



T. C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA GÖRÜLEN MOTİL
AEROMONAS (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A.
caviae*), *Yersinia ruckeri* ve *Lactococcus garvieae*
BAKTERİLERİNİN ANTİMİKROBİYAL
DUYARLILIKLARI VE DUYARLILIKTA ROL
OYNAYAN GENLERİN TESPİTİ**

MUHAMMED DUMAN

DOKTORA TEZİ

BURSA 2017

MUHAMMED DUMAN

SU ÜRÜNLERİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI DOKTORA TEZİ

2017





T. C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



SU ÜRÜNLERİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA GÖRÜLEN MOTİL
AEROMONAS (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*),
Yersinia ruckeri ve *Lactococcus garvieae* BAKTERİLERİNİN
ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARI VE DUYARLILIKTA
ROL OYNAYAN GENLERİN TESPİTİ**

MUHAMMED DUMAN

(DOKTORA TEZİ)

DANIŞMAN

Prof. Dr. Soner ALTUN

ÜSİP (V) 2013/1; TAGEM 14 AR-GE/26; KUAP(V) 2014-07

BURSA 2017

T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ETİK BEYANI

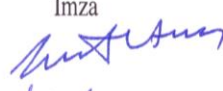




Doktora tezi olarak sunduğum "Gökkuşuğı Alabalıklarında Görülen Motil Aeromonas (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*), *Yersinia ruckeri* ve *Lactococcus garvieae* Bakterilerinin Antimikrobiyal Duyarlılıkları ve Duyarlılıkta Rol Oynayan Genlerin Tespiti" adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Muhammed DUMAN
24/08/2017



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Veteriner-Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Muhammed DUMAN tarafından hazırlanan "Gökkuşuğu Alabalıklarında Görülen Motil Aeromonas (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*), *Yersinia ruckeri* ve *Lactococcus garvieae* Bakterilerinin Antimikrobiyal Duyarlılıkları ve Duyarlılıkta Rol Oynayan Genlerin Tespiti" konulu Doktora tezi 24/08/2017 günü, 10.00-12.00 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Tez Danışmanı	Prof. Dr. Soner ALTUN	
Üye	Prof. Dr. Gürsel SÖNMEZ	
Üye	Prof. Dr. Erdal YILMAZ	
Üye	Doç. Dr. Murat CENGİZ	
Üye	Doç. Dr. Ertan Emek ONUK	

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı toplantısında alınan numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Gülşah ÇEÇENER
Enstitü Müdürü

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

24.02.2017

Adı Soyadı: Muhammed DUMAN

Anabilim Dalı: Veteriner-Su Ürünleri Hastalıkları

Tez Konusu: Gökkuşuğu alabalıklarında görülen Motil Aeromonas (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*), *Yersinia ruckeri* ve *Lactococcus garvieae* bakterilerinin antimikrobiyal duyarlılıkları ve duyarlılıkta rol oynayan genlerin tespiti

ÖZELLİKLER	UYGUNDUR	UYGUN DEĞİLDİR	AÇIKLAMA
Tezin Boyutları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

ANABİLİM DALI ONAYI

Ünvanı Adı Soyadı: Prof. Dr.

Soner ALTUN

İmza:



ENSTİTÜ ONAYI

Ünvanı Adı Soyadı: Prof. Dr.

Gülşah ÇEÇENER

İmza:

İçindekiler

Dış Kapak	
İç Kapak	
ETİK BEYANI	
KABUL ONAYI	
TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU	
İçindekiler	IV
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Akuakültür Üretimi	3
2.2 Akuakültürde Sorun Olan Önemli Bakteriyel Hastalıklar	4
2.2.1 Hareketli <i>Aeromonas</i> Septisemi	12
2.3 <i>Yersinia ruckeri</i>	20
2.3.1 Tarihçe	20
2.3.2 Etiyoloji	21
2.3.3 Epidemiyoloji	22
2.3.4 Teşhis	24
2.3.5 Antimikrobiyal Direnç	25
2.4 <i>Lactococcus garvieae</i>	25
2.4.1 Tarihçe	25
2.4.2 Etiyoloji	26
2.4.3 Epidemiyoloji	26
2.4.4 Teşhis	27
2.4.5 Antimikrobiyal Direnç	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1 Bakteri İzolatları	29
3.2 Fenotipik İdentifikasyon	36
3.3 Moleküler İdentifikasyon	37
3.3.1 DNA Ekstraksiyonu	37
3.3.2 PCR ile İdentifikasyon	37
3.4 Moleküler Karakterizasyon	39
3.4.1 Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD-PCR)	39
3.5 Duyarlılık Konsantrasyonlarının Belirlenmesi (MİK)	41
3.6 Direnç Genleri	41
4. BULGULAR	43
4.1 Bakteri İzolatları	43
4.2 Hareketli <i>Aeromonas</i> İzolatlarının Fenotipik Özellikleri	45
4.3 <i>Y. ruckeri</i> İzolatlarının Fenotipik Özellikleri	48
4.4 <i>L. garvieae</i> İzolatlarının Fenotipik Özellikleri	51
4.5 Hareketli <i>Aeromonas</i> İzolatlarının Moleküler İdentifikasyonu	54
4.6 Hareketli <i>Aeromonas</i> Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu	56
4.7 <i>Y. ruckeri</i> İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu	58
4.8 <i>L. garvieae</i> İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu	61
4.9 Hareketli <i>Aeromonas</i> İzolatlarının Antimikrobiyal Duyarlılıkları (MİK)	62
4.10 <i>Y. ruckeri</i> İzolatlarının Antimikrobiyal Duyarlılıkları (MİK)	63
4.11 <i>L. garvieae</i> İzolatlarının Antimikrobiyal Duyarlılıkları (MİK)	63

4.12	Hareketli <i>Aeromonas</i> İzolatlarında Tespit Edilen Direnç Genleri	66
4.13	<i>Y. ruckeri</i> İzolatlarında Genotipik Direnç.....	68
4.14	<i>L. garvieae</i> İzolatlarında Genotipik Direnç	70
5.	TARTIŞMA ve SONUÇ	73
6.	KAYNAKLAR	89
7.	SİMGELER ve KISALTMALAR.....	114
	TEŞEKKÜR	115
	ÖZGEÇMİŞ.....	116



ÖZET

Bu araştırmada, farklı kökenlere sahip Motil *Aeromonas* spp. (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*), *Yersinia ruckeri* ve *Lactococcus garvieae* izolatlarının moleküler karakterizasyonu, antimikrobiyal duyarlılıkları ve antimikrobiyal direnç gelişiminde rol oynayan genlerin tespiti yapılmıştır.

Çalışmada hareketli *Aeromonas*, *Y. ruckeri* ve *L. garvieae* izolatlarının biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesinde klasik mikrobiyolojik testler (gram boyama, hareketlilik, oksidaz, katalaz, O/F vb.) ve hızlı teşhis kitleri (API 20NE, API 32 STREPT ve API 32E) kullanılmıştır. Hareketli *Aeromonas* türlerinin identifikasyonu *gyrB* bölgesinin dizi analizi ile *Y. ruckeri* ve *L. garvieae* izolatlarının identifikasyonu ise sırasıyla YER8-YER10, pLG primerleri kullanılarak PCR analizi ile gerçekleştirilmiştir. *Y. ruckeri* ve *L. garvieae* izolatlarının genotiplendirilmesi RAPD-PCR, hareketli *Aeromonas* izolatlarının genetik yakınlıkları ise *gyrB* bölgesinin dizi analizi ile (Bionumerics 7.0 yazılımı kullanılarak) yapılmıştır. Ayrıca çalışmada kullanılan tüm izolatların sulfanomid, tetrasiklin, florfenikol ile sulfamethoksazol-trimetoprim antimikrobiyallerinde minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) ve bu antimikrobiyallere karşı geliştirdikleri direnç genleri (PCR ve dizi analiziyle) tespit edilmiştir.

Araştırmada 6 adedi ülkemizde ilk bildirim olmak üzere toplam 13 motil *Aeromonas* türü, 18 farklı *Y. ruckeri* ve 5 farklı *L. garvieae* genotipi belirlenmiştir. Hareketli *Aeromonas* türlerinin yaygın olarak sulfanomid ve florfenikole; *Y. ruckeri* izolatlarının sulfanomid ve tetrasiklin'e; *L. garvieae* izolatlarının ise sulfonamid ve florfenikol'e direnç geliştirmiş olduğu görülmüştür. Ayrıca *Aeromonas* türlerinde *sulI*, *tetA*, *tetE*, *flor*; *Y. ruckeri* izolatlarında *sulI*; *L. garvieae* izolatlarında ise *ermA* ve *tetS* genlerinin yaygın olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Hareketli *Aeromonas* sepsisemi, *Yersinia ruckeri*, *Lactococcus garvieae*, Antimikrobiyal direnç

ABSTRACT

“Determination of Antimicrobial sensitivity and antimicrobial resistance genes of Motile Aeromonads (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*), *Yersinia ruckeri* and *Lactococcus garvieae* in rainbow trout”

Determination of molecular characteristics, antimicrobial susceptibility and resistance genes in motile *Aeromonas* spp. (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*), *Yersinia ruckeri* and *Lactococcus garvieae* isolates that isolated from different origin were performed in this study.

The classical biochemical tests (gram stain, motility, oxidase, catalase, O/F etc.) and rapid test kits (API 20NE, API 32 STREPT ve API 32E) were used for determination of biochemical characteristics of motile *Aeromonas* spp., *Yersinia ruckeri* and *Lactococcus garvieae* isolates in our study. Identification of motile *Aeromonas* isolates were performed with sequence analyses of *gyrB* gene region, *Y. ruckeri* and *L. garvieae* isolates were identified with YER8-YER10, pLG primer pairs, respectively. *Yersinia ruckeri* and *Lactococcus garvieae* isolates were genotyped using RAPD-PCR method, and also motile *Aeromonas* isolates were genogrouped based on sequence of *gyrB* gene region (using Bionumerics 7.0 software). Beside, all isolates were investigated for susceptibility of sulfonamide, tetracycline, florfenicol and sulfamethoxazole-trimetoprim using minimum inhibitor concentration (MIC) test and antimicrobial resistance genes related to these compounds were detected using PCR and sequence analyses.

There are 13 different motile *Aeromonas* species that were six of them firstly reported in our country, 18 *Y. ruckeri* and 5 different *L. garvieae* genotype were identified in this study. Motile *Aeromonas* species are commonly found in sulfanamide and florfenicol; *Y. ruckeri* isolates to sulfanamide and tetracycline; *L. garvieae* isolates were found resistance to sulphonamide and florfenicol. In addition, *suII*, *tetA*, *tetE*, *floR* in *Aeromonas* species; *suII* in *Y. ruckeri* isolates; *ermA* and *tetS* genes in *L. garvieae* isolates, were commonly detected resistance genes.

Keywords: Motile *Aeromonas* septicemia, *Yersinia ruckeri*, *Lactococcus garvieae*, Antimicrobial resistance

1. GİRİŞ

Türkiye’de yapılan akuakültür üretimi 1986 yılında 3075 ton/yıl iken, 2010 yılında bu üretim 167.141 ton/yıl’a ulaşmıştır. 2013 yılında toplam su ürünleri üretiminin (avcılık ve yetiştiricilik) 607.515 ton/yıl olduğu, bu üretimin %38,4’ünün akuakültür üretiminden yapıldığı bildirilmiştir. Yetiştiricilik yoluyla yapılan üretimin ise %52,7’sinin iç sulardan elde edildiği görülmüştür. Akuakültür üretimi en fazla Ege bölgesi’nde yapılmakta olup (%55) sırasıyla Doğu Anadolu (%12), Akdeniz bölgesi (%10), Karadeniz bölgesi (%9), İç Anadolu bölgesi (%8), Güneydoğu Anadolu bölgesi (%4) ve Marmara bölgesi (%2) izlemektedir.

Gökkuşığı alabalığı üretimi su kaynaklarının daha verimli kullanılması, gelişen teknoloji, Avrupa ülkelerine ihraç edilen bir ürün olması ve Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının desteklemeleri ile son on yılda %130’dan fazla bir artış göstermiştir.

Türkiye’de gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliğinin farklı su sıcaklıkları, akarsu tipleri (baraj, kaynak suyu, dere suyu gibi) ve yetiştiricilik şartlarında yapıldığı görülmektedir. Özellikle su sıcaklığındaki ani değişim ve stres faktörlerinin arttığı durumlarda fırsatçı patojen olan *Aeromonas* spp. enfeksiyonları ortaya çıkmaktadır. *Aeromonas* spp. bazı durumlarda primer etken olsa da genellikle sekonder enfeksiyon olarak rapor edilmektedir. Alabalık işletmelerinde su sıcaklığının arttığı ilkbahar aylarında (12-15°C) stres faktörlerinin de etkisiyle *Yersinia ruckeri* ve özellikle yaz aylarında su sıcaklığının 15°C ve üzerine çıktığı durumlarda ise *Lactococcus garvieae* enfeksiyonlarının yüksek mortalite oranlarına sebep olduğu görülmektedir.

Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği sektöründe yaygın görülen bakteriyel hastalıkların tedavi edilmesinde genellikle işletmelerde farklı antimikrobiyaller kullanılmaktadır. Ülkemizde ruhsatlı 7 antimikrobiyal etken madde olmasına rağmen birçok hastalık salgınında ruhsatlı olmayan antimikrobiyal bileşikler kullanılmaktadır. Gökkuşığı alabalığı işletmelerinde gelişmiş bir laboratuvar bulunmamakta ve hastalıklarla karşılaştığında genellikle antibiyogram testleri yapılmadan antimikrobiyal maddeler kullanılmaktadır.

Bu çalışmada; hareketli *Aeromonas* spp., *Yersinia ruckeri* ve *Lactococcus garvieae*'nin genotiplendirilmesi ve antimikrobiyal direnç gelişiminde rol oynayan genlerin varlığı ve yaygınlığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada; akuakültür sektöründe ortaya çıkan hastalıkların hızlı ve doğru teşhisinin yapılması, genetik özelliklerinin ve bölgeler arası yayılımlarının belirlenmiş olması bundan sonraki çalışmalarda bakteriyel hastalıklara karşı kontrol programlarının oluşturulmasında faydalı olacaktır. Ayrıca bu çalışma sonuçları ülkemizde sıklıkla kullanılan antimikrobiyallere (sulfanomid, tetrasiklin, florfenikol) karşı gelişen direncin yaygın olduğunu göstermiş ve bu durum su ürünleri yetiştiricilerinin antimikrobiyal kullanımı hakkında bilgilendirilmesi gerekliliğini ortaya koymuştur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Akuakültür Üretimi

Gelecekte insan tüketiminde hayvansal protein kaynaklarının azalacak olması ve yeni protein kaynaklarının aranması, Dünya üzerinde akuakültür üretiminin hızlı büyümesini sağlayan en önemli etkidir. Geçtiğimiz 30 yıl boyunca avcılıkla yapılan balıkçılık üretimi 69 milyon ton'dan 93 milyon tona ulaşmış ve aynı süre boyunca akuakültür üretimi tüm dünyada 5 milyon tondan 63 milyon tona ulaşmıştır (Fao, 2012). Günümüzde balık eti, hayvansal protein kaynağının %16.6'sını oluştururken insan tüketimi için gerekli olan toplam protein ihtiyacının da %6.5'ini karşılamaktadır (Fao, 2012). Balık eti doymuş yağlar, karbonhidratlar ve kolesterol açısından düşük besin içeriğine sahipken çeşitli vitaminler, minareller ve çoklu doymamış yağ asitleri gibi önemli besin maddelerini içermekle birlikte yüksek oranlarda kaliteli bir protein kaynağıdır (Fao, 2012). Böylelikle az miktarlarda tüketim olsa bile yetersiz beslenmeye sahip toplumlar için balık ürünleri güvenli ve besleyici gıda olma özelliğini taşımaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde birçok balık çiftliği küçük aile işletmesi tarzında kurulmuştur. Gıda ve Tarım Topluluğu (FAO) 55 milyon insanın balık ihtiyacını avcılık yoluyla sağladığını bildirmiştir (Fao, 2012). Son yirmi yılda global akuakültür üretimi hızlı bir gelişim göstermiş ve büyükbaş yetiştiriciliğinin önüne geçmiştir (Jennings ve ark., 2016). Akuakültür üretiminin hızla artmasına rağmen ülkesel balıkçılık politikaları ve denizlerde bulunan balık popülasyonlarının her yıl değişmesiyle birlikte avcılık yoluyla üretim süreklilik sağlamamaktadır. FAO tarafından rapor edilen global avcılık ile balık üretim verileri 2000 yılından beri 90 milyon ton civarlarında dalgalanmakta iken, akuakültür üretimi 64 milyon ton artış göstermiştir (Fao, 2014). Başta A.B.D. olmak üzere çok sayıda Avrupa ülkesi ve Türkiye'de akuakültür sistemlerinde üretimin artmasında; teknolojinin gelişmesi, otomasyon ve sektörde iş imkânlarının artmasının önemli katkısı olmuştur (Jennings ve ark., 2016).

Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerin ortak sorunu olan üretim, gelir ve istihdam düşüklüğü gibi makro düzeydeki aksaklıklar, beslenme ve tüketim alışkanlıklarının değişimini zorunlu kılmakta, tüketici talebinin de nispeten pahalı olan hayvansal ürünler yerine bitkisel ürünlere doğru yönelmesine yol açmaktadır. Nitekim

Türkiye’de günlük kişi başı tüketilen toplam protein miktarı 104 g olup bunun %30’unu hayvansal kaynaklı proteinler oluştururken %70’ini bitkisel kaynaklılar oluşturmaktadır (Fao, 2015). Bu durum gelişmiş ülkelerde hayvansal protein lehinedir. Türkiye’de yeterli/dengeli beslenme adına eksik olan ve artırılması gereken hayvansal protein tüketimidir (Sarıözkan ve Akçay, 2014). Çünkü ülkeler arasında gelişmişlik karşılaştırılması yapılırken kullanılan kriterlerden birisi de hayvansal protein tüketim düzeyidir. Dünya’da 2013 yılında 92,6 milyon ton (%56,9) avcılık ve 70,2 milyon ton (%43,1) yetiştiricilik yoluyla olmak üzere toplam 162,8 milyon ton su ürünleri üretimi gerçekleştirilmiştir (Tuik, 2015). Su ürünleri yetiştiriciliği yıllık ortalama %8 (%1-%13 arasında) büyümektedir. Türkiye’de akuakültür yetiştiriciliğinin %56’sını gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), %29’unu levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve %15’ini çipura (*Sparus aurata*) oluşturmaktadır (Akova, 2015). Akuakültür üretimi ülkemizde en yaygın Ege bölgesi olmak üzere (%55), Doğu Anadolu (%12), Akdeniz bölgesi (%10), Karadeniz bölgesi (%9), İç Anadolu bölgesi (%8), Güneydoğu Anadolu bölgesi (%4) ve Marmara bölgesi (%2)’nde yapılmaktadır (Akova, 2015). Son 10 yılda yetiştiricilikteki toplam üretim miktarı %99 artış göstererek neredeyse 2 katına çıkmıştır. En yüksek üretim artışı alabalıkta (%130) daha sonra çipura (%100) ve levrekte (%52) gerçekleşmiştir. Ancak, avcılık yoluyla gerçekleşen üretimde yıllık ortalama %2,3 azalma olduğu görülmektedir (Sarıözkan, 2016). Türkiye mevcut üretimi ile Dünya’da 30’lu sıralarda iken Avrupa’da 6. sıradadır. Türkiye İstatistik kurumunun 2013 verilerine göre Türkiye’de 607,515 ton balıkçılık ürünü hasat edilmiştir (Tuik, 2014). Türkiye’de 479.708,3 ton balık tüketimi mevcutken, 87.896,2 tonu işlenmiş (balık unu ve balık yağı) ve 6.378,1 tonu ise atık olarak değerlendirilmiştir (Akova, 2015).

2.2 Akuakültürde Sorun Olan Önemli Bakteriye Hastalıklar

Akuakültürün hızla gelişmesi ve artan balık üretimiyle birlikte hastalıklardan kaynaklanan yıllık ekonomik kayıplar da artmış ve bu gün dünya çapında balık hastalıklarından kaynaklanan ekonomik kayıplar milyar dolarlara ulaşmıştır (Subasinghe ve ark., 2001). Akuakültür endüstrisini etkileyen en önemli hastalıklar bakteri, mantar, virüs ve parazitlerden kaynaklanmaktadır (Khoo, 2000; Ramaiah, 2006; Brooker ve ark., 2007; Guo ve Woo, 2009; Jacobs ve ark., 2009; Birkbeck ve

ark., 2011; Frans ve ark., 2011; Wang, 2011; Gomez-Casado ve ark., 2011; Ransangan ve ark., 2011; Oidtmann ve Stentiford, 2011; Vega-Heredia ve ark., 2012). Bakteriyel etkenlerin canlı dışında da uzun süre canlı kalabilmeleri akuatik çevre açısından büyük bir risk oluşturmaktadır (Klesius ve Pridgeon, 2011). Akuatik hayvanlarda mortalite oluşturan en önemli bakteriler; Gram negatif özellikte olan *Aeromonas*, *Edwardsiella*, *Flavobacterium*, *Francisella*, *Photobacterium*, *Piscirickettsia*, *Pseudomonas*, *Tenacibaculum*, *Vibrio* ve *Yersinia* türleri ile Gram Pozitif karakter gösteren *Lactococcus*, *Renibacterium* ve *Streptococcus* türleridir. (Klesius ve Pridgeon, 2011). Deniz balıklarında olduğu gibi tilapia, kedi balığı, sazan, alabalık, somon, çipura, levrek, mersin balığı ve yılan balığı vs. tatlı su balıkları da bakteriyel hastalıklardan etkilenmektedir. Örneğin Çin’de 1990-1992 yılları arasında *A. hydrophila*, *Y. ruckeri* ve *Vibrio. fluvialis* patojenlerinden kaynaklanan yıllık ekonomik kayıp 120 milyon dolar olarak hesaplanırken 2009 yılında akuakültür üretimi ancak 105,3 milyon dolar olarak hesaplanmıştır (Wei, 2002; Subasinghe, 2005). Motil *Aeromonas* septisemi (MAS) genellikle balıklarda fırsatçı patojen olarak düşünülse de *A. hydrophila* başta olmak üzere çeşitli *Aeromonas* türlerinin de enfeksiyon oluşturduğu, mortalite ve salgınlarda primer etken olduğu belirlenmiştir (Faisal ve ark., 1989; Fang ve ark., 2004; Nielsen ve ark., 2001; Pathiratne ve ark., 1994; Yambot, 1998; Xia ve ark., 2004). Amerika’nın Kuzey Alabama eyaletinde 2009 ve 2010 yıllarında çıkan *A. hydrophila* salgınlarında ekonomik kaybın 3 milyon dolar olduğu tahmin edilmektedir (Pridgeon ve Klesius, 2011a). Bu salgınlardan izole edilen *A. hydrophila* izolatlarıyla yapılan virülens çalışmalarında etkenin kanal kedi balıklarında oldukça virulent olduğu ve LD₅₀ değerlerinin 2x10² CFU/balık’dan daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Pridgeon ve Klesius, 2011a). *A. hydrophila* başta olmak üzere *A. caviae*, *A. sobria* ve *A. media* gibi hareketli *Aeromonas* türleri yüksek genetik heterogeneite gösterdikleri için; bu hastalıklara karşı koruyucu aşı ve probiyotik gibi profilaktif uygulamalar da hastalığın kontrolü açısından zorluk oluşturmaktadır (Poobalane ve ark., 2010). Ülkemizde gökkuşağı alabalığı üretimi (*O. mykiss*, Walbaum) 2014 yılında 113 bin tona ulaşmıştır (BSGM 2016). Ülkemizde artan üretim ile birlikte alabalık yetiştiriciliğinde görülen bakteriyel hastalıklardan *L. garvieae*, *Y. ruckeri* ve hareketli *Aeromonas* septisemi etkenleri yaygın olarak izole edilmiştir (Çağırğan ve Yürekli Türk, 1991; Diler ve ark., 2002; Altun ve ark., 2013a; Altun ve ark., 2013b).

Ülkemizde *A. hydrophila* ilk olarak Eskişehirdeki bir gökkuşuğu alabalığı işletmesinden izole edilmiştir (Baran ve ark., 1980). Daha sonra etken Türkiye'nin farklı bölgelerindeki çipura, levrek, yılan balığı, sazan, mersin balığı, istavrit gibi farklı balık türlerinden de rapor edilmiştir (Tel ve ark., 2007; Ozturk ve ark., 2007; Aksoy, 2009; Durmaz ve Turk, 2009; Korun ve Toprak, 2010; Timur ve ark., 2010; Boran ve ark., 2013). Hareketli *Aeromonas* septisemi etkenlerinden olan *A. sobria* ülkemizde ilk olarak Karadenizde yetiştiriciliği yapılan Atlantik salmon (*Salmo salar*), gökkuşuğu alabalığı, çipura ve levrekten izole edilmiştir (Karataş, 1996; Korun ve Toprak, 2010; Avsever ve ark., 2012). İlk olarak Keban Barajı'ndan izole edilen *A. caviae* (Muz ve ark., 1995) sonraki yıllarda gökkuşuğu alabalığı, Atlantik salmon ve bazı akvaryum balıklarından da rapor edilmiştir (Candan ve ark., 1995; Timur ve ark., 2003; Korun ve Toprak, 2010). Akaylı ve ark., (2011); Akdeniz Bölgesi'nde gökkuşuğu alabalıklarında karşılaşılan mortalitelerde *A. schubertii* etkenini izole etmiştir.

Ülkemizdeki gökkuşuğu alabalıklarında hareketli *Aeromonas* spp. Enfeksiyonları, genellikle *Y. ruckeri* ve *L. garvieae* enfeksiyonları ile birlikte rapor edilmektedir. *Y. ruckeri* ilk olarak Akdeniz Bölgesinde yetiştirilen gökkuşuğu alabalıklarında görülen hastalık salgınından izole edilmiştir (Timur ve Timur, 1991). Enfeksiyon daha sonra Malatya, Elazığ, Bursa ve Yalova'dan da izole edilmiş ve mortalitelere neden olduğu bildirilmiştir (Savas ve Ture, 2007; Ozer ve ark., 2008; Altun ve ark., 2010; Seker ve ark., 2012).

Altınok ve ark., (2016) farklı coğrafik kökenli *Y. ruckeri* izolatları üzerinde yaptıkları çalışmada suşların biyokimyasal olarak heterojenite gösterdiğini, dış membran proteinlerinin incelenmesi sonucunda ise 4 farklı gruba ayrıldığını ve Türkiye izolatlarının kendi aralarında % 86,03 benzerlik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Altun ve ark., (2013a) *Y. ruckeri*'nin fenotipik ve biyokimyasal farklılıkları üzerine yaptıkları çalışmada izolatlar arasında çok farklı biyokimyasal özellikler görüldüğünü, genotiplendirme çalışmalarında ise 17 adet *Y. ruckeri*'nin 5 farklı genotipe ayrıldığını tespit etmişlerdir. Şeker ve ark., (2012) Elazığ ve Malatya bölgesindeki alabalık işletmelerinde yaptıkları çalışmalarda işletmelerin %52,9'unun *Y. ruckeri* ile enfekte ya da taşıyıcısı olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada yetişkin balıklarda genç balıklara oranla *Y. ruckeri* görülme oranının daha yaygın olduğu tespit edilmiştir.

L. garvieae akuakültürde konak seçiciliği az olan patojenlerden biri olup zoonoz özellik göstermektedir. Bu etkenin insanlarda üriner, dolaşım, deri ve solunum sistemi enfeksiyonlarından, endokardiditis ve karaciğer apsesine sahip olan immunsupresif hastalardan izole edildiği rapor edilmiştir (Elliot ve ark., 1991; Fefer ve ark., 1998; James ve ark., 2000; Mofredj ve ark., 2000; Fihman ve ark., 2006). Ayrıca yaygın olarak tüketilen inek ve keçi peyniri gibi önemli gıdalar ve sebzelerden de izole edilmiştir (Foschino ve ark., 2006; Kawanishi ve ark., 2007; Fernandez ve ark., 2010). İlk olarak mastitisli ineklerden izole edilen *L. garvieae* sonraki yıllarda tatlı su ve deniz balıklarının yanı sıra kedi, köpek, kurbağalardan da izole edilmiştir (Fihman ve ark., 2006; Kubota ve ark., 2010; Mendoza ve ark., 2012; Russo ve ark., 2012). Avrupa’da *L. garvieae*’nin balıklarda ilk salgından sonra birçok farklı ülke ve balık türünde izole edildiği bildirilmiştir. İlk izolasyonu takiben sonraki yıllarda hastalık geniş bir coğrafik dağılım göstererek İtalya, Avusturalya, Güney Afrika, Tayvan ve Türkiye’de de birçok balık işletmesinden rapor edilmiştir (Ghittino ve Prearo, 1992; Carson ve ark., 1993; Diler ve ark., 2002). *L. garvieae* kaynaklı ekonomik kayıplar gökkuşağı alabalığı çiftliklerinde total üretimin % 50-80’ine ulaşabilmektedir (Itami ve ark., 1996).

Ülkemizde yaz aylarının sıcak geçtiği Ege Bölgesi başta olmak üzere Türkiye’nin birçok bölgesinde yaygın olan *L. garvieae* enfeksiyonu ilk olarak Diler ve ark., (2002) tarafından rapor edilmiştir. Enfeksiyonun ilk bildiriminden sonraki yıllarda Doğu Karadeniz Bölgesi de dahil olmak üzere birçok bölgede görülmesi etkenin hızlı yayılım gösterdiğini ortaya koymuştur (Kubilay ve ark., 2005; Savaş ve Ture, 2007; Ozer ve ark., 2008; Timur ve ark., 2011; Altun ve ark., 2013b).

Dünyada ve ülkemizde akuakültürdeki hızlı büyüme beraberinde hastalık salgınlarının da artış göstermiştir. Akuakültürde karşılaşılan bakteriyel orijinli salgınlara karşı mücadelede birçok ülkede halen daha yoğun miktarda antimikrobiyal kullanıldığı bildirilmektedir. Örneğin Norveç’te bir yılda üretilen her bir ton balık için 0.8g, İngiltere’de 11.7g, Kanada’da 175g ve Şili’de 1400g antimikrobiyal kullanıldığı rapor edilmiştir (Burrige Les ve ark., 2005; SalmonChile, 2008; Gomez C, 2009; Millanao ve ark., 2011;). Balıkların stok yoğunluklarının fazla olması, karasal sulardaki balık çiftliklerinin artması, işletmelerde hijyen ve sanitasyonun yetersiz

olması ve ülke içerisinde balık hareketlerinin iyi kontrol edilmemesi enfeksiyonların hızla yayılmasına neden olmaktadır (Naylor ve ark., 2000; Naylor ve Burke, 2005).

Akuakültürde hijyen ve sanitasyon uygulamalarındaki yetersizlikler antimikrobiyal kullanımını da arttırmıştır (Grave ve ark., 1996; Cabello, 2006; Sorum, 2006). Antimikrobiyallerin yoğun kullanımının önemli olumsuz etkilerinden birisi de antibiyotiklerin su kaynakları ile çevreye, insanlara ve karasal ekosisteme yayılmasıdır (Haya ve ark., 2000; Boxall ve ark., 2004; Naylor ve Burke, 2005). Karasal evcil hayvanlarda olduğu gibi akuakültürde de antimikrobiyallerin yaygın kullanımı, balık ve çevresel patojenlere karşı antimikrobiyal direnç gelişimine neden olmaktadır (Angulo ve Griffin, 2000; Rhodes ve ark., 2000a; Rhodes ve ark., 2000b; Witte, 2000; Miranda ve Zemelman, 2002a; Miranda ve Zemelman, 2002b; Petersen ve ark., 2002; Angulo ve ark., 2004; Alcaide ve ark., 2005).

Balık patojenlerinde antimikrobiyal direncin ortaya çıkması akuakültürde profilaktik amaçla kullanılan antimikrobiyallerin etkisinin azalmasına, antimikrobiyal direnç geliştirmiş olan patojenlerin ve direnç genlerinin karasal hayvanlara, insanlara geçişine neden olmaktadır (L'Abée-Lund ve Sorum, 2001; Sorum, 2006). Profilaktik amaçla kullanılan bazı antimikrobiyaller balıklarda immun sistemin baskılanmasına neden olmakta ve buna bağlı olarak enfeksiyonların oluşumuna yol açmaktadır (Barton ve Iwama, 1991; Naylor ve Burke, 2005; Cabello, 2006).

Antimikrobiyaller balıklara genellikle oral, banyo ve enjeksiyon yöntemiyle verilmektedir (Markestad ve Grave, 1997; Sorum, 2006). Antimikrobiyallerin kontamine balık yemleri (tüketilmeyen), balık dışkıları ile sedimentte birikmesi ilaç kalıntılarının farklı bölgelere yayılımına yol açmaktadır. Böylece çevreye ulaşan bu antimikrobiyal kalıntılar başta kabuklu canlılar olmak üzere yabani balıklara da ulaşabilmektedir (Hektoen ve ark., 1995; Kerry ve ark., 1996; Coyne ve ark., 1997; Holten ve ark., 1999; Guardabassi ve ark., 2000a; Sorum ve L'Abée-Lund, 2002; Boxall ve ark., 2004).

Akuakültürde hastalıkların tedavisinde öncelikle ruhsatlı antimikrobiyaller kullanılmalı ancak antibiyogram sonuçlarına göre bu ilaçların etkisiz olduğu durumlarda Veteriner Hekimler tarafından etiket dışı antimikrobiyaller reçete edilmelidir. Bu amaçla Amerika'da Gıda ve İlaç Uygulama topluluğu tarafından akuakültürde kullanılmak üzere oksitetrasiklin, florfenikol ve

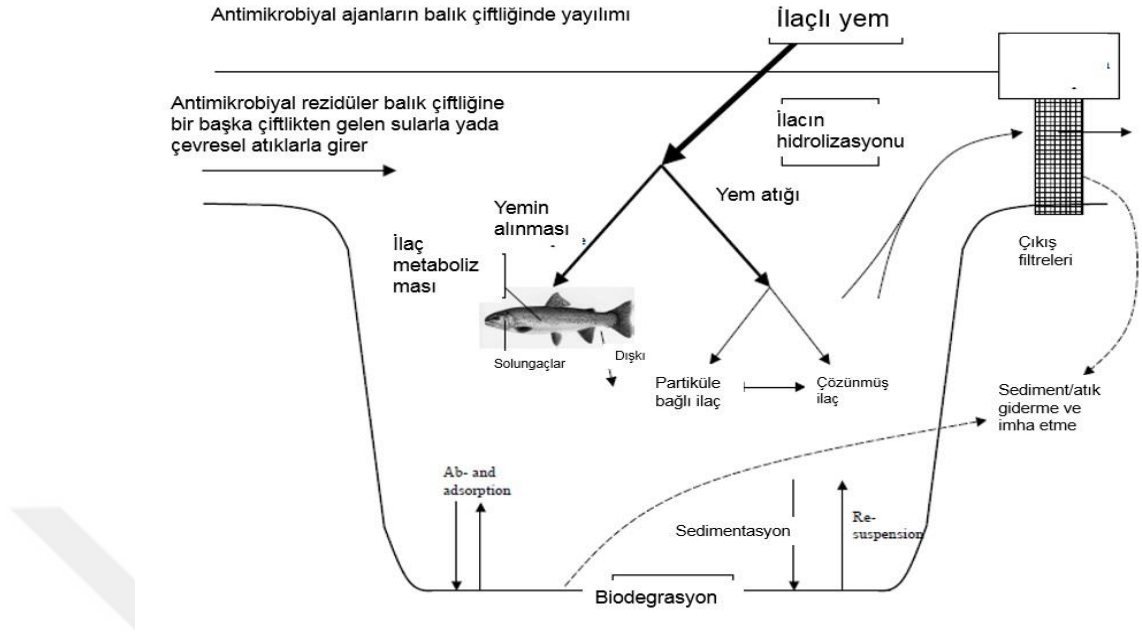
sulfadimetoksin/ormetoprim kombinasyonu ruhsatlandırılmıştır (Cabello ve ark., 2013; Van Boeckel ve ark., 2015). Ülkemizde de kültür balıkçılığı için florfenikol, oksitetrasiklin, enrofloksasin, sulfamethoksazol-trimetoprim ve amoksisillin ruhsatlandırılmıştır. Antimikrobiyaller genellikle balıkların yemlerine karıştırılarak kullanılmaktadır. Oral kullanımda antimikrobiyallerin tamamı balık tarafından alınamamakta böylece ilaçların bir kısmı ortama (akarsu, deniz ya da göl) geçmektedir (Burridge ve ark., 2010). Antimikrobiyal direncin yayılımından önemli olan faktörler ve antimikrobiyallerin kontaminasyon yolu şekil 1’de verilmiştir. Antimikrobiyallerin bilinçsiz kullanımının önüne geçilebilmesi için yalnızca Veteriner Hekim kontrolünde ilaç kullanımına müsaade verilmelidir. Miranda ve Zemelman (2002b) bir salmon işletmesinde yürüttükleri çalışmada; havuzların çıkış suyundan alınan örneklerden izole edilen bakterilerin %8-69’unun oksitetrasikline dirençli olduklarını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada ilginç olarak havuzların giriş suyundan izole edilen bakterilerin ise %0-16’sının oksitetrasikline dirençli olduğu bildirilmiştir. Akinbowale ve ark., (2007) oksitetrasiklin direncinin (*tetR*) yayılımında balıkların yaşadıkları ortamın (tank yüzeyi, kuluçkahane suyunun) ve ortama bağlı olarak şekillenen floranın (deri, barsağın) rol oynadıklarını saptamıştır.

Antimikrobiyal ajanlar genellikle bir bakteri popülasyonunda etkenlerin hedef protein bölgelerini bozarak bakterilerin üremesini durdurarak (bakteriostatik) ya da bakterileri öldürerek (bakterisidal) etki eder. Bakterilerin hücre duvarı yapısının değişmesi, hücre duvarı geçirgenliğinin azalması ya da hücre duvarında bulunan dışa atım pompasının aktivasyonu, bakteri kromozomlarında noktasal mutasyon, DNA ve proteinlerin yapısını bozarak hücre duvarı sentezinin bozulması, enzimatik inaktivasyon gibi etkilerle antimikrobiyallere karşı direnç gelişir. Beta-laktam ya da glikopeptitler gibi bazı antimikrobiyaller bakterilerin hücre duvarı sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki gösterirler. Makrolid, aminoglikozid, tetrasiklin ve kloramfenikoller gibi bazı antimikrobiyal ajanlar ise bakterilerin protein sentezini durdurarak gelişmelerini önler ve böylelikle bakteriyostatik etki gösterirler (Carpenter ve Chambers, 2004; Romero ve ark., 2012).

Transformasyonda bakteriler direnç genlerini dış ortamdan alırlarken transdüksiyonda bakteriler direnç genlerini viral bir DNA’dan (bakteriyofaj) alırlar. Konjugasyonda ise bakteriler direnç genleri ya da plazmidleri hücreler arası direkt

bağlantı ile alırlar. Bu aynı tür bakteriler arasında olabileceği gibi farklı tür bakteriler arasında da olabilmektedir. Bakteriler arasında direnç genlerinin taşınmasında genellikle transpozonlar ve plazmidler rol oynar. Transpozonlar hareketli genetik elementlerdir ve plazmidler aracılı ile taşınırlar. Bakteriler arasında taşınan bu hareketli genetik elementler mikroorganizmaların antimikrobiyallerin etkinliğini azaltacak enzimler salgılamasına (beta laktamaz gibi), hücre duvarlarında bulunan dışa atım pompasının aktivasyonuna, hücre duvarlarında bulunan antimikrobiyal bağlanma reseptörlerinin engellenmesine ya da antimikrobiyallerin hücre içine alınmasına etki ederek mikroorganizmaların antimikrobiyallere karşı direnç kazanmalarına neden olur (Kumarasamy ve ark., 2010). Ayrıca ribozomlar (RNA ya da proteinler) mutasyon, fiziksel ya da kimyasal değişikliklere uğrayarak antimikrobiyal etkilerinden korunurlar. Böylelikle duyarlı bir bakteri dirençli hale gelmiş olur.

Bakteriler arasında antimikrobiyal direncin yayılımı başlıca horizontal gen transferi (HGT) ile oluşmaktadır. Bakteriler arasında horizontal gen transferi konjugasyon, transdüksiyon ve doğal transformasyon olarak 3 farklı yol ile olmaktadır. Konjugasyon plazmid üzerinde hareketli genetik elementlerin alıcı hücreye transferi ile (integronlar, transpozonlar, gene kasetleri gibi) gerçekleşmektedir. Transdüksiyon ile gen transferinde direnç genleri plazmidler aracılığı ile alıcı hücrelere aktarılırlar. Doğal transformasyonda ise bakterilerin çevrede bulunan serbest direnç genlerini hücre içine alarak bu genlerin bakteri DNA'larına entegrasyonu sonucu direnç kazanması ile oluşmaktadır (Lorenz ve Wackernagel, 1994). Doğal transformasyon ile direnç kazanımında bakteriler yan yana gelerek kendi aralarında gen aktarımı ile olabilirken bakterilerin yaşadığı ortamda bulunan direnç genlerinin hücre içerisine alınması ile de gerçekleşebilmektedir (Thomas ve Nielsen, 2005).



Şekil 1. Antimikrobiyal ajanların balık çiftliğindeki yayılımının şematik görünümü

Seyfried ve ark., (2010) ise; daha önce tetrasiklin tedavi geçmişi olmayan bir balık işletmesinden izole edilen bakterilerde *tetR* tespit etmişlerdir. Bununla birlikte akuatik ortamdan horizontal gen transferi aracılığı ile insan ve diğer karasal hayvan patojenlerine direnç genlerinin aktarılabilirdiği rapor edilmiştir (Rhodes ve ark., 2000a; Rhodes ve ark., 2000b; L'Abée-Lund ve Sorum, 2001; Sorum, 2006). Akuatik ve karasal hayvanlar arasında gen aktarımları olabildiği gibi balıkların tatlı sulardan okyanuslara taşınması ile de gen aktarımı olabilmektedir (Naylor ve Burke, 2005; Cabello, 2006). Ayrıca bu alanda yapılan epidemiyolojik ve moleküler çalışmalar *Aeromonas* gibi fırsatçı patojenlerin antimikrobiyal direnç genlerini insanlardan izole edilen *Escherichia coli* gibi patojenlere aktarılabilirdiğini ortaya koymuştur (Rhodes ve ark., 2000a; Rhodes ve ark., 2000b; L'Abée-Lund ve Sorum, 2001; Sorum ve L'Abée-Lund, 2002; Sorum, 2006). Bu kapsamda yapılan çalışmalarda da tetrasiklin direncini içeren plazmidlerin *A. salmonicida* aracılığıyla farklı ülkelerde insanlardan izole edilen *A. hydrophila*, *A. caviae* ve *E. coli* gibi patojenlere aktarıldığı rapor edilmiştir (Rhodes ve ark., 2000a). Ayrıca epidemiyolojik ve moleküler çalışmalar, *A. salmonicida* da trimetoprim, sulfanomid ve streptomisin direncinden sorumlu

plasmidin (sınıf 1 integron) *E. coli* ve Salmonella'ya transfer potansiyelinin yüksek olduğunu göstermiştir (Sorum ve L'Abee-Lund, 2002; Sorum, 2006). Sulfonamid direncinin (*sulII*) *A. salmonicida*'nın yanı sıra bitkilerden izole edilen *Erwinia*, insanlardan izole edilen *V. cholerae* ve *E. coli* gibi patojenlerde de tespit edildiği bildirilmiştir (L'Abee-Lund ve Sorum, 2001; Sorum, 2006). Florfenikol direncinden sorumlu *floR* geni ilk olarak balık patojeni olan *V. damsela*'dan izole edilmiştir (Bolton ve ark., 1999). Balıklarda ilk olarak *V. anguillarum*'da tespit edilen tetrasiklin direnç geninin (sınıf G) Salmonella aracılığı ile taşındığı bildirilmiştir.

Antimikrobiyal direnç üzerine yapılan çalışmalar; insanlar, karasal ve akuatik hayvanlar arasında antimikrobiyal direnç genlerinin aktarıldığını göstermiştir (Kim ve Aoki, 1993; Briggs ve Fratamico, 1999; Angulo ve Griffin, 2000).

2.2.1 Hareketli Aeromonas Septisemi

2.2.1.1 Tarihçe

Aeromonas ilk olarak 1954 yılında insan patojeni olarak (kan, akciğer, karaciğer, dalak, idrar, serebrospinal sıvı ve immun sistemi baskılanmış bir kadının kas dokusundan) izole edilmiştir (Caselitz, 1996). Sonraki yıllarda insanlarda *Aeromonas* enfeksiyonları gastroenteritis vakalarında da rapor edilmiştir. *Aeromonas* genusu; 22-25°C'de üreyebilen, çoğunlukla soğukkanlı canlıları (sürüngen ve balıklar) enfekte eden psikrofilik hareketsiz türler ve 35-37°C'de üreyen hareketli mezofilik türler olarak iki gruba ayrılmaktadır (Holt, 1994). Hareketli mezofilik *Aeromonas* türleri genellikle insanlarda da hastalık yapan türleri kapsamaktadır. Aeromonadaceae'nin en geniş tanımlaması son 15 yılda yapılmıştır. Keza 2000'li yıllardan sonra *A. diversa*, *A. fluvialis*, *A. taiwanensis* ve *A. sanarelli* gibi yeni türlerde tespit edilmiştir (Alperi 2010a; Alperi 2010b; Janda ve Abbott, 2010; Minana-Galbis ve ark., 2010). *Aeromonas* genusunun kronolojik gelişimi tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. *Aeromonas* genusunun önemli tarihsel gelişim dönemleri

Tarih	Önemli gelişmeler	Yorum	Kaynak
1891	Genus ilişkili kurbağaların bakteriyel hastalığı ("kızıl bacak")	İsolata ilişkin bir kültür yok; <i>Aeromonas</i> 'dan şüpheleniliyor	Ewing ve ark., 1961
1943	<i>A. hydrophila</i> olarak belirlenen türün sınıflandırılması ve taksonomisi	Polar flagella ile kok'lardan ayrılması	Stanier ve ark., 1943
1951	Bu genusun insan enfeksiyonları ile ilk bağlantısı (akut metastatik myositis)	<i>Aeromonas</i> otopsi örneklerikden izole edilmiştir	Caselitz ve ark., 1996.
1968	Çeşitli insan enfeksiyonlarında <i>Aeromonas</i> genusunun tanımlandığı ilk kapsamlı rapor	Karaciğer hastalıkları ilişkili septisemilerden 28 olgu rapor edilmiştir (Laennec sirozu)	von Graevenitz ve ark., 1968.
1981	Genus içerisinde farklı mezofilik türlerin tespit edilmesi	55 suş üzerinde DNA ilişkili çalışmalar yapılmıştır	Popoff ve ark., 1981
1986	<i>Aeromonas</i> filogenetik olarak Vibriolardan ayrılması	5S ve 16S rRNA gen sekansına dayalı yeni aile oluşturulmuştur (<i>Aeromonadaceae</i>)	Colwell ve ark., 1986
2006	<i>A. hydrophila</i> ATCC 7966'nın tüm genom sekansı (4,7 Mb)	Genusa ait türlerin tipik suşunun belirlenmesi; hareketli parçalarda akıcılığın olmayışı; çevresel metabolik içeriğe göre ipuçları	Seshadri ve ark., 2006

1970'lerden sonraki çalışmalarda Paris Pastör Enstitüsü, Atlanta Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC), Washington Walter Reed Araştırma Enstitüsü gibi araştırma kurumları DNA bazlı çalışmalarla mezofilik *Aeromonas* grubu tekrar sınıflandırmıştır (Janda ve Abbott, 2010). Fakat DNA hibridizasyon çalışmaları ile mezofilik gruba ait olan (*A. hydrophila*, *A. sobria* ve *A. caviae*) türlerinin genetik farklılıkları tanımlanamadığından hibridizasyon grubu (HG) oluşturulmuştur. Biyokimyasal özellikleri yönüyle de farklılık tespit edilemeyen bu türler için tam olarak bir isimlendirme yapılamadığından bahsedilen HG grubu referans suşlar ile temsil edilmiştir. Hibridizasyon grupları belirlenen türler ya rakamlarla gruplandırılmış (*A. hydrophila* HG1) ya da gruplandırılmayan referans suşlar *Aeromonas* spp. olarak isimlendirilmiştir. Pastör Enstitüsü ve CDC yaptıkları incelemelerde oluşturulan hibridizasyon gruplarını 12 HG grubuna ayırmıştır. Daha sonraki çalışmalarda bazı *Aeromonas* türlerinin ayırımında biyokimyasal özellikler kullanılmış ve buna göre *A. trola* (Voges-Proskauer (VP) negatif, ampisillin duyarlı), *A. jandaei* (sukroz negatif) gibi yeni isimlendirmeler yapılmıştır (Carnahan, 1993). Yakın zamanda yapılan genetik çalışmalarda yedi *Aeromonas* kompleks türünden

yalnızca 3'ü (*A. molluscorum*, *A. aquariorum* ve *A. tecta*) ayrıntılı analizleri yapılarak identifiye edilebilmiştir (Piotrowska ve Popowska, 2014).

Su hayvanlarında görülen patojen *Aeromonas* türleri içerisinde yaygın olarak *A. bestiarum*, *A. hydrophila* subsp. *dhakensis*, *A. sobria* biovar *sobria* ve *A. veronii* biovar *sobria* 'yer almaktadır (Orozova ve ark., 2009). Martinez ve ark., (2009) tarafından *A. hydrophila* subsp. *dhakensis* olarak tanımlanan tür *A. aquariorum* olarak tekrar isimlendirilmiştir (Martinez-Murcia ve ark., 2009). Su hayvanlarından izole edilen ve patogenezi tam olarak bilinmeyen *Aeromonas* türleri akuakültürde enfeksiyon vakalarından sıklıkla rapor edilmektedir. Örneğin Beaz-Figueras ve ark., (2010) önemli bir patoloji göstermeyen balıklardan *A. bestiarum*, *A. hydrophila*, *A. media*, *A. piscicola*, *A. salmonicida* ve *A. sobria* izole etmiştir. Fakat *A. piscicola* hasta balıklarda izole edilen yeni bir tür olmuştur (Yanez ve ark., 2003; Austin ve Austin., 2016; Beaz-Hidalgo ve ark., 2009).

Aeromonas türlerinin kendi aralarında ve diğer genuslar arasındaki genetik ilişkilerin filogenetik olarak belirlenmesinde çok sayıda gen bölgesi araştırılmıştır. *Aeromonas* türlerinin ayırımında yaygın kullanılan genler arasında yaklaşık uzunlukları 1.000 ila 1.500bp arasında değişen 16S rRNA, *gyrB* (DNA giraz B-alt ünitesi), *rpoD* (Ö70 factor), *rpoB*, β -alt ünite (DNA bağlı RNA polimeraz) ve *dnaJ* (ısı şoklu protein 40) genleri yer almaktadır (Yanez ve ark., 2003; Soler ve ark., 2004; Thompson ve ark., 2004; Morandi ve ark., 2005; Kupfer ve ark., 2006; Saavedra ve ark., 2006; Nhung ve ark., 2007; Adekambi ve ark., 2008; Minana-Galbis ve ark., 2009). Yapılan çok sayıdaki araştırmada 16S rRNA gen sekans sonuçlarının korunmuş gen bölgelerinden daha az ayırım gücüne sahip olduğu bildirilmiştir. Korunmuş gen bölgeleriyle (*gyrB*, *rpoD* ve *dnaJ*) yapılan sekans analizlerinde benzerlik oranları %89; %92 gibi belirlenirken, 16S rRNA gen bölgesinden yapılan sekans analizlerinde benzerlik %98.7 olduğu belirtilmiştir (Nhung ve ark., 2007). Yanez ve ark., (2003) *A. trota* ve *A. caviae*'nin ayırımında *gyrB* gen bölgesinin 57 ila 69 baz çiftlik farklılık gösterdiği ancak 16S rRNA gen bölgesi kullanıldığında ise tek bir nükleotid farklılıkla birbirinden ayrıldığını belirlemişlerdir (Yanez ve ark., 2003).

2000'li yıllardan sonra *Aeromonas* türlerinin belirlenmesine yönelik çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen *A. encheleia* HG11, *A. veronii* ve *A. ichthiosmia*/*A. allosaccharophila*/*A. culicicola* türlerin taksonomileri halen tam olarak açıklığa

kavuşturulamamıştır (Janda ve Abbott, 2010). *Aeromonas* genusunda yer alan *A. schubertii* türünün bu genus içerisinde en uzak benzerliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Nhung ve ark., 2007; Yanez ve ark., 2003).

Aeromonas türleri 2000’li yıllar sonrası; *A. hydrophila* [2 alt türe ayrılmış (*hydrophila* ve *ranae*)], *A. bestiarum*, *A. salmonicida* [5 alt türe ayrılmış (*A. salmonicida*, *masoucida*, *smithia*, *achromogenes* ve *pectinolytica*)], *A. caviae*, *A. media*, *A. eucrenophila*, *A. sobria*, *A. veronii*, *A. encheleia*, *A. jandaei*, *A. schubertii*, *A. trota*, *A. allosaccharophila* ve *A. popoffii* olarak 14 tür *Aeromonadaceae* ailesine dahil edilmiştir (Martin-Carnahan ve Joseph, 2005). 2012 yılında ise; *A. ichthiosmia* ve *A. culicicola* ile *A. veronii*; *A. enteropelogenes* ile *A. trota* gibi türlerin daha önce isimlendirilen *Aeromonas* türleri ile sinonim olduğu bildirilmiştir. Böylece *Aeromonas* genusuna 11 yeni tür daha eklenerek (*A. simiae*, *A. molluscorum*, *A. bivalvium*, *A. tecta*, *A. aquariorum*, *A. piscicola*, *A. fluvialis*, *Aeromonas taiwanensis*, *A. sanarellii*, *A. diversa* ve *A. rivuli*) toplam 25 tür *Aeromonadaceae* ailesine dahil edilmiştir (Figueras ve ark., 2011a; Hidalgo ve Figueras, 2012).

2.2.1.2 Hareketli *Aeromonas* Etiyoloji

Aeromonas türleri gram negatif, 1-3,5 mm boyutlarında, oksidaz ve katalaz pozitif, fakültatif anaerobik, fermentatif özellikte olup genellikle kültür ortamlarında (TSA, BHIA, KA gibi) kolay üremektedirler (Janda ve Motyl, 1985). Bu türlerin büyük çoğunluğu kanlı agarda (at-koyun kanı) hemoliz oluşturur, triptofan ve indol üretir. Optimum gelişme sıcaklıkları 28°C olmasına rağmen genellikle 1-42°C arasında gelişebilmekte (Hanninen ve ark., 1995; Mateos ve ark., 1993) ve yüksek asidik ortamlara (pH 3,5) adapte olabilmektedirler (Karem ve ark., 1994). Doğal olarak 2, 4-diamino-6, 7-diisopropylpteridine (O/129) vibriostatik ajanına duyarlıdırlar. *Vibrio* ve *Plesiomonas* gibi yakın özelliklere sahip cinslerden %6 NaCl’da üreme ve tiyosülfat sitrat safra tuzu (TCBS) agarda üreme göstermemeleriyle ayrılmaktadır.

Aeromonas genusu genel olarak maltoz, D-galaktoz ve trehalozu fermente edebilirken, ksiloz, sorboz, eritrol, adonitol, dulsitol ya da H₂S’ü fermente edememektedir. Hareketli *Aeromonas*’ların karakteristik özellikleri olarak üreaz, pektinaz, ornitin dekarboksilaz, triptofan ve fenilalanin deaminaz üretmemeleri belirtilebilir (Holt, 1994; Janda ve Abbott, 2010).

Tipik *A. salmonicida* suşları psikrofilik, hareketsiz ve kahverengi pigment üretme özelliklerine sahiptirler. Atipik *A. salmonicida* grubu kendi içerisinde heterojen özellik (fenotipik karakter) göstermektedir. Atipik *A. salmonicida* türleri genel olarak, salmonid olmayan balıklardan izole edilmekte, mezofilik (37°C gelişme) gelişme, hareketli-hareketsiz ve kahverengi pigment üretmeyen özellik göstermektedir (Figueras, 2005; Martínez-Murcia ve ark., 2005; Noga, 2010). Tipik ve atipik *A. salmonicida* türlerinin birbirlerinden ve diğer *Aeromonas* türlerinden biyokimyasal özellikleriyle ayrımlarının yapılamadığı bildirilmektedir (Martínez-Murcia ve ark., 2005; Beaz-Hidalgo ve ark., 2008; Figueras ve ark., 2011b).

2.2.1.3 Epidemiyoloji

Aeromonas türleri; yüzey suları, balık çiftlikleri, dereler, atık sular, işlenmiş ve işlenmemiş içme suları, nehirler, göller, denizler ve arıtma sularından rapor edilmiştir (Simidu ve ark., 1971; Freij, 1984; Ormen ve Ostensvik, 2001; Carvalho ve ark., 2012). Plankton ve deniz suyu florasının rezervuar olabileceği, insanlarda *Aeromonas* enfeksiyonlarının balık kaynaklı kontaminasyon ile oluşabileceği bildirilmiştir (Rahman ve ark., 2007). *Aeromonas*'ların farklı su kaynaklarındaki prevalanslarının; kirlilik, coğrafik bölge ve yerleşim birimlerine göre değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (Huys ve ark., 1995; Kuhn ve ark., 1997a; Kuhn ve ark., 1997b; Sechi ve ark., 2002; Pablos ve ark., 2011). Hem *A. veronii* bv. *sobria* hem de *A. caviae* atık sularındaki sediment ve su arıtma tesislerinin çıkış su florasının dominant bakterileri olduğu bildirilmiştir (Ashbolt ve ark., 1995; Rahman ve ark., 2007). Sağlıklı insanlarda *Aeromonas*'ların insidensi %1-3,5 iken; ishalleri insanların dışkılarında %10,8 olduğu rapor edilmiştir (Goodwin ve ark., 1983; Edberg ve ark., 2007; Rahman ve ark., 2007; Suarez ve ark., 2008).

Aeromonas türleri balıklar, diğer akuatik hayvanlar ve bitkilerin normal mikrobiyal florasında yer alırken; tatlı su balıklarında predominant karakter göstermektedir (Simidu ve ark., 1971; Trust ve Sparrow, 1974). Akuakültürde patojen *Aeromonas* türleri önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Austin ve Austin., 1987; Nash ve ark., 2006; Pridgeon ve ark., 2011c). Balıklarda yaygın olarak hastalık vakalarından izole edilen *Aeromonas* türleri *A. salmonicida*, *A. hydrophila* ve *A. veronii* iken; son zamanlarda *A. bestiarum*, *A. piscicola* ve *A. tecta* türleri de

bildirilmiştir (Beaz-Hidalgo ve ark., 2009). Tipik *A. salmonicida* başta salmonid balıklar olmak üzere gökkuşuğu alabalıklarında da furunkulozise neden olmaktadır (Beaz-Hidalgo ve ark., 2009).

A. hydrophila ve *A. veronii* gibi mezofilik türler, sazan, tilapia, mersin balığı, levrek (*Dicentrarchus labrax*), kedi balığı (catfish, Siluriformes) ve salmonlarda hareketli *Aeromonas* septisemi (MAS) enfeksiyonuna neden olmaktadır (Joseph ve Carnahan, 1994).

2.2.1.4 Teşhis

Aeromonas türlerinin klasik yöntemlerle identifikasyonu genellikle karbonhidrat fermentasyonları ve gaz üretimleri dikkate alınarak yapılmaktadır (Kluyver ve van Neil, 1936; Schubert, 1968). Ancak klasik yöntemlerle tür teşhislerinin yapılamadığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Martinez-Murcia ve ark., 2000; Figueras, 2005; Wahli ve ark., 2005). Ayrıca identifikasyon amacıyla kullanılan biyokimyasal testler, çevresel faktörlere (sıcaklık) bağlı olarak farklı sonuçlar verebilmektedir (Knochel, 1989).

Aeromonas türlerinin klasik identifikasyonunda yüksek ayırım gücü olan biyokimyasal testlere dayanan Aerokey II (Carnahan ve ark., 1991; Joseph ve Carnahan, 1994), *A. salmonicida*'nın tür ve cins düzeyinde ayırımı için hazırlanan AeroMat-1/AsalMat-1 gibi teşhis anahtarları hazırlanmıştır (Higgins ve ark., 2007). Ancak Aerokey II; türler arası inkübasyon süresi farklılıkları ve maliyetli olması nedeniyle yaygın kullanım bulamamıştır (Janda ve Abbott, 1998). Öte yandan *Aeromonas* türlerinin hızlı teşhisi için Vitek, API, MicroScan, Walk/Away, BBL Crystal Enteric/Non-fermenter, Biolog ve Phoenix 100 ID/AST gibi ticari kitler geliştirilmiş olmasına rağmen bunlar gıda güvenliği açısından yaygın kullanım bulmuştur (Hanninen, 1994; Park ve ark., 2003; Soler ve ark., 2003; Huddleston ve ark., 2006; O'Hara, 2006). Zira belirtilen kitlerin psikrofil *Aeromonas*'ların teşhisinde hatalı sonuçlar verdiği bilinmektedir (Abbott ve ark., 1998; Janda ve Abbott, 2010).

Aeromonas genusu içerisinde yer alan türler arasında yüksek genetik benzerlik göstermesi nedeniyle moleküler (PCR, RT-PCR, dizi analizi) yöntemlerle ayırımlarında güçlükler olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle birçok hareketli *Aeromonas* türü; *A. hydrophila* ve/veya *A. caviae* kompleks olarak

isimlendirilmektedir (Janda ve Abott, 2010). *A. hydrophila* kompleks; içerisinde *A. hydrophila sensu stricto*, *A. bestiarum* ve *A. salmonicida* yer almaktadır. *A. bestiarum*'un ise *A. hydrophila*'dan ayırımında büyük güçlük yaşanmaktadır (Janda ve Abott, 2010). Bakteriyel hastalıkların moleküler teşhisine yönelik araştırmalar incelendiğinde sıklıkla 16S rRNA (SSU) dizi analizinin kullanıldığı görülmektedir (Janda ve Abbott, 2007). Ancak son zamanlarda bazı türlerin bir ya da iki baz farklılık göstermesi 16S rRNA'nın identifikasyonda kullanımını sınırlandırmaktadır (Alperi ve ark., 2008). Örneğin *A. caviae* ve *A. trota*'nın 16S rRNA dizi analizinde yalnızca 3 ya da daha az sayıda nükleotid farklılığına sahip olduğu belirtilmiştir (Martinez-Murcia ve ark., 2005). Zira Alperi ve ark., (2008); 999 *Aeromonas* izolatının kullanıldığı çalışmada bu izolatların %8.1'inin 16S rRNA dizi analizi ile ayırımlarının yapılamadığını bildirmiştir. Yapılan bu çalışmalar 16S rRNA ile identifikasyonun *Aeromonas* türleri için kullanışlı bir metot olmadığını göstermiştir. Son zamanlarda etkenlerin identifikasyonunda korunmuş gen bölgeleri (housekeeping genes) incelenmiş ve *Aeromonas* türlerinin ayırımında *gyrB* ve *rpoD* gibi gen bölgelerinin kullanışlı olduğu belirtilmektedir (Martinez-Murcia ve ark., 2005; Chang ve ark., 2005; Alperi ve ark., 2008).

2.2.1.5 Antimikrobiyal Duyarlılık ve Direnç

Antimikrobisallerin beşeri, veteriner ve tarım alanlarında bilinçsizce kullanımı çevrede antimikrobiyal kontaminasyona yol açmaktadır (Goni-Urriza ve ark., 2000a; Goni-Urriza ve ark., 2000b; Kummerer, 2003). Şehirsel atık suların akarsu ve denizlere karışması antimikrobiyal kirlilik yönüyle doğal kaynakları da tehdit etmektedir (Goni-Urriza ve ark., 2000a; Goni-Urriza ve ark., 2000b). Akuakültürde florokinolonlar, florfenikol, oksitetrasiklin, amoksisillin ve sulfonamidler grubu antimikrobisallerin yaygın kullanıldığı bildirilmektedir (Graslund ve ark., 2003; Holmstrom ve ark., 2003; Cabello, 2006; Soonthornchaikul ve Garelick, 2009). Akuakültürde bakteriyel etkenlere karşı yaygın kullanılan antimikrobisallerde direnç gelişimi olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Petersen ve ark., 2002; Sorum, 2008; Szczepanowski ve ark., 2009; Cheng ve ark., 2012; Moura ve ark., 2012). Goni-Urriza ve ark., (2000a,b) Avrupa'da iki nehirden izole ettiği 138 hareketli *Aeromonas* izolatının nalidiksik aside %59, tetrasiklin'e %14,

sulfamethoksazol/trimetoprim'e %7, ve kloramfenikol'e %2 dirençli olduğunu bildirmiştir. Aynı araştırmacılar 16 farklı bölgeden almış oldukları şehirsel atık su örneklerinden 118 *Aeromonas* sp. izolatu tespit etmişler ve bu izolatların %75'inin antimikrobiyal direnç geliştirmiş olduklarını belirlemişlerdir. Ayrıca belirtilen araştırmada atık su ünitelerinin su giriş noktalarına oranla çıkış noktalarından izole edilen *Aeromonas* sp.'lerin %50 daha fazla antimikrobiyal dirençli oldukları saptanmıştır (Goni-Urriza ve ark., 2000a). Farklı bir araştırmada ise; şehir atık suyu deşarj edilen Coco, Ceara ve Brezilya nehirlerinden toplanan su örneklerinin %77'sinde *Aeromonas* (*A. caviae*, *A. veronii* bv. *sobria*, *A. veronii* bv. *veronii*, *A. trota*, *A. media*, *A. sobria*, ve *A. hydrophila*) türleri tespit edilmiş ve bu türlerin %60'ının 8 antimikrobiyale karşı dirençli oldukları görülmüştür (Evangelista-Barreto ve ark., 2010). Fransada balık işletmelerinde *Aeromonas* sp. enfeksiyonlarının tedavisi sonrası alınan sediment örneklerinde düşük seviyede florfenikol (%0,3) direnci rapor edilmiştir (Gordon ve ark., 2007).

Akuakültürde yapılan antimikrobiyal çalışmalar *Aeromonas* türlerinin diğer akuatik bakteri türlerine oranla daha yaygın antimikrobiyal direnç genleri taşıdığını göstermiştir. Akuakültürde su, sediment ve hasta balıklardan izole edilen *Aeromonas* spp. izolatlarının *tetA-E*, *tetH*, *tetG* ve *tetM* genlerini taşıdığı bildirilmiştir (Schmidt ve ark., 2001b; Nawaz ve ark., 2006; Akinbowale ve ark., 2007; Jacobs ve Chenia, 2007; Verner-Jeffreys ve ark., 2009). Yapılan çalışmalarda *tetA* ve *tetE* genlerini tetrasiklin direncinin kodlanmasında predominant olduğu görülmüştür (Han ve ark., 2012; Nawaz ve ark., 2006). Son yıllardaki araştırmalar; yetiştiricilik sistemlerinden izole edilen *Aeromonas* türlerinde florfenikol (*flor*), trimetoprim (*dfrA1* ya da *dfrA7*) ve sulfonamid (*suI*, *suII*) genlerinin tespit edildiğini bildirmektedir (Schmidt ve ark., 2001a; Jacobs ve Chenia, 2007; McIntosh ve ark., 2008; Verner-Jeffreys ve ark., 2009; Verner-Jeffreys ve ark., 2009; Ishida ve ark., 2010; Ndi ve Barton, 2011).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise *tetA*, *tetB*, *suI* ve *suII* genlerinin tespit edildiği bildirilmiştir (Boran ve ark., 2013; Çapkın ve ark., 2015). *Aeromonas* türlerinde tespit edilen direnç genlerinin dağılımları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Farklı çevrelerden izole edilen antimikrobiyal direnç geni taşıyan *Aeromonas*lar

Direnç geni	Direnç fenotipi	Biyolojik kaynak	Çevresel kaynak*	Literatür
-------------	-----------------	------------------	------------------	-----------

<i>sulI</i>	Sulfanomidler	<i>A. salmonicida</i> , <i>A. veronii</i> , <i>A. caviae</i>	Akuakültür (Sediment, Balık)	McIntosh ve ark., 2008; Ndi ve Barton 2011; Verner-Jeffreys ve ark., 2009
<i>sulIII</i>	Sulfanomidler	<i>A. salmonicida</i> , <i>A. bestiarum</i>	Akuakültür, Akarsu, Sediment	Gordon ve ark., 2008; McIntosh ve ark., 2008
<i>floR</i>	Kloramfenikol	<i>A. salmonicida</i> , <i>A. hydrophila</i> ,	Akuakültür (Balık), Akarsu, Sediment	Gordon ve ark., 2008; McIntosh ve ark., 2008; Verner-Jeffreys ve ark., 2009
<i>tetA</i>	Tetrasiklin	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. allosaccharophila</i>	Su arıtma tesisi, İçme suyu, Akuakültür (Balık), Sediment, Akarsu	Akinbowale ve ark., 2007; Carvalho ve ark., 2012; Girlich ve ark., 2010; Girlich ve ark., 2011; Han ve ark., 2012; Ishida ve ark., 2010; Jacobs ve Chenia 2007; Kim ve ark., 2011; McIntosh ve ark., 2008; Nawaz ve ark., 2006; Schmidt ve ark., 2001a; Verner- Jeffreys ve ark., 2009
<i>tetB</i>	Tetrasiklin	<i>A. hydrophila</i> ,	Akuakültür	Jacobs ve Chenia 2007; Nawaz ve ark., 2006
<i>tetC</i>	Tetrasiklin	<i>A. hydrophila</i> ,	İçme suyu, Akuakültür, Sediment, Balık	Carvalho ve ark., 2012; Han ve ark., 2012c; Ishida ve ark., 2010; Jacobs ve Chenia 2007; Nawaz ve ark., 2006; Ndi ve Barton 2011; Verner-Jeffreys ve ark., 2009;
<i>tetD</i>	Tetrasiklin	<i>Aeromonas</i> sp., <i>A. hydrophila</i> ,	İçme suyu, Akuakültür, Sediment, Balık	Akinbowale ve ark., 2007; Carvalho ve ark., 2012; Han ve ark., 2012c; Jacobs ve Chenia 2007; Nawaz ve ark., 2006; Schmidt ve ark., 2001b; Verner-Jeffreys ve ark., 2009
<i>tetE</i>	Tetrasiklin	<i>A. eucrenophila</i> , <i>A. hydrophila</i>	Su arıtma tesisi, İçme suyu, Akuakültür, Sediment, Balık	Akinbowale ve ark., 2007; Carvalho ve ark., 2012; Han ve ark., 2012c; Ishida ve ark., 2010; Jacobs ve Chenia 2007; Kim ve ark., 2011; Nawaz ve ark., 2006; Schmidt ve ark., 2001b; Verner-Jeffreys ve ark., 2009
<i>tetG</i>	Tetrasiklin	<i>A. caviae</i>	Akuakültür (Balık)	Verner-Jeffreys ve ark., 2009
<i>tetH</i>	Tetrasiklin	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. encheleia</i>	Akuakültür	Jacobs ve Chenia 2007
<i>tetM</i>	Tetrasiklin	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. sobria</i>	Akuakültür (Balık)	Akinbowale ve ark., 2007
<i>tetY</i>	Tetrasiklin	<i>A. bestiarum</i>	Doğal su	Gordon ve ark., 2008

2.3 *Yersinia ruckeri*

2.3.1 Tarihçe

Yersinia ruckeri ilk kez 1950’li yılların başında ABD’nin Idoha Eyaleti’nin Hagerman vadisindeki gökkuşağı alabalıklarından (Rucker ve Ross) izole edilmiş ve hastalığa Kızıl Ağız (Redmouth) veya Kızıl Boğaz (Redthroat) adı verilmiştir (Rucker, 1966; Ross ve ark.,1966). Etkenin *Enterobacteriaceae* familyası üyesi olan *Serratia*, *Yersinia*, *Hafnia*, *Salmonella*, *Klebsiella* türlerine benzer olduğu belirlenmiş, daha sonra yapılan DNA hibridizasyon çalışmaları ile *Y. ruckeri*’nin *Yersinia* cinsi ile yakın benzerlik gösterdiği ortaya konularak etkene ilk izole eden “Rucker”in ismi verilmiştir

(Ewing ve ark., 1978). *Y. ruckeri*'nin neden olduğu hastalık uluslararası terminolojide Enterik Kızıl Ağız Hastalığı olarak yaygın kullanım bulmuştur (Busch, 1982).

Y. ruckeri daha sonra salmon ve alabalık yetiştiriciliği yapılan Alaska, Arizona, Kalifornia, Ohio, Tennessee ve Washington olmak üzere Amerika'nın farklı bölgelerinden izole edilmiş ve hastalığın ortaya çıktığı bölgelerde büyük ekonomik kayıplara neden olmuştur (Dear, 1988). Ancak hastalık hakkında gerekli kontrol önlemlerinin alınamaması üzerine hastalık Amerika'dan dünyanın diğer bölgelerine yayılmıştır (Valtonen ve ark., 1992). Günümüzde ise İngiltere, Almanya, Fransa, Norveç, İtalya Portekiz, Çekoslovakya, Finlandiya, İskoçya, Güney Afrika, Avustralya ve Türkiye dahil olmak üzere dünyanın birçok bölgesinde izole edildiği bildirilmiştir (Llewellyn, 1980; Roberts, 1983; Fuhrmann, 1983; Frerichs ve Collins, 1984; Giorgetti ve ark., 1985; Rintamaki ve ark., 1986; Bragg ve Henton, 1986; Sparboe ve ark., 1986; Vuillaume ve ark., 1987; Dear, 1988; Vladik ve Prouza, 1990; Cagırgan ve Yüreklitürk, 1991; Sousa ve ark., 1994; Altun ve ark., 2013a).

2.3.2 Etiyoloji

Y. ruckeri gram-negatif, 1.0 ve 2-3µm uzunluğunda basil olup genellikle 7 ya da 8 tane peritrik flagellaya sahip (%80'i hareketli) bir bakteridir. Bazı suşlarda flagella olsa bile flagellar fonksiyonel olmadığı için hareketsiz olabilmekte ve genellikle 35°C'de hareketsizdirler (O'Leary, 1977).

Y. ruckeri, katalaz, β-galaktozidaz, lizin ve ornitin dekarboksilaz üretebilirken, H₂S, indol, oksidaz, fenilalanin deaminaz ya da fosfataz üretmez ve genellikle nitratı indirgerler. Genellikle jelatin, sodyum sitrat, Tween 20, 40, 60 ve 80'i indirgerken eskülin, kitin, DNA, elastin, pektin, tributrin, ya da üreyi indirgeyemez ve %0-3 tuzlulukta gelişebilirler. Fruktoz, glukoz, maltoz, mannitol ve trehalozdan asit üretebilirken inositol, laktoz, rafinoz, salisin, sorbitol ya da sukrozdan asit üretmezler (Ewing ve ark., 1978; Austin ve Austin., 2016). Bununla birlikte serovar II sorbitol fermente edemez ve bu yönüyle serovar I'den ayrılabilir.

Genellikle lipopolisakarit (LP) ya da tüm hücre serolojik reaksiyonlarına dayanan serotiplendirmeler yapılmıştır. Temelde, 5 büyük serotip tanımlanmıştır. Bu serotiplerden tip I (Hagerman) çok virulent, tip II (O'Leary) az virulenttir. Diğer serotipler olan III (Avustralya), IV ve V'in ise avirulent olduğu belirlenmiştir (Austin

ve Austin., 2016). Ancak Tinsley ve ark., (2011) yüksek virülens gücüne sahip olan yeni bir klonal grup tanımlamışlardır. Serotip 1; O1a ve O1b olarak iki gruba, serotip O2 ise O2a, O2b ve O2c olarak üç gruba ayrılmıştır. Ayrıca Serotip O3, serotip O4 ve serotip O7 tanımlanmıştır (Romalde ve ark., 1993; Tobback ve ark., 2007).

Y. ruckeri'nin hareket ve lipaz aktivitesine göre iki biyotipi (biyotip I-II) bildirilmiştir (Davies, 1990; Evenhuis ve ark., 2009). Hareket ve lipaz aktivitesi pozitif olan biyotip I genellikle salgınlardan izole edilen O1a (Hagerman suşu) ve O2b (O'Leary suşu) serotiplerini içermektedir ve serotip O1a kültürü yapılan gökkuşağı alabalıklarının dominant suşudur (O'Leary, ve ark., 1979; Stevenson ve Airdrie,1984; Austin ve Austin., 2016).

Y. ruckeri yaklaşık 3.7Mb genom uzunluğuna ve %47 G+C oranına sahiptir (Navas ve ark., 2014). DNA sekans analizlerinde *Yersinia* türlerinin yakın ilişkili oldukları ve bu genusta yer alan diğer türler ile benzer gen dizilerini taşıdığı tespit edilmiştir (Chen ve ark., 2010). Genetik yapı ve moleküler çeşitlilik açısından çoklu bölge gen sekansı (Multilocus sequence typing MLST), yağ asidi metil ester profili, pulsed field jel elektroforezi (PFGE), ribotiplendirme vs. PCR yöntemleri kullanılmıştır. Uygulanan farklı moleküler yöntemlerle *Y. ruckeri* serotip O1a'nın genetik olarak yüksek homojenite gösterdiği tespit edilmiştir (Schill ve ark., 1984; Huang ve ark., 2013). Bastardo ve ark., (2012) *Y. ruckeri* suşlarının coğrafik yayılımı ve biyoçeşitliliğini çoklu gen sekansı ile (MLST) araştırmış, popülasyon yapısı içerisinde iki büyük klonal kompleks (CC1 ve CC2) tanımlamıştır (Bastardo ve ark., 2012). *Y. ruckeri*'nin genotiplendirmesinde 16S rRNA sekans analizi, ERIC-PCR ve (GTG)₅-PCR yöntemleri kullanılmıştır (Arias ve ark., 2007; Tinsley ve ark., 2011).

2.3.3 Epidemiyoloji

Gökkuşağı alabalıklarında Yersiniozis genellikle 10g'a kadar ağırlıkdaki balıklarda şiddetli enfeksiyonlara neden olmakta 50g ve daha büyük balıklarda ise kronik formda seyretmektedir. Enfeksiyonun şiddeti 15-18°C su sıcaklıklarında en yüksek düzeye ulaşırken ve 10°C'nin altındaki su sıcaklıklarında ise düşmektedir. Aşırı yağlı ya da aşırı zayıf balıkların salgınlara daha duyarlı oldukları belirtilmektedir (Rucker, 1966). Aseptomatik taşıyıcıların bulunduğu popülasyonlarda Yersiniozis salgınları dönemsel olarak ortaya çıkabilmektedir (Busch, 1982). Hunter ve ark.,

(1988) yaptıkları çalışmalarda stres etkisinde kalmayan taşıyıcı balıkların *Y. ruckeri*'yi bulaştırmadığını bildirmiştir. Taşıyıcı balıklarda hastalığın yayılmasında su sıcaklığı gibi stres faktörlerinin rol oynadığı rapor edilmiştir. Bununla birlikte balıkların ellenmesi, düşük su kalitesi (yüksek amonyak, düşük O₂) ve yoğun stok gibi faktörlerin hastalığın ortaya çıkışıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Bullock ve Snieszko, 1975). *Y. ruckeri*'nin balıklarda inkübasyon süresi yaklaşık 5-19 gündür ve inkübasyon periyodu sonrasında mortaliteler görülmektedir (Rucker, 1966; Busch, 1982). Gökkuşığı alabalığı popülasyonlarında mortaliteler kümülatif olarak %30-35 olmakta, küçük boydaki duyarlı balıklarda ise mortalite %70'e ulaşabilmektedir. (Klontz ve Huddleston, 1976). Bazı araştırmacılar *Y. ruckeri*'nin akuatik ortama kolay adapte olduğu, balık dışında uzun süre canlılığını koruduğunu ve etkenin çamurda 2 ay boyunca canlı kalabildiğini bildirilmiştir (Thorsen ve ark., 1992; Austin ve Austin., 2016).

Doğal enfekte ve hastalığı atlatmış balıklarda enfeksiyondan 2 ay sonra yapılan incelemelerde balıkların kalın bağırsaklarında *Y. ruckeri*'yi taşıdığı bildirilmiştir (Rodgers, 1992; Tobback ve ark., 2007). Flagellar proteinin aşırı salgılanması durumunda bakterinin karakteristik özelliği olan yapışkanlığı artmakta ve biyofilm oluşturabilme kabiliyeti kazanabilmektedir. Bu durum *Y. ruckeri*'nin sedimentte ve dışkıda uzun süreler canlı kalabilmektedir (Coquet ve ark., 2002). Etkenin bulaşmasında anaç-yumurta ilişkisi henüz tam olarak belirlenememiş olsa da *Y. ruckeri*'nin dezenfekte edilmeyen döllenmemiş yumurtalardan izole edildiğine dair kayıtlar bulunmaktadır. Chinook salmon (*O. tshawytscha*), döllenmemiş yumurta ve seminal sıvılarında bu etkene ait DNA'ların tespit edilmesi *Y. ruckeri*'nin vertikal bulaşma gösterebileceğine dair şüpheleri güçlendirmektedir (Glenn ve ark., 2014). Etken başta gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss*) olmak üzere Coho salmon (*O. kisutch*), Sockeye salmon (*O. nerka*), Atlantik salmon (*Salmo salar*), Kahverengi alabalık (*S. trutta*), Cut-throat (*S. clarki*), Brook trout (*Salvelinus fontinalis*), dağ alası (*S. alpinus*) gibi salmon grubu balıklar ile kanal kedi balığı (*Ictalurus punctatus*), Japon balığı (*Carassius auratus*), sazan balıkları (*Cyprinus carpio*, *Aristichyts nobilis*), yılan balıkları (*Anguilla Anguilla*), Mersin balığı (*Acipenser baeri Brvet*) ve deniz levreğinden (*D. labrax*) izole edilmiştir (Rucker, 1966; Mcardle ve Martin, 1985; Vuillaume ve ark., 1987; Valtonen ve ark., 1992; Hietala ve ark., 1995; Petrie ve ark.,

1996; Austin ve Cross, 1998; Berc ve ark., 1999; Danley ve ark., 1999; Altun ve ark., 2013a). Ayrıca su samuru, kerkenes, hindi, martı ve fare gibi farklı hayvan türlerinin de *Y. ruckeri*'nin taşıyıcısı olduğu bildirilmiştir (Rintamaki ve ark., 1986; Willumsen, 1989). Yapılan çalışmalarda; *Y. ruckeri*'nin %1-9 tuzlu sularda dahi gökkuşağı alabalıklarında enfeksiyon oluşturabildiği, polivinilklorid, beton, ağaç, fiberglas gibi yüzey materyallerine tutunma özelliği gösterdiği rapor edilmiştir (Altınok ve ark., 2001; Coquet ve ark., 2002).

2.3.4 Teşhis

Etkenin primer izolasyonu özellikle dalak, kalp, böbrek ve bağırsağın son kısmından TSA, KA ve BHIA gibi genel besi yerlerine ekim yapılarak 22°C'de 48 saat inkübasyon sonrasında krem renkli yuvarlak, düzgün kenarlı kolonilerin görülmesiyle yapılabilmektedir (Austin ve Austin., 2016). Mikroskopta gram negatif, hafif kıvrık, genellikle hareketli, oksidaz, üre kullanımı negatif, glukoz fermentasyonu, katalaz pozitif özellikte olan *Y. ruckeri* şüpheli izolatların Waltman-Shotts besi yerinde yeşil renkli koloniler ve hidroliz zonu oluşturması ile ön teşhisi yapılabilmektedir (Austin ve Austin., 2016). *Y. ruckeri*'nin teşhisinde klasik mikrobiyolojik yöntemlerin yanı sıra yaygın olarak hızlı teşhis kitleri de (API 20E ve API 32 E) geliştirilmiştir. *Y. ruckeri*'nin hızlı teşhis kitlerinde pozitif olan izolatları yaygın olarak apiweb'te "1104100", "5104100", "5107100", "5307100" ve "5105500" profili vermektedir (Santos ve ark., 1993; Bastardo ve ark., 2011). Ancak "51051010" nolu profile sahip *Y. ruckeri* izolatı *Hafnia alvei*'den ayırt edilememekte ve *Hafnia alvei* olarak yanlış identifiye edilebilmektedir (Santos ve ark., 1993; Danley ve ark., 1999). Ancak *H. alvei* ksiloz fermentasyonu ve 30°C'de hareket etme özellikleri ile *Y. ruckeri*'den ayrılabilir (Buller, 2004).

Y. ruckeri'nin moleküler teşhisinde PCR yöntemleri başarılı bir şekilde kullanılmış hatta bu yöntemle gökkuşağı alabalıklarında deneysel enfeksiyondan 1 saat sonra bile kan örneklerinden etken teşhis edilebilmiştir (Argenton ve ark., 1996 ; Gibello ve ark., 1999; Altınok ve ark., 2001; Taylor ve Winton, 2002). *Y. ruckeri*'nin moleküler karakterizasyonunda Enterobakteriyel repetitive intergenic consensus PCR (ERIC-PCR), Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE), 16S rRNA gen sekansı ve Multilocus Sequence Analysis (MLSA) yöntemleri kullanılmış ve ERIC-PCR, 16S-

rRNA gen sekansı ve MLSA'nın taksonomik çalışmalarda güvenilir ve etkili yöntemler olduğu bildirilmiştir (Souza ve ark., 2010).

2.3.5 Antimikrobiyal Direnç

Gökkuşuğı alabalığı yetiştiriciliğinde karşılaşılan Yersiniozis salgınlarının tedavisinde genellikle Sulfamethoksazol+trimetoprim, florfenikol, kloramfenikol, flumequin, oksalinik asit, oksitetrasiklin, potansiyel sulfanomidler ve tiamulin kullanıldığı bildirilmektedir (Austin ve Austin., 2016). *Y. ruckeri*'nin farklı serotip ve biyotipleriyle yapılan çalışmalarda sulfatriad ve sephalothin'e dirençli, tetrasiklin ve kotrimoksazol'e duyarlı olduğu rapor edilmiştir (Tinsley, 2010). Balta ve ark., (2010) yaptıkları çalışmada 116 *Y. ruckeri* izolatının 7 farklı antimikrobiyale [oksitetrasiklin (35,3%), ampisillin (29%), oksalinik asit (11,1%), streptomisin (10,2%), sulfamethoksazol (9,4%), trimetoprim-sulfamethoksazol (9,4%) ve florfenikol (4,2%)] karşı direnç geliştirmiş olduğu tespit etmiştir. Aynı çalışmada oksitetrasiklin dirençli izolatların büyük çoğunluğunun (44 izolatın 24'ü) *tetA* ve *tetB* direnç genlerini taşıdığı bildirilmiştir (Balta ve ark., 2010). 2015 yılında tetrasiklin ve sulfanomid direncini incelemek amacıyla yapılan farklı bir çalışmada ise *Y. ruckeri* izolatlarının yalnızca *tetD* ve *sulI* genleri taşıdığı tespit edilmiştir (Çapkın ve ark., 2015).

2.4 *Lactococcus garvieae*

2.4.1 Tarihçe

Laktokokkozis; su sıcaklığının 16°C ve üzerine çıktığı yaz aylarında tatlı sularda kültürü yapılan gökkuşuğı alabalıkları başta olmak üzere hem tatlı su hem de deniz balıklarının etkileyen yüksek mortaliteyle seyreden bir hastalıktır (Ferrario, 2012). *L. garvieae* Avusturalya, Güney Afrika, Japonya, Tayvan, Amerika, İngiltere, Türkiye ve Akdeniz ülkeleri de dahil olmak üzere 5 farklı kıttadan rapor edilmiştir (Vendrell ve ark., 2006). *L. garvieae* ilk olarak İngiltere'de bir mastit vakasından (sığır) izole edilmiş ve *Streptococcus garvieae* olarak isimlendirilmiştir (Collins ve ark., 1983). Japonya'da sarıkuyruk (*Seriola quinqueradiata*) balıklarında görülen salgınlarından izole edilen bakteri 1991 yılında *Enterococcus seriolicida* olarak isimlendirilmiştir (Kusuda ve ark., 1991). Etken üzerine daha sonra yapılan

biyokimyasal ve moleküler çalışmalarda *E. seriolicida* ile *L. garvieae* 'nin sinonim olduğu bildirilmiştir (Palacios ve ark., 1993; Domenech ve ark., 1993; Eldar ve ark., 1996).

2.4.2 Etiyoloji

L. garvieae; fakültatif anaerobik, hareketsiz, sporsuz, oksidaz, katalaz, H₂S ve indol negatif özellikte gram pozitif kok olup tek veya iki-üçlü zincirler oluşturabilmektedirler. Çevresel ve fizyolojik toleransı yüksek olan *L. garvieae* 4-45°C sıcaklık, %0-6,5 tuzluluk, %0,40 safra tuzu, pH 4-9,6 ve %0,1 metilen mavisinde üreme özelliği gösterebilmektedir. Kanlı agarda α hemoliz oluşturduğu bilinen etkenin, β -hemoliz oluşturduğu da bildirilmiştir (Teixeira LM ve ark., 1996; Vendrell ve ark., 2006). Etken triptik soy agar (TSA), %5 koyun kanı ilave edilmiş kanlı agar, beyin kalp infüzyon agar (BHIA) ve safra-eskülin agar (BEA)'da üreyebilirken McConkey agarda üreyememektedir (Austin ve Austin., 2016). Karbonhidrat fermentasyonu yönüyle incelendiğinde ise bakterinin; eskulin, sellobiyoz, D-fruktoz, galaktoz, D-glukoz, maltoz, manniol, D-mannoz, salisin, sorbitol ve trehaloz pozitif olduğu, adonitol, D-arabinoz, gliserol, glikojen, inositol, laktoz, melezitoz, melibiyoz, rafinoz, L-ramnoz, nişasta, sukroz ya da D-ksiloz negatif özellik gösterdiği bildirilmiştir (Austin ve Austin., 2016; Aguado-Urda ve ark., 2011)

L. garvieae'nin fenotipik özelliklerine göre biyotiplendirilmesinde tagatoz, riboz ve sukroz kullanımına göre 3 biyotip tanımlanmıştır (Ravelo ve ark., 2001). *L. garvieae*'nin moleküler karakterizasyonunda rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD-PCR), Sau-PCR, çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (AFLP), kesilmiş parça polimorfizmi (RFLP), ribotiplendirme, pulsed-field jel elektroforezi (PFGE) ve rRNA gen analizi (ARDRA) gibi moleküler tekniklerin başarıyla kullanıldığı bildirilmiştir (Ravelo ve ark., 2003; Eyngor ve ark., 2004; Kawanishi ve ark., 2005; Michel ve ark., 2007; Foschino ve ark., 2008).

2.4.3 Epidemiyoloji

L. garvieae etkeni başta gökkuşağı alabalığı olmak üzere sarıkuyruk (*S. dumerili*), tilapi (*Oreochromis sp.*), japon yılan balığı (*Anguilla japonica*), dil balığı (*Paralichthys olivaceous*), kefal (*Mugil cephalus*), kedi balığı, çırçır balığı (*Coris aygula*), kayabalığı (*Sebastes schlegeli*), sariağız balığı (*Seriola lalvei*) ve tatlı su

karidesi (*Macrobrachium rosenbergii*) gibi çok sayıda akuatik organizmadan izole edilmiştir (Kusuda ve ark., 1991; Prieta ve ark., 1993; Lee ve ark., 2001; Chen ve ark., 2001; Chen ve ark., 2002; Ravelo ve ark., 2003; Colorni ve ark., 2003; Kang ve ark., 2004; Kawanishi ve ark., 2005). Sazan balıkları (*Cyprinus carpio*) bu hastalığa karşı doğal direnç göstermektedir (Eldar ve ark., 1995). *L. garvieae*'nin patojenitesi üzerine yapılan bir deneysel çalışmada 100g'a göre 50g'lık alabalıklarda hastalığın daha şiddetli seyrettiği ve yüksek mortaliteye neden olduğu rapor edilmiştir. Ancak gökkuşığı alabalıklarında Laktokokkozis ile ilgili yapılan çalışmalarda hastalık etkeninin tüm boylarda (5 g-1 kg) etkili olduğu ve yüksek mortaliteye neden olduğu bildirilmiştir (Chang ve ark., 2002; Pereira ve ark., 2004).

L. garvieae'nin kapsüllü suşlarının (serotip KG-) kapsülsüzlerden (serotip KG+) daha virulent olduğu ve şiddetli patojeniteye sebep olduğu kaydedilmiştir (Alim ve ark., 1996; Ravelo ve ark., 2001; Kang ve ark., 2004).

Laktokokkozis salgınlarına genellikle yaz aylarında su sıcaklıklarının yükseldiği dönemlerde (>16°C) sıklıkla rastlanılmaktadır. Gökkuşığı alabalığı işletmelerinde su sıcaklığının 14-15°C üzerine çıkması durumunda hastalığın inkübasyon süresi hızlanır ve mortalitede artış gözlenir (Ghittino ve ark., 1998; Pereira ve ark., 2004). Gökkuşığı alabalıklarında deneysel enfeksiyon yapılan bir çalışmada; 18°C su sıcaklığındaki balıklarda %85 mortalite olduğu fakat 14°C su sıcaklığındaki balıklarda ise etken izole edilebilirken (inokülasyondan sonra ilk 25 gün) mortalite gözlenmediği bildirilmiştir (Royo, 1999). *L. garvieae*'nin yayılımında sediment, işletme suyu, su ve balık yakalama ekipmanlarının da rolü olduğu bildirilmiştir (Kitao ve ark., 1979; Kusuda ve ark., 1991).

2.4.4 Teşhis

Laktokokkozis'in teşhisi genellikle karakteristik semptomlar ve klinik bulguların görülmesiyle de yapılabilir. Hasta balıkların böbrek, beyin, karaciğer, dalak, göz, barsak ya da kan örneklerinden TSA, BHIA, KA gibi genel besi yerlerine ekim yapılarak 22-24°C'de 24-48 saat inkübasyon sonrası dağınık kenarlı beyaz-krem renkli koloniler görülmesi ile izolasyon yapılabilir (Kusuda ve ark., 1991; Ghittino ve ark., 1998; Austin ve Austin., 1999). *L. garvieae*'nin teşhisinde klasik mikrobiyolojik

yöntemlerin (gram boyama, hareket, oksidaz, katalaz, O/F vb.) yanı sıra hızlı teşhis kitleri de (API 32STREPT) geliştirilmiştir (Ravelo ve ark., 2001).

L. garvieae'nin moleküler teşhisinde pLG ve ITS primerlerinin başarılı sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Elliot ve ark., 1991; Zlotkin ve ark., 1998; Dang ve ark., 2012).

2.4.5 Antimikrobiyal Direnç

Laktokokkozisin tedavisinde eritromisin, oksitetrasiklin, amoksisillin ve doksisisiklin yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Munday, 1994). Fakat akuakültürde bilinçsiz antimikrobiyal kullanımına bağlı olarak direnç gelişimi rapor edilmiştir (Katao, 1982). Bununla birlikte bazı antimikrobiyal ajanların invitro çalışmalarda *L. garvieae*'ye karşı etkili sonuçlar vermesine rağmen sahada başarılı sonuçlar alınmadığı bildirilmektedir (Bercovier ve ark., 1997). Yapılan bir araştırmada coğrafik orijinleri farklı olan *L. garvieae* izolatlarının enrofloksasin ve nitrofurantoin'e duyarlı, oksalinik asit ve sulfamethoksazol-trimetoprim kombinasyonlarına ise direnç geliştirmiş oldukları bildirilmiştir (Ravelo ve ark., 2001). Sarıkuyruk balıklarından izole edilen *L. garvieae* üzerine yapılan diğer bir araştırmada ise; izolatların %44'ünün eritromisin, linkomisin ve oksitetrasikline direnç geliştirmiş oldukları ve bu izolatların *ermB* ve *tetS* genlerini taşıdıkları tespit edilmiştir (Kawanishi ve ark., 2005).

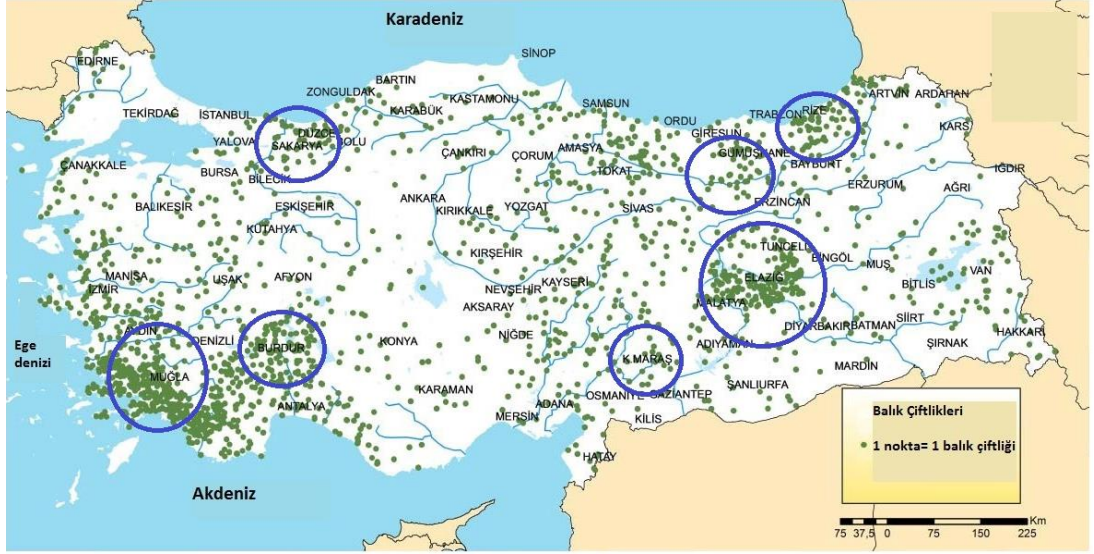
Ülkemizde bu konuda yapılan araştırmalarda *L. garvieae* izolatlarının eritromisin, ofloksasin, ampisillin ve kloramfenikol'e duyarlı, penisilin ve klindamisin'e ise dirençli olduğu bildirilmiştir (Ture ve Boran, 2015).

Bugüne kadar yapılan araştırmalarda *L. garvieae* izolatlarının *tetA*, *tetE*, *tetB*, *tetD*, *tetL*, *tetK*, *tetG*, *tet34*, *tetS*, *tetC*, *tetM*, *tetO* ve *ermB* direnç genlerinin tespit edildiğine dair bildirimler bulunmaktadır (Raissy ve Shahrani, 2015; Raissy ve Moumeni, 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Bakteri İzolatları

Bu tez çalışmasında Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarı kültür koleksiyonunda yer alan *Y. ruckeri*, *L. garvieae* ve Hareketli *Aeromonas* suşları kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan izolatların kökenleri ve izolasyon yılları Tablo 3’de verilmiştir. Bakteriyel izolatların bölgesel dağılımı ise Şekil 2’de verilmiştir.



Şekil 2. Tez çalışmasında kullanılan bakteriyel izolatların izole edildiği gökkuşağı alabalığı işletmeleri (mavi halka).
 °Türkiye haritasında gösterilen yeşil noktalar ülkemizdeki projeli gökkuşağı alabalığı işletmelerinin dağılığını göstermektedir. (Balcı Akova S. B. 2015)

Tablo 3. Tez çalışmasında kullanılan *Aeromonas* spp., *Y. ruckeri* ve *L. garvieae* izolatları

Örnek No	Balık Türü ve Ağırlığı	İzolasyon Yılı	İzolasyon Ayı	Bölge	Örnek No	Balık Türü ve Ağırlığı	İzolasyon Yılı	İzolasyon Ayı	Bölge	Örnek No	Balık Türü ve Ağırlığı	İzolasyon Yılı	İzolasyon Ayı	Bölge
A 131	RT -60g	2013	Temmuz	İç Anadolu	Y 32	RT -150g	2013	Mart	Marmara	L 69	RT -150g	2013	Mart	Ege
A 41	RT	2013	Temmuz	İç Anadolu	Y 202	RT -5g	2013	Ağustos	Ege	L 6	RT -0,5g	2013	Mart	Ege
A 105	RT -60	2013	Temmuz	İç Anadolu	Y 75	RT	2013	Ağustos	Ege	L 7	RT -0,5g	2013	Mart	Ege
A 106	RT -250	2013	Temmuz	İç Anadolu	Y 122	RT -15g	2013	Eylül	İç Anadolu	L 8	RT -0,5g	2013	Mart	Ege
A 109	RT -60	2013	Temmuz	İç Anadolu	Y 121	RT -250g	2013	Eylül	İç Anadolu	L 68	RT -150g	2013	Mart	Ege
A 113	RT -250g	2013	Temmuz	İç Anadolu	Y 89	RT -10g	2013	Eylül	İç Anadolu	L 70	RT -0,5g	2013	Mart	Ege
A 115	RT -100g	2013	Temmuz	İç Anadolu	Y 13	RT -10g	2013	Kasım	İç Anadolu	L 71	RT -130g	2013	Mart	Ege
A 118	RT -100g	2013	Temmuz	İç Anadolu	Y 14	RT -15g	2013	Kasım	İç Anadolu	L 67	RT -250g	2013	Mart	İç Anadolu
A 119	RT -150g	2013	Temmuz	İç Anadolu	Y 10	RT -3000g	2013	Kasım	İç Anadolu	L 87	RT -150g	2013	Nisan	Ege
A 120	RT -250g	2013	Temmuz	İç Anadolu	Y 7	RT -3000g	2013	Kasım	İç Anadolu	L 88	RT -150g	2013	Nisan	Ege
A 124	RT -150g	2013	Temmuz	İç Anadolu	Y 201	RT -40g	2013	Aralık	İç Anadolu	L 72	RT -150g	2013	Mayıs	Ege
A 210	RT	2013		İç Anadolu	Y 200	RT -180g	2014	Ocak	İç Anadolu	L 73	RT -150g	2013	Mayıs	Ege
A 30	RT -0,3g	2013	Ağustos	İç Anadolu	Y 199	RT -30g	2014	Ocak	İç Anadolu	L 77	RT -150g	2013	Mayıs	Ege
A 174	RT -250g	2013	Ağustos	İç Anadolu	Y 173	RT -8g	2014	Şubat	Ege	L 83	RT -65g	2013	Temmuz	İç Anadolu
A 28	RT -150g	2013	Ağustos	İç Anadolu	Y 175	RT -8g	2014	Şubat	Ege	L 86	RT -250g	2013	Temmuz	İç Anadolu
A 25	RT -7,5g	2013	Ağustos	İç Anadolu	Y 183	RT -10g	2014	Şubat	İç Anadolu	L 81	RT -250g	2013	Temmuz	İç Anadolu
A 26	RT -7,5g	2013	Ağustos	İç Anadolu	Y 186	RT -150g	2014	Şubat	İç Anadolu	L 78	RT -250g	2013	Temmuz	İç Anadolu
A 171	RT	2013	Ağustos	Ege	Y 190	RT -40g	2014	Şubat	İç Anadolu	L 79	RT -200g	2013	Temmuz	İç Anadolu
A 153	RT -6g	2013	Ağustos	Ege	Y 193	RT -10g	2014	Şubat	İç Anadolu	L 80	RT -3000g	2013	Temmuz	İç Anadolu
A 39	RT -230g	2013	Ağustos	İç Anadolu	Y 174	RT -3000g	2014	Şubat	İç Anadolu	L 20	RT	2013	Ağustos	Ege
A 42	RT -10g	2013	Ağustos	İç Anadolu	Y 176	RT -3000g	2014	Şubat	İç Anadolu	L 21	RT -30g	2013	Ağustos	Ege
A 80	RT -10g	2013	Ağustos	İç Anadolu	Y 167	RT -8g	2014	Mart	Ege	L 22	RT -300g	2013	Ağustos	Ege
A 86	RT -15g	2013	Ağustos	İç Anadolu	Y 171	RT -8g	2014	Mart	Ege	L 25	RT -300g	2013	Ağustos	Ege
A 37	RT -80g	2013	Eylül	İç Anadolu	Y 165	RT -220g	2014	Mart	Ege	L 124	RT -5g	2013	Ağustos	Ege
A 36	RT -80g	2013	Eylül	İç Anadolu	Y 169	RT -20g	2014	Mart	Ege	L 24	RT -8g	2013	Ağustos	Ege
A 82	RT -15g	2013	Eylül	İç Anadolu	Y 146	RT -0,3g	2014	Nisan	İç Anadolu	L 26	RT -3g	2013	Ağustos	Ege
A 61	RT -250g	2013	Eylül	İç Anadolu	Y 147	RT -0,3g	2014	Nisan	İç Anadolu	L 74	RT	2013	Ağustos	Ege
A 155	RT	2013	Eylül	Ege	Y 127	RT -8g	2014	Nisan	Ege	L 75	RT	2013	Ağustos	Ege
A 156	RT -250g	2013	Eylül	Ege	Y 130	RT -5g	2014	Nisan	Ege	L 76	RT	2013	Ağustos	Ege
A 32	RT -200g	2013	Eylül	İç Anadolu	Y 132	RT -60g	2014	Nisan	Ege	L 27	RT -250g	2013	Eylül	Ege
A 74	RT -15g	2013	Eylül	İç Anadolu	Y 139	RT -8g	2014	Nisan	Ege	L 29	RT -0,5g	2013	Eylül	Ege
A 87	RT -15g	2013	Eylül	İç Anadolu	Y 131	SU	2014	Nisan	Ege	L 32	RT -0,5g	2013	Eylül	Ege

A 33	RT -80g	2013	Ekim	İç Anadolu	Y 133	RT -200g	2014	Nisan	Ege	L 33	RT -2g	2013	Eylül	Ege
A 40	RT -80g	2013	Kasım	İç Anadolu	Y 152	RT -120g	2014	Nisan	İç Anadolu	L 34	RT -2g	2013	Eylül	Ege
A 8	RT -8g	2013	Kasım	İç Anadolu	Y 156	RT -300g	2014	Nisan	İç Anadolu	L 36	RT -250g	2013	Eylül	Ege
A 5	RT -3000g	2013	Kasım	İç Anadolu	Y 161	RT -200g	2014	Nisan	İç Anadolu	L 37	RT -250g	2013	Eylül	Ege
A 7	RT -8g	2013	Kasım	İç Anadolu	Y 119	RT -10g	2014	Mayıs	Ege	L 38	RT -250g	2013	Eylül	Ege
A 9	RT -8g	2013	Kasım	İç Anadolu	Y 110	RT -150g	2014	Mayıs	Ege	L 39	RT -250g	2013	Eylül	Ege
A 31	RT -3000g	2013	Aralık	İç Anadolu	Y 120	RT -200g	2014	Mayıs	Ege	L 40	RT -250g	2013	Eylül	Ege
A 170	RT -12g	2014	Ocak	Ege	Y 111	RT -200g	2014	Mayıs	İç Anadolu	L 41	RT -250g	2013	Eylül	Ege
A 1	RT -0,5g	2014	Ocak	Ege	Y 118	RT -200g	2014	Mayıs	İç Anadolu	L 42	RT -250g	2013	Eylül	Ege
A 108	RT -30g	2014	Mayıs	Ege	Y 86	RT -2g	2014	Haziran	Ege	L 43	RT -250g	2013	Eylül	Ege
A 89	CAA -8g	2014	Haziran	Marmara	Y 91	RT -2g	2014	Haziran	Ege	L 44	RT -250g	2013	Eylül	Ege
A 77	CAA -8g	2014	Haziran	Marmara	Y 51	RT -200g	2014	Temmuz	İç Anadolu	L 45	RT -150g	2013	Eylül	Ege
A 123	Su -bentik	2014	Haziran	İç Anadolu	Y 66	RT -200g	2014	Temmuz	İç Anadolu	L 46	RT -150g	2013	Eylül	Ege
A 76	CAA -8g	2014	Haziran	Marmara	Y 2	RT -8g	2014	Temmuz	Ege	L 47	RT -150g	2013	Eylül	Ege
A 91	CAA -8g	2014	Haziran	Marmara	Y 25	RT -12g	2014	Temmuz	Ege	L 48	RT -150g	2013	Eylül	Ege
A 84	RT -0,5g	2014	Temmuz	Ege	Y 3	RT -15g	2014	Temmuz	Ege	L 49	RT -150g	2013	Eylül	Ege
A 59	RT -0,3g	2014	Temmuz	Ege	Y 68	RT -0,3g	2014	Temmuz	Ege	L 50	RT -150g	2013	Eylül	Ege
A 88	RT -10g	2014	Ağustos	Ege	Y 53	RT -100g	2014	Temmuz	İç Anadolu	L 51	RT -150g	2013	Eylül	Ege
A 79	RT -10g	2014	Eylül	Ege	Y 64	RT -100g	2014	Temmuz	İç Anadolu	L 52	RT -100g	2013	Eylül	Ege
A 65	RT -15g	2014	Eylül	İç Anadolu	Y 71	RT -15g	2014	Ağustos	Ege	L 28	RT	2013	Eylül	Ege
A 78	RT -10g	2014	Ekim	Marmara	Y 79	RT -15g	2014	Ağustos	Ege	L 30	RT	2013	Eylül	Ege
A 90	RT -15g	2014	Ekim	Ege	Y 61	RT -0,2g	2014	Ağustos	Ege	L 35	RT	2013	Eylül	Ege
A 67	RT -8g	2014	Kasım	İç Anadolu	Y 56	RT -10g	2014	Eylül	Ege	L 31	RT	2013	Eylül	Ege
A 97	RT -8g	2015	Ocak	Marmara	Y 57	RT -20g	2014	Eylül	Ege	L 17	RT	2013	Eylül	Ege
A 100	RT -120g	2015	Ocak	Marmara	Y 60	RT -150g	2014	Ekim	Marmara	L 18	RT	2013	Eylül	Ege
A 99	RT -10g	2015	Ocak	Marmara	Y 78	RT -5g	2014	Ekim	Ege	L 11	RT -15g	2013	Aralık	Ege
A 98	RT -8g	2015	Ocak	Marmara	Y 81	RT -14g	2014	Ekim	Ege	L 116	RT -30g	2013	Aralık	Ege
A 162	RT -0,5g	2015	Ocak	Marmara	Y 114	RT -250g	2014	Ekim	Ege	L 130	RT -15g	2013	Aralık	Ege
A 2	RT -40g	2015	Ocak	Akdeniz	Y 58	RT -8g	2014	Kasım	Akdeniz	L 19	RT -200g	2014	Mart	Ege
A 3	RT -40g	2015	Ocak	Akdeniz	Y 73	RT -20g	2014	Kasım	Akdeniz	L 1	RT -200g	2014	Nisan	Ege
A 101	RT -1g	2015	Ocak	Ege	Y 77	RT -8g	2014	Kasım	Akdeniz	L 4	RT -40g	2014	Nisan	Ege
A 102	RT -2g	2015	Ocak	Ege	Y 106	RT -3g	2014	Kasım	Ege	L 118	RT -200g	2014	Nisan	Ege
A 16	RT -8g	2015	Ocak	Marmara	Y 107	RT -5g	2014	Kasım	Ege	L 128	RT -40g	2014	Nisan	Ege
A 17	RT -10g	2015	Ocak	Marmara	Y 11	RT -2g	2014	Kasım	Ege	L 5	RT -200g	2014	Nisan	Ege
A 160	RT -0,1g	2015	Şubat	Ege	Y 9	RT -0,1g	2014	Kasım	Ege	L 125	RT -200g	2014	Nisan	Ege
A 161	RT -10g	2015	Şubat	Ege	Y 40	RT -250g	2014	Aralık	Doğu	L 2	RT -200g	2014	Nisan	Ege

A 146	RT -0,1g	2015	Şubat	İç Anadolu	Y 43	RT -250g	2014	Aralık	Doğu	L 3	RT -200g	2014	Nisan	Ege
A 165	RT -250g	2015	Mart	Ege	Y 44	RT -10g	2014	Aralık	İç Anadolu	L 16	RT -200g	2014	Nisan	Ege
A 164	RT -2g	2015	Mart	Ege	Y 45	RT -10g	2014	Aralık	İç Anadolu	L 115	RT -200g	2014	Nisan	Ege
A 147	RT -0,5g	2015	Mart	İç Anadolu	Y 29	RT -1g	2014	Aralık	Ege	L 63	RT -200g	2014	Mayıs	Ege
A 173	RT -0,4g	2015	Nisan	Ege	Y 37	RT -50g	2014	Aralık	Ege	L 66	RT -300g	2014	Mayıs	Ege
A 172	RT -200g	2015	Nisan	Marmara	Y 42	RT -40g	2014	Aralık	İç Anadolu	L 65	RT -60g	2014	Mayıs	Ege
A 148	RT -6g	2015	Nisan	Ege	Y 47	RT -150g	2014	Aralık	İç Anadolu	L 62	RT -200g	2014	Mayıs	Ege
A 159	RT -0,2g	2015	Nisan	Ege	Y 38	RT -1g	2015	Ocak	Ege	L 64	RT -200g	2014	Mayıs	Ege
A 189	RT -3g	2015	Nisan	Ege	Y 39	RT -7g	2015	Ocak	Ege	L 53	RT -8g	2014	Haziran	Ege
A 182	RT -100g	2015	Nisan	İç Anadolu	Y 36	RT -150g	2015	Ocak	Ege	L 59	RT -150g	2014	Haziran	Ege
A 151	RT -0,5g	2015	Nisan	İç Anadolu	Y 255	RT -250g	2015	Şubat	Akdeniz	L 55	RT -200g	2014	Haziran	Ege
A 178	RT -8g	2015	Mayıs	Karadeniz	Y 256	RT -250g	2015	Şubat	Akdeniz	L 56	RT -100g	2014	Haziran	Ege
A 181	RT -8g	2015	Mayıs	Karadeniz	Y 6	RT -300g	2015	Şubat	İç Anadolu	L 54	RT -8g	2014	Haziran	Ege
A 209	RT -40g	2015	Mayıs	Karadeniz	Y 212	RT -250g	2015	Mart	Ege	L 57	RT -250g	2014	Haziran	Ege
A 179	RT -8g	2015	Mayıs	Karadeniz	Y 213	RT -250g	2015	Mart	Ege	L 58	RT -250g	2014	Haziran	Ege
A 180	STL -200g	2015	Mayıs	Karadeniz	Y 217	RT -30g	2015	Mart	İç Anadolu	L 60	RT -200g	2014	Haziran	Ege
A 150	RT -150g	2015	Mayıs	Marmara	Y 214	RT -200g	2015	Nisan	Marmara	L 82	RT -200g	2014	Haziran	Ege
A 184	RT -25g	2015	Mayıs	Ege	Y 215	RT -250g	2015	Nisan	Marmara	L 84	RT -200g	2014	Haziran	Ege
A 70	K	2015	Haziran	Marmara	Y 224	RT -6g	2015	Nisan	Ege	L 85	RT -200g	2014	Haziran	Ege
A 175	RT -350g	2015	Haziran	Ege	Y 206	RT -3g	2015	Nisan	Ege	L 90	RT -12g	2014	Temmuz	Ege
A 176	RT -2g	2015	Haziran	Ege	Y 229	RT -3g	2015	Nisan	Ege	L 94	RT -12g	2014	Temmuz	Ege
A 177	RT -4g	2015	Haziran	Ege	Y 207	RT -250g	2015	Nisan	Ege	L 89	RT -300g	2014	Temmuz	Ege
A 185	RT -200g	2015	Haziran	İç Anadolu	Y 228	RT -250g	2015	Mayıs	Karadeniz	L 91	RT -150g	2014	Temmuz	Ege
A 186	RT -0,6g	2015	Haziran	İç Anadolu	Y 216	RT -12g	2015	Mayıs	Ege	L 92	RT -200g	2014	Temmuz	Ege
A 187	RT -0,6g	2015	Haziran	İç Anadolu	Y 232	RT -12g	2015	Mayıs	Ege	L 93	RT -200g	2014	Temmuz	Ege
A 204	RT -250g	2015	Ağustos	Ege	Y 231	RT -10g	2015	Mayıs	Ege	L 97	RT -10g	2014	Ağustos	Ege
A 205	RT -250g	2015	Ağustos	Ege	Y 259	RT -2000g	2015	Haziran	Marmara	L 99	RT -200g	2014	Ağustos	Ege
A 190	RT	2016		Karadeniz	Y 260	RT -2000g	2015	Haziran	Marmara	L 96	RT -100g	2014	Ağustos	Ege
A 192	RT	2016		Karadeniz	Y 257	RT -200g	2015	Haziran	Ege	L 98	RT -7g	2014	Eylül	Ege
A 193	RT	2016		Karadeniz	Y 258	RT -200g	2015	Haziran	Ege	L 100	RT -250g	2014	Eylül	Ege
A 194	RT	2016		Ege	Y 210	RT -250g	2015	Haziran	Ege	L 103	RT -250g	2014	Eylül	Ege
A 195	RT	2016		Karadeniz	Y 225	RT -250g	2015	Haziran	Ege	L 101	RT -60g	2014	Eylül	Ege
A 196	RT	2016		Karadeniz	Y 227	RT -8g	2015	Haziran	Ege	L 102	RT -250g	2014	Eylül	Ege
A 212	Z	2016	Nisan	Marmara	Y 211	RT -5g	2015	Haziran	Ege	L 104	RT -60g	2014	Ekim	Ege
A 213	Z	2016	Nisan	Marmara	Y 223	RT -30g	2015	Haziran	Ege	L 105	RT -40g	2014	Ekim	Ege
A 214	RT -40g	2016	Mayıs	Marmara	Y 226	RT -5g	2015	Haziran	Ege	L 108	RT -14g	2014	Ekim	Ege

ATCC 7966	Süt		<i>A. hydrophila</i>	Y 209	RT -250g	2015	Haziran	İç Anadolu	L 107	RT -250g	2014	Ekim	Ege
ATCC 23214	Akarsu	1976	<i>A. caviae</i>	Y 94	R 827 Rize			Karadeniz	L 106	RT -30g	2014	Ekim	Ege
ATCC 43979	Balık	1976	<i>A. sobria</i>	Y 96	R 871 Rize			Karadeniz	L 110	RT -300g	2014	Ekim	Ege
FNR 2478			<i>A. sobria</i>	Y 233	RT			Ege	L 111	RT -30g	2014	Ekim	Ege
FNR 5488			<i>A. bestiarum</i>	Y 234	RT			Ege	L 109	RT -300g	2014	Ekim	Ege
				Y 235	RT			Ege	L 12	RT -250g	2014	Aralık	Ege
				Y 236	RT			İç Anadolu	L 13	RT -200g	2014	Aralık	Ege
				Y 238	RT			Marmara	L 122	RT -200g	2014	Aralık	Ege
				Y 239	RT			İç Anadolu	L 131	RT -250g	2014	Aralık	Ege
				Y 240	RT			Danimarka	L 123	RT -200g	2014	Aralık	Ege
				Y 242	RT			Ege	L 14	RT -200g	2014	Aralık	Ege
				Y 243	RT			Marmara	L 15	RT -400g	2014	Aralık	Ege
				Y 244	RT			İç Anadolu	L 132	RT -400g	2014	Aralık	Ege
				Y 245	RT			Ege	L 140	RT -250g	2014	Aralık	Doğu
				Y 246	RT			İç Anadolu	L 9	RT -200g	2015	Ocak	Ege
				Y 247	RT			Marmara	L 135	RT -200g	2015	Ocak	Ege
				Y 249	RT			Ege	L 10	RT -150g	2015	Ocak	Ege
				Y 250	RT			Karadeniz	L 114	RT -150g	2015	Ocak	Ege
				Y 251	RT			Karadeniz	L 129	RT -250g	2015	Şubat	Akdeniz
				Y 252	RT			Ege	L 119	RT -100g	2015	Şubat	Ege
				Y 254	RT			Ege	L 133	RT -200g	2015	Şubat	Ege
				Y 92	R 825 Artvin			Karadeniz	L 112	RT -250g	2015	Mart	Ege
				Y 93	R 874 Trabzon			Karadeniz	L 120	RT -250g	2015	Mart	Ege
				Y 237	RT			Marmara	L 126	RT -250g	2015	Mart	Ege
				Y 241	RT			Ege	L 127	RT -250g	2015	Mart	Ege
				Y 248	RT			Ege	L 117	RT -12g	2015	Mayıs	Ege
				Y 253	RT			Ege	L 121	RT -200g	2015	Mayıs	Ege
				Y 95				Karadeniz	L 113	RT -350g	2015	Mayıs	Ege
				Y 261	RT -250g	2016	Mart	Akdeniz	L 134	RT -25g	2015	Mayıs	Ege
				Y 262	RT -250g	2016	Mart	Akdeniz	L 136	RT -250g	2015	Mayıs	Doğu

Y 263	RT -250g	2016	Mart	Akdeniz	L 137	RT -250g	2015	Mayıs	Doğu
Y 264	RT -250g	2016	Mart	Akdeniz	L 138	RT -250g	2015	Mayıs	Doğu
Y 265	RT -250g	2016	Mart	Akdeniz	L 139	RT -250g	2015	Mayıs	Doğu
NCTC 12266	RT	1978		A.B.D.	ATCC 49156	Sarıkuyruk	1974		Japonya
NCTC 12267	Çinok salmon	1978		A.B.D.	ATCC 49157	Sarıkuyruk	1974		Japonya
NCTC 12268	RT	1978		A.B.D.	ATCC 43921	Sığır	1984		Amerika
NCTC 12269	RT	1978		A.B.D.					
NCTC 12270	Yılan balığı	1978		A.B.D.					

RT: Gökkuşuğu Alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*); ATCC: American type culture collection; NCTC: National type culture collection, STL: *Salmo trutta labrax*; CAA: Akvaryum balığı (*Gold fish-Carassius auratus auratus*); Z: Zebra balığı-*Danio rerio* ve K: Kanguru (*Macropus*)

3.2 Fenotipik İdentifikasyon

Bakteriyel izolatlar saflaştırıldıktan sonra konvansiyonel yöntemler ve API hızlı teşhis kitleri kullanılarak fenotipik özellikleri belirlenmiştir (API 32E, API 32STREP ve API 20NE; BioMerieux, France).

Bakterilerin konvansiyonel yöntemlerle identifikasyonu, Gram boyama, oksidaz, katalaz, O/F(Oksidasyon-Fermantasyon), hareketlilik, Kanlı agarda (KA) hemoliz oluşturma, MacConkey agarda (MCA) üreme, Shotts-Waltman Agar'da (SWA) üreme ve O/129 (Vibriostat) testleri kullanılarak yapılmıştır (Austin ve Austin, 1999; Austin ve Austin, 2016).

Hareketli *Aeromonas*ların API 20NE ile identifikasyonunda;

Hareketli *Aeromonas* izolatlarının biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesinde API 20NE (biomerieux, Fransa) hızlı teşhis kiti kullanılmıştır. Test kitinin hazırlanması uygulama yönergesine uygun olarak yapılmıştır. Hareketli *Aeromonas* 'ların inkübasyon sıcaklığı uygulama yönergesinden farklı olarak 26°C'de 24-48 saat uygulanmıştır (Abu-Elala ve ark., 2015; Awan ve ark., 2005; Park ve ark., 2003; Popoff, 1984; Verner-Jeffreys ve ark., 2009). Hareketli *Aeromonas* izolatlarına yapılan API 20NE test sonuçları api veri tabanında okutularak sonuç kaydedilmiştir.

Y. ruckeri'nin API 32E ile identifikasyonu;

Y. ruckeri izolatlarının biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesinde API 32E (biomerieux, Fransa) hızlı teşhis kiti kullanılmıştır. Test kitinin hazırlanması uygulama yönergesine uygun olarak yapılmıştır. *Y. ruckeri* izolatlarının inkübasyon sıcaklığı uygulama yönergesinden farklı olarak 30°C'de 5-7 saat uygulanmıştır (Abdel-Latif ve ark., 2014; Frerichs, 1993; Romalde and Toranzo, 1991; Verner-Jeffreys ve ark., 2009). *Y. ruckeri* izolatlarına yapılan API 32E test sonuçları api veri tabanında okutularak sonuç kaydedilmiştir.

L. garvieae izolatlarının API 32STREP ile identifikasyonunda;

L. garvieae izolatlarının biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesinde API 32STREP (biomerieux, Fransa) hızlı teşhis kiti kullanılmıştır. Test kitinin hazırlanması uygulama yönergesine uygun olarak yapılmıştır. *L. garvieae* izolatlarının inkübasyon sıcaklığı uygulama yönergesinden farklı olarak 30°C'de 5-7 saat uygulanmıştır (Ravelo ve ark., 2001; Altun ve ark., 2004; Evans ve ark., 2006;

Aguado-Urda ve ark., 2014; Chen ve ark., 2001). *L. garvieae* izolatlarına yapılan API 32STREP test sonuçları api veri tabanında okutularak sonuç kaydedilmiştir.

3.3 Moleküler İdentifikasyon

3.3.1 DNA Ekstraksiyonu

Suşların DNA ekstraksiyonları için spin kolon ile filtrasyon sistemine dayanan ekstraksiyon kiti kullanılmıştır (Şekil 3, QIAamp DNA mini kit, 51306). Üretici firmanın protokolüne uygun olarak uygulanan protokole Hareketli *Aeromonas* 'lar, *Y. ruckeri* ve *L. garvieae* için; 24 saatlik bakteri kültüründen DNA ekstraksiyonları yapılmıştır (Dauphin ve ark., 2010; Greenspoon ve ark., 1998; Starke ve ark., 2014). Ekstrakte edilen DNA konsantrasyonları 260 nm, saflıkları ise 260/280 nm dalga boylarında spektrofotometre (Multiscan Go, Thermo) ile ölçülmüştür.



Şekil 3. DNA ekstraksiyonunda kullanılan spin kolon filtreler

3.3.2 PCR ile İdentifikasyon

Hareketli *Aeromonas* 'ların PCR yöntemleriyle kesin identifikasyonu yapılamadığından hizmet alımı yapılarak sekans analiziyle identifikasyonları yapılmıştır. Hareketli *Aeromonas* izolatlarında sekans analizi *gyrB* korunmuş gen bölgesi çoğaltılarak yapılmıştır. *gyrB* gen bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan primer seti Tablo 2'de verilmiştir (Abu-Elala ve ark., 2015; Alperi ve ark., 2012; Aravena-Roman ve ark., 2011; Soler ve ark., 2004; Yanez ve ark., 2003; Zhou ve ark., 2013). Hareketli *Aeromonas* izolatlarının PCR amplifikasyonunda; DEPC-treated water, 1xPCR Buffer, 1,5 mM MgCl₂, her bir dNTP'den 0.2 mM, 1.0 U Taq

polymerase, 1 µM her bir primer ve 5 µl template DNA içeren 25 µl PCR master mix'i oluşturulmuştur (Qiagen, 201205). Oluşturulan karışım 94°C'de 5 dk ön denatürasyonu takiben 94°C'de 1 dk denatürasyon, 62°C'de 30sn primer bağlanma, 72°C'de 45sn uzama olmak üzere 30 siklus ve 72°C'de 1 dk final uzama koşullarında amplifikasyon işlemine tabi tutulmuştur (Tablo 2). PCR ile amplifikasyon sonucunda 1100 bp'lik amplifikasyon ürününün görülmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilerek amplikonlar sekans analizine gönderilmiştir (Alperi ve ark., 2012; Aravena-Roman ve ark., 2011; Soler ve ark., 2004; Yanez ve ark., 2003; Zhou ve ark., 2013). Tüm amplifikasyon ürünleri sekans analizi için Makrogen Avrupa (Amsterdam, Hollanda) firmasına gönderilmiştir. Sekans analizinde Sanger sekans analizi tekniğine uygun olarak çift yönlü (double strand) DNA dizi analizi yaptırılmış ve elde edilen sekans dizileri GenBank veritabanı ile karşılaştırılmıştır.

Y. ruckeri'nin PCR ile identifikasyonu tablo 2'de dizileri verilen YER8 ve YER10 primerleriyle Gibello ve ark., (1999) tarafından belirtilen yönteme göre yapılmıştır. PCR amplifikasyonunda; DEPC-treated water, 1xPCR Buffer, 3.0 mM of MgCl₂, her bir dNTP'den 0.2 mM, 1.0 U Taq polymerase, 1 µM her bir primer ve 5 µl template DNA içeren 25 µl PCR master mix'i oluşturulmuştur (Qiagen, 201205). Oluşturulan karışım 94°C'de 2 dk ön denatürasyonu takiben 94°C'de 1 dk denatürasyon, 62°C'de 1 dk primer bağlanma, 72°C'de 1 dk uzama olmak üzere 25 siklus ve 72°C'de 5 dk final uzama koşullarında amplifikasyon işlemine tabi tutulmuştur (Şekil 4-5; Tablo 2). PCR ile amplifikasyon sonucunda 575 bp'lik amplifikasyon ürününün görülmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Altinok ve ark., 2001; Gibello ve ark., 1999).

L. garvieae'nin PCR ile identifikasyonunda tablo 2'de dizileri verilen pLG-1 ve pLG-2 oligonukleotid primer seti kullanılmıştır (Dang ve ark., 2012; Fadaeifard ve ark., 2014). PCR amplifikasyonunda DEPC-treated water, 1xPCR Buffer, 1,5 mM of MgCl₂, her bir dNTP'den 0.2 mM, 1.0 U Taq polymerase, 1 µM her bir primer ve 5 µl template DNA içeren 25 µl PCR master mix'i oluşturulmuştur (Şekil 3, 4, Qiagen, 201205). Oluşturulan karışım 94°C'de 3 dk ön denatürasyonu takiben 94°C'de 1 dk denatürasyon, 55°C'de 1 dk primer bağlanma, 72°C'de 1,5 dk uzama olmak üzere 35 siklus ve 72°C'de 10 dk final uzama koşullarında amplifikasyon işlemine tabi tutulmuştur (Tablo 4). PCR ile amplifikasyon sonucunda 1100 bp'lik amplifikasyon

ürününün görülmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Dang ve ark., 2012; Sharifiyazdi ve ark., 2010; Romalde and Toranzo, 2002; Zlotkin ve ark., 1998).

Tablo 4. Hareketli *Aeromonas*, *Y. ruckeri* ve *L. garvieae* identifikasyonunda kullanılan primer dizileri ve PCR koşulları

Hedef Bölge	Primer ismi	Primer dizisi	Amplikon büyüklüğü	Per koşulları	Kaynak	
16S-rDNA	Yer8 (F)	5'-GCGAGGAGGAAGGGTTAAGTG-3'	575bp	92 °C 5dk 92 °C 1dk 57 °C 1dk 72 °C 1dk 72 °C 5dk	Gibello ve ark., 1999	
	Yer10 (R)	5'-GAAGGCACCAAGGCATCTCTG-3'				
16S-rDNA	pLG-1 (F)	5'-CATAACAATGAGAATCGC-3'	1.100bp		94 °C 3dk 94 °C 1dk 55 °C 1dk 72 °C 1.5dk 72 °C 10dk	Zlotkin ve ark., 1998
	pLG-2 (R)	5'-GCACCCTCGCGGGTTG-3'				
gyrB	gyrB3F (F)	5'-TCCGGCGGTCTGCACGGCGT-3'	1.100bp	94 °C 5dk 94 °C 1dk 62 °C 30sn 72 °C 45sn 72 °C 1dk		Yanez ve ark., 2003; Soler, 2004; Abu-Elala ve ark., 2015
	gyrB14R (R)	5'-TTGTCCGGGTTGTACTCGTC-3'				



Şekil 4. PCR çalışmalarında kullanılan Thermal Cycler (Biorad T100)



Şekil 5. DNA konsantrasyon ve MİK dilüsyonlarının ölçülmesinde kullanılan MultiScan Go(Thermo)

3.4 Moleküler Karakterizasyon

3.4.1 Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD-PCR)

İzolatların moleküler karakterizasyonunun yapılması ve genetik yakınlığın belirlenmesi amacıyla amacıyla rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA-polimeraz zincir

reaksiyonu (RAPD-PCR) metodu kullanılmıştır. Bu metotta *Y. ruckeri* izolatları için “Enterobacterial repetitive intergenic consensus” (ERIC) dizilerine özgü ERIC-2 primeri (Amann, 2007; Huang ve ark., 2013), *L. garvieae* izolatları için ise ayırım gücü yüksek olan M13 primeri kullanılmış ve primer dizileri Tablo 5’de verilmiştir (Fernandez ve ark., 2010; Ferrario ve ark., 2012; Foschino ve ark., 2008; Rossetti & Giraffa 2005). RAPD-PCR analizi için; DEPC-treated water, 1XPCR Buffer 2,5µl, 2,5 mM MgCl₂, 200 µM her bir dNTP, 2.5U Taq DNA polimeraz, 25 pmol primer (Qiagen, 201205 kit) ve 5 µl template DNA içeren 25 µl’lik master karışımı hazırlanmıştır. Master mix final hacim 25 µl olacak şekilde bakteri DNA’ları eklenerek tablo 3’de verilen PCR koşulları uygulanmıştır. Amplifikasyon ürünleri etidium bromid (2 µg/ml) içeren %1,5’luk agaroz jel ile 100 V 100 dk elektroforeze tabi tutulmuş, UV transilluminatör ile görüntülenmiştir. Oluşan RAPD bantları UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages) ile Bioedit yazılımı (Applied Maths, Belgium) ve MEGA 7 programlarıyla analiz edilerek dendogramları oluşturulmuştur. RAPD analizinin güvenilirliğinin belirlenmesi amacıyla referans suşlarının RAPD analizi 3 kez tekrarlanmıştır (Fernandez ve ark., 2010; Ferrario ve ark., 2012; Foschino ve ark., 2008; Rossetti & Giraffa, 2005).

Hareketli *Aeromonas*’ların moleküler karakterizasyonu ve genetik yakınlıklarının belirlenmesinde *gyrB* gen bölgesinin sekans analiziyle elde edilen DNA dizileri MEGA 7 programında UPGMA metoduyla (1000 bootstrap) belirlenmiş ve filogenetik ağaç oluşturulmuştur. (Alperi ve ark., 2012; Aravena-Roman ve ark., 2011; Fontes ve ark., 2012; Soler ve ark., 2004; Yanez ve ark., 2003; Zhou ve ark., 2013).

Tablo 5 *Y. ruckeri* ve *L. garvieae*’nin moleküler karakterizasyonunda kullanılan primer dizileri

Hedef Bölge	Primer ismi	Primer dizisi	Pcr koşulları	Kaynak
16S-rDNA	ERIC-2	5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3'	94°C 7dk 94°C 1dk 41°C 1dk 72°C 5dk 72°C 15dk	Gibello ve ark.1999

16S- rDNA	M13	5-GAGGGTGGCGGTTCT-3'	94°C 2dk 94°C 1dk 42°C 40sn 72°C 2dk 72°C 10dk	X40	Rossetti ve Giraffa, 2005
--------------	-----	----------------------	--	-----	------------------------------------

3.5 Duyarlılık Konsantrasyonlarının Belirlenmesi (MİK)

Tez çalışmasında kullanılan Hareketli *Aeromonas*, *Y. ruckeri*, *L. garvieae* izolatlarının florfenikol (FFC; Sigma, F1427), tetrasiklin (TET; Sigma, 31741), sulfamethoksazol (SUL; Sigma, S7507), sulfamethoksazol-trimetoprim (19:1) ve eritromisin (ERM; SigmaE5389) antimikrobialarına karşı üremelerini inhibe eden Minimal inhibitör konsantrasyonları (MİK) broth mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir (CLSI, 2014a; CLSI, 2014b; Gao ve ark., 2012; Goni-Urriza ve ark., 2000b; Huddleston ve ark., 2006; Kahlmeter ve ark., 2006; Miller and Reimschuessel 2006; Wang ve ark., 2014). Antimikrobialar 0.008, 0.016, 0.032, 0.064, 0.128, 0.256, 0.512, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 ve 256 mg/L dilüsyonlarında hazırlanmış ve mikro plakalara 50'şer µl dağıtılmıştır. Bakteri süspansiyonunu hazırlamak için Tryptic-Soy Broth' da 22°C'de 16-24 saat inkübe edilen bakteriler, Mueller-Hinton Broth'da 0.5 McFarland dansitesiye göre süspansiyon edilmiştir. Hazırlanan bakteri süspansiyonundan 50 µl antimikrobial içeren mikropalakalara dağıtılmış ve mikropalakalar 22°C'de 16-24 saat inkübe edilmiştir. Bakteri süspansiyonu ve antimikrobial içeren mikropalakalar mikropalaka okuyucu sistemde 595nm dalga boyunda (Multiskan Go, Thermo) ölçülmüştür. Bakteri üremesini inhibe eden en düşük konsantrasyon, MİK olarak belirlenmiş ve CLSI 2014 referans değerleriyle karşılaştırılmıştır (CLSI 2014a; CLSI 2014b).

3.6 Direnç Genleri

Antimikrobial direncin genotipik olarak belirlenmesinde *floR*, *ermA*, *ermB*, *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetE*, *tetG*, *tetM*, *tetS*, *sulI*, *sulII* ve *sulIII* direnç genleri incelenmiştir. İncelenecek direnç gen bölgelerinin PCR amplifikasyonu için Tablo 6'deki primer dizileri ve PCR koşulları kullanılmıştır. PCR amplifikasyonu için DEPC-treated water, 1xPCR Buffer, 1,5 mM of MgCl₂, her bir dNTP'den 0.2 mM, 1.0 U Taq polymerase, 1µM her bir primer ve 5 µl template DNA içeren 25 µl PCR master mix'i oluşturulmuştur (Qiagen, 201205). PCR ile amplifikasyon sonucunda her bir

direnç geni için tablo 4’de belirtilen spesifik bantların görüntülenmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiş ve her bir direnç geni sekans analizi ile doğrulanmıştır.

Tablo 6. Hedef direnç gen bölgelerine ait primer dizileri ve pcr protokolleri

Primer ismi	Primer dizisi	Amplikon büyüklüğü	Pcr koşulları	Kaynak
<i>flo</i> (R)	F. 5'-TATCTCCCTGTCGTTCCAG-3' R. 5'-AGAACTCGCCGATCAATG-3'	399bp	94°C 4dk 94°C 30sn 55°C 30sn 72°C 1dk 72°C 7dk } X30	Van ve ark., 2008
<i>erm</i> (B)	F. 5'-GATACCGTTTACGAAATTGG-3' R. 5'-GAATCGAGACTTGAGTGTGC-3'	364bp	94°C 4dk 94°C 30sn 58°C 30sn 72°C 1dk 72°C 7dk } X30	Chen ve ark., 2007
<i>erm</i> (A)	F. 5'-GAAATYGGRTCAGGAAAAGG-3' R. 5'-AAYAGYAAACCYAAAAGCTC-3'	332bp	94°C 4dk 94°C 30sn 55°C 30sn 72°C 1dk 72°C 7dk } X30	Chen ve ark., 2007
<i>tet</i> (A)	F. 5'-GCTACATCCTGCTTGCCTTC-3' R. 5'-CATAGATCGCCGTGAAGAGG-3'	210bp	94°C 5dk 94°C 1dk 55°C 1dk 72°C 1,5dk 72°C 10dk } X30	Ng ve ark., 2001
<i>tet</i> (B)	F. 5'-CTCAGTATTCCAAGCCTTG-3' R. 5'-CTAAGCACTTGTCTCCTGTT-3'	416bp	95°C 3dk 95°C 30sn 59°C 30sn 72°C 3dk 72°C 5dk } X25	Schmidt ve ark., 2001b; Guardabassi ve ark., 2000b
<i>tet</i> (C)	F. 5'-AACAAATGCGCTCATCGT-3' R. 5'-GGAGGCAGACAAGGTAT-3'	1138bp	94°C 4dk 94°C 1dk 62°C 2dk 72°C 3dk 72°C 7dk } X35	French ve Schwarz, 2000
<i>tet</i> (D)	F. 5'-ACACTGCTGGACGCGAT-3' R. 5'-CTGATCAGCAGACAGAT-3'	1121	94°C 4dk 94°C 1dk 62°C 2dk 72°C 3dk 72°C 7dk } X35	French ve Schwarz, 2000
<i>tet</i> (E)	F. 5'-GTGATGATGGCACTGGTCAT-3' R. 5'-CTCTGCTGTACATCGCTCTT-3'	1180	95°C 4dk 95°C 30sn 62°C 30sn 72°C 45sn 72°C 7dk } X25	Schmidt ve ark., 2001b;
<i>tet</i> (G)	F. 5'-GCTCGGTGGTATCTCTGCTC-3' R. 5'-AGCAACAGAATCGGGAACAC-3'	468bp	94°C 4dk 94°C 1dk 62°C 2dk 72°C 3dk 72°C 7dk } X35	French ve Schwarz, 2000
<i>tet</i> (M)	F. 5'-GTAAATAGTGTCTTGGAG-3' R. 5'-CTAAGATATGGCTTAACAA-3'	657bp	95 °C 5dk 95°C 45sn 55°C 45sn 72°C 1dk 72°C 7dk } X30	Nawaz ve ark., 2011
<i>tet</i> (S)	F. 5'-ATCAAGATATTAAGGAC-3' R. 5'-TTCTCTATGTGGTAATC-3'	573bp	94°C 4dk 94°C 30sn 55°C 30sn 72°C 1dk 72°C 7dk } X30	Charpentier ve ark., 1993; Nawaz ve ark., 2011; Rizotti ve ark., 2009

<i>sul(1)</i>	F. 5'-CGGCGTGGGCTACCTGAACG-3' R 5'-GCCGATCGCGTGAAGTTCCG-3'	433bp	94°C 4dk 94°C 30sn 60°C 30sn 72°C 1dk 72°C 7dk	X30	Na Wang ve ark., 2014
<i>sul(2)</i>	F. 5'-GCGCTCAAGGCAGATGGCATT-3' R 5'-GCGTTTGATACCGGCACCCGT-3'	293bp	94°C 4dk 94°C 30sn 55°C 30sn 72°C 1dk 72°C 7dk	X30	Na Wang ve ark., 2014
<i>sul(3)</i>	F. 5'-TCAAAGCAAAATGATATGAGC-3' R 5'-TTTCAAGGCATCTGATAAAGAC-3'	787bp	94°C 4dk 94°C 30sn 55°C 30sn 72°C 1dk 72°C 7dk	X30	Na Wang ve ark., 2014



4. BULGULAR

4.1 Bakteri İzolatları

Bu tez çalışmasında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarı kültür koleksiyonunda yer alan 103 adet Hareketli *Aeromonas*, 142 adet *Y. ruckeri* ve 140 adet *L. garvieae* izolatu kullanılmıştır. Bu izolatların kökenleri ve bölgesel dağılımları Şekil 6-8'de verilmiştir.



Şekil 6. *Aeromonas* türlerinin bölgesel dağılımı (n= örnek sayısı)



Şekil 7. *Y. ruckeri* izolatlarının bölgesel dağılımı (n= örnek sayısı)



Şekil 8. *L. garvieae* izolatlarının bölgesel dağılımı (n= örnek sayısı)

4.2 Hareketli *Aeromonas* İzolatlarının Fenotipik Özellikleri

Tez çalışmasında; gökkuşacağı alabalığı, alabalık işletme suyu, balık havuzları bentiği, doğal alabalık (*Salmo trutta labrax*), Gold fish (*Carassius auratus auratus*); Zebra balığı (*Danio rerio*) ve Kanguru'dan (*Macropus*) izole edilmiş olan 103 hareketli *Aeromonas* izolatu kullanılmıştır (Tablo 3).

Hareketli *Aeromonas* izolatlarının, her birinin dizi analizi ile tür tespitleri yapılmış, tür tespiti yapılan her bir *Aeromonas* türünü eşit oranda temsil eden 35 izolatu fenotipik özellikleri belirlenmiştir. Hareketli *Aeromonas* türlerinin fenotipik özelliklerine ait sonuçlar Tablo 7'de verilmiştir. Hareketli *Aeromonas* türleri arasında Üre (URE), N-asetil-glukosamin (NAG), Potasyum Glukonat (GNT), Malik asit (MLT) ve Oksidaz (OX) aktivitelerinin homojen özellik gösterdiği görülürken, API 20NE profilinde yer alan diğer biyokimyasal testlerin ise türler arasında oldukça heterojen olduğu belirlenmiştir (Şekil 9). Bu sonuçlara göre hareketli *Aeromonas* türlerinin biyokimyasal özelliklerinin türler arasında hatta türlerin kendi içlerinde heterojen özellik gösterdiği söylenebilir.

Tablo 7. Hareketli *Aeromonas* türlerinin Fenotipik (API 20NE profilleri ve morfolojik, biyokimyasal) özellikleri

	ATCC 43979	A146	A74	A185	A84	A78	A186	A37	A119	A40	A151	A59	A187	A175	A180	A179	A181	A177	A176	A209	A172
Gram boyama	AS	AS	AS	AS	AS	AS	AS	AS	AS	AS	AS	AS	AS	ASA	ASA	ASA	ASA	ASA	ASA	ASA	ASA
Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O/F	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
O/129	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
API 20NE																					
NO ₃	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TRP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+
GLU	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+
ADH	+	+	+	—	+	—	—	+	+	+	+	+	—	+	—	—	+	—	—	+	+
URE	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ESC	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—
GEL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+
PNG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+
GLU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+
ARA	—	—	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+	—	—	—	—	+	—	—	+	+
MNE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAN	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NAG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GNT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CAP	+	+	+	—	—	—	+	—	+	+	+	+	—	—	—	+	+	—	—	+	—
ADI	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
MLT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CIT	+	+	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+
PAC	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
OX	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

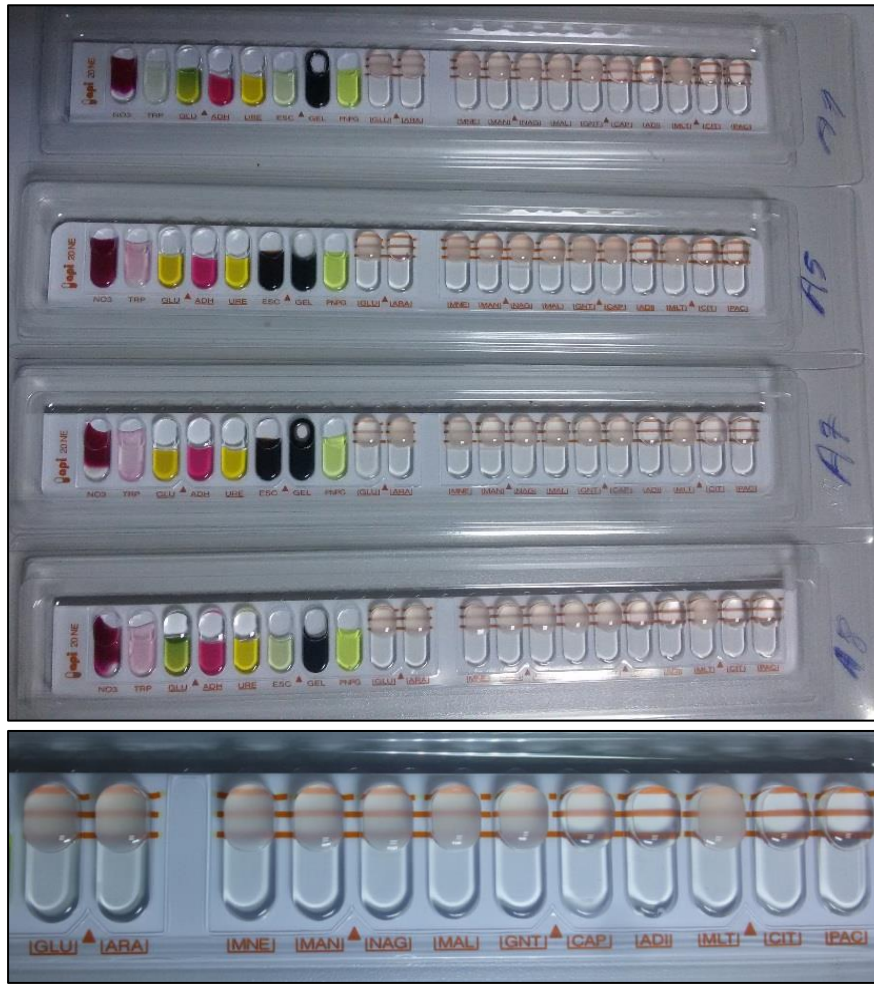
AS: *A. sobria*, ASA: *A. salmonicida*

NO₃: Potasyum nitrat; TRP: L-triptofan; GLU: D-Glukoz; ADH: L-arjinin; ESC: Eskulin; GEL: Jelatin; PNG: 4-nitrofenil-βDgalaktopiranosid; GLU: D-Glukoz; ARA: L- Arabinoz; MNE: D-Mannoz; NAG: N-asetil-glukosamin; MAL: D- Maltoz; GNT: Potasyum Glukonat; CAP: Kaprik asit; ADI: Adipik asit; MLT: Malik asit; CIT: Trisodyum sitrat; PAC: Fenilasetik asit

Tablo 7'nin devamı

	A204	A102	A9	ATCC 7966	A91	A170	A79	A88	A97	A70	A98	A39	A1	A196	A77	A76
	AB	AB	AB	AH	AH	AH	AH	AM	AM	AV	SP.	AAL	AE	AE	AHH.D	AHA
Gram boyama	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O/F	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
O/129	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
API 20NE																
NO3	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TRP	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	+	—	—	+	+	+
GLU	+	—	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+
ADH	+	—	+	+	+	—	—	—	—	—	+	+	—	+	+	+
URE	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ESC	+	—	+	+	+	—	—	+	—	—	+	+	—	+	+	+
GEL	+	—	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	+	+	+
PNG	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+
GLU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ARA	+	—	+	+	+	—	—	+	+	—	+	+	—	—	—	+
MNE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
MAN	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NAG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAL	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+
GNT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CAP	+	—	+	+	+	—	—	+	+	—	+	—	—	+	+	+
ADI	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
MLT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CIT	—	+	+	+	+	—	—	—	+	+	—	+	+	—	—	—
PAC	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—	—	—
OX	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

AB: *A. bestiarum*, AH: *A. hydrophila*, AM: *A. media*, AV: *A. veronii*, SP: *Aeromonas* sp., AAL: *A. allosaccharophila*, AE: *A. eucrenophila*, AHH.D: *A. hydrophila* subsp. *dhakensis*, AHA: *A. hydrophila* subsp. *anaerogenes*



Şekil 9. *Aeromonas* izolatlarının API 20 NE hızlı teşhis kiti ile biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi

4.3 *Y. ruckeri* İzolatlarının Fenotipik Özellikleri

Tez çalışmasında toplamda 142 adet *Y. ruckeri* izolatı kullanılmıştır. Gram negatif, Hareketli, Oksidaz negatif, O/F Fermentatif, MacConkey'de üreme pozitif özellik gösteren izolatların identifikasyonu PCR analizi ile yapılmıştır. İdentifikasyonları yapılan *Y. ruckeri* izolatlarından her bir RAPD grubunu temsil edecek sayıda izolat seçilerek biyokimyasal özellikleri API RAPD ID 32E hızlı teşhis kitleri ile belirlenmiştir (Tablo 8, Şekil 10). Biyokimyasal özellikleri belirlenen ve ülkemizden izole edilmiş olan *Y. ruckeri* izolatlarından 6'sının biyokimyasal özelliklerinin homojen olduğu, 5 izolatın ise yalnızca sorbitol testi yönüyle farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

Tablo 8. *Y. ruckeri* izolatlarının konvansiyonel mikrobiyolojik testler ve API RAPID 32E hızlı teşhis kiti ile belirlenen biyokimyasal özellikleri

	Y58	Y106	Y107	Y147	Y2	Y39	NCTC 12268	NCTC 12270	Y237	Y248	Y253	NCTC 12266	NCTC 12267	NCTC 12269	Y56	Y36	
Gram Boyama	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Oksidaz	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
O/F	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	
MacConkey üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Api Rapid 32E																	
URE	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—
LDC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ODC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ESC	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
FER	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ARA	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ADO	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
RHA	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
MAN	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SOR	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
CEL	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
MEL	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
IND	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
MNT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
PPA	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SAC	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5KG	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
PLE	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
GAT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
COL	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
CMT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TTR	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ONAG	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
PNPG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+
GRT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MNE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
α GAL	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
IDP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
RAF	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
TRE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

LDC: L-lysin, ODC: L-ornithin, ESC: Eskülin ferrik sitrat, FER: D-glukoz, ARA: L-arabinoz, ADO: Adonitol, RHA: L-rhamnoz, MAN: D-mannitol, SOR: D-sorbitol, CEL: D-sellobiyoz, MEL: D-melibiyoz, GRT: Sdoyum glukuronat, MNE: D-mannoz, MAL: D-maltoz, TRE: D-trehaloz, IND: L-triptofan, MNT: Sodyum malonat, PPA: 4-nitrofenilalanin, SAC: D-sakkaroz (sukroz), 5KG: Potasyum 5-ketoglukonat, PLE: Palatinoz, GAT: Galakturonik asit, COL: Kolistin, CMT: Koumarate, TTR: Potasyum tetrahionat, ONAG: 2-nitrofenil-N-asetil- β D-glukosaminid, PNPG: 4-nitrofenil- β D-galaktopiranosidaz, α GAL: 4-nitrofeil- α D-galaktopiranosid, IDP: 5-bromo-4-kloro-3-indolil-disodyum fosfat, RAF: D-raffinoz, *: Kontaminasyon kontrol

Tablo 8'in devamı

	Y262	Y263	Y14	Y241	Y226	Y44	Y73	Y121	Y75	Y89	Y199	Y95	Y11	Y255	Y7	Y10	Y79	Y92	Y93	
Gram boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O/F	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Mac Conkey	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Api Rapid ID 32E																				
URE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
LDC	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
ODC	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ESC	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
FER	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
ARA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+
ADO	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RHA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
MAN	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SOR	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
CEL	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
MEL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
IND	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
MNT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
PPA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SAC	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
5KG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
PLE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
GAT	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+
COL	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
CMT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-
TTR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ONAG	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PNPG	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
GRT	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+
MNE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
α GAL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IDP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
RAF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
TRE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



Şekil 10. *Y. ruckeri* izolatlarının API 32E hızlı teşhis kiti ile biyokimyasal özelliklerin belirlenmesi

4.4 *L. garvieae* İzolatlarının Fenotipik Özellikleri

Tez çalışmasında toplamda 140 adet *L. garvieae* izolatı kullanılmıştır. Gram pozitif, hareketsiz, oksidaz negatif, O/F fermentatif, MaC Conkey' Agar'da üreme negatif özellik gösteren izolatların identifikasyonu PCR analizi ile yapılmıştır. İdentifiye edilen *L. garvieae* izolatlarından her bir RAPD grubunu temsil eden izolatların API RAPID ID 32STREPT hızlı teşhis kitleri ile biyokimyasal özellikleri belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 9'da verilmiştir. L56, L114, L70, L51, L5, L89, L107, L109, L123, L133 ve ATCC 49156 numaralı izolatlar biyokimyasal karakterleri yönüyle homojen özellik göstermiştir (Tablo 9, Şekil 11).

Tablo 9. *L. garvieae* izolatlarının konvansiyonel Mikrobiyolojik testler ve API RAPID ID 32STREPT hızlı teşhis kiti ile belirlenen biyokimyasal özellikleri

	ATCC 43921	ATCC 49156	ATCC 49157	L56	L114	L70	L51	L5	L89	L107	L109	L123	L133	L131	L64	L97	L31
Gram boyama	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hareket	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Katalaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O/F	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
API 32 STREPT																	
ADH	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
βGLU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
βGAR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
βGUR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
αGAL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PAL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RIB	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
MAN	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SOR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LAC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TRE	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
RAF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
APPA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
βGAL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PyrA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
β NAG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GTA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HIP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
GLYG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PUL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MAL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MEL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MLZ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SAC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
LARA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DARL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MBDG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TAG	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
β MAN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CDEX	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
URE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

O/F: Oksidasyon/Fermentasyon; ADH: arjinin dihidrolaz, βGLU: β-glukosidaz; βGAR: β-galaktosidaz; βGUR: β-glukuronidaz
αGAL: α-galaktosidaz; PAL: alkalın fosfataz, RIB: D-riboz; MAN: Mannitol; SOR: Sorbitol; LAC: Laktoz; TRE: Trehaloz; RAF: Raffinoz; VP: Voges proskauer; APPA: alanyl-fenilalanil-prolin arilamidaz, βGAL: β-galaktosidaz; PYRA: pirrolidonil arilamidaz, β-NAG: N-asetil-β- glukosaminidaz, GTA: glisil-triptofan-arilamidaz, HIP: hippurat hidroliz, GLYG: Glikojen; PUL: Pullulan; MAL: Maltoz; MEL: Melibioz; MLZ: Melezitoz; SAC: Sakkaroz; LARA: L-arabinoz; DARL: D-arabitol; MBDG: methyl-β-D-glukopiranosid asidifikasyon; TAG: Tagatoz; β MAN: β-mannosidaz; CDEX: Siklodekstrin; URE: Ureaz

Tablo 9'un devamı

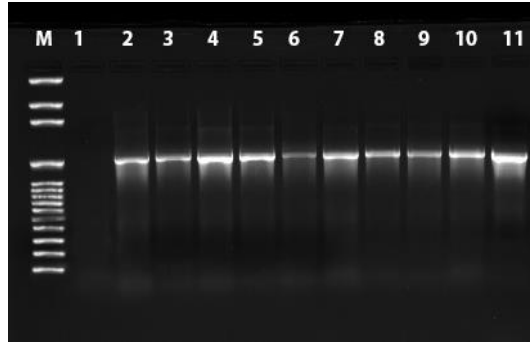
	L116	L127	L136	L137	L114	L115	L132	L111	L129	L90	L14	L104	L138	L81	L140	L108
Gram boyama	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hareket	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Katalaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O/F	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
API 32 STREPT																
ADH	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
β GLU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
β GAR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β GUR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α GAL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
PAL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RIB	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
MAN	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SOR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
LAC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
TRE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
RAF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
VP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
APPA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
β GAL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
PyrA	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+
β NAG	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
GTA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HIP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+
GLYG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PUL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
MAL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
MEL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
MLZ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
SAC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LARA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
DARL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
MBDG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TAG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
β MAN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
CDEX	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
URE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



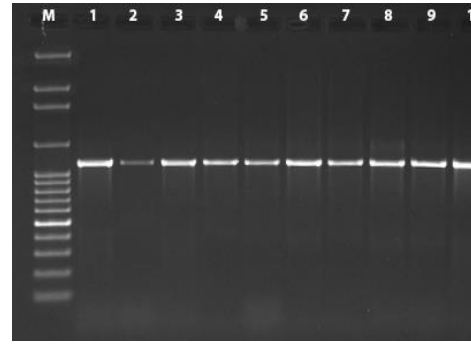
Şekil 11. *L. garviae* izolatlarının API 32 STREPT hızlı teşhis kiti biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi

4.5 Hareketli *Aeromonas* İzolatlarının Moleküler İdentifikasyonu

Hareketli *Aeromonas*'lara spesifik olan 16S r-RNA gen bölgesinin PCR ile çoğaltılmasıyla 1.500bp'da bant veren izolatlar *Aeromonas* spp. olarak tanımlanmıştır (Şekil 12). Tür tespiti için sekans analizi yapılacak izolatlar, *gyrB* korunmuş gen bölgesiyle PCR yapılmış ve 1.100bp'da pozitif sonuç veren izolatlar sekansa gönderilmiştir (Şekil 13). Sekans analizi sonucunda; 98 *Aeromonas* sp. izolatından 33'ü *A. sobria*, 18'i *A. salmonicida*, 12'si *A. media*, 11'i *Aeromonas* sp., yedi'si *A. bestiarum*, dört'ü *A. allosaccharophila*, dört'ü *A. veronii*, üç'ü *A. hydrophila*, iki'si *A. eucrenophila* ve birer izolat da *A. hydrophila* subsp. *hydrophila*, *A. hydrophila* subsp. *anaerogenes*, *A. dhakensis*, *A. hydrophila* subsp. *dhakensis* olarak tanımlanmıştır. Tür tespiti yapılan hareketli *Aeromonas* izolatlarının genetik benzerlik oranları <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov> veri tabanı ile karşılaştırılarak Tablo 10'da verilmiştir.



Şekil 12. *Aeromonas* spp. 16S r-DNA PCR sonuçları 1500bp. 1: Negatif kontrol, 2: pozitif kontrol, 3-11: pozitif *Aeromonas* izolatları, M: Marker 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000bp.



Şekil 13. *Aeromonas* spp. *gyrB* PCR sonuçları 1100bp. 1-10: pozitif izolatlar, M: Marker 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000bp.

Tablo 10. *gyrB* gen bölgesinin sekans analizi ile tanımlenen *Aeromonas* lar

Tür	İdentifiye edilen izolat sayısı	İzolat numaraları, Benzerlik Oranı (%) ^a
<i>A. sobria</i>	33	A30 ^a ; A184 ^a ; A131 ^b ; A41 ^b ; A105 ^b ; A119 ^b ; A26 ^b ; A80 ^b ; A86 ^b ; A37 ^b ; A82 ^b ; A61 ^b ; A32 ^b ; A74 ^b ; A87 ^b ; A33 ^b ; A40 ^b ; A31 ^b ; A59 ^b ; A65 ^b ; A78 ^b ; A162 ^b ; A3 ^b ; A161 ^b ; A146 ^b ; A165 ^b ; A164 ^b ; A159 ^b ; A186 ^b ; A190 ^b ; A214 ^b ; A40 ^b ; A151 ^c ; A84 ^c
<i>A. salmonicida</i>	18	A189 ^a ; A28 ^b ; A25 ^b ; A174 ^b ; A5 ^b ; A171 ^b ; A170 ^b ; A172 ^b ; A173 ^b ; A123 ^b ; A178 ^b ; A181 ^b ; A179 ^b ; A209 ^b ; A180 ^b ; A175 ^b ; A176 ^b ; A177 ^b
<i>A. media</i>	12	A194 ^a ; A120 ^b ; A118 ^b ; A156 ^b ; A153 ^b ; A88 ^b ; A99 ^b ; A17 ^b ; A193 ^b ; A195 ^b ; A97 ^c ; A100 ^c
<i>Aeromonas</i> sp.	11	A109 ^a ; A210 ^a ; A115 ^b ; A42 ^b ; A7 ^b ; A98 ^b ; A16 ^b ; A147 ^b ; A192 ^b ; A148 ^c ; A67 ^c
<i>A. bestiarum</i>	7	A9 ^a ; A90 ^a ; A101 ^b ; A102 ^b ; A150 ^b ; A8 ^b ; A205 ^b
<i>A. allosaccharophila</i>	4	A155 ^a ; A182 ^b ; A36 ^b ; A39 ^b
<i>A. veronii</i>	4	A70 ^a ; A212 ^b ; A213 ^b ; A106 ^b
<i>A. hydrophila</i>	3	A89 ^a ; A91 ^a ; A79 ^a
<i>A. eucrenophila</i>	2	A1 ^b ; A196 ^b
<i>A. hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	1	A124 ^b
<i>A. hydrophila</i> subsp. <i>anaerogenes</i>	1	A76 ^b
<i>A. dhakensis</i>	1	A77 ^b
<i>A. hydrophila</i> subsp. <i>dhakensis</i>	1	A108 ^b

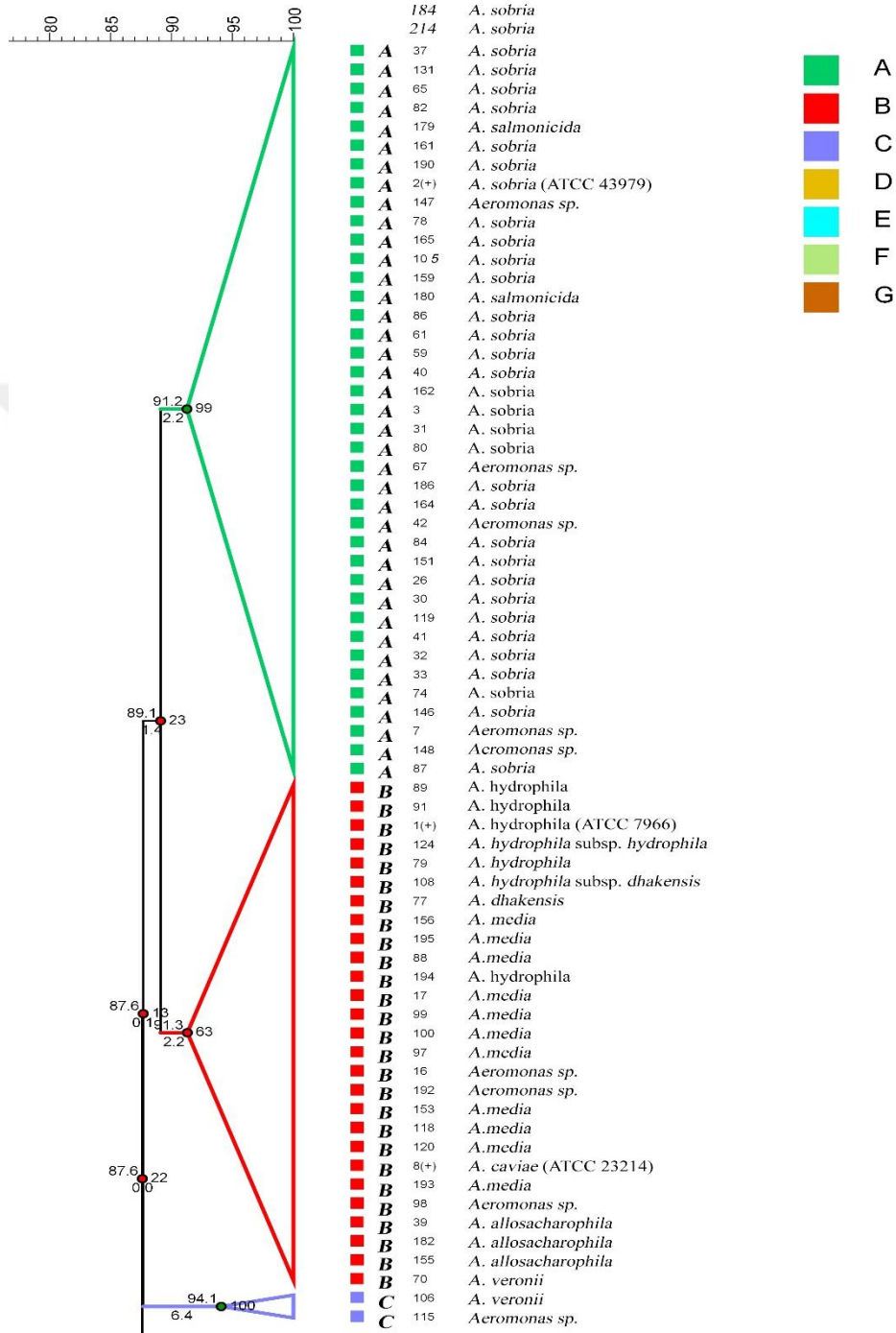
a: % 100 benzerlik; b: %99 benzerlik; c: %98 benzerlik

^aBenzerlik oranları, *gyrB* sekans sonuçlarının Nükleotid Blast (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>, GeneBank) ile karşılaştırılması ile belirlenmiştir.

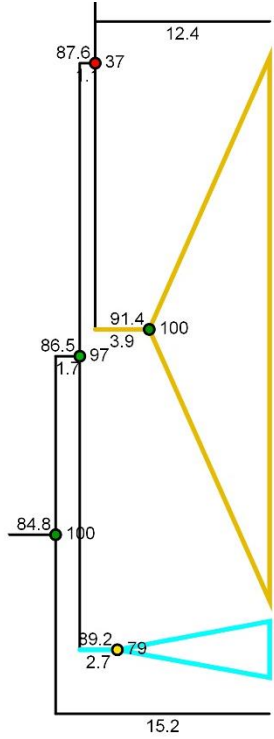
4.6 Hareketli *Aeromonas* Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu

Tür teşhisleri yapılan izolatların sekans verileri BioNumerics 7.0 yazılımında (Applied Maths, Belgium) analiz edilmiş, genetik yakınlıklarının belirlenmesinde Matematiksel ortalama ile ağırlıksız çiftlerin gruplandırılması (UPGMA) istatistik metodu kullanılmış ve filogenetik ağaç Şekil 14’de verilmiştir. Çalışmada kullanılan 98 hareketli *Aeromonas* izolatının dizi analizi sonucu filogenetik olarak 7 farklı genogruba toplandığı, *A. allosacharophila* ve *A. hydrophila* subsp. *anaerogenes* olarak tespit edilen birer izolatın ise bu gruplarda yer almadığı saptanmıştır. Tez çalışmasında identifiye edilen tüm *A. sobria* izolatlarının A grubunda toplandığı ve bu gruptaki izolatların en az %91,2 benzerliğe sahip oldukları bulunmuştur. B grubunu oluşturan *Aeromonas* izolatlarının *A. hydrophila* ATCC 7966 ve *A. caviae* ATCC 23214 referans suşları ile aynı grupta olduğu ve bu izolatların en az %91,3 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. *A. hydrophila*, *A. hydrophila* subsp. *hydrophila*, *A. hydrophila* subsp. *dhakensis*, *A. media*, *A. dhakensis*, *A. allosacharophila* ve *A. veronii* türlerinin de B grubu içerisinde yer aldığı belirlenmiştir. Bu çalışmada tespit edilen iki *A. veronii* izolatından biri C grubunda yer alırken, diğer *A. veronii* izolatı ile % 87.6 benzerlik gösterdiği görülmüştür. *A. allosacharophila* olarak tespit edilen A36 numaralı izolatın, B genogrubunda bulunan diğer *A. allosacharophila* izolatlarına %87,6 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. *A. salmonicida*, *A. bestiarum*, *A. eucrenophila* ve *Aeromonas* sp. türleri aynı genogruba (D) yer almış olup bu türler kendi aralarında en az %91,4 benzerlik göstermişlerdir. *A. eucrenophila* ve 8 numaralı *A. bestiarum* izolatı E genogrubunda yer almış olup en az %89,2 benzerlik göstermiştir. *A. bestiarum* izolatları D ve E genogrubunda yer almış olup bu türlerin kendi aralarındaki benzerlikleri %86,5 olarak belirlenmiştir. 76 nolu *A. hydrophila* subsp. *anaerogenes* izolatı çalışmada kullanılan hareketli *Aeromonas* türlerinden farklı bir genogruba yer almış ve bu gruplara benzerliğinin %84.8 olduğu görülmüştür. 212 ve 213 numaralı *A. veronii* izolatları kendi aralarında %99 benzerlik gösterirken, diğer *A. veronii* izolatları (106, 115 ve 36 numaralı) ile en düşük %95 benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. 184 ve 214 numaralı *A. sobria* izolatları A grubunda bulunan *A. sobria* izolatları ile %98 benzer bulunmuştur. 205 numaralı *A. bestiarum* izolatı D grubunda yer alan *A. bestiarum* izolatları ile en az % 95 benzerliğe sahip olduğu görülmüştür. 210 nolu *Aeromonas* sp. izolatı ise A grubunda yer alan *Aeromonas* sp. izolatları ile en az % 98 benzerliğe sahip bulunmuştur. Bu izolatların ilk sekans sonuçlarında bazı

hatalı okumalar olduğu için daha sonrasında tekrar edilmiş fakat ilk sekans analizlerinde yapılan filogenetik ağaca dahil edilememiştir.



Şekil 14. Hareketli *Aeromonas* izolatlarının genetik yakınlıkları (Bionumeric 7, Applied Maths, Belçika)

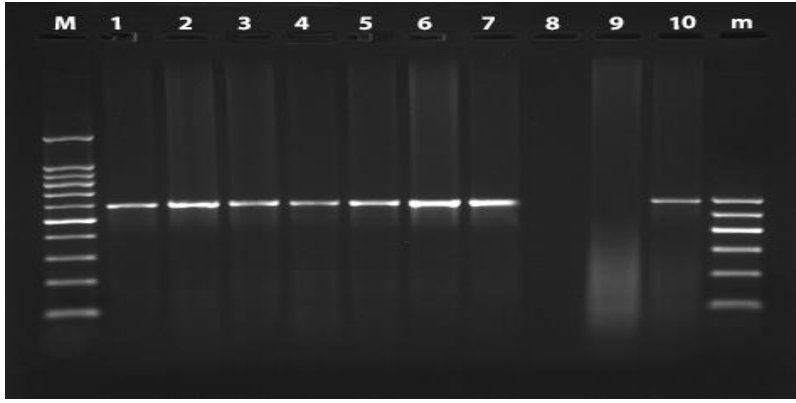


	36	<i>A. allosacharophila</i>
■	D	170 <i>A. salmonicida</i>
■	D	171 <i>A. salmonicida</i>
■	D	174 <i>A. salmonicida</i>
■	D	176 <i>A. salmonicida</i>
■	D	181 <i>A. salmonicida</i>
■	D	172 <i>A. salmonicida</i>
■	D	5 <i>A. salmonicida</i>
■	D	209 <i>A. salmonicida</i>
■	D	189 <i>A. salmonicida</i>
■	D	175 <i>A. salmonicida</i>
■	D	173 <i>A. salmonicida</i>
■	D	177 <i>A. salmonicida</i>
■	D	178 <i>A. salmonicida</i>
■	D	28 <i>A. salmonicida</i>
■	D	123 <i>A. salmonicida</i>
■	D	25 <i>A. salmonicida</i>
■	D	90 <i>A. bestiarum</i>
■	D	9 <i>A. bestiarum</i>
■	D	101 <i>A. bestiarum</i>
■	D	109 <i>Aeromonas sp.</i>
■	D	102 <i>A. bestiarum</i>
■	D	150 <i>A. bestiarum</i>
■	E	1 <i>A. eucrenophila</i>
■	E	196 <i>A. eucrenophila</i>
■	E	8 <i>A. bestiarum</i>
	76	<i>A. hydrophila subsp. anaerogenes</i>

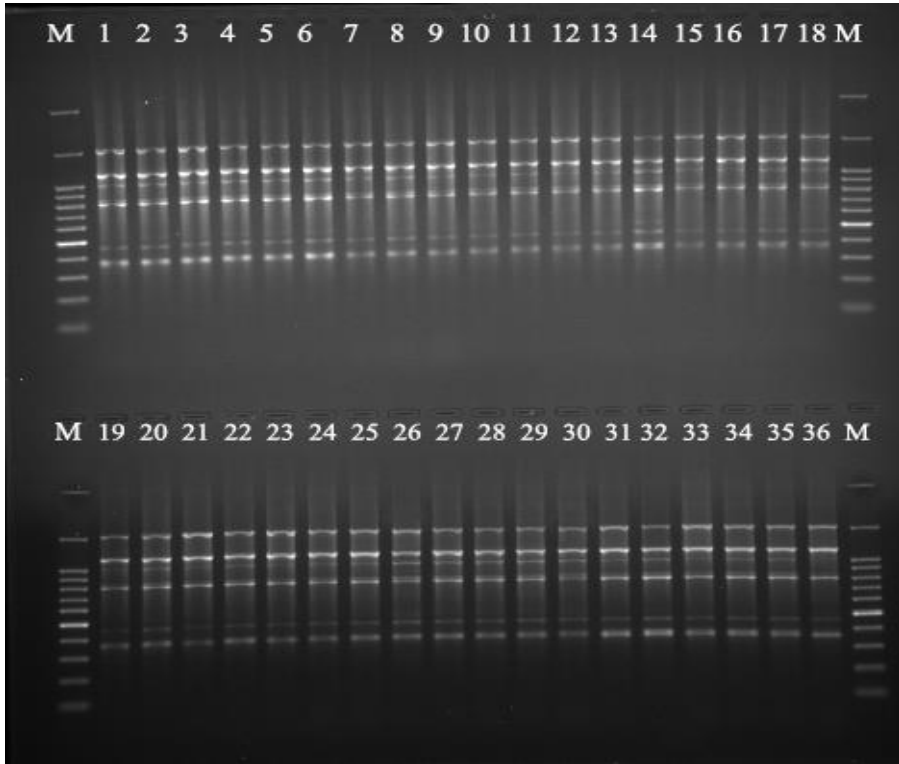
Şekil 14'ün devamı

4.7 *Y. ruckeri* İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu

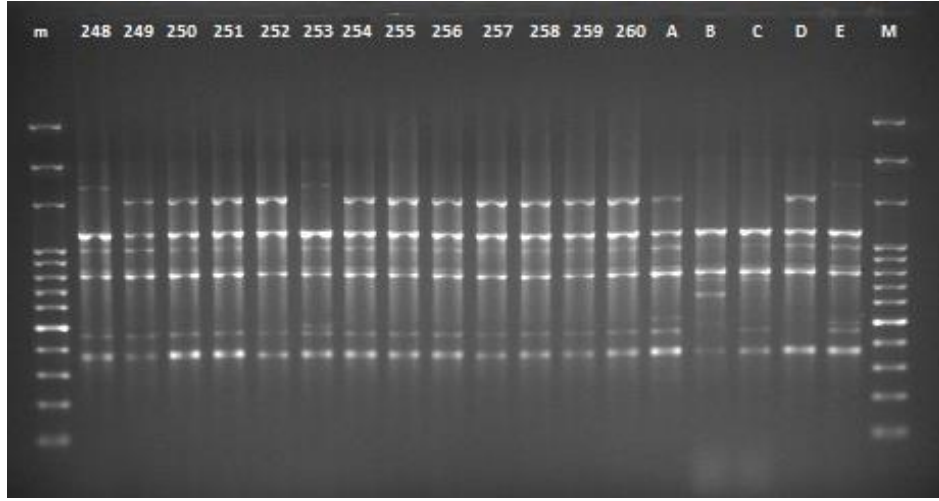
Konvansiyonel Mikrobiyolojik testlerde *Y. ruckeri* şüpheli izolatlar spesifik YER8-YER10 primerleri ile 575bp'da pozitif sonuç vermiş ve sonuçlar Şekil 15'de gösterilmiştir. RAPD-PCR analizi ile 18 farklı *Y. ruckeri* genotipi tespit edilerek sonuçlar Şekil 16-18'de verilmiştir. Toplam 142 *Y. ruckeri* izolatından 117 (%82,3) izolatın aynı genetik profile sahip olduğu ve bu izolatların NCTC12266 referans suş (serotip O1) ile benzer genogrupta yer aldığı belirlenmiştir. *Y. ruckeri* izolatlarının moleküler karakterizasyonunda en yaygın görülen RAPD-PCR profili Şekil 16'de verilmiştir. 142 izolattan 4 (%2,8)'ü NCTC 12270 numaralı referans suş (serotip O7) ile benzer genogrupta yer alırken, diğer suşların NCTC 12267, NCTC 12268 ve NCTC12269 referans suşlara benzer profil vermedikleri saptanmıştır (Şekil 18). Ege, İç Anadolu, Doğu Anadolu, Akdeniz ve Marmara bölgelerine ait izolatların benzer profil verdikleri, Karadeniz bölgesine ait izolatların 142 izolattan farklı genetik profile olduğu belirlenmiştir. 2009 yılında Ege bölgesine ait bir, 2010 yılı Ege bölgesine ait iki ve Marmara bölgesine ait bir izolatın NCTC12270 numaralı *Y. ruckeri* izolatına benzer RAPD profili gösterdikleri tespit edilmiştir. RAPD profili benzerlik gösteren bu beş izolatın ikisi İç Anadolu, üçü ise Ege bölgesinden izole edilmiştir.



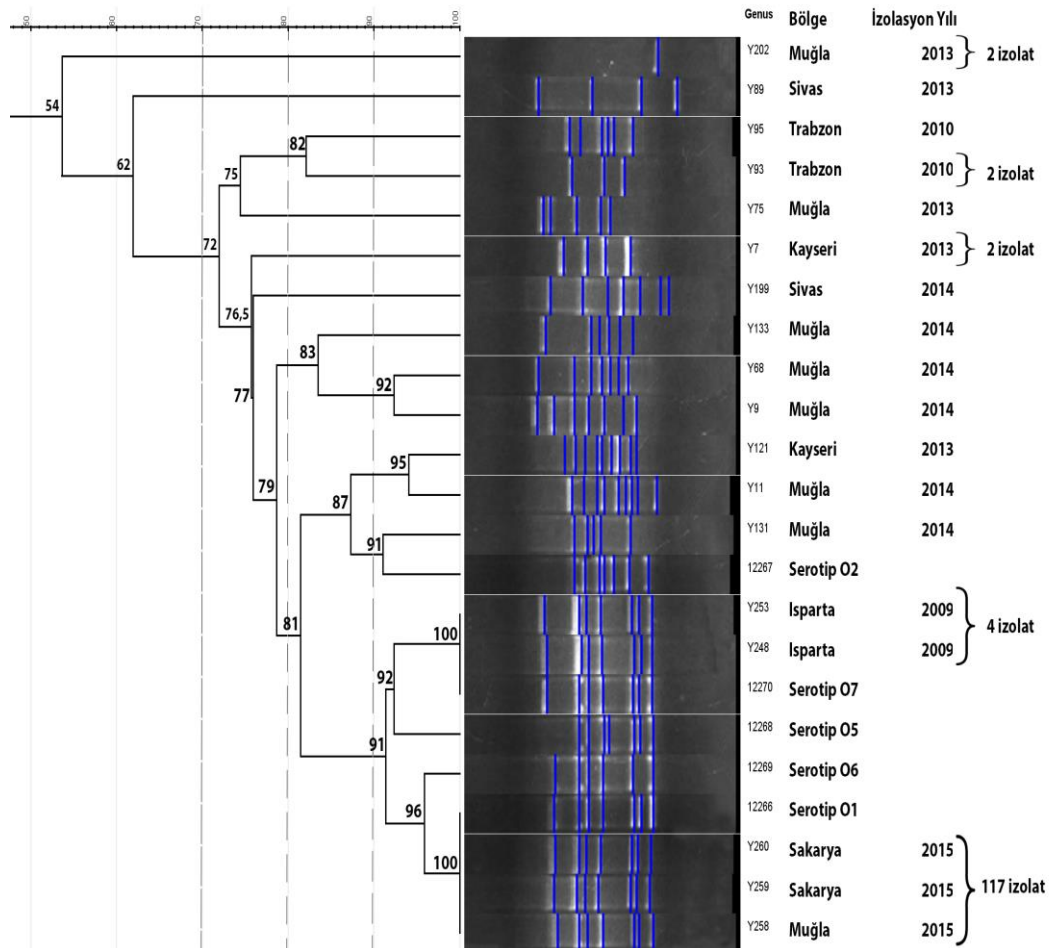
Şekil 15. *Y. ruckeri* YER8-YER10 primerleri ile PCR sonuçları 575bp. 1-7, 10: pozitif *Y. ruckeri* izolatları, 8-9: negatif kontrol, M: Marker 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500bp, m: Marker 100, 200, 300, 400, 500, 600bp.



Şekil 16. *Y. ruckeri* RAPD-PCR parmak izi analiziyle tespit edilen en yaygın genetik profil (NCTC 12266 ile aynı profil), 1-36: En yaygın profili veren izolatlar, M: marker 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000, 1.100, 1.500bp



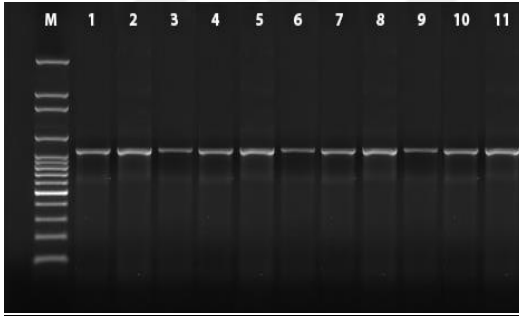
Şekil 17. ERIC2 primerleri ile *Y. ruckeri* RAPD-PCR parmak izi analizi (m: Marker 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000, 1.500, 2.000, 3.000bp; A: NCTC 12266; B: NCTC: 12267; C: NCTC: 12268; D: NCTC 12269; E: NCTC 12270; 249, 250, 251, 252, 255, 256, 257, 258, 259, 260, A en yaygın profil)



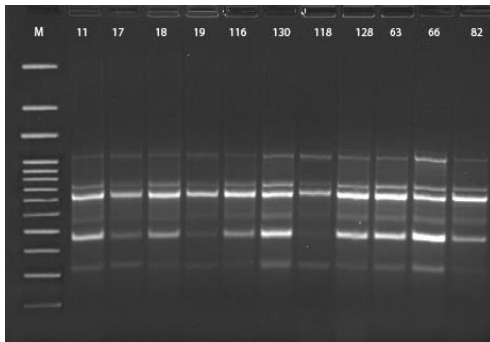
Şekil 18. *Y. ruckeri* izolatlarının RAPD-PCR parmak izi analizi, NCTC referans suşlar: 12266, 12267, 12268, 12269, 12270, Y258, Y259, Y260, Y248, Y253, Y7, Y11, Y9, Y68, Y75, Y93, Y95, Y121, Y131, Y89, Y133, Y199, Y202: *Y. ruckeri* izolatları; M: marker: 100, 200, 300, 400, 500, 700, 1.000, 1.600, 2.000, 5.000, 8.000, 10.000bp

4.8 *L. garvieae* İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu

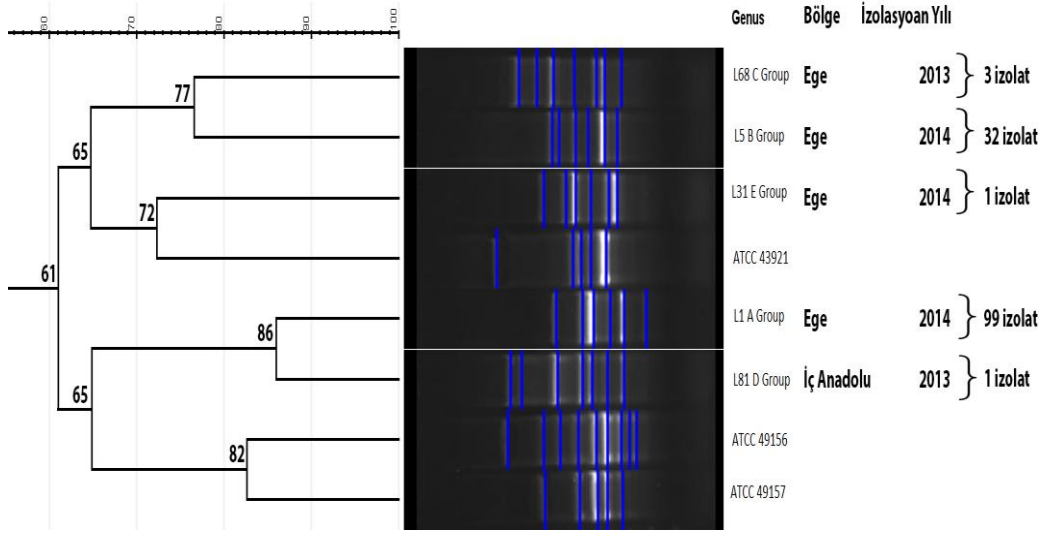
Tez çalışmasında kullanılan *L. garvieae* izolatları pLG-F ve pLG-R primerleri kullanılarak PCR'da doğrulanmış ve sonuçlar Şekil 19'de verilmiştir. Ülkemizin 4 farklı bölgesinden izole edilen 99 *L. garvieae* izolatının RAPD-PCR profilleri Şekil 19-21'de verilmiştir. Referans suşlarla birlikte tüm izolatların 8 farklı genogruba ayrıldığı, ülkemiz izolatlarının ise kendi aralarında 5 farklı genetik profil gösterdiği belirlenmiştir. 137 *L. garvieae* izolatından 99'unun (%72,2) A genogrubunda, 32'sinin (%23,3) B genogrubunda, 3'ünün (%2,1) C genogrubunda ve birer izolatın da D ve E genogruplarında yer aldığı belirlenmiştir. Türkiye'den izole edilen izolatlar ile referans suşlar arasında yüksek bir genetik yakınlık (<%90) tespit edilememiştir. ATCC 49156 ve 49157 suşları kendi aralarından %82 benzer bulunurken L81 (D genogrup) ve L1 (A genogrup) izolatları %86 benzer L31 (E genogrup) ve ATCC 43921 suşları %72, L68 (C genogrup) ve L5 (B genogrup) izolatları da %77 benzer bulunmuştur. Tüm izolatların RAPD profillerinin en az %61 benzerlikte olduğu görülmüştür.



Şekil 19. *L. garvieae* pLG-F, pLG-R primerleri ile PCR sonuçları 1100bp. 1-11: pozitif izolatlar, M: Marker 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000bp.



Şekil 20. *L. garvieae* izolatlarında en yaygın görülen RAPD-PCR profilleri. 11, 17, 18, 19, 116, 130, 118, 128, 63, 66 ve 82 bu profile örnek izolatlar (M: Marker: 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000,



Şekil 21. *L. garvieae* izolatlarının RAPD-PCR patternleri (49157, 49156, 43921: ATCC suşları; 81, 1, 5, 31, 68: *L. garvieae* izolatları)

4.9 Hareketli *Aeromonas* İzolatlarının Antimikrobiyal Duyarlılıkları (MIK)

Aeromonas izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık konsantrasyonları Tablo 11’de verilmiştir. Duyarlılık çalışmasında 25 izolatın (%24.2) FFC’e, 29 izolatın (%28.1) TET’e ve 95 izolatın (%92.2) ise SUL’e dirençli olduğu tespit edilmiştir. FFC’un 0,128 ile 256 mg/ml, SUL’un 0,064 ile 256 mg/ml ve TET’in 0,016 ile 256 mg/ml inhibitör konsantrasyonu aralığında olduğu görülmüştür (Şekil 22).

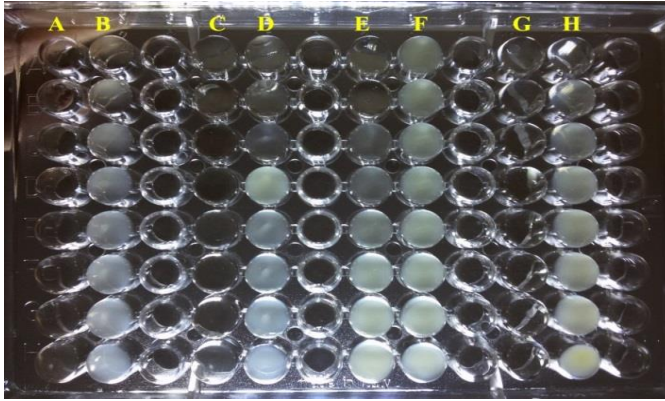
A. sobria 11, *A. media* 6, *A. salmonicida* 3 *Aeromonas* sp., *A. bestiarum*, *A. veronii* ve *A. hydrophila* subsp. *hydrophila* birer izolatın FFC’e karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. Hareketli *Aeromonas* izolatlarının SUL’e dirençli olduğu belirlenirken yalnızca *A. sobria* (86, nolu) ve *A. media* (153, 156, 88 nolu) duyarlı bulunmuştur. *A. sobria* 9, *A. media* 4, *A. salmonicida* 5, *Aeromonas* sp. 3, *A. hydrophila* 2, *A. veronii* 2, *A. hydrophila* subsp. *hydrophila*, *A. hydrophila* subsp. *anaerogenes* ve *A. dhakensis*’in birer izolatının TET’e karşı direnç geliştirmiş olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ATCC 7966, ATCC 23214 ve ATCC 43979 numaralı referans suşlarının da TET dirençli olduğu görülmüştür. Hareketli *Aeromonas* izolatların FFC ve SUL’e karşı direnç düzeylerinin 2015 yılında ciddi düzeyde arttığı, 2013, 2014 ve 2015 yıllarında ise en yaygın SUL’e karşı direnç geliştirmiş olduğu görülmüş ve sonuçlar Şekil 23’de verilmiştir.

4.10 *Y. ruckeri* İzolatlarının Antimikrobiyal Duyarlılıkları (MIK)

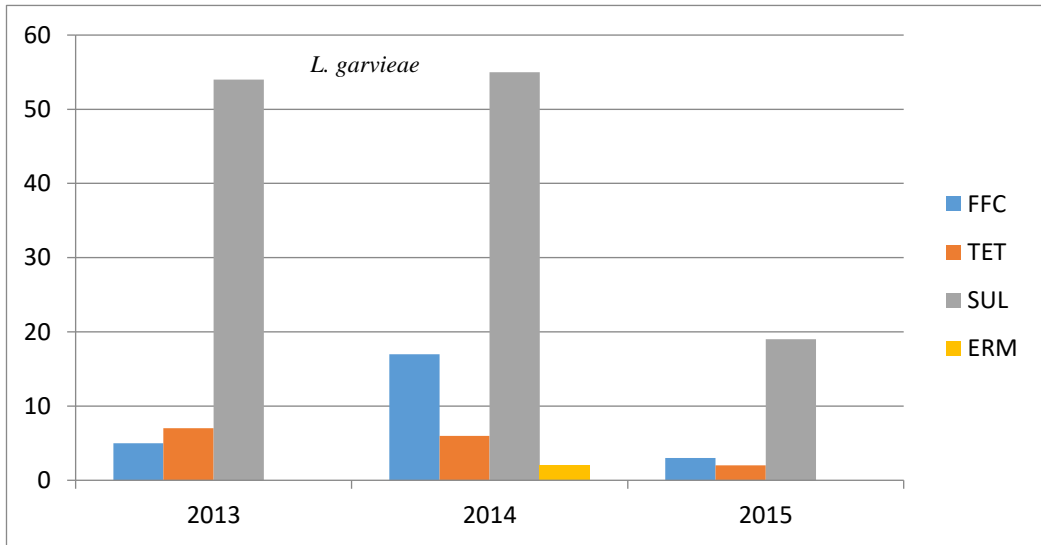
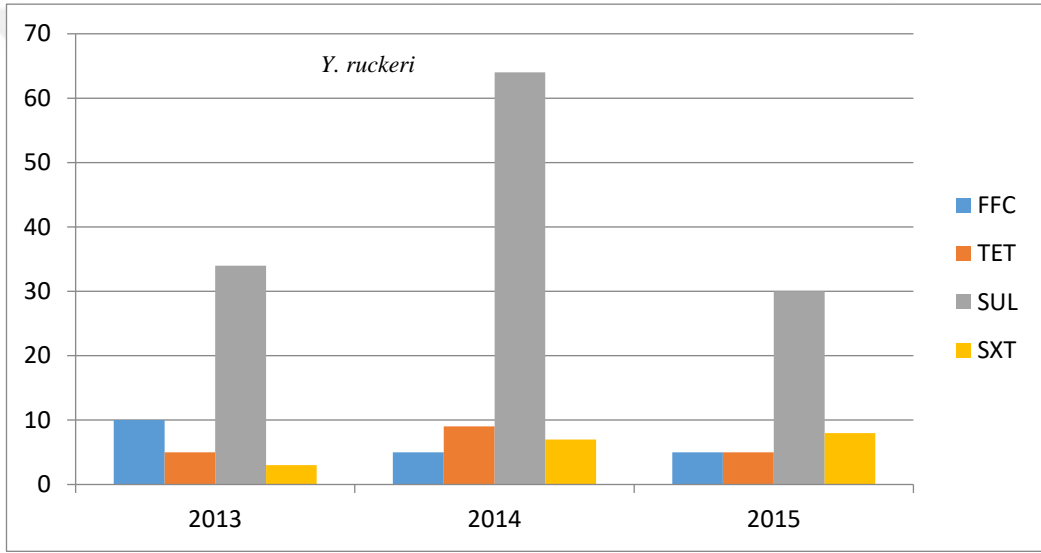
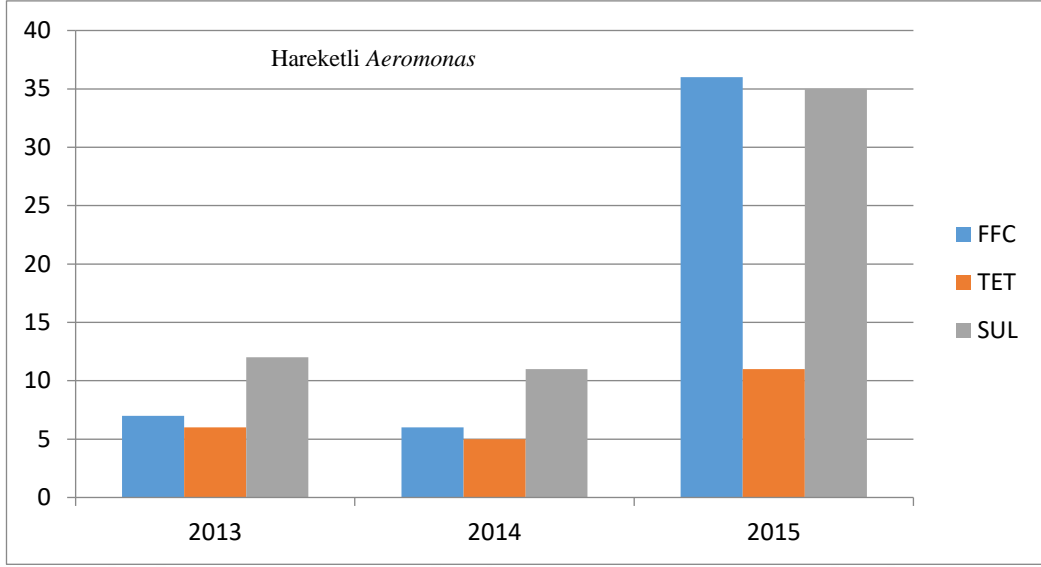
Y. ruckeri izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık konsantrasyonları Tablo 12’de verilmiştir. Çalışmada kullanılan *Y. ruckeri* izolatlarının tamamının SUL’e, 21’inin FFC’e, 19’unun TET’e ve 18’inin SXT’ye karşı dirençli oldukları tespit edilmiştir (Tablo 12). FFC’un 0,256 ile 256 mg/ml, SUL’un 256 mg/ml üzeri, TET’in 0,512 ile 64 µg/ml ve SXT’nin 2 ile 256 µg/ml inhibitör konsantrasyonu aralığında olduğu görülmüştür. *Y. ruckeri* izolatlarının 2013, 2014 ve 2015 yıllarında yaygın olarak SUL’e karşı direnç geliştirmiş olduğu, 2015 yılında ise FFC, TET ve SUL bileşiklerine karşı en düşük düzeyde gelişiminin olduğu belirlenmiş ve sonuçlar Şekil 23’de verilmiştir.

4.11 *L. garvieae* İzolatlarının Antimikrobiyal Duyarlılıkları (MIK)

L. garvieae izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık konsantrasyonları Tablo 13’de verilmiştir. Çalışmada kullanılan 137 izolatın; 25’i FFC’e, 3’ü TET’e, 128’i SUL’e ve ikisi ERM’e direnç geliştirmiş olduğu belirlenmiştir. FFC’un 0,008 ile 32 mg/ml, SUL’un 0,008 ile 256 µg/ml, TET’in 0,032 ile 32 µg/ml ve ERM’nin 0,008 ile 1 inhibitör µg/ml konsantrasyonu aralığında olduğu görülmüştür. *L. garvieae* izolatlarının 2013, 2014 ve 2015 yıllarında yaygın olarak SUL’e karşı direnç geliştirmiş olduğu, 2015 yılında ise FFC, TET ve SUL bileşiklerine karşı dirençte önemli düzeyde azalma olduğu belirlenmiş ve sonuçlar Şekil 23’de verilmiştir.



Şekil 22. Hareketli *Aeromonas*, *Y. ruckeri* ve *L. garvieae* etkenlerine broth dilüsyon yöntemiyle yapılan MIK testi. A, C, E, G yukardan aşağıya: 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2mg/L dilüsyon; B, D, F, H yukardan aşağıya: 1, 0.512, 0.256, 0.128, 0.064, 0.032, 0.016, 0.008mg/L dilüsyon.



Şekil 23. Hareketli *Aeromonas*, *Y. ruckeri* ve *L. garvieae* izolatlarının yıllara göre fenotipik antimikrobiyal direnç dağılımları

Tablo 11. Hareketli *Aeromonas* suşlarının FFC, TET ve SUL duyarlılıkları

Antimikrobiyal	İzolot sayısı (n)	MİK konsantrasyonları (mg/L)															MİK duyarlılık konsantrasyonu ¹¹ Dirençli suş sayısı (%)		
		0,008	0,016	0,032	0,064	0,128	0,256	0,512	1	2	4	8	16	32	64	128	256		
Florfenikol (FFC)	103			2		2	4	12	38	15	5	3	4	9	4	3	2	S<8>R	24,2
Tetrasiklin (TET)	103		1	2	4	5	22	10	9	8	12	6	7	8	4	3	1	S<8>R	28,1
Sulfamethoksazol (SUL)	103				1	2		2		1			1			1	95	S<128>R	92,2

Tablo 12. *Y. ruckeri* suşlarının FFC, TET, SUL ve SXT duyarlılıkları

Antimikrobiyal	İzolot sayısı (n)	MİK konsantrasyonları (mg/L)															MİK duyarlılık konsantrasyonu ¹¹ Dirençli suş sayısı (%)		
		0,008	0,016	0,032	0,064	0,128	0,256	0,512	1	2	4	8	16	32	64	128	256		
Florfenikol (FFC)	142						3	1	5	33	79	8	5	2	3	1	2	S<8>R	14,7
Tetrasiklin (TET)	142				1	2	5	24	61	22	8	7	1	7	4			S<8>R	19,0
Sulfamethoksazol (SUL)	142																142	S<128>R	100
Sulfamethoksazol-Trimetoprim (SXT)	142									22	102	7	3	1		1	6	S<8>R	12,6

Tablo 13. *L. garvieae* suşlarının FFC, TET ve SUL duyarlılıkları

Antimikrobiyal	İzolot sayısı (n)	MİK konsantrasyonları (mg/L)															MİK duyarlılık konsantrasyonu ¹¹ Dirençli suş sayısı (%)		
		0,008	0,016	0,032	0,064	0,128	0,256	0,512	1	2	4	8	16	32	64	128	256		
Florfenikol (FFC)	140	6					2	11	32	27	37	13	9	3				S<8>R	17,8
Tetrasiklin (TET)	140	1		1		10	29	46	38	6	1		2	1	5			S<8>R	2,1
Sulfamethoksazol (SUL)	140	3				2									3	1	131	S<128>R	94,2
Eritromisin (ERM)	140	13	2	7	48	33	27	8	2									S<1>R	1,4

4.12 Hareketli *Aeromonas* İzolatlarında Tespit Edilen Direnç Genleri

Fenotipik olarak SUL'e dirençli olduğu tespit edilen 95 Hareketli *Aeromonas* izolatında *suIII* direnç geni tespit edilmemiştir. Fenotipik direnç tespit edilen hareketli *Aeromonas* izolatlarının 22'si *suII*, 18'inin ise *suI* direnç geni taşıdığı belirlenmiştir. Hareketli *Aeromonas* izolatlarının 26'sı (ATCC 7966, ATCC 23214 ve ATCC 43979 dahil) fenotipik olarak TET dirençli iken, 24'ü *tetA*, biri *tetC*, ikisi *tetD* ve 20'sinin de *tetE* direnç geni taşıdığı belirlenmiştir. 25 izolatın FFC'e karşı dirençli olmasına rağmen bu izolatlardan 14 tanesinin *floR* direnç geni taşıdığı tespit edilmiştir (Tablo 14, Şekil 25-34). Referans suşlarda (ATCC ve FNR) herhangi bir direnç geni tespit edilememiştir. Hareketli *Aeromonas* izolatlarında en yaygın "*suI-suIII*" genleri birlikte tespit edilmiştir. "*suI-suII-tetA*", "*suII-floR*", "*floR-tetA*" ve "*suIII-tetE*" direnç genlerinin yaygın olarak bulunduğu görülmüş ve dağılımları Şekil 24'de verilmiştir.

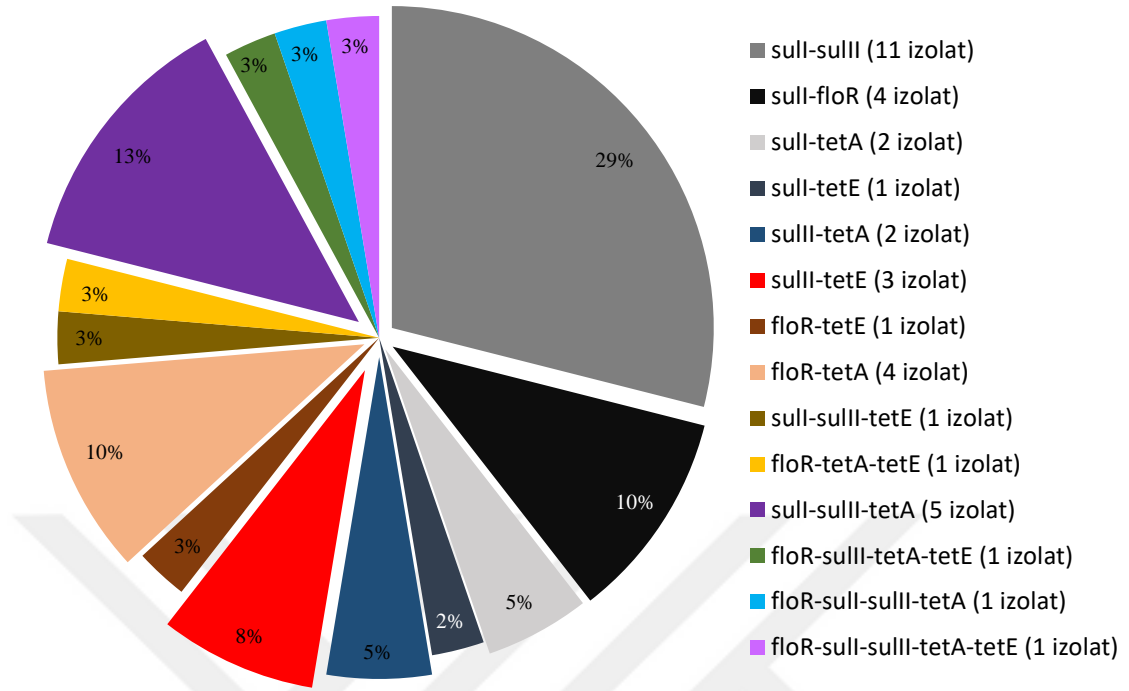
Tablo 14. *Aeromonas* izolatlarında tespit edilen direnç genleri ve MİK değerleri*

Filogenetik grup	DNA	FFC (8)	<i>floR</i>	SUL (128)	<i>suI</i>	<i>suII</i>	<i>suIII</i>	TET (8)	<i>tetA</i>	<i>tetB</i>	<i>tetC</i>	<i>tetD</i>	<i>tetE</i>
AS	131	16	-	256<	-	-	-	4	-	-	-	-	-
AS	41	32	-	256<	-	-	-	0,512	-	-	-	-	-
AS	105	16	-	256<	-	-	-	0,512	-	-	-	-	-
AV	106	0,51	-	256<	-	-	-	1	+	-	-	-	-
SP.	109	1	-	256<	-	+	-	1	-	-	-	-	-
AM	118	2	-	256<	-	-	-	64	-	-	-	-	-
AS	119	0,03	-	256<	-	-	-	0,256	-	-	-	-	+
AM	120	64	-	256<	-	-	-	16	-	-	-	-	-
AHH	124	0,03	-	256<	+	+	-	0,256	-	-	-	-	-
AS	26	32	+	256<	+	-	-	4	-	-	-	-	-
ASA	174	2	+	256<	-	-	-	1	+	-	-	-	+
ASA	28	0,51	-	256<	-	-	-	16	-	-	-	-	+
ASA	171	1	+	256<	-	-	-	2	+	-	-	-	-
AM	153	256	-	0,128	-	-	-	0,128	-	-	-	-	-
AS	80	0,26	-	256<	-	-	-	8	-	-	-	-	+
AS	86	1	-	16	-	-	-	2	-	-	-	-	+
AS	82	1	-	256<	+	-	-	0,512	-	-	-	-	-
AS	61	1	-	256<	+	+	-	1	-	-	-	-	+
AM	156	1	-	2	-	-	-	0,128	+	-	-	-	-
AS	74	1	-	256<	-	-	-	0,256	+	-	-	-	-
AS	33	0,51	-	256<	+	-	-	8	-	-	-	-	+
AS	40	1	-	256<	-	-	-	32	-	-	-	-	-
SP.	7	0,13	-	256<	-	-	-	4	-	-	-	-	+
AS	31	0,51	-	256<	+	-	-	1	-	-	-	-	-
ASA	170	2	+	256<	-	-	-	0,256	+	-	-	-	-
AH	89	2	-	256<	-	-	-	32	-	-	-	-	-
AHH.D	77	1	-	256<	-	-	-	16	+	-	-	-	-
ASA	123	1	-	256<	-	-	-	0,512	-	-	-	-	+
AHH.A	76	8	-	256<	-	-	-	128	+	-	-	-	-

AH	91	0,51	-	256<	-	-	-	256<	-	-	-	+	-
AS	84	32	+	256<	-	-	-	1	-	-	-	-	-
AM	88	256	-	0,06	+	+	-	0,128	+	-	-	-	-
AH	79	32	-	256<	-	-	-	2	-	-	-	-	+
AS	65	32	+	256<	-	-	-	1	+	-	-	-	-
AS	78	64	-	256<	+	-	-	1	-	-	-	-	-
AB	90	1	-	256<	-	-	-	256	-	-	-	-	+
SP.	67	0,51	-	256<	+	-	-	4	-	-	-	-	-
AM	97	64	+	256<	-	+	-	4	+	-	-	-	+
AM	100	128	-	256<	-	+	-	4	+	-	-	-	-
AM	99	2	+	256<	-	-	-	0,512	+	-	-	-	-
SP.	98	2	-	256<	-	+	-	16	-	-	-	-	+
AS	162	4	-	256<	-	-	-	0,512	+	-	-	-	-
AB	102	1	-	256<	+	-	-	0,128	-	-	-	-	-
SP.	16	1	-	256<	-	-	-	16	-	-	-	-	+
AM	17	128	-	256<	-	-	-	8	-	-	-	-	-
AS	161	1	-	256<	+	-	-	0,256	-	-	-	-	-
AS	165	32	-	256<	-	-	-	8	-	-	-	-	-
AS	164	4	-	256<	+	-	-	0,256	-	-	-	-	-
SP.	147	8	+	256<	-	-	-	0,256	-	-	-	-	-
ASA	173	4	+	256<	+	+	-	8	+	-	-	-	+
ASA	172	16	-	256<	+	+	-	0,256	+	-	-	-	-
SP.	148	2	-	256<	-	-	-	8	-	-	-	-	+
AS	159	32	-	256<	-	-	-	128	-	-	-	-	-
ASA	189	64	+	256<	-	-	-	0,256	+	-	+	+	-
AS	151	32	+	256<	-	-	-	64	-	-	-	-	+
ASA	178	2	-	256<	+	-	-	0,256	+	-	-	-	-
ASA	181	2	-	256<	+	+	-	64	-	-	-	-	-
ASA	209	2	-	256<	-	-	-	32	-	-	-	-	-
ASA	179	32	-	256<	+	+	-	64	+	-	-	-	-
ASA	180	1	-	256<	+	+	-	2	+	-	-	-	-
AB	150	8	-	256<	-	-	-	2	-	-	-	-	-
AV	70	16	-	256<	+	-	-	0,256	+	-	-	-	-
ASA	175	1	+	256<	+	+	-	4	+	-	-	-	-
ASA	176	2	+	256<	+	+	-	2	+	-	-	-	-
ASA	177	2	-	256<	+	+	-	1	+	-	-	-	-
AS	190	1	-	256<	-	-	-	128	-	-	-	-	-
AM	194	1	-	128	-	+	-	4	-	-	-	-	-
AE	196	1	-	256<	-	-	-	0,256	-	-	-	-	+
AV	212	0,51	-	256<	-	+	-	32	-	-	-	-	+
AV	213	1	-	256<	-	+	-	32	-	-	-	-	+
AS	214	128	-	256<	-	-	-	32	-	-	-	-	-

AV: *A. veronii*, SE: *Aeromonas* sp., AS: *A. sobria*, AHH: *A. hydrophila* subsp. *hydrophila*, ASA: *A. salmonicida*, AM: *A. media*, AHH.D: *A. hydrophila* subsp. *dhakensis*, AHH.A: *A. hydrophila* subsp. *anaerogenes*, AH: *A. hydrophila*, AB: *A. bestiarum*, AV: *A. veronii*, AE: *A. eucrenophila*

*Yalnızca dirençli izolatların sonuçları verilmiştir



Şekil 24. Hareketli *Aeromonas* izolatlarında çoklu antimikrobiyal direnç geni taşıyan izolatların dağılımı

4.13 *Y. ruckeri* İzolatlarında Genotipik Direnç

Tez çalışmasında incelenen 142 *Y. ruckeri* izolatında *suIII*, *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetM* ve *tetS* direnç genleri tespit edilememiştir. Direnç geni taşıdığı belirlenen *Y. ruckeri* izolatlarından üçünün *sulI*, sekizinin *suII*, ikisinin *tetE* ve birinin de *floR* geni taşıdığı görülmüştür (Tablo 15, Şekil 25-34). Fenotipik olarak TET'e dirençli olduğu tespit edilen 19 *Y. ruckeri* izolatının birinde *tetE* direnç geni belirlenmiştir. Fenotipik olarak TET'e duyarlı olan bir izolatın ise *tetE* direnç geni taşıdığı görülmüştür (Tablo 15, Şekil 25-34). Fenotipik olarak FFC'e dirençli 21 izolatın birinin *floR* geni taşıdığı belirlenmiştir (Şekil 26). Referans suşlarda (NCTC) herhangi bir direnç geni tespit edilmemiştir.

Tablo 15. *Y. ruckeri* izolatlarında tespit edilen direnç genleri ve MİK değerleri*

Filogenetik grup	DNA	FFC	<i>floR</i>	SUL	<i>suI</i>	<i>suII</i>	<i>suIII</i>	TET	<i>tetS</i>	<i>tetM</i>	<i>tetA</i>	<i>tetB</i>	<i>tetC</i>	<i>tetD</i>	<i>tetE</i>	SXT 19/1
B	241	4	-	256<	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	8
B	248	32	-	256<	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	4
M	121	4	-	256<	+	-	-	0,512	-	-	-	-	-	-	+	4
G	89	4	-	256<	+	-	-	0,512	-	-	-	-	-	-	-	4
A	13	64	-	256<	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	2
A	14	128	-	256<	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	4
D	10	16	-	256<	-	-	-	0,512	-	-	-	-	-	-	-	16
D	7	16	-	256<	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	32
A	200	2	-	256<	-	-	-	32	-	-	-	-	-	-	-	4
J	199	8	-	256<	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	16
A	183	2	-	256<	-	-	-	32	-	-	-	-	-	-	-	4
A	132	2	-	256<	-	-	-	32	-	-	-	-	-	-	-	4
L	131	0,51	-	256<	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	+	8
A	120	4	-	256<	-	-	-	32	-	-	-	-	-	-	-	4
A	91	8	-	256<	-	-	-	1	-	-	-	+	-	-	-	4
A	66	4	-	256<	-	-	-	64	-	-	-	-	-	-	-	4
O	68	16	-	256<	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	8
A	71	4	-	256<	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	4
A	78	4	-	256<	-	-	-	32	-	-	-	-	-	-	-	4
A	106	4	-	256<	-	-	-	1	-	-	-	+	-	-	-	4
A	107	4	-	256<	-	+	-	1	-	-	-	-	-	-	-	4
C	11	256	+	256<	-	-	-	2	-	-	-	-	+	-	-	256
E	9	256	-	256<	-	-	-	64	-	-	-	-	+	+	-	256
A	40	4	-	256<	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	256
A	43	4	-	256<	-	-	-	0,512	-	-	-	-	-	-	-	256
A	255	8	-	256<	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	4
A	256	8	-	256<	-	-	-	32	-	-	-	-	-	-	-	4
A	212	2	-	256<	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	8
A	217	2	-	256<	-	+	-	8	-	-	-	-	-	-	-	4
A	206	2	-	256<	-	-	-	64	-	-	-	-	-	-	-	4
A	232	4	-	256<	-	-	-	64	-	-	-	-	-	-	-	4
A	231	4	-	256<	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	8
A	260	8	-	256<	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	4
A	257	8	-	256<	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	4
A	258	8	-	256<	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	4
A	210	0,25	-	256<	-	+	-	1	-	-	-	-	-	-	-	4
A	225	4	-	256<	-	-	-	32	-	-	-	-	-	-	-	4
A	211	0,25	-	256<	-	+	-	1	-	-	-	-	-	-	-	4
A	96	8	-	256<	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	4
A	233	4	-	256<	-	-	-	16	-	-	-	-	-	-	-	256
A	234	4	-	256<	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	2
A	236	1	-	256<	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	4
A	239	4	-	256<	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	2
A	244	16	-	256<	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	4
A	247	32	-	256<	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	2
A	252	4	-	256<	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	4
H	92	64	-	256<	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	128
I	93	16	-	256<	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	16
N	95	64	-	256<	+	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	256
A	261	1	-	256<	-	+	-	0,128	-	-	-	-	-	-	-	2
A	262	4	-	256<	-	+	-	0,256	-	-	-	-	-	-	-	4
A	263	4	-	256<	-	+	-	0,128	-	-	-	-	-	-	-	2
A	265	1	-	256<	-	+	-	0,512	-	-	-	-	-	-	-	2
NCTC 12266		4	-	256<	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	4
NCTC 12267		2	-	256<	-	-	-	0,256	-	-	-	-	-	-	-	4
NCTC 12268		4	-	256<	-	-	-	0,256	-	-	-	-	-	-	-	8
NCTC 12269		4	-	256<	-	-	-	0,064	-	-	-	-	-	-	-	4
NCTC 12270		4	-	256<	-	-	-	0,256	-	-	-	-	-	-	-	8

*Yalnızca dirençli izolatların sonuçları verilmiştir, A, C, G, L, M, N: bakterilerin ait oldukları grupları ifade etmektedir.

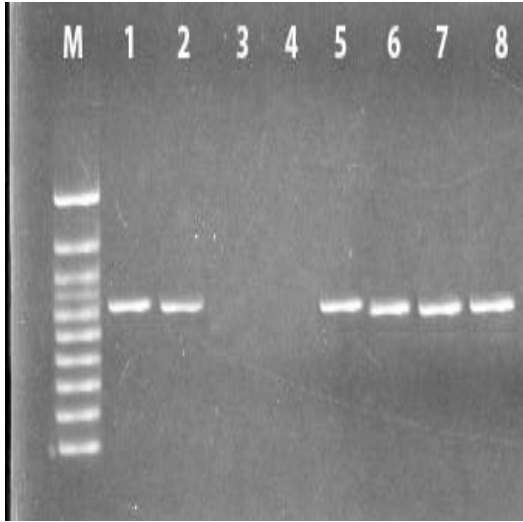
4.14 *L. garvieae* İzolatlarında Genotipik Direnç

Çalışmamızda incelenen *L. garvieae* izolatlarında *sulI*, *sulII*, *sulIII*, *tetA* ve *floR* direnç genleri tespit edilmemişken, izolatların dokuzunda *ermA*, dördünde *ermB*, yedisinde *tetM*, dördünde *tetS* direnç geni belirlenmiştir (Tablo 16). Fenotipik olarak iki *L. garvieae* izolatı ERM'e dirençli iken bu izolatlardan ikisinin *ermB* geni taşıdığı belirlenmiştir. Ayrıca fenotipik olarak ERM'e duyarlı izolatların *ermB* ve *ermA* taşıdığı tespit edilmiştir (Şekil 25-34). Fenotipik olarak TET'e dirençli 15 *L. garvieae* izolatından ikisinin *tetM* ve *tetS*, diğer ikisinin ise hem *tetM* hem de *tetS* direnç genlerini birlikte taşıdığı belirlenmiştir. Fenotipik olarak TET'e duyarlı bir izolatın *tetM* ve *tetS* direnç genlerini birlikte taşıdığı, iki izolatın *tetM* ve bir izolatın ise *tetS* direnç geni taşıdığı belirlenmiştir (Tablo 16, Şekil 25-34). Bir *L. garvieae* izolatının *tetM* ve *tetS*, üç izolatın *tetM* ve *tetS*, genlerini birlikte (çoklu antimikrobiyal direnç) taşıdığı tespit edilmiştir (Tablo 16). Ayrıca *L. garvieae* referans suşlarında direnç geni tespit edilememiştir.

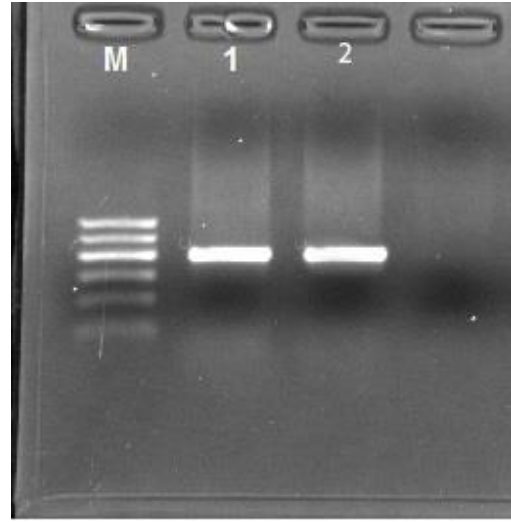
Tablo 16. *L. garvieae* izolatlarında tespit edilen direnç genleri ve MİK değerleri*

DNA kodu	FFC	<i>floR</i>	TET	<i>tetM</i>	<i>tetS</i>	ERM	<i>ermB</i>	<i>ermA</i>	SUL
L69	1	-	-	-	-	-	-	-	256<
L6	1	-	-	-	-	0,08<	-	+	256<
L7	0,008	-	-	-	-	0,08<	-	+	256<
L8	1	-	1	-	-	0,016	-	+	256<
L68	2	-	1	+	+	0,128	-	-	256<
L70	4	-	64	+	-	0,128	-	-	256<
L71	2	-	64	+	+	0,128	-	-	256<
L87	2	-	0,512	-	+	0,064	-	-	256<
L88	1	-	-	-	-	-	-	-	256<
L72	2	-	-	-	-	-	-	-	256<
L73	1	-	-	-	-	-	-	-	256<
L77	2	-	64	-	-	0,064	-	-	256<
L78	4	-	0,256	+	-	0,256	-	-	256<
L79	1	-	0,512	+	-	0,256	-	-	256<
L20	0,512	-	2	-	-	0,512	-	-	64
L21	2	-	16	-	-	0,032	-	-	256<
L25	2	-	0,512	-	-	0,032	-	+	256<
L26	1	-	0,128	-	-	0,064	-	+	256<
L27	0,512	-	0,512	-	-	0,256	-	+	256<
L29	2	-	0,512	-	-	0,064	-	+	256<
L34	0,512	-	64	+	+	0,256	-	-	256<
L28	1	-	0,512	-	-	0,256	-	+	256<
L5	0,008	-	-	-	-	0,08<	-	+	0,128
L99	2	-	1	-	-	1	+	-	256<
L100	2	-	0,256	-	-	1	+	-	256<
L101	4	-	0,256	-	-	0,064	+	-	256<
L104	2	-	0,512	-	-	0,064	+	-	256<
L123	32	-	-	-	-	-	-	-	256<
L119	4	-	2	+	-	0,256	-	-	256<

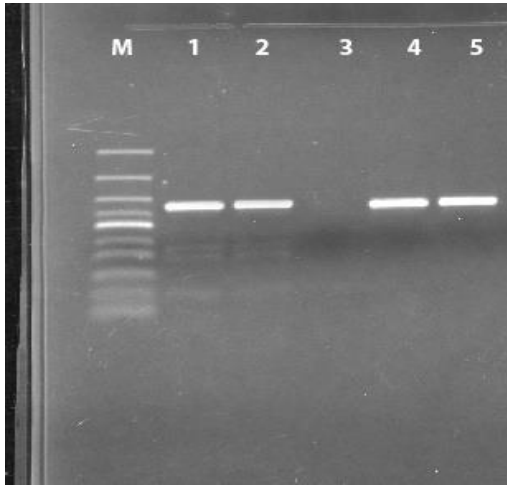
*Yalnızca dirençli izolatların sonuçları verilmiştir, Turuncu, yeşil ve mavi renkler bakterilerin genetik olarak gruplarını ifade etmektedir.



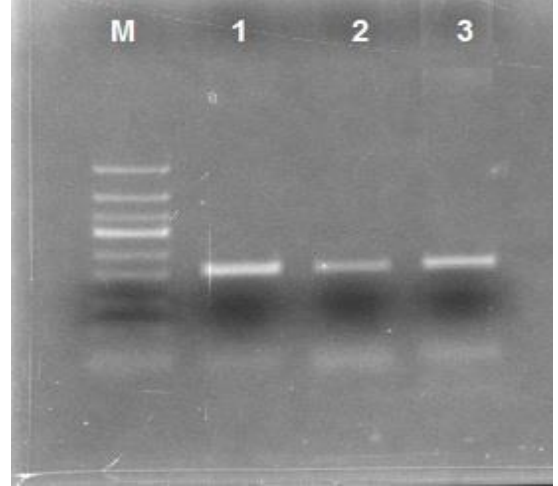
Şekil 25. *ermA* geni pozitif örnekler, 332bp (1, 2, 5, 6, 7, 8); M: Marker 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 600bp



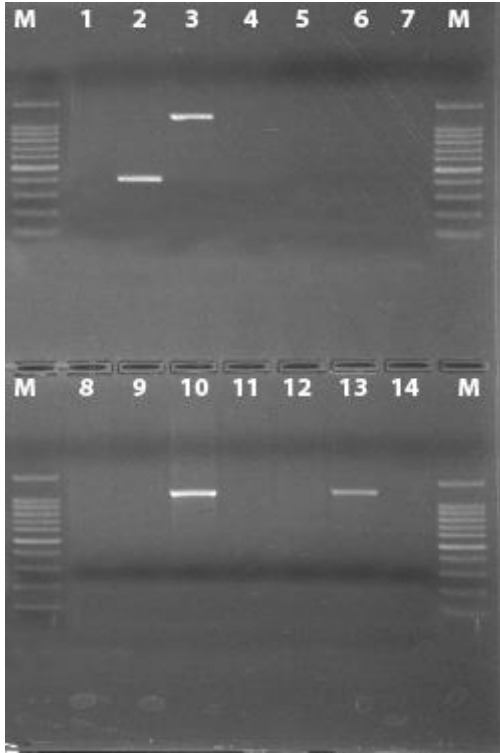
Şekil 26. *floR* geni pozitif *Aeromonas* ve *Y. ruckeri* örnekleri, 399bp (1); M: Marker 100, 200, 300, 400, 500, 600bp



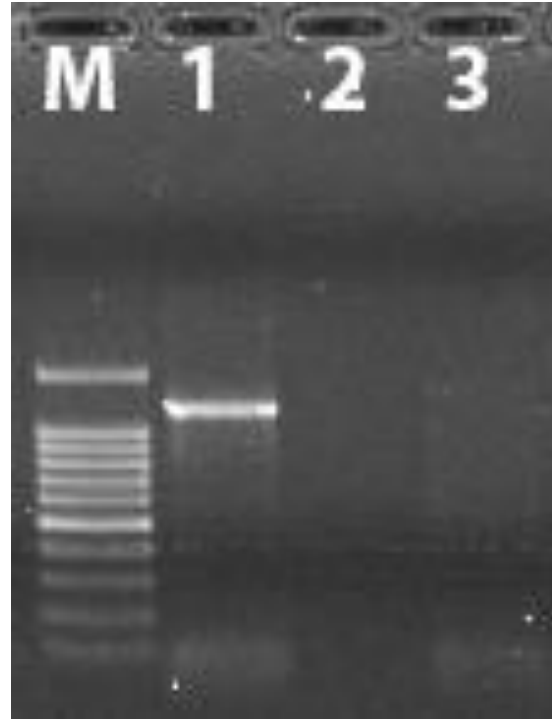
Şekil 27. *ermB* geni pozitif örnekler, 364bp (1, 2, 4, 5); M: Marker 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 600bp



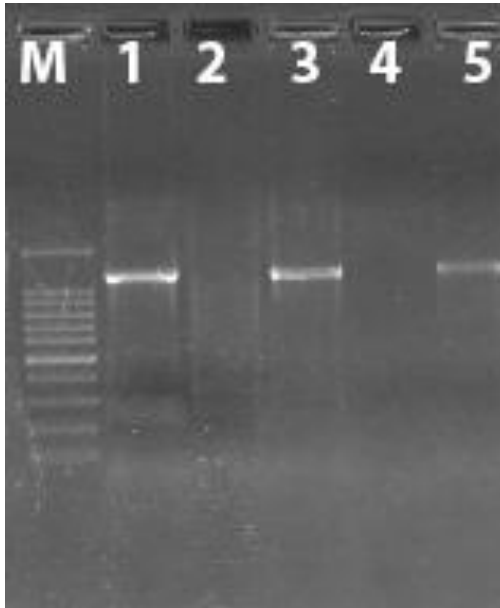
Şekil 28. *tetA* geni pozitif örnekler, 210bp (1-3); M: Marker 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 500bp



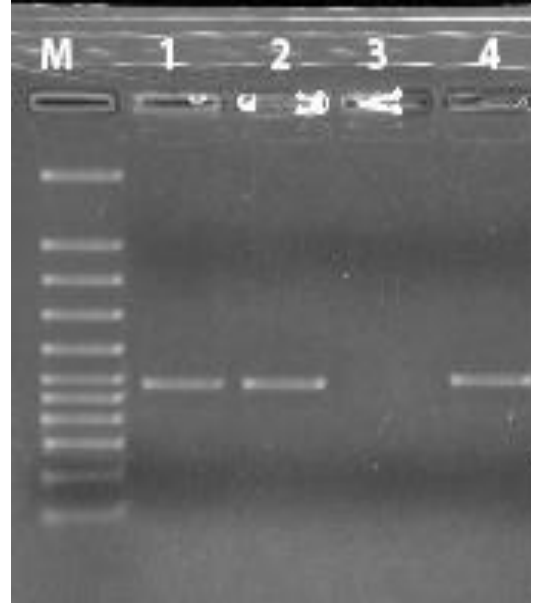
Şekil 29. *tetB* geni pozitif örnek 416bp (2), *tetE* geni pozitif örnekler 1.180bp (3, 10, 13); M: Marker 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000, 1.500bp



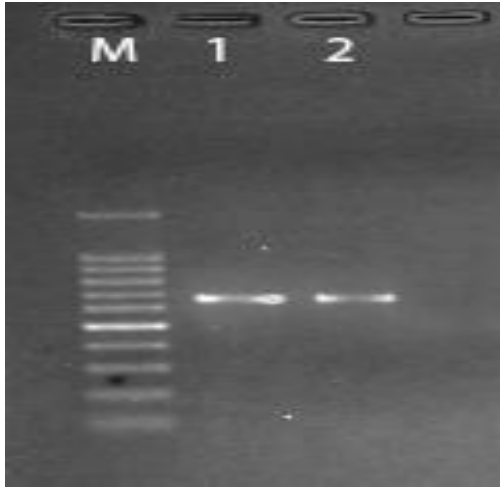
Şekil 30. *tetD* geni pozitif örnek (1) 1121bp ve negatif örnekler (2, 3). M: Marker 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000, 1.500bp



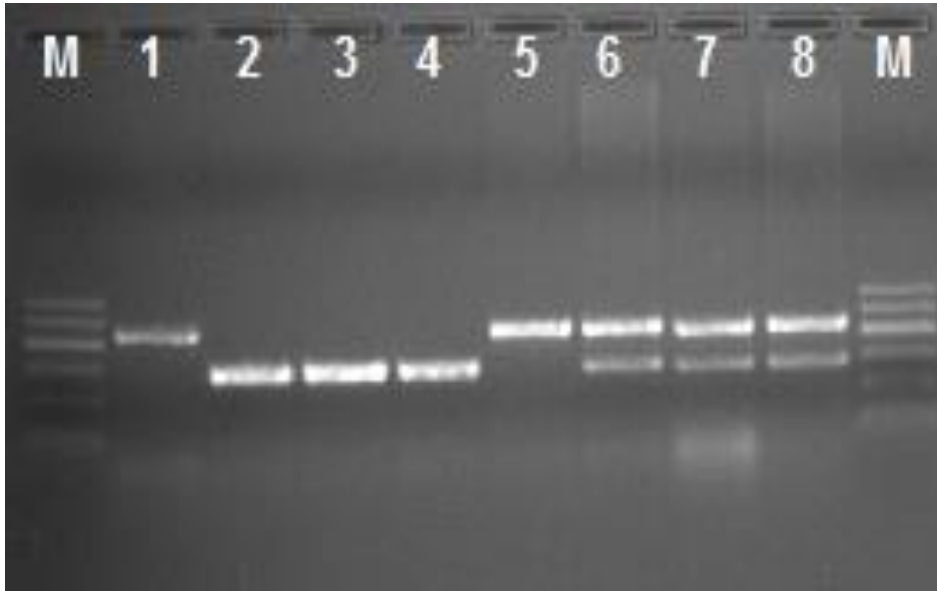
Şekil 31. *tetC* geni pozitif örnekler (1, 3, 5) 1138bp. M: Marker 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000, 1.500bp



Şekil 32. *tetS* geni pozitif örnekler, 573bp (1, 2, 4); M: Marker 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500bp



Şekil 33. *tetM* geni pozitif örnekler, 657bp (1, 2); M: Marker 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500bp



Şekil 34. *Sull* geni pozitif örnekler, 433bp (1-5); *SullII* geni pozitif örnekler, 293bp (3, 4, 5); *Sull* ve *SullII* genleri pozitif örnekler (6, 7, 8); M: Marker 100, 200, 300, 400, 500, 600bp

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Hareketli *Aeromonas*;

Aeromonas genusuna ait türler, akuatik ortamda (su, sediment) bulunmakta, tatlısu, deniz balıkları ve diğer soğukkanlı hayvanlarında hastalık oluşturmaktadır. Ayrıca insanlarda septisemi, yara enfeksiyonu, gastroenteritis, aspirasyon pnömonisi olgularına ve çok sayıda gıda zehirlenmesine neden olduğu rapor edilmiştir (Altwegg ve ark., 1991; Hänninen ve ark., 1997; Ghenghesh ve ark., 2005). Akuakültürde yetiştiriciliği yapılan balıkların yanı sıra deve, sığır, koyun, keçi, tavuk, kuş, kedi ve köpek gibi birçok hayvana ait hastalık vakalarından, şehirsal atık ve içme sularından da *Aeromonas* türleri izole edilmiştir (D'Aloia ve ark., 1996; Ghenghesh ve ark., 1999; Mansour ve ark., 2014). Hem tatlısu hem de deniz balıklarında hareketli *Aeromonas* septisemi (MAS) yaygın görülmektedir (Yogananth ve ark., 2009; Viji ve ark., 2011). *Aeromonas* türlerinin virulensinde, Lipaz (Lip), Serine proteaz (Ser), Aerolizin (Aer), Cytotoxic enterotoxin (ACT) ve sıcaklık-duyarlı protease Epr (CAI) enzimlerinin sorumlu olduğu bildirilmiştir (Li ve ark., 2011; Yi ve ark., 2013).

Gökkuşuğu alabalıklarında hareketli *Aeromonas* enfeksiyonlarına sıklıkla rastlanılmasına rağmen (Abott ve ark., 2003, Duman ve ark., 2017) klasik mikrobiyolojik testlerin tür ayırımında yetersiz kaldığı, atipik özellik gösteren *Aeromonas* türlerinin biyokimyasal özelliklerinin farklılık gösterdiği bu durumun da *Aeromonas* türlerinin teşhisini zorlaştırdığı bildirilmektedir (Janda, 2011). *Aeromonas* genusunda yer alan bazı türlerin biyokimyasal özelliklerinin birbirilerine yüksek oranda benzerlikler göstermeleri, biyokimyasal test sonuçlarının belirlenmesinin uzun zaman alması araştırmacıları API, VITEK, BIONOR gibi hızlı teşhis kitlerin kullanımına yöneltmiştir. Hızlı teşhis kitleri *Aeromonas* türlerinin teşhisinde çok güvenilir sonuç vermese de benzer özellik gösteren türlerin belirlenmesine olanak sağlamaktadır (Altwegg ve ark., 1990; Duman ve ark., 2017). Tez çalışmasında *Aeromonas* spp. teşhisi konulmuş 140 izolat ayrıntılı mikrobiyolojik ve moleküler identifikasyona tabi tutulmuştur. Çalışmada kullanılan 140 izolatın büyük bir çoğunluğu biyokimyasal testlerde benzer özellik göstermiş, ancak bu izolatlardan bazılarının DNA dizi analizinde *Aeromonas*'tan farklı bir türe mensup olduğu belirlenmiştir.

Mezofilik *Aeromonas* türlerinin hareketli; tipik *A. salmonicida*'nın ise psikrofilik ve hareketsiz olduğu bilinirken, Abott ve ark., (2003) mezofilik türler içerisinde hareketsiz suşların ve *A. salmonicida* suşları arasında ise hareketli suşların

olduğunu bildirmişlerdir. Tez çalışmamızın konusunu hareketli *Aeromonas* türlerinin oluşturması nedeniyle hareketsiz türler çalışılmamıştır. Ancak, çalışmamızda da Abott ve ark., (2003) 'nın bildirdiği şekilde bazı *A. salmonicida* suşlarının hareketli olduğu belirlenmiştir. Hareketli *Aeromonas* türlerinin biyokimyasal özellikleri ayrıntılı olarak çalışılmış olsa da son zamanlarda yapılan çalışmalarda atipik suşların belirlenmesi, tür içinde genetik modifikasyonların görülmesi ve yeni türlerin tespit edilmesi biyokimyasal testlere dayanılarak yapılan identifikasyonların güvenilir olmadığını ortaya koymuştur (Lamy ve ark., 2010). Carnahan ve ark., (1991) *Aeromonas*'ların ayrıntılı biyokimyasal özelliklerini belirleyerek tür içi ayırmda kullanılabilecek biyokimyasal özellikleri (**Aerokey II**) bildirmiş olsalar da, Abott ve ark., (2003) yaptıkları çalışmada; birçok *Aeromonas* türünün en karakteristik özellikleri açısından bile farklılıklar gösterebileceğini rapor etmişlerdir. Tez çalışmasında; son yıllarda yapılan çalışmalara uyumlu olarak *Aeromonas*'ların aynı tür içinde dahi farklı biyokimyasal özellikler gösterebilecekleri hatta aynı türe ait referans suşlardan (ATCC) farklı biyokimyasal karaktere sahip oldukları belirlenmiştir.

Biyokimyasal özelliklere dayanılarak tür tayininin yapılamaması sonucunda 16S rRNA'ya dayalı PCR yöntemleri geliştirilmiştir. 16S rRNA'nın dizi analizi *Aeromonas* türlerinin identifikasyonu ve tür içi filogenetik ilişkilerin belirlenmesinde son yirmi yılda yaygın olarak kullanılmıştır (Martínez-Murcia ve ark., 1997; Martínez-Murcia ve ark., 2007). Bu genus içerisinde V2, V3 ve V6 gibi 16S rRNA üzerinde yer alan bazı spesifik bölgelerin incelenmesiyle ayrıntılı tür teşhislerinin yapılabildiği bildirilse de sürekli gelişen moleküler teknikler 16S rRNA PCR analizlerinin kullanımını azaltmıştır. Bunun üzerine son yıllarda protein bölgelerini kodlayan ve mutasyonların az olduğu korunmuş gen bölgelerinin (*gyrB*, *rpoD* gibi) kullanıldığı çalışmalar ön plana çıkmıştır (Saavedra ve ark., 2006; Martínez-Murcia ve ark., 2008a; Martínez-Murcia ve ark., 2008b; Yi ve ark., 2013). Hem klasik testlerle hem de 16S rRNA PCR ile tür teşhisi yapılmış *Aeromonas*'ların korunmuş gen bölgeleri ile yapılan analizler sonucunda teşhis edilen türlerden farklı türler olduğunun belirlenmesi, korunmuş gen bölgelerinin güvenilirliğini arttırmıştır.

Çalışmamızda 16S rRNA PCR ile *Aeromonas* spp. olduğu belirlenen bazı izolatların korunmuş gen bölgesi (*gyrB*)'nin dizi analizi sonucunda *Aeromonas* genusuna ait olmadığı (*Citrobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp.)

belirlenmiştir. Ayrıca *gyrB*'nin dizi analizi ile 13 farklı *Aeromonas* türü belirlenmiş olup, bunlar içerisinde en yaygın türlerin *A. sobria*, *A. salmonicida* ve *A. media* olduğu görülmüştür. Yaptığımız literatür taramasına göre *A. allosacharophila*, *A. eucrenophila*, *A. hydrophila* subsp. *hydrophila*, *A. hydrophila* subsp. *anaerogenes*, *A. dhakensis* ve *A. hydrophila* subsp. *dhakensis* türleri ülkemizde gökkuşağı alabalıklarında ilk defa tespit edilmiştir.

Soler ve ark., (2004), Aravena-Roman ve ark., (2011) *Aeromonas* türlerinin *gyrB* bölgesinin dizi analizini yaptıkları çalışmalarında; farklı *Aeromonas* türlerinin yakın ilişkili veya aynı genogruba yer alabileceklerini rapor etmişlerdir. *Aeromonas* türlerinin filogenetik analizlerinin yapıldığı ve yukarıda bildirilen araştırmalara benzer olarak; tez çalışmasında da *Aeromonas*'ların farklı türlerinin aynı genetik grup içerisinde yer aldığı belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre çalışmamızda;

A genogrubunda: *A. sobria*, *A. salmonicida*, *Aeromonas* sp.;

B genogrubunda: *A. hydrophila*, *A. hydrophila* subsp. *hydrophila*, *A. hydrophila* subsp. *dhakensis*, *A. dhakensis*, *A. media*, *Aeromonas* sp., *A. caviae*, *A. allosacharophila*, *A. veronii*;

C genogrubunda: *A. veronii* ve *Aeromonas* sp.;

D genogrubunda: *A. salmonicida*, *A. bestiarum*, *Aeromonas* sp.;

E genogrubunda: *A. eucrenophila* ve *A. bestiarum*'un yer aldığı görülmektedir.

Akuakültürde fırsatçı patojen olan hareketli *Aeromonas* etkenlerinin antimikrobiyal direnç genlerinin taşınmasında ve yayılmasında rol oynadığı bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2009). Cantas ve ark., (2013); *Aeromonas* türlerinde antimikrobiyal direncin yaygın olmasının en önemli nedenlerinden birinin de tarım ve akuakültürde antimikrobiyal bileşiklerin yaygın kullanımının olduğunu rapor etmişlerdir. Farklı bir araştırmada ise; antimikrobiyal direnç genlerinin çevre kirliliği ve su kaynakları yoluyla farklı bakteri türleri arasında yayıldığı bildirilmiştir (Lupo ve ark., 2012).

Özellikle son yıllarda akuakültürde antimikrobiyallerin yaygın kullanımına bağlı olarak oluşan sağlık sorunları AB ülkelerinde yasal düzenlemelerin yürürlüğe girmesine neden olmuş ve buna bağlı olarak birçok AB ülkesinde antimikrobiyallerin kullanımını sınırlandırılmıştır (Avrupa komisyonu No 1831/2003). AB ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de antimikrobiyal kullanımına sınırlamalar getiren

düzenlemeler yapılmıştır. Ancak küresel boyutta balıklar için ruhsatlı olmayan antimikrobiyal direnç gelişiminin görülmesi, akuakültürde ruhsatlı olmayan antimikrobiyallerin yaygın kullanıldığına dair görüşleri haklı kılmıştır (Tennstedt ve ark., 2003; Szczepanowski ve ark., 2009; Cheng ve ark., 2012; Moura ve ark., 2012). Atık su ve akuakültürden izole edilen *Aeromonas* izolatlarının ampisilin, sulfonomid, trimetoprim/sulfamethoksazol, rifampin, nalidiksik asit, kloramfenikol, florfenikol ve doksisisiklin gibi çok sayıda antimikrobiyale direnç geliştirmiş olduğu belirlenmiştir (Figueira ve ark., 2011; Deng ve ark., 2012; Usui ve ark., 2016). Bu tez çalışmasında *Aeromonas* türlerinin fenotipik ve genotipik olarak FFC, TET ve SUL antimikrobiyallerine karşı direnç geliştirdiği ve bu türlerin %24,2'sinin FFC'e, %28,1'inin TET'e ve %92,2'sinin ise SUL'e dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar literatürde *Aeromonas* spp. izolatlarında FFC, TET ve SUL antimikrobiyalleri üzerinde yukarıda bildirilen direnç çalışmalarındaki sonuçları desteklemiştir.

Atık sulardan izole edilen *Aeromonas* türlerinde özellikle kinolon, aminoglikozid, β -laktam ve tetrasiklin başta olmak üzere çok sayıda antimikrobiyale karşı direnç geni tespit edilmiştir (Zhang ve ark., 2009). Figueira ve ark., (2011) atık sulardan izole edilen *Aeromonas* türlerinin kinolon direncinden sorumlu *gyrA* ve *parC* genlerinde mutasyon olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca aynı araştırmada *A. media* ve *A. caviae* türlerinin büyük çoğunluğunun nalidiksik asite karşı direnç geliştirdiği belirtilmiştir. Miyahara ve ark., ise kinolon direncinden sorumlu *qnrS* ve *accA-cr* genlerinin de özellikle *A. media* türlerinde bulunduğunu rapor etmişlerdir (Miyahara ve ark., 2011). *A. veronii*'nin *tetA*, *A. salmonicida*'nın ise *tetE* taşıdığı tespit edilirken, *tetC* direnç geni tespit edilememiştir (Chopra ve Roberts, 2001; Szczepanowski ve ark., 2009; Kim ve ark., 2011; Han ve ark., 2012c; Igbiosa ve Okoh, 2012). Atık sularda *Aeromonas* türlerini konu alan antimikrobiyal çalışmalar incelendiğinde akuatik çevreye oranla daha az direnç geni tespit edildiği görülmektedir. Akuakültürde yapılan çalışmalarda ise çok sayıda antimikrobiyale (florokinolonlar, florfenikol, oksitetrasiklin, amoksisillin ve sulfanomidler) karşı direnç geni tespit edildiği görülmektedir (Holmström ve ark., 2003; Cabello, 2006; Primavera, 2006; Soonthornchaikul ve Garelick 2009; Petersen ve ark., 2002; Sorum, 2008; Shah ve ark., 2012).

Norveç'te Atlantik salmon yetiştiriciliği yapan bir işletmede oksitetrasiklin tedavisi sonrasında mikrobiota incelendiğinde yalnızca *Aeromonas* türlerinin canlı kalabildiği belirtilmiştir (Navarrete ve ark., 2008). İnsan, karasal hayvan, çevre ve atık sularından izole edilen *Aeromonas* türlerinde yaygın olarak kinolon, aminoglikozid, β -laktam antimikrobiyallerine karşı direnç genlerinin varlığı bildirilmişken, akuakültürden izole edilen *Aeromonas* türlerinde ise yaygın olarak tetrasiklin (*tet*) genleri rapor edilmiştir.

Kültür balığı yetiştiriciliği yapılan balık, su ve sediment örneklerinden izole edilen *Aeromonas* türlerinde bu güne kadar *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetE*, *tetH*, *tetG* ve *tetM* direnç genleri bildirilmiştir (Schmidt ve ark., 2001b; Nawaz ve ark., 2006; Akinbowale ve ark., 2007; Jacobs ve Chenia 2007; Verner-Jeffreys ve ark., 2009). Tespit edilen TET genlerinden *tetA*'nın plasmid ve transpozon ile, *tetC* ve *tetE*'nin plasmid, integron ve transpozon ile, *tetB* ve *tetD* 'nin ise yalnızca plasmid ile aktarıldığı ve TET direnç genlerinin akuakültürde yayılma potansiyelinin yüksek olduğu rapor edilmiştir (Akinbowale ve ark., 2007). Tez çalışmasında literatürde bildirilen çalışmalara benzer olarak; hareketli *Aeromonas* izolatlarının %25,2'si fenotipik olarak TET dirençli iken, %23,3'ü *tetA*, %19,4'ü *tetE*, %1,9'u *tetD*, sadece bir izolatın ise *tetC* direnç geni taşıdığı ve tespit edilen *tetA* ve *tetE* direnç genlerinin yaygın olduğu belirlenmiştir. Ndi ve Barton (2011) yaptıkları çalışmada; gökkuşağı alabalıklarından izole edilen *Aeromonas* spp. izolatlarında TET direncinin predominant olduğunu, TET direnci taşıyan izolatların iki ya da üç farklı gen taşımaya rağmen MIC değerlerinde TET duyarlı sonuçlar verebileceklerini belirtmişlerdir. Bildirilen bu sonuçlara benzer olarak tez çalışmasında da direnç geni taşıyan birçok *Aeromonas* spp. izolatın fenotipik olarak TET'e duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Tez çalışmamızda *A. sobria*'nın antimikrobiyallere karşı en yaygın direnç geliştiren tür olduğu ve bunu sırasıyla *A. media*, *A. salmonicida* ve *A. hydrophila*'nın izlediği saptanmıştır. Ayrıca 2013 ve 2014 yılı *Aeromonas* izolatlarının genellikle SUL'e karşı dirençli olduğu; 2015 yılı izolatlarının ise SUL ile birlikte FFC'e karşı yüksek düzeyde direnç geliştirdiği belirlenmiştir (bk. şekil 23).

Kültür balıklarında hastalık oluşturan *Aeromonas* türlerinde kloramfenikol (*catB*) ve FFC (*floR*) direnç genlerine yönelik çok sayıda rapor bulunurken, *A.*

salmonicida izolatlarında çoklu antimikrobiyal gen kasetinde yalnızca *floR* geni bildirilmiştir (Schmidt ve ark., 2001; McIntosh ve ark., 2008; Verner-Jeffreys ve ark., 2009; Ishida ve ark., 2010). Bu çalışmada *Aeromonas* türlerinin %24,2'sinin FFC'e karşı fenotipik dirençli olduğu ancak bu izolatlardan %56'sının *floR* direnç geni taşıdığı tespit edilmiştir.

Akuakültürde *Aeromonas* türlerinin tedavisinde sulfonamid grubu antimikrobisallerin yaygın kullanılmadığı bildirilmesine rağmen *sulI* ve *sulIII* direnç genlerinin yaygın olduğu rapor edilmiştir (McIntosh ve ark., 2008; Ndi ve Barton 2011). Schmidt ve ark., (2001) *A. hydrophila* türlerinde *sulI* direnç geninin daha yaygın olduğunu; *sulIII* direnç geninin *sulI*'e göre daha az sıklıkta bulunduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte aynı araştırmacılar *sulIII* geninin genellikle *floR*, *tetA/R* ve *strA/B* genleriyle birlikte plazmit'le taşındıklarını belirtmişlerdir. Bazı araştırmalarda da *sulI* ve *sulII* geninin yaygın olduğu ancak *sulIII* geninin nadir görüldüğü bildirilmiştir (Kim ve ark., 2011; Han ve ark., 2012; Shah ve ark., 2012; Capkin ve ark., 2015). *Aeromonas* türlerinde *sul* genleri üzerine daha önce yapılan araştırmalara benzer olarak bu çalışmada da *sulI*, *sulIII* yaygın olduğu belirlenmişken *sulIII* geni tespit edilememiştir.

Ülkemizde bu konuda yapılan farklı çalışmalarda; *A. hydrophila* izolatlarının *tetA*, *tetB*, *tetC*, *sulI* ve *sulIII* direnç genlerini taşıdığı bildirilmişken diğer *Aeromonas* türlerinde FFC, TET ve SUL direncine yönelik bir kayda rastlanılamamıştır (Boran ve ark., 2013; Capkin ve ark., 2015). Bu tez çalışmasında hareketli *Aeromonas*'larda *tetD* ve *tetE* genlerinin tespit edilmesi bu konuda ülkemizde yapılan daha önceki çalışmalardan farklılık göstermiştir. Ayrıca çalışmamızda ülkemizde ilk olarak *Aeromonas* türlerinde “*sulI-sulII*”, “*sulI-sulIII-tetA*”, “*sulI-floR*”, “*floR-tetA*” ve “*sulIII-tetE*” genleri bir arada tespit edilmiştir. Bu sonuçlar alabalık işletmelerinden izole edilen *Aeromonas* türlerinin çoklu direnç taşıma potansiyeli gösterdiğini ortaya koymuştur.

Y. ruckeri;

Yersiniozisin enfekte ya da taşıyıcı balıklar ile direkt kontak yoluyla kolayca bulaşabildiği ve enfeksiyonu atlatan balıkların 2 ay süreyle etkeni dışkı ile etrafa yayabildiği bildirilmiştir (Shaowu ve ark., 2013). *Y. ruckeri*, balıklar dışında misk

faresi (*Ondatra zibethicus*), kerkenez (*Falco* spp.), martı (*Laridae*), kaplumbağa (*Cheloniidae*) ve insanlardan da izole edilmiştir (Farmer ve ark., 1985; Willumsen 1989; Shaowu ve ark., 2013). Çalışmamızda gökkuşuğu alabalıklarının yanı sıra su örneğinden de izole edilen *Y. ruckeri* izolatu incelenmiştir. Busch ve Lingg (1975) yaptıkları prevalans çalışmasında gökkuşuğu alabalıklarının kalın bağırsağında (%25'inin) *Y. ruckeri*'nin varlığını tespit etmişlerdir. Stres durumunda ise taşıyıcı balıkların kalın bağırsaklarında bulunan etkenlerin çevreye yüksek oranda yayıldığı belirlenmiştir (Busch ve Lingg, 1975). Özellikle gökkuşuğu alabalık üretimi yüksek olan İtalya, İspanya, Şili ve Yunanistan'da olduğu gibi ülkemizde de *Y. ruckeri*'nin yılın hemen her mevsimi izole edildiği görülmektedir (Kumar ve ark., 2015; Duman ve ark., 2017).

Hasta gökkuşuğu alabalığı örneklerinden *Y. ruckeri*'nin izolasyonu TSA, BHIA, KA ve NA gibi genel besi yerlerinde hem aerobik hem de anaerobik şartlarda kolaylıkla yapılabilmektedir (Austin ve Austin, 2016). Etkenin biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesinde özellikle 22-25°C inkübe edilmesi gerektiği, 30°C'de etkenin hareket yeteneğini kaybettiği ve farklı sıcaklıklarda biyokimyasal özelliklerinde değişiklik görülebileceği belirtilmiştir (Rintamaki ve ark., 1986). Etken biyokimyasal testlerle teşhis edilebilmesine rağmen klasik testlerin sonuçlarının zaman alması nedeniyle *Y. ruckeri*'nin teşhisinde hızlı teşhis kitleri kullanılmıştır. Özellikle API 20E gibi hızlı teşhis kitleri kullanılarak etkenin kolayca teşhis edildiği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Onuk ve ark., 2011; Tinsley ve ark., 2011; Altun ve ark., 2013a; Austin ve Austin, 2016). Biyokimyasal testlerin karakterizasyon çalışmalarında; *Y. ruckeri* suşlarının API 20E hızlı teşhis kitinde jelatin, Tween hidrolizi ve VP reaksiyonu gibi bazı testlerde farklılık gösterse de izolatların büyük oranda homojen karakter gösterdikleri bildirilmiştir (Onuk ve ark., 2011; Bastardo ve ark., 2012; Altun ve ark., 2013a; Austin ve Austin, 2016). Yapılan çalışmalara benzer olarak bu çalışmada gerek biyokimyasal gerekse hızlı teşhis kitleri ile *Y. ruckeri*'nin teşhisinin yapılabildiği ve izolatların biyokimyasal özelliklerinin büyük oranda homojen bir karakter gösterdiği belirlenmiştir.

Biyokimyasal yöntemlerle ve hızlı teşhis kitleriyle kolay identifiye edilebilen *Y. ruckeri* aynı zamanda doku, kan, dışkı ve su örneklerinden de moleküler yöntemlerle (16S rRNA, YER8-YER10 PCR gibi) teşhis edilebilmektedir (Gibello ve

ark., 1999; Altınok ve ark., 2001; Chen ve ark., 2010). Gibello ve ark., (1999) YER8-YER10 primerlerini kullanarak dokuda düşük miktarlarda dahi bulunan *Y. ruckeri*'nin teşhisini yapabildiğini ve bu şekilde PCR analizi ile asemptomatik taşıyıcı balıkların belirlenebildiğini bildirmişlerdir. Tez çalışmamızda; ülkemizin 6 farklı bölgesinden izole edilmiş olan 137 *Y. ruckeri* izolatının PCR analiziyle identifikasyonu yapılmıştır. Ayrıca çalışmada kullanılan *Y. ruckeri* izolatlarını temsilen seçilen suşların DNA dizi analizi ile konfirmasyonu yapılmıştır. Son yapılan çalışmalarda *Y. ruckeri*'nin genetik karakterizasyonunda ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus) yöntemi kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (Altınok ve ark., 2001; Kumar ve ark., 2015). Huang ve ark., (2013) 5 farklı genotiplendirme yönteminin kullanılabilirliğini karşılaştırdıkları çalışmada; ERIC-PCR yönteminin *Y. ruckeri*'nin genetik farklılıklarının belirlenmesinde en yüksek ayırım gücüne sahip yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Bastardo ve ark., (2012) bazı *Y. ruckeri* genogruplarının farklı bölge ve farklı balık türlerinde yaygın karakterde olduğunu rapor etmişlerdir. Onuk ve ark., (2011) 97 *Y. ruckeri* izolatıyla yaptıkları çalışmada izolatlardan %36,1'inin benzer genetik profil gösterdiğini; Altun ve ark., (2013a) ise ülkemizden izole edilen 17 *Y. ruckeri* suşundan %29,4'ünün yaygın genogrubu oluşturduğunu bildirmişlerdir. Huang ve ark., (2013) ise 83 izolattan %92,7'sinin benzer genetik profil gösterdiğini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda 142 *Y. ruckeri* izolatının moleküler karakterizasyonu ERIC-PCR primerleri kullanılarak RAPD yöntemiyle yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada RAPD-PCR'da 18 farklı genotip tespit edilmiştir. Yapılan araştırmalara benzer olarak çalışmamızda gruplandırılan *Y. ruckeri* izolatlarının %82,3'ünün NCTC 12266 (serotip O1) ile benzer genetik profil gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan 4 izolatın Serotip O2 (NCTC 12267) ile %100 benzerlik, diğer serotiplerle (O5, O6 ve O7) ise en az %90 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ülkemizde *Y. ruckeri*'nin RAPD-PCR ile genotiplendirmesi konusunda daha önce yapılan çalışmalarda, Onuk ve ark., (2011) *Y. ruckeri* izolatlarının 6, Altun ve ark., (2013a) ise 5 farklı genotipe ayrıldığını bildirmişlerdir. Tez çalışmasında 6 farklı bölgeyi temsil eden 142 *Y. ruckeri* izolatın 18 farklı genotipe ayrıldığının belirlenmesi ülkemizde daha önce bildirilen çalışmalardan farklılık göstermiştir. Bu farklılığın; ülkemizin geniş bir coğrafik konumunun olması ve farklı coğrafik

bölgelerde alabalık işletmelerinin yaygın olarak bulunmasından kaynaklandığı düşünülmüştür (Altun ve ark. 2013).

Bu çalışmada, izolatların genetik yakınlıkları ve bölgesel dağılımları değerlendirildiğinde; *Y. ruckeri*'nin genellikle 14°C ve üzerindeki su sıcaklıklarında daha yaygın görüldüğü, genetik benzerliklerine göre ise izolatların genellikle Fethiye bölgesinden diğer bölgelere yayılım göstermiş olabileceği ve Karadeniz izolatlarının ise diğer bölge izolatlarından farklı genetik profil gösterdikleri belirlenmiştir.

Akuakültürde yüksek üretim kapasitesine sahip olan gelişmiş ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de Yersiniozis'e karşı aşılama yapılmasına rağmen Yersiniozis vakalarında yüksek oranda ölüm görüldüğü bildirilmiştir (Bastardo ve ark., 2011; Altun ve ark., 2013a). Bu durum kültür balıkçılığında, Yersiniozis başta olmak üzere çok sayıda bakteriyel hastalığın tedavisinde antimikrobiyal kullanımına neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda *Y. ruckeri* izolatlarının antimikrobiyallere karşı farklı düzeylerde duyarlılık gösterdikleri bildirilmiştir (Altun ve ark., 2013a; Türe ve ark., 2016; Huang ve ark., 2013; Orozova ve ark., 2014; Balta ve ark., 2010). Bu çalışmada *Y. ruckeri* izolatlarının SXT, FFC ve TET'e yaklaşık %80'inin duyarlı olduğu tespit edilirken, SUL'e karşı %100'ünün direnç geliştirmiş olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar *Y. ruckeri*'nin antimikrobiyal duyarlılığı konusunda daha önce yapılan araştırmalara benzerlik göstermiştir. Ayrıca çalışmamızda *Y. ruckeri* izolatlarının SXT'e (%12,6) ve FFC'e (%14,7) oranlarında direnç geliştirmiş olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar Yersiniozis'e karşı SXT ve FFC'in halen etkili bir şekilde kullanılabilmesini göstermiştir. Bulgaristan, Şili ve Almanya'da, farklı araştırmacıların gökkuşağı alabalıklarından izole edilen *Y. ruckeri* izolatlarıyla yaptıkları antimikrobiyal direnç çalışmalarında FFC ve TET'e karşı orta ve yüksek düzeyde direnç geliştirmiş olduğunu; sulfanomid-trimethoprim kombinasyonlarına ise duyarlılığın yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Miranda ve Zemelman 2002a,b; Huang ve ark., 2013; Orozova ve ark., 2014).

Y. ruckeri'nin antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi konusunda çalışmalar olmasına rağmen bu etkenin antimikrobiyal direnç genlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır (Balta ve ark., 2010; Huang ve ark., 2013; Türe ve ark., 2015). Balta ve ark., *Y. ruckeri* izolatlarında *tetA* ve *tetB* genlerini tespit ettiklerini bildirirken (Balta ve ark., 2010), son zamanlarda yapılan

çalışmalarda *suIII* geninin varlığı da belirlenmiştir (Huang ve ark., 2013; Türe ve ark., 2016). *Y. ruckeri* izolatlarında direnç genlerinin varlığı konusunda bildirilen araştırmalara benzer olarak bu tez çalışmasında da *suIII* geninin varlığı belirlenmiş ancak *tetA*, *tetB*, *tetM*, *tetS* ve *suIII* direnç genleri tespit edilememiştir. Bu farklılığın araştırmalarda incelenen izolatların farklı kokenlere sahip olmalarından kaynaklanabileceği dūřünölmektedir. Bu çalışmada *Y. ruckeri* izolatlarında belirlenen *suIII* geninin yalnızca serotip O1'e benzer profile sahip predominant genogrúpta bulunduğu; *tetC* (Y91 ve Y106) geni istisna olmak üzere *floR*, *sulI*, *tetD* ve *tetE* genlerinin ise diğer genogrúplarda yer aldığı tespit edilmiştir. Ayrıca FFC'e fenotipik olarak dirençli izolatlardan (%14,7) yalnızca birinin "*floR*" geni taşıdığı, SUL'e fenotipik olarak dirençli izolatlardan (%100) 11'inin "*sul*" direnç geni taşıdığı, TET'e fenotipik olarak dirençli izolatlardan (%13,3) ise 3'ünün "*tet*" direnç geni taşıdığı belirlenmiştir. Buna ilaveten fenotipik olarak TET'e duyarlı olduğu belirlenen *Y. ruckeri* izolatlarının %57'sinin *tetC* ve *tetE* genlerini taşıdığı saptanmıştır. Bu durum fenotipik olarak duyarlı olmasına rağmen bazı izolatların direnç geni taşıyabileceğini göstermiştir. Bu tez çalışmasında tespit edilen *floR*, *sulI*, *tetC*, *tetD* ve *tetE* genleri *Y. ruckeri* için literatürde ilk bildirimdir (Duman ve ark., 2017).

L. garvieae;

İlkbahar ve yaz aylarında gökkuşağı alabalığı işletmelerinde su sıcaklıklarının 16°C ve üzerine çıktığı dönemlerde Laktokokkozis yaygın olarak görölmektedir (Altun ve ark., 2013b). İşletmeler arasında kontrolsüz balık nakilleri, su kaynaklarının ortak kullanımı ve alet-ekipmanın yetersiz dezenfeksiyonu Laktokokkozis hastalığının yayılmasında önemli faktörlerdir. *L. garvieae*'nin gökkuşağı alabalıklarının yanı sıra birçok tatlı su ve deniz balıklarında da enfeksiyon oluşturduğu bildirilmiştir (Carson ve ark., 1993).

Gökkuşağı alabalığı işletmelerinde su sıcaklığının 16°C ve üzeri olması durumunda ortaya çıkan Laktokokkozis 'in karakteristik belirtileri balıklarda renkte kararma ve bilateral egzoftalmustur (Austin ve Austin, 2016). Gram pozitif hareketsiz bir kok olan *L. garvieae*'nin; TSA, BHIA ve KA'da kolayca üreyebilme, %5 koyun kanı ilave edilmiş agarda α -hemoliz oluşturma, oksidaz, katalaz negatif, O/F fermentatif, 45 °C üreyebilme gibi özellikler göstermesiyle laboratuvarında kolayca teşhisi yapılabilmektedir (Austin ve Austin, 2016). Ravelo ve ark., (2001); farklı ortam ve hayvanlardan izole edilen *L. garvieae* izolatlarının biyokimyasal testlerde

genellikle homojen bir özellik gösterdiğini; β -galaktosidaz ve N-asetil- β -glukosaminidaz enzimlerinin kullanımında farklılıklar görülebildiğini; Cheng ve Chen, (1998) ise yaptıkları çalışmada İspanya'dan ve Kedi balıklarından izole edilen *L. garvieae* izolatlarının hippurat hidrolizinde pozitif sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Etkenin biyokimyasal testlerde homojen sonuçlar vermesi, *L. garvieae*'nin hızlı teşhis kitleri ile de teşhis edilebilmesine olanak sağlamaktadır. API Rapid ID 32 Strept (Biomerieux, Fransa) hızlı teşhis kitleri ile *L. garvieae* 5-6 saatte %99,9 güvenilirlikte teşhis edilebilmektedir (Vela ve ark., 1999; Ravelo ve ark., 2001). Vela ve ark., (2000) alabalık, insan, sığır ve su bufalosundan *L. garvieae* izole etmiş ve bu etkenlerin sukroz, tagatoz, mannitol, siklodekstrinden asit üretme, proglutamik asit arilamidaz ve N-asetil- β -glukosaminidaz enzimlerinin üretimine göre 13 farklı biyotip gösterdiklerini bildirmişlerdir. Daha önceki çalışmalarda karbonhidrat testlerinde negatif sonuçlar bildirilmesine rağmen, Ravelo ve ark., (2001) 23 balık izolatının karbonhidrat testlerinde pozitif sonuç verebileceğini belirlemiş ve önceki çalışmalarda elde edilen farklı sonuçların hızlı teşhis kitleri ile yapılan teşhislerde uygulama sırasında bazı maniplasyon hatalarından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir (Ravelo ve ark., 2001). Altun ve ark., (2013b) çalışmalarında Türkiye'den izole edilen *L. garvieae* izolatlarının genellikle biyokimyasal testlerde homojen özellik gösterdiğini ve hızlı teşhis kitleriyle yapılan identifikasyonların da güvenilir sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında daha önce yapılan birçok araştırma sonucuna benzer olarak riboz ve sakkaroz gibi bazı karbonhidrat ve enzim üretimlerinde (hippurat, N-asetil- β -glukosaminidaz) farklılıklar görülse de *L. garvieae* izolatlarının genellikle biyokimyasal testlerde homojen özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, *L. garvieae* izolatlarının biyokimyasal test sonuçlarında bazı farklılıklar görülmesine rağmen tüm izolatlar API RAPID 32Strept hızlı teşhis kitinde %99,9 *L. garvieae* identik bulunmuştur. Tez çalışmasında da; Ravelo ve ark., (2001)'nin bildirdiği gibi API Rapid ID 32Strept hızlı teşhis kitinin oldukça başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür.

Birçok araştırmacı tarafından *L. garvieae*'nin moleküler olarak da kolaylıkla identifiye edilebildiği bildirilmiştir (Zlotkin ve ark., 1998; Dang ve ark., 2012). *L. garvieae*'nin PCR ile teşhisinde Zlotkin ve ark., (1998), Dang ve ark (2012) iki farklı gen bölgesinin güvenilir sonuçlar verdiğini, özellikle ITS gen bölgesini hedef alan

primerlerle yapılan teşhisin çok yakın genetik yapıya sahip olan diğer streptokokların ayırımında da başarılı sonuçlar verdiğini rapor etmişlerdir. Dang ve ark., (2012) yaptığı çalışmada bazı *Enterococcus* türlerinin PCR analizinde pLG primerleri kullanıldığında pozitif sonuç verdiğini ve bu primerlerin *L. garvieae* identifikasyonunda güvenilirliğinin az olduğunu belirtmiştir. Aynı çalışmada, pLG primerleri ve 16S-23S gen bölgesini karşılaştıran araştırmacılar ITS gen bölgesini amplifiye eden primerlerinin *L. garvieae* haricinde diğer Streptococcus türlerinde pozitif sonuç vermediğini göstermişlerdir. Tez çalışmamızda 137 *L. garvieae* ve 3 referans suşun identifikasyonunda hem pLG hem de ITS gen bölgesini hedef alan primerler kullanılmış olup tüm izolatlar yapılan çalışmalara benzer olarak her iki primer çiftiyle de identifiye edilmiştir.

Ülke genelinde balık hastalıklarına karşı koruma ve kontrol stratejisinin geliştirilebilmesi için farklı coğrafik bölgelerde ortaya çıkan salgınların genotipik ve serotipik ilişkilerinin belirlenmesi gerekmektedir. *L. garvieae*'nin epidemiyolojisini araştırmak amacıyla RAPD-PCR (Ravelo ve ark., 2003) ve ribotiplendirme (Eldar ve ark., 1996) gibi teknikler yaygın kullanılmıştır. Balıklarda görülen Lactococcosis enfeksiyonlarının incelendiği birçok araştırma olmasına rağmen ülkemizin 6 farklı bölgesine ait *L. garvieae* izolatlarının aynı anda incelendiği ayrıntılı çalışmalar sınırlıdır. Ferrario ve ark., (2012) *L. garvieae* izolatlarının 3 farklı RAPD-PCR primer kullanarak genotipik ilişkilerini inceledikleri araştırmalarında, BoxA1R ve (GTG)₅ primerleri ile 20 farklı genetik profil, M13 primeri ile 23 farklı profil elde ettiklerini belirtmişlerdir. Foschino ve ark., (2008) RAPD-PCR, Sau-PCR ve AFLP tekniklerini kullanarak yaptıkları genotiplendirme çalışmalarında; *L. garvieae* izolatlarının genetik ilişkilerinin belirlenmesinde kullanılan 3 tekniğin de benzer sonuç verdiğini bildirmişlerdir.

RAPD-PCR tekniğinin tekrarlanabilirliği üzerine bazı kuşkular olsa da bu çalışmada farklı zamanlarda yapılan RAPD-PCR analizlerinde benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca tez çalışmasında ülkemizin 4 farklı bölgesini temsil eden *L. garvieae* izolatlarının 5 farklı genotipe ayrıldığı belirlenmiştir. RAPD-PCR analizinin güvenilirliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan DNA dizi analizlerinde de çalışmada kullanılan *L. garvieae* izolatlarının 5 genotipe ayrıldığı görülmüştür. Ülkemizdeki *L. garvieae* izolatlarından %72,2'si benzer profil gösterirken geri kalan izolatlardan %

23,3'ü de kendi aralarında benzerlik göstermiştir. Ayrıca çalışmada kullanılan *L. garvieae* referans suşlarından ATCC 49156 ve 49157'nin kendi aralarında %82 benzerlik gösterdiği ve L31 nolu Ege izolatının ise ATCC 43921 ile %72 benzer profile sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu durumda ülkemizden izole edilen *L. garvieae* izolatlarının %70,7'sini oluşturan Ege izolatlarının A genogrubunu, %22,8'ini oluşturan Ege, İç Anadolu ve Doğu Anadolu izolatlarının ise B genogrubunu oluşturduğu tespit edilmiştir. Ege bölgesinden 2013 yılı Mart-Mayıs ayları arasında izole edilen C genogrubuna ait izolatlar (3 izolat) Mayıs-2013 tarihinden sonra herhangi bir bölgede tespit edilememiştir. Bu grupta yer alan *L. garvieae* izolatlarının üçünün de Ege bölgesindeki bir işletmeden izole edilmiş olması söz konusu dönemde bu işletmeye kültür koleksiyonumuzda yer almayan bir bölgeden enfekte balık girişi olması ile açıklanabilir. Ayrıca 2013-2015 yılları arasında izole edilen *L. garvieae* izolatlarının Ege bölgesi izolatlarıyla aynı genogrupta yer alması Altun ve ark., (2013b) belirttiği gibi etkenin Ege bölgesinden yayıldığı fikrini desteklemiştir.

Su sıcaklığının 16°C ve üzerinde olduğu alabalık işletmelerinde *L. garvieae*'nin yaygın olduğu çok sayıda araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Nawaz ve ark., 2011; Altun ve ark., 2013b; Türe ve Alp, 2016). Laktokokkozisten korunma için enjeksiyon aşular kullanılmasına rağmen dört aydan daha uzun süreli bir koruma elde edilemediği bildirilmektedir (Vendrell ve ark., 2006). Bu şartlarda alabalık üreticileri Laktokokkozisle mücadelede sıklıkla antimikrobiyal kullanımına yönelmektedir. Tez çalışmasında incelenen *L. garvieae* izolatlarında antimikrobiyal duyarlılığın farklılık gösterdiği, son yıllarda farklı ülkelerden bildirilen çalışmalarda ise antimikrobiyal direncin yaygınlaştığı belirlenmiştir (Schmidt ve ark., 2000; Huang ve ark., 2013; Onuk ve ark., 2011; Nawaz ve ark., 2011; Altun ve ark., 2013b; Chapman, 2013; Türe ve Alp, 2016).

Yapılan araştırmalarda *L. garvieae* izolatlarının enrofloksasin ve nitrofurantoin'e duyarlı, oksalinik asit ve sulfamethoksazol-trimetoprim kombinasyonuna ise dirençli olduğu bildirilmiştir (Ravelo ve ark., 2001). Laktokokkozis'in tedavisinde yaygın kullanıldığı bilinen eritromisin, kloramfenikol, oksitetrasiklin ve ampisillin antimikrobiyallerinde duyarlılığın ise farklılık gösterdiği rapor edilmiştir (Ravelo ve ark., 2001). Son zamanlarda yapılan araştırmalarda *L. garvieae*'de antimikrobiyal direnç gelişimine yönelik raporlara sıklıkla

rastlanılmaktadır (Raissy ve Ansari, 2011; Soltani ve ark., 2008; Raissy ve ark., 2015). Gerek ülkemizde gerekse farklı ülkelerde yapılan araştırmalarda *L. garvieae* izolatlarının eritromisin, ofloksasin, ampisilin, kloramfenikol'e duyarlı, penisilin ve klindamisin'e ise fenotipik olarak dirençli olduğu bildirilmiştir (Diler ve ark., 2002; Soltani ve ark., 2008; Raissy ve Ansari 2011; Altun ve ark., 2013b; Raissy ve ark., 2015).

Bu tez çalışmasında *L. garvieae* izolatlarının %1,4'inin ERM'e, % 17,8'inin FFC'e, % 10,7'inin TET'e ve % 94,4'ünün SUL'e dirençli olduğu belirlenmiştir. *L. garvieae*'nin antimikrobiyal duyarlılığının belirlenmesi üzerine son yıllarda yapılan çalışmalara paralel olarak bu çalışmada da *L. garvieae* izolatlarının ERM ve TET'e karşı yüksek oranda duyarlı oldukları görülmüştür.

Akuatik ortamda dirençli bakterilerin su ile çevreye ve nihai olarak insanlara yayılma potansiyeli karasal ekosisteme göre daha yüksektir (Carvalho ve ark., 2012). Bu durum, akuatik ortama yönelik antimikrobiyal direnç çalışmalarının önemini artırmıştır. Son yıllarda gökkuşağı alabalıklarından izole edilen *L. garvieae* izolatları ile yapılan çalışmalar incelendiğinde *tetS*, *integraz*, *ermB*, *gyrA* ve *parC* genlerinin tespit edildiği görülmüştür (Hirono ve Aoki, 2001; Maki ve ark., 2008; Morandi ve ark., 2015). Tez çalışmasında *L. garvieae* izolatlarında *ermA*, *ermB*, *tetM* ve *tetS* genleri tespit edilmiştir. Bu sonuçlar incelenen antimikrobiyaller dikkate alındığında önceki çalışmaları desteklemiştir. Ülkemizde gökkuşağı alabalıklarından izole edilen *L. garvieae* izolatlarında 2015 yılında yapılan bir araştırmada; izolatların %63,3'ünde *ereA* geni tespit edildiği, *ereB* geninin belirlenemediği ve *tetB* geninin yaygın olduğu bildirilmiştir (Türe ve ark., 2015). Aynı konuda komşumuz olan İran'da 2015 yılında yapılan bir araştırmada ise *tetA* geninin yaygın olduğu bildirilmiştir (Raissy ve ark., 2015). Tez çalışmasında yukarda bildirilen çalışmalardan farklı olarak *L. garvieae* izolatlarında *tetM* ve *tetS* genlerinin yaygın olduğu ve *tetB*, *tetE* ve *tetA* genlerinin bulunmadığı belirlenmiştir. Ayrıca diğer çalışmalardan farklı olarak fenotipik olarak TET direnci göstermeyen 4 izolatın *tetM* ve *tetS* direnç genlerinden birini taşıdığı görülmüştür. Japonya'da 2005 yılında yapılan bir çalışmada; sarı kuyruk balıklarından izole edilen ERM ve oksitetrasiklin'e dirençli olduğu tespit edilen *L. garvieae* izolatlarının *ermB* ve *tetS* genlerini taşıdığı bildirilmiştir (Kawanishi ve ark., 2005). Yapılan araştırmalardan farklı olarak; bu çalışmada *L. garvieae* izolatlarının yalnızca

4'ünün ERM'e direnç göstermiş olduğu ve bu dirençli izolatlardan yalnızca 2'sinin *ermB* geni taşıdığı belirlenmiştir. Ayrıca ERM direnç geni tespit edilen izolatların Ege bölgesine ait olduğu dikkat çekmiştir. Altun ve ark., (2013a) yaptıkları çalışmada *L. garvieae* izolatlarının büyük çoğunluğunun (%50'den fazla) FFC'e dirençli olduğunu; Maki ve ark., (2008) *L. garvieae* izolatlarının FFC'e duyarlılığının farklılık gösterdiğini ve bu izolatların *floR* geni taşımadığını, Türe ve ark., (2015) ise *L. garvieae* izolatlarının fenotipik olarak FFC'e duyarlı olmasına rağmen izolatların %48,2'sinde (ATCC 49156 dahil) *floR* geninin bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada *L. garvieae* izolatlarının %17,8'inin fenotipik olarak FFC'e dirençli olmasına rağmen *floR* geni taşımadığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, Altun ve ark., (2013b) ile Maki ve ark., (2008)'nin bildirdiği sonuçlarla benzerlik göstermiş ancak Türe ve ark., (2015)'nin çalışmalarında *floR* geni tespit etmeleri yönüyle çalışmamızdan farklılık göstermiştir. Bu farklılığın Türe ve ark.,'nin çalışmalarındaki izolatların Karadeniz bölgesinden izole edilmiş olması, çalışmamızda ise Karadeniz bölgesini temsil eden *L. garvieae* izolatının bulunmamasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Laktokokkozis'in tedavisinde SUL bileşiklerinin yaygın kullanılmadığı bilinmektedir (Raissy ve ark 2015; Türe ve ark., 2015). *L. garvieae* 'de SUL dirençliliği konusunda yapılan sınırlı sayıdaki çalışmada; Raissy ve ark., (2015) izolatların %53'ünün, Türe ve ark., (2015) ise %86,6'sının SUL bileşiklerine dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Tez çalışmasında fenotipik SUL dirençliliği konusunda elde ettiğimiz sonuçlar bu konudaki diğer araştırmalarla benzerlik göstermiştir. Laktokokkozis tedavisinde yaygın kullanılmayan SUL bileşiklerine karşı yaygın direnç gelişiminin tespit edilmiş olması SUL grubu antimikrobiyallerin akuakültürde yaygın olarak kullanıldığını ve akuatik patojenlerde de fenotipik direnç gelişimine neden olabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak;

- Hareketli *Aeromonas* septisemi etkenlerinin teşhisinde biyokimyasal testler ve 16S rRNA dizi analizinin başarılı sonuç vermediği,
- *Aeromonas* izolatlarının moleküler tekniklerle teşhisinde korunmuş gen bölgelerinin kullanılması gerektiği,
- Ülkemizde 13 farklı hareketli *Aeromonas* türünün tespit edildiği,

- Ülkemizin 6 farklı coğrafi bölgesini temsil eden *Y. ruckeri* izolatlarının 18 farklı genotipe, *L. garvieae* izolatlarının ise 5 farklı genotipe ayrıldığı,
- Çalışmada kullanılan izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının oldukça farklı olduğu ve fenotipik olarak duyarlı bulunan izolatların da direnç gen/genlerini bulundurabileceği belirlenmiştir.
- *A. allosacharophila*, *A. eucrenophila*, *A. hydrophila* subsp. *hydrophila*, *A. hydrophila* subsp. *anaerogenes*, *A. dhakensis* ve *A. hydrophila* subsp. *dhakensis* türleri ülkemizde gökkuşacağı alabalıklarında ilk defa tespit edilmiştir.
- Tespit edilen *floR*, *sulI*, *tetC*, *tetD* ve *tetE* genleri *Y. ruckeri* için literatürde ilk bildirimdir.

Bu çalışma sonuçlarına göre;

1. Ülkemizden farklı fenotipik özelliklere sahip olan 13 hareketli *Aeromonas* türü, 18 *Y. ruckeri* genotipi ve 5 *L. garvieae* genotipinin tespit edilmesi, bu etkenlerin neden olduğu hastalıklara karşı uygulanması gereken koruma-kontrol programlarında genotip farklılıklarının dikkate alınması,
2. Fenotipik ve genotipik antimikrobiyal dirençlilik açısından her bir izolatın farklı özelliklere sahip olması, bu etkenlere bağlı hastalık vakalarında mutlaka antibiyogram test sonuçları değerlendirilerek tedavi protokollerinin hazırlanması,
3. Gökkuşacağı alabalığı işletmelerinde bakteriyel etkenlerin ve antimikrobiyal direnç genlerinin karasal ekosisteme ve insanlara yayılmasının önlenmesi için işletmelerde biyogüvenlik sistemlerinin kurulması, çalıştırılması ve işletmelerden belirli periyotlarda mikrobiyolojik örneklemelerin yapılması gerekmektedir.

6. KAYNAKLAR

Abbott SL, Cheung WK, Janda JM (2003) The genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes. *Journal of clinical microbiology*, 41(6), pp.2348-2357.

Abbott SL, Seli LS, Catino JrM, et al (1998) "Misidentification of unusual *Aeromonas* species as members of the genus *Vibrio*: a continuing problem." *Journal of Clinical Microbiology* 36(4): 1103-1104.

Abdel-Latif, HM, Khalil RH, Saad TT, El-Bably RY (2014) Identification and molecular characterization of *Yersinia ruckeri* isolated from mass mortalities of cultured Nile tilapia at Kafr El-sheikh governorate. *Global Journal of Fisheries and Aquaculture Researches* 1(2), 01-17.

- Abu-Elala N, Abdelsalam M, Marouf S, Setta A (2015) Comparative analysis of virulence genes, antibiotic resistance and gyrB-based phylogeny of motile *Aeromonas* species isolates from Nile tilapia and domestic fowl. *Letters in applied microbiology* 61(5), 429-436.
- Adekambi T, Shinnick TM, Raoult D, Drancourt M, (2008) Complete rpoB gene sequencing as a suitable supplement to DNA–DNA hybridization for bacterial species and genus delineation. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58(8), pp.1807-1814.
- Aguado-Urda M, Rodriguez-Bertos A, Ana I, Blanco MM, Acosta F, Cid R, Gibello A (2014) Experimental *Lactococcus garvieae* infection in zebrafish and first evidence of its ability to invade non-phagocytic cells. *Veterinary microbiology* 171(1), 248-254.
- Akaylı T, Çanak O and Başaran B (2011) Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) görülen *Aeromonas schubertii* enfeksiyonu üzerine bir çalışma. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4(1): 99- 106
- Akinbowale OL, Peng H, Barton MD (2007) Diversity of tetracycline resistance genes in bacteria from aquaculture sources in Australia. In: *Journal of applied microbiology*. 103 (5), pp. 2016-25.
- Akova SB (2015). Aquaculture And Its Distribution In Turkey. *Population (billions)*, 6(6.5), pp.7-1.
- Aksoy S (2009) Bir gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üretim tesisinde (Elazığ) görülen motil *Aeromonas* septisemi. In: *Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu*, Rize.
- Alcaide E, Blasco MD, Esteve C (2005) Occurrence of drug-resistant bacteria in two European eel farms. *Appl Environ Microbiol* 71: 3348–3350.
- Alim SR, Kawai K, Kusuda R (1996) Comparative pathogenicity study on antigenically variant strains of *Enterococcus seriolicida*. *J Fish Dis* 19:39–46.
- Alperi A, Figueras MJ, Inza I, Martinez-Murcia AJ (2008) Analysis of 16S rRNA gene mutations in a subset of *Aeromonas* strains and their impact in species delineation. *Int. Microbiol.* 11:185–194.
- Alperi A, Martinez-Murcia AJ, Ko WC, Monera A, Saavedra MJ, Figueras MJ (2010b) *Aeromonas taiwanensis* sp. nov. and *Aeromonas sanarellii* sp. nov., clinical species from Taiwan. *Int J Syst Evol Microbiol* 60(Pt 9):2048e55.
- Alperi A, Martinez-Murcia AJ, Monera A, Saavedra MJ, Figueras MJ (2010a) *Aeromonas fluvialis* sp. nov., isolated from a Spanish river. *Int J Syst Evol Microbiol* 60(Pt 1):72e7.
- Altinok I, Capkin E, Boran H (2016) Comparison of molecular and biochemical heterogeneity of *Yersinia ruckeri* strains isolated from Turkey and the USA. *Aquaculture*, 450, 80-88.
- Altinok I, Grizzle JM, Liu Z (2001) Detection of *Yersinia ruckeri* in rainbow trout blood by use of the polymerase chain reaction. *Dis Aquat Org* 44:29–34
- Altun S, Buyukekiz A, Onuk EE, Duman M and Ciftci A (2013b) Phenotypic, genotypic characterisation and antimicrobial susceptibility determination of *Lactococcus garvieae* strains. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19 (3): 375-381. doi: 10.9775/kvfd.2012.7754
- Altun S, Diler O, Adiloglu AK (2004) Genotyping of *Lactococcus garvieae* strains from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by 16S rDNA sequencing. *Bulletin-European Association Of Fish Pathologists* 24(2), 119-125.

- Altun S, Kubilay A and Diler O (2010) *Yersinia ruckeri* suslarının fenotipik ve serolojik özelliklerinin incelenmesi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 16(1): 223-229
- Altun S, Onuk EE, Ciftci A, Duman M, Büyükekiz AG (2013a) Determination of Phenotypic, Serotypic and Genetic Diversity and Antibiotyping of *Yersinia ruckeri* Isolated from Rainbow Trout. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 19(2), pp.225-232.
- Altwegg M, Martinetti Lucchini G, Lüthy-Hottenstein J, Rohrbach M (1991) Aeromonas-associated gastroenteritis after consumption of contaminated shrimp. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 10(1), pp.44-45.
- Altwegg M, Steigerwalt AG, Altwegg-Bissig R, Luthy-Hottenstein J, Brenner DJ (1990) Biochemical identification of *Aeromonas* genospecies isolated from humans. J. Clin. Microbiol. 28:258–264.
- Amann S (2007) Untersuchung zur Klassifizierung, identifizierung und differenzierung von *Yersinia* Arten (Doctoral dissertation, uniwien).
- Angulo FJ and Griffin PM (2000) Changes in antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Emerg Infect Dis 6: 436–438
- Angulo FJ, Nargund VN, Chiller TC (2004) Evidence of an association between use of anti-microbial agents in food animals and anti-microbial resistance among bacteria isolated from humans and the human health consequences of such resistance. J Vet Med 51: 374–379.
- Aravena-Roman M, Harnett GB, Riley TV, Inglis TJ, Chang BJ (2011) *Aeromonas aquariorum* is widely distributed in clinical and environmental specimens and can be misidentified as *Aeromonas hydrophila*. Journal of clinical microbiology, 49(8), 3006-3008, 2011.
- Argenton F, De Mas S, Malocco C, Dalla Valle L, Giorgetti G, Colombo L (1996) Use of random DNA amplification to generate specific molecular probes for hybridization tests and PCR-based diagnosis of *Yersinia ruckeri*. Diseases of Aquatic Organisms, 24(2), pp.121-127.
- Arias CR, Olivares-Fuster O, Hayden K, Shoemaker CA, Grizzle JM, Klesius PH (2007) First report of *Yersinia ruckeri* biotype 2 in the U.S.A. J Aquat Anim Health 19:35–40
- Ashbolt NJ, Ball A, Dorsch M ve ark (1995) "The identification of human health significance of environmental aeromonads." Water Science Technology 31(5-6): 263-269.
- Austin B and Cross N (1998) Infection of pronephros cell cultures derived from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) with bacterial fish pathogens: a comparison with whole fish infectivity studies. Methods in cell science, 19(4), pp.317-324.
- Austin B, and Austin DA (2016) Bacterial fish pathogens. 6. th edition. Springer International Publishing, Switzerland, pp: 21-82; 161-321; 323-396; 643-721.
- Avsever ML, Onuk EE, Turk N, Tunaligil S, Eskiizmirliler S, Incoglu S and Yabanli M (2012) Pasteurellosis cases in sea bass and sea bream cultured in the Aegean region and other bacteria isolated from these cases. Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi, 34(48): 9-16.
- Awan MB, Ahmed MM, Bari A, Saad AM (2005) Biochemical characterization of the *Aeromonas* species isolated from food and environment. Pak J Physiol 1(1-2).

- Balta F, Svealli C, Kayis S, Ozgumus OB (2010) Molecular analysis of antimicrobial resistance in *Yersinia ruckeri* strains isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) grown in commercial fish farms in Turkey. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 30(6), 211-219.
- Baran I, Timur M, Aydın N, İstanbulluoğlu E and Aydintuğ MK (1980) Çifteler-Sakaryabaşı balık üretim ve araştırma istasyonunda, alabalıklarda (*Salmo gairdneri*) görülen bakteriyel hemorajik septisemi hastalığı üzerine incelemeler. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 27(1): 467-473
- Barton BA and Iwama GK (1991) Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annu Rev Fish Dis 1:3-26
- Bastardo A, Bohle H, Ravelo C, Toranzo AE, Romalde JL (2011) Serological and molecular heterogeneity among *Yersinia ruckeri* strains isolated from farmed Atlantic salmon *Salmo salar* in Chile. Dis Aquat Organ 93:207–214
- Bastardo A, Ravelo C, Romalde JL (2012) Multilocus sequence typing reveals high genetic diversity and epidemic population structure for the fish pathogen *Yersinia ruckeri*. Environ Microbiol 14:1888–1897
- Beaz-Hidalgo R, Alperi A, Figueras MJ ve ark (2009). "*Aeromonas piscicola* sp. nov., isolated from diseased fish." Systematic ve Applied Microbiology 32: 471-479.
- Beaz-Hidalgo R; Magi GE; Balboa S; Barja JL, Romalde JL (2008) Development of a PCR protocol for the detection of *Aeromonas salmonicida* in fish by amplification of the *fstA* (ferric siderophore receptor) gene. Veterinary Microbiology 128, pp. 386-394.
- Berc A, Mata E, Kozariae Z, Petrinc-kozariae Z (1999) *Yersinia ruckeri* septicemia in experimentally infected carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. Acta Veterinaria Hungarica (47): 161-172.
- Bercovier H, Ghittino C, Eldar A (1997) Immunization with bacterial antigens: infection with streptococci and related organisms. Dev Biol Stand 90:153–60.
- Birkbeck TH, Feist SW, Verner-Jeffreys DW (2011) Francisella infections in fish and shellfish. Journal of Fish Diseases 34:173–87.
- Bolton LF, Kelley LC, Lee MD, Fedorka-Cray PJ, Maurer JJ (1999) Detection of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104 based on a gene which confers cross-resistance to florfenicol and chloramphenicol. J Clin Microbiol 37: 1348–1351.
- Boran H, Terzi E, Altinok I, Capkin E and Bascinar N (2013) Bacterial diseases of cultured mediterranean Horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) in sea cages. Aquaculture, 396: 8-13.
- Boxall AB, Fogg LA, Blackwell PA, Kay P, Pemberton EJ and Croxford A (2004) Veterinary medicines in the environment. Rev Environ Contam Toxicol 180: 1–91.
- Bragg RR, Henton MM (1986) Isolation of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout in South Africa. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 6(1), pp.5-6.
- Briggs CE and Fratamico PM (1999) Molecular characterization of an antibiotic resistance gene cluster of *Salmonella* Typhimurium DT104. Antimicrob Agents Chemother 43: 846–849.
- Brooker AJ, Shinn AP, Bron JE (2007) A review of the biology of the parasitic copepod *Lernaecera branchialis* (L., 1767) (Copepoda: Pennellidae). Advances in Parasitology 65:297–341.
- Buller NB (2004) Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual. CABI Publishing, Wallingford

- Bullock GL and Snieszko SF (1975) Hagerman redmouth, a disease of salmonids caused by a member of the Enterobacteriaceae (No. 42, pp. 0-5). US Fish and Wildlife Service.
- Burrige Les et al (2010) Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects“. In: Aquaculture. Elsevier B.V. 306 (1-4), pp. 7-23.
- Busch RA (1982) Enteric redmouth disease (*Yersinia ruckeri*). in: Anderson DP, Dorson M, Dubourget P (ed.) Antigenes of Fish Pathogens. Development and Production of Vaccines and Serodiagnostics. Lyon: Symposium International de Talloires.
- Busch RA, Lingg AJ (1975) Establishment of an asymptomatic carrier state infection of enteric redmouth disease in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J Fish Res Board Can 32:2429–2432
- Cabello FC (2006) Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. Environmental microbiology, 8(7), pp.1137-1144.
- Cabello, F.C., Godfrey, H.P., Tomova, A., Ivanova, L., Dölz, H., Millanao, A. and Buschmann, A.H., 2013. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. Environmental microbiology, 15(7), pp.1917-1942.
- Candan A, Kucuker MA and Karatas S (1995) Motile aeromonad septicaemia in *Salmo salar* cultured in the Black Sea in Turkey. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 15(6): 195-196.
- Cantas L, Shah SQ, Cavaco LM, Manaia CM, Walsh F, Popowska M, Garelick H, Bürgmann H, and Sørum H (2013) A brief multi-disciplinary review on antimicrobial resistance in medicine and its linkage to the global environmental microbiota. Frontiers in Microbiology, 4. Vancouver
- Capkin, E., Terzi, E., & Altinok, I. (2015). Occurrence of antibiotic resistance genes in culturable bacteria isolated from Turkish trout farms ve their local aquatic environment. Diseases of aquatic organisms, 114(2), 127-137.
- Carnahan AM (1993) *Aeromonas* taxonomy: a sea of change. Med. Microbiol. Lett. 2:206–211.
- Carpenter CF and Chambers HF (2004) Daptomycin: another novel agent for treating infections due to drug-resistant gram-positive pathogens. Clinical infectious diseases, 38(7), pp.994-1000.
- Carnahan AM, Behram S, Joseph SW (1991) Aerokey II: a flexible key for identifying clinical *Aeromonas* species. Journal of Clinical Microbiology, 29(12), pp.2843-2849.
- Carson J, Gudkovs N, Austin B (1993) Characteristics of an Enterococcus-like bacterium from Australia and South Africa, pathogenic for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). J. Fish Dis., 6: 381-388.
- Carvalho MJ, Martínez-Murcia A, Esteves AC, Correia A, Saavedra MJ (2012) Phylogenetic diversity, antibiotic resistance and virulence traits of *Aeromonas* spp. from untreated waters for human consumption. Int J Food Microbiol 159:230–239.
- Caseltz FH (1996) How the *Aeromonas* story started in medical microbiology. Med Microbiol Lett 5:46e54.
- Chang BJ, Janda JM (2005) Chapter 59. *Aeromonas*, p. 1524–1540. In S. P. Borriello, P. R. Murray, and G. Funke (ed.), Topley & Wilson's microbiology & microbial infections, 10th ed., vol. 2. Hodder Arnold, London, United Kingdom.

Chang PH, Lin CW, Lee YC (2002) *Lactococcus garvieae* infection of cultured rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, in Taiwan and associated biophysical characteristics and histopathology. *Bull Eur Ass Fish Pathol* 22:319–27.

Chapman AL (2013) The Incidence of Antibiotic Resistance in Mesophilic *Aeromonas* Isolated from the Buffalo River and from a Non-Urban Site Upstream.

Charpentier E, Gerbaud G, Courvalin P (1993) Characterization of a new class of tetracycline-resistance gene tet (S) in *Listeria monocytogenes* BM4210. *Gene* 131(1), 27-34.

Chen J, Yu Z, Michel FC, Wittum T, Morrison M (2007) Development and application of real-time PCR assays for quantification of erm genes conferring resistance to macrolides-lincosamides-streptogramin B in livestock manure and manure management systems. *Applied and Environmental Microbiology* 73(14), 4407-4416.

Chen PE, Cook C, Stewart AC, Nagarajan N, Sommer DD, Pop M, Thomason B, Thomason MP, Lentz S, Nolan N, Sozhamannan S, Sulakvelidze A, Mateczun A, Du L, Zwick ME, Read TD (2010) Genomic characterization of the *Yersinia* genus. *Genome Biol* 11:R1

Chen SC, Liaw LL, Su HY, Ko SC, Wu CY, Chaung HC, et al (2002) *Lactococcus garvieae*, a cause of disease in grey mullet, *Mugil cephalus* L., in Taiwan. *J Fish Dis* 25:727–32.

Chen SC, Lin YD, Liaw LL, Wang PC (2001) *Lactococcus garvieae* infection in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* confirmed by polymerase chain reaction and 16S rDNA sequencing. *Dis Aquat Org* 45:45–52.

Cheng AC, Turnidge J, Collignon P, Looke D, Barton M, Gottlieb T (2012) Control of fluoroquinolone resistance through successful regulation, Australia. *Emerg Infect Dis* 18:1453–1460.

Cheng W, Chen JC (1998) Isolation and characterization of an *Enterococcus*-like bacterium causing muscle necrosis and mortality in *Macrobrachium rosenbergii* in Taiwan. *Dis Aquat Org*;34:93–101.

Chopra I, Roberts M (2001) Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*, 65(2), pp.232-260.

CLSI (2014a). Methods for Broth Dilution Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals, Approved Guideline VET04-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

CLSI (2014b) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals; Second Informational Supplement. CLSI document VET03/04-S2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Collins MD, Farrow JA, Phillips BA, Kandler O (1983) *Streptococcus garvieae* sp. nov. and *Streptococcus plantarum* sp. nov. *Journal of General Microbiology* 129, 3427–3431.

Colorni A, Ravelo C, Romalde JL, Toranzo AE, Diamant A (2003) *Lactococcus garvieae* in wild Red Sea wrasse *Coris aygula* (Labridae). *Dis Aquat Org* 56:275–8.

Colwell RR, MacDonell MT, De Ley J (1986) Proposal to recognize the family *Aeromonadaceae* fam. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 36:473–477.

Coquet L, Cosette P, Junter GA, Beucher E, Saiter JM, Jouenne T (2002) Adhesion of *Yersinia ruckeri* to fish farm materials: influence of cell and material surface properties. *Colloids Surf B: Biointerfaces* 26:373–378

- Coyne R, Hiney M, Smith P (1997) Transient presence of oxytetracycline in blue mussels (*Mytilus edulis*) following its therapeutic use at a marine Atlantic salmon farm. *Aquaculture* 149: 175–181.
- Çagirgan H and Yürekli Türk O (1991) First isolation of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout farm in Turkey. In: *The Fifth Conference of Eafop, Disease of Fish and Shellfish* pp. 24-29.
- D'Aloia MA, Bailey TA, Samour JH, Naldo J, Howlett JC (1996) Bacterial flora of captive houbara (*Chlamydotis undulata*), kori (*Ardeotis kori*) and rufous-crested (*Eupodotis ruficrista*) bustards. *Avian Pathology*, 25(3), pp.459-468.
- Dang HT, Park HK, Myung SC, Kim W (2012) Development of a novel PCR assay based on the 16S–23S rRNA internal transcribed spacer region for the detection of *Lactococcus garvieae*. *Journal of fish diseases* 35(7), pp.481-487.
- Danley ML, Goodwin AE, Killian HS (1999) Epizootics in farm-raised channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), caused by the enteric redmouth bacterium *Yersinia ruckeri*. *Journal of Fish Diseases*, (22): 451- 456.
- Dauphin LA, Stephens KW, Eufinger SC, Bowen MD (2010) Comparison of five commercial DNA extraction kits for the recovery of *Yersinia pestis* DNA from bacterial suspensions and spiked environmental samples. *Journal of applied microbiology*, 108(1), 163-172.
- Davies RL (1990) O-serotyping of *Yersinia ruckeri* with special emphasis on European isolates. *Veterinary Microbiology* 22, 299–307.
- Dear G (1988) *Yersinia ruckeri* isolated from Atlantic salmon in Scotland. *Bull. Euro. Ass. Fish Pathol.* 8, 18–20.
- Diler O, Altun S, Adiloglu A, Kubik A and Isikli BT (2002) First occurrence of streptococcosis affecting farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 22 (1): 21
- Domenech A, Prieta J, Fernandez-Garayzaabal J, Collins MD, Jones D, Dominguez L (1993) Phenotypic and phylogenetic evidence for a close relationship between *Lactococcus garvieae* and *Enterococcus seriolicida*. *Microbiologia (SEM)* 9:63–68.
- Duman M, Altun S, Cengiz M, Saticioglu IB, Buyukekiz AG, Sahinturk P (2017). Genotyping and antimicrobial resistance genes of *Yersinia ruckeri* isolates from rainbow trout farms. *Disease of Aquatic Organism*. DOI: <https://doi.org/10.3354/dao03132>.
- Duman M, Saticioglu IB, Buyukekiz AG, Balta F, Altun S (2017). Molecular Characterization and Antimicrobial Resistance Profile of Atypical *Citrobacter gillenii* and *Citrobacter* sp. isolated from diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. In press.
- Durmaz Y ve Türk N (2009) Alabalık işletmelerinden motil aeromonasların izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15 (3): 357-361
- Edberg SC, Browne FA ve Allen M (2007) "Issues for microbial regulation: *Aeromonas* as a model." *Critical Reviews in Microbiology* 33: 89-100.
- Eldar A, Bejerano Y, Livoff A, Horovitz A, Bercovier H (1995) Experimental streptococcal meningoencephalitis in cultured fish. *Vet Microbiol* 43:33–40.
- Eldar AC, Ghittino C, Asanta L, Bvozzetz E, Gorla M (1996) *Enterococcus seriolicida* is a junior synonym of *Lactococcus garvieae*, a causative agent of septicemia and meningoencephalitis in fish. *Curr Microbiol* 32:85–88

Elliot JA, Collins MD, Pigott NE, Facklam RR (1991) Differentiation of *Lactococcus lactis* and *Lactococcus garvieae* from humans by comparison of whole-cell protein patterns. *J Clin Microbiol* 20:2731–4.

Evangelista-Barreto NS, Carvalho FCTD, Vieira RHS, dos Reis CMF, Macrae A, Rodrigues DDP (2010). Characterization of *Aeromonas* species isolated from an estuarine environment. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(2), 452-460.

Evans JJ, Pasnik DJ, Klesius PH, Al-Ablani S (2006) First report of *Streptococcus agalactiae* and *Lactococcus garvieae* from a wild bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Journal of wildlife diseases*, 42(3), 561-569.

Evenhuis JP, LaPatra SE, Verner-Jeffreys DW, Dalsgaard I, Welch TJ (2009) Identification of flagellar motility genes in *Yersinia ruckeri* by transposon mutagenesis. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 6630–6633.

Ewing WH, Hugh R, Johnson JG (1961) Studies on the *Aeromonas* group. U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA.

Ewing WH, Ross AJ, Brenner DJ, Fanning GR (1978) *Yersinia ruckeri* sp. nov., the red mouth (RM) bacterium. *International Journal of Systemic Bacteriology*, (28): 37-44.

Eyngor M, Zlotkin A, Ghittino C, Prearo M, Douet DG, Chilmonczyk S, et al (2004) Clonality and diversity of the fish pathogen *Lactococcus garvieae* in Mediterranean countries. *Appl Environ Microbiol* 70:5132–7.

Fadaeifard F, Momtaz H, Rahimi E, Mirzakhani A (2014) Detection of *Streptococcus iniae* and *Lactococcus garvieae* by multiplex polymerase chain reaction (PCR) in some rainbow trout farms of Iran. *African Journal of Biotechnology* 11(2), 260-263

Faisal M, Popp W, Refai M (1989) *Aeromonas hydrophila*-related septicemia in the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 102:87–93.

Fang HM, Ge R, Sin YM (2004) Cloning, characterisation and expression of *Aeromonas hydrophila* major adhesin. *Fish and Shellfish Immunology* 16:645–58.

Fao (2014) The state of the world fisheries and aquaculture 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Fisheries and Aquaculture Department, Rome. 223p

Fao F (2012). Yearbook 2010: Fishery and Aquaculture Statistics. Food and Agriculture Organisation of the United Nations Rome, 78.

Fao. (2015) Food and Agricultural Organisation. Statistics. <http://www.fao.org>

Farmer JJ 3rd, Davis BR, Hickman-Brenner FW, McWhorter A, Huntley-Carter GP, Asbury MA, Riddle C, Wathen-Grady HG, Elias C, Fanning GR (1985) Biochemical identification of new species and biogroups of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 21:46–76

Fefer JJ, Ratzan KR, Sharp SE, Saiz E (1998) *Lactococcus garvieae* endocarditis: report of a case and review of the literature. *Diagn Microbiol Infect Dis* 32:127–30.

Fernandez E, Alegria A, Delgado S, Mayo B (2010) Phenotypic, genetic and technological characterization of *Lactococcus garvieae* strains isolated from a raw milk cheese. *Int Dairy J* 20: 142–148.

Ferrario C (2012) *Lactococcus garvieae* and *Morganella morganii*: two bacterial models to study quality and safety of fish products. Scientific field AGR/16. PhD programme in Food Science. Technology and Biotechnology, Università degli studi di Milano.

- Ferrario C, Ricci G, Borgo F, Rollando A, Fortina MG (2012) Genetic investigation within *Lactococcus garvieae* revealed two genomic lineages. FEMS microbiology letters 332(2), 153-161.
- Figueira V, Vaz-Moreira I, Silva M, and Manaia CM (2011) Diversity and antibiotic resistance of *Aeromonas* spp. in drinking and waste water treatment plants. Water research, 45(17), pp.5599-5611.
- Figueras MJ (2005) Clinical relevance of *Aeromonas*. Reviews in Medical Microbiology 16, pp. 145-153.
- Figueras MJ, Beaz-Hidalgo R, Collado L, Martínez-Murcia AJ (2011a). Recommendations for a new bacterial species description based on analysis of the unrelated genera *Aeromonas* and *Arcobacter*. Bull Bergey's Int Soc Microb Syst 2, 1–16.
- Figueras MJ; Beaz-Hidalgo R; Collado L, Martínez-Murcia AJ (2011b) Point of view on the recommendations for new bacterial species description ve their impact on the genus *Aeromonas* and *Arcobacter*. The Bulletin of Bergey's International Society for Microbial Systematics 2, part 1, pp. 1-16.
- Fihman V, Raskine L, Barron Z, Kiffel C, Riahi J, Bercot B, et al (2006) *Lactococcus garvieae* endocarditis: identification by 16S rRNA and *sodA* sequence analysis. J Infect 52:e3–6.
- Foschino R, Nucera D, Volponi G, Picozzi C, Ortoffi M, Bottero MT (2008) Comparison of *Lactococcus garvieae* strains isolated in northern Italy from dairy products and fishes through molecular typing. Journal of applied microbiology 105(3), pp.652-662.
- Foschino R, Picozzi C, Borghi M, Cerliani MC, Cresci E (2006) Investigation on the microflora of Caprino Lombardo cheese from raw goat milk. Ital J Food Sci 18: 33–49.
- Frans I, Michiels CW, Bossier P, Willems KA, Lievens B, Rediers H (2011) *Vibrio anguillarum* as a fish pathogen: virulence factors, diagnosis and prevention. Journal of Fish Diseases 34:643–61.
- Frech G and Schwarz S (2000) Molecular analysis of tetracycline resistance in *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovars Typhimurium, Enteritidis, Dublin, Choleraesuis, Hadar and Saintpaul: construction and application of specific gene probes. Journal of applied microbiology 89(4), 633-641.
- Freij BJ (1984) "Aeromonas: biology of the organism ve diseases in children." Pediatric Infectious Disease 3(2): 164-174.
- Frerichs GN (1993) Isolation and identification of fish bacterial pathogens. In: Bacterial Diseases of Fish (ed. by V. Inglis, R.J. Roberts & N.R. Bromage), Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 270–272.
- Frerichs GN and Collins RO (1984) Enteric redmouth disease in Scotland. Veterinary Record 115(2), pp.45-46.
- Fuhrmann H, Bohm KH, Schlotfeldt HJ (1983) An outbreak of enteric redmouth disease in West Germany. Journal of Fish Diseases 6, 309-311.
- Gao P, Mao D, Luo Y, Wang L, Xu B, Xu L (2012) Occurrence of sulfonamide and tetracycline-resistant bacteria and resistance genes in aquaculture environment. Water Research 46(7), 2355-2364.
- Ghenghesh KS, Abeid SS, Jaber MM, Ben-Taher SA (1999) Isolation and haemolytic activity of *Aeromonas* species from domestic dogs and cats. Comparative immunology, microbiology and infectious diseases, 22(3), pp.175-179.

- Ghenghesh KS, Ahmed SF, El-Khalek RA, Al-Gendy A, Klena J (2008) *Aeromonas*-associated infections in developing countries. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 2(02), pp.081-098.
- Ghittino C, Muzquiz JL (1998) La estreptococosis de la trucha arco iris en Espana. Reunion de Piscicultores. Zaragoza. *Rev Aquatic* 2.
- Ghittino P and Prearo M (1992) Report of Streptococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Italy: preliminary note. *Boll. Soc. Ital. Pathol. Ittica* 8: 4-9.
- Gibello A, Blanco MM, Moreno MA, Cutuli MT, Domenech A, Dominguez L, Fernandez-Garayzabal JF (1999) Development of a PCR assay for detection of *Yersinia ruckeri* in tissues of inoculated and naturally infected trout. *Applied and Environmental Microbiology* **65**, 346-350.
- Giorgetti G, Ceschia G, Bovo G (1985) First isolation of *Yersinia ruckeri* in farmed rainbow trout in Italy, pp 161-166 *In: Ellis, A. E (eds.). Fish and Shellfish Pathology.* Academic Press, London.
- Girlich D, Poirel L, Nordmann P (2010) PER-6, an extended-spectrum beta-lactamase from *Aeromonas allosaccharophila*. *Antimicrob Agents Chemother* 54:1619–1622. doi:10.1128/AAC.01585-09
- Girlich D, Poirel L, Nordmann P (2011) Diversity of clavulanic acidinhibited extended-spectrum β -lactamases in *Aeromonas* spp. from the Seine River, Paris, France. *Antimicrob Agents Chemother* 55: 1256–1261. doi:10.1128/AAC.00921-10
- Glenn RA, Taylor PW, Pelton EH, Gutenberger SK, Ahrens MA, Marchant LM, Hanson KC (2014) Genetic evidence of vertical transmission and cycling of *Yersinia ruckeri* in hatchery-origin fall chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. *J Fish Wildl Manage* 5:197
- Gomez C (2009) Estudio cualitativo y cuantitativo de las tetraciclinas y fenicoles importadas y autorizadas para uso y disposición en medicina y en veterinaria en Chile, en el período 2002-2005. Consideraciones sobre su impacto para la salud pública y el medio ambiente. [Qualitative and Quantitative Study of Tetracyclines and Phenicol Imported and Authorized for Veterinary and Medical Use in Chile, 2000-2007. Considerations of Its Impact on Public Health and the Environment]. Valdivia, Chile: Tesis de Grado, Escuela de Química y Farmacia, Universidad Austral de Chile. [WWW document]. URL <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2009/fcg633e/doc/fcg633e.pdf>.
- Gomez-Casado E, Estepa A, Coll JM (2011) A comparative review on European-farmed finfish RNA viruses and their vaccines. *Vaccine* 29:2657–71.
- Goni-Urriza M, Capdepuy M, Arpin C, Raymond N, Caumette P, Quentin C (2000a) Impact of an Urban Effluent on Antibiotic Resistance of Riverine *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas* spp. *Applied and environmental Microbiology*, 66(1), pp.125-132.
- Goni-Urriza M, Pineau L, Capdepuy M, Roques C, Caumette P, Quentin C (2000b) Antimicrobial resistance of mesophilic *Aeromonas* spp. isolated from two European rivers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46(2), pp.297-301.
- Goodwin CS, Harper WES, Stewart JK ve ark (1983) "Enterotoxigenic *Aeromonas hydrophila* ve diarrhea in adults " *Medical Journal of Australia* 1: 25-26.
- Gordon L, Giraud E, Ganière JP, Armand F, Bouju-Albert A, De La Cotte N, Mangion C, Le Bris H (2007) Antimicrobial resistance survey in a river receiving effluents from freshwater fish farms. *Journal of applied microbiology* 102(4), pp.1167-1176.

- Graslund S, Holmstrom K, Wahlstrom A (2003) A field survey of chemicals and biological products used in shrimp farming. *Marine Pollution Bulletin*, 46(1), pp.81-90.
- Grave K, Markestad A, Bangen M (1996) Comparison in prescribing patterns of antibacterial drugs in salmonid farming in Norway during the periods 1980–1988 and 1989–1994. *J Vet Pharmacol Therap* 19: 184–191.
- Greenspoon SA, Scarpetta MA, Drayton ML, Turek SA (1998) QIAamp Spin Columns as a Method of DNA Isolation for Forensic Casework. *Journal of forensic sciences* 43, 1024-1030.
- Guardabassi L, Dalsgaard A, Raffatellu M, Olsen JE (2000a) Increase in the prevalence of oxolinic acid resistant *Acinetobacter* spp. observed in a stream receiving the effluent from a freshwater trout farm following the treatment with oxolinic acid-medicated feed. *Aquaculture* 188: 205–218.
- Guardabassi L, Dijkshoorn L, Collard JM, Olsen JE, Dalsgaard A (2000b) Distribution and in-vitro transfer of tetracycline resistance determinants in clinical and aquatic *Acinetobacter* strains. *Journal of Medical Microbiology* 49(10), 929-936.
- Guo FC and Woo PT (2009) Selected parasitosis in cultured and wild fish. *Veterinary Parasitology* 163(3, Special Issue):207–16.
- Han JE, Kim JH, Choresca CH Jr, Shin SP, Jun JW, Chai JY, Park SC (2012) First description of ColE-type plasmid in *Aeromonas* spp. carrying quinolone resistance (*qnrS2*) gene. *Lett Appl Microbiol* 55: 290–294.
- Hanninen ML (1994) "Phenotypic characteristics of the three hybridization groups of *Aeromonas hydrophila* complex isolated from different sources." *Journal of Applied Bacteriology* 76: 455-462.
- Hänninen ML, Oivanen P, Hirvelä-Koski V (1997) *Aeromonas* species in fish, fish-eggs, shrimp and freshwater. *International Journal of Food Microbiology*, 34(1), pp.17-26.
- Hanninen ML, Salmi S. and Siitonen A (1995) "Maximum growth temperature ranges of *Aeromonas* spp. isolated from clinical ve environmental sources." *Microbial Ecology* 29: 259-267.
- Haya K, Burrige LE and Chang BD (2001) Environment impact of chemical wastes produced by the salmon aquaculture industry. *Ices J Mar Sci* 58: 492–496.
- Hektoen H, Berge JA, Hormazabal V, Yndestad M (1995) Persistence of antibacterial agents in marine sediments. *Aquaculture* 133: 175–184.
- Hidalgo RB and Figueras MJ (2012) Molecular detection and characterization of furunculosis and other *Aeromonas* fish infections. INTECH Open Access Publisher.
- Hietala J, Valtonen ET, Aaltonen T (1995) Experimental infection of brown trout, *Salmo trutta* L., using a Finnish *Yersinia ruckeri* isolate. *Aquaculture* 136(1), pp.11-20.
- Higgins M, Carson J, Gudkovs N (2007) "Development of an improved identification matrix for *Aeromonas salmonicida*." World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians. 13th International Symposium, Melbourne, Australia. Concurrent Session 2.2.
- Hirono I, Aoki T (2001) Characterization of structure and genes of R Plasmid from fish-pathogenic *Lactococcus garvieae*. *Proc Jpn Soc Antimicrob Anim* 23, 22–24 (in Japanese).
- Holmström K, Gräslund S, Wahlström A, Pongshompoo S, Bengtsson BE, Kautsky N (2003) Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts

and human health. *International journal of food science & technology*, 38(3), pp.255-266.

Holt GJ (1994) *Aeromonas*. In: *Bergey's Manual of determinative Bacteriology*. 9th ed. p. 190e1.

Holten Lützhøft HC, Halling-Sørensen B, Jørgensen SE (1999) Algal toxicity of antibacterial agents applied in Danish fish farming. *Arch Environ Contam Toxicol* 36: 1– 6.

Huang Y (2013) *Epidemiological Study on Yersinia ruckeri Isolates from Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss, Walbaum) in North West Germany.*, University of Veterinary Medicine Hannover Institute of Parasitology Fish Disease Research Unit., Hannover, Germany, PhD thesis

Huang Y, Runge M, Michael GB, Schwarz S, Jung A, Steinhagen D (2013) Biochemical and molecular heterogeneity among isolates of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) in North West Germany. *BMC Vet Res* 9:215

Huddleston JR, Zak JC, Jeter RM (2006) "Antimicrobial susceptibilities of *Aeromonas* spp. isolated from environmental sources." *Applied and Environmental Microbiology* 72(11): 7036-7042.

Hunter PR and Gaston MA (1988) Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *J Clin Microbiol* 26:2465–2466

Huys G, Kersters I, Vancanneyt M et al (1995) "Diversity of *Aeromonas* sp. in Flemish drinking water production plants as determined by gas-liquid chromatographic analysis of cellular fatty acid methyl esters (FAMES)." *Journal of Applied Bacteriology* 78: 445-455.

Igbiosa IH, Okoh AI (2012) Antibiotic susceptibility profile of *Aeromonas* species isolated from wastewater treatment plant. *The Scientific World Journal*, 2012.

Ishida Y, Ahmed AM, Mahfouz NB, Kimura T, El-Khodery SA, Moawad AA, Shimamoto T (2010) Molecular analysis of antimicrobial resistance in gram-negative bacteria isolated from fish farms in Egypt. *J Vet Med Sci* 72:727–734

Itami T, Kondo M, Suganuma A, Abe T, Nakagawa A, Suzuki N, et al (1996) Enhancement of resistance against *Enterococcus seriolicida* infection in yellowtail, *Seriola quinqueradiata* by oral administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum*. *J Fish Dis* 19:185–7.

Jacobs JM, Stine CB, Baya AM, Kent ML (2009) A review of mycobacteriosis in marine fish. *Journal of Fish Diseases* 32:119–30.

Jacobs L and Chenia HY (2007) Characterization of Integrons and Tetracycline Resistance Determinants in *Aeromonas* Species Isolated from South African Aquaculture Systems. *International Journal of Food Microbiology*, 114, 295–306

James PR, Hardman S, Patterson D (2000) Osteomyelitis and possible endocarditis secondary to *Lactococcus garvieae*: a first case report. *Postgrad Med J* 76:301–3.

Janda JM (2001) *Aeromonas* and *Plesiomonas*, p. 1237–1270. In M. Sussman (ed.), *Molecular medical microbiology*, Academic Press, London, England.

Janda JM and Abbott SL (1998) "Evolving concepts regarding the genus *Aeromonas*: an expanding panorama of species, disease presentations, and unanswered questions." *Clinical Infectious Diseases* 27: 332-344.

Janda JM and Abbott SL (2007) 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *J. Clin. Microbiol.* 45:2761–2764.

Janda JM and Abbott SL (2010) The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clin Microbiol Rev* 23(1):35e73.

Janda JM ve Motyl MR (1985) "Cephalothin susceptibility as a potential marker for the *Aeromonas sobria* group." *Journal of Clinical Microbiology* 22(5): 854-855.

Jennings S, Stentiford GD, Leocadio AM, Jeffery KR, Metcalfe JD, Katsiadaki I, Auchterlonie NA, Mangi SC, Pinnegar JK, Ellis T and Peeler EJ (2016) Aquatic food security: insights into challenges and solutions from an analysis of interactions between fisheries, aquaculture, food safety, human health, fish and human welfare, economy and environment. *Fish and Fisheries*.

Joseph SW and Carnahan A (1994) The isolation, identification, and systematics of the motile *Aeromonas* species. *Annual Review of Fish Diseases*, 4, pp.315-343.

Kahlmeter G, Brown DFJ, Goldstein FW, Macgowan AP, Mouton JW, Odenholt I, Stetsiouk O (2006) European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) technical notes on antimicrobial susceptibility testing. *Clinical Microbiology and Infection* 12(6), 501-503.

Kang S, Shin G, Shin Y, Palaksha KJ, Kim Y, Yang H, et al (2004) Experimental evaluation of pathogenicity of *Lactococcus garvieae* in black rockfish (*Sebastes schlegeli*). *J Vet Sci* 5(4):387–90.

Karataş S (1996) *Salmo salar* larda bağırsak florasından *Aeromonas* cinsi bakterilerin izolasyonu MSc Thesis İstanbul: İstanbul University

Karem KL, Foster JW, Bej AK (1994) "Adaptive acid tolerance response (ATR) in *Aeromonas hydrophila*." *Microbiology* 140: 1731-1736.

Katao H (1982) Erythromycin: the application to streptococcal infections in yellowtails. *Fish Pathol* 17:77–82.

Kawanishi A, Kojima A, Ishihara K, Esaki H, Kijima M, Takahashi T, et al (2005) Drug resistance and pulsed-field gel electrophoresis patterns of *Lactococcus garvieae* isolates from cultured *Seriola* (yellowtail, amberjack and kingfish) in Japan. *Lett Appl Microbiol* 40:322–8.

Kawanishi M, Yoshida T, Kijima M, Yagyu K, Nakai T, Okada S, Endo A, Murakami M, Suzuki S, Morita H (2007) Characterization of *Lactococcus garvieae* isolated from radish and broccoli sprout that exhibited a KG phenotype, lack of virulence and absence of a capsule. *Lett Appl Microbiol* 44: 481–487.

Kerry J, Coyne R, Gilroy D, Hiney M, Smith P (1996) Spatial distribution of oxytetracycline and elevated frequencies of oxytetracycline resistance in sediments beneath a marine salmon farm following oxytetracycline therapy. *Aquaculture* 145: 31–39.

Kim EH and Aoki T (1993) Drug resistance and broad geographical distribution of identical R plasmids of *Pasteurella piscicida* isolated from cultured yellowtail in Japan. *Microbiol Immunol* 37: 103–109.

Kim JH, Hwang SY, Son JS, Han JE, Jun JW, Shin SP, Choresca C Jr, Choi YJ, Park YH, Park SC (2011) Molecular characterization of tetracycline- and quinolone-resistant *Aeromonas salmonicida* isolated in Korea. *J Vet Sci* 12:41–48

Kitao T, Aoki T, Iwata K (1979) Epidemiological study on streptococcosis of cultured yellowtail. Distribution of *Streptococcus* spp. In sea water and muds around yellowtails farms. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 45:567–72.

Klesius PH and Pridgeon JW (2011) Live attenuated bacterial vaccines in aquaculture. In: Proceedings of the 9th International Symposium on Tilapia in Aquaculture p. 18–26.

Klontz GW and Huddleston TR (1976) Control of Enteric Redmouth Disease. A Twelve Month Activity Report on Contract 10690004 DEMO-1014. Moscow, Idaho. Enteric Redmouth Disease 475.

Kluyver AJ, van Niel CB (1936) Prospects for a natural system of classification of bacteria. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene, 94, pp.369-403.

Knochel S (1989) Effect of temperature on hemolysin production in *Aeromonas* spp. isolated from warm and cold environments. International journal of food microbiology, 9(3), pp.225-235.

Korun J and Toprak HB (2010) Kültürü yapılan gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*)'nin bağırsağından izole edilen hareketli *Aeromonas* suşlarının antibiyotik hassasiyetleri üzerine NaCl'un etkisi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 16(2): 193-198

Kubilay A, Altun S, Ulukoy G and Diler O (2005) *Lactococcus garvieae* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi. Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 1(1): 39-48

Kubota H, Tsuji H, Matsuda K, Kurakawa T, Asahara T, Nomoto K (2010) Detection of human intestinal catalase-negative, Gram-positive cocci by rRNA-targeted reverse transcription-PCR. Applied and environmental microbiology, 76(16), pp.5440-5451.

Kuhn I, Albert MJ, Ansaruzzaman M ve ark (1997a) "Characterisation of *Aeromonas* spp. isolated from humans with diarrhoea, from healthy controls ve from surface water in Bangladesh." Journal of Clinical Microbiology 35(2): 369-373.

Kuhn I, Allestam G, Huys G ve ark (1997b) "Diversity, persistence ve virulence of *Aeromonas* strains isolated from drinking water distribution systems in Sweden." Applied ve Environmental Microbiology 63(7): 2708-2715.

Kumar G, Menanteau-Ledouble S, Saleh M, and El-Matbouli M (2015) *Yersinia ruckeri*, the causative agent of enteric redmouth disease in fish. Veterinary research, 46(1), p.103.

Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, Chaudhary U, Doumith M, Giske CG, Irfan S, Krishnan P (2010) Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. The Lancet infectious diseases, 10(9), pp.597-602.

Kummerer K (2003) Significance of antibiotics in the environment. J Antimicrob Chemother 52: 5–7.

Kupfer M, Kuhnert P, Korczak BM, Peduzzi R, Demarta A (2006) Genetic relationships of *Aeromonas* strains inferred from 16S rRNA, *gyrB* and *rpoB* gene sequences. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 56:2743–2751.

Kusuda K, Kawai K, Salati F, Banner CR, Fryer JL (1991) *Enterococcus seriolicida* sp. nov., a fish pathogen. Int. J. Syst. Bacteriol 41: 406-409.

L'Abée-Lund TM, Sorum H (2001) Class 1 integrons mediate antibiotic resistance in the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* worldwide. Microb Drug Resist 7: 263–272

Lamy B, Laurent F, Verdier I, Decousser JW, Lecaillon E, Marchandin H, Roger F, Tigaud S, de Montclos H, Kodjo A, colBVH Study Group (2010) Accuracy of 6

commercial systems for identifying clinical *Aeromonas* isolates. Diagnostic microbiology and infectious disease, 67(1), pp.9-14

Lee DC, Lee JI, Park CI, Park SI (2001) The study on the causal agent of streptococcosis (*Lactococcus garvieae*), isolated from cultured marine fish. J Fish Pathol 14:71–80.

Li J, Ni XD, Liu YJ, Lu CP (2011) Detection of three virulence genes *alt*, *ahp* and *aerA* in *Aeromonas hydrophila* and their relationship with actual virulence to zebrafish. Journal of applied microbiology, 110(3), pp.823-830.

Llewellyn L (1980) A bacterium with similarities to the redmouth bacterium and *Serratia liquefaciens* (Grimes and Hennerty) causing mortalities in hatchery-reared salmonids in Australia. Journal of Fish Diseases 3, 29 - 39.

Lorenz MG and Wackernagel W (1994) Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment. Microbiol Rev 58:563–602.

Lupo A, Coyne S, and Berendonk TU (2012) Origin and evolution of antibiotic resistance: the common mechanisms of emergence and spread in water bodies. Analyzing possible intersections in the resistome among human, animal and environment matrices, p.116.

Maki T, Hirono I, Kondo H, Aoki T (2008) Drug resistance mechanism of the fish-pathogenic bacterium *Lactococcus garvieae*. Journal of fish diseases, 31(6), pp.461-468.

Mansour AM, Zaki HM, Hassan NA, El-Nashar NA (2014) Phenotyping, virulence characteristics of *Aeromonas* species and the effects of essential plant oils as antimicrobial agents against pathogenic isolates from different sources. American Journal of Infectious Diseases, 10(1), p.21.

Markestad A and Grave K (1997) Reduction of antibacterial drug use in Norwegian fish farming due to vaccination. Fish Vaccinol 90: 365–369.

Martin-Carnahan A and Joseph SW (2005) Genus I. *Aeromonas*. Bergey's manual of systematic bacteriology. 2nd ed. pp. 556e78.

Martinez JL, Fajardo A, Garmendia L, Hernandez A, Linares JF, Martínez-Solano L, Sánchez MB (2009) A global view of antibiotic resistance. FEMS Microbiol Rev 33:44–65.

Martínez-Murcia A, Monera A, Alperi A, Figueras MJ, Saavedra MJ (2008a) Phylogenetic evidence suggests that strains of *Aeromonas hydrophila* subsp. *dhakensis* Martínez-Murcia AJ, Borrell N, Figueras MJ (2000) Typing of clinical and environmental *Aeromonas veronii* strains based on the 16S–23S rDNA spacers. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 28(3), pp.225-232.

Martínez-Murcia AJ, Figueras MJ, Saavedra MJ, Stackebrandt E (2007) The recently proposed species *Aeromonas sharmana* sp. nov., isolate GPTSA-6T, is not a member of the genus *Aeromonas*. Int Microbiol 10:61-64

Martínez-Murcia AJ, Saavedra MJ, Mota VR, Maier T, Stackebrandt E, Cousin S (2008b) *Aeromonas aquariorum* sp. nov., isolated from aquaria of ornamental fish. Int J Syst Evol Microbiol 58:1169-1175

Martínez-Murcia AJ, Soler L, Saavedra MJ, Chacon MR, Guarro J, Stackebrandt E, Figueras MJ (2005) Phenotypic, genotypic, and phylogenetic discrepancies to differentiate *Aeromonas salmonicida* from *Aeromonas bestiarum*. Int. Microbiol. 8:259–269.

Mateos D, Anguita J, Naharro G, et al (1993) "Influence of growth temperature on the production of extracellular virulence factors ve pathogenicity of environmental ve

human strains of *Aeromonas hydrophila*." Journal of Applied Bacteriology 74: 111-118.

McArdle JF and Dooley Martin C (1985) Isolation of *Yersinia ruckeri* type I (Hagerman strain) from goldfish *Carassius auratus* (L). Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 5, 10-11.

McIntosh D, Cunningham M, Ji B, Fekete FA, Parry EM, Clark SE, Zalinger ZB, Gilg IC, Danner GR, Johnson KA, Beattie M, Ritchie R (2008) Transferable, multiple antibiotic and mercury resistance in Atlantic Canadian isolates of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* is associated with carriage of an IncA/C plasmid similar to the *Salmonella enterica* plasmid pSN254. J Antimicrob Chemother 61:1221–1228.

Mendoza GM, Pasteris SE, Ale CE, Otero MC, Bühler MI, Nader-Macías MEF (2012) Cultivable microbiota of *Lithobates catesbeianus* and advances in the selection of lactic acid bacteria as biological control agents in raniculture. Research in veterinary science, 93(3), pp.1160-1167.

Michel C, Pelletier C, Boussaha M, Douet DG, Lautraite A, Tailliez P (2007) Diversity of lactic acid bacteria associated with fish and the fish farm environment, established by amplified rRNA gene restriction analysis. Applied and environmental microbiology 73(9), pp.2947-2955.

Millanao AB, Barrientos HM, Gomez CC, Tomova A, Buschmann A, Dölz H, Cabello FC (2011) Uso inadecuado y excesivo de antibióticos: salud pública y salmonicultura en Chile. [Injudicious and excessive use of antibiotics: public health and salmon aquaculture in Chile]. Rev Med Chil 139: 107–118.

Miller RA and Reimschuessel R (2006) Epidemiologic cutoff values for antimicrobial agents against *Aeromonas salmonicida* isolates determined by frequency distributions of minimal inhibitory concentration and diameter of zone of inhibition data. American journal of veterinary research 67(11), 1837-1843.

Minana-Galbis D, Farfan M, Gaspar Loren J, Carmen Fuste M (2010) Proposal to assign *Aeromonas diversa* sp. nov. as a novel species designation for *Aeromonas* group 501. Syst Appl Microbiol 33(1):15e9.

Minana-Galbis D, Farfan M, Loren JG, Fuste MC, (2002) Biochemical identification and numerical taxonomy of *Aeromonas* spp. isolated from environmental and clinical samples in Spain. J. Appl. Microbiol. 93:420–430.

Miranda CD and Zemelman R (2002a) Bacterial resistance to oxytetracycline in Chilean salmon farming. Aquaculture 212: 31–47.

Miranda CD, Zemelman R (2002b) Antimicrobial multiresistance in bacteria isolated from freshwater Chilean salmon farms. Sci Total Environ 293: 207–218.

Miyahara E, Nishie M, Takumi S et al. (2011) Environmental mutagens may be implicated in the emergence of drug-resistant microorganisms. FEMS Microbiol Lett 317(2):109–116

Mofredj A, Baraka D, Cadranel JF, LeMaitre P, Kloeti G, Dumont JL (2000) *Lactococcus garvieae* septicemia with liver abscess in an immunosuppressed patient. Am J Med 109:513–4.

Morandi A, Zhaxybayeva O, Gogarten JP, Graf J (2005) Evolutionary and diagnostic implications of intragenomic heterogeneity in the 16S rRNA gene in *Aeromonas* strains. J. Bacteriol. 187:6561–6564.

- Morandi S, Silveti T, Miranda Lopez JM and Brasca M (2015) Antimicrobial activity, antibiotic resistance and the safety of lactic acid bacteria in raw milk valtellina casera cheese. *Journal of Food Safety*, 35(2), pp.193-205.
- Moura A, Oliveira C, Henriques I, Smalla K, Correia A (2012) Broad diversity of conjugative plasmids in integron-carrying bacteria from wastewater environments. *FEMS Microbiol Lett* 330:157–164.
- Munday BL (1994) Fish. In: Coopert SB, editor. *Antimicrobial Prescribing Guidelines for Veterinarians: a Post Graduate Foundation Publication*. University of Sydney, Australia, In association with the National Health and Medical Research Council p. 305–25.
- Muz A, Sarıeyüpoğlu M, Ertuş HB and Simsek A (1995) Keban baraj gölünden yakalanan bazı balıkların serobik ve mikroaerofilik bakteriler yönünden incelenmesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 9 (2): 212-219
- Nash JHE, Findlay WA, Luebbert CC ve ark (2006) "Comparative genomics profiling of clinical isolates of *Aeromonas salmonicida* using DNA microarrays." *BioMed Central Genomics* 7(43): 1-15.
- Navarrete P, Mardones P, Opazo R, Espejo R, Romero J (2008) Oxytetracycline treatment reduces bacterial diversity of intestinal microbiota of Atlantic salmon. *Journal of Aquatic Animal Health*, 20(3), pp.177-183.
- Navas E, Bohle H, Henríquez P, Grothusen H, Bustamante F, Bustos P, Mancilla M (2014) Draft genome sequence of the fish pathogen *Yersinia ruckeri* strain 37551, serotype O1b, isolated from diseased, vaccinated Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Chile. *Genome Announc* 2:e00858–14
- Nawaz M, Sung K, Khan SA, Khan AA, Steele R (2006) Biochemical and molecular characterization of tetracycline-resistant *Aeromonas veronii* isolates from catfish. *Applied and environmental Microbiology*, 72(10), 6461-6466.
- Nawaz M, Wang J, Zhou A, Ma C, Wu X, Moore JE, Xu J (2011) Characterization and transfer of antibiotic resistance in lactic acid bacteria from fermented food products. *Current microbiology* 62(3), 1081-1089.
- Naylor R and Burke M (2005) Aquaculture and ocean resources: raising tigers of the sea. *Annual Review of Environment and Resources* 30:185–218.
- Naylor RL, Goldberg RJ, Primavera JH, Kautsky N, Beveridge MCM, Clay J, et al (2000) Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405: 1017– 1024.
- Ndi OL and Barton MD (2011) Incidence of class 1 integron and other antibiotic resistance determinants in *Aeromonas* spp. from rainbow trout farms in Australia. *Journal of fish diseases*, 34(8), pp.589-599.
- Ng LK, Martin I, Alfa M, Mulvey M (2001) Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes. *Molecular and cellular probes* 15(4), 209-215.
- Nhung PH, Hata H, Ohkusu K, Noda M, Shah MM, Goto K, Ezaki T (2007) Use of the novel phylogenetic marker *dnaJ* and DNA-DNA hybridization to clarify interrelationships within the genus *Aeromonas*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57:1232–1237.
- Nielsen ME, Høi L, Schmidt AS, Qian D, Shimada T, Shen JY, et al (2001) Is *Aeromonas hydrophila* the dominant motile *Aeromonas* species that causes disease outbreaks in aquaculture production in the Zhejiang Province of China? *Diseases of Aquatic Organisms* 46:23–9.
- Noga EJ (2010) *Fish Diseases* (2nd edition) Wiley-Blackwell, ISBN 978-0-8138-0697-6, Singapore.

- O'Leary PJ (1977) Enteric redmouth bacterium of salmonids: a biochemical and serological comparison of selected isolates. MSc Thesis, Oregon State University, Corvallis, OR.
- O'Hara C (2006) "Evaluation of the Phoenix 100 ID/AST system and NID panel for identification of Enterobacteriaceae, Vibrionaceae, and commonly isolated nonenteric Gram-negative bacilli." *Journal of Clinical Microbiology* 44(3): 928-933.
- Oidtmann B and Stentiford GD (2011) White spot syndrome virus (WSSV) concentrations in crustacean tissues – a review of data relevant to assess the risk associated with commodity trade. *Transboundary and Emerging Diseases* 58:469–82.
- Onuk EE, Ciftci A, Findik A, Ciftci G, Altun S, Balta F, Ozer S, Coban AY (2011) Phenotypic and molecular characterization of *Yersinia ruckeri* isolates from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) in Turkey. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 124: 320–328.
- Ormen Ø and Oestensvik Ø (2001) "The occurrence of aerolysin-positive *Aeromonas* spp. ve their cytotoxicity in Norwegian water sources." *Journal of Applied Microbiology* 90: 797-802.
- Orozova P, Barker M, Austin DA, Austin B (2009). Identification and pathogenicity to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), of some aeromonads. *J. Fish Dis* 32: 865-871.
- Orozova P, Sirakov I, Chikova V, Popova R, Al-Harbi AH, Crumlish M, Austin B (2014) Recovery of *Hafnia alvei* from diseased brown trout, *Salmo trutta* L., and healthy noble crayfish, *Astacus astacus* (L.), in Bulgaria. *J Fish Dis.*, 37:891-898.
- Ozer S, Bulduklu PS and Dönmez E (2008) Mersin ilinde yetiştiriciliği yapılan gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) streptokokkozis varlığı. *Journal of Fisheries Sciences* 2(3): 272-283.
- Ozturk D, Adanır R and Turutoğlu H (2007) Bir sazan (*Cyprinus carpio*) işletmesinde *Aeromonas hydrophila* izolasyonu ve antibiyotik duyarlılığı. *Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu*, at Mugla
- Pablos M, Huys G, Cnockaert M ve ark (2011) "Identification ve epidemiological relationships of *Aeromonas* isolates from patients with diarrhoea, drinking water ve foods." *International Journal of Food Microbiology* 147: 203-210.
- Palacios MA, Zamora MJ, Velazquez J, Zamora E, Duran A (1993) Streptococcus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Spain. *Boll Sci Ital Pathol* 13:11–14
- Park TS, Oh SH, Lee EY, et al (2003) "Misidentification of *Aeromonas veronii* biovar *sobria* as *Vibrio alginolyticus* by the Vitek system." *Letters in Applied Microbiology* 37: 349-353.
- Pathiratne A, Widanapathirana GS, Chandrakanthi WHS (1994) Association of *Aeromonas hydrophila* with epizootic ulcerative syndrome (EUS) of freshwater fish in Sri Lanka. *Journal of Applied Ichthyology* 10:204–8.
- Pereira F, Ravelo C, Toranzo AE, Romalde JL (2004) *Lactococcus garvieae*, an emerging pathogen for the Portuguese trout culture. *Bull Eur Ass Fish Pathol* 24:274–9.
- Petersen A, Andersen JS, Kaewmak T, Somsiri T, Dalsgaard A (2002) Impact of integrated fish farming on antimicrobial resistance in a pond environment. *Appl Environ Microbiol* 68: 6036–6042.
- Petrie J, Bruno DW, Hastings TS (1996) Isolation of *Yersinia ruckeri* from wild, Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Scotland. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathologists*, 16(3):83.

Piotrowska M, Popowska M (2014) The prevalence of antibiotic resistance genes among *Aeromonas* species in aquatic environments. *Annals of microbiology*, 64(3), pp.921-934.

Poobalane S, Thompson KD, Ardo L, Verjan N, Han HJ, Jeney G, et al (2010) Production and efficacy of an *Aeromonas hydrophila* recombinant S-layer protein vaccine for fish. *Vaccine* 28:3540–7.

Popoff M (1984) *Aeromonas*, p. 545-548. In N. R. Krieg and J. G. Holt (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol. 1. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.

Popoff MY, Coynault C, Kiredjian M, Lemelin M (1981) Polynucleotide sequence relatedness among motile *Aeromonas* species. *Curr. Microbiol.* 5:109–114.

Pridgeon JW and Klesius PH (2011a) Molecular identification and virulence of three *Aeromonas hydrophila* isolates cultured from infected channel catfish during a disease outbreak in West Alabama in 2009. *Diseases of Aquatic Organisms* 94:249–53.

Pridgeon JW, Klesius PH, Mu X ve ark (2011b) "Identification of unique DNA sequences present in highly virulent 2009 Alabama isolates of *Aeromonas hydrophila*." *Veterinary Microbiology* 152: 117-125.

Prieta J, Domenech AM, Fernandez-Garaizabal JF, Collins MD, Rodrigues UM, Jones D, et al (1993) Lactococcosis de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). *Med Vet* 10:367–73.

Primavera J (2006) Overcoming the impacts of aquaculture on the coastal zone. *Ocean & Coastal Management*, 49(9), pp.531-545.

Rahman M, Huys G, Rahman M ve ark (2007) "Persistence, transmission, ve virulence characteristics of *Aeromonas* strains in a duckweed aquaculture-based hospital sewage water recycling plant in Bangladesh." *Applied ve Environmental Microbiology* 73(5): 1444-1451.

Raissy M and Moumeni M (2016) Detection of antibiotic resistance genes in some *Lactococcus garvieae* strains isolated from infected rainbow trout. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 15(1), 221-229.

Raissy M and Shahrani M (2015) Detection of Tetracycline Resistance Genes in *Lactococcus garvieae* Strains Isolated from Rainbow Trout. *World Academy of Science, Engineering ve Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food ve Biotechnological Engineering*, 9(2), 126-129.

Raissy M, Ansari M (2011) Antibiotic susceptibility of *Lactococcus garvieae* isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran fish farms. *African Journal of Biotechnology*, 10(8), pp.1473-1476.

Ramaiah N (2006) A review on fungal diseases of algae, marine fishes, shrimps and corals. *Indian Journal of Marine Sciences* 35:380–7.

Ransangan J, Manin BO, Abdullah A, Roli Z, Sharudin EF (2011) Betanodavirus infection in golden pompano, *Trachinotus blochii*, fingerlings cultured in deep-sea cage culture facility in Langkawi, Malaysia. *Aquaculture* 315:327–34.

Ravelo C, Magarinos B, Lopez-Romalde S, Toranzo AE, Romalde JL (2003) Molecular fingerprintings of fish-pathogenic *Lactococcus garvieae* strains by random amplified polymorphic DNA analysis. *J Clin Microbiol* 41:751–6.

Ravelo C, Magarinos B, Romalde JL, Toranzo AE (2001) Convencional versus miniaturizad systems for the phenotypic characterization of *Lactococcus garvieae* strains. *Bull Eur Ass Fish Pathol* 21:136–44.

Rhodes G, Huys G, Swings J, McGann P, Hiney M, Smith P, Pickup RW (2000a) Distribution of oxytetracycline resistance plasmids between aeromonads in hospital

and aquaculture environments: implication of Tn1721 in dissemination of the tetracycline resistance determinant Tet A. *Appl Environ Microbiol* 66: 3883– 3890.

Rhodes LD, Grayson TH, Alexander SM, Strom MS (2000b) Description and characterization of IS994, a putative IS3 family insertion sequence from the salmon pathogen, *Renibacterium salmoninarum*. *Gene* 244: 97– 107.

Rintamaki P, Valtonen ET, Frerichs GN (1986) Occurrence of *Yersinia ruckeri* infection in farmed whitefish, *Coregonus peled* Gmelin and *Coregonus muksun* Pallas, and Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in northern Finland. *Journal of Fish Diseases*, 9(2), pp.137-140.

Rizzotti L, La Gioia F, Dellaglio F, Torriani S (2009) Molecular diversity and transferability of the tetracycline resistance gene tet(M), carried on Tn916-1545 family transposons, in enterococci from a total food chain. *Antonie Van Leeuwenhoek* 96:43– 52.

Roberts MS (1983) A report of an epizootic in hatchery-reared rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, at an English trout farm, caused by *Yersinia ruckeri*. *Journal of Fish Diseases*, (6): 551-552.

Rodgers CJ (1992) Development of a selective-differential medium for the isolation of *Yersinia ruckeri* and its application in epidemiological studies. *J Fish Dis* 15:243– 254

Romalde JL and Toranzo AE (1991) Evaluation of the API 20E system for the routine diagnosis of the enteric redmouth disease. *Bull Eur Assoc Fish Pathol* 11(4), 147-149.

Romalde JL and Toranzo AE (2002) Molecular approaches for the study and diagnosis of salmonid streptococcosis. In: Cunningham C, editor. *Molecular diagnosis of salmonid diseases*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers p. 211– 33.

Romalde JL, Margarinos B, Barja JL, Toranzo AE (1993) Antigenic and molecular characterization of *Yersinia ruckeri*. Proposal for a new intraspecies classification. *Systematic and Applied Microbiology* 16, 411–419.

Romero J, Feijóo CG, Navarrete P 2012. *Antibiotics in aquaculture-use, abuse and alternatives*. INTECH Open Access Publisher.

Ross AJ, Rucker RR, Ewing WH (1966) Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian Journal of Microbiology* 12, 763–770.

Rossetti L and Giraffa G (2005) Rapid identification of dairy lactic acid bacteria by M13-generated, RAPD-PCR fingerprint databases. *Journal of Microbiological Methods* 63(2), 135-144.

Royo FM (1999) Estudio de la estreptococosis de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*); factores implicados en su virulencia y patogenicidad. Aplicaciones para su control. B.Sc. thesis, University of Zaragoza, Spain

Rucker R (1966) Redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Bulletin de L Office International des Epizooties* 65, 825–830.

Russo G, Iannetta M, D'Abramo A, Mascellino MT, Pantosti A, Erario L, Tebano G, Oliva A, D'Agostino C, Trinchieri V, Vullo V (2012) *Lactococcus garvieae* endocarditis in a patient with colonic diverticulosis: first case report in Italy and review of the literature. *New Microbiol* 35(4), pp.495-501.

Saavedra MJ, Figueras MJ, Martinez-Murcia AJ (2006) Updated phylogeny of the genus *Aeromonas*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56:2481–2487.

SalmonChile 2008 Producción mundial de salmon y trucha cultivado. <http://www.salmonchile.cl/files/T4-Mundial%201997-2007.pdf>.

Santos Y, Romalde JL, Bandín I, Magariños B, Núñez S, Barja JL, Toranzo AE (1993) Usefulness of the API-20E system for the identification of bacterial fish pathogens. *Aquaculture* 116, 111-120.

Sarıözkan S (2016) "Türkiye’de Balıkçılık Sektörü ve Ekonomisi." *Turkish Journal of Aquatic Sciences*. 31(1): 15-22.

Sarıözkan S, Akçay A (2014) Protein tüketimleri bakımından Türkiye ve Avrupa Birliği ülkelerinin kümeleme analizi ile karşılaştırılması, 1.Ulusal Hayvancılık Ekonomisi Kongresi, 17-20 Ekim, Antalya, Türkiye, s.179-188.

Savaş H and Türe M (2007) Bölgemizde doğal ve kültürü yapılan balıklarda görülen hastalıklar. *SUMAE Yunus Araştırma Bülteni* 7: 10-13.

Schill WB, Phelps SR, Pyle SW (1984) Multilocus electrophoretic assessment of the genetic structure and diversity of *Yersinia ruckeri*. *Appl Environ Microbiol* 48:975–979

Schmidt AS, Bruun MS, Dalsgaard I, Larsen JL (2001b) Incidence, distribution, and spread of tetracycline resistance determinants and integron-associated antibiotic resistance genes among motile aeromonads from a fish farming environment. *Appl Environ Microbiol* 67: 5675– 5682.

Schmidt AS, Bruun MS, Dalsgaard I, Pedersen K, Larsen JL (2000) Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms. *Appl Environ Microbiol* 66:4908–4915. doi:10.1128/AEM.66.11.4908-4915.2000.

Schmidt AS, Bruun MS, Larsen JL, Dalsgaard I (2001a) Characterization of class 1 integrons associated with R-plasmids in clinical *Aeromonas salmonicida* isolates from various geographical areas. *J Antimicrob Chemother* 47: 735–743.

Schubert RHW (1968). The taxonomy and nomenclature of the genus *Aeromonas* Kluver and van Niel 1936. 111. Suggestions on the definition of the genus *Aeromonas* Kluver and van Niel 1936. *Internutionul Journal of Systematic Bacteriology* 18, I -7.

Sechi LA, Deriu A, Falchi MP ve ark (2002) "Distribution of virulence genes in *Aeromonas* spp. isolated from Sardinian waters ve from patients with diarrhoea." *Journal of Applied Microbiology* 92: 221-227.

Seker E, Karahan M, Ispir U, Cetinkaya B, Saglam N and Sarieyyupoglu M (2012) Investigation of *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* walbaum 1792) farms by polymerase chain reaction (PCR) and bacteriological culture. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 18 (6): 913- 916

Seshadri RS, Joseph W, Chopra AK, Sha J, Shaw J, Graf J, Haft D, Wu M, Ren Q, Rosovitz MJ, Madupu R, Tallon L, Kim M, Jin S, Vuong H, Stine OC, Ali A, Horneman AJ, Heidelberg JF (2006) Genome sequence of *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966T: jack of all trades. *J. Bacteriol* 188:8272–8282.

Seyfried Erin E, et al (2010) Occurrence of tetracycline resistance genes in aquaculture facilities with varying use of oxytetracycline.“. In: *Microbial ecology*. 59 (4), pp. 799-807.

Shah SQA, Karatas S, Nilsen H, Steinum TM, Colquhoun DJ, Sørum H (2012) Characterization and expression of the *gyrA* gene from quinolone resistant *Yersinia ruckeri* strains isolated from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Norway. *Aquaculture* 350–353:37–41

- Shaowu L, Di W, Hongbai L, Tongyan L (2013) Isolation of *Yersinia ruckeri* strain H01 from farm-raised amur sturgeon *Acipenser schrencki* in China. *J Aquat Anim Health* 25:9–14
- Sharifiyazdi H, Akhlaghi M, Tabatabaei M. and Mostafavi Zadeh SM (2010) Isolation and Characterization of *Lactococcus garvieae* from Diseased Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Cultured in Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research* 11, 342-350.
- Simidu U, Ashino K ve Kaneko E (1971) "Bacterial flora of phyto-ve zoo-plankton in the inshore water of Japan." *Canadian Journal of Microbiology* 17: 1157-1160.
- Soler L, Marco F, Vila J, et al (2003) "Evaluation of two miniaturized systems, MicroScan W/A and BBL Crystal E/NF, for the identification of clinical isolates of *Aeromonas* spp." *Journal of Clinical Microbiology* 41: 1511-1519.
- Soler L, Yanez MA, Chacon MR, Aguilera-Arreola MG, Catalan V, Figueras MJ, Martínez-Murcia AJ (2004) Phylogenetic analysis of the genus *Aeromonas* based on two housekeeping genes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54:1511–1519.
- Soltani M, Nikbakht G, Ebrahimzadeh Moussavi HA, Ahmadzadeh N (2008) Epizootic outbreak of lactococcosis caused by *Lactococcus garvieae* in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran. *Bull. of the Europ. Ass. of Fish Patho.*, 28(5), pp.95-106.
- Soonthornchaikul N and Garelick H (2009) Antimicrobial resistance of *Campylobacter* species isolated from edible bivalve molluscs purchased from Bangkok markets, Thailand. *Foodborne pathogens and disease*, 6(8), pp.947-951.
- Sorum H (2006) Antimicrobial drug resistance in fish pathogens. In *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin*. Aarestrup, F.M. (ed.). Washington, DC, USA: American Society for Microbiology Press, pp. 213–238 (Chapter 13).
- Sorum H (2008) Antibiotic resistance associated with veterinary drug use in fish farms. In: Lie Ø (ed) *Improving Farmed Fish Quality and Safety*. WoodHead Publishing Limited, Cambridge, pp 157–182
- Sorum H and L'Abée-Lund TM (2002) Antibiotic resistance in food-related bacteria – a result of interfering with the global web of bacterial genetics. *Int J Food Microbiol* 78: 43–56.
- Sousa JA, Nunez S, Eiras JC, Toranzo AE (1994) *Yersinia ruckeri* in Portugal: characterization of the first isolates from fish and environment. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists (United Kingdom)*.
- Souza RA, Pitondo-Silva A, Falcao DP, Falcao JP (2010) Evaluation of four molecular typing methodologies as tools for determining taxonomy relations and for identifying species among *Yersinia* isolates. *J Microbiol Methods* 82, 141–150. doi:10.1016/j.mimet.2010.05.005
- Sparboe O, Koren C, Hastein T, Poppe T, Stenwig H (1986) The first isolation of *Yersinia ruckeri* from farmed Norwegian salmon. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 6, 41-42.
- Stanier RY (1943) A note on the taxonomy of *Proteus hydrophilus*. *J. Bacteriol.* 46:213–214.
- Starke IC, Vahjen W, Pieper R, Zentek J (2014) The influence of DNA extraction procedure and primer set on the bacterial community analysis by pyrosequencing of barcoded 16S rRNA gene amplicons. *Molecular biology international*.
- Stevenson RMW and Airdrie DW (1984) Serological variation among *Yersinia ruckeri* strains. *Journal of Fish Diseases* 7, 247–254.

- Suarez GJC, Sierra JSha ve ark (2008) "Molecular characterization of a functional type VI secretion system from a clinical isolate of *Aeromonas hydrophila*." *Microbial Pathogens* 44: 344-361.
- Subasinghe RP (2005) Epidemiological approach to aquatic animal health management: opportunities and challenges for developing countries to increase aquatic production through aquaculture. *Preventive Veterinary Medicine* 67:117–24.
- Subasinghe RP, Bondad-Reantaso MG, McGladdery SE (2001) Aquaculture development, health and wealth. In: Subasinghe RP, Bueno P, Phillips MJ, Hough C, McGladdery SE, Arthur JR, editors. *Aquaculture in the Third Millennium. Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium Bangkok: NACA and FAO.* p. 167–91.
- Szczepanowski R, Linke B, Krahn I, Gartemann KH, Gutzkow T, Eichler W, Puhler A, Schuler A (2009) Detection of 140 clinically relevant antibiotic- resistance genes in the plasmid metagenome of wastewater treatment plant bacteria showing reduced susceptibility to selected antibiotics. *Microbiology* 155:2306–2319
- Taylor PW and Winton JR (2002) Optimization of nested polymerase chain reaction assays for identification of *Aeromonas salmonicida*, *Yersinia ruckeri*, and *Flavobacterium psychrophilum*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 14(3), pp.216-224.
- Teixeira LM, Merquior VLC, Vianni MDCE, Carvalho MDGS, Fracalanza SE, Steigerwalt AG, Facklam RR (1996) Phenotypic and genotypic characterization of atypical *Lactococcus garvieae* strains isolated from water buffalos with subclinical mastitis and confirmation of *L. garvieae* as a senior subjective synonym of *Enterococcus seriolicida*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46(3), 664-668.
- Tel OY, Irgare G, Karahan M and Keskin O (2007) Şanlıurfa Balıklıgöl balıklarından *Aeromonas hydrophila* izolasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanması. *Etilik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 18 (1): 1-4
- Tennstedt T, Szczepanowski R, Braun S, Pühler A, Schlüter A (2003) Occurrence of integron-associated resistance gene cassettes located on antibiotic resistance plasmids isolated from a wastewater treatment plant. *FEMS Microbiol Ecol* 45:239–252
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG (1997). The clustal_x windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res* 25, 4876–4882.
- Thorsen BK, Enger Ø, Norland S, Hoff KA (1992) Long-term starvation survival of *Yersinia ruckeri* at different salinities studied by microscopical and flow cytometric methods. *Applied and environmental microbiology* 58(5), pp.1624-1628.
- Timur G (1991) A historical study of a Carp pox (viral epithelioma) disease in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 11 (5): 171
- Timur G, Akaylı T, Korun J and Yardimci RE (2010) A study on bacterial haemorrhagic septicemia in farmed young Russian sturgeon in Turkey (*Acipenser gueldenstaedtii*). *Istanbul Üniversitesi, Su Ürünleri Dergisi*, 25 (1): 19-27
- Timur G, Korun J and Güvener RP (2003) Lepistes (*Poecilia reticulata*) üretim ünitesindeki anaç ve yavru balıklarda ağır mortalite ile seyreden aeromonad sepsisemi üzerine bir çalışma. *Istanbul University Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 15: 1-11
- Timur G, Yardimci RE, Urku C and Canak O (2011) Marmara Bölgesi kültür gökkuşuğu alabalıklarında lactococcosisin bakteriyolojik ve histopatolojik metotlarla teşhisi. *Istanbul Üniversitesi, Su Ürünleri Dergisi*, 26 (1): 63-81

- Tinsley J (2010) Studies on the pathogenicity of *Yersinia ruckeri* biotype 2 to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) (Doctoral dissertation, Heriot-Watt University).
- Tinsley JW, Lyndon AR, Austin B (2011) Antigenic and cross-protection studies of biotype 1 and biotype 2 isolates of *Yersinia ruckeri* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of applied microbiology* 111(1), pp.8-16.
- Tobback E, Decostere A, Hermans K, Haesebrouck F, Chiers K (2007) *Yersinia ruckeri* infections in salmonid fish. *J Fish Dis* 30:257–268
- Trust TJ and Sparrow RAH (1974) "The bacterial flora in the alimentary tract of freshwater salmonid fishes." *Canadian Journal of Microbiology* 20: 1219-1228.
- Türe M ve Boran H (2015) Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance of *Lactococcus* sp. strains isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 59(1), pp.37-42.
- Tüik (2014) Türkiye İstatistik Yıllığı 2013 (Statistical Yearbook of Turkey), ISBN 978-975-19-6016-0
- Tüik (2015) Türkiye İstatistik Kurumu. Konularına Göre İstatistikler, Tarım. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001
- Türe M, and Alp H (2016) Identification of bacterial pathogens and determination of their antibacterial resistance profiles in some cultured fish in Turkey. *Journal of Veterinary Research*, 60(2), pp.141-146.
- Thomas CM and Nielsen KM (2005) Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nature reviews microbiology*, 3(9), pp.711-721.
- Usui M, Tagaki C, Fukuda A, Okubo T, Boonla C, Suzuki S, Seki K, Takada H, and Tamura Y (2016) Use of *Aeromonas* spp. as general indicators of antimicrobial susceptibility among bacteria in aquatic environments in Thailand. *Frontiers in microbiology*, 7.
- Valtonen ET, Rintamäki P, Koskivaara M (1992) Occurrence and pathogenicity of *Yersinia ruckeri* at fish farms in northern and central Finland. *Journal of Fish Diseases*, 15(2), pp.163-171.
- Van Boeckel, T.P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B.T., Levin, S.A., Robinson, T.P., Teillant, A. and Laxminarayan, R., 2015. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(18), pp.5649-5654.
- Van TTH, Chin J, Chapman T, Tran LT, Coloe PJ (2008) Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *International journal of food microbiology* 124(3), 217-223.
- Vega-Heredia S, Mendoza-Cano F, Sanchez-Paz A (2012) The infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus: a brief review of what we do and do not know. *Transboundary and Emerging Diseases* 59:95–105.
- Vela AI, Vázquez J, Gibello A, Blanco MM, Moreno MA, Liébana P, Albendea C, Alcalá B, Mendez A, Domínguez L, and Fernández-Garayzábal JF (2000) Phenotypic and Genetic Characterization of *Lactococcus garvieae* Isolated in Spain from Lactococcosis Outbreaks and Comparison with Isolates of Other Countries and Sources. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(10), pp.3791-3795.
- Vela I, Liebana P, Albendea C, Gibello A, Blanco M, Moreno M, Cutúli M, García JA, Doméneche A, Domínguez L, and Vázquez J (1999) September. Caracterización fenotípica y molecular de *Lactococcus garvieae*. In *Proceedings of the XIII*

- Congreso Nacional de Microbiología de la Sociedad Española de Microbiología. Granada, Spain (Vol. 47).
- Vendrell D, Balcazar JL, Ruiz-Zarzuela I, De Blas I, Girones O, Muzquiz JL (2006) *Lactococcus garvieae* in fish: a review. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 29, 177–198.
- Verner-Jeffreys DW, Welch TJ, Schwarz T, Pond MJ, Woodward MJ, Haig SJ, Rimmer GS, Roberts E, Morrison V, Baker-Austin C (2009) High prevalence of multidrug-tolerant bacteria and associated antimicrobial resistance genes isolated from ornamental fish and their carriage water. *PLoS One*. doi:10.1371/journal.pone.0008388
- Viji VT, Babu MM, Velmurugan S, Kumaran T, Anand SB, Gunasekaran P, Citarasu T (2012) Virulence Factors and Molecular cloning of Outer Membrane Protein (OMP) gene from virulent *Aeromonas hydrophila* isolated from infected gold fish *Carassius auratus*. *Bangladesh Journal of Microbiology*, 28(2), pp.70-75.
- Vladík P, Prouza A (1990) [Detection of *Yersinia ruckeri* in rainbow trout in Czechoslovakia]. *Veterinarni medicina*, 35(7), pp.437-442.
- von Graevenitz A, Mensch AH. (1968) The genus *Aeromonas* in human bacteriology: report of 30 cases and review of the literature. *N. Engl. J. Med.* 278:245–249.
- Vuillaume A, Brun R, Chene P, Sochon E, Lesel R (1987) First isolation of *Yersinia ruckeri* from sturgeon, *Acipenser baeri* Brandt, in south west of France. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 7, 18-19.
- Wahli T, Burr SE, Pugovkin D, Mueller O, Frey J (2005) *Aeromonas sobria*, a causative agent of disease in farmed perch, *Perca fluviatilis* L. *Journal of fish diseases*, 28(3), pp.141-150.
- Wang N, Yang X, Jiao S, Zhang J, Ye B, Gao S (2014) Sulfonamide-resistant bacteria and their resistance genes in soils fertilized with manures from Jiangsu Province, Southeastern China. *PloS one* 9(11), e112626.
- Wang W (2011) Bacterial diseases of crabs: a review. *Journal of Invertebrate Pathology* 106:18–26.
- Wei Q (2002) Social and economic impacts of aquatic animal health problems in aquaculture in China. *FAO Fisheries Technical Paper* 406:55–61.
- Willumsen B (1989) Birds and wild fish as potential vectors of *Yersinia ruckeri*. *Journal of Fish Diseases* 12, 275 - 277.
- Witte W (2000) Selective pressure by antibiotic use in livestock. *Int J Antimicrob Agents* 16: S19–S24.
- Xia C, Ma Z, Rahman H, Wu Z (2004) PCR Cloning and identification of the β -hemolysin gene of *Aeromonas hydrophila* from freshwater fishes in China. *Aquaculture* 229:45–53.
- Yambot AV (1998) Isolation of *Aeromonas hydrophila* from *Oreochromis niloticus* during fish disease outbreaks in the Philippines. *Asian Fisheries Science* 10:347–54.
- Yanez MA, Catalan V, Apraiz D, Figueras MJ, Martinez-Murcia AJ (2003) Phylogenetic analysis of members of the genus *Aeromonas* based on *gyrB* gene sequences. *Int J Syst Evol Microbiol* 53, 875–883.
- Yi SW, You MJ, Cho HS, Lee CS, Kwon JK, Shin GW (2013) Molecular characterization of *Aeromonas* species isolated from farmed eels (*Anguilla japonica*). *Veterinary microbiology*, 164(1), pp.195-200.

Yogananth N, Bhakayaraj R, Chanthuru A, Anbalagan T, Nila KM (2009) Detection of virulence gene in *Aeromonas hydrophila* isolated from fish samples using PCR technique. Global J Biotech Biochem, 4, pp.51-53.

Zhang XX, Zhang T, and Fang HH (2009) Antibiotic resistance genes in water environment. Applied microbiology and biotechnology, 82(3), pp.397-414.

Zhou QL, Wang YJ, Xie J, Ge XP, Xi BW, Liu B (2013) Distribution and virulence gene comparison of *Aeromonas* strains isolated from diseased fish and water environment. Polish Journal of Microbiology 62(3), 299-302.

Zlotkin A, Eldar A, Ghittino C, Bercovier H (1998) Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR. J Clin Microbiol 36:983-5.

7. SİMGELER ve KISALTMALAR

‰: Yüzde

µl: Mikro litre

µm: Mikro molar

ATCC: Amerika tip kültür koleksiyonu

ATCC: Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu

BHIA: Beyin kalp infüzyon agar

bp: Baz çifti

bp: Baz çifti

CFU: Bir ünitede sayılan koloni

DEPC: dietil polikarbonat su

dk: dakika

ERIC: Tekrar eden enterobacterial genler arası ilişki

ERM: Eritromisin

FFC: Florfenikol

HG: Hibridizasyon grubu

KA: %5 koyun kanı ilave edilmiş kanlı agar

LD: Öldürücü doz

MAS: Hareketli *Aeromonas* Septisemi

MHB: müller hinton broth

MİK: en düşük inhibitör konsantrasyon

NaCl: Sodyum klorür

NCTC: İngiltere tip kültür koleksiyonu

nm: nanometre dalga boyu

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

pmol: pikomol

RAPD-PCR: Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA polimeraz zincir reaksiyonu

RT-PCR: Reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu

sn: saniye

SUL: Sulfamethoksazol

TET: Tetrasiklin

TSA: Tryptic soy agar

UPGMA: eşit olmayan çift grup metodu ve aritmetik ortalaması

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamın her anında tecrübeleriyle yön veren, bilimsel ve akademik olarak gelişmemde önemli katkılar sağlayan danışmanım Prof. Dr. Soner ALTUN'a teşekkürlerimi sunuyorum. Tez çalışmalarına önemli bilimsel katkılar sağlayan ve karşılaştığım sorunlarda bana yol gösteren Tez izleme komitesi hocalarıma teşekkür ederim. Çalışmalarımın büyük kısmında bana yardımcı olan çalışma arkadaşlarım Ayşe Gül BÜYÜKEKİZ ve İzzet B. SATICOĞLU'na, fakültemizdeki öğrenci arkadaşlarıma ve çalışmalarımın katkısı olan tüm dostlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Doktora çalışmalarım süresince yapılan proje çalışmalarında kapılarını sonuna kadar açan, çalışmalarımızda her türlü kolaylığı sağlayan ve tecrübelerini aktaran işletmelerin yönetim ve tüm çalışanlarına şükranlarımı sunuyorum. Tez çalışmalarımın projelerle maddi olarak desteklenmesine olanak sağlayan Uludağ Üniversitesi ve Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığına çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca beni destekleyen, her anında yanımda olan, eksikliklerini ve dualarını bir an bile esirgemeyen Aileme, zorlu doktora sürecimde bana büyük sabır gösteren, gerektiğinde benimle laboratuvarında çalışan Eşime minnetimi ve şükranlarımı sunarım.

Doktora süresince ve sonrasında yaptığım tüm çalışmaların insanların yararlanabileceği, bilime katkı sağlayan ve kamu menfaatine çalışmalar ve sonuçlar olması dileğiyle.

ÖZGEÇMİŞ

1988 Ankara doğumlu Muhammed DUMAN ilk, orta ve lise eğitimini Ankara'da tamamlamış ve 2005 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazanmıştır. Bir yıl hazırlık eğitiminden sonra 2006-2011 yıllarında Veteriner Fakültesinde lisans eğitimini tamamlamıştır. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesinden 2011 yılında mezun olduktan sonra yine aynı yıl içerisinde Veteriner-Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim dalında doktora eğitimine başlamıştır. Doktora eğitimi süresince Üniversite-Sektör iş birliği projesi ile Türkiye'nin farklı bölgelerinde bulunan gökkuşuğu alabalığı işletmelerinde aylık örnekleme çalışmalarına katılmıştır. Doktora tez çalışmaları devam ederken Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından desteklenen (TAGEM) projede yardımcı araştırmacı olarak görev almış, bu kapsamda da Türkiye'nin 6 bölgesinde yer alan ve Üniversite-Sektör iş birliği projesi kapsamı dışındaki alabalık işletmelerinde iki yıl boyunca örnekleme çalışmalarına katılmıştır. Bu projeler kapsamında bakteriyolojik muayene, işletme hijeni, balık sağlığı ve antimikrobiyal duyarlılık konularında incelemelere yardımcı olmuştur.

Doktora süresince araştırma makaleleri ve ulusal/uluslararası toplantılarda bildiriler yayınlamıştır. Halen daha Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak görevine devam etmektedir.

Projelerde Yaptığı Görevler:

1. Gökkuşuğu Alabalık İşletmelerinde Sağlıklı Alabalık Yumurtası ve Yavru Balık Üretimi Üzerine Bir Araştırma, Üniversite-Sektör işbirliği projesi, Araştırmacı, , 23/09/2013 - 15/07/2016 (ULUSAL-TAMAMLANDI)
2. Ülkemizde Gökkuşuğu alabalığı İşletmelerinde Sıklıkla Karşılaşılan Motil *Aeromonas* (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*), *Yersinia ruckeri* ve *Lactococcus garvieae* etkenlerinde antimikrobiyal direnç, Sülfonamidler Tetrasiklin Florfenikol ve Eritromisin ve IPN, VHS, IHN virüslerinin varlığının incelenmesi, TAGEM/14/AR-GE/26 (Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü), Araştırmacı, , 21/07/2014 (Devam Ediyor) (ULUSAL)
3. Gökkuşuğu alabalıklarında görülen Motil *Aeromonas* (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*), *Yersinia ruckeri* ve *Lactococcus garvieae* bakterilerinin antimikrobiyal duyarlılıkları ve duyarlılıkta rol oynayan genlerin tespiti, KUAP(V)-2014/7 (Bilimsel Araştırma Projeleri-Uludağ Üniversitesi), Araştırmacı, , 24/04/2014 (Devam Ediyor) (ULUSAL)
4. Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) kuluçkahanelerinde hastalık oluşturan *Flavobacterium* türlerinin genotipik karakterizasyonu ve antimikrobiyal direnç gelişiminde rol oynayan genlerin varlığı-yaygınlığının belirlenmesi, TÜBİTAK, Proje no: 116O626, 2016- (devam ediyor)

Araştırma makaleleri

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

1. **Duman, M.,** A. G. Buyukekiz, I. B. Saticioglu, S. Altun, 2017. Molecular characterization and antimicrobial resistance profile of fecal contaminant and spoiled bacteria that emerged in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms. In progress.
2. **Duman, M.,** A. G. Buyukekiz, I. B. Saticioglu, M. Cengiz, P. Sahinturk. S. Altun, 2017. Epidemiology, Genotypic Diversity, and Antimicrobial Resistance of *Lactococcus garvieae* in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Fisheries Science*. In press.
3. **Duman, M.,** I. B. Saticioglu, A. G. Buyukekiz, F. Balta, S. Altun, 2017. Molecular Characterization and Antimicrobial Resistance Profile of Atypical *Citrobacter gillenii* and *Citrobacter* sp. isolated from diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. S2213-7165(17)30101-7. DOI: 10.1016/j.jgar.2017.05.014
4. **Duman, M.,** S. Altun, M. Cengiz, I. B. Saticioglu, A. G. Buyukekiz, P. Sahinturk. 2017. Genotyping and antimicrobial resistance genes of *Yersinia ruckeri* isolates from rainbow trout farms. *Diseases of Aquatic Organisms*, DOI <https://doi.org/10.3354/dao03132>.
5. Büyükekiz A. G., Altun S., Furuseth Hansen E., Burçin Saticioglu İ. B., **Duman M.,** Markussen T., Rimstad E., 2017. Infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) serotype Sp is prevalent in Turkish rainbow trout farms. *Journal of Fish Diseases* DOI: 10.1111/jfd.12675.
6. Ustuner, B., Alcay, S., Toker, M.B., Nur, Z., Gokce, E., Sonat, F.A., Gul, Z., **Duman, M.,** Ceniz, C., Uslu, A. and Sagirkaya, H., 2016. Effect of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) seminal plasma on the post-thaw quality of ram semen cryopreserved in a soybean lecithin-based or egg yolk-based extender. *Animal reproduction science*, 164, pp.97-104.
7. Altun S., **Duman M.,** Büyükekiz A. G., Özyiğit M. Ö., Karataş S., Turgay E., 2013. First isolation of *Citrobacter braakii* from Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *The Israeli Journal of Aquaculture*. 915-924 44.
8. Altun, S., Büyükekiz, A.G., **Duman, M.,** Özyiğit, M.Ö., Karataş, S. and Turgay, E., 2014. Isolation of *Shewanella putrefaciens* from Goldfish (*Carassius auratus auratus*). *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*. 1-8 66.
9. Altun, S., Onuk, E.E., Ciftci, A., Büyükekiz, A.G. and **Duman, M.,** 2013. Phenotypic, genotypic characterisation and antimicrobial susceptibility determination of *Lactococcus garvieae* strains. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19, pp.375-381.
10. Altun, S., Onuk, E.E., Ciftci, A., **Duman, M.** and Büyükekiz, A.G., 2013. Determination of Phenotypic, Serotypic and Genetic Diversity and Antibiotyping of *Yersinia ruckeri* Isolated from Rainbow Trout. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(2), pp.225-232.