

**MERSİN'DE AVLANAN *MULLUS* SPP.'DE
MYCOBACTERIUM SPP. VARLIĞI VE
MİKROBİYAL YÜKÜN ARAŞTIRILMASI**

PINAR SEVİM

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI**

DOKTORA TEZİ

**Danışman
Prof. Dr. Ferit RAD**

**MERSİN
HAZİRAN – 2012**

Pınar SEVİM tarafından Prof.Dr. Ferit RAD danışmanlığında ve Yrd.Doç.Dr. Selmin ÖZER ikinci danışmanlığında hazırlanan "Mersin'de Avlanan *Mullus* spp.'de *Mycobacterium* spp. Varlığı ve Mikrobiyal Yükün Araştırılması" başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Prof. Dr. Ferit RAD

Prof. Dr. İbrahim EKİZ

Prof. Dr. İbrahim CENGİZLER

Yrd. Doç. Dr. Selmin ÖZER

Yrd. Doç. Dr. Erdem DÖNMEZ

Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 04.1.09.1.2012 tarih ve 2.012.1.6/1.4.78 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. A. Murat GİZİR
Enstitü Müdürü

Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

MERSİN’DE AVLANAN *MULLUS SPP.*’DE *MYCOBACTERIUM SPP.* VARLIĞI VE MİKROBİYAL YÜKÜN ARAŞTIRILMASI

Pınar SEVİM

ÖZ

Ülkemizde gıda güvenliği bağlamında balıklarla ilgili mikrobiyolojik çalışmalar daha çok yetiştiriciliği yapılan türler üzerinde yoğunlaşmakta olup, avcılık yolu ile elde edilen türlerde yapılan araştırmalar sınırlıdır. Bu çalışmada, ihtyozoonotik etkiye sahip *Mycobacterium spp.* varlığı, ülkemizde özellikle Akdeniz ve Ege denizinde yaygın olarak avlanan *Mullus* cinsi balıklarda araştırılmıştır. Ayrıca, genel mikrobiyal yüklerinin belirlenmesi amacıyla balıkların deri, kas ve iç organlarında toplam mezofilik ve psikrofilik aerobik bakteri ve koliform bakteri sayımları yapılmıştır.

Çalışma kapsamında Mersin İlinde Merkez-Karaduvar, Anamur ve Taşucu’nda faaliyet gösteren balıkçılardan temin edilen toplam 208 adet balık örneği kullanılmıştır. *Mycobacterium spp.* izolasyonu klasik yöntemlerle gerçekleştirilmiş, izolatlar PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile cins düzeyinde ve PZR-RLFP (restriction fragment length polymorphism) ile de tür düzeyinde tanımlanmıştır. Toplam mezofilik ve psikrofilik aerobik bakteri ve toplam koliform bakteri sayımları klasik yöntemlerle yapılmıştır.

Toplam 13 adet balık örneğinde (% 6,25) 6 farklı türden 13 adet mikobakteri tanımlanmıştır. Bu mikobakterilerin 4’ü *M. genavense*, 3’ü *M. fortuitum*, 3’ü *M. scrofulaceum*, biri *M. marinum*, biri *M. vaccae*, biri *M. aurum* olarak belirlenmiştir. İzolatların 12’si balık örneklerinin derisinden, biri de iç organlarından izole edilmiştir. Mikobakterilerin tespit edildiği balık örneklerinde hastalık bulgusuna rastlanmamıştır.

Toplam 208 adet balıkta toplam mikrobiyal yükün ortalama değerleri, mezofilik aerobik bakteri sayısı için deri örneklerinde $1,62 \times 10^7$ kob/g, kas örneklerinde $4,83 \times 10^5$ kob/g ve iç organlarda $2,60 \times 10^6$ kob/g; psikrofilik aerobik bakteri sayıları sırasıyla $9,10 \times 10^6$, $4,44 \times 10^5$ ve $4,49 \times 10^5$ kob/g ve toplam koliform bakteri sayıları ise sırasıyla $3,95 \times 10^5$, $1,83 \times 10^4$ ve $1,86 \times 10^5$ kob/g olarak belirlenmiştir.

Mikrobiyal yükün standartların üzerinde olması ve 13 örnekte *Mycobacterium spp.* tespit edilmesi gıda güvenliği açısından daha ayrıntılı araştırmaların yapılması için zemin oluşturmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Mullus spp.*, *Mycobacterium spp.*, Mikrobiyal Yük, PZR, PZR-RLFP

Danışman: Prof. Dr. Ferit RAD, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı

Eş Danışman: Yrd. Doç Dr. Selmin ÖZER, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı

INVESTIGATION OF PRESENCE OF *MYCOBACTERIUM SPP.* AND MICROBIAL LOAD IN *MULLUS SPP.* FISHED IN MERSIN/TURKEY

Pınar SEVİM

ABSTRACT

Microbial studies associated with food safety issues are mainly focused on farmed fish and thereby scarce for wild fish in Turkey. Presence of ichtiyozoonotic *Mycobacterium spp.* in *Mullus spp.*, a widely caught species in Mediterranean and Aegean Sea, was investigated in this study. Total mesophilic and psychrophilic aerobic bacteria and coliform bacteria were further counted in skin, muscle and internal organs to determine the general bacterial loads in fish.

To this end 208 fish samples, collected from fishermen in Centrum-Karaduvar, Anamur and Taşucu in Mersin province (Turkey), were studied. *Mycobacterium spp.* were isolated using conventional methods and identified at genus level with PCR (polymerase chain reaction) and at species level with PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism). Conventional methods were used for total mesophilic and psychrophilic aerobic bacteria and total coliform bacteria counts.

A total of 13 mycobacteria (6.25 %) of six different species were detected in 13 fish samples. Of these, four were identified as *M. genavense*, 3 as *M. fortuitum*, 3 as *M. scrofulaceum*, one as *M. marinum*, one as *M. vaccae* and one was found to be as *M. aurum*. These mycobacteria were isolated from the skin (12) and internal organs (1) of sampled fish. No diseases symptoms were observed in fish samples infected by *Mycobacterium spp.*

Mean values of total microbial loads were determined as following; for mesophilic aerobic bacteria in skin as 1.62×10^7 cfu/g, in muscle as 4.83×10^5 cfu/g and in internal organs as 2.60×10^6 cfu/g; for psychrophilic aerobic bacteria as 9.10×10^6 , 4.44×10^5 and 4.49×10^5 cfu/g, respectively and finally for coliform bacteria as 3.95×10^5 cfu/g in skin, as 1.83×10^4 cfu/g in muscle and as 1.86×10^5 cfu/g in internal organs.

From food safety perspective microbial loads exceeding standards and detection of *Mycobacterium spp.* in 13 samples do indicate the need for further and more comprehensive studies.

Key words: *Mullus spp.*, *Mycobacterium spp.*, Microbial Load, PCR, PCR-RFLP

Advisor: Prof. Dr. Ferit RAD, Department of Fisheries, Graduate School of Natural and Applied Science, University of Mersin

Co-advisor: Assist. Prof. Dr. Selmin ÖZER, Department of Fisheries, Graduate School of Natural and Applied Science, University of Mersin

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanması, yürütülmesi ve sonlandırılmasında geniş bilgi birikimleri ile beni yönlendiren, her koşulda destekleyen ve yardımcı olan danışman hocalarım Sayın Prof. Dr. Ferit RAD ve Yrd. Doç. Dr. Selmin ÖZER’e, önerileri ile beni yönlendiren tez izleme komitesi üyeleri Sayın Prof. Dr. İbrahim EKİZ ve Yrd. Doç. Dr. Erdem DÖNMEZ’e şükranlarımı sunarım.

Araştırmamı destekleyen Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi’ne, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın Prof. Dr. Gürol EMEKDAŞ, Prof. Dr. Gönül ASLAN, Yrd. Doç. Dr. Seda TEZCAN ve Öğr. Gör. Mahmut ÜLGER’e ve ayrıca verilerin istatistiksel değerlendirmesinde ilgi, bilgi ve anlayışını esirgemeyen Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi İstatistik Anabilim Dalı öğretim görevlisi sayın Dr. Semra ERDOĞAN’a çok teşekkür ederim.

Varlığı ile beni anlamlandıran, yol arkadaşım ve emanetim olan OĞLUM Kaan Ural’a...

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
EKLER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	5
2.1. BARBUN VE TEKİR BALIKLARI.....	5
2.1.1. Sistematikteki Yeri.....	5
2.1.2. Ekolojik Özellikleri.....	5
2.1.3. Biyolojik Özellikleri.....	5
2.1.3.1. Barbun balığının biyolojik özellikleri.....	5
2.1.3.2. Tekir balığının biyolojik özellikleri.....	6
2.1.3.3. Barbun ve Tekir balıklarının ayırıcı özellikleri.....	7
2.2. MİKOBAKTERİLER.....	8
2.2.1. Sistematikteki Yeri.....	8
2.2.2. Mikobakterilerin Genel Özellikleri.....	8
2.2.3. Mikobakterilerin İzolasyon ve İdentifikasyon Teknikleri.....	11
2.3. ÇEVRESEL MİKOBAKTERİLER.....	13
2.4. BALIK MİKOBAKTERİYOZİSİ.....	15
2.4.1. Genel bilgiler.....	15
2.4.2. Etiyoloji.....	15
2.4.3. Epizootiyoloji.....	16
2.4.4. Semptomlar.....	25
2.4.5. Teşhis.....	27
2.4.6. Tedavi, koruma ve kontrol.....	29
2.5. ÇEVRESEL MİKOBAKTERİLERİN İNSAN SAĞLIĞINDAKİ YERİ VE ÖNEMİ.....	29
2.6. BALIKLARIN MİKROBİYAL YÜKÜ.....	33

	<u>Sayfa</u>
3. MATERYAL ve YÖNTEM	37
3.1. MATERYAL.....	37
3.1.1. Balık Örneklerinin Alındığı İstasyonlar.....	37
3.1.2. Balık Örnekleri.....	37
3.1.3. Laboratuvar Araç ve Gereçleri.....	40
3.1.3.1 Cihazlar.....	40
3.1.3.2. Laboratuvar malzemeleri.....	41
3.1.3.3. Kimyasallar.....	41
3.1.3.4. Besiyerleri.....	42
3.1.4 Referans Suşlar.....	43
3.2. YÖNTEM.....	44
3.2.1. Balık Örneklerinin Laboratuvara Nakli.....	44
3.2.2. Balık Boy ve Ağırlıklarının Ölçülmesi.....	44
3.2.3. Balıkların Hastalık Bulguları Yönünden İncelenmesi.....	44
3.2.4. Mikrobiyolojik Analizler.....	44
3.2.4.1. Doku örneklerinin homojenizasyonu ve dilüsyonların hazırlanması	44
3.2.4.2. <i>Mycobacterium spp.</i> ’nin klasik yöntemle izolasyonu.....	45
3.2.4.3. İzolatların polimeraz zincir reaksiyon (PZR) yöntemi ile İdentifikasyonu.....	47
3.2.4.4. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı.....	48
3.2.4.5. Toplam psikrofilik aerobik bakteri sayımı.....	48
3.2.4.6. Toplam koliform bakteri sayımı.....	49
3.2.5. İstatistiksel analizler.....	49
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	50
4.1. BULGULAR.....	50
4.1.1. Balıklarda Dış Bakı ve Otopsi Bulguları.....	50
4.1.2. Balıklardan İzole Edilen <i>Mycobacterium</i> Türleri.....	51
4.1.2.1 Klasik metotla saptanan mikobakteri şüpheli izolatlar.....	51
4.1.2.2. Erlich-Ziehl-Neelsen boyama bulguları.....	53
4.1.2.3. Primer spesifik PZR tekniği ile <i>Mycobacterium spp.</i> olarak tanımlanan İzolatlar.....	55
4.1.2.4. PZR-RFLP tekniği ile identifiye edilen mikobakteri türleri.....	57
4.1.3. Balıkların Genel Mikrobiyal Yükleri.....	60
4.1.3.1. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları.....	60
4.1.3.2. Toplam psikrofilik aerobik bakteri sayıları.....	62
4.1.3.3. Toplam koliform bakteri sayıları.....	63
4.2. TARTIŞMA.....	64

	<u>Sayfa</u>
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	72
KAYNAKLAR.....	74
EKLER.....	88
ÖZGEÇMİŞ.....	103

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Bazı balık türlerinde bildirilmiş olan bazı mikobakteriler.....	17
Çizelge 3.1. İstasyonlara ve tarihlere göre incelenen balık örneği sayıları...	38
Çizelge 3.2. Balık örneklerinin istasyonlara göre ortalama boy ve ağırlıkları ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	39
Çizelge 3.3. Bakteri sayım yöntemine göre doku örneklerine uygulanan dilüsyon oranları.....	45
Çizelge 4.1. Solgun karaciğer bulgusuna ulaşılan balık örneklerinin temin edildiği tarihler ve balık numaraları.....	50
Çizelge 4.2. L-J besiyerinde üreyen bakteri kolonilerine ait balık numarası ve doku bilgileri.....	52
Çizelge 4.3. EZN pozitif izolatlara ait tarih, istasyon, balık numarası ve doku bilgileri.....	53
Çizelge 4.4. <i>Mycobacterium spp.</i> izolatlarının tarih, istasyon, balık ve koloni bilgileri	56
Çizelge 4.5 Mikobakterilerin PZR-RFLP tekniği ile enzim türü ve baz çifti uzunluklarına göre tanımlanmaları.....	57
Çizelge 4.6. Balık dokularından izole edilen mikobakteri türlerinin istasyon ve mevsime göre dağılımları.....	60
Çizelge 4.7. İstasyonlara göre mezofilik aerobik bakteri sayıları.....	61
Çizelge 4.8. İstasyonlara göre ortalama psikrofilik aerobik bakteri sayıları..	62
Çizelge 4.9. İstasyonlara göre ortalama toplam koliform bakteri sayıları.....	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Barbun balığı	6
Şekil 2.2. Tekir balığı	7
Şekil 2.3. EZN pozitif <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	9
Şekil 2.4. Çizgili levrek (<i>Morone saxatilis</i>)’de mikobakteriozise bağlı vücut yüzeyinde ülserler.....	26
Şekil 2.5. Çipura’nın vücut yüzeyinde deri ülserleri	26
Şekil 2.6. Koi balığında mikobakteriozise bağlı iç organlarında granülomlar	27
Şekil 2.7. Avrupa Kadife balığında paransim organlarında granulomatöz lezyonlar	27
Şekil 2.8. Elde <i>M. marinum</i> kaynaklı yumuşak doku infeksiyonu	31
Şekil 3.1. Balık örneklerinin alındığı istasyonlar.....	37
Şekil 3.2. Barbun balığı (<i>Mullus barbatus</i>) örnekleri.....	39
Şekil 3.3. Tekir balığı (<i>Mullus surmuletus</i>) örnekleri.....	40
Şekil 4.1. <i>Mullus barbatus</i> örneğinde solgun karaciğer bulgusu.....	50
Şekil 4.2. Hastalık semptomu görülmeyen <i>Mullus barbatus</i> örneği.....	51
Şekil 4.3. L-J besiyerinde üreyen koloniler	51
Şekil 4.4. L-J besiyerinde <i>Mycobacterium sp.</i> kolonisi.....	52
Şekil 4.5. EZN negatif izolat.....	54
Şekil 4.6. EZN negatif izolat.....	54
Şekil 4.7. EZN pozitif izolat.....	55
Şekil 4.8. EZN pozitif izolat.....	55
Şekil 4.9. Primer spesifik PZR yöntemi ile amplifikasyon sonrası oluşan 439 bç’lik bölgenin % 1,5’luk agaroz jel elektroforez görüntüsü	56
Şekil 4.10. Primer spesifik PZR yöntemi ile amplifiye edilen 439 bç’lik bölgenin BstEII restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi sonucu oluşan RFLP ürünlerinin %2’lik agaroz jel elektroforez görüntüsü	58
Şekil 4.11. Primer spesifik PZR yöntemi ile amplifiye edilen 439 bç’lik bölgenin HaeIII restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi sonucu oluşan RFLP ürünlerinin % 2’lik agaroz jel elektroforez görüntüsü	58

EKLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Ek 3.1. Anamur’dan alınan balık örneği türleri.....	88
Ek 3.2. Taşucu’dan alınan balık örneği türleri.....	89
Ek 3.3. Karaduvar’dan alınan balık örneği türleri.....	90
Ek 3.4. Anamur istasyonundan alınan balık örneklerinin boy ve ağırlıkları...	91
Ek 3.5. Taşucu istasyonundan alınan balık örneklerinin boy ve ağırlıkları....	92
Ek 3.6. Karaduvar istasyonundan alınan balık örneklerinin boy ve ağırlık değerleri.....	93
Ek 4.1. Anamur’dan alınan balık örneklerine ait bakteri bulguları.....	94
Ek 4.2. Taşucu’dan alınan balık örneklerine ait bakteri bulguları.....	95
Ek 4.3. Karaduvar’dan alınan balık örneklerine ait bakteri bulguları.....	97
Ek 4.4. İstasyonlar bakımından toplam mikrobiyal yüke ait tanımlayıcı istatistikler.....	99
Ek 4.5. Mevsimler bakımından toplam mikrobiyal yüke ait tanımlayıcı istatistikler.....	100
Ek 4.6. Mikrobiyal yüklere ait korelasyon tablosu	101
Ek 4.7. Balıkların boy ve ağırlıkları ile mikrobiyal yük arasındaki istatistiksel ilişki.....	102
Ek 4.8. Balık türlerine göre mikrobiyal yük ortalamaları ve standart sapma değerleri.....	102

1. GİRİŞ

Sanayinin gelişmesi ve nüfus artışı ile birlikte fiziksel, kimyasal ve biyolojik çevre kirleticilerinin de çoğalması, insanları gıda güvenliği konusunda daha da bilinçli olma zorunluluğuna yöneltmiştir.

Gıda güvenliği, gıda maddelerinin her türlü bozulma ve bulaşma etkisinden uzaklaştırılarak tüketime uygun halinin sağlanması ve korunmasıdır [1, 2, 3]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) [4] ve Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) [5] gıda güvenliğini “Sağlıklı ve kusursuz gıda üretimini sağlamak amacıyla gıdaların üretim, işleme, muhafaza, taşıma ve dağıtım aşamalarında gerekli kurallara uyulması ve önlemlerin alınması” olarak tanımlamışlardır.

Gıda güvenliği, gıdaların üretimden son tüketiciye güvenli bir şekilde ulaşması için gereken bütün süreçleri kapsar. Gıda güvenliği için, yönetim sistemleriyle kontrol edilmesi gereken işleme, depolanma, nakliyat, saklanma ve son tüketiciye ulaştırılma gibi aşamaların her biri önem taşımaktadır [6].

Gıdalardan kaynaklanan riskler, gıdanın üretimden tüketim aşamasına kadar geçirdiği tüm aşamalarda ayrı ayrı değerlendirilmekte ve fiziksel, kimyasal ve biyolojik riskler olarak gruplandırılmaktadır [7].

Gıdalara karışan cam kırıkları, plastik, taş, toprak, tahta, metal parçaları, saç, tırnak, sigara külü, sinek, böcek, radyoaktivite gıdaya ilişkin fiziksel riskleri oluşturmaktadır. Kimyasal riskler, mikotoksinler gibi doğal toksinleri, civa, kurşun, dioksin, kadmiyum gibi çevresel metalleri, patatesten bulunan glikoalkaloid gibi bitkilerdeki doğal kimyasalları, pestisit ve veterinerlik ilaçlarının kalıntılarını ve gıda katkı maddelerini içermektedir [4].

Biyolojik kirlenme bakteri, mantar, maya, virüs ve parazitlerin neden olduğu kirlenmedir. Gıda kaynaklı hastalıkların çoğu da mikroorganizma faaliyetleri sonucunda oluşmaktadır [8].

Gıda kaynaklı hastalıklar ve doğurduğu sonuçların bütün dünyada giderek artan boyutlar kazanması, tüketicilerin ve sorumluların endişelerini artırmaktadır. İngiltere’de her yıl toplam nüfusun % 20’si, Amerika Birleşik Devletleri’nde de % 28’i gıda kaynaklı hastalıklara yakalanmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde ise çok daha fazla kişinin bu hastalıklara yakalandığı tahmin edilmektedir [6]. Dünya Sağlık Örgütü (2006)’nün bildirdiğine göre, az gelişmiş ülkelerde su ve gıdaların neden

olduğu ishaller hastalıklar nedeniyle her yıl, çoğunu çocukların oluşturduğu 1,8 milyon kişi ölmektedir [8].

Gıda güvenliğinin öneminin tamamen anlaşıldığı dünyamızda, insan sağlığının korunması amacıyla, tüm gıdalarda kimyasal, toksikolojik ve bakteriyolojik kontroller yapılmaktadır. Bu nedenle, rutin gıda kontrollerinde *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Vibrio spp.*, *Listeria monocytogenes* gibi önemli bazı patojenlerin varlığına bakılmaktadır. Gıda güvenliğinin sürdürülebilmesinde, gıda kaynaklı hastalıkların oluşumunda risk oluşturan bu patojen bakterilerin kontrolleri yanında, gıdaların genel mikrobiyolojik yapılarının bilinmesi de oldukça önemlidir. Gıdaların mikrobiyal yükünün bilinmesi, o gıdaların genel hijyenik yapıları ve gıda güvenliği açısından fikir edinilmesini sağlamaktadır. Bu amaçla, aerobik bakteri ve koliform bakteri sayımları da gıda kontrolü laboratuvarlarının rutin analizlerinde yer almaktadır [9].

Günümüzde, gerek bitkisel ve gerekse de hayvansal ürünlerden birçok patojen mikroorganizmanın insanlara bulaşarak önemli hastalıklara yol açtığı yapılmış olan araştırmalarla ortaya konulmuş, gıda güvenliği riskinin yaklaşık % 90'ının hayvansal kaynaklı gıdalardan kaynaklandığı bildirilmiştir [10]. Su ürünleri de, yüksek besin değeri nedeniyle hayvansal gıdalar arasında önemli bir yer tutmalarına karşın, mevcut gıdalar içinde en hızlı bozulan ve kokuşan besin maddelerindedir. Bu nedenle, su ürünlerinin hasat edilmelerinden itibaren korunma, taşınma ve işlenmelerinin uygun tekniklerle yapılmasının önemi gıda güvenliği açısından daha da artmaktadır [6].

Gıda güvenliği açısından önemli birçok infeksiyöz etken hem insanları hem de hayvanları hastalandırabilmektedir (zoonoz). Balıklar için patojen olan bazı mikroorganizmaların da insanlarda infeksiyonlara neden olabileceği bilinen bir gerçektir (ihtyozoonoz) [11].

Bazı bakteriyel balık patojenleri, etkenlerle bulaşık su ürünlerinin ve suyun derideki yırtık ve yaralara teması veya gıda olarak tüketilmesi sonucu insanlara bulaşmaktadır. İnsanda bakteriyel balık patojenleri çoğunlukla gastroenterit, deri veya diğer bazı dokuların infeksiyonlarına sebep olurken, nadiren yüksek oranda mortalitelerle sonuçlanan sistemik infeksiyonlara da yol açabilmektedirler [11].

Su ve su ürünlerinden insanlara bulaşan başlıca bakteriyel etkenler *Shigella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Salmonella spp.*, *Edwardsiella spp.*, *Vibrio spp.*, *Aeromonas spp.*, *Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, *Listeria spp.*, *Erysipelothrix rhusiopathie*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Plesiomonas shigelloides*, *Camphylobacter spp.*, *Mycobacterium spp.* ve *Legionella pneumophila* olarak bildirilmiştir [12, 13].

İhtyozoonotik bakteriler arasında ise *Aeromonas*, *Clostridium*, *Edwardsiella*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* ve *Vibrio* cinslerinin bazı üyeleri yer almaktadır. Gıda güvenliği bakımından önemi giderek artan patojenlerden biri de *Mycobacterium spp.*’dir. Su ve su ürünlerinin bulaş kaynağı olduğu tüberküloz dışı mikobakteriler (NTM), hem insan ve hem de birçok hayvan için fırsatçı patojen karakter taşımaktadırlar [14, 15, 16, 17].

Mikobakteriler insanlarda çoğunlukla yumuşak doku ve deri infeksiyonu olmak üzere çeşitli infeksiyonlara neden olurken, su ürünleri kaynaklı mikobakteriler özellikle balıkçı ve akvaryum sahibi kişiler için infeksiyon riski oluşturmaktadır [18].

Balıklarda ise bu etkenler, eskiden ‘balık tüberkülozu’ olarak tanımlanmış olan ‘balık mikobakteriozisi’ne neden olmaktadır. Balık mikobakteriozisi, balıkların iç organlarında tüberküllerin oluşumu ile karakterize, sistemik ve kronik bir hastalıktır [16, 19].

Balık mikobakteriozisi tüm tatlısu, deniz ve akvaryum balıklarında görülebilmektedir. Balıklarda mikobakteri dünyanın birçok ülkesinde araştırılmış olmasına karşın [20, 21, 22, 23], ülkemizde bu konuda yeterli düzeyde araştırma yapılmamış, bir kafes işletmesinde Levrek balıklarında (*Dicentrarchus labrax*) meydana gelen hastalık olgusunda histopatolojik muayene bulgusu olarak bildirilmiştir [24].

Yetiştiricilik yolu ile üretilen balıkların (çiftlik balıkları) üretim ve hasat aşamalarında mikrobiyolojik olarak denetlenebilmelerine karşın avcılık ile elde edilen su ürünlerinde bu denetimlerin daha zor olması gıda güvenliği açısından konunun önemini doğadan yakalanan balıklarda artırmaktadır. Ülkemizde ve özellikle Ege ve Akdenizde sevilen ve sık tüketilen balık türlerinin başında avcılık yolu ile elde edilen Barbun (*Mullus barbatus*, Linnaeus 1758) ve Tekir (*Mullus*

surmuletus, Linnaeus 1758) gelmektedir. Nitekim Akdeniz bölgesinde 27700 ton olan toplam balık üretiminin 1166 tonunun Barbun balığı ve 124 tonunun Tekir balığı olduğu bildirilmiştir [25]. Mersin’de Barbun balığı olarak satılan bu balıkların Mullidae familyasından *Mullus* (*Mullus barbatus*, *Mullus surmuletus*) ve *Upeneus* (*Upeneus mollucensis*, *Upeneus pori*) cinslerine ait dört türü içerdiği bilinmektedir [26].

Ülkemizde su ürünlerinin gıda olarak tüketimi artmasına karşın, su ürünlerinde ve özellikle avcılık yolu ile doğan yakalanan balıklarda mikobakterilerin varlığı konusunda yapılan çalışmalar sınırlıdır. Bu tezin temel konusu da; Mersin ili sınırları içinde avcılığı yapılan *Mullus* cinsi balıklarda hem balık sağlığı ve hem de gıda güvenliği açısından önem arz eden *Mycobacterium spp.* varlığını araştırılmasıdır. Ayrıca, mezofilik ve psikrofilik aerobik bakteri ve koliform bakteri sayılarının da saptanarak bu balıkların genel mikrobiyal yüklerinin belirlenmesi de hedeflenmiştir. Bu yönü ile bu çalışma; *Mullus* cinsi balıkların avcılığı sırasında balıkçılar ve tüketiminde tüketiciler açısından taşıyabilecekleri potansiyel biyolojik riske ışık tutmayı amaçlamaktadır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. BARBUN VE TEKİR BALIKLARI

2.1.1. Sistematikteki Yeri [27, 28]

Âlem	: Animalia
Alt âlem	: Metazoa
Şube	: Vertebrata
Alt şube	: Pisces
Sınıf	: Osteichthyes
Takım	: Teleostei
Aile	: Mullidae
Genus	: <i>Mullus</i>
Species	: <i>Mullus barbatus</i> (Barbun balığı) (Şekil 2.1)
Species	: <i>Mullus surmuletus</i> (Tekir balığı) (Şekil 2.2)

2.1.2. Ekolojik Özellikleri

Perciformes takımının Mullidae ailesinden olan bu balıklar ılık ve sıcak denizlerin derinliği 200-300 m’ye kadar olan sahillerinde sürü hâlinde bulunmaktadır. Dipleri kumlu, çamurlu ve kayalık bölgelerde yaşamaktadırlar. Etçil olan bu balıkların besinlerini kurt, istakoz, yengeç yavrularıyla, küçük balıklar oluşturmaktadır. Yavrular ise planktonlarla beslenmektedir. Ortalama 12-15 cm olmakla beraber, en çok 40 cm’e kadar büyümektedirler. Su ısısının artmasıyla derinlerden sahile mevsimsel göçler yapmaktadırlar. Yaşam süreleri 10-12 yılı bulmaktadır [27, 28].

2.1.3. Biyolojik Özellikleri

2.1.3.1. Barbun balığının biyolojik özellikleri

Barbun balığının vücudu yanlardan hafifçe basıktır. Baş tarafı kuyruk bölgesine nazaran büyüktür. Karın yüzgeçleri göğüs yüzgeçlerinin altında olup, anal yüzgecine erişmemektedir. Birinci sırt yüzgecinin başlangıcı, göğüs yüzgeçlerinin başlangıç noktasının biraz gerisindedir. Vücudunda kırmızı renk hâkimdir ve çizgisizdir. Yüzgeçleri sarı renklidir. Üst çenede dişler yoktur. Vücudu örten iri pullar (sikloid) kolayca dökülmektedir. Yan ve karın tarafları gümüşî veya beyazdır.

Alt çenede bir çift bıyığı vardır. Vücudunun uzunluğu baş boyunun 4,8-5,0 katı kadardır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Barbun balığı [29]

Cinsî bakımdan olgunlaşma 1-2 yaşlarında başlamaktadır. Yumurtlama periyodu Karadeniz ve Azak denizlerinde Mayıs-Temmuz aylarında, su sıcaklığı 19-23°C arasında ve 10-25 m arası derinliklerde meydana gelmektedir. Marmara Denizi'nde ise yumurtlama periyodu Mayıs başından Temmuz sonuna, Akdeniz'de ise Mayıs ayında başlayarak Haziran ayının sonuna kadar devam etmektedir. 15-100000 yumurta dökmektedirler. Yumurtaları pelajiktir ve çapları 0,65-0,75 mm arasındadır. Yumurtadan çıkan larvalar iki ay kadar pelajik yaşadıkları sonra, erginlerin özelliğini kazanarak diplere inmektedirler. Kendine özgü kırmızı renk gençlik safhasında yaklaşık olarak 45-50 mm'de oluşmaktadır [27, 28].

2.1.3.2. Tekir balığının biyolojik özellikleri

Tekir balığının vücudu kırmızı ve pembe renkli olup uzun sarı bantları vardır. Sırtı yeşilimsidir. Karnının alt kısmı sarı ya da pembedir. Baş büyükür. Vücudunun uzunluğu baş boyunun 4-4,3 katı kadardır. Ağız küçük ve eğridir. Üst çenede diş yoktur, alt çenede vardır. Alt çenede bir çift bıyık vardır. Vücut pulları iri olup biraz ovalanınca kolayca dökülmektedir (Şekil 2.2) [27, 28].



Şekil 2.2. Tekir balığı [30]

Cinsî olgunlukları 1-2 yaşlarında başlamakta, en çok 10-12 yıl yaşamaktadırlar. Yumurtlama periyodu Marmara Denizi'nde Mayıs başından Temmuz sonuna, Akdenizde ise Mayıs-Ağustos ayları arasında devam etmektedir. Yapışkan yumurtalarını 10-60 m derinlere bırakmaktadır. Yumurtası pelajiktir ve yumurta çapları 0,80-0,90 mm arasındadır. Yumurtadan çıkan larvalar 1-2 ay pelajik yasadıktan sonra, erginlerin özelliğini kazanarak diplere inmektedirler. Gençlik safhasının 45-50 mm olduğu zamanki dönemde ergine ait kırmızı renk meydana gelmektedir [27, 28].

2.1.3.3. Barbun ve Tekir balıklarının ayırıcı özellikleri

Barbun balığı ile Tekir balığı birbirlerine çok benzemektedirler. Aralarındaki önemli farklar şunlardır: Barbun balığında başın üst profili birdenbire sona erecek şekilde dik ya da dike yakın durumdadır. Vücutta boyuna uzanan sarı bantları yoktur. Birinci sırt yüzgeci renksiz ya da pembemsidir. Tekir balığında ise başın üst profili tam eğiktir. Vücudu kırmızı ve sört sıra sarı bantları vardır. Birinci sırt yüzgecinde esmer bant ve sarı lekeler bulunmaktadır. Barbun ve Tekir balıklarında yalnız alt çenede dişler bulunmaktadır [27].

2.2. MİKOBAKTERİLER

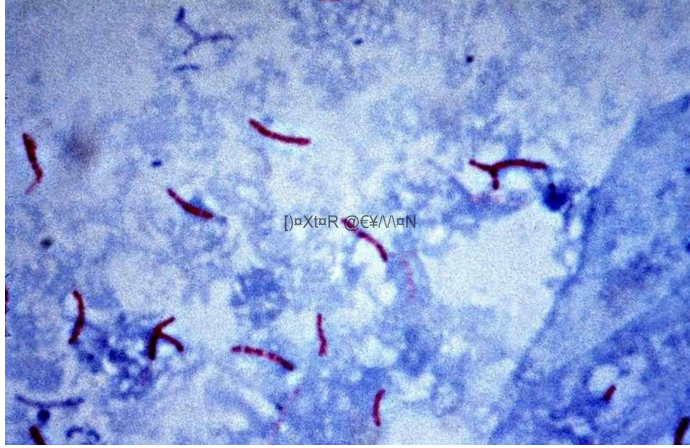
2.2.1. Sistematikteki Yeri [31]

Âlem	: Bacteria
Şube	: Actinobacteria
Sınıf	: Actinobacteria
Altsınıf	: Actinobacteridae
Takım	: Actinomycetales
Alttakım	: Corynebacterineae
Aile	: Mycobacteriaceae
Cins	: Mycobacterium

2.2.2. Mikobakterilerin Genel Özellikleri

Mycobacteriaceae familyasına ait tek genus bulunmaktadır. Prokaryotiklerin isimlerinin yer aldığı “List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature”a göre 03.06.2012 tarihi itibarıyla *Mycobacterium* cinsine bağlı tanımlanmış tür sayısı 156’ya ulaşmıştır. Mikobakteriler aerobik, sporsuz, hareketsiz, hafif kıvrık, düzgün çomak veya kokoid şeklinde ve 0,2-0,7x1,0-10 µm boyutlarındadırlar [32]. *Mycobacterium* cinsi bakterilerin temel özellikleri, yavaş üremeleri ve hücre duvarlarında bol miktarda lipid bileşikleri içermeleri nedeniyle asite dirençli (asido-rezistan) olmalarıdır (Şekil 2.3) [33, 34]. Gram boyama ile zayıf bir pozitiflik vermektedirler [16].

Mikobakterilerin hücre duvarı yapısı diğer bakterilerden oldukça farklıdır. Lipit yönünden zengin, karmaşık biyokimyasal yapılar içermesi, kullanılan boyaların hem hücre içersine girmesini, hem de dışarı çıkmasını zorlaştırır. Bu, mikobakterileri diğer bakterilerden ayırt edilmesini sağlayan asite dirençli bakteri boyama yöntemlerinin temelini oluşturmaktadır. Ülkemizde de en yaygın kullanılan asite dirençli bakteri boyama yöntemi Erlich-Ziehl-Neelsen (EZN)’dir. Bunun dışında soğuk boyama olarak bilinen Kinyoun ve floresan yöntemeye dayalı Auramin-rodamin boyama yöntemleri de kullanılmaktadır [35].



Şekil 2.3. EZN pozitif *Mycobacterium tuberculosis*, [36]

Mikobakterilerin ikiye bölünmesi için gerekli süre 16-18 saat kadar olduğundan izole edilmeleri için besiyerlerinin uzun süre inkübe edilmesi gerekmektedir. İnsan sağlığı açısından önemli mikobakterilerin izolasyonunda, 35-37°C’de 7-21 günde üremeye başlayan bu etkenlerin inkübasyonları 6-8 hafta kadar sürmektedir [37]. Çevresel mikobakterilerin üreme sıcaklıkları ise genellikle 20-30°C olmasına karşın, bazı türleri 37°C’de, hatta daha azı olmak üzere 42°C’de de üreyebilmektedirler [14, 16].

Mikobakteri türleri arasında en çok bilinen tür insanlarda tüberküloz meydana getiren *Mycobacterium tuberculosis*’tir. Tıbbî mikrobiyolojik alanda, insanlarda tüberküloz oluşturan *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. microti*, *M. canettii*, *M. pinnipedii* ve *M. mungi* [38] dışında kalan tüm mikobakteriler ‘tüberküloz dışı mikobakteriler’ [Nontuberculous mycobacteria (NTM)], ‘atipik mikobakteriler’ ya da ‘tüberkül basilleri dışında kalan mikobakteriler’ [*Mycobacterium* other than tuberculosis (MOTT)] olarak adlandırılmaktadır [9]. NTM’ler doğada yaygın olarak bulunmaları nedeniyle “çevresel mikobakteri” olarak da tanımlanmaktadır [15].

İlk kez Ernest Runyon, 1959 yılında *M. tuberculosis* ve *M. bovis* dışındaki mikobakterileri gruplamak için bir şema oluşturmuştur. Bu şema NTM’leri yavaş ve hızlı üreyenler olarak iki ana gruba ayırmakta ve yavaş üreyenleri de pigment özelliklerine göre sınıflandırmaktadır:

1. Fotokromojenler [Runyon Grup I- (Sadece ışığa maruz kaldığında pigment oluşturanlar)]: *M. kansasii*, *M. simiae*, *M. marinum* (*M. balnei*), *M. asiaticum*
2. Skotokromojenler [Runyon Grup II- (Hem karanlıkta hem de aydınlıkta pigment oluşturanlar)]: *M. scrofulaceum*, *M. szulgai*, *M. gordonae*, *M. flavescens*
3. Nonkromojenler [Runyon Grup III- (Pigment oluşturmayanlar)]: *M. avium-intracellulare*, *M. xenopi*, *M. ulcerans*
4. Hızlı üreyenler [Runyon Grup IV]: *Mycobacterium celatum*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. thermoresistibile*, *M. smegmatis* [39].

Mikobakteriler insanlarda hastalık yapabilme özelliklerine göre de sınıflandırılmıştır:

1. İnsanlar için patojen olanlar: *M. tuberculosis* kompleksi ve *M. leprae*
2. Potansiyel (fırsatçı) patojenler: *M. avium-intracellulare*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. scrofulaceum*, *M. hemophilum*, *M. xenopi*, *M. szulgai*, *M. malmoense*, *M. simiae*, *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. genavense*, *M. celatumyer*
3. Saprofit olup da çok nadir hastalık yapabilenler: *M. gordonae*, *M. asiaticum*, *M. paratuberculosis*, *M. terrae-triviale* kompleksi, *M. gastri*, *M. nonchromogenicum*, *M. flavescens*, *M. termoresistibile*, *M. smegmatis*, *M. vaccae* [40], *M. parafortuitum* kompleksi ve *M. phlei* [9].

Farklı çevrelerde (toprak, toz, su, süt, yiyecekler, vahşi ve evcil hayvanlar) yaygın olarak bulunan NTM türlerinin birçoğu doğada saprofit olarak yaşarken, bazıları insan, kuş ve balıklar da dâhil birçok hayvan türünü infekte edebilme özelliği taşıyan fırsatçı patojen karakterdirlere. İnsanlarda, özellikle immun sistemi baskılanmış bireylerde olduğu gibi normal bireylerde de tuberküloz dışı infeksiyonlar meydana getirebilen NTM türlerinin çoğunda bulaş kaynağının su olduğu kabul edilmektedir. Bu bakterilerin bulaşma kaynakları arasında balıklar da bulunmaktadır [41].

2.2.3. Mikobakterilerin İzolasyon ve İdentifikasyon Teknikleri

NTM'lerin izolasyon ve identifikasyonunda klasik ve hızlı kültür yöntemleri, moleküler ve kromatografik yöntemler kullanılmaktadır.

Mikobakterilerin izolasyonu amacıyla incelenen örnekler, mikobakterilerle birlikte kontaminasyona neden olan diğer bakteri ve mantarları ve bu mikroorganizmaların çoğunluğunun etrafını sararak çevre şartlarına dirençli hale gelmelerine neden olan kan, diğer vücut sıvıları ve doku gibi organik kalıntıları da içermektedir. Kontaminasyona neden olan bu mikroorganizmalar, çok daha kısa sürede üreyebildikleri için besiyerlerinde mikobakterilerin üremesini baskılamaktadırlar. Bu nedenle, organik kalıntıları sindirmek (digestion) ve kontaminasyona neden olan bakteri ve mantarları elimine etmek amacıyla dekontaminasyon işlemi uygulanmaktadır. Bazı yöntemlerde her iki işlem için tek bir madde kullanılırken (% 4 NaOH), bazı yöntemlerde bu iki işlem için ayrı ayrı maddeler kullanılmaktadır [37].

Kültür yöntemlerini klasik ve hızlı kültür sistemleri olarak ikiye ayırmak mümkündür. Mikobakterilerin izole edilmeleri ve çeşitli özelliklerinin incelenmesi amacıyla kullanılan geleneksel besiyerleri katı ve sıvı olmak üzere iki tiptir. Katı özellikteki besiyerleri yumurta ve agar bazlıdır. Tam yumurta ya da yumurta sarısı içeren yumurta temelli besiyerleri (Löwenstein-Jensen (L-J), Petragnani, American Trudeau Society besiyerleri) arasında bugün en yaygın kullanılanı L-J besiyeridir. Tipik koloni morfolojisi oluşturmaları ve daha bol üremeleri nedeniyle, özellikle primer izolasyonda L-J besiyerinin kullanılması önerilmektedir. Kolonilerin görünür hale gelişi 18-24 günü bulmaktadır. Agar bazlı besiyerlerinden Middlebrook 7H10 ve 7H11 agar en çok tercih edilenleridir. Besiyerleri şeffaf olduğundan ekim yapıldıktan 10-12 gün sonra koloniler görülebilir. Ancak pahalı ve raf ömrü nispeten kısa besiyerleridir. Sıvı besiyerleri Middlebrook 7H9 ve Dubos Tween Albumin mikobakterilerin stok suşların subkültürlerinin yapılması, duyarlık deneyleri ve diğer invitro deneylerde inokulum hazırlanması amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca bakteri sayısının az olduğu steril bölgelerden alınan klinik örneklerde, bakteriyi çoğaltmak ve dolayısıyla izolasyon şansını artırmak amacıyla da kullanılabilir [37, 42].

NTM türlerinin tanımlanması amacıyla kullanılan çeşitli klasik biyokimyasal yöntemler mevcuttur. Bu biyokimyasal yöntemlerde genel olarak, kültür yöntemleriyle bakteri üretildikten sonra, NTM türlerinin fenotipik özellikleri araştırılmaktadır. Katalaz testi, arilsulfataz testi, kristal violesiz Mac Conkey agarda üreme, demir alımı, niasin birikimi, nitrat indirgenmesi, pirazinamidaz testi, sodyum klorid tolerans testi, tiyofen-2-karboksilik asit hidrazid ile inhibisyon, tellurit indirgenmesi, Tween 80 hidrolizi, üreaz aktivitesi mikobakterilerin tanımlanmasında kullanılan biyokimyasal testlerdendir. Biyokimyasal testler, ancak belli mikobakteri türlerinin birbirlerinden ayırt edilmesini sağlayabilmektedir. Ayrıca kesin tanımlama yapılabilmesi için bu testlerin hepsinin uygulanması gerektiğinden ve bunun için uzun bir süre gerektiğinden, günümüzde biyokimyasal testler rutin kullanımda çok fazla tercih edilmemektedir [42].

NTM infeksiyonlarının laboratuvar tanısında en yaygın olarak kullanılan hızlı kültür yöntemi BACTEC 460 TB sistemidir. BACTEC 460 TB sisteminde NAP (p-nitro- α -acetylamino- β -hydroxypropiophenone) testi ile *M. tuberculosis* kompleksi ve NTM ayrımı yapılabilmektedir. Ülkemizde NTM infeksiyonlarının tanısında halen en yaygın olarak kullanılmakta olan yöntem NAP testidir. Ancak testin sonuçlanması bir haftayı bulmakta ve NTM türlerinin tür düzeyinde isimlendirilebilmesi mümkün olmamaktadır [42, 43].

Günümüzde klinik örneklerde saptanan mikobakterilerin tür düzeyinde identifikasyonu amacıyla biyokimyasal testler yerine moleküler yöntemler tercih edilmektedir. Mikobakterilerin moleküler yöntemlerle identifikasyonunda, hedef olarak seçilmiş olan en önemli gen bölgeleri 16S rRNA, hsp65, recA ve rpoB genleridir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) uygulamalarında, bazen klasik moleküler ağırlık standartları ile yapılan karşılaştırmalarda birbirine çok yakın bantların değerlendirilmesinde güçlükler yaşanabilmektedir [43]. Telenti vd. (1993) tüm mikobakterilerde bulunan 439 baz çifti (bç)'lik ısı şok proteinini kodlayan hsp65 geninin restriksiyon enzimi ile kesilmesi esasına dayalı hızlı ve kolay olan PZR-parça uzunluk polimorfizmi [PZR-restriction fragment length polymorphism (PZR-RFLP)] tekniğini geliştirmişlerdir. Bu teknikte, mikobakteri DNA'sı PZR ile çoğaltıldıktan sonra BstE II ve Hae III restriksiyon enzimleri ile kesilmektedir. Bu kesilen bölgeler poliakrilamid jel elektroforezinde moleküler ağırlık standartlarına

göre birbirilerinden ayrılıp, genotiplendirme şemasına göre tür bazında mikobakteri tiplendirilmesi yapılmaktadır [44]. Bu iki moleküler ağırlık standardı ile karşılaştırma yapılırken, elde edilmiş olan bantların tamamının bir karşılığı olduğundan, değerlendirme sırasında hata payı önemli ölçüde azalmaktadır [43].

NTM bakterilerinin identifikasyonunda kromatografik yöntemler son yıllarda mikolik asit analizi amacıyla kullanılmaya başlanmıştır. Mikolik asitler mikobakteri hücre duvarının önemli bir kısmını oluşturan uzun zincirli β -hidroksi yağ asitleridir. Bu amaçla ince tabaka kromatografisi [thin-layer chromatography-TLC], yüksek performans sıvı kromatografisi [high-performance liquid chromatography-HPLC] ve gaz-sıvı kromatografisi [gas-liquid chromatography-GLC] yöntemleri kullanılmaktadır [43, 44, 45, 46].

2.3. ÇEVRESEL MİKOBAKTERİLER

Mikobakteriler doğada, özellikle de suda yaygın olarak bulunmaktadır. Farklı su kaynaklarında yapılmış olan araştırmalar, tüm canlılar için vazgeçilmez olan suda insan ve balık sağlığını tehdit edebilecek birçok mikobakteri türü olduğunu göstermektedir.

Su ortamında en yaygın bulunan türler *M. gordonae*, *M. avescens*, *M. fortuitum* ve *M. chelonae*'dir. *M. marinum* çoğunlukla akvaryum ve yüzme havuzlarından izole edilirken, *M. kansasii* ve *M. xenopi* özellikle içme sularında ve dağıtım şebekelerinde bildirilmiştir [47, 48].

Hunter 1997 yılında, insanlarda hastalıklara neden olan su kaynaklı sekiz mikobakteri türünü bildirmiştir: *M. avium* kompleksi (MAC), *M. fortuitum*, *M. gordonae*, *M. marinum*, *M. scrofulaceum*, *M. terrae*, *M. ulcerans* ve *M. xenopi*. Günümüzde bu liste gitgide büyüyerek *M. chelonae*, *M. immunogenum*, *M. abscessus*, *M. kansasii*, *M. ulcerans*, *M. szulgai*, *M. simiae*, *M. palstre* ve *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) türleri de eklenmiştir [15].

Covert vd. (1999), Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde içme suyu, şişelenmiş su ve buz örneklerinden oluşan 139 adet örnek NTM yönünden incelemiştir. NTM, şişelenmiş su örneklerinin hiç birinde bulunamazken, buz örneklerinin % 54 ve içme suyu örneklerinin ise % 35'inden izole edilmiştir. Bu su

örneklerinde *M. gordonae*, *M. mucogenicum*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. scrofulaceum*, *M. avium*, *M. peregrinum* ve *M. chelonae* identifiye edilmiştir [49].

Le Dantec vd. (2002), Fransa’da içme suyu olarak kullanılan yeraltı ve işlem görmüş yüzey suyu örneklerini mikobakteri varlığı yönünden araştırmışlardır. Toplam 144 örneğin % 72’sinde *Mycobacterium spp.* belirlenmiş olup, bu oran yeraltı su örnekleri için % 68 (41/60), işlem görmüş yüzey suyu örnekleri için de % 69 (33/48) olarak bildirilmiştir. Tüm pozitif örneklerin % 29’unda *M. gordonae*, % 11’inde *M. nonchromogenicum*, % 7’sinde *M. chelonae*. % 6’sında *M. peregrinum*, % 5’inde *M. fortuitum*, % 1’inde *M. aurum*, % 1’inde *M. gadium* ve bir örnekte *M. intracellulare* tespit edilmiştir [50].

Pryor vd. (2004), içme suyu dağıtım sistemlerinde birçok mikobakteri türü bildirmişlerdir. İçme sularında saptanan mikobakteri türleri *M. avium* kompleksi, *M. brumae*, *M. chlorophenicus*, *M. flavens*, *M. fortuitum*, *M. genavense*, *M. gordonae*, *M. haemophilus*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. nonchromogenicum*, *M. senagalense*, *N. simiae*, *M. smigmati*, *M. szulgai*, *M. vaccacae*’dir [51].

Mersin’de 29 farklı su dağıtım sisteminden alınan 101 adet örnek *Mycobacterium spp.* varlığı yönünden incelenmiştir. Su örneklerinin 5’inde (% 4,9) NTM pozitifliği saptanmış ve *Mycobacterium chelonae* tip III ve *Mycobacterium kansasii* tip II türleri identifiye edilmiştir [52].

Nichols vd. (2004), Dünya Sağlık Örgütü’nün “Sularda patojenik mikobakteriler” ile ilgili yayınında çeşitli su kaynaklarından identifiye edilen mikobakteri türlerini bildirerek, suyun NTM infeksiyonları için taşıyabileceği önemi vurgulamışlardır [15].

Balık mikroflorası ve su mikroflorasının paralelliği uzun yıllardır bilinen bir gerçektir. Nitekim, mikobakterilerin de hem balıkların içinde yaşadığı su ortamlarında ve hem de balık örneklerinde bulunduğu kanıtlanmıştır [53, 54].

2.4. BALIK MİKOBAKTERİÖZİSİ

2.4.1. Genel bilgiler

İç organlarda gri-beyaz granulomların oluşması ile karakterize, sistemik ve kronik bir enfeksiyon olan balık mikobakteriozisi, ilk defa 1897 yılında tatlısu balıklarında (Sazan balığı) tanımlanmıştır. İkinci kez, 1910 yılında bir deniz balığında bildirilen mikobakteriozisin, günümüzde, tüm teleostları (tatlısu, deniz ve akvaryum balıkları) etkileyebileceği bilinmektedir. Hastalık önceleri, insanlarda verem etkeni *M. tuberculosis* ile taksonomik olarak benzerlik göstermesi nedeniyle ‘balık tüberkülozu’ olarak adlandırılmış, ancak 1960 yılında yapılan bir araştırma neticesinde bu tanımlamanın yanlışlığı ortaya konularak ‘balık mikobakteriozisi’ ismi benimsenmiştir [16, 19].

Hasta balıklarda en sık bildirilen mikobakteri türleri *Mycobacterium marinum*, *M. fortuitum* ve *M. chelonae* olup, enfekte balıklar diğer balıklar için olduğu kadar, sektör çalışanları ve tüketiciler için de enfeksiyon kaynağı riski taşımaktadırlar [55].

2.4.2. Etiyoloji

Hasta ya da taşıyıcı balıklardan en çok izole edilen mikobakteri türleri *Mycobacterium fortuitum*, *M. marinum* ve *M. chelonae* olup, çeşitli balık türlerinde bugüne kadar *M. abscessus*, *M. algericum*, *M. aurum*, *M. avium*, *M. avium* subsp. *hominissuis*, *M. celatum*, *M. chesapeaki*, *M. diernhoferi*, *M. flavescens*, *M. gordonae*, *M. haemophilum*, *M. insubricum*, *M. interjectum*, *M. intracellulare*, *M. kumamotoense*, *M. montefiorensis*, *M. neoaurum*, *M. nonchromogenicum*, *M. parafortuitum*, *M. peregrinum*, *M. poriferae*, *M. pseudoshottsii*, *M. scrofulaceum*, *M. simiae*, *M. shottsii*, *M. terrae*, *M. triplex* ve *M. triviale* türleri bildirilmiştir [56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63].

Balıklarda izole edilen mikobakteri türlerinin Gram pozitif, asite dirençli, hareketsiz, 1,5-2,0x0,25-0,35µm ölçülerinde ve pleomorfik karakterde olduğu bildirilmiştir. Balık kaynaklı mikobakteriler Runyon sınıflandırmaya göre her dört gruptan da türleri içermekte, katı besiyerlerinde solgun kremden sarı-turuncuya varan renkte koloniler üretmektedirler. Optimum üreme sıcaklıkları 25°C olup, 37°C ve hatta 42°C’de üreyen türler de bulunmaktadır [14, 16].

Gauthier vd. (2009) balık mikobakterilerinin izolasyonunda oda sıcaklığı 23-25°C’yi önermekte, ancak tür bazındaki farklılıklara da dikkat çekmektedirler. Araştırmacılar, *M. abscessus*’un 25°C’de 14-28 günde düzgün beyaz koloniler oluşturduğunu; *M. chelonae*’nin 10-30°C’de, *M. montefiorensis*’nin 25°C’de 2 ayda, *M. neoaurum*’un oda sıcaklığında 5-7 günde, *M. pseudoshotsii*’nin 23°C’de 2 ayda sarı koloni oluşturarak, *M. shotsii*’nin de 23-30°C’de 4-6 haftada ürediğini belirtmişlerdir [56]. Sakai vd. (2005) *M. gordonae* izolasyonu için infekte Lepistesleri % 2 NaOH ile 20 dakikalık muameleden sonra % 1 Owaga Yumurta besiyerine inoküle ederek 30°C’de bir ay inkübe ettiklerini bildirmişlerdir [63].

Bercovier vd. (2001) de *M. marinum*’un 30°C (subkültürlerinin 37°C’de üremeye adapte edilebileceği bildirilmiştir), *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. genavense* ve *M. abscessus*’un 30-37°C ve *M. fortuitum*, *M. genavense* ve *M. scrofulaceum*’un da 42°C’ye kadar üreyebildikleri bildirmişlerdir. *M. marinum*, *M. fortuitum*, *M. chelonae* ve *M. abscessus* hızlı üreme gösterirken, *M. genavense* ve *M. scrofulaceum*’un yavaş ürediği bildirilmiştir [14].

Balık kaynaklı mikobakterilerin tanımlanmasında kullanılan klasik biyokimyasal karakterler diğer NTM’lerle aynı olup, türlere göre farklılıklar gösterebilmektedirler [16, 64].

2.4.3 Epizootiyoloji

Bu mikobakteri türleri, bazı balık türleri daha yüksek risk altında olmasına rağmen tüm balık türlerinde görülebilmektedir. Bugüne kadar *Salmonidae* familyasına ait balıklarda, Levrek (*Dicentrarchus labrax* L.), Çipura (*Sparus aurata*), Çizgili levrek (*Morone saxatilis*), Uskumru (*Scomber scombrus*), Morina balığı (*Gadus morhua*), Müren balığı (*Gymnothorax funebris*), Kılıç balığı (*Xiphophorus hellerii*), Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), İskorpit balığı (*Leptocottus armatus*), Gümüş tekir (*Mugil curema*), Tilapia (*Oreochromis spp.*) ve akvaryum balıklarının da içinde bulunduğu tatlı ve tuzlu sularda yaşayan 150’den fazla balık türünde mikobakteriler bildirilmiştir (Çizelge 2.1) [17, 56].

Çizelge 2.1. Bazı balık türlerinde bildirilmiş olan bazı mikobakteriler [56]

Mikobakteri Tür Adı	Balık Adı	Referanslar
<i>M. abscessus</i>	Zebra balığı (<i>Danio rerio</i>) Medaka (<i>Oryzias latipes</i>) Çarpan balığı (<i>Chanos chanos</i>)	Teska vd., 1997; Astrofsky vd., 2000; Chang vd., 2006
<i>M. avium</i>	Amerikan ciklet balığı (<i>Apistogramma cactuoides</i>)	Lescenko vd., 2003
<i>M. chelonae</i>	Salmonid	Ashburner, 1977; Arakawa ve Fryer, 1984; Bruno vd., 1998; Whipps vd., 2007a
<i>M. chesapeaki</i>	Çizgili levrek (<i>Morone saxatilis</i>)	Heckert vd., 2001
<i>M. fortuitum</i>	Neon tetra (<i>Paracheirodon innesi</i>)	Ross ve Brancato, 1959; Puttinaowarat vd., 2002; Bragg vd., 1990.
<i>M. gordonae</i>	Japon balığı (<i>Carassius auratus</i>) Lepistes (<i>Poecilia reticulata</i>) Melek balığı (<i>Pterophyllum scalare</i>)	Lescenko vd., 2003; Pate vd., 2005; Sakai vd., 2005
<i>M. haemophilum</i>	Zebra balığı (<i>Danio rerio</i>)	Whipps vd., 2007
<i>M. lentiflavum</i> -like	Kılıç balığı (<i>Xiphophorus hellerii</i>)	Poort vd., 2006
<i>M. marinum</i>	Levrek (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	Ucko vd., 2002; Ucko ve Colorni, 2005; Ranger vd., 2006
<i>M. montefiorensis</i>	Müren balığı (<i>Gymnothorax funebris</i>)	Herbst vd., 2001; Levi vd., 2003
<i>M. montefiorensis</i> -like	Kaya balıkları (<i>Sebastes spp.</i>), Gökkuşluğu alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Whipps vd., 2003; Gauthier vd., 2009
<i>M. peregrinum</i>	Zebra balığı (<i>Danio rerio</i>)	Kent vd., 2004; Pate vd., 2005
<i>M. septicum</i>	Ciklet balığı (<i>Pseudotropheus lombardoi</i>)	
<i>M. neoaurum</i>	Kral salmon (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>)	Backman vd., 1990
<i>M. pseudoshottisii</i>	Çizgili levrek (<i>Morone saxatilis</i>)	Rhodes vd., 2004; Rhodes vd., 2005
<i>M. scrofulaceum</i>	İskorpit balığı (<i>Leptocottus armatus</i>) Beyaz kefal (<i>Mugil curema</i>)	Lansdell vd., 1993; Perez vd., 2001
<i>M. shottisii</i>	Çizgili levrek (<i>Morone saxatilis</i>)	Rhodes vd., 2003; Rhodes vd., 2004; Rhodes vd., 2005
<i>M. simiae</i>	Tathisu akvaryum balığı (<i>Cichlasoma bimaculatum</i>)	Lansdell vd., 1993
<i>M. triplex</i> -like	Çizgili levrek (<i>Morone saxatilis</i>)	Rhodes vd., 2004

Atipik mikobakteriler dünyanın pek çok ülkesinde doğadan avlanan ve yetiştiriciliği yapılan deniz ve tatlısu balıklarında araştırılmıştır. Bu araştırmalar özellikle akvaryum balıkları ve tatlı su balıkları üzerine yoğunlaşmıştır. Akvaryum balıklarında yapılmış olan araştırmalarda daha çok *M. marinum*, *M. fortuitum*, *M. gordonae* ve *M. chelonae* bildirilmiştir.

M. marinum ilk defa 1926'da Aronson tarafından bir akvaryum balığının dalak, karaciğer ve böbreklerinden izole edilirken, *M. fortuitum* da ilk defa 1953 yılında Neon balıklarında (*Paracheirodon innesi*) saptanmıştır [16].

Bachman vd. (1990) gözlerde ödem ve eksoftalmus belirtileri görülen Atlantik salmonlarda *M. neoaurum* saptamışlardır [16].

Bragg vd. (1990), Güney Afrika'da yoğun ölümlerin gözlendiği akvaryum balıklarında *Mycobacterium fortuitum* tanımlamışlardır [65].

Puttinaowarat vd. (2002), hasta akvaryum balıklarından 29 izolat elde etmiş ve PZR-reverse cross blot hybridization (RCBH) yöntemi ile 15’inin *Mycobacterium fortuitum*, 14’ünün ise *M. marinum* türlerine ait olduğu belirlemişlerdir [66].

Yetmiş akvaryum balığının granüler lezyon varlığı yönünden incelendiği araştırmada, balıkların 44’ünde granüller gözlenmiş ve bunlardan 29’unda EZN boyama sonuçları pozitif çıkmıştır. Bu izolatlara uygulanan biyokimyasal test sonucunda ise 12 balık örneğinde *Mycobacterium marinum*, *M. triviale* ve *M. avium* türleri tanımlanmıştır [57].

Slovenya’da farklı türden 35 akvaryum balığı örneğinde mikobakteri varlığı kültür ve moleküler yöntem kullanılarak araştırılmıştır. Yirmidokuz balık örneğinde *Mycobacterium spp.* belirlenmiştir (% 89,2). İki balık örneğinde EZN boyama sonucunun pozitif, kültür sonucunun ise negatif olduğu, 4 örnekte ise hem EZN boyama hem de kültür sonucunun negatif olduğu bildirilmiştir. Pozitif sonuç veren balık örneklerinde ise *Mycobacterium fortuitum* (7 balık), *M. gordonae* (6), *M. marinum* (6), *M. chelonae* (3), *M. peregrinum* (1), *Mycobacterium spp.* (5) ve karışık kültür (1) olarak tanımlanmıştır [67].

Beran vd. (2006), akvaryumlardan aldıkları çeşitli örnekleri mikobakteri varlığı yönünden incelemişlerdir. Sağlıklı balıklara ait 38 doku, 65 akvaryum (plankton, salyangoz, yem, akvaryum sistemleri, sediment ve su) ve 4 yumurta örneği değerlendirilmiştir. Balık dokusu ve yumurta örneklerinin 18’inde (% 42,9), akvaryum örneklerinin ise 49’unda (% 75,4) *Mycobacterium spp.* izole edilmiştir. Bu izolatlar *M. fortuitum*, *M. flavescens*, *M. chelonae*, *M. gordonae*, *M. terrae*, *M. triviale*, *M. diernhoferi*, *M. celatum*, *M. kansasii* ve *M. intracellulare* olarak tanımlanmıştır [58].

Seok vd. (2006), Zebra balıkları ile yaptıkları bir çalışmada balıklarda deri ülserleri, skolyoz, vücudun içinde ve dışında granülomların olduğunu gözlemişlerdir. EZN boyama ile çok sayıda aside dirençli basil görülmüştür. Selektif besiyerine ekim ve PZR uygulamasından sonra insanlar içinde patojen olan *Mycobacterium chelonae* ve *Mycobacterium abscessus* tanımlanmıştır [68].

Passatino vd. (2008), İtalya’da gerçekleştirdikleri çalışmada 27 balığın bulunduğu akvaryumdan alınan 7 ölü balığı (*Danio rerio*) mikrobiyolojik incelemeye

almışlardır. Direkt doku örneğinden uygulanan PZR yöntemiyle hastalık etkeni olarak *Mycobacterium fortuitum* identifiye edilmiştir [69].

Zanoni vd. (2008)’nin İtalya’da gerçekleştirdikleri araştırmada, ilk örnek grubunda 387 balık, ikinci örnek grubunda ise İtalya’ya ithal edilen 127 adet çeşitli türdeki tatlısu ve deniz akvaryum balığı örnekleri klasik metotla inceleyerek *Mycobacterium spp.* varlığını ortaya koymuşlardır. İncelenen örneklerden *M. fortuitum* (ilk örnek grubunda % 49,1, ikinci örnek grubunda % 21,1), *M. peregrinum* (% 23,8 - % 23,7), *M. chelonae* (% 11,6 - % 15,8), *M. abscessus* (% 5,0 - % 13,2), *M. marinum* (% 4,4 - % 5,3), *M. gordonae* (% 3,3 - % 2,6), *M. nonchromogenicum* (% 2,8 - % 10,5) ve *M. interjectum* (sadece ikinci örnek grubunda % 2,6) türleri ayırt edilmiştir [59].

Mısır’da farklı türlere ait süs balıklarından (*Carassius auratus*, *Xiphophorus helleri*, *Poecilia latipinna* ve *Gambusia gagei*) 480 adet örnek toplanmıştır. Aşırı mukus salgısı, ülserasyon, pullarda dökülme, eksoftalmus ve vücut deformasyonu yönünden klinik olarak incelenmişlerdir. Balıklardan elde edilen 30 izolatin identifikasyonu sonucunda *M. fortuitum* (20 izolat), *M. marinum* (8 izolat) ve *Mycobacteria spp.* (2 izolat) elde edilmiştir. Mikobakteriozise ait bulguların yılın her mevsimi görülebileceği bildirilmiştir [70].

Yetiştiriciliği yapılan ve doğadan yakalanan tatlısu balıklarında da benzer bulgulara rastlanmıştır.

Yetiştiriciliği yapılan *Channa striatus* türü tatlısu balıklarında görülen lezyonlardan alınan örneklerden, mikobakterilere ait hücre duvarı mikolik asitleri HPLC tekniği ile izole edilmiş, sonuçlar klasik metotla teyit edilmiştir. *M. poriferae*, *M. aurum* ve *M. parafortuitum* türleri tanımlanmıştır [61].

Novonty vd. (2010)’nin yapmış olduğu araştırmada 36 türe ait, vücutlarında lezyon görülen 322 tatlısu balığı örneği incelenmiştir. Örneklerin deri, solungaç, kas, bağırsak, karaciğer, dalak ve böbrek dokuları incelenmiş ve 96 örnekte aside dirençli bakteriler izole edilmiştir. PZR uygulaması sonucunda 12 balık örneğinde *M. marinum*, *M. gordonae*, *M. fortuitum*, *M. triviale* ve *M. avium* subsp. *hominissuis* türleri tanımlanmıştır [62].

Çekoslavya’da Mrlik vd. (2012), hastalık belirtisi taşımayan 25 türe ait 717 adet tatlı su balığını 2 baraj, 5 gölet ve iki işletmeden temin ederek mikobakteri

varlığı yönünden araştırmışlardır. 12 balık örneğinde (% 1,7) 13 adet mikobakteri izole edilen çalışmada, *M. algericum*, *M. fortuitum*, *M. gordonae*, *M. insubricum*, *M. kumamotoense*, *M. nonchromogenicum*, *M. peregrinum*, *M. terrae* ve *M. triplex* identifiye edilmiş türlerdir [60].

Yetiştiriciliği yapılan deniz balıklarında da mikobakteriozis olguları bildirilmiş, yine *M. chelonae*, *M. fortuitum* ve *M. marinum* en fazla bildirilen türleri oluşturmuştur.

İskoçya’da Atlantik Salmon (*Salmo salar*) yetiştiriciliği yapılan iki işletmeden alınan pazar boyuna ulaşmış ve çeşitli dokularında beyazımsı tüberküller oluşmuş 50 adet ölü balık incelenmiştir. Örneklerden yapılan biyokimyasal testler, lipid analizi ve PZR tekniği sonucunda *M. chelonae* tanımlanmıştır [71].

Venezuela’da 40 adet Gümüş Tekir balığı (*Mugil curema*) örneği asite dirençli bakterilerin varlığı yönünden incelenmiştir. Toplam 40 örneğin 20’si kültür balığı, 20’si ise avcılıkla elde edilen yabani balıklardır. Her iki grupta da 5’er balık örneğinde asite dirençli bakterilerin varlığı tespit edilmiştir. Yabani balıklarda *M. chelonei* subsp. *abscessus* (syn. *M. abscessus*), *M. chelonei* subsp. *chelonei* (syn. *M. chelonae*) ve *M. scrofulaceum*; kültür balığında ise *M. fortuitum* identifiye edilmiştir [22].

Dos Santos vd. (2002)’nin Portekiz’de gerçekleştirdikleri çalışmada 30 adet ölü ve klinik olarak sağlıklı görünen 19 Kalkan balığını (*Scophthalmus maximus*) değerlendirmeye almışlardır. Organlardan ve organlarda oluşan granülomlardan yapılan bakteriyolojik inceleme sonucunda, ölü olarak toplanan balıklardan 1 adedinde *M. marinum*, 8’inde *M. chelonae*, sağlıklı görünen balıklardan ise 3’ünde *M. marinum* ve 2’sinde de *M. chelonae* identifiye edilmiştir [72].

Korun vd. (2005)’nin yapmış olduğu araştırmaya göre ülkemizde ilk defa 2005 yılında yetiştiriciliği yapılan Levrek balıklarında (*Dicentrarchus labrax* L.) mikobakteriozis olgusu bildirilmiştir. 2003 yılının ocak ayında ölüm olaylarının gözlemlendiği işletmeden ölü olarak alınan 5 adet balık örneğinin iç organları (dalak, karaciğer ve böbre) incelenmiştir. Hasta balıklarda uyuşukluk, su yüzeyinde yüzme, eksoftalmus ve iç organlarda gri-beyaz nodüller belirlenmiş, doku örneklerinden yapılan EZN boyama sonuçlarına göre hastalık etkeninin *Mycobacterium spp.* olduğu sonucuna varılmıştır [24].

Kilo kaybı, uyuşukluk, deride ülserler, eksoftalmus gibi belirtiler gösteren kültür Torik balıkları (*Rachycentron canadum*)’nın incelenmesi sonucunda izole edilen bakteriler arasında *Mycobacterium spp.* de bulunmuştur [73].

Chanos chanos türü balıklarda görülen yüksek orandaki ölümler (% 66,7) sonucu yapılan araştırmada, karın yüzeyi, karaciğer, dalak, böbrek ve bağırsaklarda nodüller olan 5 balık örneği incelenmiştir. Tayvan’da *Chanos chanos* türü balıklarda ilk kez *M. abscessus* enfeksiyonu rapor edilmiştir [74].

Aranaz vd. (2007), Batı İspanya’da yetiştiriciliği yapılan Kadife balıklarında (*Tinca tinca*) mikobakteriozis belirtileri gösteren ve sağlıklı görünen örnekleri seçerek yaptıkları araştırmada *Mycobacterium peregrinum*’u hastalık etkeni olarak tanımlamışlardır. Çalışma kapsamında incelenen 14 balığın 10’unda iç organlarda semptomlar belirlenmiştir [75].

Japonya’da yetiştiriciliği yapılan Sarıkuyruk balıkları (*Seriola quinqueradiata*)’nda *M. marinum* enfeksiyonu rapor edilmiştir. Ekim 2004 (6 balık) ve Şubat 2005’de (6 balık) hastalık belirtileri gösteren 12 adet balık incelenmiş, halsizlik, iştahsızlık, asites, hemorajik deri ülserleri ve deride nodüller belirlenmiştir [76].

Japonya’da 1999-2008 yılları arasında yetiştiriciliği yapılan hasta Sarıkuyruk (*Seriola quinqueradiata*), *Seriola dumerili*, *Pseudocaranx dentex*, *Epinephelus septemfasciatus* ve *Seriola lalandi* balıklarından izole edilmiş olan 24 mikobakterinin multigenotipik analizi yapılmıştır. Hasta balıklarda genellikle halsizlik, iştahsızlık, zayıflama ve asitese bağlı karında şişkinlik saptanmış, yoğun ölümler meydana gelmiştir. Bazı olgularda deri ve göz korneasında ülser görülmüştür. Özellikle, büyümüş dalak ve böbreklerde olmak üzere, iç organlarda beyaz nodüller bildirilmiştir. İnkübasyon 23-25°C’de 2-3 ay sürdürülmüştür. Etkenlerin tamamı *M. pseudoshottsii* olarak tanımlanmıştır [77].

Diamant vd. (2000), yetiştiriciliği yapılan deniz balıklarında mikobakteriozisin artış göstermesi üzerine, *M. marinum*’u esas alarak hastalığın doğadaki balıklar üzerine etkisini araştırmayı hedeflemişlerdir. Bu amaçla İsrail’in Kızıldeniz sahillerindeki işletmelerin değişik mesafelerinden üç yıl süreyle 1142 adet yabanî Çarpan balığı (*Siganus rivulatus*)’nı incelemişlerdir. Kafeslerin içinden yakalanan Çarpan balıklarının % 50’si infekte bulunurken, kafeslerin etrafındaki

balıklarda bu oran % 39; 1,2 km batısındaki kumsallarda % 21; 3 km güneyindeki Eilat limanında % 35 ve kafeslerin 10 km güneyindeki mercan kayalıklarında % 42 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, Kızıldeniz’in doğal habitatında bulunan 147 adet balık işletmelerin etrafından ve mercan kayalıklarından yakalanarak incelenmiş, mercan kayalıklarındaki balıklarda *Mycobacterium spp.* saptanamazken, kafes etrafından yakalanan 14 örnekten 9’unun infekte olduğu belirlenmiştir. Sekans analizleri, izole edilen bu bakterilerin kültür Levrek balıkları (*Dicentrarchus labrax*)’ndan izole edilenlerle özdeş olduğunu göstermiştir [78].

Doğadan yakalanan deniz balıklarında saptanmış olan mikobakteri türleri ve balıklarda yarattıkları hastalık bulguları yetiştiriciliği yapılan deniz ve tatlısu balıkları ile benzerlikleri, bu bakterilerin her ortamda üreyebildiğini, türe özgü olmadığını göstermektedir.

Yabani deniz balıklarında ilk tüberküler lezyonlar bir Morina balığında (*Gadus morhua* L.) Alexander tarafından 1913 yılında İngiltere’de bildirilmiştir [17]. Bugüne kadar yabani deniz balıklarında *M. marinum* (Aronson 1926’a atfen) [17, 23, 53, 78], *M. chelonae* (Ya Ross 1960’a atfen) [17], *M. similiae*, *M. scrofulaceum* [23, 22, 79], *M. shottsii* [53, 80], *M. fortuitum*, *M. abscessus* [22], *M. chesapeaki* [81], *M. montefiorensis* [82, 83], *M. interjectum*, *M. ulcerans*, *M. szulgai*, *M. triplex* [23] ve *M. pseudoshottsii* [53, 84] türleri bildirilmiştir.

Lansdell vd. (1993) yabani deniz balıklarının infekte organlarında (karaciğer, dalak ve böbrek) klasik izolasyon ve identifikasyon tekniğiyle *M. simiae*, *M. scrofulaceum*, *M. marinum*, *M. chelonae* ve *M. fortuitum* izole edilmiştir [79].

Rhodes vd. (2001) ABD’nin Chesapeake körfezindeki Çizgili levrek (*Morone saxatilis*)’lerde görülen salgın üzerine 20 adet balığı incelemeye almışlardır. 20 balıktan 13’ünde pullarında dökülme ve deride kaslara doğru derinleşen hemorajik lezyonlar, 18’inin iç organlarında ise dalak, karaciğer ve böbreklerde tipik granulomlar görülmüştür. L-J ve 7H10 besiyerlerine yapılan ekimlerin 30°C’de 2 aylık inkübasyonu neticesinde bazı izolatlar zayıf üremiş, yeni bir inokülasyon gerçekleştirilerek 23°C’de 4-6 haftalık inkübasyonla tipik izolatlar elde edilmiştir. Etken *M. shottsii* olarak tanımlanmıştır [80].

Levi vd. (2003), ABD’de avlanan Müren balıklarında görülen granümatöz lezyonlardan *M. montefiorensis* izole ettiklerini bildirmişlerdir [83].

Whipps vd. (2003), Pasifik levreği (*Sebastes alutus*), Sarıağz kayabalığı (*Sebastes reedi*) ve Sarıkuyruk kayabalığı (*Sebastes flavidus*) türlerinin böbrek ve dalaklarından alınan örneklerle PZR uygulayarak *Mycobacterium spp.* ayırt etmişler, izolatların filogenetik analizlerinde *M. montefiorensis* ve *M. triplex*-benzeri olduğunu bulgulamışlardır [82].

Rhodes vd. (2004), yine Chesapeake Körfezi’ndeki yabancı Çizgili Levreklerde görülen bir mikobakteriozis salgınında üreme karakteristikleri, aside dayanıklılık ve gen sekansı sonuçları doğrultusunda incelenen balıkların % 76’sında (n=149/196) mikobakteri saptanmıştır. Örneklerin % 57’sinde (n=109/196) ise önceki salgınlara neden olan *Mycobacterium shottsii* saptanmıştır. na göre izolatların mikobakteri cinsine ait olduğu belirlenmiştir. Optimum üremenin Middlebrook 7H10 agar’da 23°C’de 3 aylık inkübasyonla sağlandığı araştırmada *M. interjectum*, *M. marinum*, *M. scrofulaceum*, *M. szulgai*, *M. triplex* ve *M. marinum* türleri de izole edilmiştir [23].

M. pseudoshottsii de aynı körfezdeki yabancı Çizgili Levreklerde görülen bir mikobakteriozis salgınında saptanmıştır [84].

Kane vd. (2007), Chesapeake körfezinde varlığını sürdüren diğer balık türlerinde de mikobakteri türlerinin saptandığını bildirmişlerdir. Araştırma amacıyla yakalanan balıklardan Atlantik Ringa balığı (*Brevortia tyrannus*)’lerin derisinde kaslara doğru derinleşen ülserler saptanırken, diğer türlerde (*Alosa aestivalis*, *Paralichthys dentatus*, *Fundulus majalis*, *F. majalis*, *Micropterus salmoides*, *Cynoscion regalis*), *Leiostomos xanthurus*, *Morone americana*) herhangi bir hastalık bulgusu görülmemiştir [85].

Yapılmış olan araştırmaların ışığı altında, aynı ortamında bulunan balık türlerinde bulunabildiği anlaşılan mikobakterilerin epizootiyolojisi ile ilgili çok az bilgi mevcuttur. Hastalığın yayılmasına neden olan faktörler tam olarak bilinmemekle beraber, bulaşık yem ve infekte balıkların yenilmesi ve suyla temasla hastalığın yayıldığı tahmin edilmektedir. Ayrıca, intraovarian bulaşma, yumurta ve sperma yoluyla bulaşmanın varlığı da bildirilmiştir [16, 17].

Gauthier vd. (2010), *M. shottsii* ve *M. pseudoshottsii*’nin deniz suyu, sediment ve balıklarda [Çizgili Levrek (*Morone saxatilis*), Atlantic menhaden (*Brevortia tyrannus*), hamsi (*Anchoa mitchilli*)] bulunduğunu göstermişlerdir [53].

Su, hem balık hem de insan için NTM rezervuarıdır. Balıklarda su kaynaklı bulaşma Zerihun vd. (2012) tarafından kanıtlanmıştır. Araştırmacılar, Atlantik Morina balıklarının (*Gadus morhua*) *Mycobacterium salmoniphilum*’a duyarlılığını test etmiştir. Etken balıklara 2 farklı dozda (10^7 ve 10^9 mL⁻¹) İ.P. olarak uygulanmış, infekte edilen balıkların yanına sağlam balıklar da yerleştirilmiştir. Yüksek dozda injeksiyonun gerçekleştiği grupta bakteriler hem injekte edilen hem de injekte edilmeyen balıklardan izole edilebilmiştir. İnjekte edilen balıklarda ölüm % 47 edilmeyenlerde ise % 28 olarak gerçekleşmiştir. Özellikle mezenterium, dalak, böbrek ve karaciğer olmak üzere tüm iç organlardan yaygın granülomlar gelişmiştir. İnfeksiyonun ilerleyen aşamalarında, hem injekte edilen ve hem de injekte edilmeyen balıkların kalp ve solungaçlarında da granülomlar oluşmuştur [86].

Zebra balıklarının banyolama ve ağızdan intübasyonla *M. marinum* ve *M. peregrinum* ile infekte edildiği deneysel çalışmada, etkenin solungaçlardan ziyade ürogenital açıklıktan bulaştığı bildirilmiştir. Etkenler bir amip (*Acanthamoeba castellani*)’e pasajlandığında amip içinde bakterilerin sayıca artmış olmasına karşın balıklara bulaşma olmadığı görülmüştür [87].

Pasifik salmonlarda görülen salgının infekte balıklardan meydana geldiği saptanmış, balık unlarının pastörize edilmesiyle önüne geçilmiştir. Transovarian bulaşma da chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)’da bildirilmiştir. Çizgili levreklerde *M. marinum*’un oluşturduğu salgında populasyon yoğunluğu hazırlayıcı faktör olarak bildirilmiştir. Deri yaralanmaları ya da diğer vektör canlılar da bulaşmada etkili olabilmektedir. Akvakültürde bildirilmiş vakalarda populasyon fazlalığına bağlı stres, düşük su kalitesi, kontamine besinler hazırlayıcı faktörler olarak bildirilmiştir [17].

Mikobakterilerin patojenite ve virulans çalışmaları akvaryum balıklarında ve yetiştiriciliği yapılan balıklarda yürütülerek, farklı mikobakteri türlerinin farklı balıklarda farklı virulans ve patojenik etkiye sahip oldukları görülmüştür. Araştırmalar, kronik bir hastalık olmasına rağmen, mikobakteriozis olgularında yüksek ölümlerin meydana geldiğini göstermektedir.

Arakawa ve Fryer (1984)’in yaptıkları deneysel çalışmada, 12°C’de yaşayan Gökkuşuğu alabalıklarına 10^7 adet *M. chelonae* subsp. *piscarium*’un I.P. yolla

verilmesiyle % 20 - 52, yavru Chinook salmon’larda da 18°C’de 10 gün içinde % 98 ölüm gerçekleşmiştir [20].

Talaat vd. (1999), 166 adet Japon balığı (*Carassius auratus*) örneği 10^7 , 10^8 ve / veya 10^9 kob dozunda *M. fortuitum* ATCC 6841, *M. smegmatis* ATCC 19420 ve *M. smegmatis* mc²155 suşları ile infekte edildiğinde, doğal olarak oluşan mikobakteriozis ile aynı belirtilerin ortaya çıktığını ve hem *M. fortuitum* hem de *M. smegmatis*’in balıklar için patojen olduğu bildirmişlerdir. 10^8 kob’lik dozda, *M. smegmatis* ATCC 6841 ile infekte edilenlerde % 40, *M. smegmatis* mc²155 ile % 10 ve *M. fortuitum* ATCC 6841 ile de % 21 oranında ölüm gözlenirken, 10^9 kob’lik dozda *M. fortuitum* ATCC 6841 ile balıkların tamamı ölmüştür [88].

Watrall ve Kent (2006), mikobakterilerin patojenitesi ile ilgili yaptıkları deneysel çalışmada Zebra balıklarına *M. abscessus*, *M. peregrinum*, *M. chelonae* ve *M. marinum*’u 5×10^4 bakteri/balık dozunda I.P yolla uygulamışlardır. Araştırma sonucunda, *M. marinum*’un Zebra balıkları için yüksek patojeniteye sahip olduğunu (morbidite % 100, mortalite % 30-100) bildirmişlerdir [89].

Çizgili Levrek’lerin 10^5 adet *M. marinum*, *M. shottsii* veya *M. gordonae* ile intra peritoneal (I.P.) enjeksiyonuyla *M. marinum* belirgin peritonitis ve iç organlarda granülomlar oluştururken, diğer iki bakteri hafif lezyonlar oluşturmuştur [90].

2.4.4. Semptomlar

Balık mikobakteriozisi, zayıflama, eksoftalmus, deride yangı, açık lezyon ve ülser gibi eksternal semptomlar gösteren (Şekil 2.4, 2.5) ve balıkların çeşitli organ ve dokularında küçük granülomların oluşması ile karakterize, bulaşıcı ve kronik bir hastalıktır. Mikobakteriozis olgularında, hastalığın yavaş gelişimi nedeniyle, yavru balıklarda eksternal bulguya rastlanmamaktadır. Balık büyüdükçe ve stres arttıkça infeksiyon tehlikesi de artmaktadır. Hasta balıklar halsiz, şişmiş, iştahsız olup, yüzgeçlerinde erozyonlar, çürümeler, pul dökülmeleri oluşabilmektedir [17, 91].

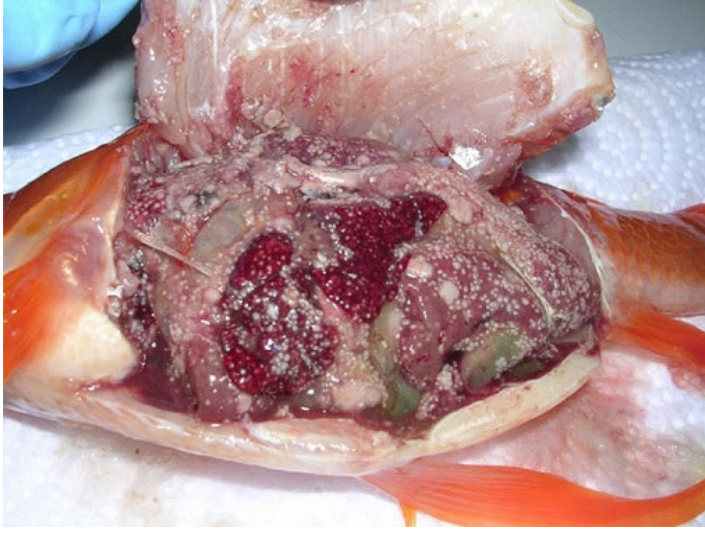


Şekil 2.4. Çizgili levrek (*Morone saxatilis*)'de mikobakteriozise bağlı vücut yüzeyinde ülserler [92]

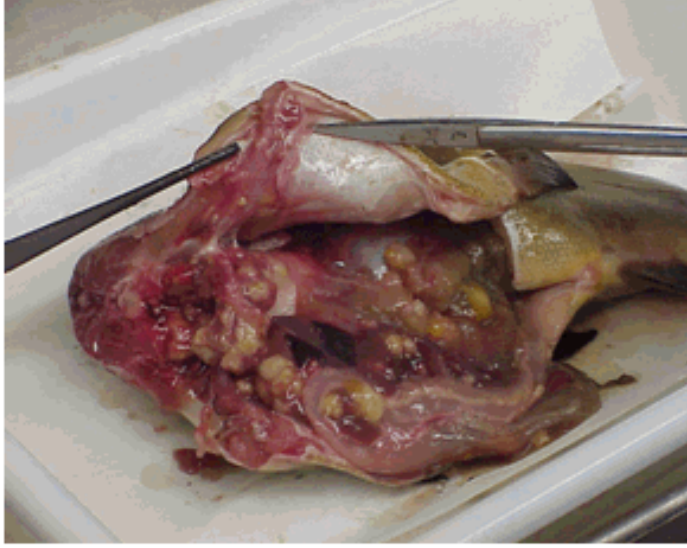


Şekil 2.5. Çipura'nın vücut yüzeyinde deri ülserleri [93]

İnternal olarak karaciğer, böbrek, dalak, kalp ve kaslarda gri-beyaz granülomlar (nodüller) meydana gelmektedir (Şekil 2.6, 2.7). Organlarda nodüller geliştiği zaman, peritonitis ve assites de oluşmaktadır. İnfeksiyonun kemik dokuya yayılması durumunda omurga eğrilikleri saptanabilmektedir. Granülomlar, infekte dokuların mikroskopik incelemesiyle ya da hastalığın ilerlemiş evrelerinde çıplak gözle görülebilmektedir. Balık nihayetinde dayanamayarak ölmektedir. Hastalığın seyri ve şiddeti yüksek oranda mikobakteri türüne ve konakçıya bağlıdır [17, 19, 91].



Şekil 2.6. Koi balığında mikobakteriozise bağlı iç organlarında granülomlar [94]



Şekil 2.7. Avrupa Kadife balığında paranzim organlarında granulomatöz lezyonlar [95]

2.4.5. Teşhis

Balıklarda mikobakteriozis tanısı sürekli gelişme göstermektedir. Klinik belirtiler ve otopsi bulguları mikobakteriozis için bir ön bilgi verebilirse de, belirtiler hastalığa özgü olmayıp hastalığın oluşum şekli ve şiddetine göre değişiklik gösterebilmektedir. Birçok olguda eksternal hastalık belirtilerine rastlanmamakla

birlikte, bazı araştırmacılar deri lezyonları, renk değişimleri, zayıflama, büyümede gerilik, durgunluk ve eksoftalmus saptadıklarını bildirmişlerdir [80, 96]. İç organlarda görülen granulomatöz yangı da mikobakteriozise özgü olmayıp, birçok başka hastalıkta görülebilmektedir [17]. Yine de, hastalık bulguları göz önünde bulundurularak, mikobakteriozis tanısı koymak için dokulardan histopatolojik incelemeler ve EZN boyama tekniğinden yararlanılan araştırmalar mevcuttur [24, 90, 97].

Mikobakterilerin çoğu yavaş ürediklerinden, klasik kültür tekniği ile izolasyonları uzun sürmekte, negatif bulgu kararı verebilmek için 2-3 ay beklemek gerekmektedir. İnsan mikobakteriyel patojenlerinin üretilmesinde kullanılan yüksek sıcaklıklar genellikle balık patojenlerinin üremesini inhibe edebilmektedir. Üreme gerçekleşikten ve bakterinin asite dirençli olduğu belirlendikten sonra, koloniler diğer testler için kullanılabilir [14, 56]. Günümüzde, klasik biyokimyasal yöntemler çok uzun zaman gerektirdiğinden ve zahmetli olduğundan çok tercih edilmemektedir. Ancak, tüm zahmetine rağmen hala altın standart olarak kabul gören klasik izolasyon ve identifikasyon teknikleri balık kaynaklı mikobakterilerin biyokimyasal karakterlerini ortaya koymak amacıyla da kullanılmıştır [90, 97].

PZR tekniğinin gelişmesi ile birlikte, hızlı ve güvenilir sonuçlar alınabilmesi nedeniyle mikobakterilerin tanımlanmalarında da moleküler teknikler kullanılmaktadır. Tıbbî mikrobiyolojik alanda geliştirilmiş olan DNA probları ve gen sekansları teknikleri balık mikobakterilerinin tanımlanmasında da kullanılmaktadır. Balık mikobakterilerinin saptanmasında 16S rRNA geni [58, 81, 82, 83, 99, 100], 65-kDa heat shock protein geni (hsp65) [84, 100, 101], RNA polimeraz B subunit geni (rpoB) [100, 101] amplifikasyonuna dayalı PZR teknikleri yapılmıştır. Su ve su ürünlerinde mikobakteri varlığına yönelik olarak Real-time PZR [86] ve PZR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) [44, 46, 52, 67, 88, 102] uygulanan diğer tekniklerdir. Dokulardan direkt sekans analizleri de başarı ile uygulanmıştır [21, 78, 82, 100]. Ayrıca, HPLC tekniği ile mikolik asitin tespitine dayalı balık mikobakterilerinin identifikasyonu da gerçekleştirilmiştir [23, 84].

2.4.5. Tedavi, koruma ve kontrol

Balıklarda mikobakteriozisin tedavisine yönelik çalışmalarda etkili bir yöntem bulunmamıştır. İnsan tüketimine sunulmak için yetiştirilen balıklarda görülen mikobakteriozise karşı Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA, U.S.; Food and Drug Administration) tarafından, balıklarda kullanılmak üzere önerilen bir ilaç bulunmamaktadır. Mikobakteriozis'in aşısı da olmadığından, doğru bakım ve besleme, koruyucu önlemler, karantina tedbirleri ve dezenfeksiyon protokollerinin uygulanması çok önemlidir [55].

Colorni vd. (1998) deneysel olarak *M. marinum* ile infekte ettikleri Levrek balıklarını antibiyogram test neticesinde duyarlı olan streptomisin ve sarmısak özütü ile tedavi programına almışlar, ancak *in vivo* uygulamalarda mikobakterilerin ölmediğini belirlemişler, tedavide başarı sağlayamamışlardır [96].

2.5. ÇEVRESEL MİKOBAKTERİLERİN İNSAN SAĞLIĞINDAKİ YERİ VE ÖNEMİ

Yapılmış olan araştırmalar, çevresel mikobakterilerin suda, çamurda, yetiştiriciliği yapılan ve avcılık yoluyla hasat edilen, dolayısıyla gıda olarak tüketilen ve ruh sağlığınıza destek niyetiyle yetiştirilen akvaryum balıkları da dahil, neredeyse tüm balık türlerinde bulunduğunu göstermektedir. Su ürünleri tüketiminin sürekli artış göstermesine karşın, dondurulmuş balıklarla ilgili mikobakteriyel araştırmalar oldukça sınırlıdır. İspanya'da Mediel vd. (2000)'nin insan tüketimine sunulmak üzere dondurulan balıklarda yapmış oldukları araştırma, canlı balıklarda elde edilen mikobakteri sonuçlarına benzerlik göstermektedir. Araştırmacılar, -18 ve -22°C arası sıcaklıklarda muhafaza edilen Dil balığı (*Solea solea*), Berlam (*Merluccius merluccius*), Morina (*Gadus morhua*), *Genypterus blacodes* ve Keler balığı (*Lophius piscatorius*) örneklerinden 10'ar adet ve bu örneklerin çözündürülmesi sırasında oluşan her bir balık örneğine ait sıvıları incelemişlerdir. Toplam 100 örneğin (50 balık ve 50 sıvı) incelendiği çalışma sonucunda, 19 sıvı (% 38) ve 10 balık örneğinde (% 20) L-J besiyerine ekim ve EZN boyama sonucunda pozitif sonuç alınmış ve PZR metoduyla identifikasyonda *M. fortuitum*, *M. peregrinum*, *M. gordonae*, *M. terrae*, *M. nonchromogenicum* türleri tanımlanmıştır. Araştırmacılar inkübasyonları 4°C, 25°C

ve 37°C’de gerçekleştirmişler, izolatların % 95,6’sının 25°C’de ürediğini bildirmişlerdir [102].

Bilindiği gibi, balıklarda saptanmış olan mikobakterilerin birçoğu ihtyozoonotik karakterlidir. Böylece, çevresel mikobakterilerin insanlara bulaş kaynakları arasında su, çamur, toz ve birçok gıdaya ek olarak tüketilen su ürünlerinin yenilmesi ve temas edilmesi de bulunmaktadır. Mikobakteriyel etkenler insanlara temasla, solunum yoluyla (damlacık infeksiyonu), ağız yoluyla, deri yaralanmalarıyla bulaşmaktadır [14, 34, 103].

NTM’in önemi, özellikle gelişmekte olan ülkeler ve AIDS gibi bağışıklık sistemi sorunu olan bireylerde gittikçe artmaktadır. Balıklardan insanlara bulaşan mikobakteriler insanlarda el, kol, ayak, bacak gibi uzuvlarda yara infeksiyonlarına yol açmaktadır. NTM, insanlarda altı önemli klinik tablo oluşturmaktadır: Akciğer infeksiyonları, lenf yumrusu iltihabı, lokalize deri ve yumuşak doku infeksiyonları, dissemine (bütün vücuda yayılmış) infeksiyonlar, tendon, kemik ve eklem infeksiyonları ve kateter infeksiyonlarıdır [41, 43].

NTM infeksiyonlarının bildirimi zorunlu olmadığı için prevalansı ancak tahmin edilebilmektedir. Amerika’da çoğu akciğer olmak üzere her yıl 2 / 100000 NTM infeksiyonu görüldüğü ve prevalansın giderek arttığı bildirilmektedir. İncelenen örnek sayısının artmasının yanısıra, son yıllarda NTM hastalığının klinik tanımlanmasındaki gelişmelerin de bu artışa katkıda bulunduğu belirtilmektedir [41].

İnsan sağlığını tehdit eden ihtyozoonotik mikobakteriler içinde *Mycobacterium marinum* daha sık görülmekle birlikte, *M. fortuitum* ve *M. chelonae* türleri de önem taşımaktadır. Bu etkenlerin meydana getirdiği infeksiyonlar ilk olarak 1939 yılında İsveç’te ve 1951 yılında Amerika Birleşik Devletleri’nde bildirilmiştir. Her iki olguda da *M. marinum* varlığı saptanmıştır. *M. marinum* infeksiyonu çeşitli meslek grupları (evcil hayvan mağazaları çalışanları, balıkçılar) için daha fazla tehlike oluşturmakla birlikte, evinde akvaryum bulunan insanları da etkilemektedir [18]. *M. marinum*’un 37°C’de üreyebilen bazı suşlarının insanlarda sistemik infeksiyonlara neden olabildiği, 37°C’de üremeyen bazı *M. marinum* suşlarının da insanlara daha çok su kaynaklarından temasla, solunum yoluyla ya da yenilmesiyle bulaşsa da, insandan insana temasla bulaştığı da gösterilmiştir [17]. Günümüzde, NTM infeksiyonlarının çıkışında Avrupa ülkelerinde balık tankları ve

yüzme havuzları en yaygın kaynak iken, Tayland gibi ülkelerde balıklar sıklıkla etkilenmektedir [104].

Sağlıklı insanlar etkenle bulaşık balık veya diğer su ürünlerini, klorlanmamış havuzları veya su tanklarını temizlerken oluşan yaralanmalar sonucu enfekte olmaktadır. Ülkemizin su ürünleri tüketim alışkanlıkları göz önüne alındığında, balıkların taze olarak tüketiminin tercih edildiği ve genellikle evlerde temizlendiği bildirilmektedir [105].

Etkenle bulaşık gıda, havuz veya su tanklarıyla temastan 2-3 hafta sonra el, yüz, ayak ve kollarda küçük menekşe renginde papüller oluşmaya başlayarak, derin olmayan kabuklu ülserler ve yara izleri meydana gelmektedir [41, 106, 107, 108].

Sanders vd. (1995), ABD’de bir AIDS hastasında kronik ülseratif ve nodüler deri lezyonları gözlemlemiş ve *M. scrofulaceum* izole etmişlerdir [109].

Steitz vd. (1997) tarafından 5 vaka bildirimi gerçekleştirilmiş, farklı yaş grubuna dahil, parmak ve ellerinde deri enfeksiyonu olan hastaların tamamında *M. marinum* türü tanımlanmıştır [104]. Benzer şekilde Caputo vd. [2010] de 3 olguda tatlı su akvaryumu sahibi kişilerin ellerinde oluşan enfeksiyonlardan alınan örneklerden *M. marinum* identifiye etmişlerdir [110].



Şekil 2.8. Elde *M. marinum* kaynaklı yumuşak doku enfeksiyonu [110]

Han vd. (2000)’nin ABD’de gerçekleştirdiği araştırmaya göre 2000-2005 yılları arasında 115 vakaya ait örnekler toplanmış, klinik ve mikrobiyolojik olarak analiz edilmiştir. Solunum sistemi, deri, yumuşak doku, kan ve yara infeksiyonlarından alınan örnekler incelenerek *Mycobacterium mucogenicum*, *M. fortuitum* complex ve *M. abscessus* tanımlanmıştır [111].

Collina vd. (2002) tarafından ise bağışıklık sistemleri baskılanmamış iki kişide balık avladıktan sonra gelişen deri infeksiyonunun sebebi araştırılmış, L-J ve EZN sonuçları negatif çıkmasına rağmen 16S rDNA amplifikasyonu ile *M. fortuitum* ve *M. chelonae* belirlenmiştir [112].

Singapur’da 59 yaşındaki bir erkek hastanın sol el bileğinde görülen infeksiyon etkeninin *M. marinum* olduğu saptanmıştır [113].

M. chelonae, Hindistan’da eklem iltihabından [114], Tayvan’da karın zarı iltihabından [115] ve Hollanda’da kornea iltihabından [116] identifiye edilmiştir.

Ülkemizde Aksu vd. (2001), kilo kaybı, ateş, karın ağrısı gibi semptomlar gösteren bir hastada *M. fortuitum* ve *M. chelonae* bildirmişlerdir [117].

M. flavescens de Singapur’da bir erkek hastada yumuşak doku, eklem, kemik ve akciğer infeksiyonunun etiyolojik ajanı olarak rapor edilmiştir [118].

ABD’de sağlıklı genç bir kadın hastada gelişen akciğer hastalığında yapılan araştırmada *M. terrae*, *M. nonchromogenicum* ve *M. triviale* türlerinin tanımlandığı bildirilmiştir [119].

Mycobacterium aurum ilk defa bağışıklık sistemi zayıflamış yetişkinlerde 1988 yılında İspanya’da [120] ve bağışıklık sistemi baskılanmış çocuklarda 2003 yılında ABD’de [121] patojen olarak tanımlanmıştır.

1969-1996 yılları arasında dünya genelinde, etkeninin *M. marinum* olduğu kabul edilen 652 vaka bildirimini gerçekleştirilmiştir. Bunların % 85’inin kaynağı olarak akvaryum ve akvaryum balıkları nedeniyle meydana gelen yaralanmalar olduğu bildirilmiştir [13].

M. genavense musluk suyu, evcil hayvan ve sağlıklı insanların sindirim ve boşaltım sistemlerinden izole edilebilen bir tür olup [122], Japonya’da bağırsak tıkanması teşhisi konulan bir hastada [123] ve Fransa’da birisi böbrek nakli yapılan, diğeri de HIV pozitif olmak üzere iki hastada bildirilmiştir [124].

İngiltere’de balıkçılıkla geçinen bir kişide yüzgeç ışıını batması sonucu avuç içinde apse oluştuğu ve *M. fortuitum* tanımlandığı bildirilmiştir [125].

Her ne kadar bağışıklık sistemi hastalıklarının artmasıyla birlikte insanlarda mikobakteri olgularında artışı görülse de [34], gıda kaynaklı bakteriyel hastalıklarda başı çeken *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Clostridium spp.* gibi bakterilerin oluşturduğu tehlike kadar önemli bir yer tutmamaktadır [126, 127]. Nitekim, Dünya Sağlık Örgütü (2008) raporunda NTM bakterileri halk sağlığı açısından önemli bakteriler listesinde yer almamaktadır [128]. Amerika’da 1993-1997 yılları arasında meydana gelen gıda kaynaklı hastalık olgularında 2751 salgın (86058 olgu) görülmüş, bu salgınların % 75’ini bakteriyel patojenler oluşturken, hastalık olgularının % 86’sı *Salmonella enteritidis* tarafından meydana gelmiştir [129]. Oysa 1993-1996 yılları arasındaki verilerde sadece 198 adet *M. marinum* olgusu bildirilmiştir [127].

Gıda kontrolü laboratuvarlarında, gıdaların rutin analizlerinde insan sağlığı açısından en önemli bakteriler yer almakta, tüm patojenlerin kontrolünün yapılması uygulama zorlukları açısından olanaksız görünmektedir. Bu nedenle, önemli bazı patojen bakterilerin kontrolü yanında, gıdaların genel bakteri yükünün anlaşılması, o gıdanın hijyenik yapısı hakkında genel bir fikir edinilmesini sağlamaktadır. Bu amaçla, indikatör mikroorganizma olarak belirtilen mezofilik aerobik bakteri, psikrofilik aerobik bakteri ve koliform bakteri sayımları rutin gıda kontrollerinde mutlaka yer almaktadır.

2.6. BALIKLARIN MİKROBİYAL YÜKÜ

Balıkların bozulmasında balık bünyesinde bulunan enzimlerin, çevre koşullarının ve mikroorganizmaların çeşitli etkileri vardır. Balıklarda biyolojik denge içinde kalite ve kantite bakımından devamlı değişim gösteren bir mikroflora mevcuttur. Balık mikroflorası, balık türü, balığın yaşadığı sular, mevsimler, beslenme durumu ve gelişim dönemleri gibi faktörlere bağlı olarak sürekli değişmektedir. Balık eti, mikrobiyal ve infeksiyöz hastalıklar dışında in vivo olarak mikropsuzdur. Temiz şartlarda yetişmiş ve hijyenik olarak işlenmiş taze balık etinde başlangıçta mikroorganizmalar bulunmamaktadır. Normal koşullarda pazarlanan balıkların yüzeyinde $10^2 - 10^7/cm^2$, solungaçlarında $10^3 - 10^6/g$ ve bağırsaklarında

$10^3 - 10^8/g$ oranlarında değişen mikrofloraya rastlanmaktadır. Mikroorganizmalar balığın ölümü sonrası dönemde dokulara girmekte ve zamanla üreyerek bütün dokuları sarmaktadır. Mikroorganizmaların büyük bölümü primer olarak çevrede, balıkların derisinde, solungaçlarında ve bağırsak içeriğinde bulunmaktadır. Bunların içinde aerobik ve anaerobik basiller, *Pseudomonas*’lar, fosforesan bakteriler, Flavobakteri’ler, *Achromobacter*’ler, mayalar ve küf mantarları yer almaktadır. Mikroorganizmaların diğer bir kısmı da sekonder olarak işleme, taşıma ve pazarlama sırasında balıklara geçmektedir. Bunların arasında enterobakterler, basiller, mikrokoklar, maya ve küf mantarları baskındır [130, 131].

Doğada geniş bir yayılım alanı bulan mikroorganizmaların aslen çok az bir kısmı insanlar için patojen karakterdedir. Bununla beraber, besin maddesinde bulunan ya da bulunma olasılığı yüksek olan patojen mikroorganizmaların saptanması gerek ticari ahlak, gerekse kanuni yükümlülükler nedeni ile bir zorunluluktur. Patojen mikroorganizmaları ve bunların salgıladıkları toksinleri belirlemede kullanılan yöntemler, karışık, uzun süre alan ve pahalı yöntemlerdir. Bu nedenle gıdaların rutin kontrollerinde tüm patojen mikroorganizmaların ya da metabolitlerin aranması yerine, önemli bazı patojenlerin aranması yanında indikatör mikroorganizmaların saptanması mikrobiyal problemlerin çözümüne yardımcı olacaktır. Çünkü, indikatör mikroorganizmaların gıdalardaki varlıkları ve sayıları, patojen mikroorganizmalarla bulaşma olasılığını gösterebilmektedir [132].

Gıdaların genel hijyenik yapılarının belirlenmesi amacıyla, mikrobiyolojik muayenelerinde “mezofilik aerobik bakteri sayımı”, “psikrofilik aerobik bakteri sayımı” ve “toplam koliform bakteri sayımı” teknikleri uygulanmaktadır. Mezofilik aereobik bakteri sayısı o gıdanın genel bakteri yükü ile bilgi edinmemizi sağlarken, psikrofilik bakteri sayısı da soğukta muhafaza esnasında gıdaların bozulmasına neden olabilecek bakteri yükünü göstermektedir. Koliform bakteri sayısı ise gıdalarda olası patojen bakterilerin varlığını hakkında bir fikir vermektedir.

Mezofilik aerobik bakteri sayısı, genel olarak insan sağlığını etkileyen mezofil ve aerobik karakterdeki saprofit ve patojen mikroorganizmaların sayısını göstermektedir. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı ile gıda hammaddeleri, yardımcı maddeleri, ambalaj materyali, genel olarak işleme koşulları, işleme sonrası depolama ve taşıma koşullarının standartlara uygun olup olmadığı, gıdada

bozulmanın başlaması ve raf ömrü belirlenebilmektedir. Psikrofil aerobik bakteri sayısı ise buzdolabı sıcaklığında üremelerini sürdüren ve genellikle gıdaların bozulmalarında rolü olan ‘soğuk seven’ bakterilere işaret etmektedir [133]. Koliform grubu bakteriler de, Enterobacteriaceae familyası içinde yer alan, fakültatif anaerob, Gram negatif, spor oluşturmeyen, 35°C’de 48 saat içinde laktozdan gaz oluşturan, çubuk şeklinde bakterilerdir. Bu bakterilere pek çok gıda hammaddesinde rastlanmaktadır. Bunların başında, taze sebzeler, taze yumurta, çiğ süt, kanatlı etleri ve koliform bakımından zengin suların alınan kabuklu ve diğer su ürünleri gelmektedir. Gıdalarda koliform bulunması kötü sanitasyon koşullarının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir [134].

Ülkemizde yürürlükte olan “Su Ürünleri Yönetmeliği”nde yer alan ‘dondurulmuş ve işlenmiş balıklarda yapılacak analizler ve kabul edilebilir değerler’ listesine göre, dondurulmuş balıklarda kabul edilebilir mezofilik aerobik bakteri sayısı olarak 10^6 kob/g (koloni oluşturan birim / gram), maksimum kabul edilebilir değer olarak da 10^7 kob/g (analizi yapılması zorunlu 5 örnekten 2’sinde maksimum değer olabilir) bildirilmiştir. Kabul edilebilir koliform bakteri sayısı da 160-210 kob/g olarak belirtilmiştir [135].

Genç (2006), ortam sıcaklığının toplam aerobik mezofil bakteri, fekal koliform, *Vibrio parahymoliticus* sayısı ve *Listeria monocytogenes* varlığı üzerindeki etkisini araştırmıştır. Materyal olarak Doğu Karadeniz’de yaygın olarak tüketilen Mezgit (*Merlangus merlangus*, L., 1758), İstavrit (*Trachurus mediterraneus*, L., 1758) ve Palamut (*Sarda sarda*, L., 1758) türleri kullanılmıştır. İncelenen 96 balık seyyar balıkçılardan temin edilmiştir. Araştırma sonucunda ortam sıcaklığının değişimi ile mezofilik bakteri, fekal koliform ve *V. parahymoliticus* sayılarının değiştiği belirlenmiştir. Toplam bakteri sayısında elde edilen en yüksek değerler Mezgit, İstavrit ve Palamut örneklerinde sırasıyla $5,6 \times 10^5$, $1,1 \times 10^5$ ve $1,0 \times 10^5$ kob/g olarak bildirilmiştir. Bu türlere göre ifade edilen değerler taze olarak tüketilen deniz ürünleri için tolere edilebilir değerlerin (10^4 - 10^5 kob/g) üzerinde olduğu belirlenmiştir. Fekal koliform sayısında ise en yüksek değerler sırasıyla $7,6 \times 10^4$, $4,6 \times 10^4$ ve $7,0 \times 10^4$ kob/g olarak bulunmuştur. Türk Gıda Kodeksi ve ICMSF [1986] kriterlerine göre, örneklerin tamamının bu değerlerin üzerinde olduğu ve hijyenik kalitenin düşük olduğu belirlenmiştir [136].

Ataşoğlu (2007), Sinop ilinde satışı yapılan Mezgit balıkları (*Merlangius merlangus euxinus*)’nın fileto, mide-barsak ve solungaçlarında toplam mezofilik aerobik mikroorganizma, toplam psikrofilik aerobik mikroorganizma, koliform bakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* ve *Vibrio paraheamolyticus* mikroorganizmalarının varlıklarını araştırmıştır. Filetoda mikroorganizmaların minimum ve maksimum sayıları toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı $33,1 \pm 1,78$ kob/g ve $1,82 \times 10^5 \pm 1,0$ kob/g, toplam psikrofilik aerobik bakteri sayısı $3,31 \times 10^3 \pm 1,10$ log kob/g ve $4,07 \times 10^4 \pm 1,10$ kob/g ve koliform bakteri $6,31 \times 10^6 \pm 1,55$ kob/g ve $3,02 \times 10^4 \pm 1,07$ kob/g olarak tespit edilmiştir [137].

Olgunoğlu (2007), marine edilmiş hamside (*Engraulis engrasicholus*) duyuusal, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimleri incelemiş, taze materyaldeki toplam mezofilik aerob bakteri sayısını $6,5 \times 10^4$ kob/g, toplam psikrofil bakteri sayısını $7,0 \times 10^3$ kob/g ve koliform yoğunluğunu da $1,84 \times 10$ kob/g olarak bildirmiştir [138].

Balıkların içinde yaşadığı su örneklerinde de indikatör mikroorganizma sayımları yapılmıştır.

Dionisio vd. (2000) Portekiz’in güney sahillerindeki deniz suyu örneklerindeki toplam koliform değerlerinin maksimum $3,0 \times 10^6$ kob/mL olduğunu bildirmişlerdir [139].

Ürdün’de sahili boyunca 3 farklı noktada alınan deniz suyu örneklerindeki toplam bakteri yükü sırasıyla $5,01 \times 10^4 \pm 33,88$; $3,71 \times 10^5 \pm 147,91$ ve $2,51 \times 10^4 \pm 33,11$ kob/mL olarak bildirilmiştir [140].

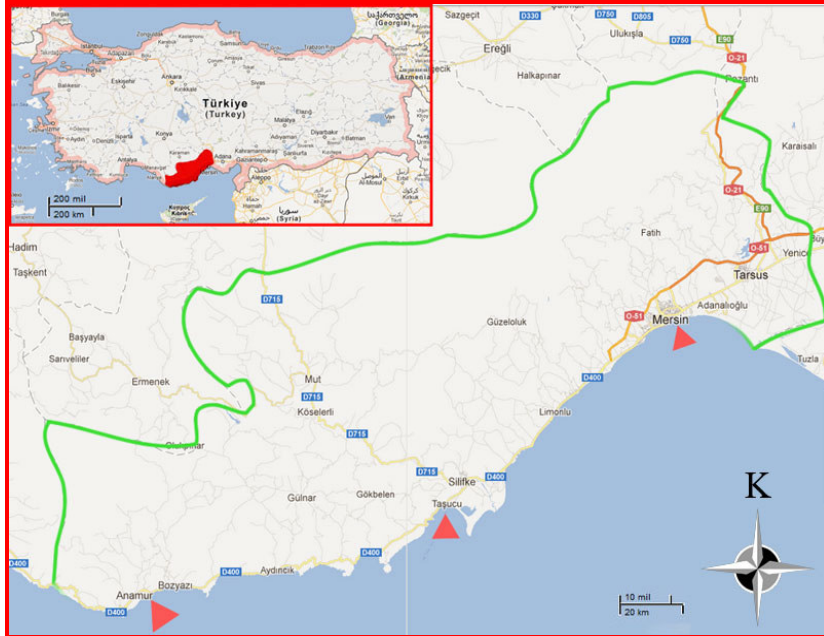
Bu tezin amacı da, uzun bir sahil şeridine sahip Mersin ilinde avlanan ve sevilerek tüketilen Barbun ve Tekir balıklarında olası ihtyozoonotik mikobakterilerin varlığını ve toplam bakteri yükünü araştırarak, bu balıkları gıda güvenliği açısından sorgulamaktır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL

3.1.1 Balık Örneklerinin Alındığı İstasyonlar

Mersin ili sınırları içerisinde Mersin-Karaduvar, Mersin-Çamlıbel, Silifke-Taşucu, Silifke-Yeşilova, Aydıncık, Bozyazı ve Anamur olmak üzere 6 balıkçı barınağı (karaya çıkış noktası) bulunmaktadır. Tez kapsamında, çalışılabilir örnek hacmi ve maliyet göz önünde bulundurularak ve Mersin ili kıyı şeridini kapsayacak şekilde 3 karaya çıkış noktası seçilmiştir. Bunlar; Mersin merkez-Karaduvar, Silifke-Taşucu ve Anamur’dur (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Balık örneklerinin alındığı istasyonlar [141].

3.1.2 Balık Örnekleri

Örneklerin tamamı insan tüketimine sunulmak için avlanan *Mullus* cinsi balıklardır. Balık örnekleri, belirlenen istasyonlardan sonbahar, kış ve ilkbahar mevsimlerinde olmak üzere rastgele örnekleme metoduna göre alınmıştır.

Balık örneklerinin temin edildiği balıkçı teknelerinin gerekli hijyenik donanıma sahip olmadıkları görülmüştür.

Anamur, Taşucu ve Karaduvar istasyonlarından 23.09.2009-26.10.2010 tarihleri arasında toplam 208 adet balık örneği Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarına getirilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. İstasyonlara ve tarihlere göre incelenen balık örneği sayıları

Tarih	Anamur	Taşucu	Karaduvar
23.09.09			20
05.10.09		10	
14.10.09		10	
27.10.09	10		
23.11.09			10
08.01.10		10	
21.01.10	15		
04.02.10			14
25.02.10		19	
10.03.10	15		
17.03.10			15
28.04.10		15	
21.09.10		15	
12.10.10			15
26.10.10	15		
Istasyon Toplamı	55	79	74
Genel Toplam		208	

Laboratuvara getirilen balık örneklerinin tür tayinleri morfometrik olarak tür anahtarı ile gerçekleştirilmiştir [142]. 208 balık örneğinin 135'inin *Mullus barbatus* (Şekil 3.2) ve 73'ünün *Mullus surmuletus* (Şekil 3.3) türlerine ait oldukları belirlenmiştir (Ek 3.1, 3.2 ve 3.3).

Toplam 208 adet balık örneğinin ortalama boyu $14,40 \pm 2,12$ cm (min. 10,0 – max. 19,50 cm), ortalama ağırlığı ise $36,42 \pm 15,90$ g (min. 10,15 – max. 87,70 g) olarak belirlenmiştir. Balık türlerine göre boy ve ağırlık ortalamaları ise sırasıyla *Mullus barbatus* için $13,80 \pm 2,10$ cm ve $31,67 \pm 14,58$ g; *Mullus surmuletus* için de $15,49 \pm 1,70$ cm ve $45,20 \pm 14,52$ g'dır (Çizelge 3.2). Ek 3.4, Ek 3.5 ve Ek 3.6'da her üç istasyondan elde edilen balık örneklerine ait boy ve ağırlık değerleri yer almaktadır.

Çizelge 3.2. Balık örneklerinin istasyonlara göre ortalama boy ve ağırlıkları ve istatistiksel değerlendirmeleri

	n	Boy (cm)		Ağırlık (g)	
		Ortalama	Min.-Max.	Ortalama	Min.-Max.
Anamur	55	15,92±1,46	13,50-19,50	47,28±13,75	28,74-87,70
Taşucu	79	15,53±1,13 ^a	13,00-18,00	44,71±9,15 ^a	27,69-69,72
Karaduvar	74	12,06±1,09 ^{a,t}	10,00-14,50	19,50±5,82 ^{a,t}	10,15-34,94
<i>M. barbatus</i>	135	13,80±2,10 ^{**}		31,67±14,58 ^{**}	
<i>M. surmuletus</i>	73	15,49±1,70		45,20±14,52	
p değeri		<0,001		<0,001	

a: Anamur ile istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

t: Taşucu ile istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

** : Türler arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.



Şekil 3.2. Barbun balığı (*Mullus barbatus*) örnekleri (orijinal)



Şekil 3.3. Tekir balığı (*Mullus surmuletus*) örnekleri (orijinal)

3.1.3. Laboratuvar Araç ve Gereçleri

Tez çalışması kapsamında kullanılan cihazlar, laboratuvar malzemeleri, kimyasal maddeler, Erlich-Ziehl-Neelsen (EZN) boya solüsyonları ve besiyerleri aşağıda verilmiştir.

3.1.3.1 Cihazlar

Tezin yürütülmesinde PZR cihazı (Thermal Cycler, Eppendorf Mastercycler), güvenlik kabini (Heraeus, HERA safe), elektroforez güç kaynağı (Biometra P30), elektroforez tankı (Agargel Mini Biometra), jel görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat Marne La Vallée, France), soğutmalı mikrosantrifüj (Hettich, Universal 32 R), mikrodalga fırın (Beko, MD 1500), inkübatör (Mettler), otoklav (Nüve, OT 032), hassas terazi (Scaltec), vorteks (VELP-SCIENTIFIC), su banyosu (Mettler), distile su cihazı (Nüve, NS 108), mikropipet seti (Gilson, Pipetman-P 10-P100-F1000), sekans dikey jel tankı (Life Technologies, Gibco BRL Sequencing System, Model S2, Gaithersburg, MD 20884-9980, USA), santrifüj (SIGMA), homojenizatör (IKA, Germany), derin dondurucu (Uğur), buzdolabı (VESTEL), faz-kontrast mikroskop

(NİKON, ECLIPSE-80i), pasteur fırını (NÜVE), soğutmalı etüv (NÜVE), homojenizatör (Ultraturrax, IKA) gibi cihazlar kullanılmıştır.

3.1.3.2. Laboratuvar malzemeleri

Farklı ebatlarda erlenmayer, beher, balon joje, pipetler, falkon tüpü, deney tüpleri, eppendorf tüpleri, steril plastik petri, özeler ve diğer birçok alet ve malzeme kullanılmıştır.

3.1.3.3. Kimyasallar

Kullanılan kimyasal maddeler Tris-Hidroklorid (Sigma T- 5941, Lot 31 K5466), Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)-sodyum tuzu (Lachema-302430300, cat nr 30354), Sodyum dodesil sülfat (SDS) (Sigma L-4509, USA), Tris-baz (Sigma-Aldrich-T8937), Borik asit (Merck K29935665 204), Brom fenol mavisi (SCP Science B7722), Sükroz (Merck 1.07651), Etanol absolut (Riedel- deHaän/ 32221, Germany), Fenol kristalleri (Sigma P-1039, USA), Kloroform (Merck K28735331 107), Agaroz (Sigma- A-9539 lot 013K0008), Taq DNA Polimeraz (Promega M1665), 10X PCR Buffer (Mg Free) (Promega M190G), 5 mM MgCl₂ (Promega A351H), 10 mM dNTP Mix (Sigma Deoxynucleotide set DNTP-100), Proteinaz K (Sigma P 2308), 100 baz çiftlik (bç) Marker (100 bp DNA Step Ladder) (Promega G6951), Bazik fuksin (Sigma C-4165, USA), Etil alkol (Sigma E-285, USA), Fenol kristalleri (Sigma P-1039, USA), Metilen mavisi (Sigma 6900, USA), Hidroklorik asit (Sigma 920-01, USA)'tir.

Erlich-Ziehl-Neelsen (EZN) boya solüsyonları

Karbol fuksin

Bazik fuksin	0,3 g
% 95'lik etil alkol	10 mL
Fenol kristalize	5 g
Distile su	100 mL

Bazik fuksin etil alkolde çözülmüştür. Fenol distile suda çözüldürülmüş ve hazırlanan solüsyonlar 1:1 oranında karıştırılmıştır.

Metilen Mavisi

Metilen mavisi 0,3 g

Distile su 100 mL

0,3 gr metilen mavisi tartılarak 100 mL distile suda çözülmüştür.

% 3’lük Asit Alkol

Hidroklorik asit 97 mL

% 95’lik etil alkol 3 mL

3 mL hidroklorik asit 97 mL % 95’lik etil alkolde çözülmüştür.

3.1.3.4. Besiyerleri

Löwenstein-Jensen (L-J) Besiyeri (Merck 01256-03 Germany)

37,5 g toz L-J besiyeri tartılarak cam balona aktarılmıştır. Üzerine 600 mL distile su ve 12 mL gliserol eklenmiştir. 121°C’de 15 dakika otoklavlanmıştır. Otoklavdan çıkan besiyeri benmaride 50°C’ye kadar soğutulmuştur. Yumurtaların uç tarafı önce % 2’lik iyotla, daha sonra alkol (% 70’lik etil alkol) ile silinmiştir. Steril pens ile yumurtalar uç tarafından kırılarak, içerisinde steril cam bocuk bulunan steril cam balona aktarılmıştır. Cam balon sürekli karıştırılarak yumurtaların tamamen homojenize olması sağlanmıştır. Daha sonra ağız kısmı iki kat steril gazlı bez ile kaplanan steril cam mezüre son hacim 1000 mL olacak şekilde aktarılmıştır. Homojenize edilen yumurtalar, hazırlanmış olan besiyeri üzerine ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Hazırlanan besiyerinden steril tüplere 5’er mL dağıtılmıştır. Tüpler koagülatörde, 80°C’de eğik bir şekilde, 45 dakika koagüle edilmiştir. Besiyerlerinin sterilite kontrolü için ekim yapılmamış bir adet L-J besiyeri 37°C’de inkübatörde 2-3 gün bekletilmiştir.

Middlebrook 7H9 besi yeri (Merck, Germany)

Middlebrook 7H9 toz haldeki besiyerinin 4,7 g’ı bir cam balona aktarılarak, üzerine 2 mL gliserol ve 900 mL distile su eklenmiştir. Otoklavda 121°C’de 15 dakika tutularak steril edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besiyeri benmaride 50-55°C’ye kadar soğutulduktan sonra içerisine 100 mL OADC supplement eklenmiş ve steril tüplere dağıtılmıştır.

Plate Count Agar (PCA) (Merck, Germany)

22,5 g/L olacak şekilde distile su içinde ısıtılarak eritilip, otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Besiyeri 50-55°C'ye kadar soğutulduktan sonra kullanılmıştır.

Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) (Merck, Germany)

39,5 g/L olacak şekilde damıtık su içinde karıştırılarak kaynatılmış ve kaynama başladıktan sonra en çok 2 dakika daha kaynama sıcaklığında tutulmuştur. Besiyeri 50-55°C'ye kadar soğutulduktan sonra kullanılmıştır.

Fizyolojik tuzlu su (FTS)

% 0,85'lik tuzlu su çözeltisi 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

3.1.4. Referans Suşlar

Referans suş olarak *Mycobacterium aurum* DSMZ 6695, *Mycobacterium gordonae* RSKK 14470, *Mycobacterium chelonae* RSKK 06064, *Mycobacterium fortuitum* ATCC 6841 ve *M. tuberculosis* (H37Rv) kullanılmıştır.

M. aurum referans suşu DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Almanya)'den, *M. tuberculosis* ve *M. fortuitum* referans suşları Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden, *Mycobacterium gordonae* ve *Mycobacterium chelonae* referans suşları ise Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Ulusal Tıp Kültür Koleksiyonu (RSKK) laboratuvarından temin edilmiştir.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Balık Örneklerinin Laboratuvara Nakli

Balık örnekleri balıkçılar tarafından avlandıkları gün içinde soğuk zincire ve hijyen kurallarına uyularak Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarına ulaştırılmıştır. Balık örnekleri genellikle aynı gün içinde işleme alınmış, aynı gün içinde işleme alınamama durumunda ertesi gün işleme alınmak üzere +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Balık Boy ve Ağırlıklarının Ölçülmesi

Balıkların boyları cetvelle ($\pm 0,5$ cm) ve ağırlıkları da 0,01 hassasiyetindeki terazi (Scaltec) ile ölçülerek kaydedilmiştir.

3.2.3. Balıkların Hastalık Bulguları Yönünden İncelenmesi

Laboratuvara getirilen balık örnekleri mikrobiyolojik incelemeye alınmadan önce görsel olarak mikobakteriozis semptomları yönünden eksternal ve internal olarak incelenmiştir [16, 56].

3.2.4. Mikrobiyolojik Analizler

Mikrobiyolojik analizler doku örneklerinin homojenizasyonu, dilüsyonların hazırlanması, mikobakterilerin izolasyonu ve identifikasyonu ve mikrobiyal yükün belirlenmesi amacıyla toplam mezofilik ve psikrofilik aerobik bakteri ve koliform bakteri sayımlarını kapsamaktadır.

3.2.4.1. Doku örneklerinin homojenizasyonu ve dilüsyonların hazırlanması

Her balığın deri, kas ve iç organlarından, balıkların büyüklüğüne bağlı olarak, 1-10 g doku örneği alınmıştır. Her biri ayrı bir falkon tüpüne konulan deri, kas ve iç organ (bağırsaklar da dahil tüm iç organlar) örneklerine 10^{-1} 'lik dilüsyon hazırlayacak miktarda FTS eklenmiştir. Bu dokuların homojenizasyon işlemi, sterilite kurallarına uyularak, homojenizatör (ultraturax, IKA) ile gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan homojenattan 1 mL alınarak 9 mL FTS ile karıştırılmış ve 10^{-2} 'lik dilüsyon hazırlanmıştır. Bu şekilde 10^{-3} , 10^{-4} ve 10^{-5} gibi

farklı oranlardaki dilüsyonlar hazırlanmıştır [143]. Amaca ve doku örneklerine göre uygulanan dilüsyon oranları Çizelge 3.3.'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Bakteri sayım yöntemine göre doku örneklerine uygulanan dilüsyon oranları

Doku örneği	Mezofilik aerobik bakteri sayımı	Psikrofilik aerobik bakteri sayımı	Toplam koliform Sayımı
Deri	10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}	10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}	10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}
Kas	10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}	10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}	10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}
İç organ	10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}	10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}	10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}

3.2.4.2. *Mycobacterium spp.*'nin klasik yöntemle izolasyonu

Mikobakterilerin klasik yöntemle izolasyonunda balık doku örneklerinden hazırlanmış olan homojenatların dekontaminasyon, dekontamine edilen örneklerin besiyerlerine inoküle edilerek izolasyonu, dekontamine edilen doku ve besiyerlerinde üreyen tüm izolatların EZN ile boyanması aşamalarını içermektedir. Bu amaçla Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı'nın tüberkülozda bakteriyolojik tanı için kullanılmakta olduğu "NaOH Modifiye Petroff Yöntemi" esas alınmıştır [35].

Homojenatların dekontaminasyonu ve mikobakterilerin izolasyonu

Hazırlanmış olan 10^{-1} 'lik homojenattan diğer mikrobiyolojik ekimler için gerekli sıvı miktarı alındıktan sonra, dokuların dekontaminasyon işlemi yapılmıştır. NaOH Modifiye Petroff Yöntemi'ne göre homojenize edilmiş dokulara 1:2 oranında (v/v) % 4'lük NaOH eklenmiş, 15 dakika oda ısısında bekletilmiştir. Bu süre içinde örnek ve NaOH'in homojen karışımının sağlanması için birkaç kez vorteksle karıştırılmıştır. Bu süre sonunda 3000xg devirde 15 dakika satrifüj edilerek oluşan supernatant atık kabına dökülmüştür. 15 mL steril distile su eklenerek tekrar süspanse edilen sediment, tekrar 15 dakika satrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır. İşlenmiş her bir örnekten iki L-J ve Middlebrook 7H9 besiyerlerine 0,1'er mL ekim yapılmıştır. İnkübasyon 25°C 'de 6-8 hafta olarak uygulanmıştır.

Erlich-Ziehl-Neelsen boyama tekniği

a) Doku homojenatlarının boyanması

Doku homojenatlarından bir öze dolusu alınarak, temiz bir lama, dairesel hareketlerle yayılmıştır. Yaymalar yapıldıktan sonra oda sıcaklığında bekletilerek kurutulmuştur. Sonra, bunzen bekinde mavi aleve 3-4 kez yalatarak tespit edilmişlerdir. Yaymalar, boya düzeneğinin üzerine, birbirileri ile temas etmeyecek şekilde yerleştirilmiş ve üzerlerine tüm preparatın üzerini örtecek şekilde karbol fuksin çözeltisinden dökülmüştür. Yaymalar, buhar çıkacak fakat kaynamayacak şekilde 5 dakika boyunca alttan ısıtılmıştır. Yayma üzerinde buharlaşma ile boya eksildiğinde, yine lam yüzeyini tamamen örtecek kadar karbol fuksin eklenmiş ve ısıtmaya devam edilmiştir. Yaymaları eğerek lam üzerinde kalan karbol fuksin artıkları akıtılmıştır. Yaymalar su ile yıkanmış ve eğerek yayma üzerinde kalan su süzdürülmüştür.

Yaymaların üzerine % 3'lük asit-alkol çözeltisinden dökülmüş, yayma rengini kaybedinceye kadar beklenmiştir (en fazla 3 dakika). Yaymalar su ile yıkanmış ve yaymalar eğilerek yayma üzerinde kalan su dökülmüştür.

Tüm preparatın üzerini örtecek şekilde metilen mavisi çözeltisinden dökülmüş, 20-30 saniye beklendikten sonra yaymalar eğilerek lam üzerinde kalan metilen mavisi artıkları akıtılmıştır. Yaymalar su ile yıkanmış, dik bir şekilde yerleştirilerek oda ısısında kurumaya bırakılmıştır.

Boyanmış preparata bir damla immersiyon yağı damlatılarak mikroskopta x1000 büyütme altında incelenmiştir. Mavi zeminde pembe-kırmızı renkte basillerin saptandığı örnekler *Mycobacterium spp.* şüpheli olarak değerlendirilmiştir [35].

a) İzolatların boyanması

L-J besiyerlerinde üreyen kolonilere EZN boyama metodu uygulanmıştır. L-J besiyerinde görülen kolonilerden bir özenin ucu ile bakteri alınıp FTS ile steril bir lam üzerine preparat hazırlandıktan sonra yukarıda anlatılan aynı işlemler gerçekleştirilmiştir. Pembe-kırmızı renkte basiller *Mycobacterium spp.* şüpheli olarak değerlendirilmiştir.

3.2.4.3. İzolatların polimeraz zincir reaksiyon (PZR) yöntemi ile identifikasyonu

EZN boyama ile şüpheli kabul edilen izolatların DNA’ları ekstrakte edilerek [144], önce primer spesifik PZR tekniği ile hsp65 gen bölgesinin amplifikasyonu sonucu mikobakteriler cins düzeyinde tespit edilmiştir [44]. *Mycobacterium spp.* olduğu belirlenen izolatlar son aşamada polimeraz zincir reaksiyonu-restriction fragment length polymorphism (PZR-RFLP) tekniği ile tür düzeyinde identifiye edilmişlerdir [44]. İzolatların PZR tekniği ile identifikasyonları Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Bakteriyel DNA ekstraksiyonu

Mycobacterium spp. izolatlarının DNA ekstraksiyonu için Sajduda vd. (2004)’nin geliştirmiş olduğu hızlı yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır [144]. L-J besiyerinde üreyen *Mycobacterium spp.* şüpheli mikobakteri kolonilerine hızlı DNA ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Besiyerinde üreyen kolonilerden bir öze dolusu bakteri 1 mL steril distile suda süspanse edilmiş ve 20 dakika kaynar suda bekletilmiştir. Süre sonunda örnekler 12000xg’de 15 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısmı atılarak pellete 200 µL kloroform eklenerek bir dakika vorteks ile karıştırılmıştır. Daha sonra 200 µL nükleaz içermeyen distile su ilave edilerek tekrar vorteks ile karıştırılmış, 12000xg’de 15 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatant elde edilmiştir. Bu süpernatant PZR amplifikasyonda kalıp DNA olarak kullanılmıştır.

Primer spesifik PZR tekniği (hsp65 gen bölgesinin amplifikasyonu)

DNA ekstraktlarından *hsp65* gen bölgesinin amplifikasyonu spesifik bir primer kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, her bir reaksiyon tüpüne kalıp DNA’nın 5 µL’si eklenmiştir. PZR karışımı 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 1,5 mM MgCl₂, % 10 gliserol, her bir deoksiniüksid trifosfattan 200 µM, 0,5 µM primer (Tb11 5'-ACCAACGATGGTGTGTCCAT, MOLBIOL, Germany; Tb12 5'-CTTGTCGAACCGCATAACCCT, MOLBIOL, Germany) ve 1.25 U *Taq* DNA polimeraz (Sigma-Aldrich, D-1806 5U/µL)’dan oluşmaktadır. Amplifikasyonda kullanılan PZR programı şu şekildedir: 94°C’de 5 dakika ilk denatürasyon, sonra 45 amplifikasyon döngüsü (94°C’de 1 dakika, 60°C’de 1 dakika, 72°C’de 1 dakika)

uygulanmış ve 72°C’de 10 dakika son uzama için beklenmiştir. Amplifikasyon sonrası 439 baz çifti (bç) uzunluğundaki fragment, etidyum bromid eklenmiş % 1,5’luk agaroz jele yüklenerek elektroforez sonrası UV lambası altında değerlendirilmiştir [44].

Polimeraz zincir reaksiyonu-restriction fragment length polymorphism (PZR-RFLP) tekniği

PZR-RFLP 439 bç uzunluğundaki amplifikat kullanılarak gerçekleştirilmiştir. *BstEII* (Fermentas, #ER0391, Fermentas GMBH, Germany) enzimi ile kesim için 0,5 µL (5 U) enzim, 2,5 µL enzim tamponu (10X Buffer-O) ve 11 µL nükleaz içermeyen distile su ile hazırlanan karışıma 10 µL PZR ürünü eklenerek 37°C’de dört saat inkübe edilmiştir. Aynı işlemler *HaeIII* enzimi (Fermentas, #ER0151, Fermentas GMBH, Germany) ile kesim reaksiyonu hazırlamak için yapılmıştır. Kesim ürünlerinin elektroforezi % 2’lik agaroz jelde yapılmıştır. Kesim reaksiyonu sonrası oluşan paternlerin değerlendirilmesi ile mikobakteriyel izolatların tür seviyesinde ayrımı yapılmıştır [44].

3.2.4.4. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı

Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı için ekimler iki paralelli ve ‘çift kat dökme kültürel sayım yöntemine’ göre uygulanmıştır. Steril Petri kutularına uygun dilüsyon oranlarından (Çizelge 3.3) 1 mL aktarılmış, metoda uygun olarak Plate Count Agar (PCA) dökülmüştür. 35°C’de 48 saatlik inkübasyon uygulanmıştır. İnkübasyon sonunda 30-300 arası koloni bulunan petriker esas alınmış ve sonuçlar ‘koloni oluşturan birim (kob)/g’ olarak belirtilmiştir [145].

3.2.4.5. Toplam psikrofilik aerobik bakteri sayımı

Toplam psikrofilik aerobik bakteri sayımı için ekimler mezofilik aerobik bakteri sayımı yöntemine göre uygulanmış, ancak inkübasyon 4-7°C’de 10 gün olarak gerçekleştirilmiştir [145].

3.2.4.6. Toplam koliform bakteri sayımı

Koliform bakteri sayımı için de ekimler iki paralelli ve ‘çift kat dökme kültürel sayım yöntemine’ göre yapılmıştır. Toplam koliform sayımında uygun dilüsyon oranları (Çizelge 3.3) ve VRBGA kullanılmış, 35°C’lik etüvde 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 30-300 arası koloni bulunan petriler değerlendirmeye alınarak koyu pembe / mor renkte olan koloniler sayılmıştır. Sonuçlar kob/g olarak bildirilmiştir [134].

3.2.5. İstatistiksel analizler

Veriler SPSS 11.5 paket programına girildikten sonra sürekli değişkenlere ait normallik kontrolleri Shapiro Wilk testi ile test edilmiş ve normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Sürekli parametrelerin istasyonlar ve mevsimler bakımından karşılaştırmaları için tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA), türler bakımından karşılaştırmaları için student t testi kullanılmıştır. Varyansların homojenliği kontrolü için Levene testi yapılmış ve bazı parametrelerin homojen olmadığı tespit edilmiştir. Anlamlı farklılıklar için ikili karşılaştırmalarda varyansları homojen olanlar için Tukey testi, olmayanlar için ise Games Howell testi kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama ve standart sapma değerleri verilmiştir. Sürekli ölçümler arasındaki ilişki için Pearson korelasyon katsayısı elde edilmiştir. İstatistik anlamlılık olarak $p < 0,05$ alınmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

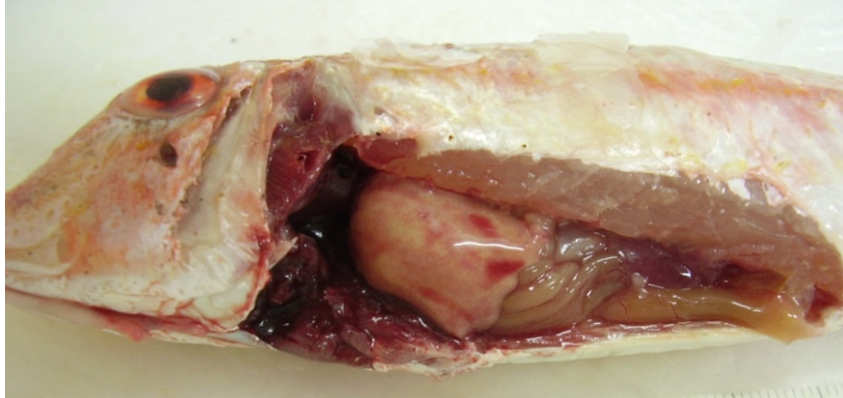
4.1. BULGULAR

4.1.1. Balıklarda Dış Bakı ve Otopsi Bulguları

İstasyonlardan elde edilen toplam 208 balık örneğinin dış bakı ve iç organ muayeneleri yapılmıştır. Dokuz balık örneğinde solgun karaciğer olgusuna rastlanmıştır (Çizelge 4.1, Şekil 4.1).

Çizelge 4.1. Solgun karaciğer bulgusuna ulaşılan balık örneklerinin temin edildiği tarihler ve balık numaraları

Tarih	Balık no	Semptom
23.09.2009	5	Solgun karaciğer
	8	Solgun karaciğer
23.11.2009	26	Solgun karaciğer
	29	Solgun karaciğer
05.10.2009	3	Solgun karaciğer
14.10.2009	16	Solgun karaciğer
21.09.2010	67	Solgun karaciğer
10.03.2010	39	Solgun karaciğer
	49	Solgun karaciğer



Şekil 4.1. *Mullus barbatus* örneğinde solgun karaciğer bulgusu (orijinal)

Şekil 4.2’de ise herhangi bir hastalık bulgusuna rastlanılmayan bir balık örneği görülmektedir.

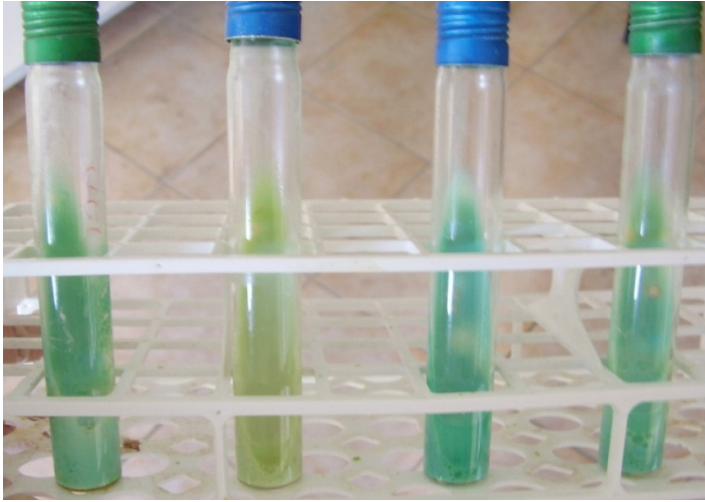


Şekil 4.2. Hastalık semptomu görülmeyen *Mullus barbatus* örneği (orijinal)

4.1.2. Balıklardan İzole Edilen *Mycobacterium* Türleri

4.1.2.1 Klasik metotla saptanan mikobakteri şüpheli izolatlar

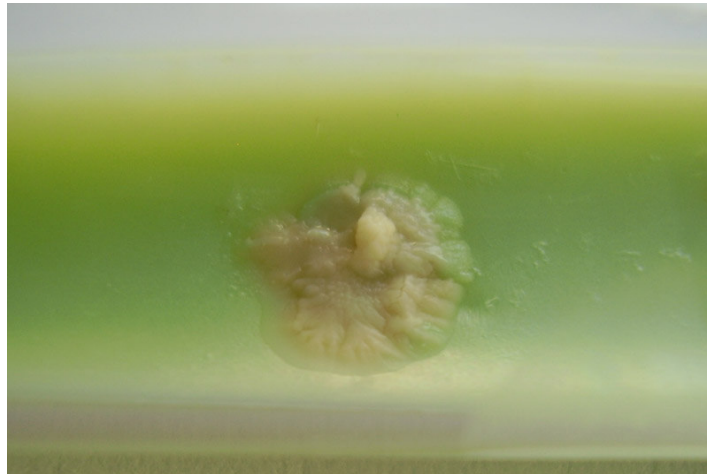
Anamur, Taşucu ve Karaduvar istasyonlarından temin edilen toplam 208 adet balıktan hazırlanan 624 doku örneği *Mycobacterium spp.* varlığı yönünden incelenmiştir. Bu amaçla Löwenstein Jensen (L-J) besiyerine yapılan ekim sonucunda 73 tüpte bakteriyel üreme gözlenmiştir (Çizelge 4.2). Middlebrook 7H9 sıvı besiyerindeki üreme sonuçları ve L-J besiyerlerindeki üremelerin paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Middlebrook 7H9 sıvı besiyerindeki üremeler sadece bulanıklık olarak görülebildiğinden, sadece katı olan L-J besiyerindeki izolatlar (Şekil 4.3, 4.4) değerlendirmeye alınmıştır.



Şekil 4.3. L-J besiyerinde üreyen koloniler (orijinal)

Çizelge 4.2. L-J besiyerinde üreyen bakteri kolonilerine ait balık numarası ve doku bilgileri

Anamur		Taşucu		Karaduvar	
Balık No	Doku	Balık No	Doku	Balık No	Doku
13	Deri	4	Deri	10	Deri
20	İç organ	11	Deri	14	Deri
20	Deri	18	İç organ	15	Deri
24	Deri	21	İç organ	16	Deri
25	Deri	21	Kas	18	Deri
26	Deri	22	İç organ	21	Kas
26	Kas	22	Kas	22	Deri
28	Deri	25	Deri	23	İç organ
28	Kas	27	Deri	24	Deri
29	İç organ	30	Deri	27	Kas
29	Deri	33	Deri	27	İç organ
31	Deri	35	Kas	28	Deri
35	Kas	52	Deri	29	İç organ
35	Deri	55	Deri	30	Kas
39	Deri	56	Deri	32	Deri
44	Deri	57	Deri	32	İç organ
46	Deri	58	Deri	33	Deri
48	Deri	62	Deri	34	Deri
56	İç organ	63	Deri	36	İç organ
63	Deri	65	İç organ	38	Deri
		68	Deri	39	Deri
		70	Deri	42	Deri
		72	Deri	42	Kas
		78	Deri	44	Kas
				44	Deri
				45	Deri
				46	Deri
				47	Deri
				53	İç organ
Toplam	20		24		29



Şekil 4.4. L-J besiyerinde *Mycobacterium sp.* kolonisi

4.1.2.2. Erlich-Ziehl-Neelsen boyama bulguları

Doku homojenatları bulguları

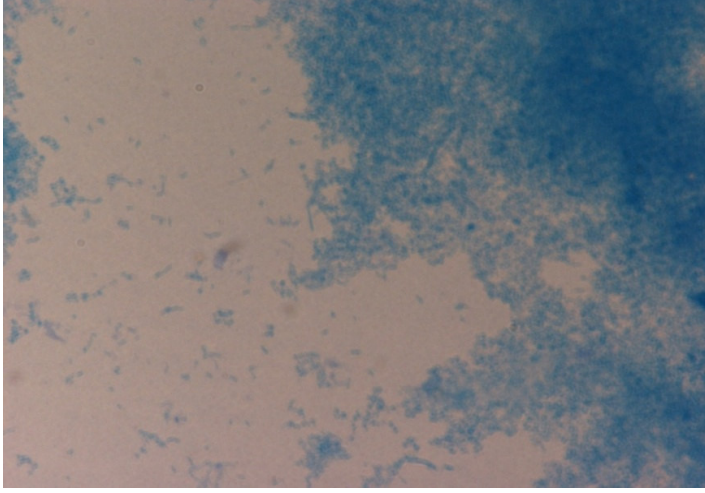
Doku homojenatlarından hazırlanan preparatların boyanması sonucunda hiçbirinde pembe-kırmızı renkte basil belirlenmemiştir.

Bakteriyel izolat bulguları

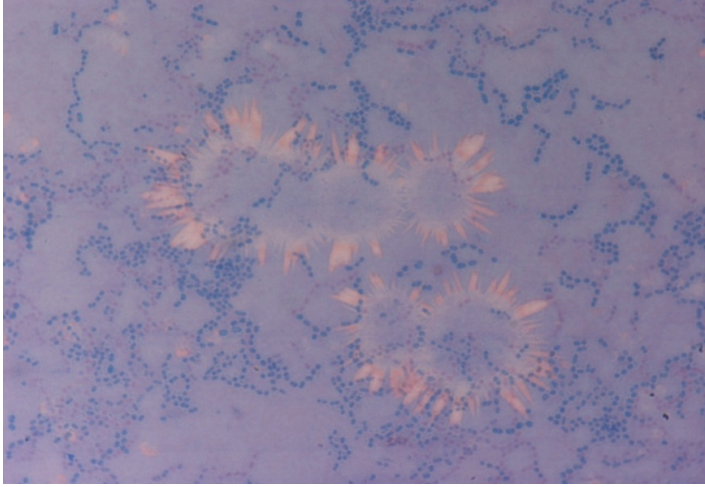
L-J besiyerinde görülen üremelere boyama yapılarak asite dirençli pembe-kırmızı renkte basiller değerlendirmeye alınmıştır. 18.11.2009, 15.12.2009, 23.2.2010, 9.4.2010, 10.6.2010 ve 30.11.2010 tarihinde yapılan EZN tekniği ile boyamalarda toplam 22 pozitif sonuç elde edilmiştir (Çizelge 4.3). Şekil 4.5 ve 4.6'de ENZ boyama ile olumsuz sonuç veren kolonilere ait görüntüler, Şekil 4.7 ve 4.8'da ise pozitif sonuç verenler yer almaktadır. Pozitif sonuç veren izolatlar mikobakteri şüpheli olarak değerlendirilerek bir sonraki işleme alınmaya kadar buzdolabında +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 4.3. EZN pozitif izolatlara ait tarih, istasyon, balık numarası ve doku bilgileri

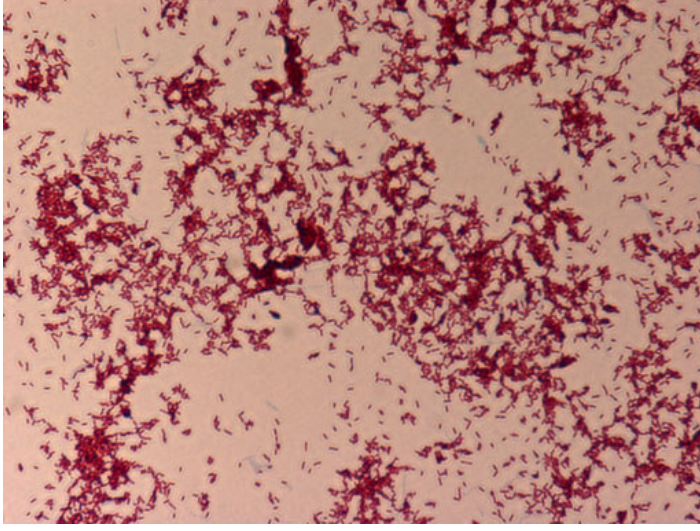
Tarih	İstasyon	Balık no	Doku
18.11.09	Karaduvar	14	Deri
	Karaduvar	15	Deri
	Karaduvar	16	Deri
15.12.09	Karaduvar	18	Deri
	Anamur	13	Deri
	Taşucu	11	Deri
23.2.10	Anamur	28	Deri
	Taşucu	22	İç organ
9.4.10	Karaduvar	32	İç organ
	Karaduvar	34	Deri
	Karaduvar	36	İç organ
10.06.2010	Karaduvar	42	Deri
	Karaduvar	46	Deri
	Karaduvar	47	Deri
	Anamur	46	Deri
	Anamur	48	Deri
	Taşucu	56	Deri
	Taşucu	57	Deri
30.11.2010	Taşucu	65	İç organ
	Taşucu	68	Deri
	Taşucu	70	Deri
	Taşucu	72	Deri



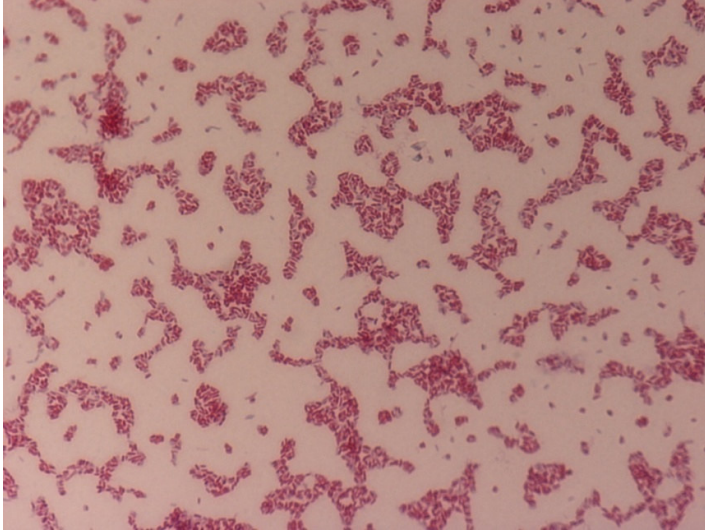
Şekil 4.5. EZN negatif izolat (Erlich-Ziehl-Neelsen boyama, x1000)



Şekil 4.6. EZN negatif izolat (Erlich-Ziehl-Neelsen boyama, x1000)



Şekil 4.7. EZN pozitif izolat (Erlich-Ziehl-Neelsen boyama, x1000)



Şekil 4.8. EZN pozitif izolat (Erlich-Ziehl-Neelsen boyama, x1000)

4.1.2.3. Primer spesifik PZR tekniği ile *Mycobacterium spp.* olarak tanımlanan izolatlar

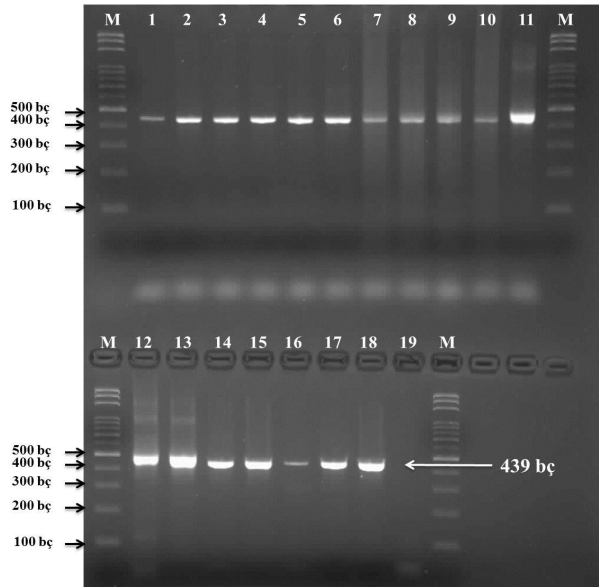
Primer spesifik PZR tekniği kullanılarak gerçekleştirilen hsp65 gen bölgesinin amplifikasyonu için EZN boyama ile pozitif sonuç veren 22 adet izolatın ekstraksiyonu neticesinde elde edilen kalıp DNA’lar kullanılmıştır. Bu izolatlardan 13 adedinin *Mycobacterium spp.* olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.4’de *Mycobacterium spp.* olarak belirlenen izolatlara ait bazı bilgiler yer almaktadır.

Çizelge 4.4. *Mycobacterium spp.* izolatlarının tarih, istasyon, balık ve koloni bilgileri

İzolat No	Tarih	Mevsim	İstasyon	Balık no	Doku	Koloni morfolojisi
A 13 D	27.10.09	Sonbahar	Anamur	13	Deri	Krem rengi, büyük ve rizoid
A 28 D	21.01.10	Kış	Anamur	28	Deri	Sarı, konveks ve büyük
A 46 D	10.03.10	İlkbahar	Anamur	46	Deri	Koyu sarı, düzgün yüzeyle
T 22 İ	08.01.10	Kış	Taşucu	22	İç organ	Açık sarı, küçük
T 56 D	28.04.10	İlkbahar	Taşucu	56	Deri	Turuncu, büyük ve konveks
T 57 D	28.04.10	İlkbahar	Taşucu	57	Deri	Turuncu, büyük ve konveks
T 68 D	21.09.10	Sonbahar	Taşucu	68	Deri	Krem rengi, büyük ve rizoid
T 70 D	21.09.10	Sonbahar	Taşucu	70	Deri	Turuncu, büyük ve konveks
T 72 D	21.09.10	Sonbahar	Taşucu	72	Deri	Krem rengi, büyük ve rizoid
K 14 D	23.09.09	Sonbahar	Karaduvar	14	Deri	Krem rengi, küçük
K 16 D	23.09.09	Sonbahar	Karaduvar	16	Deri	Krem rengi, küçük
K 18 D	23.09.09	Sonbahar	Karaduvar	18	Deri	Krem rengi, küçük
K 42 D	04.02.10	Kış	Karaduvar	42	Deri	Krem rengi, küçük

A: Anamur K: Karaduvar T: Taşucu D: Deri İ: İç organlar

Primer spesifik PZR yöntemi ile amplifikasyon sonrası oluşan 439 baz çifti (bç) uzunluğundaki mikobakteriyal DNA fragmentlerin varlığı izolatların *Mycobacterium spp.* olduğunu ortaya koymuştur. Primer spesifik PZR yöntemi ile amplifikasyon sonrası oluşan 439 bç’lik bölgenin % 1,5’luk agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 4.9’de verilmiştir.



Şekil 4.9. Primer spesifik PZR yöntemi ile amplifikasyon sonrası oluşan 439 bç’lik bölgenin % 1,5’luk agaroz jel elektroforez görüntüsü [Kolon M: 100 bç DNA moleküler ağırlık standardı (Amresco DNA Molecular Weight Marker, 100 bp Ladder, K180-250UL), 1-13 nolu örnekler: Kültürde izole edilen mikobakteri türleri; 14: *M. gordonae*, 15: *M. fortuitum*, 16: *M. chelonae*, 17: *M. aurum*, 18: *M. tuberculosis*, 19: Negatif kontrol].

4.1.2.4. PZR-RFLP tekniği ile tanımlanan mikobakteri türleri

PZR-RFLP tekniği primer spesifik PZR yöntemi ile *Mycobacterium spp.* olarak belirlenen 13 adet izolatın 439 bp uzunluğundaki fragmanları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR-RFLP tekniği sonrası oluşan bant paternleri ile balıklardan izole edilen mikobakteriler tür seviyesinde tanımlanmıştır (Çizelge 4.5).

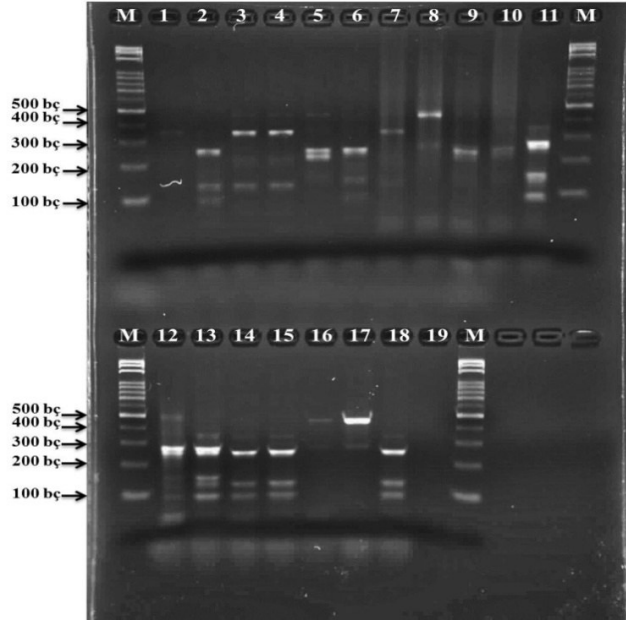
Primer spesifik PZR yöntemi ile amplifiye edilen 439 bp’lik bölge BstE II ve Hae III restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesilmiştir. Kesim sonucu oluşan RFLP ürünlerinin % 2’lik agaroz jel elektroforez görüntüleri Şekil 4.10’da ve Şekil 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Mikobakterilerin PZR-RFLP tekniği ile enzim türü ve baz çifti uzunluklarına göre tanımlanmaları

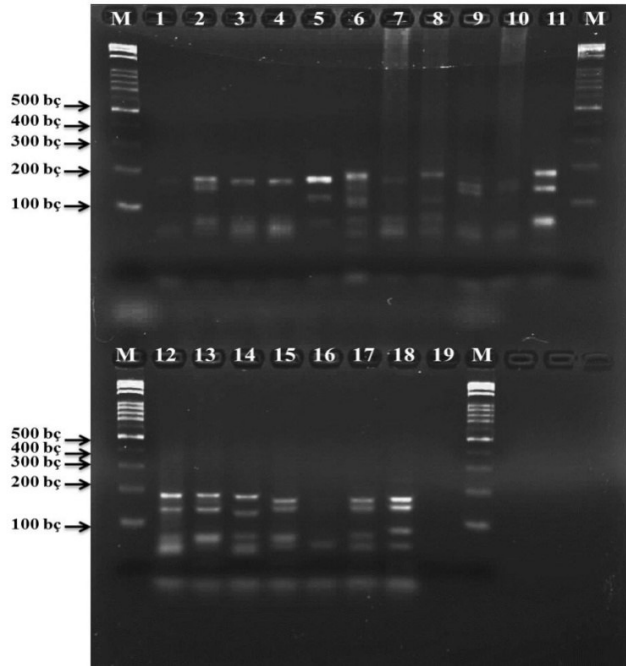
Sıra	İzolat No	BstE II	Hae III	Mikobakteri türü
1	K 14 D	325 bp, 125 bp	140 bp, 105 bp	<i>M. genavense</i>
2	A 13 D	245 bp, 125 bp, 80 bp	155 bp, 135 bp	<i>M. fortuitum</i>
3	K 16 D	325 bp, 125 bp	140 bp, 105 bp	<i>M. genavense</i>
4	K 18 D	325 bp, 125 bp	140 bp, 105 bp	<i>M. genavense</i>
5	A 28 D	245 bp, 220 bp	160 bp, 115 bp, 80 bp	<i>M. marinum</i>
6	T 22 İç	245 bp, 140 bp, 85 bp	175 bp, 80 bp	<i>M. aurum</i>
7	K 42 D	325 bp, 125 bp	140 bp, 105 bp	<i>M. genavense</i>
8	A 46 D	439 bp	175 bp, 80 bp	<i>M. vaccae</i>
9	T 56 D	245 bp, 220 bp	155 bp, 135 bp, 95 bp	<i>M. scrofulaceum</i>
10	T 57 D	245 bp, 220 bp	155 bp, 135 bp, 95 bp	<i>M. scrofulaceum</i>
11	T 68 D	245 bp, 125 bp, 80 bp	155 bp, 135 bp	<i>M. fortuitum</i>
12	T 70 D	245 bp, 220 bp	155 bp, 135 bp, 95 bp	<i>M. scrofulaceum</i>
13	T 72 D	245 bp, 125 bp, 80 bp	155 bp, 135 bp	<i>M. fortuitum</i>
Referans suşlar				
14	RSKK 14470	245 bp, 125 bp, 80 bp	170 bp, 115 bp	<i>M. gordonae</i>
15	ATCC 6841	245 bp, 125 bp, 80 bp	155 bp, 135 bp	<i>M. fortuitum</i>
16	RSKK 06064	245 bp, 220 bp	160 bp, 60 bp	<i>M. chelonae</i>
17	DSMZ 6695	245 bp, 140 bp, 85 bp	175 bp, 80 bp	<i>M. aurum</i>
18	H37Rv	245 bp, 125 bp, 80 bp	160 bp, 140 bp, 70 bp	<i>M. tuberculosis</i>

A: Anamur K: Karaduvar T: Taşucu D: Deri İ: İç organlar

Primer spesifik PZR yöntemi ile amplifiye edilen 439 bp’lik bölge BstE II ve Hae III restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesilmiştir. Kesim sonucu oluşan RFLP ürünlerinin % 2’lik agaroz jel elektroforez görüntüleri Şekil 4.10’da ve Şekil 4.11’de verilmiştir.



Şekil 4.10. Primer spesifik PZR yöntemi ile amplifiye edilen 439 bç'lik bölgenin BstE II restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi sonucu oluşan RFLP ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü [Kolon M: 100 bç DNA moleküler ağırlık standardı (Amresco DNA Molecular Weight Marker, 100 bp Ladder, K180-250UL), 1-13 nolu örnekler: Kültürde izole edilen mikobakteri türleri; 14: *M. gordonae*, 15: *M. fortuitum*, 16: *M. chelonae*, 17: *M. aurum*, 18: *M. tuberculosis*, 19: Negatif kontrol].



Şekil 4.11. Primer spesifik PZR yöntemi ile amplifiye edilen 439 bç'lik bölgenin Hae III restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesimi sonucu oluşan RFLP ürünlerinin % 2'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü [Kolon M: 100 bç DNA moleküler ağırlık standardı (Amresco DNA Molecular Weight Marker, 100 bp Ladder, K180-250UL), 1-13 nolu örnekler: Kültürde izole edilen mikobakteri türleri; 14: *M. gordonae*, 15: *M. fortuitum*, 16: *M. chelonae*, 17: *M. aurum*, 18: *M. tuberculosis*, 19: Negatif kontrol].

Tez kapsamında incelemeye alınan 208 adet *Mullus* cinsine ait balık örneğinin 13’ünde (% 6,25) 13 adet *Mycobacterium spp.* tespit edilmiştir (Çizelge 4.8). Bu izolatların 10’u (% 76,9) *Mullus barbatus*, 3’ü (% 23,1) ise *Mullus surmuletus* türlerinden saptanmıştır.

Mikobakteri bulguları mevsimsel açıdan incelendiğinde, toplam 13 adet izolatın 4 adedinin 2009 yılı sonbaharında (% 30,8), 3’er adedinin de 2010 sonbahar (% 23,1), kış (% 23,1) ve ilkbaharda (% 23,1) alınan balık örneklerinde tespit edildiği görülmektedir.

Mersin kıyı şeridinde avcılıkla elde edilen *Mullus spp.* balıklarında mikobakterilerin varlığı proje kapsamına alınan her üç istasyonda da tespit edilmiştir. İstasyonlara göre *Mycobacterium spp.* bulgularına bakıldığında, 3 adedi Anamur (% 23), 6 adedi Taşucu (% 46) ve 4’ü Karaduvar (% 31) istasyonlarından tespit edildiği anlaşılmıştır.

Anamur istasyonundan sonbaharda alınan bir balık örneğinden *Mycobacterium fortuitum*, kışın alınan bir balık örneğinden *M. marinum* ve ilkbaharda alınan bir balık örneğinden ise *M. vaccae* identifiye edilmiştir.

Taşucu istasyonundan sonbaharda alınan üç balık örneğinden *M. fortuitum*, *M. scrofulaceum* ve *M. fortuitum*, kışın alınan bir balık örneğinden *M. aurum* ve ilkbaharda alınan iki balıktan *M. scrofulaceum* türleri tanımlanmıştır.

Karaduvar istasyonundan sonbahar aylarında temin edilen üç ve kışın alınan bir balık örneğinden *M. genavense* identifiye edilmiştir (Çizelge 4.6).

Mikobakterilerin izole edildikleri dokular incelendiğinde ise, tez kapsamında identifikasyonları gerçekleştirilen mikobakteri türlerinin, Taşucu istasyonundan kışın alınan 22 nolu balık örneği hariç, tümünün balık örneklerinin deri dokusundan belirlendikleri görülmektedir. Taşucu istasyonundan alınan balık örneğindeki mikobakteri tanımlaması ise iç organlardan gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Balık dokularından izole edilen mikobakteri türlerinin istasyon ve mevsime göre dağılımları

İstasyon adı	Mevsim	Balık no	Doku	İzolat no	Mikobakteri türü
Anamur	Sonbahar	13	Deri	A 14 D	<i>M. fortuitum</i>
Anamur	Kış	28	Deri	A 28 D	<i>M. marinum</i>
Anamur	İlkbahar	46	Deri	A 46 D	<i>M. vaccae</i>
Taşucu	Kış	22	İç organ	T 22 İç	<i>M. aurum</i>
Taşucu	İlkbahar	56	Deri	T 56 D	<i>M. scrofulaceum</i>
Taşucu	İlkbahar	57	Deri	T 57 D	<i>M. scrofulaceum</i>
Taşucu	Sonbahar	68	Deri	T 68 D	<i>M. fortuitum</i>
Taşucu	Sonbahar	70	Deri	T 70 D	<i>M. scrofulaceum</i>
Taşucu	Sonbahar	72	Deri	T 72 D	<i>M. fortuitum</i>
Karaduvar	Sonbahar	14	Deri	K 14 D	<i>M. genavense</i>
Karaduvar	Sonbahar	16	Deri	K 16 D	<i>M. genavense</i>
Karaduvar	Sonbahar	18	Deri	K 18 D	<i>M. genavense</i>
Karaduvar	Kış	42	Deri	K 42 D	<i>M. genavense</i>

4.1.3. Balıkların Genel Mikrobiyal Yükleri

Balık örneklerinin genel mikrobiyel yüklerinin belirlenebilmesi amacıyla her bir balığa ait deri, kas ve iç organ dokularının psikrofilik aerobik bakteri sayımı, mezofilik aerobik bakteri sayımı ve toplam koliform değerleri saptanmıştır.

Toplam 208 adet balığın mikrobiyal yüküne bakıldığında, ortalama toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı deri örneklerinde $1,62 \times 10^7$ kob/g, kas örneklerinde $4,83 \times 10^5$ kob/g ve iç organlarda $2,60 \times 10^6$ kob/g; psikrofilik aerobik bakteri sayıları sırasıyla $9,10 \times 10^6$, $4,44 \times 10^5$ ve $4,49 \times 10^5$ kob/g ve toplam koliform bakteri sayıları ise sırasıyla $3,95 \times 10^5$, $1,83 \times 10^4$ ve $1,86 \times 10^5$ kob/g olarak belirlenmiştir.

Anamur, Karaduvar ve Taşucu istasyonlarından elde edilen örneklerin mezofilik aerobik bakteri, psikrofilik aerobik bakteri ve toplam koliform bulguları Ek 4.1, 4.2 ve 4.3’de verilmiştir.

İstasyonlar bakımından toplam mikrobiyal yüke ait tanımlayıcı istatistikler Ek 4.4’de yer almaktadır.

4.1.3.1. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları

İstasyonlara ve toplam 208 balık örneğine ait ortalama mezofilik aerobik bakteri sayıları ve farklılıklarının istatistiksel anlamlılıkları Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. İstasyonlara göre mezofilik aerobik bakteri sayıları

	Deri (kob/g)	Kas (kob/g)	İç organ (kob/g)
Anamur	$2,15 \times 10^7$	$2,33 \times 10^6$	$2,27 \times 10^6$
Karaduvar	$2,42 \times 10^{7,t}$	$1,07 \times 10^{6,a,t}$	$4,75 \times 10^{6,t}$
Taşucu	$5,10 \times 10^{6,a}$	$1,06 \times 10^{5,a,t}$	$8,21 \times 10^5$
Toplam	$1,62 \times 10^7$	$4,83 \times 10^5$	$2,60 \times 10^6$
P	<0,001	<0,001	0,004

p: İstatistiksel farklılık

a: Anamur ile istatistiksel farklılıkları göstermektedir

t: Taşucu ile istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

Deri örneklerinde saptanan mezofilik aerobik bakteri sayısının ortalaması Anamur’da $2,15 \times 10^7$ kob/g, Karaduvar’da $2,42 \times 10^7$ kob/g ve Taşucu’da $5,10 \times 10^6$ kob/g olarak belirlenmiştir.

Deri örneklerinde saptanan mezofilik aerobik bakteri sayısı bakımından istasyonlar incelendiğinde farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Farklılıklar incelendiğinde ise, Anamur ile Taşucu istasyonları arasında deri örneklerinde saptanan mezofilik aerobik bakteri sayısı bakımından farklılık anlamlı olup, Anamur’daki ortalama değer Taşucu’na göre daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$). Ayrıca, Taşucu ve Karaduvar istasyonları arasındaki farklılık anlamlı olup, Taşucu ortalama değeri Karaduvar’a göre daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$).

Kas örneklerinde saptanan mezofilik aerobik bakteri sayısı ortalamaları Anamur’da $2,33 \times 10^6$ kob/g, Karaduvar’da $1,07 \times 10^6$ kob/g ve Taşucu’da $1,06 \times 10^5$ kob/g olarak tespit edilmiştir.

Kas örneklerinde saptanan mezofilik aerobik bakteri sayısı bakımından da farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Anamur-Karaduvar, Anamur-Taşucu ve Taşucu-Karaduvar istasyonları arasında kas örneklerinde saptanan mezofilik aerobik bakteri sayısı bakımından farklılık anlamlı bulunmuş olup, Anamur’daki kas örnekleri değerleri Karaduvar ve Taşucu’ndakine göre daha yüksektir (her iki p değeri de $p < 0,001$).

İç organlardaki ortalama değerler ise sırasıyla $2,27 \times 10^6$ kob/g, $4,75 \times 10^6$ kob/g ve $8,21 \times 10^5$ kob/g olup, Taşucu ile Karaduvar istasyonları arasında ortalamalar bakımından farklılıklar anlamlı bulunmuştur ($p = 0,004$).

4.1.3.2. Toplam psikrofilik aerobik bakteri sayıları

İstasyonlara ait ortalama psikrofilik aerobik bakteri sayısı ortalamaları Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. İstasyonlara göre ortalama psikrofilik aerobik bakteri sayıları

	Deri (kob/g)	Kas (kob/g)	İç organ (kob/g)
Anamur	$1,17 \times 10^7$	$5,64 \times 10^5$	$2,26 \times 10^5$
Karaduvar	$1,59 \times 10^{7,t}$	$7,24 \times 10^{5,t}$	$1,05 \times 10^{5,a,t}$
Taşucu	$1,17 \times 10^{6,a}$	$7,45 \times 10^4$	$5,58 \times 10^{4,a,t}$
Toplam	$9,10 \times 10^6$	$4,44 \times 10^5$	$4,49 \times 10^5$
P	<0,001	<0,001	<0,001

p: İstatistiksel farklılık

Deri örneklerinde saptanan psikrofilik aerobik bakteri sayısının ortalaması Anamur’da $1,17 \times 10^7$, Karaduvar’da $1,59 \times 10^7$ ve Taşucu’da $1,17 \times 10^6$ kob/g; kaslarda saptanan psikrofilik aerobik bakteri ortalamaları Anamur’da $5,64 \times 10^5$, Karaduvar’da $7,24 \times 10^5$ ve Taşucu’da $7,45 \times 10^4$ kob/g; iç organlardaki ortalama değerler ise sırasıyla $2,26 \times 10^5$, $1,05 \times 10^5$ ve $5,58 \times 10^4$ kob/g olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Deri örnekleri psikrofilik aerobik bakteri sayıları bakımından istasyonlar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Farklılıklar incelendiğinde ise, Anamur-Taşucu ve Taşucu-Karaduvar istasyonları arasında deri örneklerinde saptanan psikrofilik aerobik bakteri sayısı bakımından farklılık anlamlı bulunmuş olup, Anamur ve Karaduvar’daki değerler Taşucu’na göre daha yüksek bulunmuştur (her iki p değeri $p < 0,001$).

İç organlarda saptanan psikrofilik aerobik bakteri sayısı bakımından da farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Farklılıklar incelendiğinde ise, Taşucu-Karaduvar istasyonları arasında farklılık anlamlı bulunmuş olup, Karaduvar verileri daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$).

Kas örneklerinde saptanan psikrofilik aerobik bakteri sayısı bakımından istasyonlar arasında farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Farklılıklar incelendiğinde ise, Taşucu-Karaduvar istasyonları arasındaki farklılık anlamlı bulunmuş olup, Karaduvar’daki kas örneklerinde saptanan psikrofilik aerobik bakteri sayısı ortalama değeri Taşucu ve Anamur’dakine göre daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$).

4.1.3.3 Toplam koliform bakteri sayıları

İstasyonlara ait ortalama koliform bakteri sayımı ortalamaları Çizelge 4.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.9. İstasyonlara göre ortalama toplam koliform bakteri sayıları

	Deri (kob/g)	Kas (kob/g)	İç organ (kob/g)
Anamur	$1,03 \times 10^6$	$3,75 \times 10^4$	$4,38 \times 10^5$
Karaduvar	$2,28 \times 10^{5,a}$	$2,10 \times 10^{4,t}$	$1,36 \times 10^{5,a,t}$
Taşucu	$7,52 \times 10^{4,a}$	$2,28 \times 10^{3,a}$	$5,64 \times 10^{4,a,t}$
Toplam	$3,95 \times 10^5$	$1,83 \times 10^4$	$1,86 \times 10^5$
P	0,001	<0,001	0,001

p: İstatistiksel farklılık

Koliform bakteri sayımı sonuçları ise deri örneklerinde Anamur’da $1,03 \times 10^6$, Karaduvar’da $2,28 \times 10^5$ ve Taşucu’da $7,52 \times 10^4$ kob/g; kas örneklerinde Anamur’da $3,75 \times 10^4$, Karaduvar’da $2,10 \times 10^4$ ve Taşucu’da $1,83 \times 10^4$ kob/g ve iç organ örneklerinde sırasıyla $4,3 \times 10^5$, $1,3 \times 10^5$ ve $5,6 \times 10^4$ kob/g olarak elde edilmiştir.

İstasyonlar deri (p=0,001), kas (p<0,001) ve iç organ (p<0,001) örneklerindeki koliform bakteri sayıları bakımından incelendiğinde farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Farklılıklar incelendiğinde ise, deri verilerinde Anamur-Taşucu ve Anamur-Karaduvar istasyonları arasındaki değerlerde farklılık anlamlı bulunmuş, Anamur değeri Taşucu ve Karaduvar istasyonlarından daha yüksek bulunmuştur (p=0,001). Kas örneklerinde de Anamur ile Taşucu istasyonları arasında, Taşucu ile Karaduvar istasyonları arasında da farklılık anlamlıdır (p<0,001). İç organ örneklerinde de 3 istasyon arasındaki farklılıklar anlamlı bulunmuştur (p<0,001).

Balık dokularından elde edilmiş olan mikrobiyal yük verileri mevsimler (Ek 4.11) bakımından incelendiğinde ise, deri örneklerinin psikrofilik aerobik bakteri sayıları (p<0,001), kas koliform (p=0,047) ve psikrofil bakteri sayıları (p=0,005), iç organ koliform (p=0,042) ve psikrofil bakteri sayıları (p=0,048) arasındaki farklılıklar anlamlı bulunmuştur.

Sürekli ölçümler arasındaki ilişkiler istatistiksel açıdan incelenerek korelasyon katsayıları ve p değerleri Ek 4.12’de verilmiştir.

Balık boy ve ağırlıklarına göre mikrobiyal yük ortalamaları arasındaki istatistiksel ilişkiye (Ek 4.13) bakılacak olursa, deri ve kas örneklerinin mezofilik aerobik bakteri sayıları ve deri ve iç organ örneklerinin psikrofilik aerobik bakteri sayılarının balıkların hem boy ve hem de ağırlık ölçüleri ile ters bir ilişki içinde oldukları ($p < 0,001$), balık boyu küçüldükçe bakteri yükünün arttığı görülmüştür.

Ortalama mikrobiyal yüklerini balık türleri ile ilişkisine (Ek 4.14) bakacak olunursa, sadece iç organ örneklerinde belirlenen psikrofilik bakteri sayısında türler arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuş ($p = 0,011$), *Mullus barbatus* değerlerinin daha yüksek olduğu görülmüştür.

4.2. TARTIŞMA

Bu tez kapsamında, insan tüketimine sunulmak üzere Akdeniz'in Mersin kıyı şeridinde balıkçılar tarafından avlanan *Mullus* cinsine ait balık türlerinde hem balık ve hem de insan sağlığı için tehdit oluşturabilme kapasitesine sahip *Mycobacterium spp.*'nin varlığı araştırılmış ve genel hijyenik durumları hakkında fikir edinilmiştir.

NTM ya da çevresel mikobakteri olarak tanımlanan mikobakteriler doğanın her alanında, özellikle de su ve çamurda yaygın olarak bulunabilen, genellikle saprofit ya da insan, kuş, balık ve daha birçok hayvan için fırsatçı patojen özelliğe sahip basillerdir. Deniz, tatlısu, acısu gibi her türlü su ortamında bulunabilen bu etkenler, doğal olarak su içinde yaşayan su ürünlerinde / balıklarda bulunmaları da kaçınılmazdır. Doğal habitatı su olan birçok fırsatçı patojen mikroorganizma gibi mikobakteriler de balıkları hastalandırabilmektedir. Bu nedenlerle, bu bakterileri bünyelerinde taşıyabilen hasta ya da sağlıklı balıklar insan sağlığı için de zoonotik bir risk kaynağı niteliğindedir [14, 17].

Balıklarda mikobakteriler bugüne kadar neredeyse tüm dünyada, değişik su kaynakları ve birçok balık türünde bildirilmiştir. Su ürünlerinde mikobakteriler daha çok akvaryum balıklarında [16, 57, 58, 65, 66, 67, 69, 79] ve yetiştiriciliği yapılan tatlısu [60, 61, 62] ya da deniz balıklarında [22, 24, 71, 72, 73] araştırılmış, doğadan yakalanan [17, 23, 53, 78, 79, 80] ve insan tüketimine sunulmak üzere dondurulmuş deniz balıklarında [102] yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bugüne kadar yetiştiriciliği yapılan Atlantik Salmon (*Salmo salar*) [71], Gümüş Tekir balığı (*Mugil*

curema) [22], Kalkan balığını (*Scophthalmus maximus*) [72], Levrek balıklarında (*Dicentrarchus labrax*) [24], Torik balıkları (*Rachycentron canadum*) [73], *Chanos chanos* [74], Kadife balıklarında (*Tinca tinca*) [75], Sarıkuyruk balıkları (*Seriola quinqueradiata*) [76] ve yabani Morina balığı (*Gadus morhua*) [17], Çizgili levrek (*Morone saxatilis*) [23, 80], Pasifik levreği (*Sebastes alutus*), Sarıağz kayabalığı (*Sebastes reedi*), Sarıkuyruk kayabalığı (*Sebastes flavidus*) [82] ve Atlantik Ringa balığı (*Brevoortia tyrannus*) [85] gibi deniz balıklarında mikobakteriozis yönünden incelemeler yapılmıştır. Ülkemizde de balık mikobakteriozisi ilk defa 2006 yılında Korun vd. [24] tarafından yetiştiriciliği yapılan Levrek balıklarında görülen bir hastalık olgusunda bildirilmiştir. Yürütülmüş olan bu tezde ise doğadan yakalanan Barbun (*Mullus barbatus*) ve Tekir (*Mullus surmuletus*) balıklarında mikobakteriyel analizler gerçekleştirilmiş olup, ülkemiz için bir ilk niteliği taşımaktadır.

Balık muayenelerinde *Mycobacterium spp.* izolasyonlarının hem hastalık belirtisi gösteren ve hem de göstermeyen örneklerden gerçekleştirildiği görünmektedir. Hastalık bulgusu gösteren balıklarla yapılan çalışmalarda *Mycobacterium spp.*, *Mycobacterium chelonae*, *M. abscessus*, *M. fortuitum*, *M. marinum*, *M. pseudoshottsii* mikobakteri türleri bildirilirken [24, 68, 70, 71, 76, 77], hiçbir hastalık belirtisi göstermediği halde *M. chelonei* subsp. *abscessus* (syn. *M. abscessus*), *M. chelonei* subsp. *chelonei* (syn. *M. chelonae*), *M. scrofulaceum*, *M. fortuitum*, *M. flavescens*, *M. gordonae*, *M. terrae*, *M. triviale*, *M. diernhoferi*, *M. celatum*, *M. kansasii* ve *M. intracellulare*, *M. peregrinum*, *M. abscessus*, *M. marinum*, *M. nonchromogenicum*, *M. interjectum*, *M. algericum*, *M. insubricum*, *M. kumamotoense* gibi türlerin saptandığı araştırmalar da bulunmaktadır [22, 58, 59, 60, 67]. Bu araştırma da, avcılık yoluyla elde edilen ve herhangi bir hastalık bulgusu taşımayan yabani Barbun ve Tekir balıklarında mikobakteriyel etkenlerin bulunabileceğini göstermesi açısından tezin amacını desteklemektedir.

Tez kapsamında incelenen 208 balık örneğinin dış bakı ve iç organ muayeneleri sonucunda, neredeyse tüm balık örneklerinin sağlıklı görüldüğü, sadece dokuz balık örneğinin karaciğerinde solgunluk olduğu belirlenmiştir. Yapılmış olan bakteriyel analizler sonrasında da bu 9 balığın hiçbirinde *Mycobacterium spp.* varlığına rastlanmadığı belirlenmiştir. Nitekim, mikobakteriozis olgularında bildirilen hastalık bulguları arasında karaciğer solgunluğu yer almamaktadır.

Mikobakterioziste uyuşukluk, iştahsızlık, su yüzeyinde yüzme gibi davranış değişiklikleri görülen balıklarda, eksternal olarak zayıflama, renk değişikliği, eksoftalmus, skolyoz gibi vücut deformasyonları, karında şişkinlik, pullarda dökülme, aşırı mukus salgısı, deri ülserleri ve kutan nodüller; iç organlarda ise öncelikle karaciğer, dalak ve böbreklerde başlayan, sonraları tüm iç organlara yayılan gri-beyaz nodüller ve asites gibi semptomlar meydana gelmektedir [19, 65, 91]. Eksternal bulgular birçok olguda görülmezken [65, 91], iç organlardaki granüler nodüller mikobakteriozis olgularının en belirgin otopsi bulgularındandır [24, 57, 74, 77]. Ancak, hastalığın tanısı konulurken, iç organlarda görülen granulomatöz yangının mikobakteriozise özgü olmayıp, başka hastalıklarda da meydana gelebileceği göz önünde bulundurulmalı, ileri tetkiklerin mutlaka yapılması gerekmektedir [17].

Balıklardan mikobakteri teşhisinde klasik izolasyon ve identifikasyon, doku ve izolatlardan EZN boyama, histopatolojik yoklamalar, bazı moleküler teknikler ve HPLC gibi kromatografik yöntemler kullanılmıştır. Gauthier vd. (2003, 2004) klasik bakteriyolojik izolasyon ve identifikasyon teknikleri yanında histopatolojik muayene ve EZN boyama tekniklerini de kullanırlarken [90, 97], Korun vd. (2005) sadece histopatolojik muayene ve EZN boyamadan yararlanmışlardır [24]. Klasik identifikasyon teknikleri her ne kadar zahmetli olsa da, mikobakteri tanımlanmasında sadece klasik izolasyon ve identifikasyon yöntemlerinden yararlanıldığı gibi [22, 90], moleküler teknikler yanında bakterilerin biyokimyasal karakterlerinin belirlenebilmesi amacıyla da kullanılmıştır [67, 80, 99]. Birçok araştırmada ise, ya klasik yöntemlerle saptanan izolatlara PZR tekniği [77, 81, 82, 83, 84, 86, 98, 99, 100, 101] ya da direkt olarak balık dokularından sekans analizi [21, 78, 82, 100] gibi moleküler tekniklerin uygulanması ile mikobakteriler tanımlanmıştır. Telenti vd.’in 1993 yılında geliştirdikleri PZR-RFLP tekniği [44], daha sonraları birçok araştırmacı tarafından balıklardan mikobakteri tanımlamalarında kullanılmıştır [45, 51, 67, 102]. Yürütülmüş olan bu tez çalışmasında da, klasik yöntemle izolasyon ve EZN boyamanın ardından, mikobakteri şüpheli bakterilerin tanımlanması amacıyla PZR-RFLP tekniğinden yararlanılmıştır. Bu teknik, diğer araştırmacıların da vurgulamış olduğu gibi uygulanması kolay, hızlı, pratik ve güvenilir bir yöntem olması nedeniyle tercih edilmiştir. Bu araştırma, moleküler bir teknik olan PZR-RFLP’nin balık

kökenli mikobakterilerin identifikasyonunda kullanılması yönüyle de ülkemiz için bir ilk olma niteliği taşımaktadır.

Birçok ülkede, doğadan yakalanan deniz balıklarında farklı oranlarda mikobakteri varlığı bildirilmiştir. Venezuela’da rastgele seçilen 20 adet Gümüş Tekir balığı (*Mugil curema*)’nın 5’inde (% 25) [22], İsrail’de incelemeye alınan Çarpan balığı (*Siganus rivulatus*) örneklerinin % 50’sinde [78] ve Amerika’nın Chesapeake körfezindeki Çizgili Levrek (*Morone saxatilis*)’lerde görülen salgın nedeniyle incelenen balıkların da % 76’sında (n=149/196) mikobakteri saptanmıştır [23]. Mediel vd. (2000) de dondurulmuş deniz balığı örneklerinin % 20’sinde (10/50) mikobakteri bulduklarını bildirmişlerdir [102]. Mezgıt ve Tekir balıklarında gerçekleştirilen bu çalışmada da, 208 balık örneğinin 13’ünde (% 6,25) mikobakteri varlığına rastlanmıştır. Mersin sahilinde avlanan Barbun ve Tekir balıklarında saptanmış olan mikobakteri oranının diğer ülkelere göre daha düşük olduğu görünmektedir. Venezuela ve İsrail’de yapılmış olan araştırmalarda kullanılan balık materyali her ne kadar rastgele örnekleme metoduna göre seçilmiş olsalar da, balıklar ticari işletmelerin olduğu bölgelerden seçilmiştir. İsrail’de yetiştiriciliği yapılan deniz balıklarında mikobakteriozis olgularının varlığı önceki araştırmalarda bildirilmiştir [78, 96]. Gerçekten de, İsrail’de Levrek balığı (*Dicentrarchus labrax*) kafeslerinin içinde yakalanan yabani Çarpan balıkları (*Siganus rivulatus*)’nda mikobakteri oranı % 50 olarak saptanırken, işletmelerden uzaklaştıkça bu oran düşmüştür [78]. Amerika’da incelenen Çizgili Levrek balıkları ise bir hastalık olgusu nedeniyle ele alınmışlardır [23]. Oysa, Mersin kıyı şeridinde bulunan üç ticari balık işletmesinde bugüne kadar mikobakteriozis olgusuna dair bir veri bulunmamaktadır. Bu işletmelerden alınan çipura ve levrek balıklarında Fakültemiz balık hastalıkları laboratuvarında yapılan incelemelerde de mikobakteriozis bulgularına rastlanılmamıştır [Özer, S., yayınlanmamış veriler].

Doğadan yakalanan deniz balıklarında birçok *Mycobacterium spp.* tespit edilmiştir. Salmonid’lerde *M. chelonae* (Ya Ross 1960’a atfen) [17]; Çizgili Levrek (*Morone saxatilis*)’lerde *M. shottsii* [80, 53], *M. chesapeaki* [81], *M. interjectum*, *M. marinum*, *M. scrofulaceum*, *M. szulgai*, *M. triplex* [23] ve *M. pseudoshottsii* [53, 84]; Atlantik Ringa balığı (*Brevoortia tyrannus*) ve Hamsi (*Anchoa mitchilli*)’de *M. shottsii* ve *M. pseudoshottsii* [53]; Gümüş Tekir balığı (*Mugil curema*)’nda *M.*

chelonei subsp. *abscessus* (syn. *M. abscessus*), *M. chelonei* subsp. *chelonei* (syn. *M. chelonae*), *M. fortuitum* ve *M. scrofulaceum* [22], Müren balığı [83], Pasifik levreği (*Sebastes alutus*), Sariağız kayabalığı (*Sebastes reedi*) ve Sarıkuyruk kayabalığı (*Sebastes flavidus*) [82] balıklarında *M. montefiorensis* ve Çarpan balığı (*Siganus rivulatus*) örneklerinde de *M. marinum* identifiye edilmiştir [78].

Doğadan yakalanan deniz balıkları ile gerçekleştirilmiş olan bu çalışmada ise *M. fortuitum*, *M. marinum*, *M. vaccae*, *M. aurum*, *M. scrofulaceum*, *M. genavense* türleri identifiye edilmiştir. Tez kapsamında saptanmış olan *M. fortuitum*, *M. marinum*, *M. scrofulaceum* ve *M. aurum* önceki araştırmalarda farklı balık türlerinde bildirilmiştir. *M. fortuitum* akvaryum balıkları [56, 57, 58, 65, 66, 67, 69, 70], tatlısu balıkları [60, 62], kültüre alınmış Beyaz kefal (*Mugil curema*) [22] ve yabancı deniz balığı örneklerinde [79] tanımlanmışlardır. *M. marinum* da akvaryum balıkları [66, 67, 70], tatlısu balıkları [62], yetiştiriciliği yapılan Sarıkuyruk balığı (*Seriola quinqueradiata*) [76, 96], Çarpan balığı (*Siganus rivulatus*) [78] ve Kalkan balığı (*Scophthalmus maximus*) [72] örneklerinde bildirilmiştir. *M. scrofulaceum* yabancı Beyaz kefal balığı (*Mugil curema*)'nda [22] saptanırken, *M. aurum* da *Channa striatus* türü tatlısu balıklarında [61] bulunmuştur. Su örneklerinde [15, 122] bulunduğu bildirilen *M. genavense*'nin avian mikobakteriozis etkeni olup [17], papağan, sincap, tavşan, kedi gibi pet hayvanlarda bildirilmiş [14] ve birçok vaka sunumunda insan patojeni olarak tanımlanmıştır [9, 122, 123, 124]. Çevresel mikobakterilerden biri olan *M. vaccae* ise saprofit bir bakteri olup, tıbbi mikrobiyolojik alanda tüberküloza karşı koruyucu aşı çalışmalarında kullanılmaktadır [40]. Bu tez kapsamında, literatür incelemeleri göz önünde bulundurulduğunda, *M. vaccae* ve *M. genavense*'nin balık örneklerinden ilk defa saptandığını söylemek mümkün görünmektedir.

Gerek hastalık olguları nedeniyle ve gerekse de mikobakteriyel araştırmalar için rasgele seçilen sağlıklı değişik balık örneklerinde ve farklı su kaynaklarında bildirilmiş olan mikobakterilerden bazıları, gıda güvenliği temelinde ele alınmış olan bu tez kapsamında da belirlenmiştir. İnsan tüketimine sunulan balıklarda mikobakteriyel incelemelerle ilgili olarak, yoğun literatür taramalarımıza rağmen, sadece bir araştırmaya rastlanılabilmemiş, dondurulmuş Dil balığı (*Solea solea*), Berlam (*Merluccius merluccius*), Morina (*Gadus morhua*), *Genypterus blacodes* ve Keler

balığı (*Lophius piscatorius*)’nda *M. fortuitum*, *M. peregrinum*, *M. gordonae*, *M. terrae* ve *M. nonchromogenicum* türü mikobakterilerin bildirildiği görülmüştür [102]. Gıda güvenliği gözetilerek yürütülmüş olan bu tezdeki verilerin, sadece ülkemiz değil, dünya literatürüne de bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Diğer çevresel mikobakteriler gibi ihtyozoonotik mikobakterilerin de insanlarda, özellikle de bağışıklık sistem sorunu olan bireylerde farklı önem derecelerinde infeksiyonlara yol açabildiği bilinmektedir [41, 43]. Bizim araştırmamızda da hem farklı balık türlerinde ve hem de insanlarda hastalık yaptığı bilinen *M. marinum*, *M. fortuitum* ve *M. scrofulaceum* belirlenmiştir. Tez kapsamında saptanmış olan *M. aurum* ise doğadan yakalanan sağlıklı tatlısu balıklarında [61] saptanmış olup, insanlarda patojen olarak bildirilmiştir. İnsanlarda *M. marinum* kol, bilek el ve parmaklarda deri infeksiyonlarında [104, 110, 113, 125]; *Mycobacterium fortuitum* solunum sistemi, yumuşak doku, kan ve yara infeksiyonlarında [111], deri infeksiyonlarında [111, 112], kilo kaybı, ateş, karın ağrısı belirtisi gösteren bir bireyde [117]; *M. scrofulaceum* bir AIDS hastasında kronik ülseratif ve nodüler deri lezyonlarında [109]; *Mycobacterium aurum* bağışıklık sistemi sorunu olan yetişkinlerde [120] ve çocuklarda [121] ve *M. genavense* de bağırsak tıkanması teşhisi konulan bir hastada [123] ve bağışıklık sistemi sorunu olan hastalarda [124] patojen olarak tanımlanmıştır.

Her ne kadar Mersin kıyı şeridinde avlanan Barbun ve Tekir balıklarında ihtyozoonotik mikobakterilerin varlığı ortaya konulmuş olsa da, NTM infeksiyon prevalansının diğer gıda kaynaklı infeksiyonlara göre [41] ve balık kaynaklı gıda zehirlenmelerinin diğer gıdalara oranla daha düşük olması [126] nedenleriyle, hastalık riskinin korkulacak boyutlarda olmadığı görülmektedir. Nitekim, Dünya Sağlık Örgütü’nün 2008 yılı raporunda halk sağlığı açısından önemli bakteriler listesinde NTM yer almamaktadır [128]. Ayrıca, 1969-1996 yılları arasında *M. marinum* sebebiyle 652 olgunun % 85’inin akvaryum ve akvaryum balıkları nedeniyle meydana gelen yaralanmalar [13] olması bu savımızı desteklemektedir. Ancak, mikobakteri oranı (% 6,25) düşük bulunmuş olsa da, balıkların derilerinde saptanmış olduğundan, özellikle ellerinde yara bulunan ve bağışıklık sistemi sorunu olan bireylerin dikkatli davranmalarında yarar bulunmaktadır. Çünkü, ışın batması nedeniyle özellikle balıkçıların risk altında olduğu görülmekle beraber [112, 125],

ülkemizdeki taze balık tüketim alışkanlığından [105] dolayı tüketicilerin de risk grubu içinde yer alabileceği düşünülmektedir.

Tez çalışmasının bulguları ışığında, Mersin kıyı şeridinde avlanan Barbun ve Tekir balıklarında saptanmış olan mikobakteri türlerinin gıda güvenliği açısından önemi tartışmaya açık bir konudur. Çünkü bakterilerin sadece varlığı araştırılmış, bakteri sayısı belirlenmemiştir. Kaldı ki, gıda güvenliği açısından su ürünlerinde bulunabilecek mikobakterilerle ilgili kalitatif ya da kantitatif herhangi bir kriter de bulunmamaktadır.

Ülkemizde, su ürünlerinde gıda güvenliği kontrolünün sağlanabilmesine yönelik kriterler Su Ürünleri Yönetmeliği'nde [135] yer almaktadır. Yönetmelikte, ciddi gıda zehirlenmelerine neden olan *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera* ve *V. parahaemolyticus* yanında su ürünlerinin genel hijyenik yapısını gösteren koliform ve toplam bakteri sayı kriterleri yer almaktadır. Buna göre, dondurulmuş balıklarda kabul edilebilir mezofilik aerobik bakteri sayısının 10^6 kob/g olduğu, 10^7 kob/g ve daha yüksek değerlerin ise kabul edilemez olduğu;. koliform bakteri sayısının kabul edilebilir alt ve üst sınırları da 160-210 kob/g olarak bildirilmiştir [135]. Ancak, yönetmelikte psikrofilik bakteri ile ilgili bir kriter bulunmamaktadır.

Tez çerçevesinde toplam 208 adet balığın mikrobiyal yüküne bakılmış, ortalama toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı deri örneklerinde $1,62 \times 10^7$ kob/g, kas örneklerinde $4,83 \times 10^5$ kob/g ve iç organlarda $2,60 \times 10^6$ kob/g; psikrofilik aerobik bakteri sayıları sırasıyla $9,10 \times 10^6$, $4,44 \times 10^5$ ve $4,49 \times 10^5$ kob/g ve toplam koliform bakteri sayıları ise sırasıyla $3,95 \times 10^5$, $1,83 \times 10^4$ ve $1,86 \times 10^5$ kob/g olarak belirlenmiştir. Balıkların kas örneklerinde belirlenen ortalama mezofilik aerobik bakteri sayısı Su Ürünleri Yönetmeliği kriterlerine uygun, iç organ örneklerinde kabul edilebilir değer üzerinde, deri örnekleri toplam mezofilik aerobik bakteri ve tüm doku örneklerinin toplam koliform bakteri sayılarının ise kabul edilemez değerlerin üzerinde olduğu görülmektedir. Bu değerler, tez kapsamında incelenen balık örneklerinin hijyenik kalitelerinin düşük olduğuna işaret eder. Genç (2006) [136] ve Ataşoğlu (2007) [137] da balık örneklerinin kas dokusunda bizim bulgularımıza yakın değerler vermişler, incelemiş oldukları balıkların hijyenik kalitesinin düşük olduğunu belirtmişlerdir. Tez kapsamında balıkların deri ve iç organlarında

belirlenmiş olan mikrobiyal yük ortalamaları Gökten [130] ve İnal [131]'ın deri, solungaç ve bağırsaklar için bildirmiş oldukları değerlere paralellik göstermektedir. Balık kas örneklerindeki toplam bakteri sayıları normal sınırlar içinde olsa da, koliform bakteri sayılarının standartların üzerinde olması, fekal bir kirliliği akla getirmektedir. Fekal koliform sayısının yüksekliği ise, uygun şartlarda muhafaza edilmeyen balıklarda bağırsak mikroflorasının kısa süre içinde kas dokusuna geçmesi ile gerçekleşmektedir.

Balıkların tüketilen kısmı kasları olsa da, bayatlama safhasında bağırsakların yanında deri ve solungaçların da mikroorganizma kaynağı olarak önemli etkilerinin bulunduğu göz ardı edilmemelidir. Balıkların bütün halde satışa sunulduğu dikkate alınacak olursa, bağırsak, solungaç ve deri mikroflorasının kasların mikrobiyal yükünü etkilenmesi kaçınılmazdır. Bu nedenle yönetmelikte belirtilmiş olan değerler, sadece kas örnekleri için değil tüm dokular için değerlendirmeye alınmalıdır. Tez kapsamında incelenmiş olan toplam 208 adet deniz balığı örneğinin genel mikrobiyal yükünün yüksek olması, balıkların avlandıktan sonra karaya çıkıncaya kadar uygun şartlarda muhafaza edilmediğini akla getirmektedir. Nitekim, balık teknelerinin hijyenik kurallara uygun teknik donanıma sahip olmadıkları kişisel gözlemlerimiz arasında yer almaktadır.

Balık mikroflorasının balık türü, balığın yaşadığı sular, mevsimler, beslenme durumu ve gelişim dönemleri gibi faktörlere bağlı olarak sürekli değiştiği; temiz şartlarda yetişmiş ve hijyenik olarak işlenmiş taze balık etinde başlangıçta mikroorganizmaların bulunmadığı vurgulanmıştır [130]. Ayrıca, su mikroflorası ve balık mikroflorasının paralellik taşıdığı da bilinen bir durumdur [16]. Bu araştırmada kullanılan balık örneklerindeki yüksek bakteri yükü nedenlerinin anlaşılabilmesi için deniz suyu örneklerinin, balıkçı teknelerinin kritik kontrol noktalarının ve balıkçıların da mikrobiyel incelemeye tabi tutulmaları ileri tetkikler için uygun olacaktır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Ülkemizde su ürünlerinin gıda olarak tüketimi artmasına karşın, su ürünlerinde insan patojenlerinin varlığı konusunda yapılan çalışmalar sınırlıdır. Hem balık ve hem de insan sağlığı için risk oluşturabilen mikobakteriler, akvaryum balıklarında ve yetiştiriciliği yapılan balıklarda ayrıntılı olarak araştırılmış olmasına karşın, ülkemizde olduğu gibi, dünyada da özellikle doğadan yakalanan deniz balıklarında gıda güvenliği açısından neredeyse hiç araştırılmamıştır. Ayrıca ülkemizde, balık mikobakteriozisi konusunda büyük bir açığın olduğu fark edilmiştir.

Bu bilgiler ışığında, balıklarda *Mycobacterium spp.* varlığını araştırmak amacıyla bölgemizde sevilerek tüketilen ve ekonomik öneme sahip Barbun (*Mullus barbatus*) ve Tekir (*Mullus surmuletus*) balıkları tez materyali olarak tercih edilmiştir. Bu amaçla, Mersin ili kıyı şeridinde bulunan altı balıkçı barınağının üçünden, av yasağının olduğu aylar hariç, bir yıl süreyle 208 adet balık örneği alınmıştır. Gıda güvenliği açısından, bir gıdanın genel hijyenik yapısını en pratik ve hızlı olarak ortaya koyan mezofilik ve psikrofilik aerobik bakteri ve koliform bakteri sayımları da tez kapsamına alınmıştır.

Tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlar:

1. Mersin’de avcılık yoluyla elde edilen ve insan tüketimine sunulan Barbun ve Tekir balığı örneklerinde *Mycobacterium spp.*’nin varlığı ortaya konulmuştur.
2. Ülkemizde, ilk defa avcılıkla elde edilen balıklarda tür bazında mikobakteri varlığı belirlenmiştir.
3. Balık örneklerinde *Mycobacterium fortuitum*, *M. marinum*, *M. scrofulaceum*, *M. aurum*, *M. vaccae* ve *M. genavense* türleri tanımlanmıştır.
4. Balıklarda belirlenmiş olan bu mikobakteri türlerinin ülkemiz için ilk bildirim olmasının yanısıra, *M. vaccae* ve *M. genavense*’nin önceki yayınlarda rastlanılamamış olmaları nedeniyle, balıklardaki ilk bildirim olduğu düşünülmektedir.
5. *M. aurum*’un da, daha önce bir tatlısu balığında bildirilmiş olduğundan, doğadan yakalanan deniz balıklarında ilk defa belirlendiği anlaşılmaktadır.

6. Tez kapsamında izole edilmiş olan mikobakteri türlerinden *M. fortuitum*, *M. marinum* ve *M. scrofulaceum*'un ihtyozoonotik özellikleri önceki yayınlarla ortaya konulmuştur.

7. Balık örneklerinin mikrobiyal yükü genel olarak standartların üstünde bulunmuştur.

8. Sonuç olarak; Mersin ilinde incelemeye alınmış olan 208 adet *Mullus* cinsi balık örneklerinde mikobakteri varlığının ortaya konulmuş ve mikrobiyal yükün standartların üzerinde bulunmuş olması, gıda güvenliği açısından bir tehlikenin somut kanıtı olarak ele alınmamalı, bu veriler, yeni ve daha ayrıntılı araştırmalar için bir zemin olarak kabul edilmelidir. Kaldı ki, gıda güvenliğinde su ürünlerinin diğer gıdalara oranla daha düşük risk oluşturduğu göz önünde bulundurulacak olunursa, konunun zoonotik hastalıklar yönünden önemi de minimuma inmektedir. Ancak, yine de balıkçılar, akvaryum sahipleri ve balıkları temizleyen tüketicilerin dikkatli davranmaları, balık kılçıkları ile yaralanmalar sonrasında gerekli tıbbi müdahaleyi ihmal etmemeleri önerilmektedir.

Balıkların gıda güvenliği açısından taşıyabilecekleri ihtyozoonotik patojen riskinin anlaşılabilmesi için;

1. İzole edilmiş olan bu mikobakterilerin hem balık, hem de insanlardaki epidemiyolojilerinin ve patojenitelerinin araştırılması;

2. Gıda güvenliği açısından önemlerinin belirlenmesi;

3. Biyokimyasal analizlerle fenotipik yapılarının ve sekans analizi ile de genetik yapılarının ortaya konularak etiyojilerinin daha iyi anlaşılması;

4. Balıklarda mikobakteri konusunun daha geniş ele alınarak, üreticiden tüketiciye su da dahil tüm kritik kontrol noktalarındaki tehlikelerin belirlenmesi;

5. Bu çalışmaların sadece mikobakteri değil, ihtyozoonotik etkili diğer patojenler için de gerçekleştirilmesi önerilmektedir.

6. Ayrıca; hijyenik balıkçılığın sağlanabilmesine yönelik olarak balıkçılara eğitim seminerlerinin verilmesinin yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Vazquez, D., “Food Safety in Aquaculture From the Health Inspector’s Point of View”, E.U. ministerio De agricultura, Pesca Y Alimentacion a Booklet of Thoughts, 25-43, (2006).
- [2] Huss, H.H., Ababouch, L. and Gram, L. “Assesment and Management of Seafood Safety and Quality”, FAO Fisheries Technical Paper. No. 444, Rome, 227 s., (2004).
- [3] Huss, H.H., “Assurance of Seafood Quality”, FAO Fisheries Technical Paper. No. 334, Rome, 169 s., (1994).
- [4] WHO, “WHO Global Strategy For Food Safety: Safer Food For Beter Health”, Geneva, 23s., (2002).
- [5] Food and Agriculture Organisation of the United Nations, <http://www.fao.org> (12.05.2011).
- [6] Gıda Güvenliği Derneği, “Su Ürünlerinde Gıda Güvenliği”, http://www.ggd.org.tr/diger/ggd_2011_1web-1.pdf (09.02.2012).
- [7] Çukurova Üniversitesi, Tarımsal Yayım, Haberleşme, Araştırma ve Uygulama Merkezi, “Gıda güvenliği nedir?”, <http://www.cu.edu.tr/merkezler/tyhm/2008-10.html> (03.05.2012).
- [8] WHO, “Food Safety and Foodborne İllness”, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/> (23.02.2012).
- [9] İndikatör Mikroorganizmalar, <http://www.mikrobiyoloji.org> (04.06.2011).
- [10] Turantaş, F. ve Ünlütürk, A. "Tehlike analizi ve kritik kontrol noktaları", Gıda Mikrobiyolojisi, 3rd ed. (Ünlütürk, A. ve Turantaş, F.), META Basım ve Matbaacılık hizmetleri, İZMİR, 475-509, (2003).
- [11] Kubilay, A. ve Arık, F. “Balık zoonozları”, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 32: 307-315, (2002).
- [12] T.C. Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü, “Su ürünleri ile insanlara bulaşan bakteriyel etkenler”, www.samvetar.gov.tr/news_read.asp?id=14 (03.02.2012).
- [13] Novonty, L., Dvorska, L., Lorencova, A., Beran, V. and Pavlik, I. “Fish: a potential source of bacterial pathogens for human beings”, Veterinary Medicine – Czech, 49 (9): 343–358, (2004).

- [14] Bercovier, H. and Vincent, V. "Mycobacterial infections in domestic and wild animals due to *Mycobacterium marinum*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. porcinum*, *M. farcinogenes*, *M. smegmatis*, *M. scrofulaceum*, *M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. simiae* and *M. genavense*", Review of Science Technology, 20(1): 265-290, (2001).
- [15] Nichols, G., Ford, T., Bartram, J., Dufour, A. and Portaels, F. "Introduction", WHO Pathogenic Mycobacteria in Water: A Guide to Public Health Consequences, Monitoring and Management, (Editör: Pedley, S., Bartram, J., Rees, G., Dufour, A. ve Cotruvo, J.), IWA Publishing, London, 1-14, (2004).
- [16] Austin B. and Austin, D.A., "Bacterial Fish Pathogens", 4th ed.", Springer-Praxis, Chichester, 552 s., (2007).
- [17] Jacobs, J., Stine, C., Baya, A. and Kent, M. "A review of Mycobacteriosis in marine fish", Journal of Fish Diseases, 32: 119–130, (2009).
- [18] Decostere, A., Hermans, K. and Haesebrouck, F. "Piscine Mycobacteriosis: a literature review covering the agent and the disease it causes in fish and humans", Veterinary Microbiology, 99: 159–166, (2004).
- [19] Cengizler, İ., "Balık Hastalıkları", Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Yayın No: 7, Adana, 136 s., (2000).
- [20] Arakawa, C.K. and Fryer, J.L." Isolation and characterization of a new subspecies of mycobacterium chelonei infectious for salmonid fish", Helgolander Meeresunters, (37): 329–342,(1984).
- [21] Kent, M.L., Whipps, C.M., Matthews, J.L., Florio, D., Watral, V., Bishop-Stewart, J.K., Poort, M. and Bermudez, L. "Mycobacteriosis in zebrafish (*Danio rerio*) research facilities", Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology, (138): 383–390, (2004).
- [22] Perez, A., Conroy, D. and Quinones, L. "Presence of acid-fast bacteria in wild and cultured silver mullets (*Mugil curema* val., 1836) from Margarita Island", Venezuela Interciencia, (26): 252–256, (2001).
- [23] Rhodes, M.W., Kator, H., Kaattari, I., Gauthier, D., Vogelbein, W. and Ottinger, C.A. "Isolation and characterization of mycobacteria from striped bass *Morone saxatilis* from the Chesapeake Bay", Diseases of Aquatic Organisms (61): 41–51, (2004).

- [24] Korun, J., Olgac, V., Akgün, K., Colorni, A. and Diamant, A. “Mycobacteriosis in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., cultured in Turkey”, The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh, 57(4): 215-222, (2005).
- [25] Türkiye İstatistik Kurumu, “Su ürünleri istatistikleri, 2010”,
www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=8545 (04.02.2012).
- [26] Aksu, H., Erdem, Y., Özdemir, S., ve Erdem, E. “ Orta Karadeniz’de avlanan barbunya (*Mullus barbatus ponticus*, Essipov, 1927) balıklarının bazı populasyon parametreleri”, Journal of FisheriesSciences.com, 5(4): 345-353 (2011).
- [27] T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, “Denizcilik, Balıklar”, <http://hbogm.meb.gov.tr> (01.05.2012).
- [28] Ege Üniversitesi, “*Mullus barbatus*”,
<http://sci.ege.edu.tr/~sukatar/Mullus%20barbatus.htm> (02.04.2012).
- [29] *Mullus barbatus*, www.fishbase.org/summary/Mullus-barbatus+barbatus.html (20.06.2012).
- [30] *Mullus surmuletus*, www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.php?ID=1327&genusname=Mullus &speciesname=surmuletus (20.06.12)
- [31] Euzéby, J.P. “Classification of genera *Mycobacterium*, list of procaryotic names with standing in nomenclature”,
www.bacterio.cict.fr/classificationmr.html#Mycobacterium (26.06.2012).
- [32] Euzéby, J.P. “Genus *Mycobacterium*, list of procaryotic names with standing in nomenclature”, www.bacterio.cict.fr/m/mycobacterium.html (26.06.2012).
- [33] Wayne, L. G. and Kubica, G. P., “The *Mycobacteria*” Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology, (Editör: Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T. and Williams, S.T.), Williams&Wilkins, Baltimore, 1435-1457 (1986).
- [34] Falkinham, J. “The biology of environmental mycobacteria”, Environmental Microbiology Reports, 1(6): 477–487, (2009).
- [35] Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, “Tüberkülozda Bakteriyolojik Tanı”, <http://www.rshm.gov.tr> (01.06.2009).
- [36] Ziehl-Neelsen Stain, http://explo.com/Ziehl-Neelsen_stain (05.05.2012).
- [37] Uzun, M., “Örneklerin işlemlenmesi ve kültür yöntemleri”, 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, 285-290, (2003).

- [38] Vasconcellos, S.E., Huard, R.C. and Niemann, S. "Distinct genotypic profiles of the two major clades of *Mycobacterium africanum*", *Infectious Diseases*, 10(80): DOI:10.1186/1471-2334-10-80, (2010).
- [39] Karabulut, N., “*Mycobacterium Tuberculosis* Kompleks Suşlarının Primer İlaçlara Duyarlılığının Mgit, E-Test ve Agar Proporsiyon Yöntemleri İle Araştırılması”, T.C. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Uzmanlık Tezi, 61 s., (2008).
- [40] Yang, X., Chen, Q., Cui, X., Yu, Y. And Li, Y. “*Mycobacterium vaccae* vaccine to prevent tuberculosis in high risk people: A meta-analysis”, *Journal of Infection*, 60: 320-330, (2010).
- [41] Yüce, A., “Nontüberküloz mikobakteri infeksiyonlarının klinik önemi”, 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, 154-159, (2003).
- [42] Özışık, N., “Çok İlaç Dirençli Tüberküloz Hastalarında Bactec ve Agar Proporsiyon Yöntemleri ile Saptanan Etionamid Direncinin Klinik Önemi”, T.C. Sağlık Bakanlığı Süreyyaşa Göğüs ve Kalp Damar Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi, 79 s., (2006).
- [43] Alp, A., “Non-tüberküloz mikobakteri infeksiyonlarında laboratuvar tanı ve duyarlılık testleri”, 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, 388-396, (2003).
- [44] Telenti, A., Marchesi, F., Balz, M., Bally, F., Böttger, E.C. and Bodmer, T. “Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis”, *Journal of Clinical Microbiology*, 31: 175-78, (1993).
- [45] Sechi, L., Dupre, I., Sanguinetti, M., Fadda, G. and Zanetti, S. “Simple and rapid identification of different species of *Mycobacteria* by PCR”, *Molecular and Cellular Probes*, 13: 141–146, (1999).
- [46] Talaat, A., Reimschuessel, R. and Trucksis, M. “Identification of mycobacteria infecting fish to the species level using polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis”, *Veterinary Microbiology*, 58: 229-237, (1997).
- [47] Dailloux, M., Laurain, C., Weber, M. and Hartemann, P., “Water and nontuberculous mycobacteria”, *Water Research*, 33: 2219-2228, (1999).

- [48] Griffith, D. “Management of disease due to *Mycobacterium kansasii*”, Clinics in Chest Medicine, 23: 613– 621, (2002).
- [49] Covert, T., Rodgers, M., Reyes, A. and Stelma, G. “Occurrence of nontuberculous mycobacteria in environmental samples”, Applied and Environmental Microbiology, 65(6): 2492–2496, (1999).
- [50] Dantec, C., Duguet, J., Montiel, A., Dumoutier, N. and Vincent, V. “Occurrence of mycobacteria in water treatment lines and in water distribution systems”, Applied and Environmental Microbiology, 68 (11): 5318–5325, (2002).
- [51] Pryor, M., Springthorpe, S., Riffard, S., Brooks, T., Huo, Y. and Sattar, S. “Investigation of opportunistic pathogens in municipal drinking water under different supply and treatment regimes”, Water Science and Technology, 50(1): 83–90, (2004).
- [52] Cafri, U., Aslan, G., Direkel, Ş., Tarhan, G., Ceyhan, İ., ve Emekdaş, G. “Çevre örneklerinden tüberküloz dışı mikobakterilerin izolasyonu ve tanımlanması”, Mikrobiyoloji Bülteni, 44: 395-403, (2010).
- [53] Gauthier, D., Reece, K., Xiao, J., Rhodes, M., Kator, H., Latour, R., Hoenig, J. and Vogelbein, W. “Quantitative PCR assay for *Mycobacterium pseudoshottsii* and *Mycobacterium shottsii* and application to environmental samples and fishes from the Chesapeake Bay”, Applied and Environmental Microbiology, 76(18): 6171–6179, (2010).
- [54] Yanong, R. and Pouder, D. “Association of mycobacteria in recirculating aquaculture systems and mycobacterial disease in fish”, Journal of Aquatic Animal Health, 22: 219–223, (2010).
- [55] Texas A&M University, “Fish Mycobacteriosis”, https://www.srac.tamu.edu_index (03.03.2012).
- [56] Gauthier, D. and Rhodes, M. “Mycobacteriosis in fishes: A review”, The Veterinary Journal, 180: 33–47, (2009).
- [57] Lescenko, P., Matlova, L., Dvarska, L., Bartos, M., Vavra, O., Navratil, S., Novonty, L. and Pavlik, I. “Mycobacterial infection in aquarium fish”, Veterinary Medicine–Czech, 48(3): 71–78, (2003).

- [58] Beran, V., Matlova, L., Dvorska, L., Svastova, P. and Pavlik, I. “distribution of mycobacteria in clinically healthy ornamental fish and their aquarium environment”, *Journal of Fish Diseases*, (29): 383–393, (2006).
- [59] Zanoni, R., Florio, D., Fioravanti, M., Rossi, M. and Prear, M. “Occurrence of *Mycobacterium spp.* in ornamental fish in Italy”, *Journal of Fish Diseases*, 31: 433–441, (2008).
- [60] Mrlik, V., Slany, M., Kubecka, J., Seda, J., Necas, A., Babak, V., Slana, I., Kriz, P. and Pavlik, I. “A low prevalence of mycobacteria in freshwater fish from water reservoirs, ponds and farms”, *Journal of Fish Diseases*, doi:10.1111/j.1365-2761.2012.01369.x, (2012).
- [61] Tortoli, E., Bartoloni, A., Bozzetta, E., Burrini, C., Lacchini, C., Mantella, A., Simonetti, M. and Ghittino, C. “Identification of the newly described *Mycobacterium poriferae* from tuberculous lesions of snakehead fish (*Channa striatus*)”, *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 19 (1): 25-29, (1996).
- [62] Novonty, L., Halouzka, R., Matlova, L., Vavra, O., Bartosova, L., Slayn, M. and Pavlik, I. “Morphology and distribution of granulomatous inflammation in freshwater ornamental fish infected with mycobacteria”, *Journal of Fish Disease*, (33): 947–955, (2010).
- [63] Sakai, M., Kono, T., Ponpornpisit, A., Areechon, N., Katagiri, T., Yoshida, T. and Endo, T. “Characterization of a *Mycobacterium sp.* isolated from guppy *Poecilia reticulata*, using 16S ribosomal RNA and its internal transcribed spacer sequences”, *Bulletin of European Association of Fish Pathologists*, 25(2): 64-69, (2005).
- [64] Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T. and Williams, S.T., “Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology, 9th ed.”, Williams & Wilkins, Baltimore, 787 s., (2000).
- [65] Bragg, R., Huchzermeyer H., and Hanisch, M. “*Mycobacterium fortuitum* isolated from three species of fish in South Africa”, *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 57(1):101-2, (1990).

- [66] Puttinaowarat, S., Thompson, K., Kolk, A. and Adams, A. "Identification of *Mycobacterium spp.* isolated from snakehead, *channa striata* (fowler), and siamese fighting fish, *betta splendens* (regan), using polymerase chain reaction–reverse cross blot hybridization (PCR–RCBH)", *Journal of Fish Diseases*, 25: 235–243, (2002).
- [67] Pate, M., Jencic, V., Dovc, M. and Ocepek, M. "Detection of mycobacteria in aquarium fish in Slovenia by culture and molecular methods", *Diseases of Aquatic Organisms*, (64): 29–35, (2005).
- [68] Seok, S., Koo, H., Kasuga, A., Kim, Y., Lee, E., Lee, H., Park, J., Baek, M., Lee, H., Kim, D., Lee, B., Lee, Y., Cho, Y. and Park, J. "Use of PCR-restriction fragment length polymorphism for the identification of zoonotic mycobacteriosis in zebrafish caused by *Mycobacterium abscessus* and *Mycobacterium chelonae*", *Veterinary Microbiology*, (114): 292–297, (2006).
- [69] Passantino, A., Macri, D., Coluccio, P., Foti, F. and Marino, F. "Importation of Mycobacteriosis with ornamental fish: medico-legal implications", *Travel Medicine Infectious Disease*, 10: 10-16, (2008).
- [70] Marzouk, M., Essa, M., El-Seedy, F., Kenaw, A. and El-Gawad, D. "Epizootiological and histopathological studies on Mycobacteriosis in some ornamental fishes", *Global Veterinaria*, 3 (2): 137-143, (2009).
- [71] Bruno, D., Griffiths, J., Mitchell, C., Wood, B., Fletcher, Z., Drobniewski, F. and Hastings, T. "Pathology attributed to *Mycobacterium chelonae* infection among farmed and laboratory- infected atlantic salmon (*Salmo salar*)", *Diseases of Aquatic Organisms*, 33: 101-109, (1998).
- [72] Dos Santos, N.M., Do Vale, A., Sousa, M.J. and Silva, M.T. "Mycobacterial infection in farmed turbot *Scophthalmus maximus*", *Disease of Aquatic Organisms*, 52(1): 87-91, (2002).
- [73] Lowry, T. and Smith, S., "*Mycobacterium sp.* infection in cultured cobia (*Rachycentron canadum*)", 30th Eastern Fish Health Workshop, West Virginia, 14-18, (2005).
- [74] Chang, T.C., Hsieh, C.Y., Chang, C.D., Shen, Y.L., Huang, K.C., Tu, C., Chen, L.C., Wu, Z.B. and Tsai, S.S. "Pathological and molecular studies on Mycobacteriosis of milkfish *Chanos chanos* in Taiwan", *Disease of Aquatic Organisms*, 72(2): 147-151, (2006).

- [75] Aranaz, A., Gibello, A., Álvarez, J., Mata, A. and Rodríguez, L., Fallola, C., Fernández-Garayza´bal, J. and Dominguez, L. “*Mycobacterium peregrinum* infection in farmed european tench (*Tinca tinca* L.)”, Veterinary Microbiology, 4004: 1-7, (2007).
- [76] Weerakhun, S., Aoki, N., Kurata, O., Hatai, K., Nibe, H. and Hirae, T. “*Mycobacterium marinum* infection in cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata* in Japan”, Fish Pathology, 42(2): 79-84, (2007).
- [77] Nakanaga, K., Hoshino, Y., Hattori, Y., Yamamoto, A., Wada, S., Makino, M. and Ishi, N. “*Mycobacterium pseudoshottsii* isolated from 24 farmed fishes in western Japan”, Journal of Veterinary Medical Science, 74(2): 275–278, (2012).
- [78] Diamant, A., Banet, A., Ucko, M., Colorni, A., Knibb, W. and Kvitt, H. “Mycobacteriosis in wild rabbitfish, *Siganus rivulatus*, associated with cage farming in the Gulf of Eilat, Red Sea”, Disease of Aquatic Organisms, 39(3): 211-219, (2000).
- [79] Lansdell, W., Dixon, B., Smith N. and Benjamin, L. “Communications: isolation of several mycobacterium species from fish”, Journal of Aquatic Animal Health, 5(1): 73-76, (1993).
- [80] Rhodes, M.W., Kator, H., Kotob, S., Van Berkum, P., Kaattari, I., Vogelbein, W., Floyd, M.M., Butler, W.R., Quinn, F.D., Ottinger, C. and Shotts, E., “A unique mycobacterium species isolated from an epizootic of striped bass (*Morone saxatilis*)”, Emerging Infectious Diseases, 7: 896-899 (2001).
- [81] Heckert, R., Elankumaran, S., Milani, A., and Baya, A. “Detection of a new mycobacterium species in wild striped bass in the Chesapeake Bay”, Journal Of Clinical Microbiology, 39 (2): 710-715, (2001).
- [82] Whipps, C., Watral, V. and Kent, M. “Characterization of a *Mycobacterium spp.* in rockfish, *Sebastes alutus* (gilbert) and *Sebastes reedi* (Westrheim & Tsuyuki), using rDNA sequences”, Journal of Fish Diseases, 26(4): 241-245, (2003).
- [83] Levi, M., Bartell, J., Gandolfo, L., Smole, S., Weiss, L., Johnson, L., Osterhout, G. and Herbst, L. “Characterization of *Mycobacterium montefiorensis* sp. nov., a novel pathogenic mycobacterium from moray eels that is related to *Mycobacterium triplex*”, Journal of Clinical Microbiology, 41(5): 2147–2152. (2003).

- [84] Rhodes, M., Kator, H., McNabb, A., Deshayes, C., Reyrat, J., Brown-Elliott, B., Wallace, R., Trott, K., Parker, J., Lifland, B., Osterhout, G., Kaattari, I., Reece, K., Vogelbein, W. and Ottinger, C. “*Mycobacterium pseudoshottsii* sp. nov., a slowly growing chromogenic species isolated from Chesapeake Bay striped bass (*Morone saxatilis*)”, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 55, 1139–1147, (2005).
- [85] Kane, A., Stine, C., Hungerford, L., Matsche, M., Driscoll, C. and Baya, A. “Mycobacteria as environmental portent in Chesapeake Bay fish species”, Emerging Infectious Diseases, 13(2): 329-331. (2007).
- [86] Zerihun, M., Colquhoun, D. and Poppe, T. “Experimental Mycobacteriosis in atlantic cod, *Gadus morhua* L.”, Journal of Fish Diseases, 35, 365–377, (2012).
- [87] Harriff, M., Bermudez, L. and Kent, M. “Experimental exposure of zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton), to *Mycobacterium marinum* and *Mycobacterium peregrinum* reveals the gastrointestinal tract as the primary route of infection: a potential model for environmental mycobacterial infection”, Journal of Fish Diseases, 30: 587–600, (2007).
- [88] Talaat, A., Reimschuessel, R., Kane, A. and Trucksis, M. “Pathogenicity of *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium smegmatis* to goldfish, *Carassius auratus*”, Veterinary Microbiology, 66: 151-164, (1999).
- [89] Watral, V. and Kent, M.L., “Pathogenesis of *Mycobacterium* spp. in zebrafish (*Danio rerio*) from research facilities”, Comparative Biochemistry and Physiology C: Toxicology and Pharmacology, (145): 55–60, (2007).
- [90] Gauthier, D., Rhodes, M., Vogelbein, W., Kator, H. and Ottinger, C. “Experimental Mycobacteriosis in striped bass *Morone saxatilis*”, Diseases of Aquatic Organisms, 54: 105–117, (2003).
- [91] Francis-Floyd, R. and Yanong, R., “Mycobacteriosis in fish”, Veterinary Medicine-Large Animal Clinical Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, <http://edis.ifas.ufl.edu> (6.7.2012).
- [92] www.wm.edu/news/stories/archive/2008/vimsshowsbacterialdiseasecan_kilstripedbass -002.php (5.7.2012).
- [93] www.was.org/meetings/AbstractData.asp?AbstractId=10899 (5.7.2012).

- [94] www.koi-pond-guide.com/images/mycobacteria.jpg (5.7.2012).
- [95] www.was.org/meetings/AbstractData.asp?AbstractId=10899 (5.7.2012).
- [96] Colorni, A., Avtalion, R., Knibb, W., Berger, E., Colorni, B. and Timan, B. "Histopathology of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) experimentally infected with *Mycobacterium marinum* and treated with streptomycin and garlic (*Allium sativum*) extract", *Aquaculture*, 160(1-2): 1-17 (1998).
- [97] Gauthier, D., Vogelbein, W. and Ottinger, C. "Ultrastructure of *Mycobacterium marinum* granuloma in striped bass *Morone saxatilis*", *Diseases of Aquatic Organisms*, 62: 121-132, (2004).
- [98] Herbst, L., Costa, S., Weiss, L., Johnson, L., Bartell, J., Davis, R., Walsh, M. and Levi, M. "Granulomatous skin lesions in moray eels caused by a novel *Mycobacterium* species related to *Mycobacterium triplex*", *Infection and Immunity*, 69(7): 4639-4646, (2001).
- [99] Rhodes, M. W., Kator, H., Kotob, S., van Berkum, P., Kaattari, I., Vogelbein, W., Quinn, F., Floyd, M., Butler, W. R. and Ottinger, C. A. "*Mycobacterium shottsii* sp. nov., a slowly growing species isolated from Chesapeake Bay striped bass (*Morone saxatilis*)", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, (2002).
- [100] Gauthier, D., Helenthal, A., Rhodes, M., Vogelbein, W. and Kator, H. "Characterization of photochromogenic *Mycobacterium spp.* from Chesapeake Bay striped bass *Morone saxatilis*", *Diseases of Aquatic Organisms*, 95: 113-124, (2011).
- [101] Devulder, G., Pérouse de Montclos, M. and Flandrois, J. "A multigene approach to phylogenetic analysis using the genus *Mycobacterium* as a model", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55: 293-302. (2005).
- [102] Mediel, M., Rodriguez, V., Codina, G. and Martin-Casabona, N. "Isolation of mycobacteria from frozen fish destined for human consumption", *Applied and Environmental Microbiology*, 66 (8): 3637-3638, (2000).
- [103] Kaevska, M. and Hruska, K. "Mycobacteria in water, feedstocks and food: analysis of publications", *Veterinari Medicina*, 55(12): 571-580, (2010).
- [104] Steitz, A., Feddersen, A., Freytag, C., Daniello, S., Schopf, R., Böcher, W., Bhakdi, S. and Husmann, M. "Rapid identification of *Mycobacterium marinum* by

- comparative 16s-rna-gene analysis in five cases of progredient cutaneous infections”, *European Journal of Dermatology.*, 7(4): 295-9, (1997).
- [105] T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü, “Türk Su Ürünlerinin Mevcut İç ve Dış Pazarları ile Gelecekteki Pazar Olanakları Üzerine bir Çalışma”, Macalister Eliot ve Ortakları Ltd., 1. Cilt, 270 s, (1996).
- [106] Austin, B. and Austin, D.A., “Bacterial Fish Pathogens Disease in Farmed and Wild Fish, 4th ed.”, Ellis Harword, London, 384 s., (1993).
- [107] Arda, M., Seçer, S. ve Sarıyüpoğlu, M., “Balık Hastalıkları”, Medisan Yayın Serisi: 56, 142 s., (2002).
- [108] Frerichs, G.N., “Acid-fast fish pathogens”, *Bacterial Diseases of Fish*, (Editör: Inglis V., Roberts, R. and Bromage, N.), Blackwell, Cambridge, 217-235, (1993).
- [109] Sanders, J., Walsh, A., Snider, R. and Sahn, E. “Disseminated *Mycobacterium scrofulaceum* infection: a potentially treatable complication of AIDS”, *Clinical Infectious Diseases*, 20 (3):549-556, (1995).
- [110] Caputo, V., Fiorella, S. and Orlando, E. “Sporotrichoid cases of *Mycobacterium marinum* skin infection”, *Clinical Medicine Insights: Dermatology*, (3): 25–29, (2010).
- [111] Han, X., Indra, D., Kalen, L. and Jacobson, M. “Rapidly growing mycobacteria: clinical and microbiologic studies of 115 cases”, *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 18(6): 279-286, (2000).
- [112] Collina, G., Morandi, L., Lanzoni, A. and Reggiani, M. “Atypical cutaneous mycobacteriosis diagnosed by polymerase chain reaction”, *British Journal of Dermatology*, 147(4): 781-784, (2002).
- [113] Rajadhyaksha, S., Kong, K., Lian, T., Goh, L. and Feng, P. “*Mycobacterium marinum* infection of the hand”, *Journal of Rheumatology*, 7: 242–246, (2004).
- [114] Dubey, M., Kalantri, Y., Hemvani, N. and Chitnis, D.S. “Chronic knee monoarthritis caused by *Mycobacterium chelonae*”, *National Medicine Journal of India.*, 20(5): 240-1, (2007).
- [115] Lee, K.F., Chen, H.H. and Wu, C.J. “*Mycobacterium chelonae* peritonitis in a patient on peritoneal dialysis”, *Renal Failure*, 30(3): 335-338, (2008).

- [116] Van Der Beeck, M.T., Bernards, A.T. and Lapid-Gortzak, R. “*Mycobacterium chelonae* keratitis in a patient with Sjögren's syndrome”, *European Journal of Ophthalmology*, 18(2): 294-306, (2008).
- [117] Aksu, G., Tirpan, C., Cavuşoğlu, C., Soydan, S., Altare, F., Casanova, J.L. and Kutukculer, N. “*Mycobacterium fortuitum-chelonae* complex infection in a child with complete interleukin-12 receptor beta 1 deficiency”, *Pediatric Infectious Diseases Journal*, 20(5): 551-553, (2001).
- [118] Allen, D. and Chng, H. “Disseminated *Mycobacterium flavescens* in a probable case of chronic granulomatous disease”, *Journal of Infection*, 26 (1): 83-86, (1993).
- [119] Krisher, K., Kallay, M. and Nolte, F. “Primary pulmonary infection caused by *Mycobacterium terrae* complex”, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 11 (3): 171-175, (1988).
- [120] Esteban, J., Fernandez-Roblas, R., Roman, A., Molleja, A., Jimenez, M. and Soriano, F. “Catheter-related bacteremia due to *Mycobacterium aurum* in an immunocompromised host”, *Clinical Infectious Diseases*, 26 (2): 496-497, (1998).
- [121] Katalin, K. and Ranalli, M. “*Mycobacterium aurum* bacteremia in an immunocompromised child”, *Pediatric Infectious Disease*, 22 (12): 1108-1109, (2003).
- [122] Kobbe, R. “Early diagnosis of disseminated *Mycobacterium genavense* infection”, *Emerging Infectious Diseases*, 14 (2): 346-347, (2008).
- [123] Miyoshi, H., Tamura, G., Satoh, T., Homa, R., Nakano, N. and Wada, R. “Disseminated *Mycobacterium genavense* infection in a healthy boy”, *Human Pathology*, 41 (11): 1646-1649, (2010).
- [124] Rammaert, B., Couderc, L., Rivaud, E., Honderlick, P., Zucman, D., Mamzer, M., Cahen, P., Bille, E., Lecuit, M., Lortholary, O. and Catherinot, E. “*Mycobacterium genavense* as a cause of subacute pneumonia in patients with severe cellular immunodeficiency”, *Infectious Diseases*, 11: 311, (2011).
- [125] Patel, B., Nanchalal, J. and Friedland, J. “Fishing injury resulting in *Mycobacterium fortuitum* palmar abscess”, *European Journal of Clinical Microbiological Infectious Diseases*, 26: 427–429, (2007).
- [126] “Biosecurity import risk analysis: Fish food”, *Biosecurity New Zealand Ministry of Agriculture and Forestry*, Wellington, 69 s., (2008).

- [127] OIE 2006, “Mycobacteriosis”, Institute for International Cooperation in Animal Biologics An OIE Collaborating Center, Iowa State University, 4 s., (2006).
- [128] WHO, “Foodborne disease outbreaks: Guidelines for investigation and Control”, Library Cataloguing-in-Publication Data, ISBN 978 92 4 154722 2 (NLM classification: WC 260) France, (2008).
- [129] Olsen, S., MacKinon, L., Goulding, J., Slutsker, L. and Bean, N. “Surveillance for foodborne disease outbreaks -United States, 1993-1997”, Surveillance Summaries, 49: 1-51, (2000).
- [130] Göktaş, D., “Gıdaların Mikrobiyel Ekolojisi”, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayın No.21, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 292 s., (1990).
- [131] İnal,T., “Besin Hijyeni, Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü”, Final Ofset A.Ş., İstanbul, 783 s. (1992).
- [132]. Aydar, L.Y., “Toplam Aerobik (Mezofil) Bakteri sayımı”, Gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, 207-214, (1999).
- [133] Çakır, İ., “Koliform Bakteriler ve E. Coli”, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara 522 s, (2000).
- [134] Katı Besiyerinde Toplam Koliform Grup Bakteri Sayımı.
http://www.mikrobiyoloji.org/TR/pdf/FOYLER_HEPSI.pdf (12.05.2012).
- [135] Su Ürünleri Yönetmeliği, Resmi Gazete Tarihi: 10.03.1995, Resmi Gazete Sayısı: 22223.
- [136] Genç, S., “Taze Tüketime Sunulan Bazı Balık Türlerinde *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*, Toplam Mezofil Bakteri ve Fekal Koliform Bakteri Sayılarının Belirlenmesi”, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 71 s., (2006).
- [137] Ataşoğlu, G., “Sinop Piyasasında Satılan Mezgıt (*Merlangius merlangus euxinus* Nordmann, 1840) Balıklarında Mikrobiyal Floranın Belirlenmesi”, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 74 s., (2007).
- [138] Olgunoğlu, İ., “Marine Edilmiş Hamside (*Engraulis engrasicholus* L., 1758) Duyusal, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimler”, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 122 s., (2007).

- [139] Dionisio, L., Rheinheimer, G. and Borrego, J.J. ” Microbiological pollution of Ria Formosa (South of Portugal)”, *Marine Pollution Bulletin*, 40(2): 186-193, (2000).
- [140] Mahasmeh, A. “ Seasonal incidence of some heterotrophic aerobic marine bacteria in an *Avicennia marina* habitat along o Patori Cost”, *Journal of Biological Sciences*, 1(7): 666-670, (2001).
- [141] Mersin il haritası, <https://maps.google.com> (10.05.2012).
- [142] Turan, C., “Türkiye Kemikli Deniz Balıkları Atlası ve Sistematiği”, Nobel Kitapevi, Adana, (2007).
- [143] Homojenizasyon ve Dilüsyon hazırlama, www.mikrobiyoloji.org (20.06.2008).
- [144] Sajduda, A., Brzostek, A. and Popławska, M. “Molecular characterization of rifampin and isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Poland”, *Journal of Clinical Microbiology*, (42): 2425-31, (2004).
- [145] Gürgün, V. ve Halkman, A.K., “Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri”, Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No:7, Basım & Grafik, Ankara, 146 s., (1990).

EKLER

Ek 3.1. Anamur’ dan alınan balık örneği türleri

Tarih	Balık no	Balık türü	Tarih	Balık no	Balık türü		
27.10.09	11	<i>Mullus surmuletus</i>	10.03.10	36	<i>Mullus surmuletus</i>		
	12	<i>Mullus surmuletus</i>		37	<i>Mullus surmuletus</i>		
	13	<i>Mullus surmuletus</i>		38	<i>Mullus surmuletus</i>		
	14	<i>Mullus surmuletus</i>		39	<i>Mullus surmuletus</i>		
	15	<i>Mullus surmuletus</i>		40	<i>Mullus surmuletus</i>		
	16	<i>Mullus surmuletus</i>		41	<i>Mullus surmuletus</i>		
	17	<i>Mullus surmuletus</i>		42	<i>Mullus surmuletus</i>		
	18	<i>Mullus surmuletus</i>		43	<i>Mullus surmuletus</i>		
	19	<i>Mullus surmuletus</i>		44	<i>Mullus surmuletus</i>		
	21.01.10	20		<i>Mullus surmuletus</i>	45	<i>Mullus surmuletus</i>	
		21		<i>Mullus surmuletus</i>	46	<i>Mullus surmuletus</i>	
		22		<i>Mullus surmuletus</i>	47	<i>Mullus surmuletus</i>	
		23		<i>Mullus surmuletus</i>	48	<i>Mullus surmuletus</i>	
		24		<i>Mullus surmuletus</i>	49	<i>Mullus surmuletus</i>	
		25		<i>Mullus surmuletus</i>	50	<i>Mullus surmuletus</i>	
		26		<i>Mullus surmuletus</i>	26.10.10	51	<i>Mullus barbatus</i>
		27		<i>Mullus surmuletus</i>		52	<i>Mullus barbatus</i>
		28		<i>Mullus surmuletus</i>		53	<i>Mullus surmuletus</i>
		29		<i>Mullus surmuletus</i>		54	<i>Mullus surmuletus</i>
30		<i>Mullus barbatus</i>	55	<i>Mullus surmuletus</i>			
31		<i>Mullus barbatus</i>	56	<i>Mullus surmuletus</i>			
32		<i>Mullus surmuletus</i>	57	<i>Mullus barbatus</i>			
33		<i>Mullus surmuletus</i>	58	<i>Mullus surmuletus</i>			
34		<i>Mullus barbatus</i>	59	<i>Mullus barbatus</i>			
35		<i>Mullus barbatus</i>	60	<i>Mullus surmuletus</i>			
		61	<i>Mullus barbatus</i>				
		62	<i>Mullus surmuletus</i>				
		63	<i>Mullus surmuletus</i>				
		64	<i>Mullus barbatus</i>				
		65	<i>Mullus barbatus</i>				

Ek 3.2. Taşucu’ dan alınan balık örneği türleri

Tarih	Balık no	Balık türü	Tarih	Balık no	Balık türü
05.10.09	1	<i>Mullus barbatus</i>	28.04.2010	51	<i>Mullus surmuletus</i>
	2	<i>Mullus barbatus</i>		52	<i>Mullus surmuletus</i>
	3	<i>Mullus barbatus</i>		53	<i>Mullus surmuletus</i>
	4	<i>Mullus barbatus</i>		54	<i>Mullus surmuletus</i>
	5	<i>Mullus barbatus</i>		55	<i>Mullus surmuletus</i>
	6	<i>Mullus barbatus</i>		56	<i>Mullus barbatus</i>
	7	<i>Mullus barbatus</i>		57	<i>Mullus barbatus</i>
	8	<i>Mullus barbatus</i>		58	<i>Mullus surmuletus</i>
	9	<i>Mullus barbatus</i>		59	<i>Mullus barbatus</i>
	10	<i>Mullus barbatus</i>		60	<i>Mullus barbatus</i>
14.10.09	11	<i>Mullus barbatus</i>	21.09.2010	61	<i>Mullus barbatus</i>
	12	<i>Mullus barbatus</i>		62	<i>Mullus surmuletus</i>
	13	<i>Mullus barbatus</i>		63	<i>Mullus surmuletus</i>
	14	<i>Mullus barbatus</i>		64	<i>Mullus barbatus</i>
	15	<i>Mullus barbatus</i>		65	<i>Mullus surmuletus</i>
	16	<i>Mullus barbatus</i>		66	<i>Mullus barbatus</i>
	17	<i>Mullus barbatus</i>		67	<i>Mullus surmuletus</i>
	18	<i>Mullus barbatus</i>		68	<i>Mullus barbatus</i>
	19	<i>Mullus barbatus</i>		69	<i>Mullus barbatus</i>
08.01.10	20	<i>Mullus barbatus</i>	70	<i>Mullus barbatus</i>	
	21	<i>Mullus barbatus</i>	71	<i>Mullus surmuletus</i>	
	22	<i>Mullus barbatus</i>	72	<i>Mullus barbatus</i>	
	23	<i>Mullus barbatus</i>	73	<i>Mullus surmuletus</i>	
	24	<i>Mullus barbatus</i>	74	<i>Mullus surmuletus</i>	
	25	<i>Mullus barbatus</i>	75	<i>Mullus barbatus</i>	
	26	<i>Mullus barbatus</i>	76	<i>Mullus barbatus</i>	
	27	<i>Mullus barbatus</i>	77	<i>Mullus barbatus</i>	
	28	<i>Mullus barbatus</i>	78	<i>Mullus barbatus</i>	
	29	<i>Mullus barbatus</i>	79	<i>Mullus barbatus</i>	
25.02.10	30	<i>Mullus barbatus</i>	80	<i>Mullus barbatus</i>	
	31	<i>Mullus barbatus</i>			
	32	<i>Mullus barbatus</i>			
	33	<i>Mullus barbatus</i>			
	34	<i>Mullus barbatus</i>			
	35	<i>Mullus barbatus</i>			
	36	<i>Mullus barbatus</i>			
	37	<i>Mullus surmuletus</i>			
	38	<i>Mullus surmuletus</i>			
	39	<i>Mullus barbatus</i>			
	40	<i>Mullus surmuletus</i>			
41	<i>Mullus surmuletus</i>				
42	<i>Mullus barbatus</i>				
43	<i>Mullus barbatus</i>				
44	<i>Mullus surmuletus</i>				
45	<i>Mullus barbatus</i>				
47	<i>Mullus surmuletus</i>				
48	<i>Mullus barbatus</i>				
49	<i>Mullus surmuletus</i>				
	50	<i>Mullus surmuletus</i>			

Ek 3.3. Karaduvar’dan alınan balık örneği türleri

Tarih	Balık no	Balık türü	Tarih	Balık no	Balık türü	
23.09.09	1	<i>Mullus barbatus</i>	17.03.10	46	<i>Mullus barbatus</i>	
	2	<i>Mullus barbatus</i>		47	<i>Mullus barbatus</i>	
	3	<i>Mullus barbatus</i>		48	<i>Mullus barbatus</i>	
	4	<i>Mullus barbatus</i>		49	<i>Mullus barbatus</i>	
	5	<i>Mullus barbatus</i>		50	<i>Mullus barbatus</i>	
	6	<i>Mullus barbatus</i>		51	<i>Mullus barbatus</i>	
	7	<i>Mullus barbatus</i>		52	<i>Mullus barbatus</i>	
	8	<i>Mullus barbatus</i>		53	<i>Mullus barbatus</i>	
	9	<i>Mullus barbatus</i>		54	<i>Mullus barbatus</i>	
	10	<i>Mullus barbatus</i>		55	<i>Mullus barbatus</i>	
	11	<i>Mullus barbatus</i>		56	<i>Mullus barbatus</i>	
	12	<i>Mullus surmuletus</i>		57	<i>Mullus barbatus</i>	
	13	<i>Mullus barbatus</i>		58	<i>Mullus barbatus</i>	
	14	<i>Mullus barbatus</i>		59	<i>Mullus barbatus</i>	
	15	<i>Mullus barbatus</i>		60	<i>Mullus barbatus</i>	
	16	<i>Mullus barbatus</i>		12.10.10	61	<i>Mullus barbatus</i>
	17	<i>Mullus barbatus</i>			62	<i>Mullus surmuletus</i>
	18	<i>Mullus barbatus</i>			63	<i>Mullus barbatus</i>
	19	<i>Mullus barbatus</i>			64	<i>Mullus surmuletus</i>
20	<i>Mullus barbatus</i>	65	<i>Mullus barbatus</i>			
23.11.09	21	<i>Mullus barbatus</i>	66	<i>Mullus barbatus</i>		
	22	<i>Mullus barbatus</i>	67	<i>Mullus surmuletus</i>		
	23	<i>Mullus barbatus</i>	68	<i>Mullus barbatus</i>		
	24	<i>Mullus barbatus</i>	69	<i>Mullus barbatus</i>		
	25	<i>Mullus barbatus</i>	70	<i>Mullus surmuletus</i>		
	26	<i>Mullus barbatus</i>	71	<i>Mullus surmuletus</i>		
	27	<i>Mullus barbatus</i>	72	<i>Mullus barbatus</i>		
	28	<i>Mullus barbatus</i>	73	<i>Mullus surmuletus</i>		
	29	<i>Mullus barbatus</i>	74	<i>Mullus barbatus</i>		
	30	<i>Mullus barbatus</i>	75	<i>Mullus surmuletus</i>		
4.02.10	32	<i>Mullus barbatus</i>				
	33	<i>Mullus barbatus</i>				
	34	<i>Mullus barbatus</i>				
	35	<i>Mullus barbatus</i>				
	36	<i>Mullus barbatus</i>				
	37	<i>Mullus barbatus</i>				
	38	<i>Mullus barbatus</i>				
	39	<i>Mullus barbatus</i>				
	40	<i>Mullus barbatus</i>				
	41	<i>Mullus barbatus</i>				
	42	<i>Mullus barbatus</i>				
	43	<i>Mullus barbatus</i>				
	44	<i>Mullus barbatus</i>				
	45	<i>Mullus barbatus</i>				

Ek 3.4. Anamur istasyonundan alınan balık örneklerinin boy ve ağırlıkları

Tarih	Balık no	Boy (cm)	Ağırlık (g)
27.10.09	11	18,5	60,32
	12	17,5	59,59
	13	17,0	60,99
	14	19,0	87,70
	15	19,0	71,46
	16	18,0	70,91
	17	18,5	74,41
	18	19,5	75,84
	19	18,0	73,35
	20	18,0	70,49
21.01.10	21	14,5	34,75
	22	15,0	34,97
	23	15,0	36,03
	24	15,5	41,35
	25	15,5	37,62
	26	14,5	30,80
	27	16,0	41,80
	28	15,5	41,07
	29	15,0	38,10
	30	15,5	35,26
	31	14,5	32,63
	32	15,0	35,00
	33	15,5	38,35
	34	14,0	28,74
35	15,0	37,00	
10.03.10	36	16,5	52,69
	37	17,5	63,82
	38	16,0	42,87
	39	16,0	47,99
	40	17,0	58,08
	41	17,0	52,99
	42	16,0	43,18
	43	16,0	47,01
	44	16,5	47,48
	45	15,5	43,21
	46	16,5	47,96
	47	16,0	47,00
	48	15,5	44,22
	49	15,0	39,49
50	15,5	46,27	
26.10.10	51	17,0	53,72
	52	14,0	42,98
	53	15,5	52,49
	54	15,0	42,11
	55	14,5	37,96
	56	14,5	28,99
	57	15,5	44,35
	58	14,5	32,84
	59	15,0	42,15
	60	14,0	35,88
	61	13,5	30,55
	62	14,5	43,62
	63	14,0	33,56
	64	15,0	46,63
	65	17,5	59,66

Ek 3.5. Taşucu istasyonundan alınan balık örneklerinin boy ve ağırlık değerleri

Tarih	Balık no	Boy (cm)	Ağırlık (g)	Tarih	Balık no	Boy (cm)	Ağırlık (g)
05.10.09	1	17,0	48,20	28.04.2010	51	15,5	51,11
	2	16,0	46,46		52	17,0	66,45
	3	18,0	49,50		53	15,0	43,29
	4	18,0	61,93		54	15,5	43,84
	5	16,0	45,73		55	14,0	42,65
	6	15,0	43,35		56	15,0	49,53
	7	16,0	50,00		57	13,0	32,06
	8	16,0	45,63		58	13,0	28,38
	9	16,0	49,60		59	18,0	69,72
	10	17,0	50,82		60	16,0	50,29
14.10.09	11	16,0	46,69	21.09.2010	61	15,0	44,59
	12	16,0	45,53		62	17,0	60,88
	13	17,0	49,63		63	17,0	66,08
	14	16,0	50,97		64	15,0	51,19
	15	16,5	46,56		65	15,0	46,61
	16	15,0	43,02		66	15,0	38,02
	17	15,5	43,70		67	14,5	36,88
	18	15,0	42,48		68	15,0	41,02
	19	16,0	49,02		69	15,3	43,58
08.01.10	20	14,0	32,10	70	14,5	37,03	
	21	17,0	59,46	71	15,5	44,55	
	22	14,5	36,23	72	15,5	50,11	
	23	16,5	46,75	73	16,5	62,55	
	24	16,0	46,63	74	15,5	44,91	
	25	16,0	44,73	75	15,5	51,96	
	26	15,0	38,98	76	15,5	50,43	
	27	15,5	41,58	77	14,5	34,50	
	28	18,0	69,64	78	15,5	46,30	
	29	14,5	31,86	79	13,5	33,85	
25.02.10	30	18,0	48,13	80	14,8	33,90	
	31	14,5	34,44				
	32	15,0	36,12				
	33	15,5	39,94				
	34	14,0	34,58				
	35	14,5	31,98				
	36	14,0	32,96				
	37	15,5	37,08				
	38	14,5	34,90				
	39	15,5	43,73				
	40	15,0	41,99				
41	16,0	50,89					
42	17,0	50,15					
43	16,0	43,02					
44	13,5	27,69					
45	15,5	39,39					
47	15,0	38,97					
48	14,0	33,26					
49	15,5	38,93					
50	15,5	41,25					

Ek 3.6. Karaduvar istasyonundan alınan balık örneklerinin boy ve ağırlıkları

Tarih	Balık no	Boy (cm)	Ağırlık (g)	Tarih	Balık no	Boy (cm)	Ağırlık (g)
23.09.09	1	14,0	29,57	17.03.10	46	11,5	15,3
	2	13,0	26,35		47	10,0	10,69
	3	13,5	22,92		48	12,0	17,52
	4	14,0	29,70		49	11,5	15,5
	5	11,5	15,89		50	11,5	15,38
	6	12,0	15,83		51	11,5	16,34
	7	10,5	13,66		52	10,0	11,56
	8	12,5	20,60		53	11,0	11,84
	9	10,0	11,88		54	11,0	13,61
	10	14,0	29,18		55	10,5	10,15
	11	13,0	24,15		56	10,5	12,38
	12	13,5	24,35		57	11,0	14,32
	13	13,0	24,78		58	11,0	12,45
	14	14,0	27,70		59	11,0	12,96
	15	11,5	14,48		60	10,5	10,19
	16	14,0	30,35		61	11,5	17,34
	17	13,0	23,49		62	12,5	24,94
	18	14,0	26,90		63	12,5	26,19
	19	11,5	15,66		64	14,0	34,94
23.11.09	20	14,5	32,14	65	12,0	20,77	
	21	12,0	17,25	66	12,5	24,26	
	22	11,5	17,86	67	11,0	17,92	
	23	12,0	17,69	68	12,0	25,38	
	24	11,5	16,99	69	13,0	26,38	
	25	12,5	21,66	70	11,5	18,48	
	26	12,5	19,31	71	12,0	22,68	
	27	11,5	17,12	72	11,0	16,27	
	28	11,5	15,45	73	13,0	29,52	
	29	12,0	19,38	74	11,0	17,86	
04.02.10	30	11,5	15,17	75	13,0	30,12	
	32	12,3	17,00				
	33	12,0	18,00				
	34	11,0	14,00				
	35	11,5	17,00				
	36	12,5	21,00				
	37	11,5	16,00				
	38	13,0	20,00				
	39	11,5	15,00				
	40	12,0	19,00				
	41	13,0	20,00				
	42	11,5	17,00				
	43	13,5	22,00				
	44	12,0	18,00				
	45	12,5	18,00				

Ek 4.1. Anamur'dan alınan balık örneklerine ait bakteri bulguları (kob/g)

Balık no	Deri			Kas			İç organ		
	MABS	TKBS	PABS	MABS	TKBS	PABS	MABS	TKBS	PABS
11	1,8x10 ⁷	3,3x10 ⁵	1,3x10 ⁷	2,6x10 ⁵	7,1x10 ⁴	2,7x10 ⁵	2,3x10 ⁷	1,9x10 ⁵	2,7x10 ⁵
12	5,2x10 ⁷	3,5x10 ⁶	1,4x10 ⁷	7,2x10 ³	8,4x10 ⁴	8,8x10 ⁵	3,3x10 ⁷	9,8x10 ⁵	9x10 ⁵
13	3,9x10 ⁷	3x10 ⁶	2,8x10 ⁷	2,1x10 ⁵	3,9x10 ⁴	2,8x10 ⁵	9,5x10 ⁵	1,9x10 ⁵	3,6x10 ⁵
14	3,5x10 ⁷	2,4x10 ⁵	3,5x10 ⁷	4,5x10 ⁵	4,8x10 ³	2,5x10 ⁵	8,6x10 ⁶	5,4x10 ⁵	2x10 ⁶
15	4x10 ⁷	8,8x10 ⁵	1,9x10 ⁷	3,6x10 ⁵	3,6x10 ⁴	3,2x10 ⁵	3,3x10 ⁶	2,2x10 ⁵	6,2x10 ⁵
16	3,2x10 ⁷	5,9x10 ⁵	1,9x10 ⁶	6,5x10 ⁵	8,5x10 ³	1,7x10 ⁶	4,5x10 ⁵	1,7x10 ⁵	3,2x10 ⁵
17	3,6x10 ⁷	1,4x10 ⁶	9,6x10 ⁶	2,2x10 ⁵	2,8x10 ⁴	9,2x10 ⁴	2,8x10 ⁶	4,8x10 ⁴	2,6x10 ⁵
18	2,1x10 ⁷	6,6x10 ⁵	1,7x10 ⁷	6,1x10 ⁵	5,8x10 ⁴	3,7x10 ⁵	1,4x10 ⁷	3,6x10 ⁵	4,6x10 ⁵
19	4,5x10 ⁷	7x10 ⁵	2,1x10 ⁷	5,2x10 ⁵	2x10 ⁴	4,4x10 ⁵	7,4x10 ⁵	3,1x10 ⁵	5,3x10 ⁵
20	1,7x10 ⁷	9x10 ⁵	2x10 ⁷	6,6x10 ⁵	5,1x10 ⁴	5,6x10 ⁵	8x10 ⁵	1,6x10 ⁴	1,3x10 ⁶
21	1,2x10 ⁷	6x10 ⁵	1,2x10 ⁷	2,2x10 ⁴	2,8x10 ³	2,1x10 ⁴	2,1x10 ⁵	6x10 ⁴	1,7x10 ⁵
22	1,4x10 ⁷	1,6x10 ⁷	1,3x10 ⁷	1,3x10 ⁵	3x10 ⁴	3,6x10 ⁵	9,2x10 ⁵	1,3x10 ⁵	1,4x10 ⁶
23	3x10 ⁷	9x10 ⁵	2,4x10 ⁷	1x10 ⁵	1,4x10 ⁴	1x10 ⁵	7,2x10 ⁵	1,8x10 ⁵	1,7x10 ⁵
24	6,5x10 ⁶	1,2x10 ⁶	9x10 ⁶	8,2x10 ⁴	8x10 ³	4,3x10 ⁴	5,6x10 ⁵	7,6x10 ⁴	2,5x10 ⁵
25	6,6x10 ⁶	3,2x10 ⁵	7,7x10 ⁶	6,1x10 ⁴	9x10 ³	3,6x10 ⁶	4,7x10 ⁵	4,8x10 ⁴	1,7x10 ⁵
26	4x10 ⁷	9,6x10 ⁵	3x10 ⁷	4,7x10 ⁵	7x10 ³	2,6x10 ⁶	3,9x10 ⁵	9,7x10 ⁴	3,7x10 ⁵
27	6,8x10 ⁶	5,5x10 ⁵	7,7x10 ⁶	8x10 ⁴	1,5x10 ⁴	6,3x10 ⁴	1,4x10 ⁶	3,3x10 ⁵	6,8x10 ⁵
28	3,2x10 ⁷	5x10 ⁴	1,8x10 ⁷	2,1x10 ⁵	1,2x10 ⁴	2,5x10 ⁵	7,2x10 ⁵	4,6x10 ⁴	3,3x10 ⁵
29	4,2x10 ⁶	6,2x10 ⁵	1,7x10 ⁷	1,3x10 ⁵	2,2x10 ⁴	5,8x10 ⁵	9x10 ⁴	2,2x10 ⁴	5,6x10 ⁴
30	3,3x10 ⁷	3,8x10 ⁵	6,2x10 ⁶	2x10 ⁵	2x10 ⁴	1x10 ⁵	6x10 ⁵	3x10 ⁴	2,2x10 ⁵
31	9,5x10 ⁶	1,1x10 ⁵	1,2x10 ⁷	3,2x10 ⁵	7,3x10 ³	1,3x10 ⁶	3,2x10 ⁵	2,3x10 ⁴	7,6x10 ⁴
32	2,8x10 ⁷	3,3x10 ⁵	3,7x10 ⁷	2,2x10 ⁵	9,9x10 ³	1,4x10 ⁵	2,7x10 ⁵	5x10 ⁴	1,4x10 ⁵
33	2,7x10 ⁷	2,4x10 ⁵	3,1x10 ⁷	3x10 ⁵	2,3x10 ⁴	3x10 ⁵	1,5x10 ⁵	8x10 ³	1,5x10 ⁵
34	1,6x10 ⁷	4,3x10 ⁴	3x10 ⁷	2x10 ⁵	1,4x10 ⁴	2x10 ⁵	9x10 ⁴	7,9x10 ⁴	4,7x10 ⁴
35	2,1x10 ⁷	8x10 ⁴	4x10 ⁷	1,3x10 ⁵	3,2x10 ³	7,8x10 ⁴	1x10 ⁶	1,4x10 ⁵	4,8x10 ⁵
36	1,4x10 ⁷	1,5x10 ⁴	4,7x10 ⁶	2,7x10 ⁵	3,1x10 ³	6,6x10 ⁴	1,5x10 ⁵	2x10 ³	2,1x10 ⁴
37	2,2x10 ⁷	8x10 ³	3,9x10 ⁶	1,1x10 ⁵	1,8x10 ³	1,8x10 ⁴	1,2x10 ⁶	3,9x10 ⁴	6,2x10 ⁴
38	1,9x10 ⁷	3,1x10 ⁴	3,1x10 ⁵	2,4x10 ⁵	1,2x10 ⁴	6,4x10 ⁴	3,4x10 ⁴	1,8x10 ³	1,2x10 ⁴
39	3,4x10 ⁷	1,3x10 ⁵	1,7x10 ⁷	5,1x10 ⁵	2,4x10 ³	1,1x10 ⁵	2,5x10 ⁵	1,5x10 ⁴	1,3x10 ⁵
40	1,4x10 ⁷	1x10 ³	2,6x10 ⁶	2x10 ⁵	4,5x10 ³	4,6x10 ⁴	1,1x10 ⁵	3x10 ³	4x10 ³
41	1,4x10 ⁷	6,4x10 ⁴	1,7x10 ⁵	3,8x10 ⁴	1x10 ⁴	2x10 ³	1,9x10 ⁷	1,6x10 ⁵	7x10 ³
42	9,6x10 ⁶	4,9x10 ⁵	1,7x10 ⁶	2,1x10 ⁵	1,4x10 ⁴	4,1x10 ⁴	6,4x10 ⁵	2,2x10 ⁴	4,3x10 ⁴
43	1,1x10 ⁷	6,4x10 ⁵	5,4x10 ⁷	3x10 ⁵	8x10 ³	3x10 ⁴	1,3x10 ⁵	1,2x10 ⁴	1,6x10 ⁴
44	1,9x10 ⁷	3,9x10 ⁴	1,4x10 ⁶	2,3x10 ⁵	1x10 ²	5x10 ⁴	7,9x10 ⁵	3,3x10 ³	5,1x10 ⁴
45	5x10 ⁶	4,7x10 ⁵	6,9x10 ⁵	7,9x10 ⁴	-	2,8x10 ⁴	1,2x10 ⁵	2x10 ³	1,4x10 ⁴
46	2,7x10 ⁷	3,8x10 ⁵	6x10 ⁶	7x10 ⁴	8x10 ²	1,1x10 ⁴	2,4x10 ⁵	-	2,7x10 ⁴
47	1,8x10 ⁷	3,7x10 ⁴	3x10 ⁶	6x10 ⁵	8x10 ²	1,5x10 ⁴	4,6x10 ⁴	1x10 ⁴	6x10 ³
48	2x10 ⁷	3,8x10 ⁵	1,1x10 ⁶	2,6x10 ⁵	2x10 ³	6x10 ⁴	2,7x10 ⁵	1x10 ³	2x10 ⁴
49	3,1x10 ⁷	2,5x10 ⁴	3,5x10 ⁶	7,8x10 ³	2,1x10 ³	3,0x10 ³	2,9x10 ⁵	3,0x10 ³	8x10 ³
50	2,1x10 ⁷	1,5x10 ⁴	6,6x10 ⁶	1,8x10 ⁵	2,0x10 ²	1,5x10 ⁴	8,3x10 ⁵	1,0x10 ³	1,2x10 ⁴
51	2,2x10 ⁷	2,7x10 ⁶	5,6x10 ⁶	1,5x10 ⁵	2,4x10 ⁵	1,6x10 ⁴	5,3x10 ⁵	2,4x10 ⁶	3,1x10 ⁴
52	3,1x10 ⁷	4,6x10 ⁵	4,3x10 ⁶	2,1x10 ⁵	3,4x10 ⁴	2x10 ⁴	4,5x10 ⁵	1,3x10 ⁶	2,1x10 ⁴
53	1,9x10 ⁷	1,6x10 ⁶	5x10 ⁵	3,1x10 ⁵	5,1x10 ⁴	1,7x10 ⁴	6,5x10 ⁵	1,1x10 ⁶	1,9x10 ⁴
54	2,4x10 ⁷	1,2x10 ⁶	3,4x10 ⁶	1,4x10 ⁵	7,3x10 ⁴	2,3x10 ⁴	7,9x10 ⁴	2,1x10 ⁶	4,1x10 ⁴
55	6x10 ⁶	1,5x10 ⁵	3,7x10 ⁶	1,6x10 ⁵	1,9x10 ⁴	8x10 ³	6,4x10 ⁵	1,8x10 ⁵	3,2x10 ⁴
56	5,6x10 ⁶	3,7x10 ⁶	5,2x10 ⁶	2,2x10 ⁵	2,5x10 ⁵	3,2x10 ⁴	3,5x10 ⁵	1,8x10 ⁶	1,9x10 ⁴
57	1,9x10 ⁷	3,2x10 ⁶	8,0x10 ⁵	8,0x10 ⁴	2,1x10 ⁵	1,4x10 ⁴	3,9x10 ⁵	2,3x10 ⁶	1,6x10 ⁴
58	2,3x10 ⁷	2,2x10 ⁶	5,4x10 ⁶	2,3x10 ⁵	7,2x10 ³	1,1x10 ⁴	4,2x10 ⁵	7,3x10 ⁵	1,8x10 ⁴
59	4,1x10 ⁷	1,5x10 ⁶	6,4x10 ⁶	6,6x10 ⁴	9,9x10 ³	2,1x10 ⁴	6,4x10 ⁵	1,3x10 ⁵	2,7x10 ⁴
60	1,7x10 ⁷	1,1x10 ⁶	6,1x10 ⁶	6,4x10 ⁴	1,9x10 ⁵	7,0x10 ³	5,5x10 ⁵	3,0x10 ⁶	7,3x10 ³
61	5,3x10 ⁶	1,7x10 ⁶	3,9x10 ⁶	3,4x10 ⁵	2,4x10 ⁵	6,9x10 ³	7,4x10 ⁴	2,7x10 ⁶	4,4x10 ³
62	2,4x10 ⁷	1,3x10 ⁵	4,5x10 ⁶	3,1x10 ⁵	1,3x10 ⁴	1,9x10 ⁴	6,6x10 ⁴	1,3x10 ⁵	1,2x10 ⁴
63	2,1x10 ⁷	1,9x10 ⁵	7,1x10 ⁵	2,1x10 ⁵	6,4x10 ³	1,3x10 ⁴	3,8x10 ⁵	2x10 ⁵	3,1x10 ⁴
64	1,1x10 ⁷	1,4x10 ⁵	1,1x10 ⁷	1,9x10 ⁵	8,8x10 ³	2,2x10 ⁴	2,9x10 ⁵	9,6x10 ⁵	5,3x10 ³
65	3,1x10 ⁷	1,9x10 ⁵	2,3x10 ⁶	2,1x10 ⁵	1,3x10 ⁴	2,1x10 ⁴	6,3x10 ⁴	1,6x10 ⁵	1,1x10 ⁴

MABS: Mezofilik aerobik bakteri sayısı

PABS: Psikrofilik aerobik bakteri sayısı

TKBS: Toplam koliform bakteri sayısı

Ek 4.2. Taşucu'dan alınan balık örneklerine ait bakteri bulguları (kob/g)

Balık no	Deri			Kas			İç organ		
	MABS	TKBS	PABS	MABS	TKBS	PABS	MABS	TKBS	PABS
1	2,6x10 ⁶	2,4x10 ⁴	3,1x10 ⁶	1,7x10 ⁴	3,8x10 ³	1,1x10 ⁴	5,2x10 ⁵	1,2x10 ⁵	3,2x10 ⁴
2	3,2x10 ⁶	6,2x10 ⁴	6,1x10 ⁶	4,2x10 ⁴	2,3x10 ³	5,0x10 ³	2,3x10 ⁵	2,1x10 ⁴	8,6x10 ⁴
3	8,8x10 ⁶	6,9x10 ⁴	1,5x10 ⁶	3,7x10 ⁴	1,7x10 ³	1,7x10 ⁴	2,1x10 ⁵	1,4x10 ⁴	8,8x10 ⁴
4	1,8x10 ⁶	2,2x10 ⁴	5,9x10 ⁵	4,5x10 ³	1,3x10 ³	1,9x10 ⁴	9,2x10 ⁵	1,6x10 ⁴	4,6x10 ⁴
5	1,1x10 ⁵	3,4x10 ⁴	2,8x10 ⁵	6,1x10 ⁴	3,3x10 ³	7,4x10 ⁴	1,2x10 ⁶	3,4x10 ⁴	1,2x10 ⁵
6	4,2x10 ⁶	3,2x10 ³	2,7x10 ⁶	4,5x10 ⁴	2,4x10 ³	2,6x10 ⁴	5,7x10 ⁵	2,2x10 ⁴	3,0x10 ⁵
7	3,9x10 ⁶	6,2x10 ⁴	6,4x10 ⁶	2,5x10 ⁴	4,5x10 ³	1,0x10 ⁵	8,8x10 ⁵	1,1x10 ⁵	4,2x10 ⁵
8	4,0x10 ⁶	5,6x10 ⁴	8,5x10 ⁵	6,8x10 ³	6,4x10 ³	7,0x10 ³	7,0x10 ⁵	2,3x10 ⁴	1,6x10 ⁵
9	4,5x10 ⁵	1,2x10 ⁴	4,1x10 ⁵	3,0x10 ⁴	1,5x10 ³	2,4x10 ⁴	6,4x10 ⁵	1,9x10 ⁴	2,7x10 ⁴
10	1,8x10 ⁶	7,2x10 ⁴	6,0x10 ⁶	2,8x10 ⁴	1,2x10 ³	7,9x10 ³	3,5x10 ⁵	1,1x10 ⁴	3,6x10 ⁵
11	2,7x10 ⁷	3,8x10 ⁴	3,1x10 ⁶	1,4x10 ⁵	5,0x10 ¹	2,0x10 ⁴	2,3x10 ⁷	4,9x10 ⁴	3,4x10 ⁴
12	7,2x10 ⁶	3,1x10 ⁴	4,0x10 ⁴	5,5x10 ⁵	9,0x10 ¹	3,9x10 ⁴	6,1x10 ⁶	5,4x10 ⁵	4,2x10 ⁴
13	1,3x10 ⁶	3,5x10 ⁴	1,8x10 ⁶	1,3x10 ⁴	9,0x10 ¹	1,0x10 ³	4,8x10 ⁶	1,0x10 ⁴	4,0x10 ⁴
14	2,4x10 ⁶	1,8x10 ⁴	4,3x10 ⁵	2,3x10 ⁴	1,4x10 ²	-	1,5x10 ⁵	1,2x10 ⁴	-
15	1,5x10 ⁵	2,9x10 ⁴	2,0x10 ³	3,5x10 ⁵	5,9x10 ³	1,8x10 ⁶	3,6x10 ⁵	1,1x10 ⁴	3,2x10 ⁴
16	1,7x10 ⁶	1,8x10 ⁴	9,0x10 ⁴	1,3x10 ⁵	2,4x10 ³	1,5x10 ⁶	2,6x10 ⁶	8,0x10 ³	8,8x10 ³
17	4,3x10 ⁶	3,7x10 ⁴	1,9x10 ⁶	1,9x10 ⁵	9,1x10 ⁵	1,4x10 ³	1,0x10 ⁶	4,5x10 ⁵	1,9x10 ⁴
18	1,5x10 ⁷	5,1x10 ³	1,2x10 ⁶	4,4x10 ⁵	8,0x10 ¹	3,9x10 ⁴	2,9x10 ⁶	2,0x10 ⁴	-
19	2,5x10 ⁶	3,4x10 ⁴	4,0x10 ⁵	1,5x10 ⁶	2,0x10 ¹	1,9x10 ⁴	1,6x10 ⁵	1,8x10 ⁴	1,5x10 ⁶
20	2,9x10 ⁶	9,0x10 ³	4,4x10 ⁵	8,8x10 ³	-	3,3x10 ³	3,1x10 ⁵	2,1x10 ⁴	-
21	1,6x10 ⁶	4,0x10 ³	7,0x10 ⁴	1,3x10 ³	1,0x10 ³	1,1x10 ³	1x10 ⁴	1,3x10 ⁴	1,5x10 ⁴
22	3,2x10 ⁶	2,0x10 ⁴	7,2x10 ⁵	1,4x10 ⁴	6,0x10 ²	1,6x10 ³	5x10 ⁴	1x10 ⁴	4,7x10 ⁴
23	7,2x10 ⁵	4,7x10 ⁴	8,3x10 ⁴	9,0x10 ²	1,7x10 ³	1,3x10 ⁴	3,4x10 ⁶	1,1x10 ⁴	2,7x10 ⁴
24	1,8x10 ⁵	1,2x10 ⁴	4,3x10 ⁴	3,6x10 ⁴	3,8x10 ³	2,0x10 ⁵	5,2x10 ⁴	2,1x10 ⁴	8,8x10 ³
25	1,2x10 ⁶	1,6x10 ⁴	9,1x10 ⁴	2x10 ⁴	5,2x10 ³	4,0x10 ²	5,4x10 ⁵	7,3x10 ⁴	1,6x10 ⁴
26	3,2x10 ⁵	7,6x10 ⁴	3,8x10 ⁵	6x10 ³	3,0x10 ²	1,5x10 ³	1,8x10 ⁴	4,2x10 ³	1,5x10 ⁴
27	4,2x10 ⁶	1,2x10 ⁵	3,3x10 ⁵	3,8x10 ³	7,0x10 ²	1,0x10 ³	2,8x10 ⁴	4x10 ²	3,3x10 ⁴
28	4,3x10 ⁵	6,2x10 ⁴	2,2x10 ⁵	2,7x10 ⁴	2,8x10 ³	2,0x10 ⁴	4,7x10 ⁴	4,5x10 ⁴	1,8x10 ⁴
29	7,2x10 ⁵	8,3x10 ⁴	3,2x10 ⁵	4,3x10 ³	2,0x10 ³	8,0x10 ³	6,9x10 ³	7,0x10 ⁴	5,0x10 ³
30	2,5x10 ⁶	9,8x10 ⁴	3,9x10 ⁵	8x10 ⁴	4,2x10 ³	5,0x10 ²	1,6x10 ⁵	3,6x10 ⁴	4,9x10 ⁴
31	1,2x10 ⁶	7,9x10 ⁴	1,1x10 ⁵	1,8x10 ⁴	2,5x10 ³	-	5,0x10 ⁴	8,0x10 ³	3,6x10 ⁴
32	9,6x10 ⁵	5,8x10 ⁴	2,8x10 ⁵	1,1x10 ⁴	6x10 ²	1,0x10 ³	2,6x10 ⁴	1,4x10 ⁴	2,3x10 ⁴
33	2,2x10 ⁶	4,5x10 ⁴	2,5x10 ⁵	5x10 ³	8,8x10 ³	-	1,1x10 ⁶	2,6x10 ³	6,0x10 ³
34	8,5x10 ⁵	2,5x10 ⁵	5,5x10 ⁴	2,1x10 ⁴	1,4x10 ³	8,0x10 ³	1,3x10 ⁵	5,0x10 ³	2,6x10 ⁴
35	1,2x10 ⁶	4,8x10 ⁴	1,1x10 ⁵	1,1x10 ⁴	1,3x10 ³	2,7x10 ³	2,3x10 ⁵	1,2x10 ⁴	2,6x10 ⁴
36	4,7x10 ⁶	8,4x10 ⁴	5,6x10 ⁵	2,9x10 ⁴	3,1x10 ³	1,6x10 ⁴	3,0x10 ⁴	9,0x10 ³	4,5x10 ⁴
37	4,2x10 ⁶	2,2x10 ⁴	1,0x10 ⁵	8,0x10 ³	9,0x10 ²	-	1,8x10 ⁵	3,0x10 ³	3,4x10 ⁴
38	1,4x10 ⁶	3,2x10 ⁴	4,2x10 ⁵	7,0x10 ³	1,2x10 ³	6,6x10 ³	4,0x10 ⁴	1,1x10 ⁴	1,4x10 ⁴
39	1,2x10 ⁶	4,5x10 ⁴	3,0x10 ⁵	1,0x10 ⁴	1,3x10 ³	7,0x10 ³	2,0x10 ⁵	1,7x10 ³	2,0x10 ³
40	2,4x10 ⁵	4,1x10 ⁴	7,1x10 ⁵	5,6x10 ⁴	7,0x10 ²	7,4x10 ³	8,0x10 ⁴	2,5x10 ³	1,1x10 ⁴
41	6,0x10 ⁵	4,0x10 ³	1,0x10 ⁴	6,0x10 ³	8,0x10 ²	8,0x10 ²	2,0x10 ⁴	4,0x10 ³	3,0x10 ²
42	3,8x10 ⁶	1,7x10 ⁴	2,3x10 ⁶	5,7x10 ⁴	4,8x10 ³	7,9x10 ⁴	1,6x10 ⁵	4,1x10 ⁴	3,7x10 ⁴
43	2,2x10 ⁶	1,7x10 ⁴	8x10 ⁵	5x10 ⁴	8x10 ²	4x10 ²	1,2x10 ⁵	3,0x10 ³	,07x10 ³
44	7,9x10 ⁶	3x10 ³	3x10 ⁶	3,6x10 ⁴	9x10 ²	4x10 ²	9x10 ⁴	3,9x10 ³	8,8x10 ³
45	1,2x10 ⁶	2,5x10 ⁴	5x10 ⁵	2,1x10 ⁴	2,1x10 ³	1x10 ³	3,1x10 ⁴	5x10 ³	3x10 ³
47	1,3x10 ⁶	3,5x10 ³	3,6x10 ⁵	4x10 ³	1,9x10 ³	6x10 ²	7x10 ³	1,3x10 ³	5x10 ²
48	3,8x10 ⁶	3,5x10 ⁴	8,1x10 ⁵	1,4x10 ⁴	6x10 ²	-	4,6x10 ⁴	1,1x10 ³	1,7x10 ⁴
49	1,4x10 ⁶	3,1x10 ⁴	2x10 ⁵	2,1x10 ⁴	2x10 ²	9x10 ²	1,8x10 ⁶	1,1x10 ³	-
50	7,4 x10 ⁶	1x10 ⁵	1,2x10 ⁶	2x10 ⁵	3,3x10 ³	2,7x10 ⁴	1,3x10 ⁴	4x10 ³	3x10 ³
51	8,7 x10 ⁶	4,1 x10 ⁵	6,7 x10 ⁵	1 x10 ⁵	3,6 x10 ³	2,1 x10 ⁴	1,1 x10 ⁶	2,2 x10 ⁴	6,5 x10 ⁴
52	9,1 x10 ⁶	1,5 x10 ⁵	5,6 x10 ⁵	2,7 x10 ⁴	1,5 x10 ³	1,3 x10 ⁴	1,1 x10 ⁶	2,4 x10 ³	1,1 x10 ⁴
53	4,3 x10 ⁶	1,4 x10 ⁵	7,8 x10 ⁵	3,2 x10 ⁴	7 x10 ²	3 x10 ³	2,4x10 ⁵	6 x10 ³	2,4 x10 ⁴
54	4,2 x10 ⁶	1,3 x10 ⁵	2,6 x10 ⁵	3,9 x10 ⁴	7 x10 ²	1,3 x10 ⁴	2,8 x10 ⁵	2,7 x10 ⁵	9 x10 ³
55	6,9 x10 ⁶	2,7 x10 ⁵	4,6 x10 ⁵	3,6 x10 ⁴	1,9 x10 ³	1,8 x10 ⁴	5 x10 ⁴	7 x10 ³	1,2 x10 ⁴

Ek 4.2.'in devamı

Balık no	Deri			Kas			İç organ		
	MABS	TKBS	PABS	MABS	TKBS	PABS	MABS	TKBS	PABS
56	8,5 x10 ⁶	5,7 x10 ⁴	1,8 x10 ⁶	1,5 x10 ⁵	7,5 x10 ³	7 x10 ³	1,7 x10 ⁵	5,8 x10 ³	6,8 x10 ³
57	5,6 x10 ⁶	4,6 x10 ⁴	4,8 x10 ⁵	1 x10 ⁵	1,4 x10 ³	1,8 x10 ⁴	2,9 x10 ⁵	1,2 x10 ⁴	5,2 x10 ³
58	1,5 x10 ⁷	1,8 x10 ⁵	1,3 x10 ⁶	3,2 x10 ⁵	7 x10 ²	1,6 x10 ⁴	5x 10 ⁴	4 x10 ³	1,1 x10 ⁴
59	5,8 x10 ⁶	7,6 x10 ⁴	3,2 x10 ⁵	6 x10 ⁴	3x10 ²	5 x10 ³	8,8 x10 ⁵	5 x10 ³	1 x10 ⁴
60	9,4 x10 ⁶	5,8 x10 ⁴	1,9 x10 ⁵	3,5 x10 ⁵	1,3 x10 ³	7 x10 ³	1,2 x10 ⁵	1 x10 ⁵	5,6 x10 ³
61	2,3 x10 ⁷	2,5 x10 ⁴	8,4 x10 ⁵	3,6 x10 ⁵	6 x10 ³	1,2 x10 ⁴	2,4 x10 ⁵	6,2 x10 ⁴	2,3 x10 ³
62	1,6 x10 ⁷	1,9 x10 ⁵	5,6 x10 ⁵	2,2 x10 ⁵	5,2 x10 ³	2,8 x10 ⁴	8 x10 ⁴	1,5 x10 ⁴	5 x10 ³
63	1,1 x10 ⁷	4,3 x10 ⁴	1,7 x10 ⁶	3,6 x10 ⁵	6,1 x10 ³	1,9 x10 ⁴	1,1 x10 ⁵	2,4 x10 ⁴	6 x10 ³
64	6,8 x10 ⁶	4,8 x10 ⁴	4,7 x10 ⁶	2,6 x10 ⁵	3,5 x10 ³	4,6 x10 ⁴	2 x10 ⁵	6 x10 ³	1,5 x10 ⁴
65	1,8 x10 ⁷	2,8 x10 ⁵	5,6 x10 ⁶	3,9 x10 ⁵	1,1 x10 ⁴	1,4 x10 ⁵	1,7 x10 ⁵	1,5 x10 ⁵	6x10 ³
66	1,1 x10 ⁷	-	7,8 x10 ⁵	7,5 x10 ⁴	4,4 x10 ³	9 x10 ²	4 x10 ⁵	-	1,1x10 ⁴
67	1,2 x10 ⁷	-	9,3 x10 ⁵	6,2 x10 ⁴	6,8 x10 ³	7 x10 ²	2 x10 ⁵	2,4 x10 ⁴	8x10 ³
68	6,8 x10 ⁶	-	1,7 x10 ⁵	8 x10 ⁴	6,4 x10 ³	4 x10 ²	2 x10 ⁵	6,8 x10 ⁴	6x10 ³
69	1,3 x10 ⁷	6,8 x10 ⁴	2,2 x10 ⁵	7,4 x10 ⁴	1 x10 ²	3 x10 ²	5,6 x10 ⁵	6,2 x10 ⁴	7x10 ³
70	6,2 x10 ⁶	1,1 x10 ⁵	1,9 x10 ⁵	1,5 x10 ⁴	6 x10 ²	1,2 x10 ²	1,7 x10 ⁵	2,6 x10 ⁴	1,3x10 ⁴
71	3,9 x10 ⁶	1,3 x10 ⁴	4,1 x10 ⁵	2,3 x10 ⁴	3 x10 ²	1,1 x10 ²	4,8 x10 ⁵	5 x10 ³	1,2x10 ⁴
72	2,1 x10 ⁶	-	2,5 x10 ⁵	2,8 x10 ⁴	9 x10 ²	8 x10 ²	2 x10 ⁵	-	5x10 ³
73	5,1 x10 ⁶	-	3,2 x10 ⁵	3,2 x10 ⁴	3 x10 ²	4 x10 ²	4,4 x10 ⁵	1,4 x10 ⁴	7x10 ³
74	6,8 x10 ⁶	-	4 x10 ⁵	8,4 x10 ⁴	1,1 x10 ³	5 x10 ²	3,6 x10 ⁵	4,2x10 ⁴	9x10 ³
75	6,8 x10 ⁶	3,2 x10 ⁵	2,7 x10 ⁵	5,2 x10 ⁴	8 x10 ²	4 x10 ³	1,4 x10 ⁵	3,5 x10 ⁴	4x10 ³
76	4,5 x10 ⁶	2,6x10 ⁵	3,8 x10 ⁵	2,1 x10 ⁴	1,1 x10 ³	8 x10 ²	3,4 x10 ⁵	5,1 x10 ⁵	5x10 ³
77	9,6 x10 ⁶	1,8 x10 ⁴	1,2 x10 ⁶	1,3 x10 ⁴	3 x10 ²	2 x10 ²	6x10 ⁴	1,6 x10 ⁴	6x10 ³
78	2,7 x10 ⁶	-	1,2 x10 ⁶	1,1 x10 ⁴	1,6 x10 ²	2 x10 ³	1,8 x10 ⁵	2,2 x10 ⁵	4x10 ³
79	5,1 x10 ⁶	-	1,4 x10 ⁶	2,2 x10 ⁴	-	8 x10 ³	2,6 x10 ⁵	-	1,3x10 ⁴
80	3,5 x10 ⁵	2 x10 ³	1,1 x10 ⁵	7,6 x10 ⁴	3,1 x10 ³	9 x10 ³	2,4 x10 ⁵	9,6 x10 ⁵	3,8x10 ⁴

MABS: Mezofilik aerobik bakteri sayısı

PABS: Psikrofilik aerobik bakteri sayısı

TKBS: Toplam koliform bakteri sayısı

Ek 4.3. Karaduvvar'dan alınan balık örneklerine ait bakteri bulguları (kob/g)

Balık No	Deri			Kas			İç organ		
	MABS	TKBS	PABS	MABS	TKBS	PABS	MABS	TKBS	PABS
1	4,2x10 ⁶	2,6x10 ⁵	5,3x10 ⁵	3,2x10 ⁵	1,8x10 ⁵	5x10 ⁵	4x10 ⁴	3,7x10 ⁴	-
2	1,3x10 ⁶	4,6x10 ⁴	2,3x10 ⁵	1,7x10 ⁵	2,2x10 ⁴	1,1x10 ⁵	1,5x10 ⁵	3,2x10 ³	-
3	9x10 ⁶	7,3x10 ⁴	4x10 ⁶	4,5x10 ⁵	2,8x10 ⁴	1,8x10 ⁵	8x10 ⁴	7,9x10 ³	8,4x10 ³
4	8,2x10 ⁶	1,5x10 ⁵	1,2x10 ⁵	1,2x10 ⁵	5,7x10 ³	5x10 ²	4x10 ⁵	5,1x10 ³	2x10 ³
5	7,6x10 ⁵	8,2x10 ³	6,0x10 ⁴	5,6x10 ⁴	3,4x10 ³	4,5x10 ⁴	7,1x10 ⁵	2x10 ²	-
6	1x10 ⁶	5,3x10 ³	-	9,3x10 ⁴	1,9x10 ⁴	2,8x10 ⁴	9x10 ³	1,3x10 ²	-
7	2,4x10 ⁶	3,1x10 ⁴	2,1x10 ⁶	1,9x10 ⁵	3x10 ⁴	3,3x10 ⁴	2,4x10 ⁵	2x10 ³	2,5x10 ⁴
8	1,5x10 ⁷	7,2x10 ⁴	4x10 ⁵	9,6x10 ⁴	8,9x10 ³	8,3x10 ⁴	8x10 ⁴	1,6x10 ⁴	3,7x10 ⁵
9	2,2x10 ⁶	1,9x10 ⁴	5,9x10 ⁶	5,2x10 ³	1,6x10 ⁴	8x10 ⁴	1,1x10 ⁵	2,5x10 ³	8,3x10 ⁴
10	3,8x10 ⁷	6,7x10 ⁴	7,7x10 ⁶	8,1x10 ⁵	2,5x10 ⁴	2,1x10 ⁵	4x10 ³	2,8x10 ⁴	3x10 ⁴
11	3,7x10 ⁶	3,4x10 ⁵	1,7x10 ⁵	3,9x10 ⁴	1,9x10 ⁴	1,1x10 ⁵	6,4x10 ⁴	5,2x10 ³	5,3x10 ⁴
12	3,5x10 ⁶	1,8x10 ⁵	3,4x10 ⁷	2,1x10 ⁵	7,6x10 ³	4,8x10 ⁵	6x10 ³	1,7x10 ⁴	4,2x10 ⁶
13	1,8x10 ⁷	8,1x10 ⁴	1,3x10 ⁷	3,5x10 ⁵	1,9x10 ³	3,4x10 ⁵	9x10 ⁴	6,5x10 ³	5,1x10 ⁶
14	2,9x10 ⁷	1,3x10 ⁵	1,9x10 ⁷	1,9x10 ⁵	3,4x10 ⁵	2,2x10 ⁴	9x10 ⁴	1,9x10 ⁵	1,5x10 ⁶
15	1,0x10 ⁶	2,1x10 ⁵	-	3,9x10 ⁴	1,8x10 ⁴	1,1x10 ⁵	6,5x10 ⁵	1,4x10 ⁵	2,8x10 ⁵
16	9,8x10 ⁵	3,1x10 ⁴	5x10 ⁶	2,3x10 ⁴	2,4x10 ³	4,5x10 ⁴	3,8x10 ⁵	1,4x10 ⁴	1,9x10 ⁴
17	2,1x10 ⁷	1,2x10 ⁵	9,4x10 ⁶	7,6x10 ³	2,9x10 ⁴	6,1x10 ⁴	9,9x10 ⁵	5,3x10 ⁴	5,1x10 ⁵
18	1,9x10 ⁷	2x10 ⁵	2,9x10 ⁶	1,9x10 ⁵	2,2x10 ⁴	1,9x10 ⁴	2,9x10 ⁶	4,6x10 ⁵	1,6x10 ⁶
19	2,3x10 ⁷	3,2x10 ⁴	1,5x10 ⁶	1,8x10 ⁵	4,9x10 ³	3,5x10 ⁴	1,1x10 ⁷	5,3x10 ⁴	2,4x10 ⁶
20	2,8x10 ⁷	6,8x10 ⁴	3,1x10 ⁷	9x10 ⁴	4x10 ⁴	4,2x10 ⁵	3,3x10 ⁵	2,6x10 ⁴	1,2x10 ⁵
21	4,4x10 ⁷	1,4x10 ⁴	7,3x10 ⁶	8x10 ⁶	7,6x10 ⁴	1,5x10 ⁶	4,7x10 ⁷	7x10 ³	2,3x10 ⁵
22	8,2x10 ⁷	2,3x10 ⁴	1,1x10 ⁷	2x10 ⁶	3,8x10 ⁴	1,3x10 ⁶	3,2x10 ⁷	1,8x10 ⁴	1,1x10 ⁶
23	6,4x10 ⁷	3x10 ⁴	8,2x10 ⁶	2,6x10 ⁶	8x10 ⁴	1,6x10 ⁵	3,6x10 ⁵	1,6x10 ⁴	2,8x10 ⁵
24	1,3x10 ⁷	3,2x10 ⁴	6,6x10 ⁶	1,3x10 ⁶	5,7x10 ⁴	3,6x10 ⁵	2,3x10 ⁶	4x10 ³	5,5x10 ⁵
25	3x10 ⁷	1x10 ⁴	3,2x10 ⁵	2,3x10 ⁶	1,4x10 ⁵	6,6x10 ⁵	7,6x10 ⁵	4x10 ³	7x10 ⁴
26	1,5x10 ⁷	1,6x10 ⁴	2,6x10 ⁶	5,2x10 ⁵	8,2x10 ³	7,7x10 ⁵	8,4x10 ⁶	5,6x10 ⁴	5,6x10 ⁵
27	5,4x10 ⁷	4x10 ⁴	9,6x10 ⁶	1,6x10 ⁶	2,8x10 ³	5,1x10 ⁵	5,5x10 ⁶	4,6x10 ⁴	8,6x10 ⁵
28	6,6x10 ⁵	9x10 ⁴	9,8x10 ⁶	3,7x10 ⁶	1,8x10 ⁴	7,8x10 ⁵	5,6x10 ⁶	1,9x10 ⁴	1,7x10 ⁶
29	3,5x10 ⁷	8,5x10 ⁴	4,8x10 ⁶	3x10 ⁶	8,6x10 ³	9,9x10 ⁵	1,8x10 ⁷	6x10 ³	1,1x10 ⁶
30	2,4x10 ⁷	1,2x10 ⁴	5,1x10 ⁶	7,8x10 ⁵	3x10 ³	1x10 ⁵	2,6x10 ⁶	9x10 ³	8,6x10 ⁵
32	5,8x10 ⁷	1,7x10 ⁵	4x10 ⁷	3,1x10 ⁶	1,1x10 ⁴	3,3x10 ⁶	7,1x10 ⁵	1,1x10 ⁴	9,3x10 ⁵
33	4,4x10 ⁷	1,1x10 ⁵	4,3x10 ⁷	2,5x10 ⁵	5x10 ²	1,8x10 ⁵	8,8x10 ⁵	3,3x10 ⁵	4,4x10 ⁶
34	3,7x10 ⁷	4,6x10 ⁴	3,5x10 ⁷	1,4x10 ⁶	2,5x10 ³	9,1x10 ⁵	2,4x10 ⁶	1,2x10 ⁴	1,3x10 ⁶
35	-	5x10 ⁴	2x10 ⁷	1,8x10 ⁶	1,8x10 ⁴	1,3x10 ⁶	3,8x10 ⁶	4,9x10 ⁴	1,4x10 ⁶
36	3,1x10 ⁷	7,8x10 ⁴	3,6x10 ⁷	1,9x10 ⁵	-	2x10 ⁵	1,4x10 ⁶	2,4x10 ⁴	6,2x10 ⁵
37	4,7x10 ⁷	6x10 ⁴	3,5x10 ⁷	1,4x10 ⁶	1,2x10 ³	1,3x10 ⁶	3,6x10 ⁶	2x10 ⁴	9,8x10 ⁵
38	3,2x10 ⁷	5,4x10 ⁴	4,4x10 ⁷	1,1x10 ⁶	2,9x10 ³	6x10 ⁵	1,6x10 ⁶	4,2x10 ⁴	1,1x10 ⁶
39	5,3x10 ⁷	1x10 ⁵	4,4x10 ⁷	1x10 ⁶	-	6,2x10 ⁶	8x10 ⁵	3,8x10 ⁴	7,2x10 ⁵
40	2,6x10 ⁷	8,9x10 ⁴	-	2,2x10 ⁶	4,1x10 ³	4x10 ⁶	7,6x10 ⁶	6,2x10 ⁴	3,1x10 ⁶
41	4,7x10 ⁷	1x10 ⁵	5,9x10 ⁷	1x10 ⁶	-	8,4x10 ⁵	6,3x10 ⁷	8,1x10 ⁴	3,3x10 ⁶
42	6,8x10 ⁶	4,8x10 ⁴	5,8x10 ⁷	1,7x10 ⁶	8,6x10 ³	4,7x10 ⁶	5,7x10 ⁶	5x10 ⁴	2,8x10 ⁶
43	3,5x10 ⁷	5,8x10 ⁴	4,4x10 ⁷	1,6x10 ⁶	1,8x10 ³	3x10 ⁶	6,1x10 ⁶	1,9x10 ⁴	3,7x10 ⁶
44	3,5x10 ⁷	5,2x10 ⁴	5,7x10 ⁷	2,2x10 ⁶	3,7x10 ³	2,7x10 ⁶	7,2x10 ⁶	1,1x10 ⁵	4,5x10 ⁶
45	4,1x10 ⁷	8,2x10 ⁴	6,4x10 ⁷	3,9x10 ⁶	8,4x10 ⁴	8,6x10 ⁶	5,8x10 ⁶	5,9x10 ⁴	3,4x10 ⁶
46	1,4x10 ⁷	3,4x10 ⁵	4x10 ⁶	6,8x10 ⁵	3x10 ³	7,1x10 ⁴	8,8x10 ⁵	5,1x10 ⁴	3,4x10 ⁶
47	1,3x10 ⁷	3,3x10 ⁶	5,6x10 ⁶	2,7x10 ⁵	3,5x10 ³	3,4x10 ⁴	3,6x10 ⁶	4,3x10 ⁵	1,2x10 ⁵
48	2,7x10 ⁷	2,7x10 ⁶	1,5x10 ⁷	4,8x10 ⁵	2,1x10 ³	3x10 ⁵	3,8x10 ⁶	2,7x10 ⁵	2,3x10 ⁵
49	3,5x10 ⁷	1,4x10 ⁵	2,2x10 ⁷	5,7x10 ⁵	8,8x10 ⁴	2,4x10 ⁵	4x10 ⁶	1,1x10 ⁵	5,5x10 ⁵
50	6,7x10 ⁶	1,6x10 ⁵	3,6x10 ⁷	4,5x10 ⁵	1,7x10 ³	1,3x10 ⁵	4,2x10 ⁵	8,6x10 ⁴	8,8x10 ⁴
51	4,5x10 ⁷	2x10 ⁵	2,3x10 ⁷	6,8x10 ⁵	9,4x10 ³	2,1x10 ⁵	1,9x10 ⁶	4,5x10 ⁶	2,4x10 ⁵
52	3,7x10 ⁷	7,2x10 ⁵	1,5x10 ⁷	1,6x10 ⁶	6,9x10 ⁴	1x10 ⁶	2,3x10 ⁶	3,5x10 ⁵	4,6x10 ⁵
53	3,2x10 ⁷	3,5x10 ⁵	3,1x10 ⁶	1,1x10 ⁶	6,2x10 ⁴	2,1x10 ⁵	2,4x10 ⁶	9,4x10 ⁵	2,1x10 ⁵
54	2,6x10 ⁷	3,3x10 ⁶	1,6x10 ⁷	4,9x10 ⁵	5,2x10 ³	8,8x10 ⁴	1,8x10 ⁵	2x10 ⁵	1,4x10 ⁵
55	3,6x10 ⁷	2,4x10 ⁵	2,1x10 ⁷	1,1x10 ⁶	4,5x10 ⁴	3,4x10 ⁵	1,6x10 ⁶	1,5x10 ⁵	4x10 ⁵
56	2x10 ⁷	1,9x10 ⁵	8,5x10 ⁶	8,7x10 ⁵	4,3x10 ³	5,6x10 ⁴	2,2x10 ⁶	5,3x10 ⁴	3,2x10 ⁵
57	1,5x10 ⁷	8,9x10 ⁴	4,6x10 ⁶	4,7x10 ⁶	4,6x10 ³	1,4x10 ⁵	1,2x10 ⁶	3,8x10 ⁴	7,4x10 ⁵

Ek 4.3.'ün devamı

Balık No	Deri			Kas			İç organ		
	MABS	TKBS	PABS	MABS	TKBS	PABS	MABS	TKBS	PABS
58	3 x10 ⁷	4,4x10 ⁵	3,4x10 ⁶	8,2x10 ⁵	1,4x10 ⁴	4,2x10 ⁵	2,2x10 ⁶	2x10 ⁵	1,6x10 ⁵
59	7,5 x10 ⁷	2,2x10 ⁵	1,4 x10 ⁶	2 x10 ⁶	6x10 ⁴	1,2x10 ⁵	1,1x10 ⁶	5,9x10 ⁴	9,1 x10 ⁵
60	6,2x10 ⁷	2,2x10 ⁵	9,1x10 ⁵	1,9 x10 ⁶	5,4x10 ³	2,7x10 ⁵	3,1x10 ⁶	9,4x10 ⁴	1,3 x10 ⁶
61	2x10 ⁷	7,2x10 ⁴	1,9x10 ⁷	3,9 x10 ⁶	1,9x10 ³	5,9x10 ⁴	3,9x10 ⁷	4,2x10 ⁴	2,4 x10 ⁶
62	1,7x10 ⁷	8,9x10 ⁴	1,8x10 ⁷	5,6 x10 ⁴	1,3x10 ³	7,2x10 ⁴	7,6x10 ⁵	2,1x10 ⁴	6,8 x10 ⁵
63	7,4x10 ⁶	6x10 ⁴	2,9x10 ⁶	4,5 x10 ⁵	5,1x10 ³	1,9x10 ⁵	4,8x10 ⁵	9,2x10 ⁴	2,5 x10 ⁵
64	4,5x10 ⁶	6,1x10 ⁴	4,2x10 ⁶	3,4 x10 ⁵	3,2x10 ³	3,7x10 ⁵	4,5x10 ⁵	1,2x10 ⁴	4,4 x10 ⁵
65	6,2x10 ⁶	4x10 ³	6,8x10 ⁶	6,7 x10 ⁴	6x10 ²	4,3x10 ⁴	2,2x10 ⁵	2,3x10 ⁴	7,2 x10 ⁴
66	5,6x10 ⁶	9,6x10 ⁴	6,2x10 ⁶	5,1 x10 ⁵	1,6x10 ³	1,8x10 ⁵	3,4x10 ⁶	5,2x10 ⁴	3,9 x10 ⁵
67	1,6x10 ⁷	2,5x10 ⁴	1,9x10 ⁶	2,8 x10 ⁵	3,6x10 ³	3,1x10 ⁵	3,2x10 ⁵	2,9x10 ⁴	1,6 x10 ⁵
68	1,5x10 ⁷	4,5x10 ⁴	2,6x10 ⁶	2,9 x10 ⁵	2x10 ²	1,6x10 ⁵	6,4x10 ⁵	4,2x10 ⁴	5,9 x10 ⁵
69	1,1x10 ⁷	3,5x10 ⁴	6,6x10 ⁵	1,5 x10 ⁶	3,1x10 ³	8,4x10 ⁵	8,8x10 ⁵	1,7x10 ⁴	2,3 x10 ⁵
70	9,1x10 ⁶	2,1x10 ⁴	2,9x10 ⁷	6,8 x10 ⁵	6,8x10 ³	5,6x10 ⁵	5,2x10 ⁵	1,8x10 ⁴	1,5 x10 ⁵
71	3,9x10 ⁷	3,6x10 ⁴	2,8x10 ⁷	3,9 x10 ⁵	3x10 ²	5,4x10 ⁵	1,1x10 ⁶	2,6x10 ⁴	9,4 x10 ⁵
72	1,5x10 ⁷	1,1x10 ⁴	2,4x10 ⁷	3,4 x10 ⁵	3,2x10 ³	4,2x10 ⁵	7,9x10 ⁶	2,2x10 ⁴	4,2 x10 ⁵
73	2,2x10 ⁷	3,4x10 ⁴	1,1x10 ⁶	6,2 x10 ⁵	4,8x10 ³	6,6x10 ⁴	1,9x10 ⁶	3x10 ³	2,9 x10 ⁵
74	9,1x10 ⁶	5,9x10 ⁴	1,6x10 ⁶	9,6 x10 ⁵	1,6x10 ³	4,4x10 ⁵	6,4x10 ⁵	9x10 ³	4,2 x10 ⁵
75	1,4x10 ⁷	1,9x10 ⁴	2,2x10 ⁷	6,8 x10 ⁵	2,3x10 ³	7,2x10 ⁵	6x10 ⁵	5,2x10 ⁴	1,4 x10 ⁵

MABS: Mezofilik aerobik bakteri sayısı

PABS: Psikrofilik aerobik bakteri sayısı

TKBS: Toplam koliform bakteri sayısı

Ek 4.4. İstasyonlar bakımından toplam mikrobiyal yüke ait tanımlayıcı istatistikler (ortalama ve standart sapma)

Örnekler	Kriterler	Anamur	Taşucu	Karaduvar	P değeri
Deri	MABS (kob/g)	21525454,55±11806153,734	5096202,53±5250437,174 ^a	24223287,67±18856034,994 ^t	<0,001
	TKBS (kob/g)	1033418,18±2259157,961	75194,37±86065,243 ^a	227682,43±608327,089 ^a	0,001
	PABS (kob/g)	11701454,55±11997772,234	1167139,24±1974329,622 ^a	15898591,55±16978127,383 ^t	<0,001
Kas	MABS (kob/g)	232672,73±163388,074	105587,34±218423,551 ^{a, t}	1072862,16±1331321,949 ^{a, t}	<0,001
	TKBS (kob/g)	37492,59±64162,826	2283,51±2303,835 ^a	21007,04±32928,448 ^t	<0,001
	PABS (kob/g)	563761,82±2338965,478	74539,59±290803,997	723777,03±1420764,754 ^t	<0,001
İç organ	MABS (kob/g)	2272345,45±6083217,473	820821,52±2722244,667	4745391,89±10569868,872 ^t	0,004
	TKBS (kob/g)	438298,15±763608,795	56434,21±139951,139 ^{a, t}	135888,24±532644,987 ^{a, t}	0,001
	PABS (kob/g)	226490,91±387598,434	55784,00±183872,605 ^{a, t}	1045577,14±1268569,189 ^{a, t}	<0,001

a: Anamur ile olan farklılıkları vermektedir. t: Taşucu ile olan farklılıkları ifade etmektedir.

MABS: Mezofilik aerobik bakteri sayısı

PABS: Psikrofilik aerobik bakteri sayısı

TKBS: Toplam koliform bakteri sayısı

Ek 4.5. Mevsimler bakımından toplam mikrobiyal yüke ait tanımlayıcı istatistikler (ortalama ve standart sapma)

Örnekler	KRİTERLER	SONBAHAR	KIŞ	İLKBAHAR	P DEĞERİ
Deri	MABS (kob/g)	15314095,24±15465824,837	14775789,47±16871940,352 ^s	20102222,22±14752249,272 ^k	0,151
	TKBS (kob/g)	374575,26±787641,106	435422,41±2094249,294	387488,89±756767,156	0,976
	PABS (kob/g)	6389922,33±8400859,634	15584596,49±19540564,319 ^s	7068888,89±10617592,439 ^k	<0,001
Kas	MABS (kob/g)	500077,14±1029284,955	449884,48±831046,135	487306,67±759098,829	0,942
	TKBS (kob/g)	27247,86±53425,109	7181,82±12507,466 ^s	11145,45±20336,363	0,005
	PABS (kob/g)	387056,06±1683804,395	838416,67±1728319,899	101200,00±169603,361 ^k	0,047
İç organ	MABS (kob/g)	3282295,24±8103173,489	2329050,00±8383645,790	1361266,67±2905201,404	0,329
	TKBS (kob/g)	264438,53±595548,064	43841,38±60067,383 ^s	193120,45±684598,934	0,042
	PABS (kob/g)	433165,31±807412,750	657650,88±1189993,879	219886,67 ±553539,363 ^k	0,048

s: Sonbahar ile olan farklılıkları vermektedir. k: Kış ile olan farklılıkları ifade etmektedir.

MABS: Mezofilik aerobik bakteri sayısı

PABS: Psikrofilik aerobik bakteri sayısı

TKBS: Toplam koliform bakteri sayısı

Ek 4.6. Mikrobiyal yüklere ait korelasyon tablosu

		Deri-MABS	Deri-TKBS	Deri-PABS	Kas-MABS	Kas-TKBS	Kas-PABS	İç-MABS	İç-TKBS	İç-PABS
Deri-MABS	r	1	0,080	0,476	0,426	0,178	0,249	0,354	0,133	0,333
	p		0,261	<0,001	<0,001	0,011	<0,001	<0,001	0,059	<0,001
Deri-TKBS	r	0,080	1	0,039	-0,072	0,289	-0,010	0,009	0,237	0,020
	p	0,261		0,587	0,309	<0,001	0,892	0,901	0,001	0,787
Deri-PABS	r	0,476	0,039	1	0,304	0,02827	0,311	0,258	0,004	0,576
	p	<0,001	0,587		<0,001	0,694	<0,001	<0,001	0,958	<0,001
Kas-MABS	r	0,426	-0,072	0,304	1	0,130	0,299	0,473	-0,054	0,392
	p	<0,001	0,309	<0,001		0,066	<0,001	<0,001	0,439	<0,001
Kas-TKBS	r	0,178	0,289	0,028	0,130	1	0,032	0,101	0,607	-0,027
	p	0,011	<0,001	0,694	0,066		0,654	0,152	<0,001	0,707
Kas-PABS	r	0,249	-0,010	0,311	0,299	0,032	1	0,083	-0,051	0,250
	p	<0,001	0,892	<0,001	<0,001	0,654		0,238	0,473	<0,001
İç-MABS	r	0,354	0,009	0,258	0,473	0,101	0,083	1	-0,004	0,349
	p	<0,001	0,901	<0,001	<0,001	0,152	0,238		0,954	<0,001
İç-TKBS	r	0,133	0,237	0,004	0,054	0,607	-0,051	-0,004	1	-0,072
	p	0,059	0,001	0,958	0,439	<0,001	0,473	0,954		0,316
İç-PABS	r	0,333	0,020	0,576	0,392	-0,027	0,250	0,349	-0,072	1
	p	<0,001	0,787	<0,001	<0,001	0,707	<0,001	<0,001	0,316	

MABS: Mezofilik aerobik bakteri sayısı

PABS: Psikrofilik aerobik bakteri sayısı

TKBS: Toplam koliform bakteri sayısı

p: p değerleri

r: korelasyon değerleri

Ek. 4.7. Balıkların boy ve ağırlıkları ile mikrobiyal yük arasındaki istatistiksel ilişki

	BOY		AĞIRLIK	
	r	p	r	p
Deri-MABS	-0,279**	<0,001	-0,246**	<0,001
Deri-TKBS	0,049	0,488	0,034	0,634
Deri-PABS	-0,254**	<0,001	-0,276**	<0,001
Kas-MABS	-0,417**	<0,001	-0,398**	<0,001
Kas-TKBS	-0,037	0,600	-0,054	0,444
Kas-PABS	-0,058	0,413	-0,047	0,504
İç-MABS	-0,102	0,144	-0,112	0,106
İç-TKBS	-0,006	0,927	0,011	0,872
İç-PABS	-0,322**	<0,001	-0,335**	<0,001

** İstatistiksel açıdan veriler arasındaki anlamlı ilişkiyi göstermektedir.

MABS: Mezofilik aerobik bakteri sayısı

PABS: Psikrofilik aerobik bakteri sayısı

TKBS: Toplam koliform bakteri sayısı

p: Farklılık anlamlılığı değerleri (p<0,05)

r: Pearson korelasyon değerleri

Ek 4.8. Balık türlerine göre mikrobiyal yük ortalamaları ve standart sapma değerleri

	TÜR	Ortalama (kob/g)	SD (kob/g)	P değeri
Deri-MABS	MB	15971343,28	17455823,975	0,748
	MS	16638904,11	12207135,386	
Deri-TKBS	MB	229890,77	606177,105	0,058
	MS	701992,86	2004869,891	
Deri-PABS	MB	8891318,18	14405987,278	0,771
	MS	9464794,52	11594002,294	
Kas-MABS*	MB	628001,48	1107093,094	<0,001
	MS	215753,42	193867,912	
Kas-TKBS	MB	18367,92	41782,751	0,966
	MS	18112,50	39262,611	
Kas-PABS	MB	440574,96	1135109,400	0,968
	MS	449541,81	2049139,998	
İç-MABS	MB	3021517,78	8290729,284	0,266
	MS	1822986,30	5335819,578	
İç-TKBS	MB	180094,92	555496,110	0,822
	MS	197781,94	497104,603	
İç-PABS*	MB	555127,34	1018746,853	0,011
	MS	260762,50	594428,204	

MB: *Mullus barbatus*

MS: *Mullus surmuletus*

MABS: Mezofilik aerobik bakteri sayısı

PABS: Psikrofilik aerobik bakteri sayısı

TKBS: Toplam koliform bakteri sayısı

p: Farklılık anlamlılığı değerleri (p<0,05)

ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

Adı Soyadı: Pınar SEVİM

Doğum Tarihi: 10/05/1979

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lise			
Lisans	Su Ürünleri Fakültesi	Mersin Üniversitesi	1997-2001
Yüksek Lisans	Su Ürünleri	Mersin Üniversitesi	2001-2005
Doktora	Su Ürünleri	Mersin Üniversitesi	2006-2012

(Varsa) Görevler:

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Araştırma Görevlisi	Mersin Üniversitesi-Su ürünleri ABD	2004-2010
Mühendis	Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı	2011-

ESERLER (Makaleler ve Bildiriler)

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. Özer, S., G. Aslan, S. Tezcan, P.S. Bulduklu, M.S. Serin, G. Emekdaş, “Genetic heterogeneity and antibiotic susceptibility of *Vibrio alginolyticus* strains isolated from horse-mackerel (*Trachurus trachurus* L., 1758)”, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 32, 107-112 (2008).
2. Özer, S., P.S. Bulduklu, E. Dönmez, E. Koyuncu, M.S. Serin, G. Aslan, S. Tezcan, E. Aydın, G. Emekdas, “Phenotypic and genetic homogeneity of *Yersinia ruckeri* strains isolated from farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in Mersin province, Turkey”, *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 28, 97-104 (2008).
3. Özer, S., P. Bulduklu, S. Tezcan, E. Dönmez, E. Aydın, G. Aslan, G. Emekdas, “Genetic diversity and antimicrobial susceptibility of motile Aeromonads isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) farms”, *J. Appl. Ichthyol.*, 25, 195-200 (2009).

4. Özer, S., G. Börekçi, P. Bulduklu, A. Çiftci, A. Kanık, E. E. Onuk, “Evaluation of fluorescence in situ hybridization (FISH) and polymerase chain reaction (PCR) for identification of *Enterococcus spp.* isolated from fish and water”, *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, IIC:63.2011.643, 8 pages, <http://www.siamb.org.il> (2011).

Ulusal hemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. Bulduklu, P. ve S. Özer, “Mersin’de tüketime sunulan Gökkuşığı alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) motil *Aeromonas*’ların araştırılması”, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 24, 97-102 (2007).
2. Özer, S., P. Sevim Bulduklu, E. Dönmez, “Mersin ilinde yetiştiriciliği yapılan Gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) streptokokkozis varlığı”, *Journal of FisheriesSciences.com.*, 2, 272-283 (2008).
3. Özer, S., P. Sevim Bulduklu, E. Özer, ve O. Ö. Akol, "Mersin ili Elvanlı Köyü’nde gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) yetiştiriciliği yapılan su kaynaklarında bakteriyel yükün araştırılması", *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 5, 23-35 (2009).

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1. Özer, S., E. Koyuncu, E. Dönmez, P. Bulduklu ve S. Erdoğan, “Mersin’de yetiştiriciliği yapılan gökkuşığı alabalık (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum)’larının paraziter hastalıkları”, XIV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, poster, 400, Muğla, (2007).
2. Özer, S., P. Bulduklu, E. Dönmez ve E. Koyuncu, “Mersin ilinde yetiştiriciliği yapılan gökkuşığı alabalık (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum)’larında streptokokkal etkenler ve antibakteriyel duyarlılıkları”, XIV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, poster, 135, Muğla, (2007).
3. Özer, S., P. Bulduklu, E. Özer, O. Ö. Akol, “Mersin ili Elvanlı köyünde gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) yetiştiriciliği yapılan su kaynaklarının bakteri florası”, 1. Ulusal Alabalık Sempozyumu (Uluslararası katılımlı), poster, 77, Isparta, (2008).

4. Özer, S., G. Börekçi, P. Bulduklu, ve A. Çiftci, “Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) işletmelerinden izole edilen streptokokkal etkenlerin Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) yöntemi ile identifikasyonu”, XV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, sözlü sunum, 54, Rize, (2009).
5. Özer, S., Y. Demircioğlu, E. Baş, ve P. Bulduklu, “Mersin İlindeki deniz balığı işletmelerinde *Vibrio spp.* varlığı ve antibakteriyel duyarlılıklarının tespiti”, XV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, poster, 315, Rize, (2009).