir. Her hangi bir hastalık semptomunu göstermeyen *F. psychrophilum*' un latent taşıyıcıları hastalığın potansiyel kaynağı olabilirler. Bu patojenin konakçı dışında nutrient ilave edilmeden steril bir suda uzun bir süre canlı kaldığı bildirilmektedir (Madsen vd., 2008).

Derinin ve yüzgeçlerin mekanik yaralanması ile oluşan portantrelerden *F. psychrophilum*'un balığı girebildiği belirtilmektedir (Holt, 1987). *F. psychrophilum* süt, ovarian sıvısı, balık yumurtalarının eksternal ve internal bölgesinden izole edildiği ve anaç balıkların da bu patojenin taşıyıcısı ve kaynağı olabileceği bildirilmektedir. Salmonid yumurtaları ve frylarda kabuk yumuşamasına, yumurtanın erken çatlamasına, yumurta kesesinin yırtılmasına sebep olabilmektedir (Holt, 1987, Rangdale vd., 1996; Holt vd., 1993)

F. psychrophilum (*Flexibacter psychrophilus*, *C. psychrophila*). Cytophagaceae familyasında ve Flexibacter cinsi içinde yer almaktadır. Etken, Gram negatif, sporsuz, kapsülsüz ve flagellasız (kayma hareketi yapabilir), aerobik veya fakültatif anaerobik, ince-uzun çomakçıklar biçiminde mikroorganizmadır. Taze sıvı kültürlerde, bireysel bakteriler, genellikle, 0.3-0.75 x 2.0-7.0 µm boyutlarındadır. Kültürlerde az da olsa filamentöz formlara (10-40 µm) rastlanabilmektedir. Ayrıca, eski sıvı kültürlerde branşlı ve pleomorfik formlar da gözlenebilir. Mikrokist formasyonuna rastlanamaz. Katı besi yerlerinde (CA, Anacker-Ordal ve TYES agar), 2-4 gün içinde aerobik koşullarda, 15-20°C.de, üzerleri ve kenarları pürüzlü sarı renkli (flexirubin tip pigment) koloniler meydana gelir. Kolonilerde oluşan sarı pigment, %20 lik KOH ile turuncu rengini alır.

Mikroorganizma 4°C'den aşağı ve 25°C'den yukarı sıcaklıkta üreyemez. Sakkarolitik aktivite etkinliği de birçok karbonhidrat için bulunmamaktadır. Bunlara karşın, kazein, kollagen, jelatin ve albümin için aktif proteolitik özelliğe sahiptir. Ancak, bu karakterleri de suşlara göre değişmektedir. Bazı izolatların da, kas, deri ve kıkırdakları eritebilen ekstrasellüler enzim sentezledikleri açıklanmıştır. *F. psychrophilum* antibiyotiklere, kemoterapötiklere ve dezenfektanlara değişik derecede duyarlılık gösterir. Mikroorganizmaya, sağlıklı balıkların vücut yüzeyinde ovaryum, sperma, sindirim sisteminde ve yumurtaların dış kısımlarında da rastlanmaktadır. Ayrıca, etkenin hasta anaç balıkların yumurtalarına, buradan da yavru balıklara transovariyen (vertikal) bulaşabildiği de açıklanmıştır (Arda vd., 2005; Austin ve Austin, 2007).

F. psychrophilum Kolonilerin teşhisinde aşağıdaki kriterlerden de yararlanılabilir;

- ✓ Cytophaga agar üzerinde kabarık, konveks sarı renkli koloniler,
- ✓ Gram negatif ince-uzun çomakçıklar,
- ✓ Flagellasız mikroorganizmalar,
- ✓ Kültürlerde 15-20°C de üreme,
- ✓ Tavşan anti *F. psychrophilum* serumu ile lâm üzerinde çabuk aglutinasyon,
- ✓ Kazein ve jelatini hidrolizasyon (proteolitik, etki)
- ✓ Sakkarolitik etki yok,
- ✓ Flexirubin pigmentasyonu (sarı renkli koloniler %20 KOH ile oranj renk oluşması),

- ✓ Zayıf katalaz aktivitesi,
- ✓ TSA veya BHIA üzerinde çok zayıf üreme (veya üreme yok),
- ✓ Mikroskop altında kayma hareketi her zaman gözlenmeyebilir.

2. 3. Biyofilm

Mikroorganizmalar bir süre öncesine kadar, hızlı çoğalan ve tek başlarına hareket ederek serbestçe dolaşan canlılar olarak görülmekteydi. Araştırmacılar bu yüzden bu güne kadar, planktonik olarak da adlandırılan ve diğer bakterilerden bağımsız olarak, tek başlarına dolaşan mikrobiyal hücrelerin davranışlarını incelemiş ve araştırmalarını bu yönde geliştirmişlerdir. Bununla beraber, bakterilerin planktonik formdan çok, bir yüzeye tutunarak ve biyofilm adı verilen bir yapı oluşturarak hayatlarını devam ettirdiğine dair kanıtların ortaya konduğu birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Fosil kayıtlarından edinilen bilgiler prokaryotların 3 milyar yıldan daha uzun bir süreden beri biyofilmler içerisinde yaşadıklarını ortaya çıkarmıştır (Çiftçi, 2005).

Biyofilm, bir yüzeye yapışarak, belirli bir yapısal bütünlük içerisinde toplu halde yaşayan ve birbirleriyle haberleşerek varlıklarının devamı için gerekli işlevlerin yerine getirilmesini sağlayan bakterilerin oluşturduğu karmaşık bir organizasyondur (Donlan, 2002; Altun ve Şener., 2008). Bakteriler ekstraselüler polimerik maddeler olarak da bilinen ve bir dizi polisakkarid, nükleik asit ve protein içeren çamur veya balçık benzeri bir matriks içerisinde gömülü olarak bulunurlar (Çiftçi, 2005; Şener, 2008).

Biyofilm içerisinde büyüyen bakteriler, planktonik olarak büyüyenlere göre antibiyotiklere çok daha fazla dirençlidir. MİK ve minimal bakterisidal konsantrasyon (MBK) seviyesi eski biyofilm içerisindeki bakterilerde yeni oluşmuş biyofilm içerisindeki bakterilere göre 100-1000 oranında daha fazladır (Høiby, 2002).

Biyofilmlerin ayırt edici bir özelliği, hücrelerin etrafını çevreleyen ve tamamen kaplayan hücre dışı polimerik maddelerin (çoğunlukla polisakkaritler) varlığıdır. Taramalı elektron mikroskopuyla görüntülenen bu polisakkaritler, yüzey üzerinde

amorf materyal yaprakları halinde ya da hücreleri yüzeye ya da birbirlerine bağlayan ince lifler halinde bulunur. Biyofilm hacminin büyük kısmı hücrelerden değil, bu hücre dışı polimerik maddeden oluşur. Bu durum, rutenyum kırmızısı ile boyama yöntemiyle ve transmisyon elektron mikroskopuyla doğrulanmıştır (Donlan, 2002). Biyofilm oluşumu bakteriyel patojenitede ve ısrarcı enfeksiyonlarda önemli rol oynar (Costerton vd., 1999; Singh vd., 2002).

2.4. Antimikrobiyal Aktivite

Mikroorganizmalar antibiyotiklere karşı çok değişik şekilde duyarlılık gösterirler. Bu durum, hem antibiyotiklerin yapısına ve hem de mikroorganizmaların türüne göre değişebilir. Bu bakımdan gerek koruyucu amaçla ve gerekse en önemlisi sağaltım için kullanılacak antimikrobiyal ilaçların spesifik hastalık etkenine karşı olan statik veya sidal etkisinin çok iyi belirlenmesi ve böyle bir ilacın seçilerek yeterli sürede ve dozda bir program dahilinde kullanılması gereklidir. Hatta bazen bu da yeterli olmayabilir. Çünkü tedavi sırasında antimikrobiyal ilaçlara karşı hastalık ajanlarının duyarlılığında değişimler olmakta ve ilaçlar yetersiz kalmaktadır. Böyle durumlarda nüks'ler oluşmakta ve İnfeksiyonunprognozu değişik yöne kaymaktadır. Bazen de, infeksiyonlardanprimer etken yerine sekonder mikroorganizmalar izole edilmektedir. Böyle hallerde, hastalığın esas etkenine karşı değil de sekonder ajanın duyarlılığına göre seçilmiş antibiyotikler kullanılmaktadır. Bunlar da pek büyük yararı olmamaktadır (Arda vd., 2005). Diğer önemli nokta da, duyarlılık testlerinde mikroorganizma ile antimikrobiyal madde direk temasa gelmekte ve buna göre duyarlılık belirlenmektedir. Halbuki aynı ilaç vücuda verildiğinde aynı konsantrasyon her zaman sağlanamamakta, ilacın etkinliği çeşitli nedenlerle azalmakta veya vücuttan çabuk atılmaktadır.

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Sirke Temini

Geleneksel elma, üzüm ve nar sirkesi, Fermente Gıda Ambalaj Eğitim Danışmanlık Sanayi ve Ticaret Limited Şirketinden (Çünür Mahallesi S.D.Ü. Doğu Yerleşkesi Teknokent Binası N:119 Merkez Isparta) alınmıştır.

3. 2. Elma, Üzüm ve Nar Sirkesinin Kimyasal Özellikleri

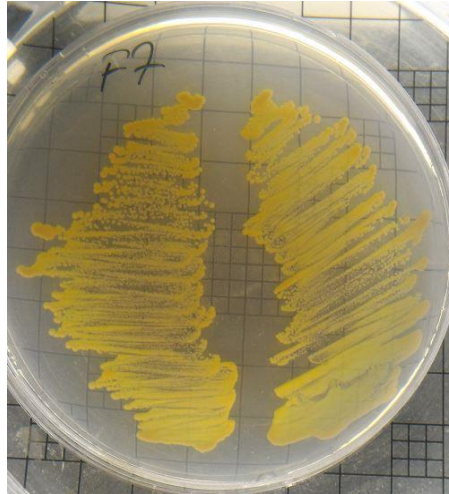
pH tayini: pH değerleri Inolab (WTW MeasurementSystem, FL, ABD) pH metre kullanılarak belirlenmiştir.

Toplam asit tayini: Toplam asit tayini titrimetrik olarak hesaplanmıştır (AOAC, 2000). Asit değerini hesaplar iken 50 ml sodyum hidroksit, 25 ml elma, üzüm ve narsirkesi kullanılmıştır.

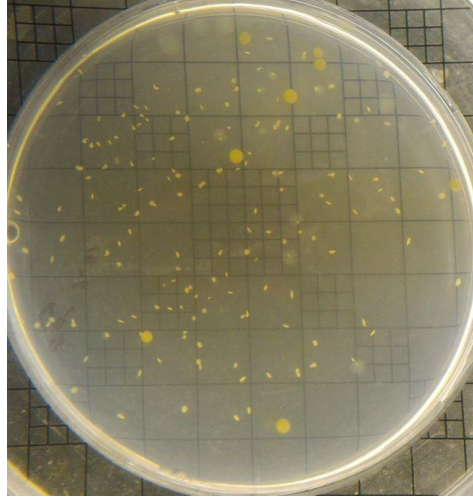
3.3. *Flavobacterium psychrophilum*'un Antimikrobiyal Aktivitesi

3.3.1. Kullanılan *Flavobacterium psychrophilum* Suşları

Araştırmada biri referans olmak üzere 11 adet *F. psychrophilum* suşu kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Bakterilerin üretilmesi ve gençleştirilmesinde Anacker Ordal Agar, Tryptone Yeast Extract Salts Agar (TYESA) kullanılmıştır. Ekim yapılan petriler 17⁰C de 72 saat inkübe edilmiştir (Madetoja 2002; Wiklund 1994). TYES agarda sarı turuncu renkte bakteriler kullanılmıştır. *F. psychrophilum* suşlarının TYES agarda sarı turuncu bakteri kolonileri elde edilmiştir (10^4 - 10^8 CFU ml⁻¹) (Şekil 3.1). Bakteri sayısının belirlenmesi, bakteri süspansiyonlarının 10 katlı dilüsyonları yapılarak TYES agarda koloni sayım metoduna göre yapılmıştır (Şekil 3.2) (Dalsgaard, 1993; Holt vd.,1994; Madetoja 2002).



Şekil 3.1. Tryptone yeast extract salts (TYES) agarda *Flavobacterium psychrophilum*



Şekil 3.2. *Flavobacterium psychrophilum*, TYES agarda koloni sayımı

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan *Flavobacterium psychrophilum* suşları kökenleri

No	Suş	Orjin
1	Fp1	Gökkuşığı alabalığı, Fethiye, Muğla
2	FP2	Gökkuşığı alabalığı, Fethiye, Muğla
3	FP3	Gökkuşığı alabalığı, Aksu, Isparta
4	FP4	Gökkuşığı alabalığı, Aksu, Isparta
5	FP5	Gökkuşığı alabalığı, Fethiye, Muğla
6	FP6	Gökkuşığı alabalığı, Fethiye, Muğla
7	FPB1	Gökkuşığı alabalığı, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
8	FPB1	Gökkuşığı alabalığı Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
9	FPB3	Gökkuşığı alabalığı Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
10	FPB4	Gökkuşığı alabalığı Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
11	Referans	Gökkuşığı alabalığı, Finlandiya

3.3.2. *Flavobacterium psychrophilum*'un Antibiyotik duyarlılık testi

Antimikrobiyal aktivite; ticari antibiyotik diskleri ile disk diffüzyon metodu ile belirlenmişlerdir. Bu testte Fp1-Fp6 suşların arasından 6 adet *F. psychrophilum* suşları kullanılmıştır. Bakteri süspansiyonları fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile 0.5 McFarland (Biomerieux)'ta optik yoğunluğa göre 10^8 cfu/ml olarak ayarlanmıştır. Süspansiyon Müller Hinton Agar (Merck) besiyerine 0.1 ml miktarında eklenerek, tüm besiyeri üzerini kaplayacak şekilde Steril L şeklinde plastik baget ile homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Daha sonra laminar flowda, petriler kuruması için 5-10 dakika bırakılmıştır. Agarın yüzeyine çeşitli konsantrasyonlarda değişik antibiyotikleri içeren diskler steril pens ile yerleştirilerek besiyeri, 17°C'de 48-72

saat inkübe edilmiştir. Kullanılan antibiyotik disklerinin bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları milimetrik cetvel ile ölçülmüştür. Test sonuçları, suşlar için duyarlı (S) ve dirençli (R) olarak değerlendirilmiştir (Kubilay vd., 2005, CLSI, 2006, Ekici vd., 2011, Smith vd., 2016).

3.3.3. Elma, Nar ve Üzüm Sirkesinin *Flavobacterium psychrophilum* karşı Antibakteriyel Aktivitesinin Tespiti

Sirkelerin antibakteriyel etkileri agar diffüzyon metodu (NCCLS, 2001) ile saptanmıştır. Sirkeler %100, %50, %25, %12.5, %6.25 ve %3.125 oranlarında fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile homojenize edilmiştir. Antibakteriyel etkinin belirlenmesinde, *F. psychrophilum* (Fp1-Fp6; 6 adet suş) için TYESA hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerleri döküm sıcaklığına geldiğinde, McFarland0.5'e ayarlanan bakteri süspansiyonları (yaklaşık 10^8 CFU ml⁻¹) eklenerek döküm yapıldı, dökümden 15-20 dakika sonra besiyerleri üzerinde 3mm çapında çukurlar açılarak sirke solüsyonları ilave edilmiştir. Pozitif kontrol olarak florfenikol antibiyotik diski kullanılmıştır. *F. psychrophilum* 17⁰C'de 72 saat inkübe edildikten sonra oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür (Balouiri vd., 2016; Smith vd., 2016).

3.4. Üzüm, Nar ve Elma sirkesinin *F. psychrophilum*'a Karşı Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)

Sirkelerin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu [MİK, Mininal Inhibition Concentration MIC)] mikro dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. MİK değerlerinin belirlenmesinde, *F. psychrophilum* suşları (Fp1-Fp6; 6 adet suş) için Muller-Hinton Broth (MHB), hazırlanarak bakteriler ekilmiştir. *F. psychrophilum* 17⁰C'de 72 saat inkübe edildikten sonra yoğunlukları, McFarland 0.5'e ayarlanmıştır. Sirkeler PBS içerisinde 1000 µl/ml olacak şekilde çalışma stoğu oluşturulmuştur. Hazırlanan stoktan, PBS aynı konsantrasyonda olmak kaydıyla, sürekli yarıya düşürülerek (1000, 500, 250, 125, 62.6, 31.25, 15.62, 7.8, 3.9, 1.95, 0.97, 0.48, µl/ml) steril tüplerde her bir değer için bağımsız olarak çalışma stokları hazırlanmıştır. MİK okumasının gerçekleştirilmesinde, 96 çukurlu (microwell) plakların her çukuruna çalışma stoklarından 100 µL eklenmiştir. Üzerine 100 µl TYES brothda üretilmiş mikroorganizma inokülümü (0.5McFarland standardına eşdeğer kültürden) eklenip

ve toplam hacim çukur başına 200 µl ye tamamlanmıştır (NCCLS, 2001). Mikroplaklar 17°C de 48 saat inkübe edilmiştir. Her bir örnek için, iki ayrı bağımsız set düzenlenerek değerlerin ortalaması alınmıştır. Negatif kontrol olarak eşit hacimde TYES broth kullanılmıştır (Ekici vd., 2011; Henríquez-Núñez vd., 2012; CLSI, 2016).

Mikrobiyal büyüme mikropak üzerinde ELISA okuyucusu (Biorad) yardımıyla 630 nm'de absorbans değerleri kontrole karşı okunarak 24, 48 ve 72 saatlerde belirlenmiştir. MİK değeri mikroorganizmaların büyümenin olmadığı en düşük madde konsantrasyon olarak tespit edilmiştir (Henríquez-Núñez vd., 2012; Sundell ve Wiklund, 2015; CLSI, 2016).

3. 5. *Flavobacterium psychrophilum*'un Biyofilm Testi

O'Tooleand ve Kolter (1998)' de tanımladığı metoda göre gerçekleştirilmiştir (Ye vd., 2008). Suşlar (Fp1-FpB4; 10 adet suş) TYES agarda 72 saat üretilerek inkübasyondan sonra bakteri yoğunluğu OD600'de 0,8'e ayarlanmıştır. Bakteri kültürü 1/100'lük steril TYES ortamı ile sulandırılmıştır. Sulandırılan kültürlerin tümünden düztabanlı 96 çukurlu mikropaklara 100 µl olarak ilave edilmiş ve 15°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonu takiben çukurlar distile su ile yıkanarak ve biyofilmle ilişkili hücre kalıntıları % 0,1'lik kristal viyole ile 15 dk süresince boyanmıştır. Boya fazlası hafif akan çeşme suyunda dikkatli bir şekil yıkanarak ve bakterilerin oluşturduğu 96 çukurlu plakalara tutunmuş biyofilm fotoğraflanmıştır. Biyofilm oluşumunu kantitatif olarak belirlemek için plaklara 2x200 µl %95 etanol saf su ile 4 ml ye tamamlanarak ilave edilerek plakların 490 nm'de ELISA okuyucusunda (Biorad) optik yoğunlukları ölçülmüştür (Ye vd., 2008). Sonuçlar test sırasında TYES broth negatif kontrol olarak çalışılıp değerlendirilmiştir.

F. psychrophilum biyofilm oluşumu kristal viyole boyası ile doğrulanmıştır. İlk olarak bakteri yoğunluğu 520 optik yoğunluk da 0.450 ye ayarlanmıştır. Bakteri dilisyonu 10^{-4} den 10^{-7} ye kadar 96 düz tabanlı plaklara 100 µl bakteri süspansiyonu ilave edilecek 17°C 'de 1. ve 5. gün sonraki hücrelerin tutunmaları görmek amacı ile plaklar % 0.5 NaCL ile 100 µl ilave edilerek 3 kez yıkanmıştır. Daha sonra tutunan

hücreleri tespit etmek için 100 µl metonol ile 20 dakika fikse edilmiştir. Daha sonra % 0,1'lik kristal viyole 20 dakika boyanmıştır. 3 kez % 0.5 lik NaCl ile yıkandıktan sonra ışık mikroskopda şekillendirilmiştir (Sundeland ve Wiklund, 2015).

3.6. *Flavobacterium psychrophilum*'un Adezyon Testi

F. psychrophilum (Fp1-Fp6; 6 adet suş) adezyon kuvvet kabiliyeti testi bazı değişikliklerle Alvarez vd., (2006) göre yapılmıştır. Kısaca testin yapılışı 96 çukurlu düz tabanlı mikropklarda yapılan bu teste bakteri süspansiyonu ayarlanmış OD ile plaklar ayarlanan bakteri 3 paralel olacak şekilde mikropklara ilave edilerek 17°C 1 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Steril saf su 3 çukura ilave edilerek, negatif kontrol olarak ilave edilecek takiben 2 kez plaklar %0.5lik NaCl ile yıkanarak yapışkan hücreler %0,1 lik kristal viyole (etonel ile % 0.1 lik kristal ile yıkanmıştır) solüsyonu ile 45 dakika oda sıcaklığında boyanarak fazla boyalar % 0.5'lik NaCl ile 4 kez yıkanarak çukurlardan uzaklaştırılmıştır. Bakteri hücrelerin yapışma ve adezyon kabiliyeti 490 nm'de ELISA okuyucusunda ölçülmüştür. Ölçülen OD değerleri negatif kontrol serum avaraj absorbands değeri ile doğrulanmıştır (Högfors-Rönholm vd., 2015).

3. 7. Sirkelerin *Flavobacterium psychrophilum*'a Karşı Adezyon Oluşturmasına Etkisi

Elma, nar ve üzüm sirkesinin *F. pscyrophilum* suşlarında adezyon oluşumu engellemesini kontrolü amacı ile adezyon testi yapılan plakların ikinci paralellerine sirkelerin 500, 250 ve 125 µl/ml dilüsyonlarından 100 µl ilave edilerek yukarıdaki metoda göre adezyon oluşumu tespit edilmiştir ve adezyon oluşturmayan konsantrasyon belirlenmiştir.

3. 8. İstatistiksel Hesaplamalar

Denemede elde edilen veriler (antimikrobiyal aktivite ve MİK değeri) IBM SPSS Statistics 20 paket programında Anova analizi ile değerlendirilmiştir. Denemede incelenen çeşitli parametreler arasındaki farklılığın önem derecelerini karşılaştırırken

Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmış ve istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alınmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Elma, Üzüm ve Nar Sirkesinin Kimyasal Özellikleri

Sirkelerin kimyasal olarak, pH toplam asit miktarı belirlenmiştir. Deneysel çalışmamızda kullanılan elma, üzüm ve nar sirkesinin, Asit ve pH değeri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

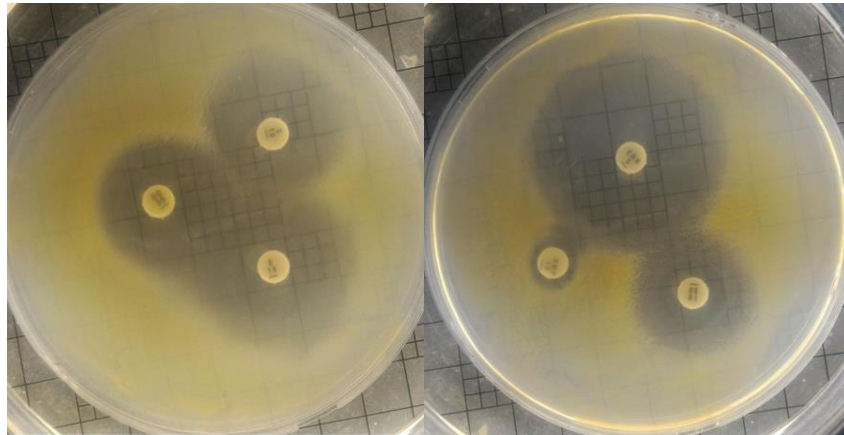
Çizelge 4.1. Elma, üzüm ve nar sirkesinin pH ve asit değeri

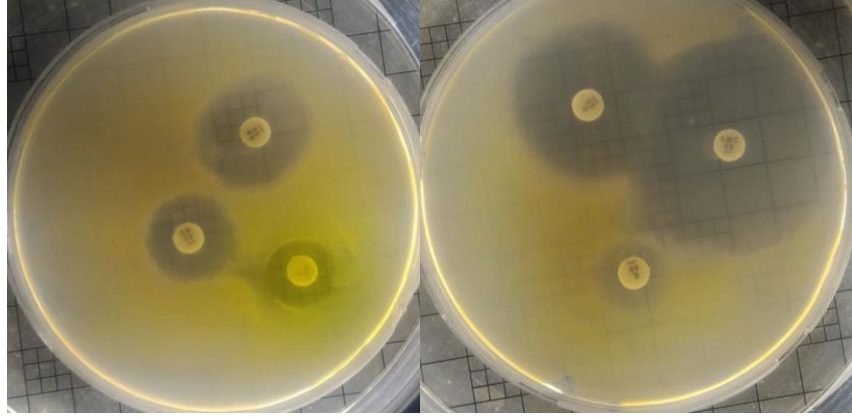
Örnek	pH	Asit Değeri	Harcanan Sodyum Hidroksit
Üzüm	3.04	4.68	19.2
Elma	3.62	2.68	11.2
Nar	2.92	6.36	26.5

Asit değeri hesaplama; $\text{harcanan miktar} \times 100 \times \frac{0,006004 \text{ (Asitik asit katsayısı)}}{\text{Örnek Miktarı}}$

4.2. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Disk diffüzyon metoduna göre belirlenen inhibisyon zonları Çizelge 4.2. ve Şekil 4.1.'de verilmiştir. *F. psychrophilum* suşları için varyans analizi Çizelge 4.3.'de verilmiştir.





Şekil 4.1. *F. psychrophilum*'un antibiyotik duyarlılık testi

Çizelge 4.2. Antibiyogram testinde *F. psychrophilum* suşları için uygulanan antibiyotik disklerinden elde edilen zon çapları (cm)

Kısaltma	Adı	Fp1	Fp2	Fp3	Fp4	Fp5	Fp6
FFC	Florfenikol	S(2)	R(0.4)	R(0.8)	R(1)	R(1)	R(0.8)
DO	Doksisiklin	R(1.4)	S(2.4)	S(2.4)	R(1)	R(1.6)	R(2)
ENR	Enrofloksasin	R(1.4)	S(3.6)	S(2.2)	S(2)	S(3)	S(3.6)
AMP	Ampisillin	S(1.8)	R(0.8)	R(0.8)	R(0.8)	R(0.4)	R(0.6)
E	Eritromisin	S(2.2)	S(3)	R(1.4)	R(0.4)	R(1.4)	R(0.6)
TE	Tetrasiklin	R(1.2)	R(1.4)	R(1)	R(0.6)	R(1.4)	R(1.8)
DA	Klindamisin	R(0.4)	S(3.6)	R(0.4)	R(0.4)	R(0.6)	R(0.6)
CN	Gentamisin	S(2.4)	S(1.8)	S(1.8)	R(1.4)	S(1.8)	R(1.6)
NA	NalidiksikAsid	R(1.8)	S(2)	S(2.6)	S(2.4)	S(2.6)	S(2.6)
AMC	Amoksasillin/Klavulanik Asit	R(1.6)	R(4)	S(2.4)	S(2.4)	R(1)	R(3)
C	Kloramfenikol	R(1.6)	S(3)	S(2)	R(0.8)	R(1.2)	S(2)
OA	Oksalanik asit	R(0.4)	S(2)	S(3)	S(2.8)	S(2.4)	S(2.6)
VA	Vankomisin	S(2.8)	S(2.2)	R(0.8)	R(0.4)	R(0.4)	R(0.8)
SXT	Sulfamethoksazol/ Trimetoprim	R(3)	R(1.2)	R(0.8)	R(0.8)	R(0.4)	S(3.6)
F	Nitrofurantoin	R(1.2)	R(1.4)	R(1)	R(0.8)	R(1.6)	R(0.4)
K	Kanamisin	R(1.4)	R(1.2)	R(0.4)	R(1.4)	R(0.4)	R(1.6)
P	Penisillin G	R(2)	R(1.2)	R(0.8)	R(0.8)	R(0.4)	R(0.6)
S	Streptomisin	S(2.8)	S(2.8)	R(1)	S(2)	R(1)	S(3)

R=Dirençli , S= Duyarlı

Çizelge 4.3. *F. psychrophilum* suşları için uygulanan antibiyotik disklerinden elde edilen zon çapları için varyans analizi sonuçları

	n	Zon çapları Ort. ± SS	İstatistik ANOVA	PostHoc*
Suşlar				
Fp1	18	1.744 ± 0.735		
Fp2	18	2.111 ± 1.040		
Fp3	18	1.422 ± 0.820	F = 2.709	Fp2 > Fp4
Fp4	18	1.233 ± 0.764	p = .024	
Fp5	18	1.255 ± 0.805		
Fp6	18	1.766 ± 1.098		
Toplam	108	1.588 ± 0.923		
Antibiyotik diskleri				
Florfenikol	6	1.000 ± 0.536		
Doksisiklin	6	1.800 ± 0.565		
Enrofloksasin	6	2.633 ± 0.907		
Ampisillin	6	0.866 ± 0.484		
Eritromisin	6	1.500 ± 0.977		
Tetrasiklin	6	1.233 ± 0.408		
Klindamisin	6	1.000 ± 1.277		
Gentamisin	6	1.800 ± 0.334		
NalidiksikAsid	6	2.333 ± 0.350	F = 2.976	Enrofloksasin
Amoksisillin/Klavulanik Asit	6	2.400 ± 1.050	p = .000	>Ampisillin
Kloramfenikol	6	1.766 ± 0.763		
Oksalanik asit	6	2.200 ± 0.946		
Vankomisin	6	1.233 ± 1.015		
Sulfamethoksazol/ Trimetoprim	6	1.633 ± 1.329		
Nitrofurantoin	6	1.066 ± 0.432		
Kanamisin	6	1.066 ± 0.531		
Penisillin G	6	0.966 ± 0.571		
Streptomisin	6	2.100 ± 0.918		
Toplam	108	1.588 ± 0.923		

*Anova

F. psychrophilum suşları için uygulanan antibiyotik disklerinden elde edilen zon çapları suşlar arasında en fazla Fp2 suşunda, antibiyotik diskleri arasında ise Enrofloksasin'de saptanmıştır (her biri için; $p < .05$; Çizelge 4.3). Suşlar arasında antimikrobiyal direnç arasında farklılık görülmüştür. Fp2 suşu Fethiye'de ki alabalık çiftliğinden izole edilen patojende antibiyotiklere karşı duyarlı olduğu, Aksu izolatu olan Fp4 suşunun antibiyotiklere karşı daha dirençli olduğu gözlenmiştir. Antibiyotik disklerin zon çaplarından en duyarlı Ampisillin olduğu belirlenmiştir.

F. psychrophilum suşlarının tetrasiklin, nitrofurantoin, kanamisin, penisilin G antibiyotiklerine karşı %100 dirençli olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan suşların, ampisillin, nalidiksik asit, oksalinik asit antibiyotik disklerine karşı % 83.4 oranı ile duyarlı bulunmuştur (Çizelge 4.5.). Suşların %100 duyarlı olduğu antibiyotik tespit edilememiştir.

Antibiyoqram testinde *F. psychrophilum* suşları için uygulanan antibiyotik disklerinden elde edilen zon çapları dirençli ve duyarlı olarak saptanmıştır. Kullanılan antibiyotiklere karşı en çok direnç gösteren suş Fp5'dir. En duyarlı suş ise Fp2'dir (Çizelge 4.4.). Suşlar arasında antimikrobiyal direnç arasında farklılık görülmüştür. Bu farklılık bölgeler arasındaki çeşitli antibiyotik kullanımlarından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Çizelge 4.4. *Flavobacterium psychrophilum* antibiyotiklere duyarlılık ve dirençlilik durumları

Suş	Dirençli Antibiyotik	Duyarlı Antibiyotik
Fp1	12	6
Fp2	8	10
Fp3	11	7
Fp4	13	5
Fp5	14	4
Fp6	12	6

Çizelge 4.5. İzole edilen *Flavobacterium psychrophilum* suşlarının (n=6) disk difüzyon metoduyla antimikrobiyal ajanlara (kısaltmalar Çizelge 4.2.'de belirtilmiştir) karşı belirlenen duyarlılık ve dirençlilik durumları

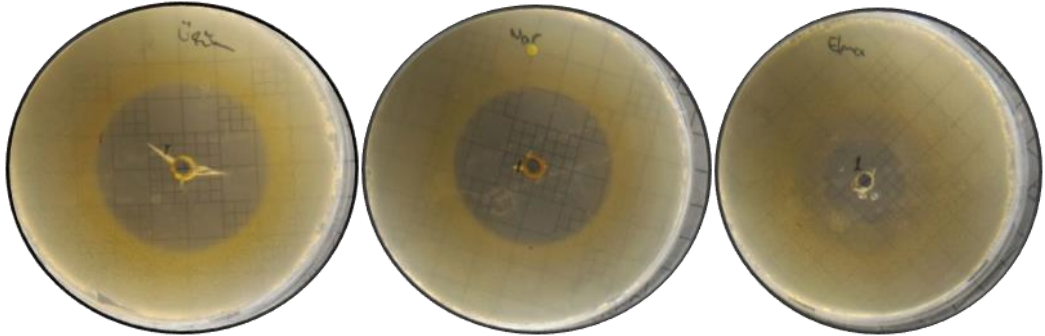
Antibiyotikler		Antibiyotik Duyarlılığı	
Kısaltma	Adı	Dirençli n (%)	Duyarlı n (%)
FFC	Florfenikol	5(83.4)	1(16.6)
DO	Doksisiklin	4(66.6)	2(33.4)
ENR	Enrofloksasin	1(16.6)	5(83.4)
AMP	Ampisillin	5(83.4)	1(16.6)
E	Eritromisin	4(66.6)	2(33.4)
TE	Tetrasiklin	6(100)	-
DA	Klindamisin	5(83.4)	1(16.6)
CN	Gentamisin	2(33.4)	4(66.6)
NA	NalidiksikAsid	1(16.6)	5(83.4)
AMC	Amoksisillin/Klavulanik Asit	4(66.6)	2(33.4)
C	Kloramfenikol	2(33.4)	4(66.6)
OA	Oksalinik asit	1(16.6)	5(83.4)

Çizelge 4.5. İzole edilen *F. psychrophilum* suşlarının (n=6) disk difüzyon metoduyla antimikrobiyal maddeler karşı belirlenen duyarlılık ve dirençlilik durumları

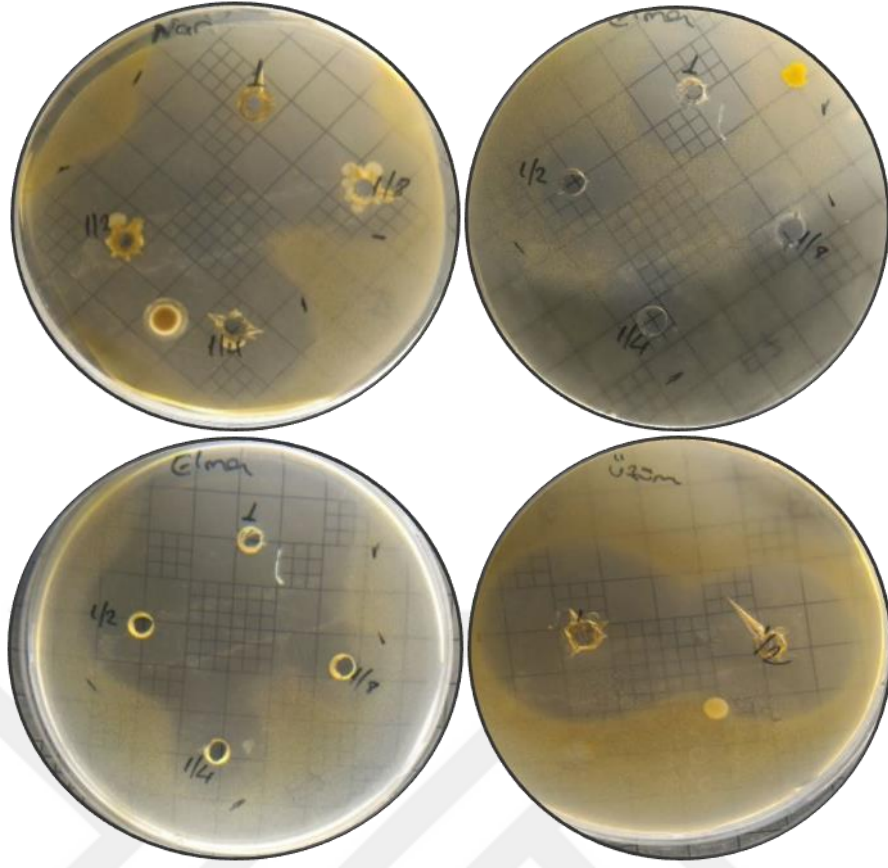
Antibiyotikler		Antibiyotik Duyarlılığı	
Kısaltma	Adı	Dirençli n (%)	Duyarlı n (%)
VA	Vankomisin	4(66.6)	2(33.4)
SXT	Sulfamethoksazol/ Trimetoprim	5(83.4)	1(16.6)
F	Nitrofurantoin	6(100)	-
K	Kanamisin	6(100)	-
P	Penisillin G	6(100)	-
S	Streptomisin	2(33.4)	4(66.6)

4.2.1. *Flavobacterium psychrophilum*'a Karşı Sirkelerin Antibakteriyel Aktivitelerinin Tespiti

Sirkelerin antibakteriyel etkileri agar well difüzyon metodu ile saptanmıştır. Üzüm, Elma ve Nar sirkesinin saf halleri ile %50, %25, %12.5, %6.25 ve %3.125 oranlarında fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile sulandırılmıştır. *F. psychrophilum* 17°C'de 72 saat inkübe edildikten sonra oluşan inhibisyon zonlarının çapları aşağıda verilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *Flavobacterium psychrophilum* patojenine karşı sirkelerin antibakteriyel aktivitesi



Şekil 4.3. *Flavobacterium psychrophilum*'a karşı Sirkelerin antibakteriyel aktivite

Çizelge 4.6. Üzüm sirkesinin zon çapları (mm)

Üzüm%	%100	%50	%25	%12,5	%6,25	%3,125
Fp1	55	38	29	12	9	5
Fp2	42	28	22	10	8	4
Fp3	47	29	25	11	5	3
Fp4	36	28	12	6	4	2
Fp5	48	30	18	12	6	4
Fp6	44	28	20	14	8	6

Çizelge 4.7. Nar sirkesinin zon çapları (mm)

Nar %	%100	%50	%25	%12,5	%6,25	%3,125
Fp1	40	32	28	16	14	10
Fp2	54	40	38	28	16	10
Fp3	41	33	28	17	9	-
Fp4	42	26	24	14	10	-
Fp5	46	36	30	10	10	-
Fp6	42	34	30	18	10	-

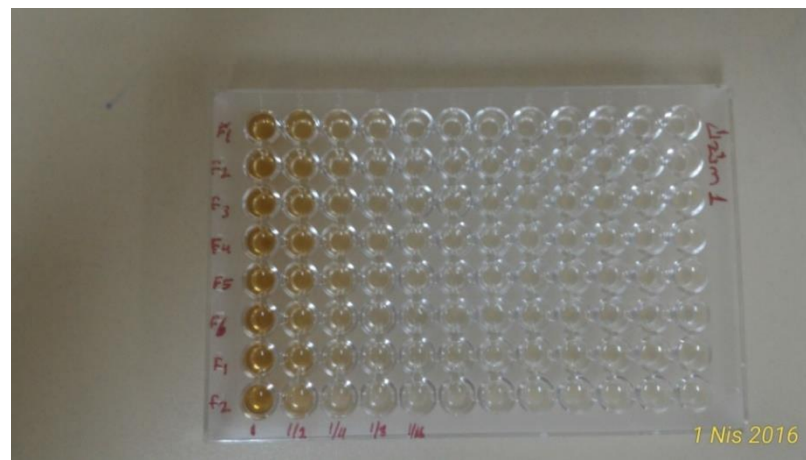
Çizelge 4.8. Elma sirkesinin zon çapları (mm)

Elma %	%100	%50	%25	%12,5	%6,25	%3,125
Fp1	32	22	20	10	6	-
Fp2	34	26	16	10	6	-
Fp3	39	21	15	7	5	-
Fp4	44	34	14	6	8	-
Fp5	50	32	22	12	10	6
Fp6	40	32	20	10	10	-

Yukarıdaki çizelgelarda sirkelerin zon çapları mm olarak verilmiştir. Çizelgelerden de anlaşılacağı gibi antibiyotik disklerin zon çapları ile sirkelerin ham ve seyreltilmiş halleri bile antibiyotik disklerin zon çaplarından daha yüksektir (Çizelge 4.2). Sirkeler arasında zon çapları değişiklik göstermekle birlikte sırası ile üzüm, nar ve elma sirkesidir. Ancak elma sirkesinin zon çapları ile antibiyotik disklerindeki en büyük 36 mm zon çapını geçtiği görülmüştür. Üzüm sirkesinde saf konsantrasyonda; antimikrobiyal zon çapları en düşük 36 mm, en yüksek 55 mm, nar sirkesinde en düşük 40 mm, en yüksek 54 mm, elma sirkesinde en düşük 32 mm, en yüksek 50 mm olarak tespit edilmiştir. Sirkeler dilüsyon oranları arttıkça zon çaplarında düşme olmuştur.

4.3. Mikrodilüsyon Metodu

MİK değeri mikroorganizmaların büyümenin olmadığı en düşük madde konsantrasyon olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.4 ve Çizelge 4.9).



Şekil 4.4. Sirkelerin *F. psychrophilum* 'a karşı mikrodilüsyon metodu

Üzüm sirkesinin *F. psychrophilum* için elde edilen MİK değerleri yapılırken iki paralel çalışılmış olup ELISA test okuyucusunda 1. gün inkübasyondan önce 24. ve 72. saatler sonrasında okuma yapılmış olup, tüm suşlar için *F. psychrophilum* absorbans değerleri en fazla 3. günde saptanmıştır (her biri için; $p < .05$; Çizelge 4.9). Bunun sebebi *F. psychrophilum*'un 48 ile 72. saatler arasında üremesidir. 72 saat sonra elde edilen MİK değerleri Çizelge 4.10, 4.11 ve Şekil 4.5'de verilmiştir. Üzüm sirkesinin Fp1-Fp6 suşlarında MİK değeri 31.25 µl/ml olarak saptanmıştır. Çizelge 4.10 görüldüğü gibi saf hali, 500 ve 250 µl/ml 'de yoğun olmasının sebebi ise üzüm sirkesinin kullanılan konsantrasyonlarda renginin koyu olmasından kaynaklanmaktadır.

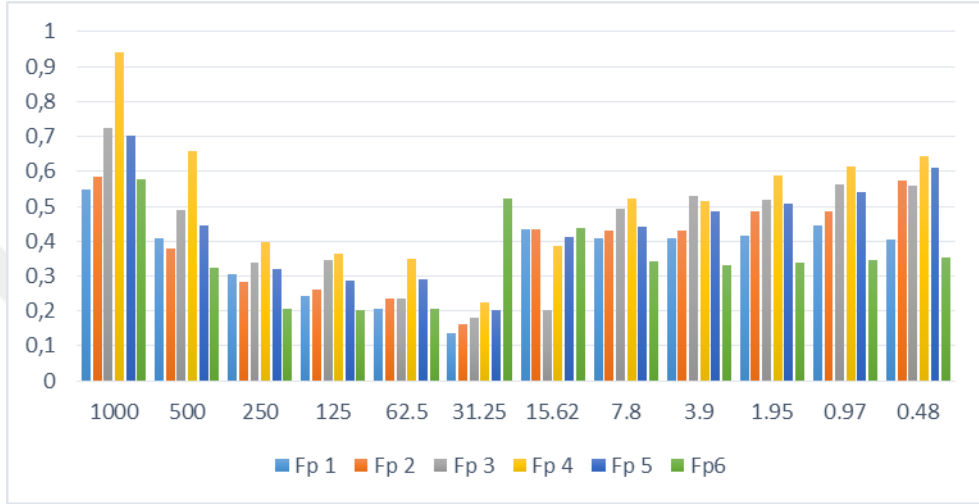
Çizelge 4.9. Üzüm sirkesinin MİK testinde 630 nm'de absorbans değerleri için varyans analizi sonuçları

Suşlar	n	MİK değeri Ort. ± SS	İstatistik Anova	PostHoc*
Fp1				
1. gün	12	0.195 ± 0.082	F = 10.650 $p = .000$	3. gün > 1. gün, 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.344 ± 0.090		
3. gün	12	0.363 ± 0.116		
Fp2				
1. gün	12	0.188 ± 0.077	F = 11.666 $p = .000$	3. gün > 1. gün, 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.330 ± 0.101		
3. gün	12	0.395 ± 0.134		
Fp3				
1. gün	12	0.241 ± 0.132	F = 5.990 $p = .006$	3. gün > 1. gün, 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.419 ± 0.146		
3. gün	12	0.431 ± 0.169		
Fp4				
1. gün	12	0.314 ± 0.202	F = 4.152 $p = .025$	3. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.495 ± 0.172		
3. gün	12	0.516 ± 0.190		
Fp5				
1. gün	12	0.218 ± 0.108	F = 10.320 $p = .000$	3. gün > 1. gün, 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.393 ± 0.115		
3. gün	12	0.436 ± 0.145		
Fp6				
1. gün	12	0.182 ± 0.106	F = 7.783 $p = .002$	3. gün > 1. gün, 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.314 ± 0.103		
3. gün	12	0.349 ± 0.118		

*Tukey testi

Çizelge 4.10. Üzüm sirkesinin MİK testinde 3. gün absorbands değerleri

3.gün µl/ml	1000	500	250	125	62.6	31.25	15.62	7.8	3.9	1.95	0.97	0.48
Fp1	0.547	0.407	0.304	0.242	0.208	0.138	0.434	0.407	0.407	0.417	0.444	0.406
Fp2	0.583	0.378	0.284	0.261	0.234	0.161	0.433	0.43	0.431	0.486	0.485	0.574
Fp3	0.726	0.49	0.339	0.345	0.235	0.18	0.202	0.492	0.529	0.52	0.562	0.558
Fp4	0.94	0.659	0.398	0.364	0.349	0.223	0.387	0.522	0.515	0.588	0.614	0.642
Fp5	0.703	0.445	0.319	0.286	0.289	0.202	0.412	0.44	0.484	0.507	0.541	0.609
Fp6	0.579	0.324	0.208	0.203	0.206	0.523	0.436	0.341	0.333	0.337	0.346	0.353



Şekil 4.5. Üzüm sirkesinin absorbands değerleri

Çizelge 4.11. Üzüm sirkesinin 3. gün *Flavobacterium psychrophilum* suşlarına karşı MİK değerleri

Üzüm Sirkesinin Miktar (µl/ml)	<i>Flavobacterium psychrophilum</i>					
	Fp1	Fp2	Fp3	Fp4	Fp	Fp6
1000	-	-	-	-	-	-
500	-	-	-	-	-	-
250	-	-	-	-	-	-
125	-	-	-	-	-	-
62,5	-	-	-	-	-	-
31,25	-	-	-	-	-	+
15,62	+	+	-	+	+	+
7,8	+	+	+	+	+	+
3,9	+	+	+	+	+	+
1,95	+	+	+	+	+	+
0,975	+	+	+	+	+	+
0,48	+	+	+	+	+	+

+ üreme var

- üreme yok

Elma sirkesinin *Flavobacterium psychrophilum* suşlarına karşı absorbands değerleri Çizelge 4.12, 4.13, 4.14 ve Şekil 4.5'de verilmiştir. Elma sirkesinin Fp1 - Fp6 suşlarında MİK değeri 31.25 µl/ml olarak saptanmıştır.

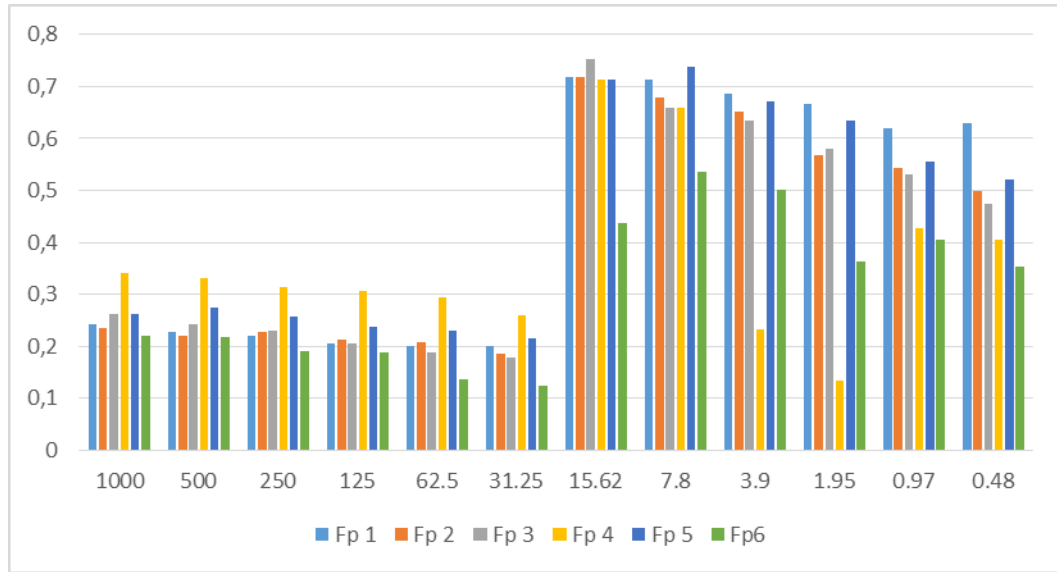
Çizelge 4.12. Elma sirkesinin MİK testinde 630 nm'de absorbands değerleri için varyans analizi sonuçları

Suşlar	N	MİK değeri Ort. ± SS	İstatistik Anova	PostHoc*
Fp1				
1. gün	12	0.138 ± 0.020	F = 9.570 p = .001	3. gün > 1. gün, 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.400 ± 0.209		
3. gün	12	0.446 ± 0.243		
Fp2				
1. gün	12	0.190 ± 0.178	F = 6.338 p = .005	3. gün > 1. gün, 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.365 ± 0.176		
3. gün	12	0.412 ± 0.214		
Fp3				
1. gün	12	0.147 ± 0.017	F = 9.358 p = .001	3. gün > 1. gün, 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.378 ± 0.182		
3. gün	12	0.411 ± 0.214		
Fp4				
1. gün	12	0.103 ± 0.014	F = 16.068 p = .000	3. gün > 1. gün; 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.337 ± 0.136		
3. gün	12	0.368 ± 0.167		
Fp5				
1. gün	12	0.056 ± 0.007	F = 21.136 p = .000	3. gün > 1. gün, 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.402 ± 0.174		
3. gün	12	0.442 ± 0.214		
Fp6				
1. gün	12	0.053 ± 0.004	F = 7.783 p = .002	3. gün > 1. gün, 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.266 ± 0.107		
3. gün	12	0.318 ± 0.161		

*Tukey testi

Çizelge 4.13. Elma sirkesinin MİK testinde 3. gün absorbands değerleri

	1000	500	250	125	62.6	31.25	15.62	7.8	3.9	1.95	0.97	0.48	1000
Fp1	0.242	0.227	0.219	0.206	0.201	0.2	0.719	0.741	0.687	0.667	0.619	0.63	
Fp2	0.236	0.22	0.227	0.213	0.208	0.185	0.719	0.678	0.651	0.567	0.544	0.5	
Fp3	0.263	0.242	0.23	0.206	0.187	0.177	0.753	0.66	0.634	0.58	0.531	0.474	
Fp4	0.341	0.332	0.315	0.306	0.293	0.259	0.714	0.659	0.232	0.134	0.428	0.405	
Fp5	0.262	0.275	0.256	0.237	0.229	0.215	0.714	0.739	0.672	0.634	0.556	0.52	
Fp6	0.221	0.217	0.19	0.187	0.137	0.124	0.588	0.535	0.502	0.362	0.402	0.353	



Şekil 4.6. Elma Sirkesinin MİK testinde absorbans değerleri

Çizelge 4.14. Elma sirkesinin 3. gün *Flavobacterium psychrophilum* suşlarına karşı MİK değerleri

Elma Sirkesinin Miktar (µl/ml)	<i>Flavobacterium psychrophilum</i>					
	Fp1	Fp2	Fp3	Fp4	Fp5	Fp6
1000	-	-	-	-	-	-
500	-	-	-	-	-	-
250	-	-	-	-	-	-
125	-	-	-	-	-	-
62,5	-	-	-	-	-	-
31,25	-	-	-	-	-	-
15,62	+	+	+	+	+	+
7,8	+	+	+	+	+	+
3,9	+	+	+	-	+	+
1,95	+	+	+	-	+	+
0,975	+	+	+	+	+	+
0,48	+	+	+	+	+	+

+ üreme var

- üreme yok

Nar sirkesinin *F. psychrophilum* suşlarına karşı absorbans değerleri Çizelge 4.15, 4.16, 4.17 ve Şekil 4.5'de verilmiştir. Nar sirkesinin Fp1-Fp6 suşlarında MİK değeri 15.62 µl/ml olarak saptanmıştır. Çizelge 4.16 görüldüğü gibi saf hali ve 500 µl/ml de absorbans değerinin yoğun olmasının sebebi ise nar sirkesinin kullanılan konsantrasyonlarda renginin koyu olmasından kaynaklanmaktadır.

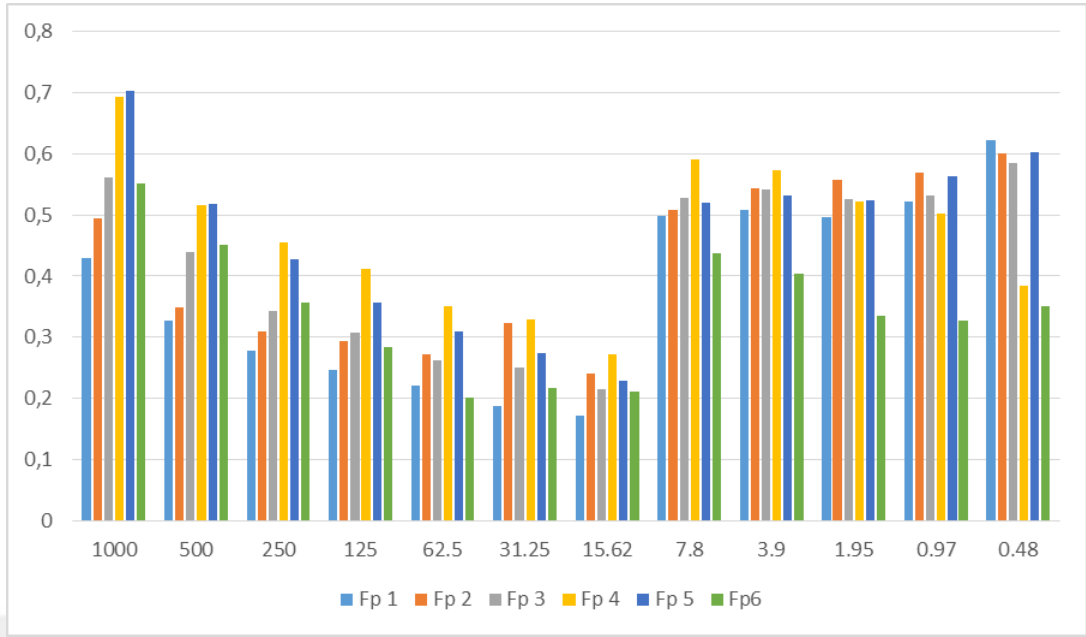
Çizelge 4.15. Nar sirkesinin MİK testinde 630 nm'de absorbands değerleri için varyans analizi sonuçları

Suşlar	N	M değeri Ort. ± SS	İstatistik Anova	PostHoc*
Fp1				
1. gün	12	0.163 ± 0.049	F = 10.988 p = .000	3. gün > 1. gün, 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.344 ± 0.128		
3. gün	12	0.375 ± 0.154		
Fp2				
1. gün	12	0.179 ± 0.050	F = 14.918 p = .000	3. gün > 1. gün, 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.369 ± 0.120		
3. gün	12	0.414 ± 0.143		
Fp3				
1. gün	12	0.216 ± 0.095	F = 10.949 p = .000	3. gün > 1. gün, 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.405 ± 0.122		
3. gün	12	0.424 ± 0.138		
Fp4				
1. gün	12	0.259 ± 0.109	F = 11.415 p = .000	3. gün > 1. gün; 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.433 ± 0.109		
3. gün	12	0.467 ± 0.122		
Fp5				
1. gün	12	0.226 ± 0.091	F = 12.536 p = .000	3. gün > 1. gün, 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.430 ± 0.134		
3. gün	12	0.463 ± 0.144		
Fp6				
1. gün	12	0.163 ± 0.065	F = 12.774 p = .000	3. gün > 1. gün, 2. gün > 1. Gün
2. gün	12	0.323 ± 0.107		
3. gün	12	0.344 ± 0.107		

*Tukey testi

Çizelge 4.16. Nar sirkesinin 3. gün absorbands değerleri

3.gün µl/ml	1000	500	250	125	62.6	31.25	15.62	7.8	3.9	1.95	0.97	0.48
Fp1	0.429	0.327	0.278	0.247	0.22	0.187	0.171	0.498	0.508	0.496	0.522	0.623
Fp2	0.495	0.349	0.309	0.293	0.271	0.232	0.241	0.509	0.544	0.557	0.57	0.6
Fp3	0.562	0.439	0.342	0.308	0.263	0.251	0.215	0.528	0.542	0.526	0.531	0.585
Fp4	0.694	0.517	0.456	0.411	0.35	0.329	0.272	0.592	0.574	0.523	0.503	0.385
Fp5	0.703	0.519	0.428	0.356	0.309	0.273	0.229	0.52	0.531	0.525	0.564	0.602
Fp6	0.552	0.452	0.357	0.283	0.2	0.217	0.211	0.438	0.404	0.335	0.328	0.351



Şekil 4.7. Nar sirkesinin absorbans değerleri

Çizelge 4.17. Nar sirkesinin 3. gün *Flavobacterium psychrophilum* suşlarına karşı MİK değerleri

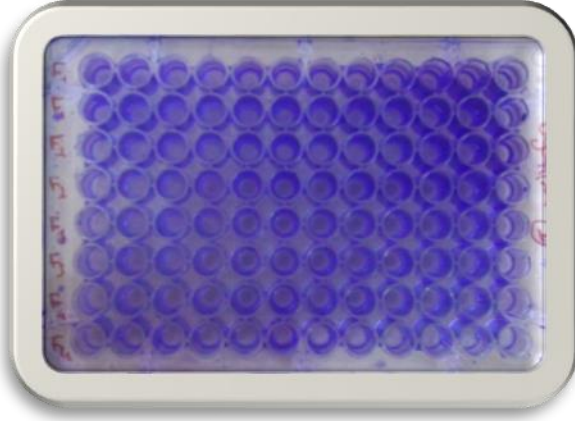
Nar Sirkesinin Miktar (µl/ml)	<i>Flavobacterium psychrophilum</i>					
	Fp1	Fp2	Fp3	Fp4	Fp5	Fp6
1000	-	-	-	-	-	-
500	-	-	-	-	-	-
250	-	-	-	-	-	-
125	-	-	-	-	-	-
62,5	-	-	-	-	-	-
31,25	-	-	-	-	-	-
15,62	-	-	-	-	-	-
7,8	+	+	+	+	+	+
3,9	+	+	+	+	+	+
1,95	+	+	+	+	+	+
0,975	+	+	+	+	+	+
0,48	+	+	+	+	+	+

+ üreme var

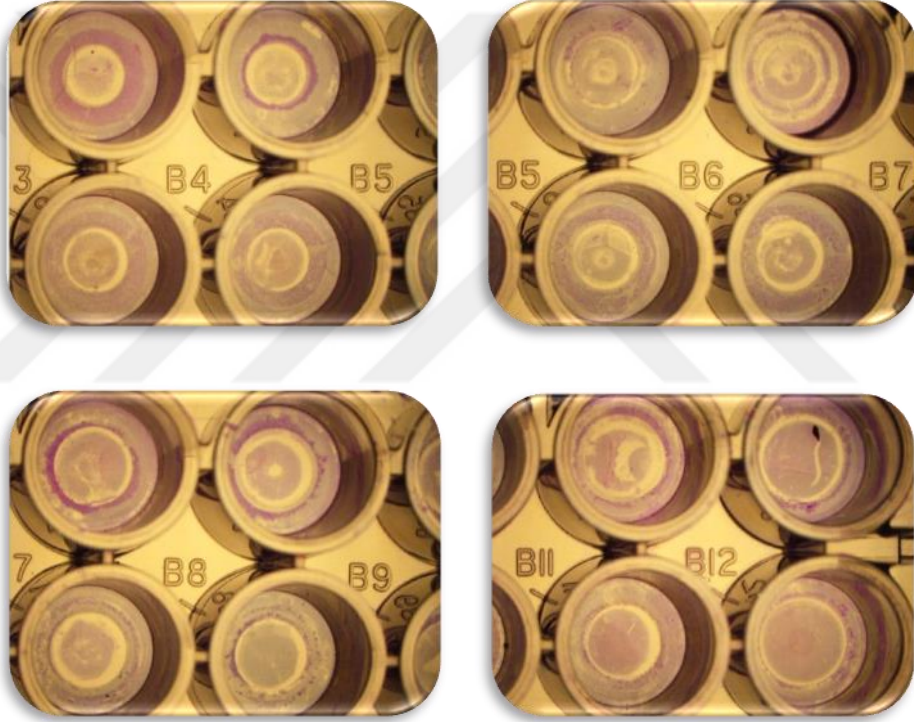
- üreme yok

4.4. Biyofilm Testi

Şekil 4.8.'de gösterilen kristal viyole ile boyanmış plakların Şekil 4.9'daki etanol ilavesinden sonraki absorbans ölçümüyle suşları için yapılan *F. psychrophilum* biyofilm testinde absorbans değerleri (Çizelge 4.18).



Şekil 4.8. Kristal viyole ile boyanmış plaklarda biyofilm oluşumu



Şekil 4.9. Kristal viyole ile boyanmış çukurlarda biyofilm oluşumu

Çizelge 4.18. *F. psychrophilum* biyofilmi için varyans analizi sonuçları

Suşlar	n	Biyofilm değeri Ort. ± SS	İstatistik Anova	PostHoc*
Fp1	12	0.230 ± 0.009	F = 42.937 p = .000	Fp2 > Fp5, Fp3 > Fp5, Fp4 > Fp5, Fp5 > Fp6, Fp5 > FpB1, Fp5 > FpB2, Fp5 > FpB3, Fp5 > FpB4
Fp2	12	0.330 ± 0.065		
Fp3	12	0.346 ± 0.055		
Fp4	12	0.347 ± 0.078		
Fp5	12	0.265 ± 0.017		
Fp6	12	0.213 ± 0.006		
FpB1	12	0.156 ± 0.048		
FpB2	12	0.018 ± 0.006		
FpB3	12	0.205 ± 0.014		
FpB4	12	0.186 ± 0.002		
Toplam	120	0.247 ± 0.076		

*Tukey testi

Çizelge 4.19. *Flavobacterium psychrophilum* biyofilmi için varyans analizi sonuçları

Suşlar	Sum of Squares	df	MeanSquare	F	P
Gruplar arası	.546	9	.061	42.937	.000
Gruplar içi	.156	110	.001		
Toplam	.702	119			

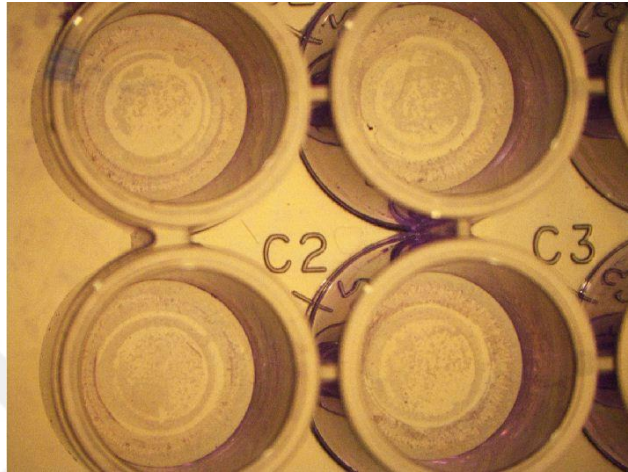
Çizelge 4.20. *Flavobacterium psychrophilum* biyofilm değerleri

Suş	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Fp1	0.214	0.234	0.245	0.237	0.225	0.235	0.238	0.237	0.235	0.229	0.222	0.218
Fp2	0.207	0.338	0.395	0.375	0.353	0.305	0.32	0.369	0.347	0.344	0.412	0.206
Fp3	0.262	0.264	0.381	0.391	0.404	0.397	0.377	0.375	0.357	0.375	0.307	0.265
Fp4	0.289	0.272	0.285	0.423	0.425	0.375	0.429	0.439	0.417	0.316	0.27	0.225
Fp5	0.269	0.268	0.281	0.278	0.278	0.263	0.269	0.281	0.229	0.234	0.266	0.271
Fp6	0.212	0.214	0.219	0.215	0.217	0.217	0.218	0.218	0.198	0.218	0.206	0.213
FpB1	0.158	0.154	0.152	0.159	0.161	0.154	0.15	0.152	0.165	0.154	0.159	0.164
FpB2	0.192	0.187	0.191	0.189	0.182	0.191	0.177	0.183	0.19	0.196	0.198	0.197
FpB3	0.201	0.198	0.196	0.249	0.205	0.206	0.202	0.204	0.197	0.197	0.206	0.199
FpB4	0.186	0.185	0.186	0.181	0.184	0.187	0.186	0.191	0.185	0.187	0.188	0.188

Biyofilm sonuçlarına göre *F. psychrophilum* için Muğla bölgesinden elde edilen suşun (Fp4) bir günlük tutunma gücü diğer suşlara göre daha fazladır (F = 42.937; p = .000). *F. psychrophilum* suşların tutunma sırası ile Fp4, Fp3, Fp2, Fp5, Fp1, Fp6, FpB3, FpB4, FpB1 ve FpB2 (Çizelge 4.18) olarak belirlenmiştir.

4.5. Adezyon Testi

Adezyon testi sonuçlarına göre *F. psychrophilum* için Muğla bölgesinden elde edilen suşun (Fp5) bir saatlik yüzey yapışma gücü diğer suşlara göre daha fazladır (Çizelge 4.21) ($F = 49.035$; $p = .000$).



Şekil 4.10. *F. psychrophilum* çukurlarda adezyon oluşumu

Çizelge 4.21. *Flavobacterium psychrophilum* adezyon testi için varyans analizi sonuçları

Suşlar	N	Adezyon değeri Ort. \pm SS	İstatistik Anova	PostHoc*
Fp1	16	0.058 \pm 0.007	$F = 49.035$ $p = .000$	Fp5 > Fp1, Fp5 > Fp2, Fp5 > Fp3, Fp5 > Fp4, Fp5 > Fp6
Fp2	16	0.058 \pm 0.004		
Fp3	16	0.063 \pm 0.006		
Fp4	16	0.066 \pm 0.008		
Fp5	16	0.087 \pm 0.009		
Fp6	16	0.052 \pm 0.004		
Toplam	96	0.064 \pm 0.013		

*Tukey testi

Çizelge 4.22. *Flavobacterium psychrophilum* adezyon testi için varyans analizi sonuçları

Suşlar	Sum of Squares	df	MeanSquare	F	p
Gruplar arası	.012	5	.002	49.035	.000
Gruplar içi	.004	90	.000		
Toplam	.017	95			

Çizelge 4.23. *F. psychrophilum* adezyon değerleri

Fp1	Fp1	Fp2	Fp2	F3	F3	F4	F4	F5	F5	F6	F6
0.048	0.05	0.063	0.048	0.056	0.059	0.067	0.064	0.079	0.091	0.051	0.054
0.057	0.06	0.061	0.053	0.056	0.054	0.061	0.064	0.083	0.086	0.051	0.061
0.057	0.055	0.06	0.058	0.062	0.058	0.083	0.064	0.085	0.096	0.045	0.057
0.057	0.067	0.062	0.063	0.075	0.068	0.051	0.068	0.081	0.084	0.045	0.051
0.058	0.066	0.06	0.057	0.07	0.069	0.07	0.069	0.098	0.093	0.047	0.058
0.054	0.06	0.059	0.059	0.059	0.067	0.058	0.053	0.065	0.08	0.059	0.054
0.069	0.075	0.058	0.052	0.062	0.066	0.071	0.073	0.089	0.101	0.055	0.05
0.05	0.06	0.061	0.054	0.075	0.067	0.078	0.074	0.091	0.099	0.049	0.051

4.6. Sirkelerin Adezyon Oluşturmasına Etkisi

Elma, nar ve üzüm sirkesinin *F. psychrophilum* suşlarında adezyon oluşumu etkisi belirlenmiştir. Sirkelerin 500, 250 ve 125 µl/ml dilüsyonlarından 100 µl ilave edilerek yapılan testte sirkelerin adezyon oluşumu engellediği gözlenmiştir (Şekil 4.11, Çizelge 4.24). En etkili elma sirkesi buna takibinde üzüm sirkesi tespit edilmiştir. Nar sirkesinin ise adezyon oluşumuna etkili olmadığı bulunmuştur.



Şekil 4.11 Sirkelerin adezyon oluşuma engel olması

Çizelge 4.24. Sirkelerin adezyon oluşumu üzerine etkisi

Adezyon % µl/ml	Üzüm			Elma			Nar		
	500	250	125	500	250	125	500	250	125
Fp1	0.038	0.039	0.037	0.039	0.035	0.038	0.082	0.072	0.059
Fp2	0.039	0.037	0.037	0.036	0.036	0.037	0.072	0.077	0.056
Fp3	0.049	0.041	0.039	0.04	0.04	0.044	0.1	0.073	0.064
Fp4	0.042	0.041	0.039	0.038	0.037	0.05	0.087	0.066	0.044
Fp5	0.048	0.045	0.04	0.043	0.043	0.041	0.068	0.05	0.044
Fp6	0.076	0.038	0.035	0.036	0.037	0.037	0.043	0.036	0.036

F. psychrophilum suşlarına eklenen 500, 250 ve 125 µl/ml sirke dilüsyonları ELISA test okuyucunda elde edilen bulgular sayesinde 500 dilüsyonda elma sirkesi Fp2 ve Fp6 suşlarına en etkiliği olduğu, üzüm sirkesinde 500 µl/ml 'de Fp1 suşuna ve nar sirkesinde Fp6 suşunda en az tutunma sağlanmıştır. 500 µl/ml oranında sirkelerin en etkiliği sırası ile elma, üzüm ve nar sirkesi adezyon oluşuma engel olmaktadır. 250 µl/ml dilüsyonunda; elma, üzüm ve nar sirkesi etkili iken, 125 µl/ml dilüsyonunda sırası ile üzüm, elma ve nar sirkesi adezyon oluşumunu engellemesi belirlenmiştir (Çizelge 4.24).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gökkuşuğu alabalığı fry sendromu (RTFS) ve bakteriyel soğuksu hastalığına (BCWD) sebep olan *F. psychrophilum*, salmonid kültüründe önemli ekonomik kayıplardan sorumludur (Nematollahi vd., 2003). Türkiye'de *F. psychrophilum* ilk olarak 1997 yılında gökkuşuğu alabalığında izole edilmiştir (Balta F.,1997). Daha sonra, Türkiye'de çeşitli coğrafi bölgeler arasında geniş dağılım göstermiştir (Korun vd., 2001; Diler vd., 2003; ; Didinen vd., 2005; Boyacıoğlu 2007; Kum vd., 2008; Kayis vd., 2009; Kubilay vd., 2009).

Yapılan bu çalışmada; *F. psychrophilum* suşlarının tetrasiklin, nitrofurantoin, kanamisin, penisilin G antibiyotiklerine karşı %100 dirençli olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan suşların ampisillin, nalidiksik asit, oksalidik asit antibiyotik disklerine karşı %83.4 oranı ile duyarlı bulunmuştur (Çizelge 4.5). Suşların tamamının duyarlı olduğu antibiyotik tespit edilememiştir. Ondört farklı antibiyotiğe karşı direnç gösteren suş Fp5'dir. On farklı antibiyotiğe karşı duyarlılık gösteren suş; Fp2 dir (Çizelge 4.4). Suşlar arasında antimikrobiyal direnç arasında farklılık görülmüştür. Bu farklılık bölgeler arasındaki farklı antibiyotik kullanılmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmada 6 *F. psychrophilum* suşun penisilin, nitrofuran, eritromisin, amoksisilin-klavulanik asit ve tetrasikline karşı dirençli olduğu ancak kloramfenikol, gentamisin'e karşı duyarlı olarak tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada *F. psychrophilum* suşları nitrofuran (%100), eritromisin (%66.6), tetrasiklin (%100), penisilin (%100), ampisillin (%83.4), kanamisin (%100) ve

sulfamethazine+trimethoprim (%83.4) karşı dirençli olduğu ancak oksolinik asit(%83.4), amoksisilin- klavulanik (%66.6), gentamisin (%66.6), kloramfenikol (%66.6) ve enrofloksasin (%83.4) karşı duyarlıdır. *F. psychrophilum* antibiyotik direnç profilleri Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde birçok çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda oldukça değişken antibiyotik dirençlilik profilleri gözlenmiştir. Balta 1997 yaptığı çalışmada; *F. psychrophilum* izolatlarının nitrofuranlara duyarlı olduğunu bildirmiş ancak flumequin, sülfanamidlere ve oksolinik aside dirençli olduğunu tespit etmiştir. Danimarka'da mikrodilüsyon testinde 387 *F. psychrophilum* izolatları amoksisilin (% 11.6), oksolinik asit (% 65.9), oksitetrasiklin (% 67.7) ve sulfamethazine+trimethoprim (% 98.2) dirençli olduğu tespit edilmiştir (Bruun vd., 2000). Diler vd., 2003'de yaptıkları araştırmada iki *F. psychrophilum* izolatının amoksisilin-klavulanik asit, oksitetrasiklin ve gentamisin duyarlı ancak trimetoprim'e dirençli olduğu bildirilmiştir. Başka bir çalışmada, Doğu Anadolu'da gökkuşuğu alabalığından izole edilen 5 *F. psychrophilum* suşunun eritromisin, gentamisin, nitrofuran ve amoksisilin-klavulanik asit tetrasiklinler duyarlı olduğu bildirilmiştir. Ancak kloramfenikol ve penisiline dirençli olduğu saptanmıştır (İspir vd., 2004). Akdeniz Bölgesi'nde farklı salgınlardan izole edilmiş 13 *F. psychrophilum* suşunun; enrofloksasin (% 23), amoksisilin (% 46.2), eritromisin (% 61.5), kanamisin (% 30.8), sefoperazon (% 46.2) ve oksolinik asit (% 53.8) dirençli olduğu tespit edilmiştir (Didinen vd., 2005). Boyacıoğlu 2007 yılında Muğla ilinde izole edilen 20 *F. psychrophilum* suşunun ampisilin (%95), sulfametoksazol (% 95), eritromisin (% 45), oksitetrasiklin (% 20) dirençli olduğunu fakat enrofloksasin (% 100) duyarlı olduğu bildirilmiştir. Kum vd., 2008, Doğu Ege Bölgesi'nde izole edilen *F. psychrophilum* 20 suşunda antibiyotik direnç profilleri disk difüzyon ve agar dilüsyon teknikleri ile belirlemişlerdir. *F. psychrophilum* izolatlarının neomisin, ampisilin, amoksisilin ve kanamisine karşı dirençli olduğu bulmuşlardır. Ayrıca, bu suşlar %80 eritromisin, %40 cefaperazone, %20 oksalinik asit ve sulfamethazine+trimethoprim dirençli olduğu, tüm izolatların oksitetrasiklin ve enrofloxacin'e %100 duyarlı olduğunu rapor etmişlerdir. Valdebenito ve Avendano-Herrera (2009) Şili'de izole edilen 20 *F. psychrophilum* agar disk difüzyon testinde sulfametoksazole +trimetoprim dirençli iken amoksisiline karşı oldukça duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada, broth mikro dilüsyon metodu ile 25 *F. psychrophilum* İspanya izolati (>% 80) oksitetrasiklin'e dirençli olarak tespit edilmiştir (Del Cerro vd., 2010). Ancak, Rangdale vd., 1997 ve Durmaz vd., 2009

yaptıkları çalışmalarda enrofloksasine karşı duyarlı olduğunu bildirmişler bu bulgu mevcut çalışmayla benzerlik göstermektedir.

Boyacıoğlu vd., 2012; *F. psychrophilum* izolatlarının (%70) FFC duyarlı olduğunu RTFS'nin kontrol etmede oldukça etkili olduğunu belirtmişlerdir. *In vitro* çalışmalarında FFC kullanıldığında ikinci günden sonra ölümlerin azaldığı ve FFC direncinin henüz oluşmadığı bildirilmiştir. Florfenikol *F. psychrophilum* direnci nadiren İngiltere'de gözlemlendiği bildirilmiştir (Rangdale vd., 1997). Nematollahi vd, (2003) salmonidlerde *F. psychrophilum* ENR veya FFC herhangi bir direnç oluşturmadığı belirtmiştir (Michel vd., 2003). Fransa ve Avustralya'da FFC kullanılmasına rağmen *F. psychrophilum* direncin çok yaygın hale gelmediği bildirilmiştir (Akinbowale vd., 2006).

Boyacıoğlu vd. 2015; farklı işletmelerdeki kuluçkahanelerden izole edilen antibiyotik duyarlılık testi için, gentamisine dirençli oksolinik asit, amoksisilin oksitetrasiklin ve florfenikolün duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada ise florfenikole karşı dirençli bulunmuştur. Mevcut çalışmada FFC karşı %83.4 dirençli bulunması diğer araştırmacılar arasında farklılık göstermiştir. Bu çalışma ve diğer çalışmalar arasındaki değişken direnç profilleri farklı antibiyotiklerin yaygın kullanımı veya suşlar arasındaki farklılıklar nedeniyle olabileceği düşünülmüştür. Farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda da *F. psychrophilum* izolatları arasında direnç profilleri farklılıklar göstermiştir. *F. psychrophilum* antibiyotik direnci profillerinde farklılıklar, aynı zamanda çalışmalarda farklı tekniklerin kullanımına bağlı da şekillenebilir. Ancak, artan direnç sorunları nedeniyle kültür balıkçılığında tedavide kullanılacak antibiyotiğin belirlenmesinde antibiyotik duyarlılık testi şarttır. Dirençli bakterilerin ortaya çıkması, antibiyotiklerin uygunsuz kullanımı sonucu oluşmaktadır. Kısa bir süre tedaviden sonra dirençli bakteri ve hastalığın tekrarlayan salgınlar oluşması nedeni ile, alternatif tedaviler ve profilaktik programları üzerine araştırmalar önem kazanmıştır.

Kubilay vd., 2016'da yaptıkları bir çalışmada, *F. psychrophilum* suşlarının amoksisilin/klavulanik asit, penisilin, florfenicol, amoksisilin, klindamisin,

kloramfenikol, ampisilin, tetrasiklin, streptomisin, eritromisin ve florfenicol antibiyotiklerine duyarlı, sulfadiyazin, sülfametoksazol / trimetoprim, oksolinik asit, vankomisin, trimetoprim/ sulfadiyazin, gentamisin, kanamisin, nalidiksik asit, oksasilin, enrofloksasin, flumequin, tobramisin ve sülfonamidlere karşı dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Tüm bu kimyasal maddelerin yerine çevre, balık ve insan sağlığı açısından hiçbir zararlı etkisi olmayan doğal maddelerin kullanımının araştırılması gerekmektedir. Sirke çok eski yıllardan beri kullanılmakta olup insan sağlığı açısından birçok faydasının olduğu bilinmektedir. Sirke antimikrobiyal ve antibakteriyel özelliklere sahiptir (Sengun ve Karapinar, 2005). Bu nedenle sebze ve meyvelerin dezenfeksiyonu için sirkeli su yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle balık patojenlerine karşı sirkenin kullanımı üzerine hemen hemen hiçbir çalışma yapılmamıştır.

Çalışmamızda üzüm, elma ve nar sirkeleri *F. psychrophilum* suş'una karşı 1000, 500, 250, 125, 62.6 ve 31.25 µl/ml seyreltilmiş halleri uygulanmıştır. Sırası ile Üzüm (55mm), Nar (54mm) ve Elma sirkesi (50mm) zon çapları ölçülmüştür. *F. psychrophilum* suşunun etkili antibiyotik florfenikol olarak bilinmektedir. Bu çalışmada florfenikol zon çapı 20 mm - 4 mm arasındadır. Bulgulardan anlaşılacağı gibi antibakteriyel aktivite değerlerine bakıldığında *F. psychrophilum* patojenine karşı en iyi antibakteriyel aktivite üzüm, takiben nar ve son olarak elma sirkesi olarak saptanmıştır. Florfenikol ile kıyaslama yapıldığında sirkelerin daha güçlü oldukları belirlenmiştir. Bu çalışmadan anlaşılacağı gibi sirkelerin antibiyotikten daha yüksek bir zon çapına sahip oldukları görülmekte, doğal ve katkısız olması ile de *F. psychrophilum* a karşı kuluçkahanelerde kullanılabileceği anlaşılabilmektedir.

Ural vd., 2011'de yaptıkları çalışmada; sirkenin 2, 4, 8 ve 12 ml/L' lik konsantrasyonları alabalık yumurtalarına yaklaşık 8.4 °C su sıcaklığında uygulanmıştır. Yumurta ve larvalarda yaşama oranına göre, en iyi sonuç sirkenin 12 ml/L' lik konsantrasyonunun uygun olduğu belirlenmiştir. Ancak gruplar arasında istatistiki olarak fark bulunamamıştır ($p > 0.05$). Bunun nedeni su sıcaklığının alabalık kuluçka sistemleri için optimal kabul edilen değerler arasında olmasıdır. Tüm gruplarda fazla bir mantarlaşma gözlenmemiştir. Su sıcaklığının artması

mantarlaşma oranını da artıracadığından, daha yüksek sirke konsantrasyonlarının veya uygulama sıklığının artırılması gerekebileceğini bildirmişlerdir. Sirkenin tamamen doğal olması, kolay elde edilebilir olması ve diğer kimyasallara göre daha ekonomik olması nedenlerinden dolayı alabalık yumurtalarının mantarlaşmaya karşı dezenfeksiyonunda sirke kullanılabileceği belirtilmiştir.

Sirke, asetik asit yönünden zengin içeriği nedeniyle sirkenin bakteriyel gıda zehirlenmesini önlemede belirgin bir şekilde etkili olduğu belirtilmektedir. Sirke, gıda ile taşınan patojenlere karşı en güçlü bakterisidal aktivite göstermiştir. Sirke *L. monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, *S. sonnei* ve *Yersinia sp.* gıda patojenlerinin sayılarını azaltmıştır. Sirkenin güçlü antibakteriyel aktivitesinin yüksek asetik asit içeriği nedeniyle olduğu bildirilmektedir (Makino vd., 2000).

Kubilay vd., 2015 yılında yaptıkları çalışmada *Vibrio anguillarum*, *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus epidermidis*, *Lactococcus garvieae* balık patojenlerine karşı antimikrobiyal aktiviteyi çalışmışlardır. Nar sirkesinin test edilen bu patojenlere karşı belirgin bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Nar sirkesi ile yapılan agar diffüzyon testinde inhibisyon zon çapları *V. anguillarum* (21.5 mm), *S. epidermidis* (19.5mm), *A. hydrophila* (ATCC 7966) (18mm), *Y. ruckeri* (17 mm), *L. garvieae* (10.5 mm) ve *L. garvieae* (ATCC 43921) suşunda (13.5 mm) olarak tespit etmişlerdir. Üzüm sirkesinin ise test edilen balık patojenlerine karşı orta derecede antimikrobiyal aktivite (8.5 mm - 15 mm arasında) gösterdiği bildirilmiştir. Üzüm ve nar sirkesi ile yapılan bu çalışmada balık patojenlerinden en etkili *Vibrio anguillarum* patojenine karşı, 22 mm bulunur iken üzüm sirkesinde de 15 mm aynı patojene karşı antogonistik etki tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada sirkelerin *F. psychrophilum* karşı üzüm 55 mm, nar ise 54 mm çok daha etkili olduğu bulunmuştur. *F. psychrophilum* karşı güçlü bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir (izelge 4.6, 4.7).

Sirkelerde MİK değerleri en fazla 3. günde saptanmıştır. Üzüm sirkesinin *F. psychrophilum* için elde edilen MİK değerleri 31.25 µl/ml olarak bulunmuştur. Elma sirkesinin MİK değerleri 31.25 µl/ml olarak saptanmıştır. Nar sirkesinde ise 15.62 µl/ml seyreltisinde saptanılmıştır.

Patojenik *F. psychrophilum* pürüzsüz polistiren yüzeyleri daha yapışkan olduğu bildirilmiştir (Högfors-Rönholm, 2015). *F. psychrophilum* (Sundell ve Wiklund, 2011), *Flavobacterium columnare* (Cai vd., 2013) ve *Flavobacterium johnsoniae* (Basson vd., 2008) biyofilm oluşturdıkları kanıtlamıştır. Biyofilm oluşturma kabiliyetinde olan bakteriler antibiyotiklere karşı daha dirençlidirler (Costerton vd., 1999). Biyofilm oluşumu bakterinin bir substrata yapışması ile başlar, bu nedenle biyofilm oluşumunu anlayabilmek ve böylece konağın enfeksiyonunu önlemek için ; farklı substratlarda bakteri adezyonunun arkasındaki mekanizmaları araştırmak önemlidir (Klemm vd., 2010). Yapışma deneyleri sonucunda *F. psychrophilum* düz bölümlere karşılık gelen engebeli bölümler ile karşılaştırıldığında, düz polistiren yüzeylerine daha iyi ve belirgin bir şekilde yapışma kabiliyetinde olduğu belirlenmiştir (Högfors-Rönholm, 2015).

Biyofilm sonuçlarına göre *F. psychrophilum* tutunma gücü Fp1 suşunda fazla iken Fp2 suşunda daha az olduğu gözlenmiştir. Biyofilm sonuçlarına göre *F. psychrophilum* için Muğla bölgesinden elde edilen suşun (Fp1) bir günlük tutunma gücü diğer suşlara göre daha fazladır ($F = 20.871$; $p = .000$). *F. psychrophilum* suşların tutunma sırası ile Fp1, Fp5, Fp6, Fp3, Fp4 ve Fp2 olarak belirlenmiştir. Adezyon testi sonuçlarına göre *F. psychrophilum* için Muğla bölgesinden elde edilen suşun (Fp5) bir saatlik yüzey tutunma gücü diğer suşlara göre daha fazladır.

Bu çalışmada *F. psychrophilum* suşlarının biyofilm ve adezyon yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular Högfors-Rönholm vd. (2015) bulguları ile benzerlik göstermiştir.

F. psychrophilum suşlarına eklenen 500 µl/ml sirke dilüsyonlarında en etkili elma sirkesi Fp2 ve Fp6 suşlarına 250 µl/ml dilüsyonunda; üzüm sirkesi, Fp2 suşuna 125 µl/ml dilüsyonunda üzüm sirkesi, Fp6 suşunda adezyon oluşumu engellemiştir. Bu bulgulardan sonuçla sirkelerin adezyon oluşumuna engel olduğu tespit edilmiştir. Sirkeler arasında sırasıyla elma, üzüm ve nar sirkesi adezyona engel olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada en önemli bir bulguda ELISA test okuyucunda üzüm sirkesinin yoğunluk farkı ile boyama sonrasında ELISA okuyucusundaki yoğunlarda bu yüzden olabileceği belirlenmiştir. Nar sirkesinde de bu yoğunluk farkı 500 µl/ml dilüsyonunda belirgin bir şekilde görülmektedir.

Antibiyotiğe alternatif olarak tıbbi bitkilerle tedavi uygulamaları, güvenilir ve yeni bir teknik olması yanı sıra yakın gelecekte balık çiftlikleri için etkili gelişen bir uygulama olacaktır (Wu. G., 2007). Yapılan araştırmalar incelendiğinde çeşitli infeksiyöz etkenlere karşı tıbbi bitki ekstraktlarının kullanımı gün geçtikçe artış gösterdiği gözlenmiştir. Tıbbi bitkilerle yapılan araştırmalar *İn vitro* olarak antimikrobiyal etkinin incelenmesi yanı sıra *İn vivo* olarak ta balıklarda immun sistemin uyarılması ve patojenlere karşı direnç üzerindeki etkileri incelenmektedir. Tıbbi bitkilerin çoğu temelde bağışıklık sistemini uyarıcı etkiye de sahip olup bu bitkilerin yaprak, kök, tohum kısımlarından farklı çözücüler kullanarak hazırlanan ekstraktlar ya yem içerisine ilave edilerek ya da enjeksiyonla canlıya ulaştırılmaktadır.

Üzüm, elma ve nar sirkesi için pozitif kontrol olarak kullandığımız FFC antibiyotiğine karşı direnç geliştiği ve bu antibiyotik sirkelerin zon çaplarından daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu bulguda pratikte sirkelerin alternatif olabileceğini göstermektedir.

Günümüzde bitkilerin tüberkülozdan sarılık hastalığına kadar bir çok hastalıkta kullanıldığı, deri lezyonlarında antiseptik olarak ve sindirim sistemi hastalıklarında halk ilacı olarak kullanıldığı bilinmektedir (Erenler, 1997). Bu yüzden antibiyotiklere alternatif olarak bitkilerin ve bitkisel ürünlerin geleneksel antimikrobiyaller olarak kullanılmaları önerilmektedir. Aynı zamanda sentetik kökenli maddelerin yan etkilerinin daha fazla olması nedeniyle bitki ve bitkisel ürünlerin kullanılması bu yönden avantajlıdır.

Sonuç olarak, bu araştırma ile sirkelerin *F. psychrophilum* karşı antibakteriyel aktivitesi belirlenmiştir. Özellikle üzüm sirkesinin en fazla etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca sirkelerin virülens mekanizmasında önemli olan adezyon üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. *F. psychrophilum* sirkeler bakteriyel hastalıklarda doğal bir tedavi edici olarak antibiyotiklere alternatif olarak kullanılabilir. Özellikle üzüm sirkesinin *F. psychrophilum*'un neden olduğu soğuksu hastalığının tedavisinde kullanılabilme potansiyeli olduğu düşünölmektedir. Bu tür uygulama dirençli bakteri türlerinin gelişmesini engelleyecek, balık, insan ve çevre sağlığı açısından da

antibiyotik kullanımını azaltacaktır. Organik balık yetiştiriciliğinde doğal antimikrobiyal madde olarak değerlendirilebilecektir.

Bundan sonra yapılacak çalışmalarda sirkelerin aktif maddesinin belirlenmesi, balık üzerinde toksik etkisi, immunostimulant etkisi *In vivo* test çalışmaları ile yapılması gerekmektedir. Çok uzun yıllardan beridir hastalıkların tedavisinde kullanılan sirkelerin balık hastalıklarının tedavisinde de kullanılabilme potansiyeli olduğu belirlenmiştir.



6. KAYNAKLAR

- Akinbowale, O. L., Peng, H., & Barton, M. D. 2006. Antimicrobial Resistance in Bacteria Isolated from Aquaculture Sources in Australia. *Journal of Applied Microbiology*, 100(5), 1103-1113.
- Alonso, A.M., Guillen, D.A., Barroso, C.G., Puertas, B. ve Garcia, A.,2002. Determination of Antioxidant Activity of Wine Byproducts and its Correlation with Polyphenolic Content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5832-5836.
- Altun, H.U., ve Şener, B., 2008., Biyofilm İnfeksiyonları ve Antibiyotik Direnci., *Derleme Hacettepe Tıp Dergisi*; 39: 82-88
- Alvarez, B., Secades, P., Prieto, M., McBride, M. J., & Guijarro, J. A.2006. A mutation in *Flavobacterium psychrophilum* tlpB inhibits Gliding Motility and Induces Biofilm Formation. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(6), 4044-4053. ISO 690
- Amico, V., Napoli, E.M., Renda, A., Ruberto, G., Spatafora, C. ve Tringali, C. 2004. Constituents of Grape Pomace from the Sicilian Cultivar ‘‘Nerello Mascalese’’. *Food Chemistry*, 88, 599-607.
- Anonim, 2009. [http://www.tuik.gov.tr/Veri Bilgi](http://www.tuik.gov.tr/Veri_Bilgi). 11(5), 182-183.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 2000. Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis, 17th edition. AOAC, Washington DC.
- Arnous, A., Makris, D.P. ve Kefalas, P. 2001. Effect of Principal Polyphenolic Components in Relation to Antioxidant Characteristics of Aged Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5736-5742.
- Arda, M., Seçer, S., & Sarıeyyüpoğlu, M. 2005. Balık Hastalıkları (Vol. 1. Baskı). Ankara: Medisan Yayınevi 227s.
- Austin, B., & Austin, D. A. 2007. Bacterial Fish Pathogens: Disease of Farmed and wild Fish. Springer Science & Business Media.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79.
- Balta F.1997. Kültürü yapılan alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) görülen *Flexibacter psychrophila* Enfeksiyonu. IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. 17-19 Eylül 1997. Eğirdir/Isparta. 641-648.
- Balta. F., Çağırğan, H. 2007. Levreklerde (*Dicentrachus labrax* L., 1758) Sağaltım Sonrası Oksitetrasiklinin Kas ve Derideki Rezidüsünün Belirlenmesi. E.Ü. Su ÜrünleriDergisi, 24 (1-2): 173-178.

- Barker GA, Smith SN, Bromage, NR. 1989. The Bacterial Flora of Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Richardson, and Brown Trout, *Salmo trutta* L., Eggs and its Relationship to Developmental Succes. J Fish Dis, 12, 281-293
- Bartolome, B., Nunez, V., Monagas, M. ve Gomez-Cordoves, C. 2004. *In vitro* antioxidant activity of red grape skins. European Food Research and Technology, 218, 173-177.
- Basson, A., Flemming, L. A., & Chenia, H. Y. 2008. Evaluation of Adherence, Hydrophobicity, Aggregation, and Biofilm Development of *Flavobacterium johnsoniae*-like isolates. Microbial Ecology, 55(1), 1-14.
- Bernardet, J. F., & Kerouault, B. 1989. Phenotypic and Genomic Studies of "*Cytophaga psychrophila*" Isolated from Diseased Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in France. Applied and Environmental Microbiology, 55(7), 1796-1800.
- Bjorklund, H., Bylund, G., 1990. Temperature-related Absorption and Excretion of Oxytetracycline in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri* R.). Aquaculture 84, 363-372.
- Boran, Ş., 2009. Ülkemizde Kültür Balıkçılığı, Sorunları ve Çözüm Önerileri AR&GE Temmuz bülteni 23-27.
- Boyacıoğlu, M., 2007. Gökkuşluğu Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) RTFS'ye(Rainbow Trout Fry Syndrome) neden olan *Flavobacterium psychrophilum* Etkeninin İzolasyonu ve Antibakteriyel Sağlık Seçeneğinin Belirlenmesi. T.C. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, AYDIN.
- Boyacıoğlu, M., & Akar, F. 2012. Isolation of *Flavobacterium psychrophilum* Causing Rainbow Trout Fry Syndrome and Determination of an Effective Antibacterial Treatment in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fry. Kafkas Univ Vet Fak, 18, 197-203.
- Boyacıoğlu, M., Kum, C., KIRKAN, Ş., Sekkin, S., PARIN, U., KARADEMİR, Ü., & Akar, F. 2015. Comparison of *in vitro* and *in vivo* Antibacterial Efficacy for the control of *Flavobacterium psychrophilum* in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry: the first Genotypical evidence in West Aegean region of Turkey. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 39(3), 314-321.
- Bruun, M. S., Schmidt, A. S., Madsen, L., & Dalsgaard, I. 2000. Antimicrobial Resistance Patterns in Danish Isolates of *Flavobacterium psychrophilum*. Aquaculture, 187(3), 201-212.
- Budak, H. N., & Guzel-Seydim, Z. B. 2010. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Wine Vinegars Produced by two Different Techniques. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(12), 2021-2026.

- Budak, N. H., Kumbul Doguc, D., Savas, C. M., Seydim, A. C., Kok Tas, T., Ciris, M. I., & Guzel-Seydim, Z. B. 2011. Effects of Apple Cider Vinegars Produced with Different Techniques on Blood Lipids in High-cholesterol-fed Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(12), 6638-6644.
- Budak, N. H., Aykin, E., Seydim, A. C., Greene, A. K., & Guzel-Seydim, Z. B. 2014. Functional Properties of Vinegar. *Journal of food science*, 79(5), R757-R764.
- Cai, W., De La Fuente, L., & Arias, C. R. 2013. Biofilm Formation by the Fish Pathogen *Flavobacterium columnare*: Development and Parameters Affecting Surface Attachment. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(18), 5633-5642.
- Chang, J. ve Fang, T.J. 2007. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* Serovars Typhimurium in Iceberg Lettuce and the Antimicrobial Effect of Rice Vinegar Against E. Coli O157:H7. *Food Microbiol* 24(7), 45-751.
- Chinnici, F., Bendini, A., Gaiani, A. ve Riponi, C. 2004. Radical Scavenging Activities of Peels and Pulps From cv. Golden Delicious Apples as Related to their Phenolic Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15), 4684-4689.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2006. Methods for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing of Bacteria Isolated From Aquatic Animals; Approved Guideline. CLSI document M42-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940, West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania, 19087-1898, USA1- 56238-611-5.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) 2016. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or fastidious Bacteria, M45, 3rd ed.,
- Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P. 1999. Bacterial Biofilms: a Common Cause of Persistent Infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322.
- Çağırğan, H. ve Yüreklitürk, O., 1991. First isolation of *Yersinia ruckeri* from Rainbow trout Farm in Turkey. In: The Fifth Conference of EAAP, Disease of Fish and Shellfish. 24-29 August 1991, 131s. Book of Abstract.
- Çiftçi, Z. 2005. Kronik tonsillitte biofilmin rolü. *TC Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi KBB Kliniği, Uzmanlık Tezi*, 69.
- Dağtekin, M., Ak, O. 2007. Doğu karadeniz Bölgesinde Su Ürünleri Tüketimi, İhracat ve İthalat Potansiyeli. *SÜMAE Yunus Araştırma Bülteni*. 7(3); 14-17.
- Dalsgaard, I., 1993. Virulence Mechanisms in *Cytophaga psychrophila* and other Citophaga-like bacteria Pathogenic for Fish. *Annu. Rev. Fish Dis.*, 127-144

- Daly, J.G. 1999. Other Bacterial Pathogens, pp: 577-584, Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections, Wallingford, Oxon, 085199 1947.
- Dávalos, A., Bartolome, B. ve Gomez-Cordoves, C. 2005. Antioxidant Properties of Commercial Grape Juices and Vinegars. Food Chem 93,325-330.
- Decostere A, Lammens M, Haesebrouck F. 2000. Difficulties in Experimental Infection Studies with *Flavobacterium psychrophilum* in Rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*) using Immersion, Oral, and Anal Challenges. Res Vet Sci, 69,165169
- Del Cerro A, Marquez I, Prieto JM 2010. Genetic Diversity and Antimicrobial Resistance of *Flavobacterium psychrophilum* Isolated from Culture Drain bow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in Spain. J Fish Dis, 33, 285-291.
- Didinen BI, Diler O, Ekici S, Altun S, 2005. *Flavobacterium psychrophilum* İzolatlarının Teşhisinde API ZYM kullanımı ve ATB VET ile Antimikrobiyal Duyarlılığın Belirlenmesi. SDÜ Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 1, 64-70.
- Diggs, L. 2000. Vinegar: The user Friendly Standard Text, Reference and Guide to Appreciating, Making, and Enjoying Vinegar: Authors Choice Press.
- Diler, Ö., Altun, S., Adiloğlu, A.K., Kubilay, A. ve Işıklı, B. 2002. First Occurrence of *Streptococcus* Affecting Farmed Rainbow Trout(*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. Bull Eur Ass Fish Pathol, 22 (1), 21-26.
- Diler Ö, Altun S, Işıklı BI 2003. Kültürü Yapılan Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'ndan izole edilen *Flavobacterium psychrophilum*'un Fenotipik Karakterleri. SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 7, 1-8.
- Dohar, J.E. 2003. Evolution of Management Approaches for Otitis Externa. Pediatr Infect Dis J 22,299-308.
- Donlan, R. M. 2002. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. Emerg Infect Dis,8(9): 881-90. Review
- Durmaz, Y., & Türk, N. 2009. Alabalık İşletmelerinden Motil Aeromonasların İzolasyonu ve Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Saptanması. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg, 15, 357-361.
- Ekici, S., Diler, Ö., Didinen, B. I., & Kubilay, A. 2011. Balıklardan İzole Edilen Bakteriyel Patojenlere Karşı Bazı Bitkisel Uçucu Yağlarının Antibakteriyel Aktivitesi. Kafkas Univ. Vet. Fak, 17, 47-54.

- Ekman E, Börjeson H, Johansson N, 1993. *Flavobacterium psychrophilum* in Baltic Salmon *Salmo salar* Brood Fish and Their Offspring. *Dis AquatOrg*, 37, 159-163
- Erenler, R. 1997. Yüksek Ardiç (*Juniperus excelsa* Bieb.)'in Meyvelerindeki Bileşiklerin İzolasyonu, Yapı Tayini ve Aktivite Testleri, Gaziosmanpaşa Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (yayımlanmamış), Tokat.
- Floyd, R.F. 2011. *Mycobacterial Infections of Fish*. SRAC Publication No. 4706.
- Fushimi, T. ve Sato, Y. 2005. Effect of Acetic Acid Feeding on the Circadian Changes in Glycogen and Metabolites of Glucose and Lipid in Liver and Skeletal Muscle of rats. *Br J Nutr* 94,714-719.
- Fushimi, T., Tayama, K., Fukaya, M., Kitakoshi, K., Nakai, N., Tsukamoto, Y. ve Sato, Y. 2002. The Efficacy of Acetic Acid for Glycogen Repletion in Rat Skeletal Muscle after Exercise. *Intl J Sports Med* 23,218-222.
- Garcia-Parrilla, M.C., Gonzalez, G.A., Heredia, F.J. ve Troncoso, A.M. 1997. Differentiation of Wine Vinegars Based on Phenolic Composition. *J Agric Food Chem* 45,3487-3492.
- Gey, K.F. 1990. The Antioxidant Hypothesis of Cardiovascular Disease: Epidemiology and Mechanisms. *Biochem M So T* 18,1041-1045.
- Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü. Ruhsatlı Veteriner Tıbbi Ürünler. <http://www.gkgm.gov.tr/vtu>. Erişim Tarihi: (18.05.2016).
- Gonzalez-Paramas, A.M., Esteban-Ruano, S., Santos-Buelga, C., de Pascual-Teresa, S. ve Rivas-Gonzalo, J.C. 2004. Flavanol Content and Antioxidant Activity in Winery byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 234-238.
- Guendez, R., Kallithraka, S., Makris, D.P. ve Kefalas, P. 2005. An Analytical Survey of the Polyphenols of Seeds of Varieties of Grape (*Vitisvinifera sp.*) Cultivated in Greece: implications for exploitation as a source of value-added phytochemicals. *Phytochemical Analysis*, 16,17-23
- Gultepe, N., & Tanrikul, T. 2006. Treatment methods of *Flavobacterium psychrophilum*: cause of Rainbow Trout Fry Syndrome (RFTS) and Bacterial Coldwater Disease (BCWD) in Turkey. *Journal of Fisheries International*, 1(2-4), 102-105.
- Harms, C.A., Howard, K.E., Wolf, J.C., Smith, S.A., Stoskopf, S.K. 2003. Transforming growth factor- β Response to Mycobacterial Infection in Striped Bass *Morenasaxatilis* and hybrid tilapia *Oreochromis spp.* *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 95: 155-163.
- Henríquez-Núñez, H., Evrard, O., Kronvall, G., & Avendaño-Herrera, R. (2012). Antimicrobial susceptibility and plasmid profiles of *Flavobacterium psychrophilum* strains isolated in Chile. *Aquaculture*, 354, 38-44.

- Høiby, N. 2002. Understanding Bacterial Biofilms in Patients with Cystic Fibrosis: Current and innovative approaches to potential therapies. *Journal of Cystic Fibrosis*, 1(4), 249-254.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. 1994. *Bergey' s Manual of Determinative Bacteriology*. Williams&Wilkins, 485-487
- Holt RA, Rohovec JS, Fryer JL. 1993. Bacterial Coldwater Disease. In, Inglis V, Roberts RJ, Bromage NR (Eds): *Bacterial Diseases of Fish*. pp.3-23. Blackwell Scientific Publications, Oxford
- Holt RA. 1987. *Cytophaga psychrophila*, the Causative agent of Bacterial cold-water Disease in Salmonid fish. PhD Thesis. Oregon StateUniversity, Corvallis OR, USA
- Högfors-Rönholm, E., Norrgård, J., & Wiklund, T. 2015. Adhesion of Smoothan Drough Pheno types of *Flavobacterium psychrophilum* to Poly Styrene Surfaces. *Journal of fish diseases*, 38(5), 429-437.
- İspir, Ü., Şeker, E., Sağlam, N., & Dörücü, M. 2004. Doğu Anadolu Bölgesinde Bazı Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) İşletmelerinde görülen *Flavobacterium psychrophilum* Enfeksiyonunun Araştırılması F. Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 16(4), 718-724.
- Johnston, C.S. ve Gaas, C.A. 2006. Vinegar: Medicinal Uses and Antiglycemic Effect. *MedGenMed*. 8(2), 61.
- Kammerer, D., Claus, A., Schieber, A. ve Carle, A. 2005. Anovel Process for the Recovery of Polyphenols from Grape (*Vitis vinifera* L.) Pomace. *Journal of Food Science*, 70, C157–C163.
- Kayis S, Capkin E, Balta F, Altinok I, 2009. Bacteria in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the Southern Black Sea Region of Turkey-A Survey. *Isr J Aquacult- Bamid*, 61 (4), 339-344.
- Klemm, P., Vejborg, R. M., & Hancock, V. 2010. Prevention of Bacterial Adhesion. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 88(2), 451-459.
- Korun J, Timur G 2001 Gökkuşığı alabalıklarında (*O.mykiss*) Mortalite Sendromu (FMS) Üzerinde Bir Çalışma. *İstanbul Üniversitesi. Su Ürünleri Dergisi*, 12, 15-30.
- Kubilay, A., Altun, S., Ulukoy, G., & Diler, O. 2005. *Lactococcus garvieae* Suşlarının Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi. *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 1(1), 39-48
- Kubilay, A., Altun, S., Didinen, B. I., Ekici, S., & Diler, Ö. (2009). Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmelerinde *Flavobacterium psychrophilum* izolasyonu. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 15(5), 709-715.

- Kubilay A., Seçil Metin, Pınar Yıldırım, Havva Nilgün Budak, Gülşen Uluköy, Erkan Gümüş, Zeynep Banu Güzel-Seydim², 2015. In vitro Antibacterial Activities of Pomegranate (*Punica granatum* L.) and Grape (*Vitis vinifera*) Vinegar Against Bacterial Fish Pathogen. 17th International Conference on Diseases of Fish and Shellfish (EADP 2015) the Auditorio Alfredo Kraus, Las Palmas de Gran Canaria, Spain from September 7th to 11st, 2015
- Kubilay, A., Yildirim, P., Duru, A., Ulukoy, G., & Wiklund, T. (2016). Antibiotic Susceptibility of *Flavobacterium psychrophilum* Isolated from Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey.
- Kum C, Kırkan S, Sekkin S, Akar F, Boyacıoğlu M, 2008. Comparison of In Vitro Antimicrobial Susceptibility in *Flavobacterium psychrophilum* Isolated from Rainbow Trout Fry. J Aquat Anim Health. 20, 245-251.
- Lu, Y. ve Foo, L.Y. 2000. Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Polyphenols from Apple Pomace. Food Chemistry, 68, 81–85.
- Madetoja J. 2002. *Flavobacterium psychrophilum*: Characterisation, Experimental Transmission and Occurrence in Fish and Fish Farming Environments. Academic Dissertation, Finland, 1-37
- Madsen L, Dalsgaard I. 2008. Water Recirculation and Good Management: Potential Methods to Avoid Disease Outbreaks with *Flavobacterium psychrophilum*. J Fish Dis, 31, 799-810
- Makino, S. I., Cheun, H. I., Tabuchi, H., & Shirahata, T. 2000. Antibacterial Activity of Chaff Vinegar and its Practical Application. Journal of Veterinary Medical Science, 62(8), 893-895.
- Michel C, Kerouault B, Martin C 2003. Chloramphenicol and Florfenicol Susceptibility of Fish-pathogenic Bacteria Isolated in France: Comparison of Minimum Inhibitory Concentration, using Recommended Provisional Standards for Fish Bacteria. J Appl Microbiol, 95, 1008-1015.
- Mikail, A. 2014. Identification and Investigation of Phenotypic and Genotypic Characteristics of *Flavobacterium psychrophilum* and Fry Rainbow Trouts (*Oncorhynchus Mykiss*) in Some Trout. International Journal of Sciences, 3(2014-03), 24-34.
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard of Antimicrobial Susceptibility) 2001. Testing; Eleventh Informational Supplement. NCCLS document M100-S11 NCCLS, Pennsylvania, USA
- Nematollahi A, Decostere A, Pasmans F, Haesebrouck F, 2003. *Flavobacterium psychrophilum* Infections in Salmonid Fish. J Fish Dis, 26, 563-574.
- Nishino, H., Murakoshi, M., Mou, X.Y., Wada, S., Masuda, M., Ohsaka, Y., Satomi, Y., Jinno, K. 2005. Cancer Prevention by Phytochemicals. Oncology 69, 38-40.

- Ogawa, N., Satsu, H., Watanabe, H., Fukaya, M., Tsukamoto, Y., Miyamoto, Y. ve Shimizu, M. 2000. Acetic Acid Suppresses the Increase Indisaccharidase Activity that Occurs During Culture of Caco-2 cells. *J Nutr* 130,507-513.
- Ou, A.S.M. ve Chang, 2009. Taiwan Fruit Vinegar. In: Solieri L., Giudicin P, editors. *Vinegars of the World*. Mil'an: Springer-Verlag. p223-41.
- Park, J. E., Kim, J. Y., Kim, J., Kim, Y. J., Kim, M. J., Kwon, S. W., Kwon, O., 2014. Pomegranate Vinegar Beverage Reduces Visceral Fat Accumulation in Association with AMPK Activation in Overweight Women: A Double-blind, Randomized, and Placebo-controlled Trial. *Journal of Funtional Foods*. 8: 274-281. doi: 10.1016/j.jff.2014.03.028
- Prearo, M., Zanoni, R.G., Dall'orto, B.C., Pavoletti, E., Florio, D., Penati, V., Ghittino, C., 2004. Mycobacteriosis: emerging pathologies in aquarium fish. *Vet. Res. Commun.*, 28: 315-317.
- Rangdale RE, Richards RE, Alderman DJ, 1996. Isolation of *Cytophaga psychrophila*, Causal Agent of Rainbow Trout Fry Syndrome (RTFS) from Reproductive Fluids and Egg Surfaces of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bull Eur Ass Fish Pathol* 16, 63-67
- Rangdale RE, Richards RH, Alderman DJ, 1997. Minimum İnhibitory Concentration of Selected Antimicrobial Compounds Against *Flavobacterium psychrophilum* the Causal Agent of Rainbow Trout Fry Syndrome (RTFS). *Aquaculture*, 158, 193-201,.
- Rauha, J.P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kahkönen, M., Kujala, T., Pihlaja, K., Vuorela, H. ve Vuorela, P. 2000. Antimicrobial effect of Finnish Plant Extracts Containing Flavonoids and other Phenolic Compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 56, 3-12.
- Schieber, A., Hilt, P., Streker, P., Endre, H.U., Rentschler, C. ve Carle, R. 2003. A new Process for the Combined Recovery of Pectin and Phenolic Compounds from Apple Pomace. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4, 99-107.
- Schnick, R.A., Alderman, D.J., Armstrong, R., Le Gouvello, R., Ishihara, S. ve Roth, M. 1997. World wide Aquaculture Drug and Vaccine Registration Progress, *Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol.*, 17(6), 251-260.
- Sengun, I. Y., & Karapinar, M. 2005. Effectiveness of Household Natural Sanitizers in the Elimination of *Salmonella typhimurium* on Rocket (*Eruca sativa* Miller) and Spring Onion (*Allium cepa* L.). *International Journal of Food Microbiology*, 98(3), 319-323.
- Shimoji ,Y., Kohno, H., Nanda, K., Nishikawa, Y., Ohigashi, H.,Uenakai, K. ve Tanaka, T. 2004. Extract of Kurosu, a Vinegar from Unpolished Rice, İnhibits Azoxymethane-induced Colon Carcinogenesis in Male F344 Rats. *Nutr Cancer* 49,170-173.

- Singh, P. K., Parsek, M. R., Greenberg, E. P., & Welsh, M. J. 2002. A Component of Innate Immunity Prevents Bacterial Biofilm Development. *Nature*, 417(6888), 552-555.
- Sivaram, V., Babu, M.M., Immanuel, G., Murugadass, S., Citarsu, T. ve Marian, M.P. 2004. Growth and Immun Response of Junenile Greasy Groupers (*Epinephelus tauvina*) Fed with Herbal Antibacterial Active Principle Supplemented Diets Against *Vibrio Harveii* İnfections. *Aquaculture*, 237, 9-20.
- Smith, P., et al. "Epidemiological cut-off values for *Flavobacterium psychrophilum* MIC data generated by a standard test protocol." *Journal of fish diseases* (2014).
- Souquet, J.M., Labarbe, B., Le Guerneve', C., Cheynier, V. ve Moutounet, M. 2000. Phenolic Composition of Grape Stems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1076-1080.
- Steel R.G.D., Torrie, J.H. ve Dickey, D. A. 1996. Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach. 3rd Ed., McGraw Hill Book Company Inc., New York, USA.
- Sundell, K., & Wiklund, T. 2011. Effect of Biofilm Formation on Antimicrobial Tolerance of *Flavobacterium psychrophilum*. *Journal of fish diseases*, 34(5), 373-383.
- Sundell, K., & Wiklund, T. 2015. Characteristics of epidemic and sporadic *Flavobacterium psychrophilum* sequence types. *Aquaculture*, 441, 51-56.
- Talat, A.M., Reimschuessel, R., Trucksis, M. 1997 Identification of Mycobacteria Infecting Fish to the Species Level Using Polymerase Chain Reaction and Restriction Enzyme Analysis. *Vet. Microbiol.*, 58: 229237.
- Tan, S.C. 2005. Vinegar Fermentation [Master of Science thesis]. Louisiana State Univ., Dept. Of Food Science, Baton Rouge. p 101s.
- Timur, G. ve Timur, M. 1991. An Outbreak of Enteric Redmouth Disease in Farmed Rainbow Trout (*Onchorynchus mykiss*) in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologis*.
- Timur, G., & Timur, M. 2003. Balık Hastalıkları, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Yayın No: 5, s.538, İstanbul.
- Timur G, Timur M, KorunJ, 2004. A Study on the Outbreak of *Flavobacterium psychrophilum* Infection in a Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Hatchery in Turkey. *İstanbul Üniv Su Ürünleri Derg*, 17, 21-27.
- Toranzo AE, Barja JL. 1993. Fry Mortality Syndrome (FMS) in Spain. Isolation of the Causative Bacterium *Flexibacter psychrophilus*. *Bull Eur Assoc Fish Pathol*, 13, 30-32

- Toroğlu, S., & enet, M. 2006. Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metodlar. KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 9 (2), 12-19.
- TUİK. 2015. Su Ürünleri İstatistikleri Retrieved 21 Ekim, 2015, from <http://www.tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist>
- Turan, H., Kaya, Y., Sönmez, G. 2006. Balık Etinin Besin Değeri ve İnsan Sağlığındaki Yeri. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 23 (1/3): 505-508.
- Ural, M. Ő., alta, M., Celayir, Y., & Aydın, R., 2011. Gökkuşağı Alabalığı *Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1972) Yumurtalarının Dezenfeksiyonunda Kullanılan Bazı Kimyasal Maddelerin Kuluçka Parametrelerine Etkileri. *BİBAD-Biological Sciences Dergisi*, 4(1), 37-41.
- Valdebenito S, Avendano-Herrera R. 2009. Phenotypic, Serological and Genetic Characterization of *Flavobacterium psychrophilum* Strain Sisolated from Salmonids in Chile. *J Fish Dis*, 32, 321-333.
- Valdebenito, S., & Avendaño-Herrera, R. 2009. Phenotypic, Serological and Genetic Characterization of *Flavobacterium psychrophilum* Strains Isolated from Salmonids in Chile. *Journal of fish diseases*, 32(4), 321-333.
- Wallace, R.J., Dalovisio, J.R., Pankey, G. 1979. Disk Diffusion Testing of Susceptibility of *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae* to Antibacterial Agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 16 (5): 611-614
- Wiklund T, Kaas K, Lönnström L, Dalsgaard I. 1994. Isolation of *Cytophaga psychrophila* (*Flexibacter psychrophilus*) from Wild and Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Finland. *Bull Eur Assoc Fish Pathol* 14, 44-46
- Wright Jr, Jackson T., et al. 2002. Effect of Blood Pressure Lowering and Antihypertensive Drug Class on Progression of Hypertensive Kidney Disease: Results from the AASK trial. *Jama* 288.19 2421-2431.
- Wu G, Yuan C, Shen M, Tang J, Gong Y, Li D, Sun F, Huang C, Han X, 2007. Immunological and Biochemical Parameters in Carp (*Cyprinus carpio*) after Qompsell feed Ingredients for Long-term Administration, *Aquaculture Research*, 38, 246-255, 2007.
- Yavuz, O. 2015. Antibiyotiklere Karşı apraz Direnç. *Turkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences-Pharmacology and Toxicology-Special Topics*, 1(2), 52-60.
- Ye, J., Ma, Y., Liu, Q., Zhao, D.L., Wang, Q.Y., Zhang, Y.X., 2008. Regulation of *Vibrio alginolyticus* Virulence by the LuxSquorum-sensingsystem. *Journal of Fish Diseases*, 31, 161-169.

Yılmaz, Y. ve Toledo, R.T. 2004. Health Aspects of Functional Grape Seed Constituents. Trends in Food Science and Technology, 15, 422–433.

Zarfeshany, A.,Asgary, S., Javanmard, S. H. 2014. Potent Health Effects of Pomegranate. Adv Biomed Res. 3:100. doi: 10.4103/2277-9175.129371



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ahmet DURU
Doğum Yeri ve Yılı : Eskişehir, 1991
Medeni Hali : Bekâr
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : ahmetduru26@gmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Hoca Ahmet Yesevi Lisesi, 2009.
Lisans : SDÜ, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, 2015

Mesleki Deneyim

Özpekler Su Ürünleri İşleme Fabrikası

Yayınları

Uluslararası Sempozyum Kongre Poster/Sözlü bildiri

- Kubilay, A., Yildirim, P., Duru, A., Ulukoy, G., & Wiklund, T. (2016). Antibiotic Susceptibility Of *Flavobacterium psychrophilum* Isolated From Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) In Turkey, 2nd International Conference Of Fish And Shellfish Immunology 26th-30th June, 2016 Portland, ME
- Kubilay, A., & Duru, A. (2016). In vitro Antibacterial Activities of Grape, *Vitis Vinifera*, Vinegar Against *Flavobacterium psychrophilum*. 2nd International Conference of Fish and Shellfish Immunology 26th-30th June, 2016 Portland, ME