

**MERSİN ÇAĞLARCA KÖYÜNDEKİ
GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*,
Walbaum, 1792) KULUÇKAHANELERİNDE
FLAVOBACTERIUM SPP. 'NİN ARAŞTIRILMASI**

SEVGİ YILDIRIM

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SU ÜRÜNLERİ
ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MERSİN
KASIM- 2007**

**MERSİN ÇAĞLARCA KÖYÜNDEKİ
GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*,
Walbaum, 1792) KULUÇKAHANELERİNDE
FLAVOBACTERIUM SPP.'NİN
ARAŞTIRILMASI**

SEVGİ YILDIRIM

**Mersin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Ana Bilim Dalı**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Selmin ÖZER**

**MERSİN
KASIM-2007**

Bu tezin gerek bilimsel içerik, gerekse elde edilen sonuçlar açısından tüm gerekleri sağladığı kanaatine ulaşan ve aşağıda imzaları bulunan biz jüri üyeleri, sunulan tezi oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul ediyoruz.

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Selmin ÖZER

Jüri Üyesi
Prof. Dr. İbrahim CENGİZLER

Jüri Üyesi
Yrd. Doç. Dr. A. Erdem DÖNMEZ

Bu tezin Fen Bilimleri Enstitüsü yazım kurallarına uygun olarak yazıldığı Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../.....tarih ve/..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mahir TURHAN
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ÖZ

Bu araştırma ile Mersin İli Çağlarca Köyü'ndeki iki gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmesinin kuluçkahanelerinde *Flavobacterium* spp. varlığının aranması hedeflenmiştir. Bu amaçla, Aralık 2006 ve Nisan 2007 tarihleri arasında anaçlardan ovaryum sıvısı ve sperma, yumurta ve yavrular 3 aylık oluncaya kadar tüm gelişim basamaklarından ve işletmelerde kullanılan sudan örnekler alınmıştır.

II. İşletmede, yavrular yem almaya başladıktan 30-40 gün sonra salgın sonucunda mortalite % 50 olarak gerçekleşmiştir. Yavrularda klinik olarak renkte kararma, eksoftalmus, sırt yüzgecinde ve kuyruk yüzgecinde erozyonlar, uyuşukluk, halsizlik, su yüzeyine yakın yüzme, yem alma oranında azalma gibi bulgular gözlemlenmiştir. Otopsi bulgusu olarak solungaçlarda ve karaciğerde anemi ve hemoraji, dalakta ise büyüme tespit edilmiştir.

Flavobacterium spp. izolasyonu TYES agar'da 17°C'de 5-10 gün inkübasyonla yapılmıştır. İdentifikasyonda klasik yöntemler kullanılmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık testi disk difüzyon yöntemine göre yapılmıştır.

Her iki işletmenin kuluçkahanesinden alınan 77 adet su örneği ve 270 adet balık örneği olmak üzere toplam 347 adet örnek çalışılmıştır. Toplam 117 örnekten (% 33,71) 141 adet *Flavobacterium* spp. izole edilmiştir. Su örneklerinin 39'unda (% 50,64) 46 adet ve balık örneklerinin 78'inde (% 28,88) 95 adet *Flavobacterium* spp. belirlenmiştir.

Antimikrobiyal duyarlılık testlerine göre *Flavobacterium* spp. izolatlarının gentamisin, streptomisin, neomisin, sulfametokszol-trimetoprim, ofloksasin, oksitetrasiklin, amoksisilin/klavulinik asit, klindamisin'e duyarlı ve eritromisin, penisilin ve vankomisin'e dirençli oldukları görülmüştür.

Anahtar kelimeler: *Flavobacterium* spp., Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*).

ABSTRACT

The aim of this study was to examine the existence of the *Flavobacterium* spp in two rainbow trout farm hatcheries in Caglarca village, Mersin, between December 2006 and April 2007. For this goal samples were collected from milt, ovarian fluid, and all phases from egg till 3 month old fries and from the water used in both farms.

In consequence of disease outbreak at the II. farm 30-40 days after fry started feeding, mortality occurred as high as 50%. Clinical signs at fries were observed as dark coloration of the skin, exophthalmia, erosions on dorsal and caudal fin, lethargy, swimming close to the water surface, weakness and loss of appetite. As autopsy signs anaemia and haemorrhage on gills and liver, and splenomegali were determined.

Flavobacterium spp. were isolated on TYES agar at 17°C for 5-10 days incubation. Identification was utilized with classical methods. Antimicrobial susceptibility test was carried out by agar disc diffusion method.

Totally 347 samples, including 77 water and 270 fish samples taken from the hatcheries, were examined. 141 (33,71%) *Flavobacterium* spp. were isolated from 117 samples. 46 *Flavobacterium* spp. were isolated from 39 (50,64%) water samples and 95 from 78 (28,88%) fish samples

In according to antimicrobial susceptibility test, *Flavobacterium* spp. strains were sensitive to gentamicin, streptomycin, neomycin, sulphamethoxazole-trimethoprim, oxytetracycline, ofloxacin, amoxycilin/clavulinic acid, clindamycin and resistant to erythromycine, penicillin and vancomycin.

Key words: *Flavobacterium* spp., rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

TEŐEKKÖR

Yüksek lisans tez çalışmam süresince gerek arazi çalışmalarında, gerekse laboratuvar analizlerimde bilgi birikimi, sabrı, hoşgörüsü ve tüm pozitif enerjisi ile beni her konuda destekleyen danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Selmin ÖZER'e, tezin arazi ve laboratuvar aşamalarında yardımcı olan Sayın Meltem DEMİREL ve Sayın Murat US'a;

Tez için gerekli örneklerin alınması esnasında her türlü olanaklarını bizimle paylaşan, sabır, hoşgörü ve yardımlarını bizden esirgemeyen işletme sahipleri Sayın Süleyman HIZ ve Sayın Osman İNCE'ye;

Tez çalışmam esnasında kullanmış olduğum referans suşların temininde yardımcı oldukları için Dr. Günter KOTTERBA ve Doç. Dr. Tom WİKLUND'a ;

Hayatımdaki her konuda olduğu gibi tezimin hazırlanmasında da bana göstermiş olduğu destek, sabır ve sevgiden dolayı hayat arkadaşım Sayın Kadir YILDIRIM'a, daha çok küçük olmasına rağmen, çalışmalarım sırasında kendinden çok büyük bir olgunlukla bana eşlik eden oğlum Yusuf Servet YILDIRIM'a;

Ve, babam Servet EMİROĞLU'na her şey için sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZ	i
ABSTARCT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	3
2.1. BALIKLARDA HASTALIK OLUŞTURAN	
FLAVOBACTERİUM TÜRLERİ.....	5
2.1.1. <i>Flavobacterium</i> Türlerinin Fenotipik Özellikleri	6
2.1.2. <i>Flavobacterium</i> 'ların İzolasyonu ve İdentifikasyonu.....	7
2.2. FLAVOBACTERİUM TÜRLERİNİN OLUŞTURDUĞU	
HASTALIKLAR.....	9
2.2.1. <i>Flavobacterium psychrophilum</i>	9
2.2.1.1. Etiyolojisi.....	9
2.2.1.2. Epizootiyolojisi.....	12
2.2.1.3. Semptomlar.....	21
2.2.1.4. Sağaltım.....	22
2.2.2. <i>Flavobacterium columnare</i>	22
2.2.2.1. Etiyolojisi.....	23
2.2.2.2. Epizootiyolojisi.....	24
2.2.2.3. Semptomlar.....	27
2.2.2.4. Sağaltım.....	27
2.2.3. <i>Flavobacterium branchiophilum</i>	28
3. MATERYAL ve METOD	31
3.1. MATERYAL.....	31
3.1.1 Balıkların Elde Edildiği İşletmelerin Konum ve Kapasiteleri.....	31
3.1.1.1. I. Gökkuşığı alabalığı üretim işletmesi	31
3.1.1.2. II. Gökkuşığı alabalığı üretim işletmesi.....	31

3.1.2. Su, Yumurta ve Yavru Örnekleri.....	32
3.1.3. Laboratuvar Araç-Gereçleri.....	33
3.1.4. Besiyerleri.....	34
3.1.4.1. Tryptone yeast extract salts broth.....	34
3.1.4.2. Tryptone yeast extract salts agar	34
3.1.4.3. Triple sugar iron agar.....	34
3.1.4.4. Glucose motil deep agar.....	34
3.1.4.5. Kanlı agar	35
3.1.4.6. İndol besi yeri.....	35
3.1.4.7. Eskülin buyyon besiyeri.....	35
3.1.4.8. Nişastalı agar besiyeri	35
3.1.4.9. Jelatin broth	36
3.1.4.10. Müller-Hinton agar	36
3.1.4.11. Fizyolojik tuzlu su	36
3.1.5. Kimyasallar ve Ayraçlar.....	36
3.1.5.1. %20 Potasyum hidroksit	36
3.1.5.2. Hidrojen peroksit.....	36
3.1.5.3. Gram boyama ayraçları	37
3.1.5.4. Kovaks ayırıcı	37
3.1.5.5. Oksidaz ayırıcı	37
3.1.5.6. Lugol solusyonu	37
3.1.5.7. 400 ppm povidin/iodin solüsyonu.....	38
3.1.5.8. Antibakteriyel diskler.....	38
3.1.6. ID 32 GN Ticari Kiti.....	38
3.1.7. Referans suşlar.....	38
3.2. METOT.....	39
3.2.1 Su Örneklerinin Sıcaklığı, Çözünmüş Oksijen ve pH Ölçümleri.....	39
3.2.2 Yumurta ve Keseli Yavru Örneklerinin Dezenfeksiyonu.....	39
3.2.3 Bakteriyolojik Muayeneler.....	39
3.2.3.1 Bakterilerin izolasyonu	39
3.2.3.2 Bakterilerin identifikasyonu.....	40

	<u>Sayfa</u>
4. BULGULAR ve TARTIŞMALAR	46
4.1. BULGULAR.....	46
4.1.1. İşletmelerde Kullanılan Suyun Oksijen Doygunluğu, Çözünmüş Oksijen, Su Sıcaklığı ve pH Bulguları.....	46
4.1.2. Hastalık Bulguları	47
4.1.3. Kuluçkahanelerdeki Bakteri Bulguları	48
4.1.3.1. I. İşletme verileri.....	49
4.1.3.2. II. İşletme verileri.....	52
4.1.4. <i>Flavobacterium</i> İzolatlarının Antibakteriyel Duyarlılıkları	55
4.1.4.1. I. İşletme antibakteriyel duyarlılık sonuçları.....	55
4.1.4.2. II. İşletme antibakteriyel duyarlılık sonuçları.....	57
4.2. TARTIŞMA.....	59
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	66
KAYNAKLAR	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE	Sayfa
Çizelge 2.1. Kıtaiçi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri.....	4
Çizelge 2.2. Balıklardan izole edilmiş <i>Flavobacterium</i> spp.'nin sınıflandırılması	6
Çizelge 2.3. <i>Flavobacterium</i> genusuna ait bazı türlerde fenotipik ve biyokimyasal karakterler	8
Çizelge 2.4. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> 'un serotipleri.....	12
Çizelge 2.5. <i>Flavobacterium psychrophilum</i> coğrafi dağılımı ve konak yayılımı	18
Çizelge 2.6. <i>Flavobacterium columnare</i> 'nin coğrafi dağılımı.....	26
Çizelge 3.1. İşletmeler bazında incelenen su örnekleri.....	32
Çizelge 3.2. Yumurta ve yavru örnekleri.....	33
Çizelge 3.3. Antimikrobiyal duyarlılık zonları	38
Çizelge 4.1. Su örneklerinde ortalama ÇO, su sıcaklığı, pH bulguları.....	46
Çizelge 4.2. I. İşletmede su örnekleri <i>Flavobacterium</i> spp. izolatları.....	50
Çizelge 4.3. I. İşletmede balık örnekleri <i>Flavobacterium</i> spp. izolatları.....	51
Çizelge 4.4. I. İşletme örneklerinden izole edilen Gram negatif basiller	51
Çizelge 4.5. II. İşletmede su örnekleri <i>Flavobacterium</i> spp. izolatları.....	52
Çizelge 4.6. II. İşletmede balık örnekleri <i>Flavobacterium</i> spp. izolatları	53
Çizelge 4.7. II. İşletme örneklerinden izole edilen Gram negatif basiller.....	54
Çizelge 4.8. I. İşletme <i>Flavobacterium</i> spp.'nin antibakteriyel duyarlılık dağılımı.....	56
Çizelge 4.9. I. İşletme <i>Flavobacterium</i> spp. antibakteriyel duyarlılıkları.....	56
Çizelge 4.10. II. İşletme <i>Flavobacterium</i> spp.'nin antibakteriyel duyarlılık dağılımı.....	57
Çizelge 4.11. II. İşletme <i>Flavobacterium</i> spp. antibakteriyel duyarlılıkları.....	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL	Sayfa
Şekil 2.1. <i>Flavobacterium psychrophilum</i>	10
Şekil 2.2. <i>F. psychrophilum</i> koloni ve hücre sel yapısı	10
Şekil 2.3. Cytophaga Agar üzerinde çevresi gittikçe zayıflayan <i>Flavobacterium psychrophilum</i> kolonileri.....	11
Şekil 3.1. Örneklerin alındığı istasyonlar	31
Şekil 3.2. İşletmelerden alınan su ve balık örneklerinin sayısal dağılımı.....	33
Şekil 3.3. Eskülin deneyi	41
Şekil 3.4. Nişasta hidrolizi deneyi.....	42
Şekil 3.5. İndol deneyi	42
Şekil 3.6. TSIA'da test sonuçları.....	43
Şekil 3.7. GMDA'da test sonuçları.....	44
Şekil 4.1. II. İşletme gökkuşağı alabalığı yavrularında hastalık belirtileri.....	47
Şekil 4.2. Gökkuşağı alabalığı yavrularında sırt yüzgecinde erozyon	48
Şekil 4.3. II. İşletme gökkuşağı alabalığı yavrularında otopsi bulguları.....	48
Şekil 4.4. I. İşletme su ve balık örneklerinde <i>Flavobacterium</i> spp. % dağılımı.....	50
Şekil 4.5. II. İşletme su ve balık örneklerinde <i>Flavobacterium</i> spp. % dağılımı...	53
Şekil 4.6. <i>Flavobacterium columnare</i>	55
Şekil 4.7. I. İşletme <i>Flavobacterium</i> spp.'nin antibakteriyel duyarlılık dağılımı...	56
Şekil 4.8. II. İşletme <i>Flavobacterium</i> spp. antibakteriyel duyarlılık dağılımı.....	57

1. GİRİŞ

Ülkemizde de dünyadakine paralel bir artış gösteren kültür balıkçılığı yetiştiriciliği birçok hijyenik sorunu da beraberinde getirmektedir. İçinde buldukları ortam nedeniyle sürekli hastalık etkenleriyle temas halinde olan ve stres faktörlerinden fazlasıyla etkilenen balıkların yetiştirilmesinde beslenme ve ortam koşulları balık sağlığını etkilemektedir. Hasta balıkların sağaltımında kimyasalların bilinçsiz kullanımı daha güçlü bakteri suşlarının meydana gelmesine, çevre kirliliğine, kimyasal kalıntıların varlığı nedeniyle de insan sağlığını tehdit etmesine yol açmaktadır. Gerek balıklarda hastalıklar sebebiyle oluşan verim kayıpları ve ölümler, gerek iş gücü kaybı ve gerekse de yanlış ilaç kullanımı balıkçılık sektöründe büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Sucul canlıların hastalanmalarına neden olan birçok bakteriyel etken bulunmaktadır. Su ortamının ve genellikle balıkların normal mikroflorası içinde yer alan mikroorganizmalar, anaçlardan yumurtalara bulaşabildiği gibi ortamdan da balıklara her üretim aşamasında bulaşabilmektedir.

Mersin ilinde 40'tan fazla irili ufaklı gökkuşağı alabalığı işletmesi bulunmaktadır (TKB Mersin Tarım İl Müdürlüğü). Bu işletmelerin birçoğunda üretim anaç sağımından pazar boyu ürün elde edilinceye kadar tüm aşamaları kapsamaktadır. İşletmelere göre değişmekle birlikte Mersin ilindeki bu işletmelerde anaç sağımları genellikle hava sıcaklıklarının düştüğü Aralık ayı içinde başlamaktadır. Bazı işletmelerden edinilen bilgiye göre, yavrularda özellikle yem almaya başladıktan 30-40 gün sonra yoğun ölümler meydana gelmekte, üretimdeki kayıpların çoğunluğu bu aşamada oluşmaktadır. Klasik kitap bilgileri gökkuşağı alabalıkları yetiştiriciliğinde bu aşamada görülen hastalık ve kayıpları *Flavobacterium psychrophilum*'un sebep olduğu 'gökkuşağı alabalığı yavru hastalığı' olarak tanımlamaktadır.

Bu çalışmanın hedefi, 'gökkuşağı alabalığı yavru hastalığı'nı göz önünde bulundurarak, Mersin ilindeki bazı gökkuşağı alabalığı işletmelerini *Flavobacterium*

spp. yönünden araştırarak yavru ölümlerinin nedenini ortaya koymak, sağaltımını ve kontrolünü sağlamak, böylece yavru ölümleri ve ekonomik kayıpların önüne geçilmesine yardımcı olmaktır. Bu amaçla Mersin ili Çağlarca Köyü'nde faaliyet gösteren iki gökkuşığı alabalığı işletmesinin kuluçkahanelerinde, anaçların sağımından yavrular 3 aylık oluncaya kadar tüm aşamalarda bu etkenlerin varlığı araştırılarak izolatların antibakteriyel ilaç duyarlıkları saptanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Su ürünleri yetiştiriciliği tüm dünyada hızlı bir gelişme göstermektedir. Türkiye İstatistik Kurumu'nun açıkladığı son rakamlara göre ülkemizde 2006 yılında, yaklaşık 533 bin tonu avcılıkla, 129 bin tonu yetiştiricilikle olmak üzere toplam yaklaşık 662 bin ton su ürünleri üretimi yapılmıştır. Kültür balıkçılığı üretimi toplam su ürünlerinin yaklaşık yüzde 20'sini oluşturmuştur. Kültür balığı üretiminin % 44'ü içsularda, % 56'sı denizlerde gerçekleştirilmiştir. Yetiştirilen en önemli türler içsularda % 43,5 ile alabalık, denizlerde % 29,8 ile levrek ve % 22,1 ile çipuradır [104,105].

Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği için temiz, berrak ve içilebilir niteliklerde kaynak, akarsu, göl ve yeraltı suları kullanılmaktadır [88]. Kullanılacak suyun fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi, balıkların sağlığını doğrudan etkileyebileceği gibi, balıklar üzerinde stres yaratması sebebiyle bağışıklık sisteminin zayıflamasına yol açarak hastalıkların oluşmasına dolaylı yoldan neden olabileceği için, balık yetiştiriciliğinde çok önemlidir [11].

Gökkuşığı alabalığı için ideal yetiştirme sıcaklığı 9-17°C civarındadır. Larva ve yavru büyümede arzu edilen ideal su sıcaklığı 7-13°C'dir. Alabalıklar, diğer balık türlerine oranla daha yüksek düzeyde oksijene gereksinim duymaktadırlar. Alabalık yetiştiriciliğinde kullanılacak suyun 9-10mg L⁻¹ çözülmüş oksijen içermesi arzu edilmektedir. Suyun oksijen içeriği birinci derecede suyun sıcaklığına ve bulanıklığına bağlıdır, su sıcaklığı ne kadar yükselirse oksijen bağlama yeteneği o denli düşmektedir. Suların asidik yapısını etkileyerek çözülmüş oksijen bağlama miktarı üzerinde etkili olan pH'nın ise 6.5-8.5 arasında olması uygundur [88].

Balıkların hastalanmalarına neden olan bakterilerin birçoğu suların normal mikroflorası içinde yer almaktadır. İnsan sağlığı göz önünde bulundurularak hazırlanmış olan içme ve kullanma su kaynakları ile ilgili standartların balık yetiştiriciliğinde yararlanılan su kaynakları için de geçerliliği bulunmaktadır. Ülkemizde Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği [7]'inde yer alan "kıta içi su

kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri”ne göre bazı fiziksel, kimyasal kriterler göz önünde bulundurularak kıta içi kaynak suları 4 sınıfa ayrılmıştır (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Kıta içi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri [7]

Su kalite parametreleri	SU KALİTE SINIFLARI			
	I	II	III	IV
Sıcaklık (°C)	25	25	30	> 30
pH	6.5-8.5	6.5-8.5	6.0-9.0	<6.0-9.0<
Çözünmüş oksijen (mg L ⁻¹)	8	6	3	< 3
Oksijen doygunluğu (%)	90	70	40	< 40

Avrupa Birliği (AB) 98/83/EC numaralı ‘İçme Suyu Yönergesi’ne göre sulara 22°C’de en fazla 100 mL⁻¹, 37°C’de 20 mL⁻¹ total jerm bulunmasına izin verilmiş, çözünmüş oksijen miktarının en az 5 mg L⁻¹, pH’ın 6.5-9.5 arası olması gerektiği bildirilmiştir [6].

Yapılmış olan araştırmalar su ve balık mikroflorasının paralellik taşıdığını ve balıkların hastalanmalarına neden olan birçok bakterinin su kaynaklarında mevcut olduğunu göstermektedir. Allen ve ark. [2], tatlısu balık işletmelerinden su, tortu ve gökkuşağı alabalığı örneklerinin bakteriyel faunasına bakmışlar, izole ettikleri bakteriler arasında *Flavobacterium* spp., *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella* spp., *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas* spp. ve *Vibrio* spp.’yi tespit etmişlerdir.

Schmidt ve ark. [84], su örneklerinde ve homojenize edilmiş balık örneklerinde motil *Aeromonas*, *Flavobacterium psychrophilum* ve *Yersinia ruckeri* identifiye etmişlerdir.

Kapetanović ve ark. [51], yavruların mikroflorası, sıcaklık, çözünmüş oksijen ve pH gibi önemli su kalitesi parametrelerini incelemişler, fizikokimyasal ölçütleri optimum değerlerde bulmuşlardır. Yumurtadan çıkışlarının 3.-8. haftalarında yavruların solungaç, kalp ve böbreklerinden yaptıkları bakteriyolojik analizlerle bakteriyel popülasyonların yavruların yaşlarına göre değiştiğini göstermişlerdir. Kuluçka dolabı içindeki yavruların solungaçlarında daha çok Gram pozitif bakteriler

ağırlıktayken, havuzlara alınan yavrularda Gram negatifler baskın olmuş ve bakteri florasının % 95'ten fazlasını kapsamışlardır. Kuluçka dolabındaki Gram negatif bakteriler daha çok *Flavobacterium*, *Acinetobacter* ve *Yersinia* türlerini ihtiva ederken, havuzlarda *Aeromonas* ve *Pseudomonas* en çok rastlanan türler olmuştur.

Neredeyse tamamının fırsatçı patojen özellik taşıdığı bilinen balık patojenlerinin kötü bakım ve çevre koşullarında balıkların hastalanmalarına yol açtığı bilinmektedir. Gökkuşağı alabalıklarında birçok bakterinin, özellikle de Gram negatif bakterilerin hastalık oluşturduğu bilinmektedir [11].

2.1. BALIKLARDA HASTALIK OLUŞTURAN FLAVOBACTERİUM TÜRLERİ

Flavobacterium genusuna ait türler toprak, tatlı su ve deniz ortamlarında bulunabilmektedirler. Balıkların normal mikroflorası içinde yer alan bu etkenler, balıkta ve çevresel koşullardaki olumsuz değişim sonucunda fırsatçı patojen haline dönüşebilmektedirler [8, 11, 28, 47]. Bugüne kadar çeşitli balık türlerinde birçok *Flavobacterium* türü bildirilmiştir (Çizelge 2.2) [21, 47, 95, 103].

Bu türler önceleri *Flexibacter* cinsi [11] içinde bulunurken, sonradan *Cytophaga* [48], günümüzde ise birçok bilimsel yayında *Flavobacterium* cinsi içinde gösterilmektedir [21].

Bu familya içinde balıklarda çok ciddi hastalıklara neden olan türler bulunmaktadır. Bu etkenlerden *Flavobacterium psychrophilum* 'gökkuşağı alabalığı yavru hastalığı', 'bakteriyel soğuk su hastalığı' ya da 'pedünkül hastalığı' olarak bilinen hastalıkları, *Flavobacterium columnare* 'kolumnaris hastalığı' ya da 'eyer hastalığı', *Flavobacterium branchiophilum* 'bakteriyel solungaç hastalığı' ve *Flavobacterium maritimus* 'tuzlusu kolumnarisi hastalığı'na sebep olmaktadır [11, 38, 47, 95, 98].

Çizelge 2.2. Balıklardan izole edilmiş *Flavobacterium* spp.'nin sınıflandırılması
[21, 47, 103, 106]

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Bacteroidetes
Class	: Flavobacteria
Order	: Flavobacteriales
Family	: Flavobacteriaceae
Genus	: <i>Flavobacterium</i>
Species	: <i>Flavobacterium allerginae</i>
Species	: <i>Flavobacterium aquatile</i>
Species	: <i>Flavobacterium branchiophilum</i>
Species	: <i>Flavobacterium columnare</i>
Species	: <i>Flavobacterium flevense</i>
Species	: <i>Flavobacterium heparinum</i>
Species	: <i>Flavobacterium hydatis</i>
Species	: <i>Flavobacterium johnsoniae</i>
Species	: <i>Flavobacterium maritimus</i>
Species	: <i>Flavobacterium psychrophilum</i>
Species	: <i>Flavobacterium saccharophilum</i>
Species	: <i>Flavobacterium succinicans</i>

Balıklarda patojen olarak bildirilmiş olan diğer *Flavobacterium* türleri ise, hasta salmonların solungaçlarından izole edildiği bildirilen *Flavobacterium hydatis* (*Cytophaga aquatilis*) [21] ve *Flavobacterium heparinum* (*Cytophaga heparina*) [27, 60, 71], özellikle hasta balıkların yüzeysel lezyonlarından izole edildiği bildirilen *Flavobacterium johnsoniae* (*Cytophaga johnsonae*) [16, 44] ve hasta tatlı su balıklarının yüzeysel lezyonlarından nadiren izole edilen *Flavobacterium succinicans* (*Cytophaga succinicans*) [21, 38] gösterilmektedir.

2.1.1. *Flavobacterium* Türlerinin Fenotipik Özellikleri

Gram negatif, sporsuz, kapsülsüz, flagellasız, aerobik ve fakültatif anaerobik, ince-uzun çomak biçiminde bakterilerdir. Bu bakteriler, flagellaları olmamasına karşın, nemli katı besi yerleri üzerinde kıvrılarak, bükülerek ve kayarak hareket etmektedirler. Boyutları oldukça değişiktir. Bazı türler küçük (1-2 µm) çomakçıklar halinde iken bir kısmı da 20-50 µm uzunlukta olabilmektedir. Katı besiyerlerinde, yapılarındaki fleksirubin pigmenti nedeniyle, genellikle sarı, turuncu, pembe veya

kırmızı renkte koloniler oluşturmaktadırlar. Fleksirubin maddesi % 20 KOH ile portakal-kahverengi renge dönüşmektedir (Çizelge 2.3) [8, 11, 47].

2.1.2. *Flavobacterium*'ların İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Flavobacterium grubu bakteriler az besin içeren besiyerlerine gereksinim duymaktadırlar. Bu bakterilerin izolasyonunda en çok Cytophaga agar (CA) [% 0,05 tryptone, % 0,05 yeast extract, % 0,02 beef extract, % 0,02 sodyum asetat, % 0,9 agar, pH 7.2] ve Tripton Yeast Extract Salt Agar (TYES-A) [% 0,4 tryptone, % 0,04 yeast extract, % 0,05 MgSO₄.7 H₂O, % 0,05 CaCl₂.2H₂O, % 1,1 agar, pH 7.2] kullanılmaktadır [11, 47, 59]. Ayrıca bu besiyerlerinin modifiye edilmesi ya da bazı antibakteriyel ilaçların ilavesi ile hazırlanan selektif besiyerleri de bu etkenlerin izolasyonunda kullanılmaktadır [20, 33, 35, 38, 47, 70].

İnkübasyon süresi ve sıcaklığı *Flavobacterium* türüne göre değişmekle birlikte, genel olarak 10-25°C'de 3-14 gün olarak bildirilmektedir [11, 47, 59, 95].

Flavobacterium'ların identifikasyonları morfolojik ve biyokimyasal özellikleri göz önünde bulundurularak yapılmaktadır. Klasik identifikasyon yöntemlerinin yeterince duyarlılık göstermemesi, fazla zaman alması ve dolayısıyla doğru sağaltımın gecikmesi gibi nedenlerle, diğer alanlarda olduğu gibi *Flavobacterium*'ların tespitinde de immunofluoresan antikor tekniği (IFAT) [58, 65], enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) [38, 42, 58, 61] ve moleküler yöntemlerden polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi hızlı identifikasyon yöntemleri kullanılmaktadır [67, 68].

Çizelge 2.3. *Flavobacterium* genusuna ait bazı türlerde fenotipik ve biyokimyasal karakterler [11, 21, 48, 95]

Özellikler	<i>Flavobacterium allerginae</i>	<i>Flavobacterium aquatile</i>	<i>Flavobacterium branchiophilum</i>	<i>Flavobacterium columnare</i>	<i>Flavobacterium flevense</i>	<i>Flavobacterium heparinum</i>	<i>Flavobacterium hydatis</i>	<i>Flavobacterium johnsoniae</i>	<i>Flavobacterium psychrophilum</i>	<i>Flavobacterium saccharophilum</i>	<i>Flavobacterium succinicans</i>
Etken boyutları (µm)	3-9x0.3	2-6x0.5-0.7	5.8x0.5	4-8x0.5-0.7	2-5x0.5-0.7	1-9x0.3	8x0.5	2-25x0.4	1.5-7.5x0.75	2.5-6x0.6	4-6x0.5
Koloni rengi	Parlak sarı	Sarı	Sarı	Altın sarısı	Sarı	Sarı-gri	Sarı turuncu	Sarı	Sarı	Sarı	Parlak sarı
Flexirubin reaksiyonu	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-
Jelatin hidrolizi	+	+	+	+	-	-	+	VB/+	+	+	+
Nişasta hidrolizi	+	+	+	-/(+)	-	VB	+	+	-	+	+
İndol üretimi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	VB
H₂S üretimi	-	-	-	+	-	VB	-	-	+	+	VB
Katalaz	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-
Sitokrom oksidaz	+	-	-	+	+	+	+	+	(+)	-	+/-
TSA'da üreme	+	(+)	+	-	+	+	+	+	-	+	+
Eskülin	VB	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
Oksidatif/Fermentatif Metabolizma	VB	F	O	O/-	VB	VB	F	VB	O	VB	VB
Laktöz	VB	+	-	-	VB	VB	+	VB	-	VB	VB
Glikoz	VB	+	-	-	VB	VB	+	VB	-	VB	VB
Sukroz	VB	+	-	-	VB	VB	+	VB	-	VB	VB
Optimum üreme sıcaklığı (°C)	VB	20-25	5-30	25-30	25	20-25	5-30	25-30	20	25-30	25
Maksimum üreme sıcaklığı (°C)	>37	30	>37	<37	<35	30	>42	<37	<25	VB	<37
Maksimum NaCl toleransı (%)	1.5	2	VB	0.5	VB	3	VB	1	0.8	2	VB
Hemoliz karakteri	VB	-	VB	VB	-(k.k.)	+(k.k.)	VB	VB	VB	VB	VB
Bulunduğu ortam	Tatlı su	Tatlı su	Tatlı su	Tatlı su	Tatlı su	Toprak	VB	Toprak, tatlı su	Tatlı su	Tatlı su	Tatlı su

(+), zayıf pozitif, VB: veri bulunamadı k.k.: koyun kanı

2.2. FLAVOBACTERİUM TÜRLERİNİN OLUŞTURDUĞU HASTALIKLAR

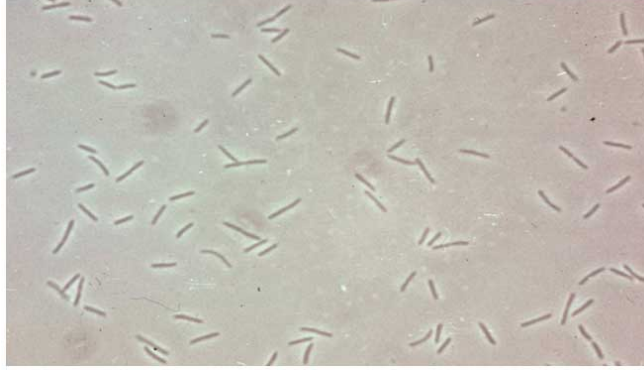
2.2.1. *Flavobacterium psychrophilum*

Bakteriyel soğuk su hastalığı ve gökkuşağı alabalığı yavru hastalığı'nın etkeni *Flavobacterium psychrophilum*, salmonid yetiştiriciliğinde, özellikle de salmonid kuluçkahanelerinde önemli ekonomik kayıplara yol açan hastalık etkenlerinden biridir [26, 45, 69]. Septisemik bir şekilde kendini gösteren bu hastalık yavruları çok ciddi olarak etkilemekte ve yüksek oranda ölümlere neden olmaktadır [11, 59].

2.2.1.1. Etiyolojisi

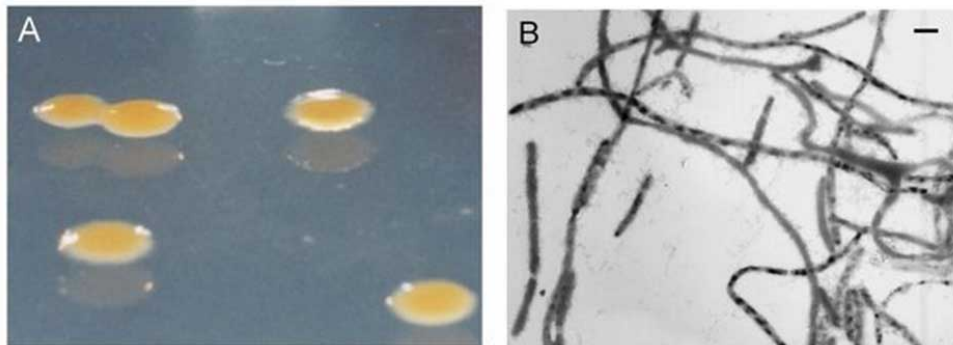
İlk olarak 1941 ve 1945'de Davis tarafından Amerika'da gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) parmak boyu yavrularda iki olguda görülmüştür. Balıklarda özellikle pedünkül ve kuyruk yüzgeci üzerinde patolojik etkiler gösterdiğinden, Davis 1946'da hastalığı "pedünkül hastalığı" olarak adlandırmıştır. Davis etkeni izole edememesine rağmen, balıklarda oluşturdukları lezyonlarla etkenin yığınlar halinde, uzun ince basiller olabileceği görüşünü belirtmiştir [30]. Borg 1948'de hasta Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)'larının böbreğinden ve dış lezyonlarından etkeni izole ederek hastalığı tanımlamıştır. Borg hastalığın özellikle düşük su sıcaklıklarında oluşmasına rağmen, mortalitenin çok yüksek olduğunu belirtmiş, Davis tarafından 1946'da gökkuşağı alabalıklarında belirlenen lezyonlarla Coho salmonlarda görülen lezyonları oluşturan bakterilerin hem patolojik hem de morfolojik özelliklerinin benzerliğini fark etmiştir [17, 22, 30, 47, 59]. Borg 1960 yılında hastalığın etkenini *Cytophaga psychrophila* olarak bildirmiştir. Bernardet ve Grimont 1989'da etkeni *Flexibacter psychrophilus* olarak tanımlamışlardır. Moleküler yöntemlerin gelişmesi ile birlikte, etken günümüzde *Flavobacterium psychrophilum* olarak bilinmektedir [11, 38, 103].

Etken 0,7-1x5-7 µm boyutlarında, esnek, oldukça uzun, uçları yuvarlak basil şeklindedir (Şekil 2.1), ancak 10-40µm uzunluğunda filamentöz, pleomorfik formları da bulunmaktadır (Şekil 2.2 B).

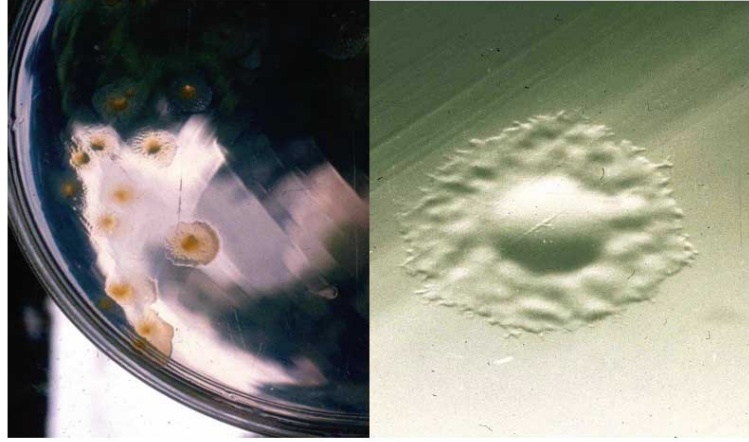


Şekil 2.1. *Flavobacterium psychrophilum* (x1000) [30]

Gram negatif, aerobik, flagellasız, sporsuz, kapsülsüz, oksidaz negatif, katalaz (zayıf) pozitif olan etken, jelatin ve kazeini parçalar, ancak karbonhidratları parçalayamamakta ve asit oluşturamamaktadır [47]. Cytophaga Agar'da parlak, sarı pigmentli (Şekil 2.2. A), kenarları girintili-çıkıntılı, 1-5 mm çapında koloniler oluşturmaktadırlar (Şekil 2.3). Katı besiyerlerinde kayma hareketi vardır. Tryptic Soy Agar (TSA) ve Brain Heart Infusion Agar (BHIA)'da üreme olmamakta ya da çok az üremektedirler. Optimum üreme 15-20°C'de Cytophaga agar (CA)'da 48-96 saattir. Etken 3-23°C aralığında üreyebilirken, 30°C'de üreyememektedir (Çizelge 2.3) [47, 59, 76, 80] .



Şekil 2.2. A) *Flavobacterium psychrophilum* kolonileri B) Elektron mikroskopunda negatif boyama ile görülen *Flavobacterium psychrophilum* hücreleri (Bar=1µm)[101].



Şekil 2.3. Cytophaga Agar üzerinde çevresi gittikçe zayıflayan *Flavobacterium psychrophilum* kolonileri [30]

Flavobacterium psychrophilum identifikasyonunda IFAT [59, 63, 65], ELISA [38, 42, 58, 61], immunohistokimyasal teknikler [40], serolojik metodlar [30, 38] ve PCR gerek izole edilen bakterilerin [14, 25, 49, 64] ve gerekse ovaryum sıvısı, yumurta, sperma ya da balık dokularından [12, 14, 38, 49, 97, 100] ve su örneklerinden [65] etkenlerin direkt olarak identifikasyonunda başarıyla kullanılmıştır.

Flavobacterium psychrophilum ile ilgili virulans denemeleri yapılmıştır [39, 45, 68]. Garcia ve ark. [45], *Flavobacterium psychrophilum*'un gökkuşağı 3-5 g ağırlığındaki alabalıklardaki virulansına intraperitoneal (İP) ve intramuskular (İM) enjeksiyonla 10^3 dozunda ve 6 g'lık balıklarda banyolama ile 10^7 miktarında uygulayarak bakmışlar, İM ve banyolama ile ölüm oranlarını % 35-70 arasında bulmuşlardır.

Madsen ve Dalsgaard [68], 1,5 g ağırlığındaki gökkuşağı alabalığı yavrularına yaptıkları İP enjeksiyonla 10^5 KOB (koloni oluşturan birim) dozunda bakterinin serotip türüne bağlı olarak, % 100'e kadar ölüme neden olabildiğini kanıtlamışlardır.

Ekman ve Norrgen [39], deneysel olarak yaptıkları bir çalışmada etkenin virulansını 0,7-2 g ağırlığındaki 3 balık türünde (gökkuşağı alabalığı, deniz alası, atlantik salmonu) araştırmışlardır. 10^7 KOB miktarında İP olarak enjekte edilen

etkenin balıkların % 55-70 oranında öldürdüğünü saptanmışlardır. 10^6 KOB miktarındaki bakterinin neden olduğu ölüm oranı ise % 0-7,5 olmuştur.

Flavobacterium psychrophilum'un farklı balık türlerinden izole edilmiş 7 serotipi bulunmaktadır (Çizelge 2.4).

Çizelge 2.4. *Flavobacterium psychrophilum*'un serotipleri [30]

İzole edildiği balık türü	Serotipler ve kaynakları		
	Mata et.al. (2002)	Lorenzen and Olesen (1997)	Izumi and Wakabayashi (1999)
Somon	1	Fp	O-1
Gökkuşığı alabalığı	2a	Fd	
Gökkuşığı alabalığı	2b	Th-2	
Gökkuşığı alabalığı	3	Th-1	O-3
Yılan balığı	4		
Sazan	5		
Kadife balığı	6		
Ayu	7		O-2

2.2.1.2. Epizootiyolojisi

Bu hastalığın çıkış ve yayılışında da, diğer birçok bakteriyel hastalıkta olduğu gibi, stres faktörlerinin, çevre koşulları, su sıcaklığı, dengeli besleme ve stok yoğunluğunun rolü oldukça büyüktür [32].

Etkenin horizontal bulaşması yanında vertikal olarak da anaçlardan yumurtalara bulaştığı yapılan araştırmalarla kanıtlanmıştır. Cipriano ve ark. [29], atlantik salmonu yumurtaları örneklerinin % 91'inde *Pseudomonas fluorescens*, % 3,5'inde *Flavobacterium psychrophilum* ve % 3,2'sinde *Flavobacterium* sp. saptadıklarını bildirmişlerdir.

Rangdele ve ark. [77], anaç gökkuşığı alabalıklarından alınan ovaryum sıvısı, sperma ve yumurta yüzeyinde *Flavobacterium psychrophilum* varlığını araştırmışlar, 15 dişiden alınan ovaryum sıvısının 2'sinde ve döllenmiş yumurtada 14. günde etken izole edilmiş, spermada saptanamamıştır. Yumurtalarda baskın türler olarak *Pseudomonas* sp. ve *Flavobacterium* sp. tespit edilmiştir.

Brown ve ark. [23], *Flavobacterium psychrophilum*'un vertikal olarak bulaşıp bulaşmadığını ortaya koymak amacıyla 17 adet gökkuşağı alabalığı anacından yumurta sıvısı, yumurtadan yavru dönemine kadar tüm süreçlerde alınan örnekler araştırmışlardır. Dölllenmiş yumurtaların yüzeyleri 100 ppm povidone/iodine ile 1 saat dezenfekte edilmiştir. *Flavobacterium psychrophilum* tüm yumurta ve yavru örneklerinin % 28'inde saptanmıştır. Bu oran ovaryum sıvısı alınan anaçlarda % 10, yeni döllenmiş yumurtalarda % 13, dezenfekte edilmiş gözlenmiş yumurtalarda % 7 ve kuluçkadan yeni çıkmış keseli yavrularda % 4 olarak bulunmuştur. Çalışmada sonuç olarak etkenin vertikal ve horizontal bulaşmasının mümkün olduğu bulunmuştur.

Ekman ve ark. [37], Baltık somonu anaçlarından alınan böbrek, dalak, beyin, ovaryum sıvısı, döllenmemiş yumurta ve sperma örneklerinde *Flavobacterium psychrophilum* varlığını araştırmışlardır. Etken iç organlardan, ovaryum sıvısı, döllenmemiş yumurta ve spermadan alınan örneklerin % 14'ünde (7/50), sağım anında balıklardan alınan örneklerin % 23'ünde (63/272), dalak ve gonadların % 10,5'inde (2/19) izole edilmiş, ancak beyin, yumurta ve gözlenmiş yumurta örneklerinden izole edilememiştir. Ayrıca dişi ve erkek anaçlar kuluçkahaneye alınmadan önce alınan örneklerin % 33,3'ünden (5/15) etkenin izole edildiği bildirilmiştir. Araştırma sonucunda bu bakterinin anaçlardan yavrulara bulaştığı sonucuna varılmıştır.

Baliarda ve ark. [14], gökkuşağı alabalıklarından alınan ovaryum sıvısı örneklerinin % 39'unda, coho salmonundan alınan ovaryum sıvısı örneklerinin ise % 62,5'inde *Flavobacterium psychrophilum* bulunduğu bildirilmiştir.

Madetoja ve ark. [66], yetiştiriciliği yapılan ve doğadan yakalanan gökkuşağı alabalıklarında, anaçların ovaryum sıvısında *Flavobacterium psychrophilum*'u saptadıklarını bildirmişlerdir. İzolasyon ve identifikasyonda klasik yöntem, IFAT ve PCR metodlarını karşılaştırmışlar, PCR'in hassasiyetini ortaya koymuşlardır.

Etken, özellikle gökkuşaağı alabalığı işletmelerinde gerek sudan ve gerekse de balık örneklerinden izole edilmiştir. Madetoja ve Wiklund [65], salmonid işletmelerinde kullanılan 68 su örneğini *Flavobacterium psychrophilum* varlığı yönünden incelemişler, klasik yöntemle sadece 5 örnekte etkeni saptarken, IFAT ile 40, nested-PCR ile de 47 örnekte etkeni izole etmişlerdir.

Madsen ve ark. [69], bu çalışmayla Danimarka'da 4 farklı gökkuşaağı alabalığı kuluçkahanesinde *F. psychrophilum*'un varlığını araştırılmışlardır. Etken sperma (9/53), ovaryum sıvısı (8/35), yavru (2/50), kuluçka tepsisi (2/17), çıkış suyu (1/50) ve yumurta döllenesi için kullanılan su (1/25) örneklerinde bulunmuştur.

Flavobacterium psychrophilum etkeninin oluşturduğu hastalık 10°C'nin altındaki su sıcaklığında oluştuğundan Borg hastalığı 'Bacterial Cold Water Disease, BCWD' (Bakteriyel soğuk su hastalığı) olarak adlandırmıştır. Hastalık Amerika'da bu isimle bilinmektedir. *Flavobacterium psychrophilum* enfeksiyonu Avrupa'da ilk olarak görülmeye başlandığında etkenin etiyojisi bilinmediğinden hastalık 'fry mortalite sendromu, FMS' (yavru ölümü hastalığı) veya "rainbow trout fry sendrome, RTFS' (gökkuşaağı alabalığı yavru hastalığı) [59] olarak bildirilmiştir.

Aynı etkenin sebep olduğu BCWD ve RTFS arasında bazı farklılıklar vardır. Amerika'da hastalığa en duyarlı balık türünün Coho salmonu, Avrupa'daki ülkelerde ise hastalıktan etkilenen en duyarlı türün gökkuşaağı alabalığı olduğu belirtilmektedir [59]. RTFS, BCWD hastalığına karşın iç organları daha fazla etkilemektedir. Baudin ve Laurencin gökkuşaağı alabalığı yavru hastalığını bakteriyel soğuk su hastalığının iç organlarda görülen formu olarak tanımlamıştır [17].

Her iki hastalıktan etkilenme ve ölüm oranları balıkların büyüklüğüne bağlı olarak değişmektedir. BCWD, balıklar 150-250 g oluncaya kadar görülmektedir. Mortalite larvalarda % 30-50, daha büyük balıklarda % 20'nin altındadır. BCWD'a maruz kalan Coho salmonu keseli larvalarında kese yüzeyindeki örtüde aşınmaların oluşabileceği ve mortalitenin % 50'nin üstüne çıktığı, yeni yem almaya başlayan larvalarda BCWD nedeniyle mortalite % 20 civarında olduğu bildirilmiştir.

BCWD'de larva ve parmakboyu balıklarda pedünkül üzerinde, dorsal yüzgecin arkasında, anüste ve çene altındaki deride lezyonlar oluşabilmektedir. Bir yılını tamamlamamış ve BCWD salgınından sağ kurtulmuş balıklarda yüzme bozuklukları ve omurga bozukluklarının görüldüğü, mortalite oranının % 0,1-0,2 civarında olduğu bildirilmiştir [30, 38, 46, 59].

RTFS, genellikle su sıcaklığının 12°C'nin altında, özellikle de 4-10°C'ler arasında olduğu ilkbaharın ilk aylarında, salmon kuluçkahanelerinde görülmektedir. Deneysel çalışmalar, ölümlerin su sıcaklığının 3-15°C olduğu zaman gerçekleştiğini göstermektedir. Etken en çok yem almaya yeni başlamış ilk 2 ay içindeki 0,2-2g'lık gökkuşağı alabalığı yavrularını etkilemektedir [17, 22, 57]. RTFS'un 0,2-2g'lık yavrularda % 30-90 arasında çok ciddi kayıplara sebep olduğu, büyüdükçe oranın düştüğü ve parmakboyu balıklarda oranın % 10-15'olduğu bildirilmektedir [59].

Flavobacterium psychrophilum muhtemelen salmonid türlerinin hepsini etkilemektedir. Coho salmonu, gökkuşağı alabalığı ve ayu balığının (*Plecoglossus altivelis*) bu etkene karşı hassas olduğu görülmüştür [30, 47, 55, 57].

Etken tüm salmon türlerini etkilediği gibi, yılan balığı (*Anguilla anguilla*) [5, 56], sazan (*Cyprinus carpio*), havuz balığı (*Carassius carassius*) [56], kadife balığı (*Tinca tinca*), ayu balığı (*Plecoglossus altivelis*) [37] ve süs balıklarından lepistes'te (*Poecilia reticulata*) [1] saptandığı bildirilmiştir.

Hastalık ilk kez 1946'da Amerika'da tanımlandığından beri günümüze kadar tüm dünyada bildirilmiştir. Etken Avrupa'da 1980 ortalarına doğru Almanya ve Fransa'da gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yetiştiriciliğinde ortaya çıkan salgınlarda izole edilmiştir. Sonrasında Avrupa'nın birçok ülkesinde, İspanya [94], İngiltere [10, 24, 83], Fransa [18, 19, 20], Danimarka [25, 32, 57, 59, 64] ve Finlandiya'da [99] saptanmıştır. Hastalığın aynı zamanda Şili [26], Kanada, Japonya, Kore ve Avustralya'da [30, 38] da varlığı bildirilmiştir (Çizelge 2.5).

Bernardet ve Kerouault [20], Fransa'daki bazı gökkuşuğu alabalığı işletmelerinde, yavrularda su sıcaklığı 10°C altına düştüğü dönemde günlük ortalama % 5 oranında ölümler görülmesi üzerine yaptıkları araştırmada *Flavobacterium psychrophilum* izole etmişlerdir. 0,2-1g balıkların salgından çok daha fazla etkilendiği belirtilmiştir. Hasta balıklarda zayıflık, iştah kaybı, renkte değişme, assites ve eksoftalmus, iç organlarda dalakta hipertrofi ve karaciğerin renginde solgunluk görülmüştür. Hastalığın kontrolünde kloramfenikol ve oksitetrasiklinin oral yolla kullanımının etkili olduğu görülmüştür.

Lorenzen ve ark. [57], da Danimarka'da gökkuşuğu alabalığı yavrularında *Flavobacterium psychrophilum* bildirmişlerdir. Salgının görüldüğü zaman su sıcaklığı 14-16°C olarak saptanmıştır. Yavrularda hastalık belirtisi olarak uyumsuzluk, su yüzeyine yakın yüzme, suyun çıkışına doğru yönelme, eksoftalmus, deri renginde kararma, solungaç solgunluk, böbrekte atrofi ve grimsi renk, karaciğerde büyüme, anemi, grimsi renk ve yumuşama, karında şişkinlik, boş, kırılğan ve beyaz bağırsaklar ve prolapsus saptamışlardır.

Austin [10], 1992 yazında İngiltere'de 2 işletmedeki 4-6 g'lık gökkuşuğu alabalıklarında renkte kararma, solungaçlarda solgunluk, böbreklerde şişkinlik ve grimsi renk, karaciğerde solgunluk ve dalakta şişkinlikle seyreden salgınların sebebi olarak *Flavobacterium psychrophilum* izole etmiştir.

Bruno [24], İngiltere'nin kuzeyinde ve İskoçya'daki 6 gökkuşuğu alabalığı işletmesinde nisan–temmuz ayları arasında % 70'den fazla ölümlerin görüldüğü, 1-20g ağırlığındaki balıklarda pigmentasyonda artış, eksoftalmus, karında şişkinlik ve solungaçlarda solgunluk olduğunu bildirmiştir. 60g'dan büyük balıkların lateralinde dışa açılan lezyonlar, assites, dalakta büyüme, böbreklerde şişkinlik ve solgunluk ve karaciğerde solgunluk olduğu belirlenmiştir.

Toranzo ve Barja [94], 1992 yılı Kasım ayında bir gökkuşuğu alabalığı işletmesinde görülen salgında, 0,2-1 g ağırlığındaki balıklarda karında şişkinlik, deri renginde kararma ve gözlerde tek taraflı eksoftalmus, göz çevresinde hemorajiler

görüldüğü bildirmişlerdir. Hastalanan yavruların uyuşuk ve iştahsız oldukları görülmüştür. Hastalığın su sıcaklığının 12°C olduğu dönemde başladığı ve su sıcaklığının 8°C olduğu dönemde daha da arttığı, günlük balık ölümünün toplam balık miktarının % 25'i olduğunu belirtmişlerdir. Salgının etkeni olarak *Flavobacterium psychrophilum* izole etmişlerdir. Kloramfenikol ile sağaltımın balık ölümlerinin kontrolünde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Wiklund ve ark. [99], Finlandiya'da *Flavobacterium psychrophilum*'u yetiştiriciliği yapılan ve doğadaki gökkuşağı alabalıklarında bildirmişlerdir. Yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalıklarında (10g) kaslara kadar inen dış ülserler, dalakta şişme ve böbreklerde solgunluk ve %1'den az ölüm görülmüştür. Nehirden yakalanan alabalığın (325g) başının yanlarında büyük ülserlerin olduğu, dalak ve böbreğin şişmiş ve karaciğerin hemorajik olduğu belirtilmiştir.

Bustos ve ark.[26], 1993 yılı Eylül'lünde Şili'de 10-18g ağırlığındaki gökkuşağı alabalıklarında görülen salgın hastalık ve ölümler (bir haftada balıkların % 26'sından fazlası ölmüştür) üzerine, hasta balıkların klinik belirtileri ve histolojik bulguları değerlendirilmiştir. Balıklarda zayıflama, yüzeye yakın yüzme, anoreksia, renkte kararma, ventral ülserasyonlar, solgun ve hemorajik solungaçlar, kuyruk yüzgecinde hemorajiler ve karında şişkinlik görüldüğü bildirilmiştir. Bakteri kültürleri farklı organ ve dokulardaki lezyonlardan alınan örneklerden çalışılmıştır. Sağaltımda oksitetrasiklinin başarı sağlandığı belirtilmiştir.

Çizelge 2.5. *Flavobacterium psychrophilum* coğrafi dağılımı ve konak yayılımı [30]

Salmonid türleri	Bulunduğu ülke-bulan kişi	Alıntı yapılan kaynak
Coho salmon, <i>Oncorhynchus kisutch</i>	Amerika - Borg 1960	Japonya – Wakabayashi et al. 1991
Chinook salmon, <i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	Amerika - Rucker et. al. 1953	Kanada – Ostland et.al. 1999
Sockeye salmon, <i>Oncorhynchus nerka</i>	Amerika - Rucker et al. 1953	
Chum salmon, <i>Oncorhynchus keta</i>	Amerika – Holt 1987	
Amago, <i>Oncorhynchus rhodurus</i>	Almanya - Furutsuka-Uzumi et al. 1996	
Masou salmon, <i>Oncorhynchus masou</i>	Japonya –Iida and Mizokami 1996	
Atlantic salmon, <i>Salmo salar</i>	Amerika – Schneider ve Nicholson 1980	Avusturya - Schmidtke and Carson 1995; İsviçre - Ekman et al. 1999; Kanada – Ostland et al. 1999
Dere alabalığı, <i>Salmo trutta</i>	Japonya - Wakabayashi et al. 1991	Finlandiya - Madetoja et al. 2001; Norveç- Lorenzen and Olesen 1997
Deniz alası, <i>Salmo trutta</i>	Finlandiya ve İsviçre - Madetoja et al. 2001	
Gökkuşuğu alabalığı <i>Oncorhynchus mykiss</i>	Amerika - Davis 1946	Fransa - Bernardet et al. 1988; Bernardet and Kerouault 1989; Almanya - Weis 1987; İtalya–Sarti et al. 1992; Kanada–Ostland et al. 1999; Finlandiya – Madetoja et al. 2001; İngiltere - Santos et al. 1992, Bruno 1992, Austin 1992; İspanya–Toranzo and Barja 1993; Finlandiya - Wiklund et al. 1994; Şili - Bustos et al. 1995; Danimarka–Lorenzen et al. 1991; İsveç ve Kuzey İrlanda-Lorenzen and Olesen 1997
Gökkuşuğu alabalığı	Amerika - Brown et al. 1997	Kanada – Ostland et al. 1999
Cutthroat trout, <i>Oncorhynchus clarki</i>	Amerika – Holt 1987	Finlandiya - Crump et al. 2001
Brook trout, <i>Salvelinus fontinalis</i>	Amerika - Bullock 1972	Finlandiya - Madetoja et al. 2001
Göl alası, <i>Salvelinus namaycush</i>	Amerika - Schachte 1983	
Arctic char, <i>Salvelinus alpinus</i>	Finlandiya – Madetoja et al. 2001	
Grayling, <i>Thymallus thymallus</i>	Estonya - Madetoja et al. 2001	
Salmonid olmayan türler		
Ayu, <i>Plecoglossus altivelis</i>	Kore – Lee and Heo 1998; Japonya Wakabayashi et. al. 1994	
Sazan, <i>Cyprinus carpio</i>	Almanya - Lehmann et al. 1991	
Havuz balığı, <i>Carassius carassius</i>	Almanya -Lehmann et al. 1991	
Yılan balığı, <i>Anguilla anguilla</i>	Almanya - Lehmann et al. 1991	
Forktongue goby, <i>Chaenogobius urotaenia</i>	Japonya - Amita et al. 2000	
Japanese dace, <i>Trybolodon hakonensis</i>	Japonya - Amita et al. 2000	
Lake goby, <i>Rhinogobius brunneus</i>	Japonya - Amita et al. 2000	
Pale chub, <i>Zacco platypus</i>	Japonya – Iida ve Mizokami 1996	
Tatlısu levreği, <i>Perca fluviatilis</i>	Finlandiya – Madetoja et al. 2002	
Kızıl göz , <i>Rutilus rutilus</i>	Finlandiya – Madetoja et al. 2002	
Kadife balığı, <i>Tinca tinca</i>	Almanya- Lehmann et al. 1991	

Hastalık ülkemizin değişik bölgelerinde yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalıklarında da saptanmıştır [8, 15, 36, 50, 53, 54, 93].

Balta, 1990-1997 yılları arasında Türkiye'deki 12 alabalık çiftliğinde 0,5-1g ağırlığındaki gökkuşağı alabalığı yavrularında görülen ölüm nedenlerini araştırmıştır. Bu çalışma çerçevesinde bazı işletmelerde yığınlar halindeki ölümlerin % 75'e ulaştığını, bu dönemde su sıcaklığının 10-16°C olduğunu, hasta balıklarda eksoftalmus, deride kararma, bazı balıklarda karında şişkinlik, sindirim sistemlerinde akışkan sarımtırak bir sıvı ve bağırsakların hemorajik olduğunu belirlemiştir. Yapmış olduğu laboratuvar analizleriyle hastalık etkenlerinden 2'sini *Flexibacter psychrophila* olarak izole etmiştir [15].

Korun ve Timur [54], Marmara bölgesinde iki işletmeden temin edilen 0,17-1,6g ağırlığındaki 90 adet hasta gökkuşağı alabalığı yavru örneklerine bakteriyolojik ve histopatolojik muayene uygulamışlardır. *Flavobacterium psychrophilum*'un izole edildiği yavru örneklerinin dorsal yüzgeç bölgesinde ülseratif nekroz ve nekrotik kas hücreleri arasında selüler infiltrasyon, böbreğin hemopoietik dokusunda boşalma görüldüğü, mide ve bağırsak mukozasında patolojik bir bozukluğun olmadığı bildirilmiştir.

Diler ve Altun [36], Isparta bölgesindeki gökkuşağı alabalığı işletmelerinde öldürücü bir hastalık tespit etmişler, hasta balıkların klinik bulgularında zayıflık, eksoftalmus, deride koyulaşma, otopsi bulgularında karaciğerde solgunluk, dalak ve karaciğerde büyüme görüldüğünü bildirmişlerdir. Gökkuşağı alabalığı yavrularından izole edilen etkenleri *Flavobacterium psychrophilum* olarak tanımlamışlardır.

İspir ve ark. [50], yapmış oldukları çalışmada Doğu Anadolu Bölgesinde, Keban (Elazığ), Sürgü (Malatya) ve Kemaliye (Erzincan) yöresinde bulunan bazı gökkuşağı alabalığı işletmelerinde Nisan - Mayıs aylarında, ortalama ağırlığı 0,65 ± 0,11g olan yavrularda % 50-70 oranında ölümlerin görüldüğünü, balıkların durgun, iştahsız veya yem almadığı belirlemiştir. Yavru balıkların dış bakışında, renklerde kararma ile birlikte kısmen eksoftalmus gözlemlendiği, otopside sindirim sisteminin boş,

bağırsakların sarımtırak bir sıvı ile dolu ve yer yer hemorajilerin olduğu, solungaç ve karaciğerde solgunluk belirlendiği bildirilmiştir. Laboratuara canlı olarak getirilen 0,2–0,8g ağırlığındaki yavruların iç organlarından ve derilerinden alınan örneklerden izole edilen 5 suşun *Flavobacterium psychrophilum* olduğu belirlenmiştir.

Timur ve ark. [93], bir alabalık işletmesinin kuluçkahanesindeki 2-5g'lık yavruarda akut ve yüksek mortaliteyle seyreden hastalıkta *Flavobacterium psychrophilum* izole etmişlerdir. Bu bakteriyel enfeksiyon esnasında su sıcaklığının 10-12°C olduğunu, hasta balıkların hareketlerinde yavaşlama, deri renginde koyulaşma, assites ve solungaçlarında solgunluk görüldüğünü, bazı hasta balıkların dorsal ve kuyruk yüzgecini kaybettiklerini, fakat dorsal yüzgeç tabanında kaslara kadar inen derin ülserlerin görülmediğini saptamışlardır. İnternal bulgularda ise dalağın şişkin ve kiraz kırmızısı renkte, böbrek ve karaciğerin solgun olduğunu bildirmişlerdir.

Kılıç ve ark. [53], Elazığ'da 6 adet gökkuşağı alabalığı işletmesinde bakteriyel floranın tespiti amacıyla 10–250 g ağırlığında 197 adet gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) üzerinde bir araştırma yapmışlardır. İzole ettikleri 278 suşun biyokimyasal testleri neticesinde *Yersinia ruckeri* (142 suş, % 51,07), *Pseudomonas sp.* (104 suş, % 37,41) ve *Flavobacterium sp.* (32 suş, % 11,51) olarak saptamışlardır.

Akaylı ve Korun [1], bir lepistes üretim ünitesinde yüksek mortaliteye neden olan enfeksiyöz hastalığın etkenini saptamak amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Hasta lepisteslerde (2-4g ağırlığında) dış bakıda anormal yüzme davranışları, denge kaybı, çırpınma, durgunluk, renkte koyulaşma, yüzgeçlerde erime, solungaçlarda solgunluk ve ölüm gözlemlenmiş, iç bakıda karaciğer ve böbreklerde solgunlaşma, dalak renginde koyulaşma ve safra kesesinde şişkinlik olduğuna dikkat çekilmiştir. Araştırma neticesinde elde edilen dört izolat *Flavobacterium spp.*, iki izolat ise *Pseudomonas fluorescens* olarak tanımlanmıştır. Oxytetracycline her iki

bakteri türüne de duyarlı bulunduğu için hasta balıklara yem içinde verilerek ölümler durdurulmuştur.

2.2.1.3. Semptomlar

Bakteriyel soğuk su hastalığının akut formunda deride pürüzlü bir görünüm ve yüzgeç ışınlarında aşınma görülmektedir. Yüzgeçlerin kenarlarında beyaz-gri-kahverengimsi nekrotik bir hat belirlemekte, yüzgeç ışınları ortaya çıkabilmektedir. Deformasyonlar tüm yüzgeçlerde yüzgeç diplerine kadar ilerlemektedir. Etkenler bağ doku ve kas tabakasına kadar inmekte, kas dokuya kadar ilerlemiş geniş çaplı lezyonlar oluşturmaktadır. Etkenler kuyruk sapından devam ederek kaudal yüzgece geçmekte ve kuyruk yüzgeci yok olabilmektedir [30, 47, 55, 59]. Akut BCWD belirtilerinde ayrıca çene altındaki deride ülserler vardır, ülserler ağız içinde de oluşabilmektedir [38].

RTFS balıkların deri renginde kararma, anoksiya, assites, eksoftalmus, su yüzeyinde hareketsiz durma, yem almama, uyuşukluk, yüzgeç tabanlarında erozyonlarla kendini göstermektedir. Bazı durumlarda dorsal yüzgecin distal uçtan itibaren tamamen eridiği, dermis ve kaslara kadar ilerleyen açık lezyonların olduğu, kronik vakalarda karında şişkinlik olduğu gözlenmektedir. Hastalık parmakboylarda ve daha büyük balıklarda genelde deri ülserleri ve yüzgeç lezyonları şeklinde kendini göstermektedir. [17, 24, 38, 57, 59].

İç organlarda ise, büyümüş bir dalak, solgun solungaçlar, karaciğer ve böbrek, hemorajik prolabe olmuş bir anüs tipik bulgulardır [11, 24, 30, 57]. *Flavobacterium psychrophilum* enfeksiyonlarının kronik formunda omurgada deformasyonlar, iskeletin baş bölümlerinde periostitis, osteitis ve osteochondritis olduğu [5, 22, 52, 67], ayrıca nekrotik skleritis ve körlük ile gözlerde bozulmalar olduğu bildirilmiştir [59].

2.2.1.4. Sağaltım

Baur ve Rapp [17], yavru yemlerine %1 karides kabuğu unu ilave edilmesiyle hastalığı engelleyebildiklerini bildirmişlerdir. Özellikle döllenen yumurtaların suda sertleştikten sonra veya kuluçkaya alınmadan hemen önce iodofor ile dezenfekte edilmesi yumurtadan taşınma riskini en aza indirmek için yapılan bir önlemdir. Yumurtaların 100 ppm povidine/iodine ile 10 ile 30 dakikalık dezenfeksiyonundan sonra *Flavobacterium psychrophilum* hücrelerinin %2'sinin yaşamaya devam ettiği görülmüştür [23, 80, 82]. Dezenfeksiyon amacıyla kloramin-T ve hidrojen peroksit 100mg L⁻¹ 10 dakika veya glutaraldehit 200mg L⁻¹ 20 dakika banyolar patojenlere karşı etkili olabilmektedir [22, 29, 38].

Bazı araştırmacılar hastalık etkeninin sülfadiazin/trimetoprim [26], fosfomisin, penisilin [26, 59], gentamisin, neomisin, polimiksin-B [78], amoksisilin, tetrasiklin, floksasin, oksolinik asit [25] ve flamekuin [94]'e karşı direnç oluşturduğunu ortaya çıkarmışlardır. *Flavobacterium psychrophilum* kloramfenikol, doksisisiklin, sarafloksasin, enrofloksasin ve florfenikol'e duyarlı bulunmuştur [25, 78, 94].

İspir ve ark. [50], *Flavobacterium psychrophilum* izolatlarını oksitetrasiklin, nitrofuran, amoksilin&klavunolik asit ve eritromisine karşı duyarlı, kloramfenikol ve penisiline dirençli olduklarını bildirmişlerdir.

2.2.2. *Flavobacterium columnare*

Etken tatlı su balıklarında 'kolumnaris', 'eyer hastalığı', 'yüzgeç çürümesi' ya da 'pamukçuk hastalığı' isimleriyle bilinen hastalıklara neden olmaktadır. Hem sıcak ve hem de soğuk su balıkları etkene duyarlıdır. Olumsuz çevre koşullarında balıkları hastalandıran etken genellikle deri, solungaç ve yüzgeçlerdeki eksternal bulgularla kendini göstermektedir. Hastalık baş, solungaç, yüzgeçler, dorsal ve lateral bölgede ülserlerin ve lezyonların oluşması ile karakterize, bulaşıcı ve öldürücüdür [8, 19, 22, 41, 93, 98].

2.2.2.1. Etiyolojisi

Hastalık ilk kez 1922 yılında Davis tarafından Amerika'da Mississippi nehri üzerinde bulunan bir biyoloji araştırma istasyonundaki tatlı su levreklerinde bildirilmiştir. 1944'de Ordal ve Rucker bakteriyi izole etmişler ve etkenin adını *Chondrococcus columnaris* olarak bildirmişlerdir [98]. Sonraki yıllarda yapılan morfolojik ve biyokimyasal çalışmalar sonucunda etken *Cytophaga columnaris* ve *Flexibacter columnaris* [5, 19], günümüzde ise *Flavobacterium columnare* olarak bilinmektedir [21].

Etkenin fenotopik ve biyokimyasal birçok özelliği *Flavobacterium* cinsi bakterilere paralellik göstermektedir. 0,5-0,7x4-10 µm boyutlarında, esnek, flagellasız, ince uzun basil şeklindeki etken 4-35°C sıcaklık aralıklarında üreyebilmektedir ve optimum üreme sıcaklığı 22°C'dir. *Flavobacterium psychrophilum*'dan farkı eskülünü hidrolize etmesi ve 30°C'de üreyebiliyor olmasıdır (Çizelge 2.3). Bu nedenlerle, bu etkenin izolasyon ve identifikasyonunda da aynı metotlar kullanılmaktadır [11, 98].

Flavobacterium columnare cinsi bakterin identifikasyonunda da klasik yöntemler dışında ELISA [86] ve PCR gibi moleküler metotlar da kullanılmıştır [12, 41, 72, 85, 91]. Hastalık etkenlerinin 16S-restriction fragment length polymorphism (RFLP), multilocus sequence analysis (MLSA), internal spacer region-single strand conformation polymorphism analysis (ISR-SSCP), amplified fragment length polymorphism (AFLP) [9, 72] ve random amplified polymorphic DNA(RAPD) [89] yöntemleri kullanılarak identifikasyonları yapılmıştır.

Flavobacterium columnare'nin bazı suşları kolisin (bakteritosin) benzeri bir madde sentezlemektedir. Bu esasa göre bakteriler 9 bakteriosit tipine ve ayrıca genç alabalıklarda yapılan deneysel çalışmalara göre etken 4 virulans kategorisine ayrılmaktadır. Yüksek virulanslı suşlar 24 saatte, orta virulanslı suşlar 24-48 saatte, intermediyer virulanslı suşlar 48-96 saatte ve zayıf virulanslı suşlar 96 saatten sonra % 100 öldürücü olmaktadır [8, 98].

2.2.2.2. Epizootiyolojisi

Kolumnaris hastalığının tüm dünyada 40 kadar balık türünde varlığı kanıtlanmıştır. Etken kültür balıklarında, süs balıklarında ve yabani balık populasyonlarında hastalık oluşturmaktadır [41]. Bu hastalığa duyarlı türler arasında kanal yayın balığı (*Ictalurus punctatus*) [4, 9, 12, 13, 41, 86, 90, 98], sazan balığı (*Cyprinus carpio*) [9], koi (*Cyprinus carpio carpio*) [41], kırmızı havuz balığı (*Carassius auratus*) [3, 4], yılan balıkları (*Anguilla rostrata*, *A. japonica*, *A. anguilla*), tilapia (*Oreochromis spp.*) [9, 43], ayu (*Plecoglossus altivelis*), turna balığı (*Esox lucius*), kadife balığı (*Tinca tinca*), avrupa yayın balığı (*Siluris glanis*), bodur yayın balığı (*Ictalurus melas*), kocakafalı golyan balığı (*Pimephales promelas*), golyan balığı (*Notemigonus crysoleucas*) [41], gökkuşacağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) [9, 19, 41, 87, 98], dere alası (*Salmo trutta*) [9, 41, 98], kaynak alabalığı (*Salvelinus fontinalis*) [41, 79, 98] ve chinook salmon [9] bildirilmiştir. Genetik çalışmalarla oluşturulan geniş ağızlı levrek (*Micropterus salmoides*), hibrit çizgili levrek (*Morone saxatilis* X *M. chrysops*), hibrit yayımbalığı (*Ictalurus punctatus* X *I. furcatus*), güneş balığı (*Lepomis macrochirus*) ve hibrit crappie (*Pomoxis nigromaculatus* X *P. annularis*) [41, 98] gibi balık türleri ve siyah moli (*Poecilia sphenops*) ve plati (*Xiphophorus maculatus*) gibi akvaryum balıkları için de önemli bir hastalıktır [34, 41, 98].

Flavobacterium columnare hastalığının çıkışında diğer hastalıklarda olduğu gibi çevre koşullarının uygun olmaması önemli rol oynamaktadır. Hastalığın seyri ve şiddeti üzerinde su sıcaklığının etkisi oldukça fazladır. 13°C'nin altında hastalığın ortaya çıkması seyrekleşirken, su sıcaklığı arttıkça hastalığın seyri ve şiddeti artmakta, 18-22°C'de salgınlara neden olmaktadır [11, 17, 98]. Hastalık akvaryum balıklarında da 28-35°C'de görülmektedir. Yavru balıklar daha duyarlı olup, en çok 2-3 cm boyundaki balıklar etkilenmektedir. Baur ve Rapp [17]'in gözlemlmelerine göre, hastalık kuluçkahaneden havuzlara ya da göllere alınan yavru balıklarda ortaya çıkmaktadır. Bunun nedeni olarak da güçlü güneş ışınları nedeniyle balıkların gölge bulmaya çalışmalarının yarattığı stres gösterilmektedir [17]. RTFS ile aynı sularda hastalık oluşturmalarına rağmen hastalıkların görüldüğü

sıcaklıkların farklı olması iki hastalığın ayırt edilmesinde en önemli faktördür [11, 17, 98]. Etken geniş pH ve sertlik aralıklarında yaşayabilmektedir [98].

Etkenler su aracılığıyla, bulaşık malzemelerle ya da direkt temasla balıktan balığa bulaşmaktadır [98].

Akut seyreden kolumnaris hastalığının inkubasyon süresi 24 saatten azdır ve etkenle ilk maruz kalıktan sonra 2-3 gün içinde ölümler görülmektedir. Su sıcaklığına, olumsuz çevre koşulları, patojenin virulansına ve balık türüne bağlı olarak ölüm oranı % 10-100 arasında değişmektedir. Ölüm oranı havuz ve tanklarda yetiştirilen yayın balıklarında % 50, salmonidlerde ise % 34'ün üstünde olabilmektedir [41, 98]. Baur ve Rapp [17], kendi gözlemlerine göre ölüm oranının % 5'i geçmediğini bildirmişlerdir.

Etkenin değişik balık türleri üzerine virulans denemeleri yapılmış, etkenin virulans gücüne, uygulanma dozuna ve süresine, balık türüne göre % 100'lere varan ölüm oranları saptanmıştır [13, 89]. Thomas-Jinu ve Goodwin [89], 17 izolattan 13'ünün 48 saatte kanal yayın balıklarının tamamını öldürdüğünü bildirmişlerdir.

Altınok ve Grizzle [4], kanal yayın balığı, kırmızı havuz balığı, çizgili levrek ve körfez mersin balıklarında *Flavobacterium columnare*'nin tuzlu ortamdaki virulansına bakmışlar ve % 0,3-0,9 arası tuzlu ortamda balıkların hiçbiri ölmezken, ölümlerin tuzluluğun daha düşük olduğu su ortamında gerçekleştiğini belirlemiştir.

Hastalık 1922 yılında ilk defa Amerika'da bildirildiğinden beri dünyanın birçok ülkesinde değişik balık türlerinde bildirilmiştir (Çizelge 2.6). Amerika'da ticari olarak yetiştirilen kanal yayın balıkları (*Ictalurus punctatus*)'nda görülen en önemli hastalıklardan biridir. Kanal yayın balıkları her yaşta, her türlü su ortamında ve yılın her mevsiminde *Flavobacterium columnare* ile enfekte olabilmektedirler [12, 13, 41].

Alvarado ve ark. [5] kolumnaris hastalığını Almanya’da ilk kez yılan balıklarının solungaç lezyonlarında tanımlamışlardır.

Bernardet [19], Fransa’da yetişkin bodur yayın balıklarında (*Ictalurus melas*), kaynak alabalığı (*Salmo trutta*) yavrularında ve Avrupa yayın balığı (*Siluriz glanis*) türlerinde saptadıkları izolatlar üzerine çalışmalar yapmışlardır. Balıklarda deri lezyonları ve atbalığında böbrekte lezyonlar görülmüştür.

Çizelge 2.6. *Flavobacterium columnare*’nin coğrafi dağılımı [98]

Ülke	Kaynakça
Kuzey Amerika	Davis, 1922; Ordal&Rucker, 1944
Japonya	Wakabayashi &Egusa, 1966; Wakabayashi et al., 1970; Hatai&Hoshina, 1971a,b
Kore	Chun, 1975; Chun et.al.,1985
Çin	Hidrobiyoloji Enstitüsü, 1976
Tayvan	Kuo et.al., 1981; Chen et.al.,1982
Hollanda	Bootsma&Clerx , 1976
Kuzey İrlanda	Ferguson, 1977
Macaristan	Farkas&Olah, 1986
Fransa	Bernardet, 1989; Bernardet&Girmont,1989
Almanya	Alvarado et.al., 1989; Bernoth&Korting, 1989
Brezilya	Figueiredo et.al., 2005

Hastalık ülkemizde kültürü yapılan alabalık larvalarında bildirilmiştir [3].

Etken sucul ortamda yaygın olarak bulunmaktadır ve balığın derisini kaplayan mukus tabakasının mikroflorası içinde yer almaktadır [98].

Etken derideki portantrelerden girerek epidermisten geçmekte ve dermise kadar ulaşmaktadır. Bakteriler çoğaldıkça dermis ve bağ dokuda bozukluklar, dejenerasyonlar meydana gelmektedir. Bunlar daha da genişleyip derinleşerek kas tabakasına kadar inmektedir. Kan damarlarının çeperlerini zedeleyerek hemorajileri meydana getirmektedirler. Böylece vücut üzerinde büyük, yuvarlağımsı, gri-beyaz lekeler oluşmaktadır. Solungaçlarda enfeksiyon uçtan başlamakta, tabana doğru yayılmaktadır. Solungaç filamentleri şişmekte ve lameller tahrip olmaktadır. İlerlemiş lezyonlar solungaç kıkırdağını tamamen çıplak hale getirmektedir. Yüzgeçlerde de benzer bozukluklara rastlanmaktadır. Yumuşak doku tamamen erimekte ve radiuslar ortaya çıkmaktadır [8, 41, 98].

2.2.2.3. Semptomlar

Perakut vakalarda lezyonlar gelişmeden ölümler meydana gelmektedir. Enfeksiyon ilk olarak dorsal yüzgeçteki lezyonlarla kendini göstermektedir. Balıklarda vücudun çeşitli yerlerinde, özellikle baş, solungaç, yüzgeçler ve deri üzerinde etrafları kırmızı hiperemik zon ile çevrili yuvarlak gri beyaz veya sarı lezyonlar görülmektedir. Önce mukus artışı olmaktadır. Yüzgeçlerde lezyonlar dıştan içe doğru gelişmektedir. Dorsal yüzgeç düşebilmektedir. Bu lezyonlar genişleyerek yaygın nekrotik bölgelere dönüşmektedir. Hastalık kaslara kadar inmektedir. Sırt kısmında içeriye doğru bir oyuk oluşturduğundan enfeksiyona “Eyer hastalığı” da denilmektedir. Lezyonların kenarlarında sarı-parlak yapışkan bir madde vardır. Yüzgeçlerde dejenerasyonlar, solungaçlarda nekrozlar gelişerek filamentlerde diskolerasyon (açık-koyu kahverengi) ve ağız boşluğunda lezyonlar gelişebilmektedir [8, 11, 22, 41, 92, 98].

Kolumnaris hastalığında lezyonlar genellikle yüzeyde meydana geldiğinden otopside iç organlarda bozukluklara nadiren rastlanmaktadır. Hastalık septisemik karakterde olduğundan etken iç organlardan da izole edilebilmektedir [8, 41, 98].

2.2.2.4. Sağaltım

Kolumnaris hastalığı daha çok eksternal bulgularla seyrettiğinden, antibakteriyel ilaç uygulamaları yanında dezenfektanlar da sağaltımda önemli bir yer tutmaktadır. Değişik balık türlerinde kloramin-T [3, 90], hidrojen peroksit ve bakır sülfat gibi dezenfektanların bu hastalığı tedavi etme yeteneği araştırılmıştır [90]. Altınok [3], havuz balığı (*Carassius auratus*) parmakboylarında kolumnaris sağaltımı için kloramin-T'nin 15 mg L⁻¹ dozunda banyo şeklinde uygulamasının etkili olduğunu vurgulamıştır. Buna karşın Thomas-Jinu ve Goodwin [90], yaptıkları deneysel araştırmada, kanal yayın balıklarında oluşturdukları kolumnaris hastalığının sağaltımında oral antibakteriyel ilaç uygulamasının mutlaka gerekli olduğunu, dezenfektanlarla yapılan banyolara yeterince etkili olmadığını vurgulamışlardır.

Bernardet [19], izolatların ampisilin, sefalotin, streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin ve novobiosine duyarlı, gentamisin, neomisin, kanamisin, trimetoprima dirençli oldukları bildirilmiştir.

Decoster ve ark. [34], sırtlarında siyah noktalar ve baş ve derilerinde ülserler görülen siyah moli ve platilerde saptadıkları *Flavobacterium columnare* izolatlarının kloramfenikol, eritromisin, furazolidon, kanamsisin, linkomisin, nalidiksik asit, oksitetrasiklin ve streptomisine duyarlı, kolistin, sulfametoksazol ve neomisine dirençli olduklarını belirtmişlerdir.

2.2.3. *Flavobacterium branchiophilum*

Flavobacterium branchiophilum ‘bakteriyel solungaç hastalığı’nın etkenidir. Özellikle salmonid yetiştiriciliğinde önemli olup solungaçlarda konjesyon (kan toplanması), epitel hücrelerinin hiperplazisi, filament lamellalarının birbirine yapışması, dejenerasyonu ve nekroze olması ile seyreden bulaşıcı ve öldürücü bir enfeksiyondur [8, 11, 47, 61].

Flavobacterium branchiophilum da ilk olarak Davis tarafından 1926’da bir salmonid kuluçkahanesinde bildirilmiş, sonrasında Avrupa, Japonya ve Kanada’da balık işletmelerinde çok sık görülmüştür [62, 95].

Flavobacterium branchiophilum ilk tanımlandığında *Flavobacterium branchiophila* olarak adlandırılmış, sonradan taksonomik isimlendirilmesi kurallara uygun olarak değiştirilmiş ve şu anda kullanılan halini almıştır [21].

Flavobacterium branchiophilum’un identifikasyonunda da ELISA testleri kullanılmıştır [61]. Bu bakterilerinin biyokimyasal ve fenotopik özelliklerinin ayrıntıları Çizelge 2.3’de verilmiştir.

Bakteriyel solungaç hastalığına her yaştaki balıklarda rastlanmasına karşın genç ve yavrular daha duyarlıdır. Enfeksiyon en fazla Salmonidae ve Centrarchidae familyasına ait türlerde ve ılık sularda yaşayan balıklarda görülmüştür [8].

Hasta balıklardan izole edilen bakterilerle deneysel olarak hastalık oluşturulamamıştır [62]. Bu hastalığın oluşumunda da metabolik ürünler, toksik ve kimyasal maddeler, organik materyaller, oksijen azlığı ve solungaçları tahriş eden diğer hazırlayıcı sebeplerin rolü büyüktür. Hastalığın çıkış ve yayılışında çevresel faktörlerin, portör ve diğer balıkların etkili olduğu görülmüştür [8, 11, 22, 47, 95].

Bakteriyel solungaç hastalığının oluşması için özel bir sıcaklık aralığı yoktur. Sazanlarda 5°C, salmon türlerinde 19.7°C ve yılan balıklarında 20°C'de salgınlar oluşturduğu bildirilmiştir [95].

Ostland ve ark. [74], bakteriyel solungaç hastalığına son dönemde belirlenen virulansı yüksek suşların yapmış oldukları hastalığın etkilerinin farklılıklarını anlatmak için bu hastalığı “atipik bakteriyel solungaç hastalığı” olarak tanımlamışlardır.

Normal olarak balıkların solungaçlarında ve dış yüzeyinde bulunan *Flavobacterium branchiophilum*'lar hastalık durumunda sayıca büyük artış göstermektedirler [8, 95].

Hastalıktan etkilenen balıklar durgun ve iştahsızdırlar. Su yüzeyine yakın ve yavaş hareket etmekte ve solunum güclüğü çektiklerinden suyun geldiği yöne doğru yüzme eğilimindedirler. Yapılan muayenede solungaçlardaki aşırı mukoid salgı, solungaç kapaklarının kapanmaması dikkati çeken ilk belirtilerdir. Hastalık genelde solungaçlara yerleşmekte ve iç organlarda herhangi bir bozukluğa rastlanmamaktadır [8, 95].

Bakteriyel solungaç hastalığının sağaltımında etken solungaçlar üzerine lokalize olduğundan daha çok antiseptik ve antibakteriyel ilaç banyolarından

yararlanılmaktadır. Banyolar uygulanırken balığın yaşı, türü ve duyarlılığı dikkate alınmalıdır [8, 73].

Bu tez kapsamında, tüm bu bilgiler göz önünde bulundurularak, Mersin ili Çağlarca Köyü'nde bulunan 2 gökkuşaağı alabalığı kuluçkahanesinde su, anaçlar, yumurta ve yavru örnekleri tüm gelişim basamaklarında bakteriyolojik yönden incelenerek kayıpların hangi aşamalarda meydana geldiğı, bu kayıpların olası sebepleri, sağıaltımı ve korunma yolları belirlenmeye çalışılacaktır.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. MATERYAL

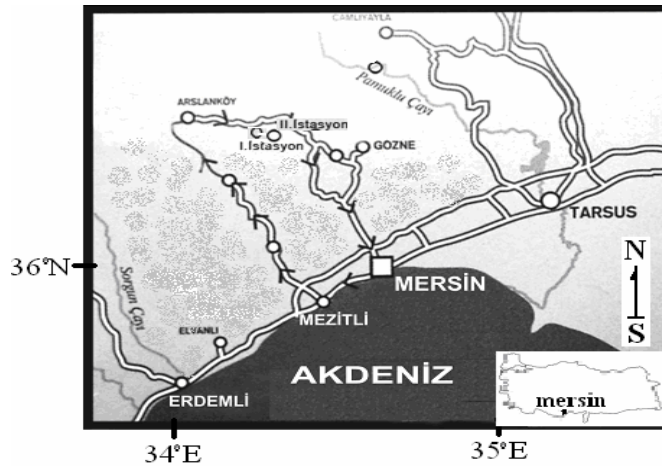
3.1.1 Balıkların Elde Edildiği İşletmelerin Konum ve Kapasiteleri

3.1.1.1. I. Gökkuşığı alabalığı üretim işletmesi

Mersin merkezine 40 km uzaklıkta olan bu işletme, Çağlarca Köyü'nde yer almaktadır (Şekil 3.1). İşletme kombine tipinde ve yılda yaklaşık 4 ton üretim yapmaktadır.

3.1.1.2. II. Gökkuşığı alabalığı üretim işletmesi

Mersin merkezine 40 km uzaklıkta olan bu işletme, Çağlarca Köyü'nde yer almaktadır (Şekil 3.1). İşletme kombine tipinde ve yılda yaklaşık 7,5-8 ton üretim yapmaktadır. Bu işletmenin birbirine yakın 2 tesisi bulunmaktadır. Yumurtaların alındığı ve yemlemeye kadar geçen süre içinde tutuldukları yalıklar merkez tesiste bulunmaktadır. Yavruların bir kısmı yemleme başlamadan kısa bir süre önce 2. tesiste bulunan yavru havuzlarına taşınmaktadır. Merkez kuluçkahane kapalı bir alanken, 2. tesiste havuzların üstlerinin açık ve korumasız olduğu görülmüştür.



Şekil 3.1. Örneklerin alındığı istasyonlar

3.1.2. Su, Yumurta ve Yavru Örnekleri

Mersin ili Çağlarca Köyü'nde faaliyet gösteren 2 adet gökkuşuğu alabalık işletmesi 15.12.2006 ve 25.04.2007 tarihleri arasında ziyaret edildi. Örnekler balıkların sağımıyla birlikte 15 günlük peryotlar halinde alınmaya başlandı, çalışmaya 17 hafta boyunca devam edildi. I. işletmeden 12, II. işletmeden 11 kez örnek alındı. Kuluçkahanelere giren, çıkan ve üretimde kullanılan suyun pH, sıcaklık ve çözünmüş oksijen miktarları ölçülerek kaydedildi. Bakteriyolojik inceleme için işletmelere giren su, anaç havuzu suyu, kuluçka dolabına giren su, yavru havuzu suyu ve işletmeden çıkan sudan steril şişelere birer litre alındı ve soğuk zincire uyularak fakültemiz laboratuvarına getirildi. Örnekler aynı gün incelemeye alındı. I. işletmeden 36, II. işletmeden 41 (Çizelge 3.1) örnek olmak üzere toplam 77 adet su örneği incelendi (Şekil 3.2).

Çizelge 3.1. İşletmeler bazında incelenen su örnekleri

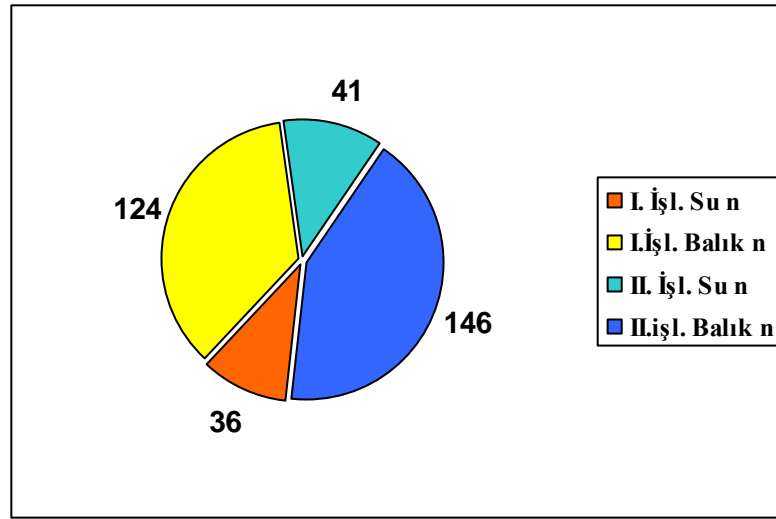
Su Örneği Kaynakları	I. İşletme	II. İşletme	Toplam
Giriş	12	12	24
Çıkış	12	12	24
Anaç havuzu	2	2	4
Kuluçka Dolabı	6	7	13
Yavru Havuzu	4	8	12
Toplam	36	41	77

Mikrobiyolojik yoklama için sperma ve ovaryum sıvısı, yumurta, döllenmiş yumurta, gözlenmiş yumurta, keseli yavru ve yem almaya başlayan yavrulardan örnekler steril cam kaplara hijyenik kurallara uygun olarak alındı. 2-3 erkek anaçtan 1 mL sperma ve dişilerden ovaryum sıvısı ve yumurtalar anaçların sağımı esnasında hijyenik kurallara uygun olarak temin edildi. Her örnek için yumurta, döllenmiş yumurta, gözlenmiş yumurta ve yavrulardan en az 20'şer adet temin edildi. Soğuk zincire uygun olarak fakültemiz laboratuvarına canlı olarak getirilen balık örnekleri aynı gün mikrobiyolojik olarak incelendi. I. işletmeden 124 ve II. işletmeden 146 olmak üzere toplam 270 örneğin incelendiği araştırmada kontrol edilen örnekler ve sayıları Çizelge 3.2'de ayrıntılı olarak yer almaktadır. Şekil 3.2'de her iki işletmeden alınan su ve balık örneklerinin sayısal dağılımı görülmektedir.

Çizelge 3.2. Yumurta ve yavru örnekleri

Örnek Adı	I. İşletme (n)	II. İşletme (n)	Toplam (n)
Sperma	12	12	24
Ovaryum Sıvısı	12	12	24
Yumurta	12	12	24
Dezenfekte Yumurta	12	12	24
Döllenmiş Yumurta	12	12	24
Dezenfekte Döllenmiş Yumurta	12	12	24
Gözlenmiş Yumurta	12	18	30
Dezenfekte Gözlenmiş Yumurta	12	18	30
Keseli Yavru	8	10	18
Dezenfekte Keseli Yavru	8	10	18
Yemlenen Yavru	6	16	22
Yemlenen Yavru Gövde	3	3	6
Yemlenen Yavru Karaciğer	3	3	6
Toplam	124	146	270

n: örnek sayısı



Şekil 3.2. İşletmelerden alınan su ve balık örneklerinin sayısal (n) dağılımı

3.1.3. Laboratuvar Araç-Gereçleri

250, 500, 1000mL'lik erlenmayer ve cam balonlar, değişik boyutlarda kapaklı deney tüpleri, (16-18x160mm, 12x100mm) mezürler, plastik ve cam petri kutuları (9 cm çapında), değişik boyutlarda pipetler (20 mL, 10 mL, 5 mL, 2 mL, 1 mL), lam, platin öze, porselen havan, 11 cam şişeler, 500mL metal kapaklı cam kavanozlar, tel süzgeç, enjektör, Oxyguard Handy Gamma cihazı, pH-indikatör kağıdı (Merck), soğutmalı etüv (Nüve ES 500), mikroskop ve laboratuvarda bulunan diğer temel araç ve gereçler kullanıldı.

3.1.4. Besiyerleri

3.1.4.1. Tryptone yeast extract salts broth (TYES-B)

Tryptone	4 g
Yeast extract	0,4 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,5 g
Distile su	1000 mL
pH 7.2	

Maddeler eriyinceye kadar su banyosunda kaynatıldı. Kapaklı deney tüplerine 3 mL miktarında paylaştırıldı ve 121°C 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi [47].

3.1.4.2. Tryptone yeast extract salts agar (TYES-A)

Hazırlanan Tryptone yeast extract salts broth'a %1,1 agar ilavesiyle elde edildi. 121°C 15 dakika otoklavlandı ve petrilere yeterli miktarda döküldü [47].

3.1.4.3. Triple sugar iron agar (TSIA) (Merck)

Hazır TSIA besiyeri yeteri miktarda tartılıp distile su ile sulandırıldı. Eriyinceye kadar su banyosunda kaynatıldı. Kapaklı deney tüplerine (16x120 mm) 5 mL miktarında paylaştırıldı ve 121°C 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi [31].

3.1.4.4. Glucose motil deep agar (GMDA)

Phenol Red Broth Base (Merck)	16 g
Glucose	10 g
Yeast Extract	3 g
Agar	3 g
Distile Su	1000 mL

Hazırlanan GMDA eriyinceye kadar su banyosunda kaynatıldı. Kapaklı deney tüplerine (16x120 mm) 8 mL miktarında paylaştırıldı ve 118°C 10 dakika otoklavlanarak sterilize edildi [76].

3.1.4.5. Kanlı agar (Merck)

Hazırlanan kanlı agar 55 °C'ye soğutularak % 5 oranında koyun kanı ilave edildi. Petrilere 20 mL miktarında taksimi yapıldı.

3.1.4.6. İndol besi yeri

Pepton	10 g
NaCl	5 g
Distile Su	1000 mL

Hazırlanan peptonlu su 2 mL miktarında tüplere paylaştırıldı ve 121°C 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi [31, 96].

3.1.4.7. Eskülin buyyon besiyeri

Pepton	10 g
NaCl	5 g
Escülin	1 g
Ferik Sitrat	0,5 g
Distile Su	1000 mL

Hazırlanan eskülin buyyon eriyinceye kadar su banyosunda kaynatıldı. Kapaklı deney tüplerine 3 mL miktarında paylaştırıldı ve 115°C 10 dakika otoklavlanarak sterilize edildi [102].

3.1.4.8. Nişastalı agar besiyeri

Beef Extract	10 g
Pepton	10 g
NaCl	5 g
Agar	20 g
Distile Su	1000 mL

Hazırlanan nitrüent agar eriyinceye kadar su banyosunda kaynatıldı. 10 g nişasta 50 mL distile su içerisinde tamamiyle eritildi ve nutrient agar içerisinde katıldı. 115°C 10 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Petrilere yeterli miktarda konuldu [31, 102].

3.1.4.9. Jelatin broth

Beef Extract	10 g
Pepton	10 g
NaCl	5 g
Distile Su	1000 mL
Jelatin	%10 oranında

Hazırlanan nutrient broth içerisinde (880mL nutrient broth, 120g jelatin) jelatin ilave edildi. Kapaklı deney tüplerine (16x120 mm) 5 mL miktarında paylaştırıldı ve 121°C 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi [102].

3.1.4.10. Müller-Hinton agar (Merck)

Hazır Müller-Hinton Agar besiyeri yeteri miktarda tartılıp distile su ile sulandırıldı. 121°C 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Cam petrilere 25 mL miktarında taksim edildi.

3.1.4.11. Fizyolojik tuzlu su (FTS)

NaCl	8,5 g
Distile Su	1000 mL

3.1.5. Kimyasallar ve Ayraçlar

3.1.5.1. %20 Potasyum hidroksit

KOH	20 g
Distile Su	100 mL

3.1.5.2. Hidrojen peroksit (%3'lük)

3.1.5.3. Gram boyama ayıraçları [31]

- a) Kristal viole eriği
- b) Lugol eriği
- c) %96'lık etil alkol
- d) Sulu fuksin eriği

3.1.5.4. Kovaks ayırıcı

İsoamylalkol	15 mL
p-dimethylaminobenzaldehit	1 g
konsantre HCl	5 mL

p-dimethylaminobenzaldehit isoamylalkol içinde 50-55°C'lik su banyosunda eritildi ve soğutuldu. Asit ilave edildi [31].

3.1.5.5. Oksidaz ayırıcı

Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride	1 g
Distile Su	100 mL

Kimyasal madde distile su içerisinde eritildi. Işık almayacağı bir şişe içinde ve buzdolabında muhafaza edildi. Otooksidasyonu geçiktirmek için %1 askorbik asit ilave edildi [31].

3.1.5.6. Lugol solusyonu (1/5)

Lugol (stok) solusyonu:

İyot	5 g
K-iyodür	10 g
Distile su	100 mL

İyot ve KI 10mL distile su ile havanda ezilerek eritildi. 100mL tamamlandı.

Stok lugol solusyonu	1 mL
Distile su	5 mL

Stok lugol solusyonundan 1 mL ve 5 mL distile su ilavesiyle hazırlandı.

3.1.5.7. 400 ppm povidin/iodin solüsyonu

%10'lük polivinilpirolidon (Batticon)'dan 400 ppm dozunda hazırlandı.

3.1.5.8. Antibakteriyel diskler

Antibakteriyel duyarlılık testleri için kullanılan antibakteriyel ilaç diskleri (OXOID), disklerde bulunan etken madde miktarı ve duyarlılık zonları (mm çap) Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Antimikrobiyal duyarlılık zonları (OXOID)

Antibakteriyel İlaçlar	Dirençli (mm çap)	Orta (mm çap)	Hassas (mm çap)
Gentamisin (GM, 10 µg)	≤12	13-14	≥15
Streptomisin (S 10 µg)	≤11	12-14	≥15
Neomisin (N 30 µg)	≤12	13-16	≥17
Sulfametoksazol-Trimetoprim SXT (1,25-23,75 µg)	≤10	11-15	≥16
Eritromisin (E 15 µg)	≤13	14-22	≥23
Oksitetrasiklin (T 30 µg)	≤13	14-18	≥19
Amoksisilin/Klavulunik Asit (AmC 30 µg)	≤13	14-17	≥18
Klindamisin (CC 2 µg)	≤15	16-18	≥19
Ofloksasin (OFX 5 µg)	≤12	13-15	≥16
Penisilin (P 10 µg)	≤14	-	≥15
Vankomisin (Va 30 µg)	≤14	15-16	≥17

3.1.6. ID 32 GN (BioMerieux) Ticari Kiti

Bazı Gram negatif basillerin identifikasyonu için kullanıldı.

3.1.7. Referans suşlar

Flavobacterium columnare (Berlin izolatu, Kotterba, G., 2006) ve *Flavobacterium psychrophilum* (255/95, gökkuşacağı alabalığı izolatu, Wiklund, T., 2007) kullanıldı.

3.2. METOT

3.2.1 Su Sıcaklığı, Çözünmüş Oksijen ve pH Ölçümleri

Su sıcaklığı ve çözünmüş oksijen Oxyguard Handy Gamma cihazı ile, pH pH-indikatör kağıdı (Merck) ile ölçüldü.

3.2.2 Yumurta ve Keseli Yavru Örneklerinin Dezenfeksiyonu

Yumurta, dölllenmiş yumurta, gözlenmiş yumurta ve keseli yavru örneklerinin yarısı dezenfekte edilmeden işleme alınırken diğer yarısı (her birinden 10 adet) 400 ppm povidin/iodin solüsyonunun 15 dakika süreyle uygulanması ile dezenfekte edildi [81, 23]. Dezenfekte edilen örnekler en az 3 kez steril distile su ile yıkandı [23]. Homojenatlar steril enjektör yardımıyla ya da havanda ezilerek hazırlandı.

3.2.3 Bakteriyolojik Muayeneler

Tüm mikrobiyolojik çalışmalar hijyenik kurallara uyularak gerçekleştirildi. Yumurta ve keseli yavru örneklerine kadar olan aşamalarda 2 örnekten bir grup oluşturularak işleme alındı. Yemlenen yavru örnekleri iç organları ayırt edilecek büyüklüğe geldiğinde, en az 10 adet yavru balığın karaciğeri ayrılarak ve iç organları çıkarılarak 'karaciğer' ve 'gövde' örneği olarak çalışıldı.

3.2.3.1 Bakterilerin izolasyonu

Dezenfekte edilmeyen ve dezenfekte edilen yumurta ve keseli yavru örneklerinden hazırlanan homojenatlardan 0,3 mL ve yem alan yavruardan steril pens ve makas yardımıyla kesilerek alınan dokulardan 1 g tartılarak steril havan içerisine konuldu. Örnekler steril havaneleriyle ezilerek homojenize edildi. Üzerine 9'ar mL steril FTS eklenerek 1/10'luk dilüsyonu hazırlandı. Hazırlanan 10^{-1} 'luk dilüsyonlardan 0,5 mL TYES-A'a steril öze ya da svap aracılığıyla yayıldı. Besiyerleri 17°C'de 5-10 gün inkübe edildi. Örnekler iki paralelli olarak çalışıldı.

3.2.3.2 Bakterilerin identifikasyonu

Üremenin olduğu örneklerden sarı renkteki koloniler seçilerek TYES-A'a subkültürleri yapıldı ve 17°C'de 5-10 gün inkübe edildi. Saflaştırılan kolonilere öncelikle Gram boyamaları yapılarak karakterleri ve kültürlerin saflıkları kontrol edildi. Gram negatif, ince uzun basillerden oluşan kültürlere öncelikle katalaz testi ve sitokrom oksidaz testleri uygulandı. Kanlı agarda üreyip ürememelerine göre gerekli identifikasyon testleri yapıldı (¹Wiklund, T., kişisel görüşme). Kanlı agarda üreyen bakteriler ID32GN ticari kiti kullanılarak identifiye edildi. Kanlı agarda üremeyen ve/veya ID32GN ticari kiti ile identifiye edilemeyen izolatlar fleksirubin, eskülin, nişasta hidrolizi, jelatin hidrolizi, oksidasyon-fermentasyon (O/F), indol, hidrojen sülfür varlığı, 30°C üreme ve % 2 tuzlulukta üreme testleri uygun besiyerleri kullanılarak yapıldı. 17°C'de 5-10 günlük inkübasyon neticesinde elde edilen biyokimyasal test sonuçları Çizelge 2.3'teki verilere göre değerlendirildi [11, 21, 47, 95].

Bu izolatların identifikasyonlarında aşağıdaki testler uygulandı:

a-Gram boyama: Şüpheli bakteriler Jensen'in Gram boyama yöntemine göre boyanarak hem saflıkları kontrol edildi hem de Gram negatif bakteriler saptandı [31].

b-Katalaz testi: Temiz bir lamın üzerine %3'lük Hidrojen peroksit damlatıldı. Platin öze ile alınan Gram negatif bakteri kültürünün Hidrojen peroksit ile temasında kabarcıklar oluşturması katalaz pozitif, kabarcık oluşturmaması ise katalaz negatif olarak değerlendirildi [31].

c-Oksidaz testi: Şeritler halinde kesilmiş steril kurutma kağıdı üzerine oksidaz ayırıcı damlatılarak emdirildi. Öze ile alınan bakteri ayıraç emdirilen şerit üzerine sürüldü. Bir dakika içinde mor renk oluşması oksidaz pozitif olarak değerlendirildi [31].

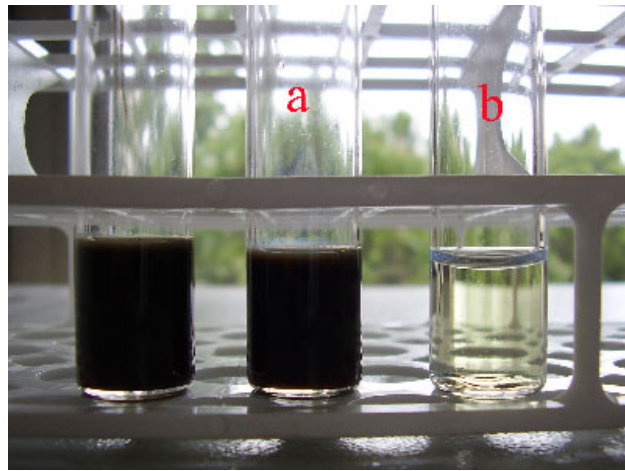
¹ Yazılı kişisel görüşme, twiklund@abo.fi, 2007.

d-Flexirubin testi: Şeritler halinde kesilerek hazırlanan steril kurutma kağıdı üzerine %20'lik KOH damlatıldı. Taze kültürden öze ile alınan bakteri bu kağıt üzerine sürüldü. Portakal veya kahverengine dönüşen renk pozitif olarak değerlendirildi [47].

e-30°C üreme: Bakterilerin 30°C üremelerinin kontrolü için hem TYES-B hem de sonucun sağlıklı olduğunu kontrol etmek için TYES-A'a öze ile ekimler yapıldı ve 30°C 3-5 gün inkübe edildi. Üremenin varlığı pozitif olarak değerlendirildi.

f-% 2 tuzlulukta üreme: % 2 NaCl ilavesiyle hazırlanan TYES-B'a ve TYES-A'a öze ile ekim yapılarak 17°C'de 5-10 gün inkübe edildi. Üremenin varlığı pozitif olarak değerlendirildi.

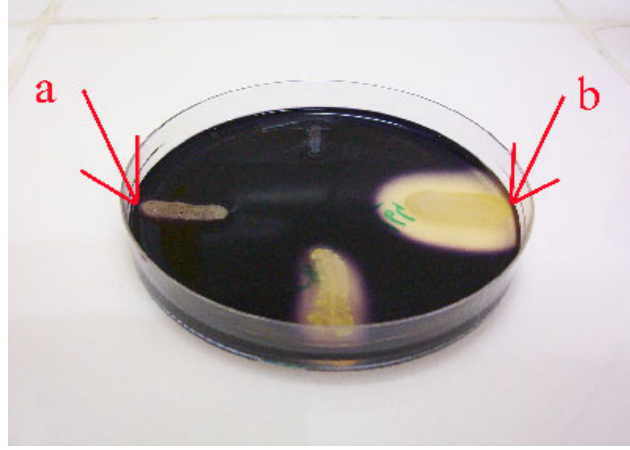
g-Eskülin hidrolizi: Hazırlanan eskülin buyyon içerisine öze ile ekim yapıldı. 17°C'de 5-10 gün inkübe edildi. Besiyerinin rengi siyah veya kahverengine dönüşmüş ise eskülin pozitif, renkte değişme olmamış ise eskülin negatif olarak değerlendirildi (Şekil 3.3) [31].



Şekil 3.3. Eskülin deneyi a) Eskülin pozitif b) Eskülin negatif

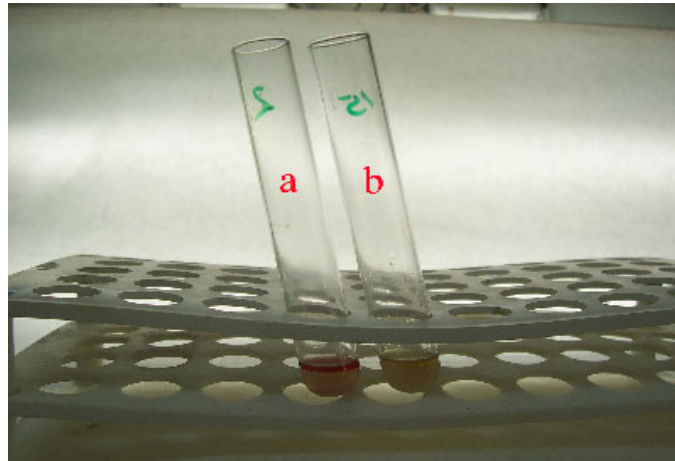
h-Nişasta hidrolizi: Nişastalı agar besiyerine öze ile çizgi tarzında ekimler yapıldı. 17°C'de 5-10 gün inkübe edildi. 1/5'lik lugol solüsyonu besiyeri üzerine yayılarak 5 dakika tutulduktan sonra döküldü ve değerlendirme yapıldı. Koloni

etrafında şeffaf zon oluşumu pozitif, koloni etrafında zon oluşmaması ise negatif olarak değerlendirildi (Şekil 3.4) [102].



Şekil 3.4. Nişasta hidrolizi deneyi a) negatif b) pozitif

i-İndol testi: İçerisinde indol besiyeri bulunan tüplere öze ile ekim yapıldı. 17°C’de 5-10 gün inkübe edildi. Kültürlerin üzerine kovacs’ ayırıcından 0.5 mL ilave edildi ve iyice karıştırıldı. Besiyeri üzerinde iki dakika içerisinde oluşan kırmızı halka pozitif, sarımsı halka ise negatif indol reaksiyonu (Şekil 3.5) olarak değerlendirildi [31, 35].



Şekil 3.5. İndol deneyi a) İndol pozitif b) İndol negatif

j-Jelatin hidrolizasyon testi: Oda sıcaklığında yarı sıvı haldeki jelatin broth içerisinde öze ile alınan bakteri kültürü inoküle edildi. 17°C’de 5-10 gün inkübe

edildi. Bu süre sonunda 1-2 saat buzdolabında tutulan besiyerinde sıvılaşmanın varlığı jelatin pozitif, katılaştırmanın olması ise jelatin negatif olarak değerlendirildi [102].

TSIA'da uygulanan testler: Besiyerinin dip kısmına özeyi batırma ve yatık yüzeyine sürme şeklinde ekim yapıldı. 17°C'de 5-10 gün inkübe edildi (Şekil 3.6). Besiyerinin kendine özgü kırmızı rengindeki değişimler değerlendirilerek H₂S oluşumu, glukoz ve laktoz parçalanmasına bakıldı.

k-Hidrojen sülfür (H₂S) oluşumu: H₂S varlığı için besiyerinin yüzeyinden başlayıp dibe doğru ilerleyen siyah renk pozitif, siyah rengin oluşmaması negatif olarak yorumlandı.

l-Glukoz ve laktoz parçalanması: Besiyerinin dip kısmında rengin sarıya dönüşmesi glukoz pozitif, renginin kırmızı olması negatif; besiyerinin yatık kısmının renginin sarıya dönüşmesi laktoz pozitif, kırmızı rengin varlığı negatif olarak değerlendirildi.



Şekil 3.6. TSIA'da test sonuçları k) kontrol grubu a ve d) H₂S, glukoz ve laktoz negatif b ve c) H₂S negatif, glukoz ve laktoz pozitif

GMDA'da uygulanan testler: Oksidasyon/Fermentasyon karakteri ve hareket muayenesi için yarı katı besi yerine ekim, iğne özenin besiyerinin ortasından tüp

dibine kadar dik olarak batırılıp çıkarılmasıyla gerçekleştirildi. 17°C’de 5-10 gün inkube edildi. [76].

m-Oksidasyon/Fermentasyon testi: Besiyerinin normal kırmızı renginin tamamının ya da sadece dip kısmının sarıya dönüşmesi fermentatif, besiyerinin sadece üst kısmının sarıya dönüşmesi oksidatif, besiyerinin renginin değişmemesi O/F negatif olarak değerlendirildi (Şekil 3.6).

n-Hareket muayenesi: Batırma hattı boyunca sınırlı bir üreme negatif, besiyerinde homojen bir bulanıklık pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 3.7. a, b, c, d, f).



Şekil 3.7. GMDA’da test sonuçları k) kontrol grubu a ve c) fermentatif ve hareket pozitif b ve f) fermentatif ve hareket negatif d) oksidatif ve hareket negatif e) O/F negatif

o-Hemoliz: Bakterilerin hemoliz karakterleri % 5 koyun kanlı agardaki özelliklerine göre değerlendirildi. Koloni etrafında şeffaf zon β -hemoliz, yeşilimsi zon ise α -hemoliz olarak tanımlandı.

p-ID32 GN ticari kiti ile identifikasyon testleri: Bazı Gram negatif basillerin ID32GN hızlı identifikasyon kiti ile identifikasyonu yapıldı. Test kiti sonuçları 30°C’de 48 saatlik inkübasyondan sonra ‘Mini-API otomatize bakteri tanımlama

sisteminde' okutuldu. Bu testler ME.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarında gerçekleştirildi.

r-Antibakteriyel duyarlılık testi: Antibakteriyel duyarlılık testleri disk difüzyon yöntemine göre yapıldı [76]. İdentifiye edilen bakteriler TYES-B içerisinde tazeledikten sonra Müller-Hinton agar üzerine yayıldı. Antibakteriyel diskler besiyeri üzerine yerleştirilerek 17°C'de 5-10 gün inkube edildi. Disklerin etrafında üremeyen bakterilerin oluşturduğu zonlar cetvelle ölçülerek bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları belirlendi.

s-İstatistik analizi: Bütün istatistiksel karşılaştırmalar MINITAB-130'da iki oran testi kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 BULGULAR

Bu çalışmada Mersin ili Çağlarca köyünde gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yetiştiriciliği yapan iki işletmeden alınan örnekler *Flavobacterium* cinsi bakterilerin kuluçkahanelerdeki varlığı yönünden araştırılmıştır. İzole edilen etkenlerin antibakteriyel ilaç duyarlılıkları saptanmıştır. Aralık 2006 ve Nisan 2007 tarihleri arasında 5 ay boyunca I. işletmeden 36, II. işletmeden 41 olmak üzere toplam 77 adet su örneği ve I. işletmeden 124 ve II. işletmeden 146 olmak üzere toplam 270 adet balık örneği, genel toplamda ise 347 adet örnek incelenmiştir (Çizelge 3.1, 3.2).

4.1.1. İşletmelerde Kullanılan Suyun Oksijen Doygunluğu, Çözünmüş Oksijen, Su Sıcaklığı ve pH Bulguları

Her iki işletme de aynı su kaynağından yararlanmakta, ancak birbirileriyle su bağlantısı bulunmamaktadır. İşletmelere giren su, anaç havuz suyu, kuluçka dolabına giren su, yavru havuzu suyu ve işletmelerden çıkan suyun ortalama sıcaklıkları, pH değerleri, çözünmüş oksijen (ÇO) miktarı ve oksijen doygunluk oranları Çizelge 4.1’de yer almaktadır.

Çizelge 4.1. Su örneklerinde ortalama ÇO, su sıcaklığı, pH bulguları

Su Örnekleri	n	Doygunluk (%)	ÇO (ppm)	Su sıcaklığı (°C)	pH
I. İşletme	36				
Giriş	11	98	10.5	10.7	6.7
Anaç havuzu	2	97	9.9	10.5	7.3
Kuluçka Dolabı	6	97	10.3	10.0	7.0
Yavru havuzu	6	94	10.5	10.7	6.8
Çıkış	11	90	10.2	10.1	7.0
II. İşletme	41				
Giriş	13	95.3	10.2	10.3	6.6
Anaç havuzu	2	85.5	9.7	9.3	6.8
Kuluçka Dolabı	7	99	11.8	9.8	6.6
Yavru havuzu	6	98.5	10.8	10.6	6.6
Çıkış	13	98	10.8	10.2	6.8

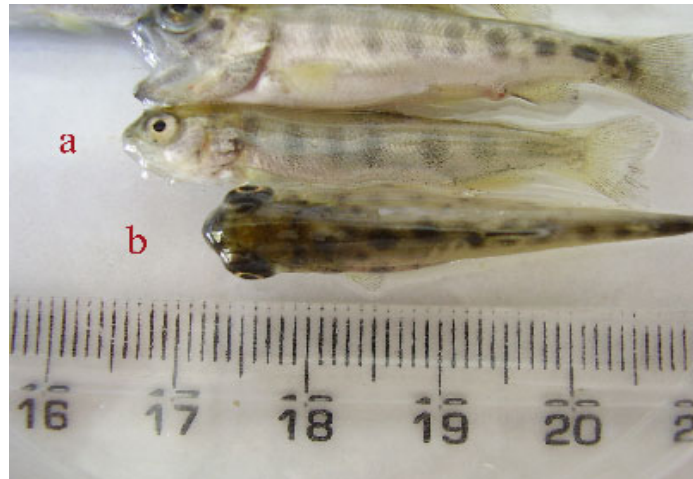
n: örnek sayısı

4.1.2. Hastalık Bulguları

İşletmelerde sağımı yapılan anaç balıklarda herhangi bir hastalık belirtisi görülmemiştir. Ancak, sağım sonrasında strese bağlı olarak balık ölümleri, yaralanmalar, mantarlaşma olguları gerçekleşmiştir.

Her iki işletmede, yumurta, gözlenmiş yumurta ve keseli yavru aşamalarında mantarlaşma olgularına bağlı kayıplar meydana gelmiştir.

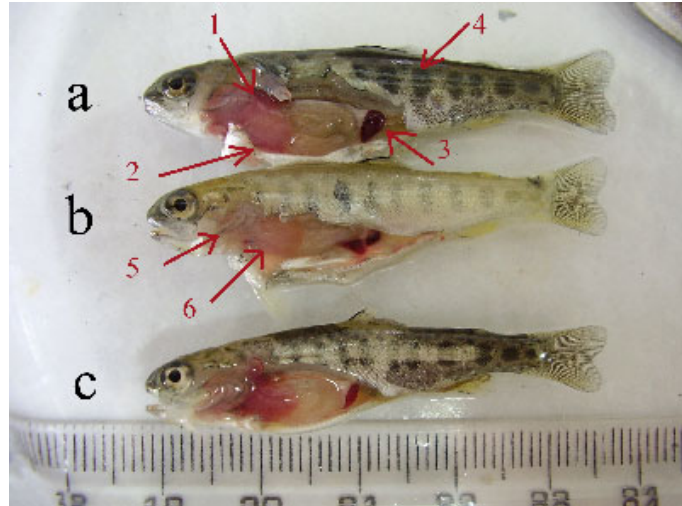
Bölgemizde yetiştiriciliği yapılan gökkuşığı alabalığı yavrularında yem almaya başladıktan 30-40 gün sonra büyük kayıplara yol açtığı bildirilen hastalığa dair I. işletmede herhangi bir bulgu görülmemiştir. II. İşletmede 10.04.07 tarihinde yavrularda 1 hafta boyunca süren ölümler olduğu belirtilmiştir. Yapılan incelemelerde özellikle 2. tesiste günde 200-300 yavrunun öldüğü saptanmıştır. Önce 2. tesiste başlayan salgın sonra merkez tesiste de görülmüştür. 3 hafta kadar süren salgında yavruların % 50'den fazlası ölmüştür. Hasta ve ölen balıklar incelendiğinde renkte kararma, sırt yüzgecinde erozyon, gözlerde eksoftalmus görülmüştür (Şekil 4.1, 4.2). Otopsi bulgularında solungaçta ve karaciğerde anemi, karaciğerde yer yer kanamalar ve dalakta büyüme saptanmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.1. II. İşletme gökkuşığı alabalığı yavrularında hastalık belirtileri
a) sırt yüzgecinde erozyon b) renkte kararma ve çift taraflı eksoftalmus



Şekil 4.2. Gökkuşığı alabalığı yavrularında sırt yüzgecinde erozyon



Şekil 4.3. II. İşletme gökkuşığı alabalığı yavrularında otopsi bulguları

- a) 1.Solungaçta anemi ve hemoraji 2. karaciğerde anemi ve hemoraji 3. dalakta büyüme 4. sırt yüzgecinde erozyon ve renkte kararma b) 5. Solungaçta anemi 6. karaciğerde anemi c) renkte kararma, normal iç organlar

4.1.3. Kuluçkahanelerdeki Bakteri Bulguları

Her iki işletmenin kuluçkahanesinden alınan 77 adet su örneği ve 270 adet balık örneği olmak üzere toplam 347 adet örnek çalışılmıştır. Toplam 117 örnekten (% 33,71) 141 adet *Flavobacterium* spp. izole edilmiştir. Bu izolatların 45'i (% 31,91) I. işletmeden ve 96'sı (% 68,08) II. işletmeden saptanmıştır. Toplam izolatin

76'sı (% 42,93) *Flavobacterium aquatile*, 30'u (% 16,94) *Flavobacterium columnare*, 20'si (% 11,29) *Flavobacterium branchiophilum*, 12'si (% 6,77) *Flavobacterium johnsoniae* ve 3'ü (% 1,69) de *Flavobacterium saccharophilum* olarak belirlenmiştir. Su örneklerinin 39'unda (% 50,64) ve balık örneklerinin 78'inde (% 28,88) *Flavobacterium* spp. izole edilmiştir. Su örneklerinden toplam 46 ve balık örneklerinden toplam 95 adet *Flavobacterium* spp. izolatu bulunmuştur. Su örneklerinden izole edilen etkenlerin 27'si (% 58,69) *Flavobacterium aquatile*, 11'i (% 23,91) *Flavobacterium columnare*, 4'ü (% 8,69) *Flavobacterium branchiophilum*, 3'ü (% 6,52) *Flavobacterium johnsoniae* ve 1'i (% 2,17) de *Flavobacterium saccharophilum* olarak ayırt edilmiştir. Balık örneklerinden izole edilen etkenlerin 49'u (% 51,57) *Flavobacterium aquatile*, 19'u (% 20) *Flavobacterium columnare*, 16'si (% 16,84) *Flavobacterium branchiophilum*, 9'u (% 9,47) *Flavobacterium johnsoniae* ve 2'i (% 2,10) de *Flavobacterium saccharophilum* olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5, 4.8).

Bu işletmelerden ayrıca *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia ruckeri*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Achromobacter denitrificans*, *Brevundimonas diminuta*, *Brevundimonas vesicularis*, *Comamonas testosteroni*, *Enterobacter cloacae*, *Kluyvera cryocrescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Oligella* spp., *Moraxella lacunata*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Stenotrophomonas maltophilis* ve *Xanthomonas campestris* izole edilmiştir (Çizelge 4.5, 4.8).

4.1.3.1. I. İşletme verileri

I. işletmeye ait 36 su ve 124 adet balık örneği çalışılmıştır. I. İşletmede 45 adet *Flavobacterium* spp. 36 adet örnekten izole edilmiştir. *Flavobacterium aquatile* 35 (% 77,77), *Flavobacterium johnsoniae* 6 (% 13,33) ve *Flavobacterium branchiophilum* 4 (% 8,88) adet bulunmuştur (Şekil 4.4). Bu izolatların 17'si 15 adet (% 41,66) su örneğinden, 28'i de 21 adet (% 16,93) balık örneğinden elde edilmiştir (Çizelge 4.5).

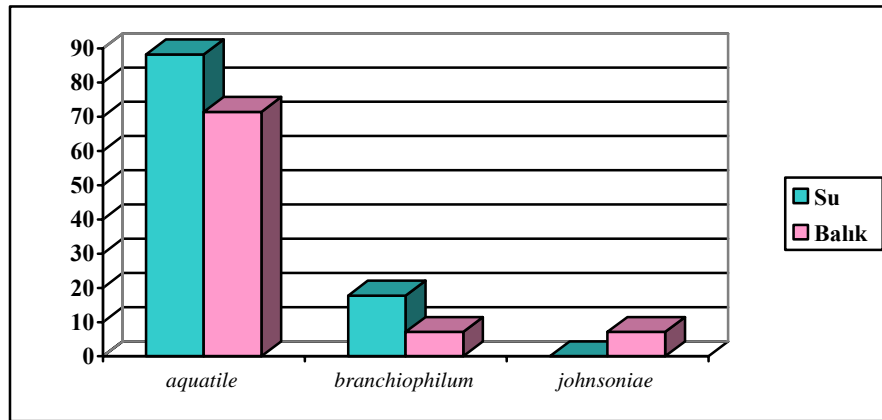
Su örneklerinden *Flavobacterium aquatile* 15 (% 88,23) ve *Flavobacterium branchiophilum* 2 (% 17,76) oranında saptanmıştır. Giriş suyunda 5 (% 29,41), kuluçka dolabına giren suda 3 (% 17,64) ve çıkış suyunda 9 adet (% 52,94) *Flavobacterium* spp. saptanırken, anaç havuzu ve yavru havuzundan alınan su örneklerinde bu etkenler saptanamamıştır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. I. İşletmede su örnekleri *Flavobacterium* spp. izolatları

Örnek Adı	n	F. <i>aquatile</i>	F. <i>johnsoniae</i>	Toplam
Giriş	11	4	1	5
Anaç havuzu	2	0	0	0
Kuluçka Dolabı	6	3	0	3
Yavru havuzu	6	0	0	0
Çıkış	11	8	1	9
Toplam	36	15	2	17*

*15 örnekten izole edilmiştir n: örnek sayısı

Balık örneklerinde ise *Flavobacterium aquatile* 20 (% 71,42), *Flavobacterium branchiophilum* 4 (% 7,14) ve *Flavobacterium johnsoniae* 4 (% 7,14) adet bulunmuştur (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. I. İşletme su ve balık örneklerinde *Flavobacterium* spp. % dağılımı

Flavobacterium spp. izolatları, yumurta ve sperma örnekleri hariç, yavruların tüm gelişim basamaklarında saptanmıştır (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. I. İşletmede balık örnekleri *Flavobacterium* spp. izolatları

Örnek Adı	n	<i>F.</i>			Toplam
		<i>aquatile</i>	<i>branchiophilum</i>	<i>johnsoniae</i>	
Sperma	12	0	0	0	0
Ovaryum Sıvısı	12	3	0	0	3
Yumurta	12	0	0	0	0
Dez. Yumurta	12	1	0	0	1
Döllenmiş Yumurta	12	4	0	0	4
Dez. Döllenmiş Yumurta	12	1	0	0	1
Gözlenmiş Yumurta	12	1	0	0	1
Dez. Gözlenmiş Yumurta	12	2	1	1	4
Keseli Yavru	8	1	0	0	1
Dez. Keseli Yavru	8	2	0	1	3
Yemlenen Yavru	12	5	3	2	10
Toplam	124	20	4	4	28*

*21 örnekten izole edilmiştir.

Dez.: dezenfekte

n: örnek sayısı

I. işletmeden alınan örneklerde izole edilen ve ID 32 GN ile tanımlanan ve antibakteriyel duyarlılık testine tabi tutulan *Flavobacterium* türlerine ait ayrıntılı bilgiler çizelge 4.5’ de yer almaktadır. Bu işletmede ayrıca *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Achromobacter denitrificans*, *Brevundimonas diminuta*, *Comamonas testosteroni*, *Enterobacter cloacae*, *Kluyvera cryocrescens*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Moraxella lacunata* izole edilmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. I. İşletme örneklerinden izole edilen Gram negatif bakteriler

Bakteri No	Tarih	Kaynak	<i>Flavobacterium</i> spp.	Diğer Gram negatif bakteriler
164	15.12.06	Dez. döllenmiş yumurta	<i>aquatile</i>	-
166		Ovaryum sıvısı	-	<i>Escherichia coli</i>
173	22.12.06	Döllenmiş yumurta	<i>aquatile</i>	<i>Brevundimonas diminuta</i>
232	25.01.06	Dez. keseli yavru	<i>aquatile</i>	<i>Achromobacter denitrificans</i>
236		Giriş suyu	-	<i>Comamonas testosteroni</i>
241	31.01.07	Keseli yavru	<i>aquatile</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
243		Dez. gözlenmiş yumurta	<i>branchiophilum</i>	-
244		Dez. gözlenmiş yumurta	<i>aquatile</i>	-
245		Dez. gözlenmiş yumurta	<i>johnsoniae</i>	-
19	07.02.07	Çıkış suyu	-	<i>Aeromonas hydrophila</i>
45	28.02.07	Giriş suyu	<i>aquatile</i>	-
43		Yemlenen yavru	<i>aquatile</i>	-
57		Yemlenen yavru	<i>branchiophilum</i>	-
55		Çıkış suyu	-	<i>Escherichia coli</i>
60	18.03.07	Yemlenen yavru gövde	<i>aquatile</i>	-
63		Yemlenen yavru karaciğer	<i>johnsoniae</i>	-
65		Yemlenen yavru karaciğer	<i>branchiophilum</i>	-
66		Yemlenen yavru gövde	<i>aquatile</i>	-
70		Giriş suyu	<i>aquatile</i>	-
71		Giriş suyu	<i>johnsoniae</i>	-
75		Çıkış suyu	<i>aquatile</i>	<i>Moraxella lacunata</i>
77		Çıkış suyu	<i>johnsoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>
108	10.04.07	Yemlenen yavru gövde	<i>branchiophilum</i>	-
111		Yemlenen yavru karaciğer	<i>branchiophilum</i>	-
113		Yavru havuzu suyu	-	<i>Kluyvera cryocrescens</i>
116	25.04.07	Yavru havuzu suyu	<i>aquatile</i>	<i>Hafnia alvei</i> , <i>K. cryocrescens</i>
117		Çıkış suyu	<i>aquatile</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>

Dez.: Dezenfekte edilmiş

4.1.3.2. II. İşletme verileri

II. işletmeye ait 41 su ve 146 adet balık örneği çalışılmıştır. II. İşletmede 95 adet *Flavobacterium* spp. 81 adet (% 55,47) örnekten izole edilmiştir. Bu izolatların 41'i (% 43,15) *Flavobacterium aquatile*, 30'u *Flavobacterium columnare* (% 31,57), 16'sı *Flavobacterium branchiophilum* (% 16,84), 6'sı (% 6,31) *Flavobacterium johnsoniae* ve 3'ü (% 3,15) *Flavobacterium saccharophilum* olarak saptanmıştır (Şekil 4.5). Bu izolatların 29'u (% 30,2) 24 adet (% 58,53) su örneğinden ve 67'i (% 69,79) de 57 adet (% 39,04) balık örneğinden elde edilmiştir (Çizelge 4.6).

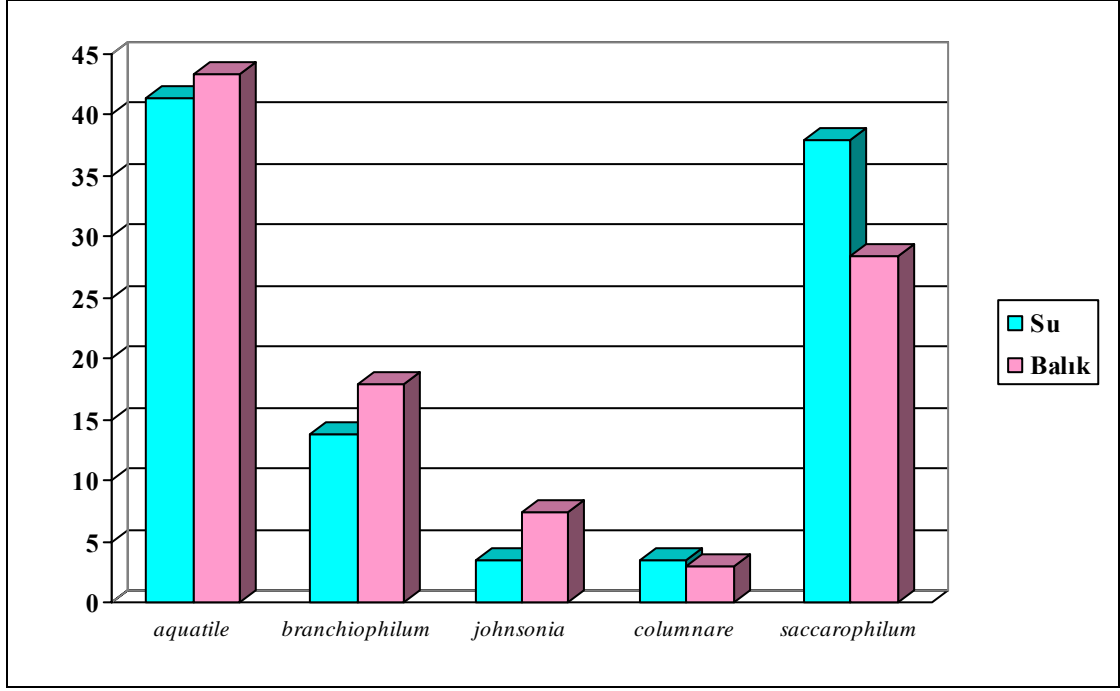
Su örneklerinden *Flavobacterium aquatile* 12 (% 41,37), *Flavobacterium columnare* 11 (% 37,93), *Flavobacterium branchiophilum* 4 (% 13,79), *Flavobacterium johnsoniae* 1 (% 3,44) ve *Flavobacterium saccharophilum* 1 (% 3,44) adet saptanmıştır. Giriş suyunda 11 (% 37,93), kuluçka dolabına giren suda 6 (% 20,68) ve çıkış suyunda 12 adet (% 41,37) *Flavobacterium* spp. saptanırken, anaç havuzu ve yavru havuzundan alınan su örneklerinde bu etkenler saptanamamıştır (Çizelge4.5).

Çizelge 4.5. II. İşletmede su örnekleri *Flavobacterium* spp. izolatları

Örnek Adı	n	F.					Toplam
		<i>columnare</i>	<i>aquatile</i>	<i>branchiophilum</i>	<i>johnsoniae</i>	<i>saccharophilum</i>	
Giriş	13	4	5	1	1	0	11
Anaç havuzu	2	0	0	0	0	0	0
Kuluçka Dolabı	7	2	3	1	0	0	6
Yavru havuzu	6	0	0	0	0	0	0
Çıkış	13	5	4	2	0	1	12
Toplam	41	11	12	4	1	1	29*

*24 örnekten izole edilmiştir. n: örnek sayısı

Balık örneklerinde ise *Flavobacterium aquatile* 29 (% 43,28), *Flavobacterium columnare* 19 (% 28,35), *Flavobacterium branchiophilum* 12 (% 17,91), *Flavobacterium johnsoniae* 5 (% 7,46) ve *Flavobacterium saccharophilum* 2 (% 2,98) adet saptanmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. II. İşletme su ve balık örneklerinde *Flavobacterium* spp. % dağılımı

Flavobacterium spp. izolatlarının yumurta, dezenfekte edilmiş yumurta ve dezenfekte edilmiş döllenmiş yumurta örneklerinde saptanamamasına karşın, diğer örneklerin tümünde tespit edildikleri görülmektedir. Yem almaya başlayan yavrulardaki izolat sayısındaki artış somut olarak görülebilmektedir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. II. İşletmede balık örnekleri *Flavobacterium* spp. izolatları

Örnek Adı	n	F.	F.	F.	F.	F.	Toplam
		<i>columnare</i>	<i>aquatile</i>	<i>branchiophilum</i>	<i>johnsoniae</i>	<i>saccarophilum</i>	
Sperma	12	2	1	0	0	0	3
Ovaryum Sıvısı	12	0	1	1	2	0	4
Yumurta	12	0	0	0	0	0	0
Dez. Yumurta	12	0	0	0	0	0	0
Döllenmiş Yumurta	12	0	0	0	1	0	1
Dez. Döllenmiş Yumurta	12	0	0	0	0	0	0
Gözlenmiş Yumurta	12	1	1	0	0	0	2
Dez. Gözlenmiş Yumurta	12	2	0	1	0	0	3
Keseli Yavru	8	2	2	1	0	0	5
Dez. Keseli Yavru	8	2	0	0	0	0	2
Yemlenen Yavru	12	8	3	5	1	1	18
Toplam	146	29	19	12	5	2	67*

*57 örnekten izole edilmiştir

Dez.: dezenfekte

n: örnek sayısı

II. işletmeden alınan örneklerde izole edilen ve ID 32 GN ile tanımlanan ve antibakteriyel duyarlılık testine tabi tutulan *Flavobacterium* türlerine ait ayrıntılı

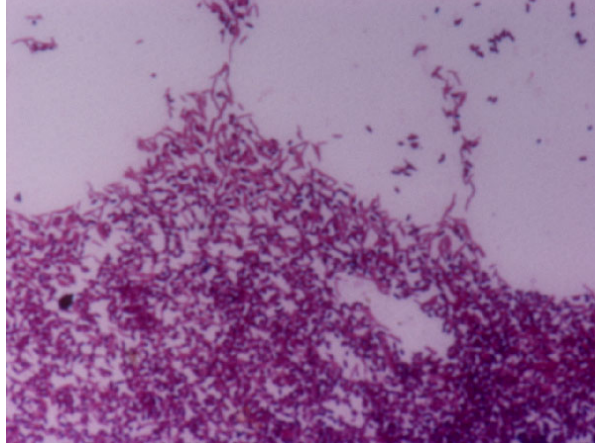
bilgiler çizelge 4.8' de yer almaktadır. Bu işletmede de *Flavobacterium* spp. yanında *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia ruckeri*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Achromobacter denitrificans*, *Brevundimonas diminuta*, *Comamonas testosteroni*, *Enterobacter cloacae*, *Kluyvera cryocrescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Oligella* spp., *Sphingomonas paucimobilis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Brevundimonas vesicularis*, *Xanthomonas campestris* ve *Moraxella lacunata* izole edilmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. II. İşletme örneklerinden izole edilen Gram negatif basiller

Bakteri No	Tarih	Kaynak	<i>Flavobacterium</i> spp.	Diğer Gram negatif basiller
186	29.12.06	Ovaryum sıvısı	<i>johnsoniae</i>	
187		Ovaryum sıvısı	<i>columnare</i>	
190		Ovaryum sıvısı	<i>johnsoniae</i>	
193		Sperma	<i>columnare</i>	<i>Pseudomonas putida</i> , <i>Oligella</i> spp.
194		Çıkış suyu	<i>branchiophilum</i>	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
203	12.01.07	Sperma	<i>aquatile</i>	<i>Oligella</i> spp.
221	17.01.07	Çıkış suyu	<i>columnare</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
223		Gözlenmiş yumurta	-	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
224	25.01.07	Gözlenmiş yumurta	<i>columnare</i>	
225		Dez. gözlenmiş yumurta	<i>aquatile</i>	<i>Hafnia alvei</i>
226		Dez. gözlenmiş yumurta	<i>branchiophilum</i>	
256	31.01.07	Dez. keseli yavru	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1	07.02.07	Giriş suyu	<i>aquatile</i>	
2		Yavru havuzu suyu	<i>aquatile</i>	
4		Çıkış suyu	<i>branchiophilum</i>	
10		Keseli yavru	<i>columnare</i>	
16		Dez. keseli yavru	<i>aquatile</i>	
24	13.02.07	Yemlenen yavru	<i>aquatile</i>	
25		Dez. gözlenmiş yumurta	<i>aquatile</i>	
32		Yavru havuzu suyu	-	<i>Escherichia coli</i>
50	28.02.07	Çıkış suyu	<i>columnare</i>	
51		Yemlenen yavru	<i>aquatile</i>	
80	18.03.07	Yemlenen yavru gövde	<i>johnsoniae</i>	
81		Yemlenen yavru gövde	<i>branchiophilum</i>	
86		Giriş suyu	<i>columnare</i>	
88		Giriş suyu	<i>branchiophilum</i>	
89		Yavru havuzu suyu	<i>aquatile</i>	
92		Yavru havuzu suyu	<i>columnare</i>	
93		Çıkış suyu	<i>aquatile</i>	
94		Çıkış suyu	<i>columnare</i>	
98	10.04.07	Yemlenen yavru gövde	-	<i>Xanthomonas campestris</i>
99		Yemlenen yavru karaciğer	<i>columnare</i>	
104		Yemlenen yavru karaciğer	<i>branchiophilum</i>	
105		Mrk. yavru hav. giriş suyu	<i>columnare</i>	
106		Mrk. yavru hav. giriş suyu	<i>columnare</i>	
124	25.04.07	Yemlenen yavru gövde	<i>branchiophilum</i>	
129		Yemlenen yavru gövde	<i>saccarophilum</i>	
131		Yemlenen yavru gövde	<i>columnare</i>	
132		Yemlenen yavru gövde	<i>columnare</i>	
133		Yemlenen yavru karaciğer	<i>columnare</i>	<i>Brevundimonas vesicularis</i>
140		Yemlenen yavru karaciğer	<i>columnare</i>	
141		Yukarı yavru hav. giriş suyu	<i>columnare</i>	
142		Yukarı yavru hav. giriş suyu	<i>columnare</i>	
148		Yukarı yavru hav. çıkış suyu	<i>saccarophilum</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
154		Yukarı yavru hav. çıkış suyu	<i>columnare</i>	<i>Yersinia ruckeri</i>
158		Mrk. yavru hav. giriş suyu	<i>johnsoniae</i>	
159		Mrk. yavru hav. çıkış suyu	<i>columnare</i>	

Mrk.: merkez yav.: yavru hav.: havuz dez.: dezenfekte edilmiş

Flavobacterium columnare (Şekil 4.6 işletmenin her iki tesisinin giriş, çıkış ve yavru havuzu sularında, ovaryum sıvısı, sperma, gözlenmiş yumurta, keseli yavru, yemlenen yavruların karaciğer ve gövdesinde saptanmıştır (Çizelge 4.8).



Şekil 4.6 *Flavobacterium columnare* (Gram boyama, 100X)

4.1.4. *Flavobacterium* İzolatlarının Antibakteriyel Duyarlılıkları

Her iki işletmeden izole edilen bakterilere antibakteriyel duyarlılık testi uygulanarak antibakteriyel duyarlılıkları belirlenmiştir. I. işletmede saptanan *Flavobacterium* spp. izolatlarından 20'si, II. işletmedeki izolatlardan da 37'sinin antibakteriyel duyarlılığına bakılmıştır. Referans suş olarak *Flavobacterium columnare* (Berlin izolatı, Kotterba, G., 2006) ve *Flavobacterium psychrophilum* (255/95, gökkuşağı alabalığı izolatı, Wiklund, T., 2007) kullanılmış, ancak *Flavobacterium psychrophilum* Müller Hinton Agar'da ürememiştir.

4.1.4.1. I. İşletme antibakteriyel duyarlılık sonuçları

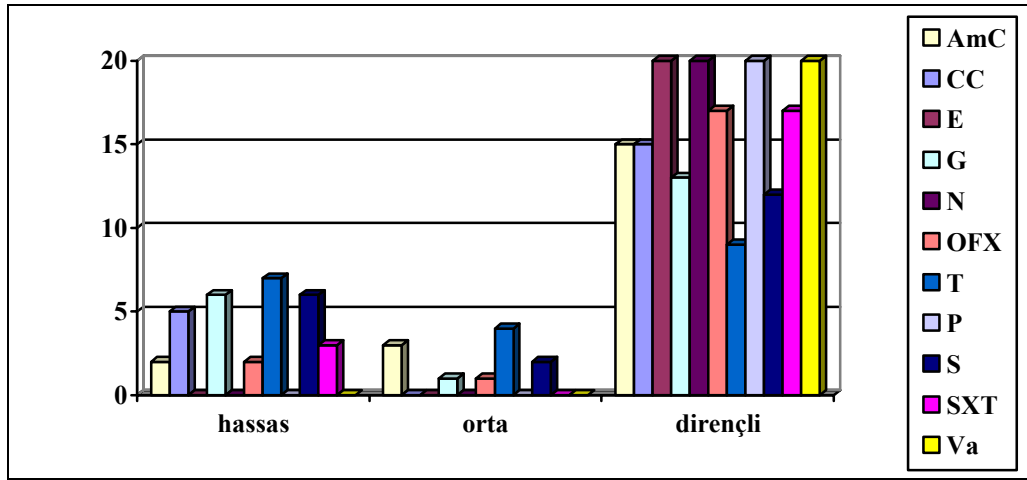
I. işletmede incelenen izolatların tamamının eritromisin, neomisin, penisilin ve vankomisin'e dirençli olduğu görülmektedir. Bu izolatlardan 7'sinin (% 35) oksitetrasiklin'e, 6'sının (% 30) gentamisin ve streptomisin'e, 5'inin (% 25) klindamisin'e, 3'ünün (% 15) sulfametoksazol-trimetoprim'e ve 2'sinin (% 10) amoksisilin / klavulinek asit ve ofloksasin'e duyarlı oldukları saptanmıştır (Çizelge 4.8, 4.9).

Çizelge 4.8. I. İşletme *Flavobacterium* spp.'nin antibakteriyel duyarlılık dağılımı

Duyarlılık	AmC	CC	E	G	N	OFX	T	P	S	SXT	Va
Duyarlı (H)	2	5	0	6	0	2	7	0	6	3	0
Dirençli (D)	15	15	20	13	20	17	9	20	12	17	20
Orta Duyarlı (O)	3	0	0	1	0	1	4	0	2	0	0

D: Dirençli H: Duyarlı

Şekil 4.7'de I. işletmeye ait *Flavobacterium* izolatlarının antibakteriyel duyarlılık dağılımı grafiksel olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.7. I. İşletme *Flavobacterium* spp.'nin antibakteriyel duyarlılık dağılımı

Çizelge 4.9. I. İşletme *Flavobacterium* spp. antibakteriyel duyarlılıkları (çap, mm)

Bakteri No	AmC	CC	E	G	N	OFX	T	P	S	SXT	Va
164	D	D	D	D	D	H (44)	H (23)	D	H (18)	H (25)	D
173	D	D	D	D	D	O (16)	D (11)	D	H (16)	H (30)	D
232	D	D	D	D	D	H (20)	D (10)	D	D	D	D (11)
241	D	D (9)	D	D	D	D (9)	D (8)	D	D	H (29)	D (13)
243	D	D	D	H (20)	D	D	D (13)	D	D (14)	D	D
244	D	H (36)	D	D	D	D	D	D	D	D	D
245	H (30)	D	D	D	D	D	H (30)	D	D	D	D
45	D	D	D	D	D	D	D (10)	D	D	D	D
43	D	D	D	H (22)	D	D	H (23)	D	H (24)	D	D
57	D	D	D	H (17)	D	D	D (11)	D	O (14)	D	D
60	D (14)	H (20)	D	D	D	D	H (22)	D	D	D	D
63	H (30)	D	D	D	D	D	H (28)	D	D	D	D
65	D	H (26)	D	D	D	D	H (25)	D	D	D	D
66	D (12)	D	D	H (19)	D	D	O (15)	D	H (15)	D	D
70	O (12)	H (32)	D	D	D	D	H (25)	D	D	D	D
71	D	D	D	H (22)	D	D	D (12)	D	H (16)	D	D
75	D	H (40)	D	D	D	D	O (16)	D	D	D	D
77	O (13)	D	D	H (26)	D	D	O (17)	D	H (20)	D	D
108	D	D	D	D	D	D	D (12)	D	O (13)	D	D
111	O (12)	D	D	O (15)	D	D	O (18)	D	D (10)	D	D
<i>F.columnare</i>	D	D	D	H	H	H	D	D	H	D	D

D: Dirençli H: Duyarlı O: Orta duyarlı

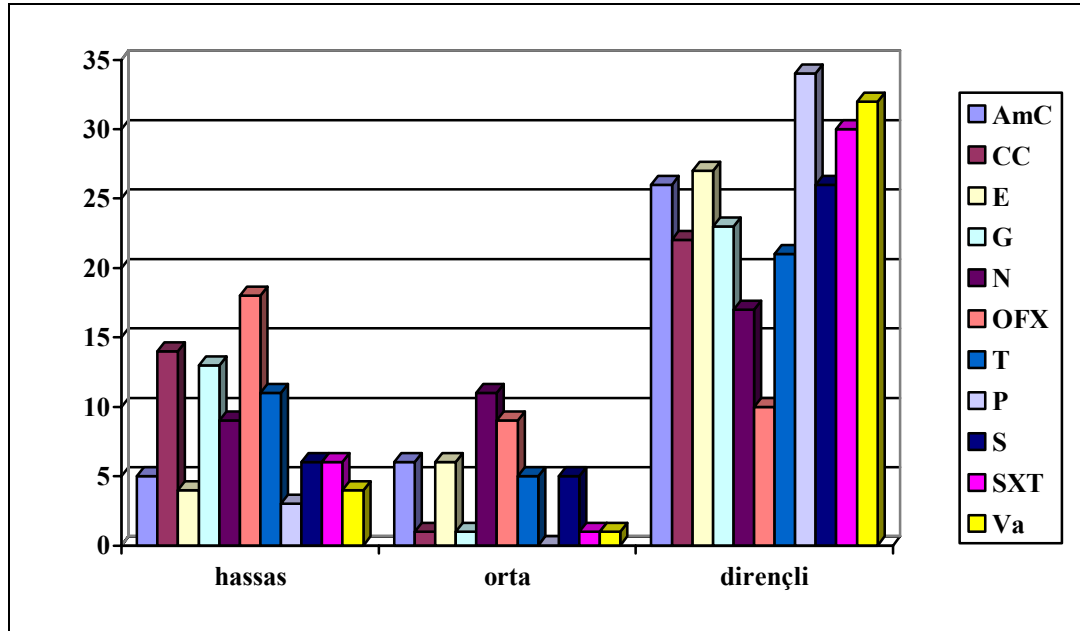
4.1.4.2. II. İşletme antibakteriyel duyarlılık sonuçları

II. işletmede izole edilen 37 adet *Flavobacterium* spp.'nin antibakteriyel duyarlılıkları, sırasıyla ofloksasin (% 48,6), klindamisin (% 37,8), gentamisin (% 35,1), oksitetrasiklin (% 29,7), neomisin (%24,3), streptomisin (% 16,2), sulfametoksazol-trimetoprim (% 16,2), amoksisilin / klavulunik asit (% 13,5), vankomisin (% 10,8), eritromisin (% 10,8) ve penisilin (% 8,1) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10, 4.11).

Çizelge 4.10. II. İşletme *Flavobacterium* spp.'nin antibakteriyel duyarlılık dağılımı

Duyarlılık	AmC	CC	E	G	N	OFX	T	P	S	SXT	Va
Duyarlı (H)	5	14	4	13	9	18	11	3	6	6	4
Dirençli (D)	26	22	27	23	17	10	21	34	26	30	32
Orta Duyarlı (O)	6	1	6	1	11	9	5	0	5	1	1

Şekil 4.8'de II. işletmeye ait *Flavobacterium* izolatlarının antibakteriyel duyarlılık dağılımı grafiksel olarak görülmektedir.



Şekil 4.8. II. İşletme *Flavobacterium* spp. antibakteriyel duyarlılık dağılımı

Çizelge 4.11. II. İşletme *Flavobacterium* spp. antibakteriyel duyarlılıkları (çap, mm)

Bakteri No	AmC	CC	E	G	N	OFX	T	P	S	SXT	Va
190	D	D	D	H (18)	H (22)	H (21)	D (11)	D	O (12)	D	D
203	D	D	D	D	H (21)	D	D (11)	D	D	D	D
221 ^c	D	D	D	D	O (17)	O (16)	D (11)	D	H (15)	D	D
224 ^c	D	D	O (15)	D	D	H (24)	D (11)	D	H (15)	D	D
225	D	H (26)	O (15)	D	H (21)	O (14)	D (10)	D	D	H (34)	D (14)
1	D	D	D	H (16)	O (14)	H (28)	D	D	O (14)	D	D
2	D	D	D	H (17)	H (17)	H (34)	D	D	H (15)	D	D
4	D	D	D	H (17)	O (16)	H (16)	D	D	O (12)	D	D
10 ^c	D	D	D	H (15)	O (13)	H (30)	D	D	O (12)	D	D
16	D	O (16)	D (7)	D	D	D (9)	D	D	D (11)	H (30)	O (16)
24	D	H (34)	O (16)	D	D	O (13)	D	D	D	D	D
25	D	D	D	H (16)	O (15)	H (26)	D	D	D	D	D
50 ^c	D	D	D	H (18)	H (17)	H (30)	D	D	D	D	D
51	H (22)	D	D (9)	H (17)	O (16)	D (11)	D	D	D	D	D (9)
81	D	H (26)	D	D	D	D (12)	D	D	D	D	D
86 ^c	D	H (36)	D	D	D	D (9)	O (17)	D	D	D	D
88	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	H (23)
89	D	D	D	H (20)	H (18)	H (34)	D (12)	D	H (18)	D	D
92 ^c	O (16)	H (42)	D (11)	O (14)	D	O (15)	H (22)	D (12)	D	H (24)	D
93	O (16)	H (34)	H (24)	D (12)	O (16)	H (26)	H (30)	D (13)	D	O (12)	D
94 ^c	O (14)	H (40)	D (13)	D	D	O (15)	O (14)	D (12)	D (11)	D	D
99 ^c	O (14)	D	H (20)	H (18)	O (14)	H (44)	H (24)	D	D (12)	H (36)	D
104	D (9)	D (12)	D	D	D (10)	O (13)	O (14)	D	D	H (32)	H (20)
105 ^c	D	H (32)	D	D	D	H (23)	O (14)	D	D	D	D
106 ^c	D	D	D	H (17)	H (17)	H (26)	D (13)	D	D	D	D
124	H (40)	D	D	D	H (18)	O (16)	H (26)	H (40)	D	D	H (26)
129	O (13)	H (23)	D (13)	D	D	O (13)	H (22)	D (12)	D	D	D
131 ^c	D	H (30)	H (28)	D	D (9)	H (20)	H (20)	H (22)	D	D	D
132 ^c	O (12)	H (23)	D	D	D	O (14)	H (26)	D (11)	D	D	D
133 ^c	D	D	D	D	D	D	D (12)	D	H (18)	D	D
140 ^c	H (20)	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
141	D	D	O (20)	H (28)	H (28)	D	H (40)	D	H (18)	D	D
142 ^c	H (22)	H (40)	D (12)	D (12)	D (10)	H (24)	H (21)	H (17)	D (10)	D	D
148	D (10)	H (36)	O (18)	D	D	D	H (34)	D (9)	D (10)	D	D
154 ^c	D	D	D	H (16)	O (15)	H (30)	D (10)	D	O (13)	D	D
158	H (23)	H (40)	O (16)	D (12)	O (13)	H (32)	H (22)	D	D (10)	D	D
159 ^c	D (10)	D (15)	H (24)	D (10)	O (16)	H (18)	O (14)	D	D	H (32)	H (18)

D: Dirençli H: Duyarlı O: Orta duyarlı ^c *Flavobacterium columnare* izolatları

İstatistiksel değerlendirmeler, *Flavobacterium aquatile* için gentamisin, neomisin, ofloksasin ve oksitetrasiklin'e (sırasıyla p= 0,023; 0,0001; 0,005 ve 0,002), *Flavobacterium branchiophilum* için ise ofloksasin ve vankomisin'e (p=0,006) hem hassasiyet hem de duyarlılık bakımından işletmeler arasındaki farkın anlamlı olduğunu göstermiştir. İlaç türleri göz önünde bulundurulmadan yapılan istatistiksel analiz, sadece *Flavobacterium aquatile*'de hassasiyet ve direnç bakımından 2 işletme arasında anlamlı bir farklılık olduğunu göstermiştir (p=0,030). İşletmeler göz önünde bulundurulmaksızın yapılan istatistiksel analizde ise *Flavobacterium columnare* ve *Flavobacterium branchiophilum* hem hassasiyet hem de direnç bakımından anlamlı farklılık saptanmıştır (p=0,030).

4.2. TARTIŞMA

Bu araştırma Mersin ili Çağlarca köyünde faaliyet gösteren iki gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmesinde *Flavobacterium* spp.'nin kuluçkahanelerdeki varlığı ve antibakteriyel ilaç duyarlıklarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, Aralık 2006 ve Nisan 2007 tarihleri arasında I. işletmeden 36 su ve 124 balık örneği, II. işletmeden 41 adet su örneği ve 146 adet balık örneği olmak üzere toplam 347 adet örnek incelenmiştir (Çizelge 3.1, 3.2).

Balık yetiştiriciliğinde suyun sadece mikrobiyolojik değil, fiziksel ve kimyasal yapısı da balıkların sağlığını direkt ya da indirekt etkilediğinden [11], işletmelerde kullanılan sular öncelikle bazı fiziksel ve kimyasal kriterler yönünden kontrol edilmiştir. Her iki işletmede kullanılan suyun ortalama sıcaklık, pH ve çözülmüş oksijen miktarları (Çizelge 4.1) yönünden gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği için uygun değerlere sahip olduğu görülmektedir [88]. Bu değerler 'Kıtaçi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri' [7] yönünden incelendiğinde işletmelerde kullanılan suyun I. sınıf su olduğu görülmektedir. Bu yönergeye göre [7] alabalık yetiştiriciliği için I. sınıf sular uygun görülmektedir. İşletmelerin kuluçka dolabına giren su aynı zamanda içme suyu olarak kullanılmaktadır. Her iki işletmenin kuluçka dolabında kullanılan suyun sahip olduğu bu fiziksel ve kimyasal değerler AB içme suyu yönergesi [6] 'ne uygundur.

Yumurta ve sperma sağımında kullanılan anaçların sağlıklı oldukları saptanmıştır. 'Balık örnekleri' yumurtaların döllenmesinden yavrular 3 aylık oluncaya kadar tüm gelişim basamaklarında hastalıklar yönünden incelenmiş, yumurta, gözlenmiş yumurta ve keseli yavru aşamalarında mantarlaşıma olgularına bağlı kayıplar her iki işletmede de meydana gelmiştir [75].

II. işletmede yem almaya başladıktan 30-40 gün sonra yavru balıklarda ölümler meydana gelmiş, 3 hafta kadar süren salgında mortalite % 50 civarında gerçekleşmiştir. Hasta ve ölen balıklarda renkte kararma, sırt yüzgecinde erozyon,

gözlerde eksoftalmus (Şekil 4.1, 4.2), solungaçta ve karaciğerde anemi, karaciğerde yer yer kanamalar ve dalakta büyüme saptanmıştır (Şekil 4.3). Gökkuşığı alabalığı yavrularında renkte kararırma, gözlerde eksoftalmus, solungaçta ve karaciğerde solgunluk, karaciğerde kanamalar, dalakta büyüme ve % 70'lere varan ölümlerin görüldüğü hastalıkların etkeni olarak birçok araştırmacı tarafından *Flavobacterium psychrophilum* identifiye edilmiştir [10, 20, 24, 26, 57, 94, 99]. Ülkemizde yapılmış olan araştırmalar da diğer araştırmacılarınkine benzer bulguları göstermektedir [15, 36, 50, 54, 93].

Ancak, bu projenin ana fikrini oluşturan gökkuşığı alabalığı yavru hastalığı etkeni araştırmanın yürütüldüğü her iki işletmede de tespit edilememiştir. Özellikle yavru gökkuşığı alabalıklarında septisemik seyir göstererek yüksek mortaliteye neden olan *Flavobacterium psychrophilum* [11, 59] dünyanın birçok ülkesinde [10, 18, 19, 20, 24, 25, 26, 30, 32, 38, 57, 59, 64, 83, 94, 99] ve birçok balık türünde bildirilmiştir [14, 29, 30, 37, 47, 55, 57, 66, 69, 77]. Etken ülkemizde de yetiştiriciliği yapılan gökkuşığı alabalıklarında da saptanmıştır [8, 15, 36, 50, 53, 54, 93].

Hastalanan yavruların sırt yüzgeçlerinin aşınması ile başlayan ve derinleştikçe “eyer” şeklini alan hastalığın etkeni olarak *Flavobacterium columnare* bildirilmektedir [8, 11, 19, 22, 41, 92, 98]. Kolumnaris hastalığı da %100'lere varan ölümlerle seyredebilmektedir [8, 98]. II. işletme su ve balık örneklerinde *Flavobacterium columnare* izole edilmiş olması ve bu bulguların da desteği ile II. işletmedeki yavru balıklarda kolumnaris hastalığı kuşkusu ağırlık kazanmaktadır.

Flavobacterium psychrophilum 10-12°C dolaylarında salgınlara neden olurken [17, 22, 57] *Flavobacterium columnare* 13°C'nin altında nadiren hastalığa neden olmakta ve 18-22°C'lerde salgınlara yol açtığı bildirilmiştir [11, 17, 98]. Salgının görüldüğü süreçte su sıcaklığı 11°C civarında ölçülmüştür. Hastalık önce II. işletmenin 2. tesisinde başlamış, daha sonra merkez tesisteki yavrularda da görülmüştür. İkinci tesisin fiziksel ve kimyasal su kalitesi merkez tesisten farklı bulunmamıştır. Ancak, 2. tesiste yavru havuzlarının üstünün açık olduğu, yavruların

güneş ışınlarıyla direkt temasta oldukları saptanmıştır. Baur ve Rapp [17] kuluçkahaneden havuzlara ya da göllere alınan yavrularda güçlü güneş ışınları nedeniyle balıkların gölge bulmaya çalışmalarının stres yaratarak hastalığın ortaya çıkmasına neden olduğunu bildirmişlerdir. Su sıcaklığı her ne kadar düşük olsa da, Mersin'in Nisan ayındaki yoğun güneşi altında yavruların strese maruz kaldıkları düşünülmektedir.

I. işletmede yem almaya başlayan yavrularda yoğun ölümler görülmemiştir. Aynı su kaynağından yararlanan bu iki işletmenin birinde hastalığın görülüp diğerinde görülmemesi bakım ve besleme koşullarına, etkenin türüne ve virulansına bağlamak mümkündür. Ayrıca, I. işletmede *Flavobacterium columnare*'nin saptanamamış olması da, II. işletmede görülen hastalığın *Flavobacterium columnare* nedeniyle meydana gelmiş olma olasılığını güçlendirmektedir.

Her iki işletmenin kuluçkahanesinde alınan toplam 347 adet örnekten 117'sinde (% 33,71) 141 adet *Flavobacterium* spp. izole edilmiştir. *Flavobacterium* spp. izolatu su örneklerinin 39'unda (% 50,64) 46 adet (% 32,62) ve balık örneklerinin 78'inde (% 28,88) 95 adet (% 67,38) bulunmuştur. Bu izolatların 45'i (% 31,91) I. işletmeden ve 96'sı (% 68,08) II. işletmeden saptanmıştır. Çevre koşullarındaki olumsuz değişimlerle balıkların hastalanmalarına yol açan bu etkenler toprak, su ve balıkların normal mikroflorasında yer almaktadırlar [8, 11, 28, 47]. Etkenlerin hem su ve hem de balık örneklerinde tespit edilmesi bu bilgiyle uyum halindedir. Yavru ölümlerinin görüldüğü II. işletmede izolat sayısının neredeyse 2 katı olması anlamlı görünmektedir. Bu veriler, her türlü olumsuz koşulda balıkların hastalık tehdidiyle karşı karşıya olduklarını göstermektedir.

Toplam izolatu 76'sı (% 42,93) *Flavobacterium aquatile*, 30'u (% 16,94) *Flavobacterium columnare*, 20'si (% 11,29) *Flavobacterium branchiophilum*, 12'si (% 6,77) *Flavobacterium johnsoniae* ve 3'ü (% 1,69) de *Flavobacterium saccarophilum* olarak belirlenmiştir. Su ve balık örneklerinde izole edilmiş olan bu etkenler bugüne kadar çeşitli balık türlerinde saptandığı bildirilen *Flavobacterium* türleri [21, 47, 103, 106] (Çizelge 2.2) içinde yer almaktadır.

Flavobacterium spp.'nin tür bazındaki dağılımına bakıldığında, su örneklerinden izole edilen etkenlerin 27'sinin (% 58,69) *Flavobacterium aquatile*, 11'inin (% 23,91) *Flavobacterium columnare*, 4'ünün (% 8,69) *Flavobacterium branchiophilum*, 3'ünün (% 6,52) *Flavobacterium johnsoniae* ve 1'inin (% 2,17) de *Flavobacterium saccharophilum* olduğu görülmektedir. Balık örnekleri izolatlarının ise 49'u (% 51,57) *Flavobacterium aquatile*, 19'u (% 20) *Flavobacterium columnare*, 16'sı (% 16,84) *Flavobacterium branchiophilum*, 9'u (% 9,47) *Flavobacterium johnsoniae* ve 2'si (% 2,10) de *Flavobacterium saccharophilum* olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5, 4.8).

I. İşletmede *Flavobacterium aquatile* 35 (% 77,77), *Flavobacterium johnsoniae* 6 (% 13,33) ve *Flavobacterium branchiophilum* 4 (% 8,88) adet bulunurken (Şekil 4.4), II. işletmede *Flavobacterium aquatile* 41 (% 43,15), *Flavobacterium columnare* 30 (% 31,57), *Flavobacterium branchiophilum* 16 (% 16,84), *Flavobacterium johnsoniae* 6 (% 6,31) ve *Flavobacterium saccharophilum* 3 adet (% 3,15) tespit edilmiştir (Şekil 4.5).

I. işletme su örneklerinde sadece *Flavobacterium aquatile* ve *Flavobacterium branchiophilum* izole edilirken, balık örneklerinde *Flavobacterium aquatile*, *Flavobacterium branchiophilum* ve *Flavobacterium johnsoniae* bulunmuş, II. işletmede ise hem su hem de balık örneklerinde 5 izolata da rastlanmıştır. Her iki işletmede de *Flavobacterium* spp.'nin çıkış suyundaki sayısal artışı dikkat çekicidir (Çizelge 4.3, 4.6).

Flavobacterium spp. izolatlarının yumurta ve sperma örnekleri hariç, tüm örneklerde, tüm gelişim basamaklarında var oldukları görülmektedir. Yem almaya başlayan yavrulardaki izolat sayısındaki artış somut olarak ayırt edilmektedir. İzolatların ovaryum sıvısında ve / veya spermada bulunmuş, ancak yumurtada saptanamamış olması anaçlardan yumurtaya bulaşmanın olmadığını düşündürmektedir. Ovaryum sıvısında ve spermada etkenlerin bulunması anaçların sağımı esnasında dışkı bulaşmasının da göstergesi olabileceği düşünülmektedir.

Gelişim basamaklarına göre balık örnekleri *Flavobacterium* spp. varlığı yönünden incelendiğinde (Çizelge 4.4, 4.7) yem alan yavrulardaki sayısal artış belirgin olarak dikkati çekmektedir. *Flavobacterium* spp.'nin balıkların normal bağırsak florası içinde yer alması bu artışın nedenini açıklamaktadır. Dezenfekte edilmiş bazı örneklerde izolat sayısının dezenfekte edilmemiş örneklerden daha yüksek olması ise, izolat sayılarının düşük olması nedeniyle göz ardı edilebileceği şeklinde yorumlanabilmektedir.

Her iki işletmede de en sık rastlanılan türün *Flavobacterium aquatile* olduğu görülmektedir. *Flavobacterium columnare* (Şekil 4.6) II. işletmenin her iki tesisinin giriş, çıkış ve yavru havuzu sularında, ovaryum sıvısı, sperma, gözlenmiş yumurta, keseli yavru, yemlenen yavruların karaciğer ve gövdesinde saptanmış, özellikle salgının görüldüğü süreçlerde izolat sayısında belirgin artış oluşmuştur (Çizelge 4.8). Hastalık sürecinde *F. columnare* izolatlarındaki belirgin sayısal artış, yavru balıkların sırt yüzgecinde görülen derin erozyonların “eyer” hastalığını akla getirmesi, I. işletmede bu etkenin ve hastalığın görünmemesi nedenleriyle II. işletmede yavru balıklarda yüksek oranda ölümle seyreden salgın hastalığa *Flavobacterium columnare*'nin yol açtığı düşüncesi ağırlık kazanmaktadır. Ancak, kolumnaris hastalığının daha çok dış belirtilerle seyretmesi, diğer klinik ve otopsi bulgularının varlığı, su sıcaklığının düşüklüğü miks bir enfeksiyon olasılığını da akla getirmektedir.

Kolumnaris hastalığı da tüm dünyada, birçok balık türünde bildirilmiş olup [3, 4, 5, 9, 12, 13, 19, 41, 43, 79, 86, 87, 90, 98], ülkemizde yetiştiriciliği yapılan gökkuşuğu alabalığı yavrularında identifiye edilmiştir [3]. Su sıcaklığına, olumsuz çevre koşulları, patojenin virulansına ve balık türüne bağlı olarak ölüm oranı % 10-100 arasında değişmektedir [41, 98]. Proje kapsamında II. işletmedeki yavru balıklarda ölüm oranı % 50'yi geçmiştir. Suyun fiziksel ve kimyasal özelliklerinin optimum değerlerde olmasına karşın, yavruların direkt güneş altında olmaları, populasyon yoğunluğunun fazla olması gibi nedenlerle ölüm oranı oldukça yüksek oranlarda seyretmiştir.

Her iki işletmede de hem su hem de balık örneklerinde *F. branchiophilum* saptanmış olmasına karşın, 'bakteriyel solungaç hastalığı'na rastlanmamıştır. Solungaçlarda konjesyon, epitel hücrelerinin hiperplazisi, filament lamellalarının birbirine yapışması, dejenerasyonu ve nekroze olması ile seyreden [8, 11, 47, 61] bu hastalığa dair semptomlar yavru balıklarda görülmemiştir.

Bernardet [19], *F. columnare* izolatlarının streptomisin, tetrasiklin, eritromisin ve novobiosine duyarlı, gentamisin, neomisin, trimetoprime dirençli oldukları bildirilmiştir. Decoster ve ark. [34] da bu etkenin eritromisin, oksitetrasiklin ve streptomisine duyarlı, sulfametoksazol ve neomisine dirençli olduklarını belirtmişlerdir. Araştırma bulgularımıza göre en duyarlı antibakteriyel ilaçların klindamisin, gentamisin, ofloksasin, oksitetrasiklin olduğu, eritromisin, penisililn, vankomisin ve amoksisiline direncin ise çok yüksek olduğu görülmektedir.

Bu araştırmanın antimikrobiyel duyarlılık test sonuçları (Çizelge 4.9, 4.10) *Flavobacterium* spp.'nin genel olarak tüm antibakteriyel ilaçlara karşı yüksek bir dirençlilik geliştirdiklerini ortaya koymuştur (Şekil 4.7 ve 4.8). Bu izolatların en duyarlı oldukları antimikrobiyel ilaç olarak I. işletmede oksitetrasiklin (% 35), II. işletmede de ofloksasin saptanmıştır (% 48,6). *Flavobacterium columnare* ve *Flavobacterium branchiophilum* izolatlarının antibakteriyel duyarlılıklarının diğer izolatlara oranla daha yüksek olduğu anlaşılmıştır (p=0,030).

Antibakteriyel direncin en duyarlı antibakteriyel ilaçta bile % 50'nin üzerinde olması, yanlış ve gereksiz antibakteriyel ilaç kullanımları neticesinde dirençli bakteri suşlarının geliştiğini, hastalık çıkması durumunda sağaltımda zorluklar yaşanabileceğini göstermektedir.

Bu işletmelerde gerek suda ve gerekse de balık örneklerinde *Flavobacterium* spp. yanında saptanmış olan *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei* ve *Pseudomonas putida* izolatlarının balık hastalıklarındaki önemi bilinmektedir [8, 11, 17, 22, 28, 53, 92]. Bu araştırma çerçevesinde gerek su ve

gerekse de balık örneklerinde saptanmış olan Gram negatif bakteri bulgularına benzer bulgular diğer araştırmacılarca da bildirilmiş, su ve balık mikroflorası arasındaki paralellik vurgulanmıştır [2, 51, 84]. Bizim bulgularımız da içinde yaşadıkları su ortamındaki bakteri florasının balıkları direkt olarak etkilediğini göstermiştir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Yapılmış olan bu çalışma ile, Mersin ili Çağlarca Köyü'ndeki iki işletmeden, beş ay süre ile toplam 270 adet gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) sperma, ovaryum sıvısı, yumurta, döllenmiş yumurta, keseli yavru ve yavru örnekleri ve ayrıca işletmelere giren, kuluçka havuzu, yavru havuzu, anaç havuzu ve çıkış suyu örnekleri rasgele güzel örnekleme metoduyla alınmıştır. Alınan bu örnekler *Flavobacterium* spp. yönünden incelenmiş, diğer Gram negatif bakteriler de identifiye edilmiş ve *Flavobacterium* spp. izolatlarının antibakteriyel duyarlılık testleri yapılmıştır.

Bu çalışmanın sonucunda,

1. İşletmelerde kullanılan suların fiziksel ve kimyasal özellikleri yönünden gökkuşağı alabalık yetiştiriciliği için uygun olduğu,
2. İşletme sahiplerinin gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği ile ilgili bilgi yetersizliklerinin olduğu,
3. İşletmelerde kullanılan sularda balık patojenlerinin mevcut olduğu,
4. *Flavobacterium* spp. izolatlarının ve diğer Gram negatif bakterilerin su örneklerinde ve balık örneklerinde paralellik taşıdığı,
5. Olumsuz çevre, bakım ve besleme koşullarında salgın hastalıklar nedeniyle büyük kayıpların meydana gelebileceği,
6. Yumurta-yavru örneklerinde povidin/iodin ile yapılan dezenfeksiyonun bakteri üremesi inhibisyonu üzerine kısmen etkili olduğu,
7. Yumurta-yavru aşamalarında bakteri yoğunluğunun yavrular geliştikçe arttığı,
8. İşletmeler arasında bakteri sayısı ve mikroflora yönünden genel olarak farklılık olmadığı,
9. Ovaryum sıvısı ve spermada izole edilen bakterilerin yumurtalarda yumurtalarda görülmemesi, vertikal bulaşmanın olmadığını,
10. Sperma ve ovaryum sıvısındaki bakterilerin sağım esnasında gaitanın bulaşması nedeniyle olabileceği,

11. Horizontal bulaşmanın ise su ve anaçlarda saptanan bakteriler aracılığıyla olabileceği,

12. Her iki işletmede de dezenfektan ve antibakteriyel ilaçların bilinçsizce kullanıldığı görülmüştür.

Öneriler,

1. Gökkuşığı alabalığı yetiştiricilerine yönelik eğitim seminerleri verilmelidir.

2. Su kaynaklarında saptanan bakteriler dikkate alınarak, çevresel koşullara, balıklarda iyi bakım ve besleme koşullarına dikkat edilmelidir.

3. Anaçların sağlımları esnasında yumurta ve spermaya gaita bulaşmasının önüne geçilmelidir.

4. Ölü yumurtalar sağlamlardan ayrılmalıdır.

5. Hastalık çıkması durumunda, sağaltıma geçmeden önce antibakteriyel duyarlılık testi mutlaka yapılmalıdır. Gereksiz, uygun olmayan ve yanlış ilaç kullanımlarının önüne geçilmelidir.

6. *Flavobacterium* türlerinin izolasyonu uzun süre aldığından, teşhiste hızlı sonuçların alınabildiği moleküler yöntemler uygulanmalıdır.

7. Özellikle, her iki işletmede de en çok izole edilen *Flavobacterium aquatile*, ayrıca diğer izolatların patojenite ve virulans denemeleri hem gökkuşığı alabalıklarında hem de diğer bazı sucul canlılar üzerinde yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- [1] Akaylı, T. ve Korun, J. “ Bir lepiştes üretim ünitesindeki balıklarda (*Poecillia reticulata*) *Pseudomonas fluorescens* ile birlikte görülen Flavobakteriosis olgusu ”, İst. Üni. Veteriner Fak. Dergisi, **30(2)**: 133-142, (2004).
- [2] Allen, D. A., Austin B. and Colwell R. R. “ Numerical taxomony of bacterial isolates associated with a freshwater fishery ”, Journal of General Microbiology, **12 (9)**: 2043-2062, (1983).
- [3] Altinok, I. “ Toxicity and therapeutic effects of Chloramine-T for treating *Flavobacterium columnare* infection of goldfish ”, Aquaculture, **239**: 47–56, (2004).
- [4] Altinok, I. and Grizzle, J. M., “ Effects of low salinities on *Flavobacterium columnare* infection of euryhaline and freshwater stenohaline fish ”, J. of Fish Diseases, **24**: 361–367, (2001).
- [5] Alvarado, V., Stanislavski, D., Boehm, K. H. and Schlotfeldt, H. J. “ First isolation of *Flexibacter columnaris* in eel (*Anguilla anguilla*) in Northwest Germany (Lower Saxony) ”, Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., **9(4)**:96-97, (1989).
- [6] Anonim a. “ On the quality of water intended for human consumption, Council Directive 98/83/EC ”, Official Journal of the European Communities, (1998).
- [7] Anonim b. “ Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği ”, Resmi Gazete: 31.12.2004, Sayı: 25687, (2004).
- [8] Arda, M., Seçer, S. ve Sarıeyyüpoğlu, M., “ Balık Hastalıkları ”. Medisan Yayınevi, s.: 83-92, Ankara, (2005).
- [9] Arias, C. R., Welker, T. L., Shoemaker, C. A., Abernathy, J. W. and Klesius, P. H., “Genetic fingerprinting of *Flavobacterium columnare* isolates from cultured fish”, Journal of Applied Microbiology, **97**: 421-428, (2004).
- [10] Austin, B. “ The recovery of *Cytophaga psychrophila* from two cases of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) fry sendrome in the U. K. ”, Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., **12(6)**:207-208, (1992).
- [11] Austin, B. and Austin, D. A. “ Bacterial Fish Pathogens ”, Ellis, Horwood Limited, London, 384 p., (1993).

- [12] Bader, J. A., Shoemaker, C. A. and Klesius, P. H. “ Rapid detection of columnaris disease in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) with a new species-specific 16-S rRNA gene-based PCR primer for *Flavobacterium columnare* ”, *Journal of Microbiological Methods*, **52**(2): 209-220, (2003).
- [13] Bader, J. A., Moore, S. A. and Nusbaum, K. E. “ The effect of cutaneous injury on a reproducible immersion challenge model for *Flavobacterium columnare* infection in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) ”, *Aquaculture*, **253**: 1-9, (2006).
- [14] Baliarda, D., Faure, D. and Urdaci, M. C. “ Development and application of a nested PCR to monitor brood stock salmonid ovarian fluid and spleen for detection of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum* ”, *Journal of Applied Microbiology*, **92**: 510-516, (2002).
- [15] Balta, F. “ Kültürü yapılan alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) görülen *Flexibacter psychrophila* enfeksiyonu ”, IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu 17-19 Eylül 1997, Eğirdir/Isparta, s.: 641-648, (1997).
- [16] Basson, A., Flemming, L. A. and Chenia, H. Y. “ Evaluation of adherence, hydrophobicity, aggregation and biofilm development of *Flavobacterium johnsoniae*-like isolates ”, *Microbial Ecology*, DOI: 10.1007/s00248-007-9245-y Springer Science&Business Media, LLC ,(2007).
- [17] Baur, W. H. und Rapp, J. “ Gesunde Fische ”, Blackwell Verlag GmbH, Berlin, 316 p., (2003).
- [18] Bernardet, J. F., Baudin-Laurencin, F. and Tixerant, G., “ First identification of *Cytophaga psychrophila* in France ”, *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, **8**(5):104-105, (1988).
- [19] Bernardet, J. F. “ *Flexibacter columnaris*: first description in France and comparison with bacterial strains from other origins ”, *Dis. Aquat. Org.*, **6**: 37-44, (1989).
- [20] Bernardet, J. F., and Kerouault B. “ Phenotypic and genomic studies of “*Cytophaga psychrophila*” isolated from disease rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in France ” *Applied and Environ. Micro.* **55**(7):1796-1800, (1989).
- [21] Bernardet, J. F., Segers, P., Vancanneyt, M., Berthe, F., Kersters, K., and Vandamme, P. “ Cutting a gordian knot: emended classification and description

- of the genus *Flavobacterium*, emended description of the family *Flavobacteriaceae*, and proposal of *Flavobacterium hydatis* nom. nov. (Basonym, *Cytophaga aquatilis* Strohl and Tait 1978) ”, International Journal of Systematic Bacteriology, **46(1)**:128–148, (1996).
- [22] Bowser, P. R. “ Diseases of Fish ”, PhD, Aquatic Animal Health Program, Department of Microbiology and Immunology, College of Veterinary Medicine Cornell University, Ithaca, New York, 26 p., (1999).
- [23] Brown, L. L., Cox, W. T. and Levine, R. P. “ Evidence that the causal agent of bacterial cold-water disease *Flavobacterium psychrophilum* is transmitted with in salmonid eggs ”, Dis. Aquat. Org., **29**:213-218, (1997).
- [24] Bruno, D. W. “ *Cytophaga psychrophila*, (= *Flexibacter psychrophilus*) (Borg), histopathology associated with mortalities among farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Walbaum) in the UK ”, Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., **12(6)**:215-216, (1992).
- [25] Bruun, M. S., Schmidt, A. S., Madsen, L. and Dalsgaard I. “ Antimicrobial resistance patterns in Danish isolates of *Flavobacterium psychrophilum* ”, Aquaculture, **187**:201-212, (2000).
- [26] Bustos, P. A., Calbuyahue, J., Montana, J., Opazo, B., Entrala, P. and Solervicens R. “ First isolation of *Flexibacter psychrophilus*, as causative agent of rainbow trout fry sendrome (RTFS), producing rainbow trout mortality in Chile ”, Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., **15(5)**:162-164, (1995).
- [27] Capila, I., Wu, Y., Rethwisch, D. W., Matte, A., Cygler, M. and Linhardt, R. J. “ Role of arginine 292 in the catalytic activity of chondroitin AC lyase from *Flavobacterium heparinum* ”, Biochimica et Biophysica Acta, **1597**:260– 270, (2002).
- [28] Cengizler, İ. “ Balık Hastalıkları Ders Kitabı ”, Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fak. Yayın. No: 7, Adana, 136 s., (2000).
- [29] Cipriano, R. C., Ford, L. A. and Teska, J. D. “ Association of *Cytophaga psychrophila* with mortality among eyed eggs of Atlantic Salmon (*Salmo Salar*) ”, Journal of Wildlife Disease, **31(2)**:166-171, (1995).
- [30] Cipriano, R. C. and Holt, R. A. “ *Flavobacterium psychrophilum*, cause of bacterial cold-water disease and rainbow trout fry syndrome ”. Fish Disease,

- Leaflet No. 86. United States Dept. of the Interior., U.S., Geological Service, National Fish Health Research Laboratory, Kearneysville, WV. (2005).
- [31] Cowan, S. T. “ Manual for the Identification of Medical Bacteria ”, University Printing House, Cambridge, 238 p., (1974).
- [32] Dalsgaard, I. and Madsen, L. “ Bacterial pathogens in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), reared at Danish freshwater farms ”, J. of Fish Diseases, **23(3)**: 199-209, (2000).
- [33] Dalaskov, H., Austin, D. A. and Austin, B. “ An improved growth medium for *Flavobacterium psychrophilum* ”, Letters in Applied Microbiology, **28**, 297-299, (1999).
- [34] Decostere, A., Haesebrouck, F. and Devriese, L. A. “ Characterization of four *Flavobacterium columnare* (*Flexibacter columnaris*) strains isolated from tropical fish ”, Veterinary Microbiology, **62**: 35-45, (1998).
- [35] Decostere, A., Lammens, M. and Haesebrouck, F. “ Difficulties in experimental infections studies with *Flavobacterium psychrophilum* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using immersion, oral and anal challenges”, Research in Veterinary Science, **69**: 165-169, (2000).
- [36] Diler, Ö. ve Altun, S. “ Kültürü yapılan gökkuşağı alabalığından izole edilen *Flavobacterium psychrophilum*'un fenotipik karakterleri ”, S. D. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, **7**: 1-8, (2003).
- [37] Ekman, E., Börjeson, H., and Johansson, N. “ *Flavobacterium psychrophilum* in baltic salmon *Salmo salar* brood fish and their offspring ”, Dis. Aquat. Org., **37**: 159-163, (1999).
- [38] Ekman, E. “ Natural and experimental infections with *Flavobacterium psychrophilum* in salmonid fish ”, Doctoral thesis, Department of Pathology, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, (2003).
- [39] Ekman, E. and Norrgren, L., “ Pathology and immunohistochemistry in three species of salmonids after experimental infection with *Flavobacterium psychrophilum* ”, J. of Fish Diseases, **26(9)**: 529-540, (2003).
- [40] Evensen, Ø and Lorenzen, E. “ An immunohistochemical study of *Flexibacter psychrophilus* infection in experimentally and naturally infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry ”, Dis. Aquat. Org., **25**: 53-61, (1996).

- [41] Farmer, B. D. “ Improved methods for the isolation and characterization of *Flavobacterium columnare* ”, A Thesis, Submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in The Interdepartmental Program in Veterinary Medical Sciences through the Department of Pathobiological Sciences, Northwestern State University, (2004).
- [42] Faruk, Md. A. R., Campbell, R. E., Thompson, K. D., Rangdele R. E. and Richards R. H. “ Characterisation of *Flavobacterium psychrophilum*, the causative agent of rainbow trout fry syndrome(RTFS), using rabbit serum ”, Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., **22(6)**:354-365, (2002).
- [43] Figueiredo, H. C. P., Klesius, P. H., Arias, C. R., Evans, J., Shoemaker, C. A., Pereira J., D. J. and Peixoto, M. T. D., “ Isolation and characterization of strains of *Flavobacterium columnare* from Brazil ”, J. of Fish Diseases, **28**:199-204, (2005).
- [44] Flemming, L., Rawlings, D. and Chenia, H. “ Phenotypic and molecular characterisation of fish-borne *Flavobacterium johnsoniae*-like isolates from aquaculture systems in South Africa ”, Research in Microbiology, 158: 18-30, (2007).
- [45] Garcia, C., Pozet, F. and Michel, C. “ Standartization of experimental infection with *Flavobacterium psychrophilum*, the agent of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fry syndrome ”, Dis. Aquat. Org., **42**:191-197, (2000).
- [46] Holt, R. A and Fryer, J. L. “ Vaccination of juvenile Coho Salmon against the bacterial cold-water disease agent, *Flexibacter psychrophilus* ”, Proceedings Of The 41st Annual Northwest Fish Culture Conference, Fish health, Idaho Department Of Fish And Game Boise, Idaho, p.:62-69, (1990).
- [47] Holt, R. A., Rohovec, J. S. and Fryer, J. L. “ Bacterial cold-water disease ”, In: “Bacterial Diseases of Fish”, Inglis, V., Roberts, R. and Bromage, N. R. (ed.), Blackwell Scientific Publications, Oxford., 312 p., (1993).
- [48] Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. and William, S. T. “ Bergery’s Manual of Determinative Bacteriology ”, 9th Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 787 p., (2000).

- [49] Izumi, S., Aranishi, F., and Wakabayashi, H. “ Genotyping of *Flavobacterium psychrophilum* using PCR-RFLP analysis ”, Dis. Aquat. Org., **56**: 207-214, (2003).
- [50] İspir, Ü., Şeker, E., Sağlam, N. ve Dörücü, M. “ Doğu anadolu bölgesinde bazı gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmelerinde görülen *Flavobacterium psychrophilum* enfeksiyonunun araştırılması ”, F. Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, **16(4)**: 718-724, (2004).
- [51] Kapetanović, D., Kurtović, B. and Teskeredžić, E. “ Differences in bacterial population in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbum) fry after transfer from incubator to pools ”, Food Technol. Biotechnol., **43 (2)**:189–193, (2005).
- [52] Kent, M. L., Groff, J. M., Morrison, J. K., Yasutake, W. T. and Holt, R. A. “ Spiral swimming behaviour due to cranial and vertebral lesions associated with *Cytophaga psychrophila* infections in salmonid fishes ”, Dis. Aquat. Org., **6**: 11-16, (1989).
- [53] Kılıç, A., Şeker, E., Özcan, M. ve İspir, Ü. “ Elazığ’daki gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmelerinin bakteriyel yönden incelenmesi ”, Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi, **19(2)**: 129-132, (2007).
- [54] Korun, J., ve Timur, G. “ Gökkuşığı alabalığında FMS üzerine bir çalışma ”, İst. Üniv. Su Ürünleri Dergisi, **12**:15-30, (2001).
- [55] LaFrentz, B. R. and Cain, K. D. “ Bacteriel Coldwater Disease ” An Extension Bulletin for the Western Regional Aquaculture Center (WRAC), Department of Fish and Wildlife Resources and the Aquaculture Research Institute, University of Idaho, Moscow, ID 83844-1136, (2004).
- [56] Lehmann, J., Mock, D., Stürenbreg, F.-J. and Bernardet, J. F. “ First isolation of *Cytophaga psychrophila* from a systemic disease in eel and cyprinids ”, Dis. Aquat. Org., **10**:217-220, (1991).
- [57] Lorenzen, E., Dalsgaard, L., From, J., Hansen, E. M., I,HØrlyck, V., Korsholm,H., Mellergaard, S. and Olesen, N.J. “ Preliminary investigations of fry mortality syndrome in rainbow trout ”, Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., **11(2)**: 77-79, (1991).

- [58] Lorenzen, E. and Karas, N. “ Detection of *Flexibacter psychrophilus* by immunofluorescence in fish suffering from fry mortality syndrome: a rapid diagnostic method ”, Dis. Aquat. Org., **31**: 231-234, (1992).
- [59] Lorenzen, E. “ Studies on *Flexibacter psychrophilus* in relation to rainbow trout fry syndrome (RTFS) ”, National Veterinary Laboratory and Royal Veterinary and Agricultural University, Aarhus, p.:1-25, (1994).
- [60] Ma, X., Wang, Z., Li, S., Shen, Q. and Yuan, Q. “ Effect of CaCl₂ as activity stabilizer on purification of heparinase I from *Flavobacterium heparinum* ”, Journal of Chromatography B, **843**: 209–215, (2006).
- [61] MacPhee, D. D., Ostland, V. E., Lumsden, J. S. and Ferguson, H. W. “ Development of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to estimate the quantity of *Flavobacterium branchiophilum* on the gills of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* ”, Dis. Aquat. Org., **21**: 13-23, (1995a).
- [62] MacPhee, D. D., Ostland, V. E., Lumsden, J. S., Derksen, J. and Ferguson, H. W. “ Influence of feeding on the development of bacterial gill disease in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* ”, Dis. Aquat. Org., **21**: 163-170, (1995b).
- [63] Madetoja, J., Nyman, P. and Wiklund, T. “ *Flavobacterium psychrophilum*, invasion into and shedding by rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* ”, Dis. Aquat. Org., **43**: 27-38, (2000).
- [64] Madetoja, J., Hänninen, M. L., Hirvelä-Koski, V., Dalsgaard, I. and Wiklund T. “ Phenotypic and genotypic characterization of *Flavobacterium psychrophilum* from Finnish fish farms ”, J. of Fish Diseases, **24(8)**:469-475, (2001).
- [65] Madetoja, J., and Wiklund, T. “ Detection of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum* in water from fish farms ”, System. Appl. Microbiol. **25**: 259–266, (2002).
- [66] Madetota, J., Dalsgaard, I. and Wiklund, T. “ Occurrence of *Flavobacterium psychrophilum* in fish-farming environments ”, Dis. Aquat. Org., **52**:109-118, (2002).
- [67] Madsen, L. and Dalsgaard, I., “ Reproducible methods for experimental infection with *Flavobacterium psychrophilum* in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* ”, Dis. Aquat. Org., **36**: 169-176, (1999).

- [68] Madsen, L. and Dalsgaard, I. “ Comparative studies of Danish *Flavobacterium psychrophilum* isolates: ribotypes, plasmid profiles, serotypes and virulence ”, *Journal of Fish Diseases*, **23**: 211-218, (2000).
- [69] Madsen, L., Møller, J. D. and Dalsgaard, I. “ *Flavobacterium psychrophilum* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), hatcheries: studies on broodstock, eggs, fry and environment ”, *J. of Fish Diseases*, **28(1)**:39-47, (2005).
- [70] Michel, C., Antonio, D. and Hedrick, R. P. “ Production of viable cultures of *Flavobacterium psychrophilum*: approach and control ”, *Research in microbiology*, **150**: 351-358, (1999).
- [71] Nader, H. B., Kobayashi, E. Y., Chavante, S. F., Tersariol, I. L. S., Castro, R. A. B., Shinjo, S. K., Naggi, A., Torri, G., Casu, B. and Dietrich, C. P. “ New insights on the specificity of heparin and heparan sulfate lyases from *Flavobacterium heparinum* revealed by the use of synthetic derivatives of K5 polysaccharide from *E. coli* and 2-O-desulfated heparin ”, *Glycoconjugate Journal*, **16**: 265–270, (1999).
- [72] Olivares-Fustera, O., Bakera, J. L., Terhunea, J. S., Shoemaker, C. A., Klesius, P. H., and Ariasa, C. R., “ Host-specific association between *Flavobacterium columnare* genomovars and fish species ”, *Systematic and Applied Microbiology*, **30**: 624–633, (2007).
- [73] Ostland, V. E., Lumsden, J. S., MacPhee, D. D., Derksen, J. A. and Ferguson, H. W. “ Inhibition of the attachment of *Flavobacterium branchiophilum* to the gills of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*(Walbaum) ”, *J. of Fish Diseases*, **20**:109-117, (1997).
- [74] Ostland, V. E., Byrne, P. J., Lumsden, J. S., MacPhee, D. D., Derksen, J. A., Haulena, M., Skar, K., Myhr, E. and Ferguson, H. W. “ Atypical bacterial gill disease: a new form of bacterial gill disease affecting intensively reared salmonids ”, *J. of Fish Diseases*, **22**:351-358, (1999).
- [75] Özer, S., Demirel, M., Us, M., ve Yıldırım, S. “ Mersin ili Çağlarca Köyü’ndeki gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) kuluçkahanelerinde toplam aerobik bakteri sayımı, mantar varlığı ve gram negatif bakterilerin izolasyonu ”, XIV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Muğla, s.: 413, (2007).

- [76] Plumb, J. A. and Browser, P.R. “ Microbial Fish Disease Laboratory Manual ”, Brown Printing Company Montgomery, First printing, Alabama, p.:95, (1983).
- [77] Rangdale, R. E., Richards, R. E., and Alderman, D. J. “ Isolation of *Cytophaga psychrophila*, causal agent of rainbow trout fry sendrome (RTFS) from reproductive fluids and egg surfaces of *Flexibacter Psychrophilus* ”. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., **16(2)**:63-67, (1996).
- [78] Rangdale, R. E., Richards, R. H. and Alderman, D. J. “ Minimum inhibitory concentrations of selected antimicrobial compounds against *Flavobacterium psychrophilum* the causal agent of rainbow trout fry syndrome (RTFS) ”, Aquaculture, **158**: 193-201,(1997).
- [79] Rehulka, J. and Minarik, B. “ Blood parameters in brook trout *Salvelinus fontinalis* (Mitchill, 1815), affected by columnaris disease ”, Aquaculture Research, **38**: 1182-1197, (2007).
- [80] Rheinheimer, G. “ Aquatic Microbiology ”,4th Edt., John Wiley&Sons, Germany, 362 p., (1994).
- [81] Rogers, R. and Chapman, P. F. “Variation in iodine concentration during water hardening of salmonid eggs”, Proceedings Of The 41st Annual Northwest Fish Culture Conference, Fish culture, Idaho Department Of Fish And Game Boise, Idaho, p.:120-129, (1990).
- [82] Ryce, E. K. N. and Zale, A. V. “ Bacterial cold water disease in westslope cutthroat trout: hatchery epidemiology and control ”, Final Report. Montana Water Center at Montana State University –Bozeman, (2004).
- [83] Santos, Y., Huntly, P. J., Turnbull, A. and Hasting, T. S. “ Isolation of *Cytophaga psychrophila* (*Flexibacter psychrophilus*) in association with rainbow trout mortality in the United Kingdom ”, Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., **12(6)**:209-210, (1992).
- [84] Schmidt, A. S., Bruun, M. S., Dalsgaard, I., Pedersen, K. and Larsen, J. L. “ Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms ”, Appl. Environ. Microbiol., **66(11)**: 4908–4915, (2000).

- [85] Schneck, J. L. and Caslake, L. F., “ Genetic diversity of *Flavobacterium columnare* isolated from fish collected from warm and cold water ”, Short communication., J. of Fish Diseases, **29**:245-248, (2006).
- [86] Shoemaker, C. A., Xu, De-Hai, Shelby, R. A. and Klesius, P. H. “ Detection of cutaneous antibodies against *Flavobacterium columnare* in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque) ”, Aquaculture Research, **36**:813-818, (2005).
- [87] Suomalainen, L. R., Tirola, M. A. and Valtonen, E. T. “ Influence of rearing conditions on *Flavobacterium columnare* infection of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) ”, J. of Fish Diseases, **28**:271-277, (2005).
- [88] Tekelioğlu, N. “ İçsu Balıkları Yetiştiriciliği ”, Nobel kitabevi, Adana, 278 s., (2005).
- [89] Thomas-Jinu, S. and Goodwin, A. E. “ Morphological and genetic characteristics of *Flavobacterium columnare* isolates: correlations with virulence in fish ”, J. of Fish Diseases, **27**:29-35, (2004a).
- [90] Thomas-Jinu, S. and Goodwin, A. E. “ Acute columnaris infection in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque): efficacy of practical treatments for warmwater aquaculture ponds ”, J. of Fish Diseases, **27**:23-28, (2004b).
- [91] Tirola, M. A., Valtonen, E. T., Rintamäki-Kinnunen, P. and Kulomaa, M. S. “ Diagnosis of flavobacteriosis by direct amplification of rRNA genes ”, Dis. Aquat. Org., **51**:93-100, (2002).
- [92] Timur, G. ve Timur, M. “ Balık Hastalıkları ”, İstanbul Üniversitesi Rektörlük Yayınları, No: 4426, İstanbul, 538 s., (2003).
- [93] Timur, G., Timur, M. ve Korun, J. “ Türkiye’de bir alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) kuluçkahanesinde *Flavobacterium psychrophilum* enfeksiyonunun çıkışı üzerine bir çalışma ”, İst. Üniv. Su Ürünleri Dergisi, **17**:21-27, (2004).
- [94] Toranzo, A. E., and Barja, L. J. “ Fry Mortality Syndrome (FMS) In Spain. Isolation of The Causative Bacterium *Flexibacter psychrophilus* ”, Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., **13**(1):30-32, (1993).
- [95] Turnbull, F. J., “ Bacteriel gill disease and Fin rot ”, In: “ Bacterial Diseases of Fish ”, Inglis, V., Roberts, R. and Bromage, N. R. (ed.), Blackwell Scientific Publications, Oxford., 312 p., (1993).

- [96] U.S. Fish and Wildlife Service, “ National Wild Fish Health Survey- Laboratory Procedure Manual ”, Division of Fish Hatcheries, Washington, D.C., 3.1 Edition, (2006).
- [97] Vatsos, I. N., Thompson, K. D. and Adams, A. “ Colonization of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), eggs by *Flavobacterium psychrophilum*, the causative agent of rainbow trout fry syndrome ”, J. of Fish Diseases, **29(7)**: 441-444, (2006).
- [98] Wakabayashi, H., “ Columnaris disease ”, In: “ Bacterial Diseases of Fish ”, Inglis, V., Roberts, R. and Bromage, N. R. (ed.), Blackwell Scientific Publications, Oxford., 312 p., (1993).
- [99] Wiklund, T., Kaas, K., Lönström, L. and Dalsgaard, I. “ Isolation of *Cytophaga psychrophila* (*Flexibacter psychrophilus*) from wild and farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Finland ”, Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., **14(2)**:44-46, (1994).
- [100] Wiklund, T., Madsen, L., Bruun, M. S., and Dalsgaard, I. “ Detection of *Flavobacterium psychrophilum* from fish tissue and water samples by PCR amplification ”, Journal of Applied Microbiology, **88**: 299-307, (2000).
- [101] Erişim: <http://www.abo.fi/institut/fisk/labeng/research/projects/flavovacc.htm> [01.12.2006].
- [102] Erişim: <http://www.mikrobiyoloji.org/> [13.12.2006].
- [103] Erişim: <http://www.bacterio.cict.fr/f/flavobacterium.html> [30.08.2007]
- [104] Erişim: <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=1893>, [08.11.2007].
- [105] Erişim: http://www.izto.org.tr/NRrdonlyres/7475BDA1-95B7-4855-B351-9ADCE4362AFE8901kC3%BClt%C3%BCrbal%C4%B1k%C3%A7%C4%B1%C4%B1%C4%9F%C4%B1_sboran.pdf [13.11.2007].
- [106] Erişim: http://en.wikipedia.org/wiki/flavobacterium_columnare [13.11.2007].

ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 1994 yılında Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesinde lisans öğrenimine başladım ve 1998 yılında mezun oldum.

2002 yılında evlendim. 2003 yılında Yusuf Servet Yıldırım adını verdiğimiz bir oğlum oldu.

2003 yılında Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladım.