

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**ASTAKSANTİNİN *Aeromonas hydrophila* ÜZERİNE ANTİBAKTERİYEL
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Halil İbrahim KÜÇÜKER

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2018

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**ASTAKSANTİNİN *Aeromonas hydrophila* ÜZERİNE ANTİBAKTERİYEL
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Halil İbrahim KÜÇÜKER
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2018

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ASTAKSANTİNİN *Aeromonas hydrophila* ÜZERİNE ANTİBAKTERİYEL
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Halil İbrahim KÜÇÜKER

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2018

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ASTAKSANTİNİN *Aeromonas hydrophila* ÜZERİNE ANTİBAKTERİYEL
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Halil İbrahim KÜÇÜKER

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 28/06/2018 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Jale KORUN (Danışman)

Prof. Dr. Mehmet GÖKOĞLU

Dr. Öğr. Üyesi Metin YAZICI

ÖZET

ASTAKSANTİNİN *Aeromonas hydrophila* ÜZERİNE ANTİBAKTERİYEL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Halil İbrahim KÜÇÜKER

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Jale KORUN

Haziran 2018; 60 sayfa

Bu çalışmanın amacı astaksantin *Aeromonas hydrophila* üzerine antibakteriyel etkisinin araştırılmasıdır. *A. hydrophila* önemli bir balık patojenidir. Etken kültür koşullarında ciddi ekonomik kayıplara neden olur. Çalışmada hasta balıklar 2017 de Antalya ilindeki ticari bir alabalık işletmesinden temin edilmiştir. Ağırlığı 56-225 g, boyu 16.5-24 cm olmak üzere altı balık örneği ile çalışılmıştır. Çalışmada ticari astaksantin kullanılmıştır. Çalışmada izole edilen suşların antimikrobiyal duyarlılıkları standart disk difüzyon tekniği ile tespit edilmiştir. Çalışmada ampicilin, eritromisin, flumekuın, kanamisin, nalidiksik asit, oksalinik asit, kloramfenikol, trimetoprim, streptomisin, tetrasiklin ve sülfametaksazol kullanılmıştır. Astaksantin antibakteriyel aktivitesinin tespiti için etanol, metanol, su, 2-propanol ve kloroform ile farklı solüsyonları hazırlanmıştır. Hasta balıklarda durgunluk, su yüzeyine yakın yüzme, iştahsızlık ve yem alımında azalma şeklinde davranışsal bulgular tespit edilmiştir. Dış bakıda balıklarda deri renginde koyulaşma, ekzoftalmi, karın kısmında şişkinlik, solgun solungaçlar, deride lezyonlar ile pul kaybı gözlenmiştir. İç bakıda balıklarda ağız içerisinde kanamalar, kas dokusunda kanama, karaciğerde solgunluk, böbreklerde erime tespit edilmiştir. Çalışmada 6 *A. hydrophila* suşu izole ve tanımlanmıştır. Antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre, *A. hydrophila* suşlarının oksitetrasikline dirençli olduğu bulunmuştur. Astaksantin kloroform çözeltisi etkili bulunmuştur.

ANAHTAR KELİMELELER: *Aeromonas hydrophila*, Astaksantin, Antimikrobiyal duyarlılık, Gökkuşuğu alabalığı, Antalya.

JÜRİ: Prof. Dr. Jale KORUN

Prof. Dr. Mehmet GÖKOĞLU

Dr. Öğr. Üyesi Metin Yazıcı

ABSTRACT

INVESTIGATION FOR ANTIBACTERIAL EFFECT OF ASTAXANTHIN ON *Aeromonas hydrophila*

Halil İbrahim KÜÇÜKER

MSc Thesis, Department of Aquaculture and Fisheries Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Jale KORUN

June 2018; 60 pages

The aim of this study is to research antibacterial effect of astaxanthin on *Aeromonas hydrophila*. *A. hydrophila* is an important fish pathogen. The agent causes serious economical losses under culture conditions. In the study, sick fish were taken from a commercial fish farm in Antalya in 2017. Six fish samples, weighing 56-225 g and 16.5-24 cm in height were studied. Commercial astaxanthin was used in the study. Antimicrobial susceptibility of the isolated strains in the study were determined by using standard disc diffusion technique. Ampicillin, erythromycin, flumequin, nalidixic acid, oxalinic acid, chloramphenicol, trimethoprim, streptomycin, tetracycline and sulfamethoxazole. To determine antibacterial effect of astaxanthin, different astaxanthin solutions were prepared by using ethanol, methanol, water, chloroform and 2-propanol. Behaviour findings such as lethargy, swim to water surface and anorexia were determined. Externally, darkening of the body colour, abdominal dropsy, exophthalmia, pale gills, lesions on the body surface and loss of scale. Internally, hemorrhages within mouth, hemorrhages on the muscle tissue, pale liver, enlarged spleen and lysis of the kidney were determined. In the study, six *A. hydrophila* strains were isolated and identified. According to the results of the antibiotic sensitivity test, it was determined that *A. hydrophila* strains were resistance to oxytetracycline. It was found that the chloroform solution of astaxanthin was effective.

KEYWORDS: *Aeromonas hydrophila*, Astaxanthin, Antimicrobial sensitivity, Rainbow trout, Antalya.

COMMITTEE: Prof. Dr. Jale KORUN

Prof. Dr. Mehmet GÖKOĞLU

Dr. Lecturer Metin YAZICI

ÖNSÖZ

Su ürünleri yetiştiriciliğinde başlıca hedefler arasında balıkları sağlıklı koşullarda tutarak yumurtadan pazar boyuna ulaştırmaktır. Ancak balıkların yoğun olarak tutulduğu kültür koşullarında hastalıklardan özellikle bakteriyel hastalıklardan kaçınmak mümkün olmamaktadır. Tatlı su balıklarının yetiştiriciliğinde *Aeromonas hydrophila* kaynaklı Hareketli *Aeromonas* Septisemisi (MAS) sıklıkla görülen bakteriyel enfeksiyonlar arasında yer almaktadır. Hastalığın tedavisinde yoğun antimikrobiyallerin kullanımı sonucu *A. hydrophila* suşlarında sıklıkla antibiyotik direnci görülebilmekte bu durum enfeksiyonların tedavisini güçleştirebilmektedir. Bu nedenle antimikrobiyallere karşı alternatifler geliştirilmeye çalışılmış ve hız kazanmıştır. Astaksantin doğal bir antioksidandır. Bu çalışmada gökkuşağı alabalıklarında enfeksiyona yol açarak balık kayıplarına yol açan *A. hydrophila* suşları üzerine astaksantin antimikrobiyal etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Astaksantin kloroform çözücü ile hazırlanan solüsyonunun etkili olduğu bulunarak bu konunun daha ileriki araştırmalar için temel olacağı inancındayız.



İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
AKADEMİK BEYAN.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	7
2.1. Su Ürünleri Yetiştiriciliği.....	7
2.2. Yetiştiriciliği Yapılan Salmonid Balıklar	8
2.2.1. <i>Salmo</i> cinsi	9
2.2.2. <i>Oncorhynchus</i> cinsi	9
2.2.3. <i>Thymallus</i> cinsi.....	9
2.2.4. <i>Salvelinus</i> cinsi	9
2.3. Gökkuşuğu Alabalığı Yetiştiriciliği	9
2.4. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Balık Hastalıklarının Önemi.....	11
2.5. Kültür Gökkuşuğu Alabalıklarında Gözlenen Başlıca Bakteriyel Enfeksiyonlar.....	12
2.5.1. Gram-negatif bakteri türlerinden kaynaklanan enfeksiyonlar	12
2.5.1.1. Enterik kızıl ağız hastalığı (Yersiniozis)	12
2.5.1.2. Bakteriyel soğuksu hastalığı	13
2.5.1.3. Furunkulozis	15
2.5.1.4. Hareketli <i>Aeromonas</i> Septisemisi (MAS)	16
2.5.2. Gram-pozitif bakteri türünden kaynaklanan enfeksiyonlar	18
2.5.2.1. Laktokokkozis.....	18
2.6. Balık Hastalıklarının Tedavisinde Antimikrobiyallerin Kullanımı.....	19
2.7. Astaksantin ve Kullanım Alanları	19
3. MATERYAL VE METOT	21
3.1. Materyal	21
3.1.1. Araştırmanın yapıldığı yer.....	21
3.1.2. Balık örneklerinin temin edilmesi	22

3.1.3. Çalışmada kullanılan astaksantin eldesi	24
3.1.4. Çalışmada kullanılan besi yerleri ve solventler.....	24
3.2. Metot	26
3.2.1. Nekropsi	26
3.2.2. Hasta balıklardan bakteri izolasyonu	26
3.2.3. İzole edilen bakterilerin morfolojik, fizyolojik.....	
ve biyokimyasal özelliklerinin tespiti.....	26
3.2.3.1. Bakterilerin hareketlerinin tespiti	26
3.2.3.2. Bakteri türlerinin boyaması (Gram boyama yöntemi).....	27
3.2.3.3. Katalaz testi	28
3.2.3.4. Sitokrom oksidaz reaksiyonu.....	28
3.2.3.5. Oksidasyon – Fermantasyon testi (O/F Testi)	28
3.2.3.6. İndol üretimi	28
3.2.3.7. Jelatin hidrolizi	29
3.2.3.8. Metil kırmızısı / Voges – Proskauer testi (MR/VP)	29
3.2.3.9. Hidrojen sülfür üretimi	29
3.2.3.10. Nişasta hidrolizi	29
3.2.3.11. Sitrat kullanımı	30
3.2.3.12. MacConkey agarda gelişme.....	30
3.2.3.13. Dekarboksilasyon ve amin üretimi	31
3.2.3.14. Nitrat indirgeme	31
3.2.3.15. Tuz toleransı	31
3.2.3.16. O/129 Vibriostat testi.....	32
3.2.3.17. Api 20E kitinin uygulanışı.....	32
3.2.4. Çalışmada izole edilen bakteri suşlarının antimikrobiyal.....	
duyarlılıklarını belirleme	34
3.2.5. Astaksantin çalışmada izole edilen bakteri suşları.....	
üzerine antimikrobiyal etkisini belirleme.....	34
4.BULGULAR.....	35
4.1. Hasta Balıkların Klinik ve Nekropsi Bulguları.....	35
4.2. Hasta Balıklardan İzole Edilen Bakteri Suşlarının Koloni ve Hücre.....	
morfolojisi, Fenotipik Özelliklerine Ait Bulgular.....	39
4.3. API 20E Test Sonuçları.....	41

4.4. Çalışmada İzole Edilen Bakteri Suşlarının Antimikrobiyal Duyarlılık.....	
Test Sonuçları.....	43
4.5. Astaksantin Antimikrobiyal Hassasiyet Test Sonuçları.....	44
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇLAR.....	54
7. KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	



AKADEMİK BEYAN

YüksekLisans Tezi olarak sunduğum “Astaksantin *Aeromonas Hydrophila* Üzerine Antibakteriyel Etkisinin Araştırılması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

28.06.2018

Halil İbrahim KÜÇÜKER



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

mg	: Miligram
ml	: Mililitre
l	: Litre
µm	: Mikrometre
α	: Alfa
β	: Beta
µg	: Mikrogram
g	: Gram
°C	: Santigrad derece
cm	: Santimetre

Kısaltmalar

ERM	: Enterik Kızılâğız Hastalığı
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
FRS	: Fry Mortalite Sendromu
MAS	: Hareketli Aeromonas Septisemisi
MİK	: Minimal İnhibitör Konsantrasyon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Oncorhynchus mykiss (Gökkuşluğu alabalığı).....	10
Şekil 3.1. Uygulama laboratuvarı.....	21
Şekil 3.2. Uygulama laboratuvarı.....	22
Şekil 3.3. Balık örneklerinin temin edildiği ticari alabalık işletmesinde..... beton havuz	23
Şekil 3.4. Balık örneklerinin temin edildiği ticari alabalık işletmesinde toprak..... havuz	23
Şekil 3.5. Balık örneklerinin temin edildiği işletmelerden birinin genel görünümü.....	24
Şekil 3.6. Astaksantin metanollü çözeltisi.....	24
Şekil 3.7. Astaksantin sulu çözeltisi	25
Şekil 3.8. Astaksantin etanollü çözeltisi	25
Şekil 4.1. Hasta balıkta karın kısmında şişkinlik.....	35
Şekil 4.2. Çene altında kanamalar	35
Şekil 4.3. Deride lezyonlar	36
Şekil 4.4. Deride pul kaybı ve lezyonlar.....	36
Şekil 4.5. Yüzgeçlerde kanama	37
Şekil 4.6. Deride koyulaşma.....	37
Şekil 4.7. Ağız içi kanamalar.....	38
Şekil 4.8. Karaciğerde solgunluk ve damarlaşma.....	38
Şekil 4.9. Hava kesesinde şişkinlik ve kanama.....	39
Şekil 4.10. Bakteri suşuna ait amilaz üretim.....	39
Şekil 4.11. Çalışmada kullanılan API 20E test şeridi ve sonucu.....	41
Şekil 4.12. Astaksantin kloroformlu çözeltisine bakterilerin inokülasyonu sonucu..... bir örnek.....	45
Şekil 4.13. Astaksantin etanollü çözeltisine bakterilerin inokülasyonu sonucu..... bir örnek	46
Şekil 4.14. Astaksantin 2-propanollü çözeltisine bakterilerin inokülasyonu sonucu..... bir örnek	47
Şekil 4.15. Astaksantin metanollü çözeltisine bakterilerin inokülasyonu sonucu..... bir örnek	48
Şekil 4.16. Astaksantin sulu çözeltisine bakterilerin inokülasyonu sonucu bir..... örnek	49

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Türkiye su ürünleri üretimi.....	8
Çizelge 2.2. ERM'den etkilenen balık türleri.....	12
Çizelge 2.3. <i>F. Psychrophilum</i> 'un izole edildiği çeşitli balık türleri.....	14
Çizelge 2.4. Bazı <i>Aeromonas</i> türlerinin ayırt edici fenotipik özellikleri.....	17
Çizelge 2.5. Laktokokkozis'den etkilendiği bildirilen bazı balık türleri.....	18
Çizelge 3.1. API 20E'nin uygulandığının şematik açıklaması	33
Çizelge 4.1. İzole edilen bakterilerin biyokimyasal özellikleri	40
Çizelge 4.2. API 20E test sonuçları	42
Çizelge 4.3. API 20E ek test sonuçları	43
Çizelge 4.4. Bakteri suşlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçları.....	44
Çizelge 4.5. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi sonuçlarına göre astaksantin kloroformlu... çözeltilisinin antimikrobiyal etkisi.....	45
Çizelge 4.6. Astaksantin etanolü çözeltilisinin antimikrobiyal test sonuçları.....	46
Çizelge 4.7. Astaksantin 2-propanollü çözeltilisinin antimikrobiyal test sonuçları	47
Çizelge 4.8. Astaksantin metanollü çözeltilisinin antimikrobiyal test sonuçları.....	48
Çizelge 4.9. Astaksantin sulu çözeltilisinin antimikrobiyal test sonuçları	49

1. GİRİŞ

Avcılık ve su ürünleri yetiştiriciliği tüm dünyada gerek gıda amaçlı gerekse geçim yönünden oldukça önemli kaynaklardır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde başlıca hedef balık, kabuklu, yumuşakça ve eklem bacaklılar gibi hayvansal, algler gibi bitkisel su canlılarının kontrollü ve yarı kontrollü koşullar altında yetiştiriciliğinin yapılmasıdır. Yetiştiricilik çalışmalarında bu hedefin yanı sıra doğal stokların takviye edilmesi için ayrıca süs balığı üretimi, sportif ve bilimsel amaçlı üretimlerde yer almaktadır (Çelikkale vd. 1999). Dünya genelinde yetiştiriciliği yapılan tatlı su balık türleri içerisinde gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W.) da yer alır. Gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğine ilk kez 1879 da Amerika Birleşik Devletleri'nde başlanılmış daha sonraları gıda, doğal stokları destekleme ve sportif balıkçılık gibi nedenler ile diğer ülkelerde de kültürüne başlanılmıştır (Korun 2015). Günümüzde gökkuşağı alabalığının kültürü 100'den fazla ülkede kültürünün yapıldığı ve tür üzerine birçok ıslah çalışması mevcut olup hali hazırda 15 den fazla ticari varyetesi olduğu bildirilmiştir (Salihoğlu vd. 2013).

Türkiye de alabalık yetiştiriciliği üzerine yapılan ilk çalışma 1953 yılında Hidrobiyoloji Enstitüsü'nce Abant ve Sapanca göllerinde doğal alabalık, *Salmo trutta* üretimi ile (Salihoğlu vd. 2013). Gökkuşağı alabalığının yetiştiricilik faaliyetleri ise 1970'lerde yapılmış, 1980'li yıllarda ise yetiştiriciliği hız kazanmıştır. Gökkuşağı alabalığına olan pazar talebinden dolayı yıllık üretimi yıldan yıla artış göstermiştir (Korun 2015). Ülkemiz de yetiştiricilik faaliyetlerine göz atıldığında ekonomik olarak ilk balık yetiştiriciliği 1970'li yıllarda gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) ve sazan (*Cyprinus carpio*) yetiştiriciliği ile başlamıştır. 1985'li yıllarda yaldızbaşı çipura (*Sparus aurata*) ve Avrupa deniz levreği (*Dicentrarchus labrax*), 1990'lı yıllarda Karadeniz de alabalık yetiştiriciliği ve 2000'li yılların başında Ege ve Akdeniz de orkinos yetiştiriciliğinin (semirtme) başlaması ile büyük bir ivme kazanmıştır. Son yıllarda kalkan, lahoz, karagöz, sinagrit, fangri ve sivri burun gibi alternatif türlerin yetiştiricilik çalışmaları yapılmaya başlanmıştır (Aydın 2016; Güney ve Aydın 2016).

Su ürünleri yetiştiricilik sistemlerinde başlıca hedefler arasında balıkları sağlıklı koşullarda tutmak gelir. Bu durum balıkların hızlı bir şekilde büyümesine yardımcı olduğu gibi, balıkların yumurtadan pazar boyuna ulaşana kadar yüksek oranlarda sağlıklı kalmalarına da yardımcı olur. Okyanuslarda ve denizlerde su sütununun oldukça sabit olmasına karşın, balıkların yetiştiricilik amaçlı olarak tutuldukları havuzlarda, kuluçkahane birimlerinde ve akvaryum koşullarında ise su koşulları daha değişkendir (Korun 2015). Balıklar sucul ve poikilotermik canlılar olduklarından, kültür koşullarındaki şartlar balığın sağlık durumunu sürdürmede olumsuz hale gelirse, balıklar strese girerek hasta olabilirler (Korun 2015). Balık hastalıkları yetiştiricilik sistemlerinde karşılaşılan en önemli sorunlar arasında olup, balık hastalıkları tek bir durumun sonucu olarak meydana gelmez, hastalık çevre, balık karşılıklı etkileşimlerin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Jeeva vd. 2013).

Gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğinin yaygınlaşmasına bağlı olarak çeşitli bakteriyel, viral, fungal ve paraziter enfeksiyonların görülme sıklığı da artış göstermiştir (Nya ve Austin 2009; Ögüt ve Akyol 2005). Bu enfeksiyonlar arasında bakteriyel enfeksiyonlar önemlidir. Bu gruptaki bakteriyel enfeksiyonlara *Flavobacterium psychrophilum*, *Yersinia ruckeri*, hareketli ve hareketsiz *Aeromonas* türleri'nin dahil olduğu Gram-negatif bakteriyel patojenler ile Gram-pozitif bakteri türleri *Enterococcus* spp. ve *Lactococcus garvieae* gibi hastalık etkenleri de dahildir. Ekonomik

önemlerinden dolayı, bu hastalıklar ülkemizde yoğun bir şekilde araştırılmış ve farklı araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Korun 2015).

Gökkuşluğu alabalığı yetiştiriciliğini etkileyen önemli bakteriyel enfeksiyonlar arasında *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonu da bulunur. *A. hydrophila* geniş bir konak dağılımı gösteren fırsatçı bir bakteri türü olup, türün konak seçiciliği yoktur. Balıklar strese girdiğinde, bakteri balıklarda hastalıklara yol açar (Bhuvaneswari ve Balasundaram 2006; Doukas vd. 1998). *A. hydrophila* Aeromonadaceae familyasında yer alan *Aeromonas* cinsinin bir üyesidir (Zepeda-Velázquez vd. 2015). *Aeromonas* cinsi toprak ve sucul çevrelerden gelen psikrofilik ve mezofilik bakteri türlerinden oluşur ve birçok sıcak ve soğuk kanlı hayvan türlerinde farklı hastalıklara neden olur (Igbinosa vd. 2012).

Aeromonas cinsi ilk başta Vibrionaceae familyasına yerleştirilmiş olmasına karşın, başarılı filogenetik analizler ile bu cinsin *Vibrio* türleri ile yakından alakalı olmadığını ortaya koymuş ve cins Aeromonadaceae familyasına dahil edilmiştir (Igbinosa vd. 2012). Günümüzde Aeromonadaceae familyası *Oceanimonas*, *Aeromonas*, *Tolumonas* ve *Oceanisphaera* cinslerini kapsamaktadır (Igbinosa vd. 2012).

Aeromonadlar ile Enterobacteriaceae familyası üyeleri birçok biyokimyasal özellikler yönünden benzer olmakla birlikte, sitokrom oksidaz testi ile türler birbirinden ayırt edilir. Aeromonadlar sitokrom oksidaz pozitiflerdir (Igbinosa vd. 2012).

Aeromonas türleri glükozu fermente eden, fakültatif anaerobik, spor oluşturmayan, sitokrom oksidaz pozitif ve Gram-negatif çomak şekilli bakteri türleridir (Akyar ve Can 2013; Igbinosa vd. 2012). Genellikle *Aeromonas* cinsinin üyeleri *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae* ve *Aeromonas sobria* olmak üzere biyokimyasal yönden farklı üç gruba ayrılır ve bunlar bir dizi genom türünü içerir. Hali hazırda, *Aeromonas* cinsi 17 DNA hibritleşme grubunu veya genom türlerini ve 14 fenotip türünü kapsar (Igbinosa vd. 2012).

Aeromonas türleri insanlarda ve hayvanlardaki çeşitli hastalıkların etkeni olarak bilinir. Bazı çalışmalar bazı hareketli *Aeromonas* türlerinin gıda ve su yolu ile bulaşan patojenler olarak önemlerinin arttığını bildirmiştir (Igbinosa vd. 2012).

Aeromonadlar 1970'li yılların sonlarına kadar fizyolojik özelliklerine ve konak dağılımlarına dayandırılarak başlıca iki gruba ayrılmıştır. Hareketli aeromonadlar 35-37 °C'lik optimum sıcaklıkta gelişir ve insan enfeksiyonlarına neden olduğu tahmin edilen türlerin *Aeromonas hydrophila* olduğu kabul edilmiştir. 22-28 °C de gelişme gösteren ve balıklarda enfeksiyonlara neden olan hareketsiz aeromonad türü *Aeromonas salmonicida* olarak bilinir. Hareketli ve hareketsiz aeromonadları ayırt edici fenotipik belirleyicilere optimum gelişme sıcaklığı, hareketlilik, indol üretimi ve tirozin agar da melanin-benzeri pigmentin varlığı dahildir (Igbinosa vd. 2012).

Aeromonas cinsi 0.3-1.0 x 1.0-3.5 µm boyutlarında düz, kokobasilden basile kadar değişen Gram-negatif bakterileri içerir. Pek çok bakteri türü tek polar kamçıya sahiptir. Bununla birlikte, bazı türleri katı vasatlarda peritriş veya lateral (yan) kamçıları da oluşturabilir. *Aeromonas* türleri fakültatif anaerobik, katalaz ve sitokrom oksidaz pozitif ve kemoorganotroftir. Türler arilamidazlar, esterazlar, amilaz, elastaz, deoksirübönükleaz, kitinaz, peptidazlar ve lipaz gibi çeşitli hücre dışı hidrolitik

enzimleri üretir ve 22 °C ve 35 °C arasındaki sıcaklıkta optimal gelişme gösterir ancak bazı türlerde 0-45 °C de gelişme görülebilir. *A. salmonicida* suşları gibi bazı türleri 35 °C de gelişemez. Tüm *Aeromonas* türleri 4.5 dan 9'a kadar pH oranlarına dayanıklıdır ancak optimum pH 5.5 ila 9 arasında olup optimum sodyum klorit konsantrasyon oranı %0 ila %4 'tür (Igbinosa vd. 2012).

Aeromonas türleri dünya genelinde tatlı su, haliç ve deniz çevreleri olmak üzere sucul ortamlarda yaygın bir şekilde bulunur (Akyar ve Can 2013; Igbinosa vd. 2012).

Aeromonadlar bakteriyel ekosistemlerin var olduğu her yerde her çevreden izole edilebilir. Bu çevrelere sucul habitatlar, balıklar, gıdalar, evcil hayvanlar, omurgasız türleri, kuşlar, böcekler ve doğal topraklar dahildir (Janda ve Abbott 2010). İlk çalışmalar, üç *Aeromonas* türü (*A. hydrophila*, *A. caviae* ve *A. veronii* bv. *sobria*)'nın insan enfeksiyonlarının çoğunluğundan (%85 ve daha fazlası) sorumlu olduğu bildirilerek, klinik izolasyonlar bu cins türlerine atfedilmiştir. *Aeromonas salmonicida* ise balıklarda ve suda baskın bakteri türüdür (Janda ve Abbott 2010).

Aeromonas bakterilerinin sayıları lentik sistemlere göre lotik sistemlerde daha yüksektir. Ayrıca, bu bakteri türleri 25 °C'den 35 °C'ye kadar sıcaklık aralığında bulunabilirler. *A. hydrophila* geniş bir sıcaklık, iletkenlik, pH ve bulanıklık dağılımında gelişebildiği bildirilmiştir (Janda ve Abbott 2010).

Aeromonas spp. vibriolardan NaCl ilavesi olmadan nutrient buyyonda gelişebilmesi, TCBS (thiosulfate citrate bile salts sucrose) agar da gelişememe ve O/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine) vibriostatik ajana karşı dirençli olmaları ile ayırt edilir (Janda ve Abbott 2010). Diğer önemli ayırt edici özelliklere %6.5 sodyum klorit varlığında gelişememe, jelatini sıvılaştırma yeteneği, i-inositolü fermente edememe dahildir. Çoğu *Aeromonas* türü d-mannitol ile sukrozu fermente edebilmektedir (Igbinosa vd. 2012).

Aeromonadlar izolasyon vasatlarında gelişir ve çevresel, gıda ve klinik örneklerden *Aeromonas* türlerinin izolasyonu için bir dizi seçici ve ayırt edici izolasyon vasatları geliştirilmiştir. Nişasta ampisilin agar (SAA) ve ampisilin içeren tryptose buyyonu (TSB-30, ampisilin 30 mg/l) ve *Aeromonas* vasatı da önerilmektedir. Ayrıca, çeşitli örneklerden *Aeromonas* türlerinin tespiti için polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemleri de geliştirilmiştir (Igbinosa vd. 2012).

Günümüzde *Aeromonas* cinsinin su ve sucul çevreler ile sinonim halde olduğu düşünülür. Cins üyeleri nehirlerden, göllerden, içme suyundan, deniz suyundan (haliçler), zemin sularından, atık sulardan ve lağım sularından izole edilmiştir (Janda ve Abbott 2010).

Bir dizi aeromonad insanların için patojenik olduğu bildirilmiştir ve çoğu insan klinik izolatu HG-1, HG-4, HG-8, HG-9, HG-10, HG-12 veya HG-14 hibritleşme gruplarına aittir (Igbinosa vd. 2012). *Aeromonas* bakterileri ayrıca immun sistemi baskılanmış insanlarda da enfeksiyonlara neden olduğu ve aeromonadları içeren hastaların genel olarak işlem görmemiş zemin sularına maruz kalmaları veya özellikle çiğ istiridye gibi deniz ürünlerini tüketmeleri sonucunda ishal oldukları bildirilmiştir (Akyar ve Can, 2013). Türkiye de insanlarda *Aeromonas* spp. enfeksiyonlarının görülme sıklığı %0.37-3.5 olarak bildirilmişken, dünya genelinde ise bu oranın %0.2-12.2 olduğu bildirilmiştir (Akyar ve Can 2013).

Aeromonas türü bir dizi hücre dışı enzim üretir ve bu enzimlerin bir kısmının patogenezi ile alakalı olduğu düşünülür. *Aeromonad*ların virülensi birkaç faktöre bağlıdır ancak son yıllardaki yoğun araştırmalara karşın henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Bakteri kamçı (flagellum), pili ve adhesinlerin üretimi ile konak hücrelerine tutunur ve hücre içerisine girer. Konak dokuda çoğalma sideroforların ve dış zar proteinlerinin üretimi ile gerçekleşir. Kapsül, s-tabakası, lipopolisakkaritler ve porinler konak savunma mekanizmalarına karşı bakterinin direncini artırır. Enterotoksinler, proteazlar, fosfolipazlar ve hemolizinler hücre ölümüne neden olacak şekilde konak hücrelerine zarar verebilir (Igbinosa vd. 2012). Bazı *aeromonad*lar virülensi arttıran bir dizi hücre yüzey ve salgı proteazlarını üretir. Klorlu ve kloruz sudan izole edilen *A. hydrophila*'nın önemli bir kısmının enterotoksijenik veya sitotoksik aktiviteden sorumlu genleri içerdiği bildirilmiştir (Igbinosa vd. 2012).

Balık hastalıklarında hastalık etkeni olarak *aeromonad*ların rolü son çeyrek asırdır bilinmekte olup balıklarda hastalığa neden olan başlıca iki grup kabul edilir. *Aeromonas salmonicida* dünya genelinde geniş bir coğrafik dağılıma sahiptir. Bakteri, özellikle salmonidler olmak üzere çok sayıda diğer balık türlerini de enfekte eden önemli bir balık patojeni olup, salmonidlerde balık furunkulozisine neden olur (Janda ve Abbott 2010; Gudmundsdóttir vd. 2003). Epizootikler hem kültürü yapılan hem dedoğal balık stoklarında görülür. *A. salmonicida* dört alttüre ayrılmıştır. Bu türler; *A. salmonicida* ssp. *salmonicida*, *A. salmonicida* ssp. *achromogenes*, *A. salmonicida* ssp. *masoucida* ve *A. salmonicida* ssp. *smithia*'dır (Gudmundsdóttir vd. 2003). Son olarak, *A. salmonicida* ssp. *pectinolytica* tanımlanmasına karşın, balık patojeni olarak bildirilmemiştir (Gudmundsdóttir vd. 2003). *A. salmonicida*'nın neden olduğu hastalık akut formundan kronik forma uzanabilir. Akut formu septisemi ile karakterize edilir. Hastalığın bu formunda etkilenen balıklarda yüzgeçlerin taban kısımlarında kanamalar, iştahsızlık ve deri renginde koyulaşma gözlenir. Daha büyük balıklarda ise hastalığın kronik formu görülür. Kronik formda balıklarda durgunluk, hafif ekzoftalmi, kas ve iç organlarda kanamalar mevcuttur (Janda ve Abbott, 2010). Ayrıca, hastalıktan etkilenen balıklarda deri ülserleri ve septisemide gelişebilir (Zepeda-Velázquez vd. 2015).

A. hydrophila ve *A. veronii* gibi mezofilik türler yayın balığı, morina, sazan ve kaya balığında ülseratif enfeksiyonlara, sazan, tilapya ve salmonda hareketli *Aeromonas* septisemisi (hemorajik septisemisi) dahil balıklarda benzer hastalık durumuna neden olurlar. Mezofilik *Aeromonas* türleri, özellikle *A. hydrophila* tüm dünyada başlıca balık ölümleri ile alakalı olup, bu balık ölümleri ciddi ekonomik kayıplar ile sonuçlanmıştır (Janda ve Abbott 2010).

Aeromonad septisemisi balıklarda dermal ülserasyon, yüzgeçlerde kanama, yüzgeç çürümesi, boğaz bölgesinde kızarıklık, iç organlarda kanama ve nekroz ile karakterize bulaşıcı bir hastalıktır (Kumar vd. 2016). Hastalığın akut formunda hastalığa dair herhangi bir bulgu gözlenmezken, kronik formda ise ülserasyon, yangı ve dermal lezyonlar ile birlikte hemorajik septisemi benzeri bulgular gözlenir. Karaciğer ve böbrek dokuları bakteriyel birikim ve sepsis için başlıca hedef organlardır (Kumar vd. 2016). Diğer türlerde görülen *Aeromonad* septisemisinin ciddiyeti ve bulgularının bilinmesine karşın, balıklarda konak-patojen etkileşimleri, bakterinin gelişebilmesi için uygun sıcaklık ihtiyacı, patogenezinin gidişatı ve patogeneze bağlılık balık türlerine göre değişiklik göstermektedir (Kumar vd. 2016). *A. hydrophila*'nın primer patojen olarak hareketli *aeromonad* septisemiye, sekonder patojen olarak şiddetli epizootik ülseratif sendroma neden olduğu bildirilmiştir (Bhuvaneswari ve Balasundaram 2006).

Ülkemizde *A. hydrophila* enfeksiyonu ilk olarak Eskişehir de gökkuşağı alabalığında tespit edilmiştir. Bakteri türü daha sonraları levrek, çipura, yılan balığı, sazan, mersin, uskumru ile ülkemizin farklı bölgelerindeki bazı süs balığı türlerinden de bildirilmiştir (Öztürk ve Altınok 2014).

Balıkları stresli koşullara maruz kaldıkları yoğun balık işletmelerinde bakteriyel hastalıklar çoğu kez oluşmakta ve ciddi ekonomik kayıplar ile sonuçlanmaktadır. Bu gibi durumlarda, antibakteriyel ilaçlar genellikle balıkların bakteriyel enfeksiyonlarının tedavisi için kullanılmaktadır. Bununla birlikte, patojenik bakteri türleri uzun süreler için bu antibakteriyel ilaçlara maruz kalma durumlarında bakterilerde çoğu kez ilaca karşı direnç gelişmekte ve bu durum enfeksiyonların tedavi edilmelerini güçleştirmektedir (Kurtoğlu 2010).

A. hydrophila kaynaklı enfeksiyonların kontrolü ya aşılama gibi koruyucu önlemler ile veya antibiyotik tedavisi ile yaygın bir şekilde yapılmaktadır. Ancak, bakterilere karşı sıklıkla antibiyotiklerin kullanımı sonucu bakteri türlerinde direnç gelişimi gözlenmektedir (Jeeva vd. 2013).

Yaygın bir şekilde yem takviyeleri olarak kullanılan çeşitli ilaçlara yönelik tatlı su balıklarından izole edilen *A. hydrophila* suşlarında çoklu antibiyotik direnci (MAR) bildirilmiştir (Belém-Costa ve Cyrino 2006). *Aeromonas* enfeksiyonlarının tedavisinde antibiyotik kullanımı ile ilgili başlıca sorun bu bakteriler tarafından antibiyotiğe karşı direnç geliştirme olup, bu direnç gelişimi genel olarak plazmitlerin bulunması ile alakalıdır (Belém-Costa ve Cyrino 2006). Dünya genelinde de bazı *A. hydrophila* suşları için MAR bildirilmiştir. Ancak, kültürü yapılan balıkların bakteriyel ekolojisi üzerine ve çevreye olan kemoterapötiklerin kumulatif etkisine ise çok az ilgi gösterilmiştir (Belém-Costa ve Cyrino 2006).

Aynalı sazan (*C. carpio*)'ın deri, iç organları ile bağırsak kanalından antibiyotiğe dirençli *A. hydrophila* suşu izole ve identifiye edilmiştir. İzolatların 50 mg/l ampisilin, 30 mg/l kanamisin ve 20 mg/l klortetrasiklin'e dirençli oldukları bulunmuştur. Balık ve karidesler ile yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (Bhuvaneswari ve Balasundaram 2006).

Stratev vd. (2013) gökkuşağı alabalıklarından izole ettikleri *A. hydrophila* suşlarının seftazidim, siprofloksasin ve levofloksasin'e hassas, amikasin, amoksisilin/klavulanik asit, ampisilin/sulbaktam, sefazolin, klindamisin, eritromisin, meropenem, imipenem ve vankomisin'e ise dirençli olduklarını bildirmiştir. Araştırmacılar izolatların direnç yüzdelerinin diğer test edilen kemoterapötik ilaçlara göre değişken olduğunu bildirmiştir.

Sarder vd. (2016) tatlı su balıkları ile yapmış oldukları çalışmada *A. hydrophila* suşlarının amikasin ve gentamisin'e hassas, yaygın olarak kullanılan amoksisilin'e ise dirençli olduğunu bildirmiştir.

Özer vd. (2009) gökkuşağı alabalığı işletmelerinden izole ettikleri *A. hydrophila* suşlarının gentamisin'e, süfametaksazol'e, trimetoprim'e, enrofloksasin, oksitetrasiklin, neomisin, streptomisin ve eritromisin'e hassas, novobiocin'e ise dirençli olduğunu bildirmiştir.

Jeeva vd. (2013) çalışmalarında hemorajik deri lezyonlu *C. auratus*'dan *A. hydrophila* suşlarını izole ve tanımlamaya çalışmışlardır. İzolatların hepsinin neomisin ve streptomisin'e hassas, ampicilin ve basitrasine dirençli, eritromisin ve kanamisinine ise orta derecede duyarlı oldukları bildirilmiştir. Enfeksiyonun tedavisi için 3 gün süre ile havuz suyuna 10 g/ton olacak şekilde neomisin veya streptomisin uygulaması önerilmiştir (Jeeva vd. 2013).

Belém-Costa ve Cyrino (2006) pacu (*Piaractus mesopotamicus*) ile nil tilapya (*Oreochromis niloticus*) balıklarından *A. hydrophila* suşlarını izole ve tanımlamaya çalışmışlardır. Araştırmacılar pacudan izole ettikleri suşların çalışılan on yedi antibiyotikten 8'ine, tilapyadan izole ettikleri izolatların ise 7'sine direnç gösterdiğini bildirmişlerdir.

Su ürünleri yetiştiricilik koşullarında hastalıkların önlenmesi ve tedavisine yönelik olarak antimikrobiyal ajanların yoğun bir şekilde kullanılması sonucunda dirençli bakteri suşlarında artış söz konusudur. Bu nedenle, antimikrobiyellere karşı alternatifler önerilmektedir. Bu alternatifler arasında maliyetinin düşük, çevre ile dost olması ve düşük düzeyde yan etkileri nedeni ile tıbbi bitkilerde yer almaktadır (Thiyagarajan vd. 2014).

Astaksantin mikroalg, somon, alabalık, krill, karides, kerevit ve kabuklular gibi doğada bulunan deniz organizmalarında doğal olarak bulunan bir karetonoidtir. Yeşil mikroalg *Haemotococcus pluvialis* zengin astaksantin kaynağı olarak kabul edilmektedir (Köksal 2008). Astaksantin balıklarda sentezlenemeyen yem orijinli bir karetonoidtir. Doğal balıklarda astaksantin balıkların avladıkları organizmalardan sağlanırken, yoğun yetiştiricilik sistemlerinde ise balıkların yemine ilave edilerek balıkların alması sağlanmaktadır (Choubert vd. 2006).

Bu çalışma ile ülkemizde özellikle kültür gökkuşağı alabalıklarının karkas kısımlarının renklendirilmesinde kullanılan astaksantin *A. hydrophila* izolatları üzerine antimikrobiyal etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada astaksantin farklı çözücüler kullanılarak MİK değerlerinin belirlenmesi çalışmanın kapsamını oluşturmuştur.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Su Ürünleri Yetiştiriciliği

Su ürünleri yetiştiriciliği sucul organizmaların biyolojik gelişim evrelerine göre optimum çevresel koşulların kontrollü olarak sunulmasıyla, su kaynaklarının ekolojik yapılarını ve dengelerini bozmadan doğal stoklardaki av baskısını azaltarak stokları koruyan, yetiştiricilikte ekonomik prensipleri dikkate alan çok sayıda bilim dalları ve çeşitli sektörler ile ilişkisi olan önemli bir üretim ve bilim alanıdır (Güney ve Aydın 2016). Su ürünleri yetiştiriciliğinde amaç; kontrollü ve yarı kontrollü koşullarda balık, kabuklu, yumuşakça ve eklem bacaklılar gibi hayvansal, algler gibi bitkisel su canlılarının yetiştirilmesidir. Yetiştiricilik çalışmalarının amaçları arasında insan gıdası temini, doğal stokların takviyesi, süs, sportif ve bilimsel amaçlı çalışmalar yer alır (Çelikkale vd. 1999). Su ürünleri yetiştiriciliği dünya besin gereksinimin önemli bir kısmını karşılayan temel bir sektör olup, Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından dünya genelinde en hızlı büyüme gösteren sektör olarak tanımlanmıştır (Akbulut vd. 2009). Ülkemizde ilk ekonomik anlamda balık yetiştiriciliği 1970’li yıllarda gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ve sazan (*Cyprinus carpio*) üretimi ile başlamıştır. 1985’li yıllarda yaldızbaşı çipura (*Sparus aurata*) ve Avrupa deniz levreği (*Dicentrarchus labrax*), 1990’lı yıllarda Karadeniz de alabalık yetiştiriciliği ve 2000’li yılların başında Ege ve Akdeniz de orkinos yetiştiriciliğinin (semirtme) başlaması ile büyük ivme göstermiştir. Son yıllarda kalkan balığı, lahoz, karagöz, sinagrit, fangri ve sivri burun gibi alternatif türlerin yetiştiricilik çalışmaları da yapılmaya başlanmıştır (Aydın 2016; Güney ve Aydın 2016). 2014 yılı değerlerine göre Türkiye de iç sularda 1950, denizlerde ise 427 adet olmak üzere toplam 2377 adet işletme bulunmaktadır. Bu işletmelerin toplamproje kapasiteleri 479.280 ton’dur. Türkiye de yetiştirilen en önemli tür çoğunluğu iç sularda %48.3 ile gökkuşağı alabalığı, denizlerde ise %31.7 ile levrek ve %17.8 ile çipura oluşturmaktadır. Sarı ağız, orkinos ve sazan gibi diğer balık türlerinin oranı ise %2.13’tür. Türkiye de 2016 yılı verilerine göre, yetiştiricilik üretimi iç sularda 101.601 ton iken, denizlerde ise 151.794 ton ve toplam 253.395 ton olarak gerçekleşmiştir. Bu değerlerin milli ekonomiye katkısı 700 milyon dolardan fazladır (Güney ve Aydın 2016).

Çizelge 2.1. Türkiye Su Ürünleri Üretimi (ton)

Yıllar	AVCILIK (ton)			YETİŞTİRİCİLİK (ton)			TOPLAM (ton)
	Deniz	İçsu	Toplam	Deniz	İçsu	Toplam	
2000	460.521	42.824	503.345	35.646	43.385	79.031	582.376
2001	484.410	43.323	527.733	29.730	37.514	67.244	594.977
2002	522.744	43.938	566.682	26.868	34.297	61.165	627.847
2003	463.074	44.698	507.772	39.726	40.217	79.943	587.715
2004	504.897	45.585	550.482	49.895	44.115	94.010	644.492
2005	380.381	46.115	426.496	69.673	48.604	118.277	544.773
2006	488.966	44.082	533.048	72.249	56.694	128.943	661.991
2007	589.129	43.321	632.450	80.840	59.033	139.873	772.323
2008	453.113	41.011	494.124	85.629	66.557	152.186	646.310
2009	425.275	39.187	464.462	82.481	76.248	158.729	623.191
2010	445.680	40.259	485.939	88.573	78.568	167.141	653.080
2011	477.658	37.097	514.755	88.344	100.446	188.790	703.545
2012	396.322	36.120	432.442	100.853	111.557	212.410	644.852
2013	339.047	35.074	374.121	110.375	123.019	233.394	607.515
2014	266.078	36.134	302.212	126.894	108.239	235.133	537.345
2015	397.731	34.176	431.907	138.879	101.455	240.334	672.241
2016	301.464	33.856	335.320	151.794	101.601	253.395	588.715

Ülkemizde alabalık üretimi iç sularda ağırlıklı olarak beton havuzlarda yapılırken, göl, baraj ve denizlerde ise çeşitli tip ve büyüklükteki yüzer kafes sistemlerinde yapılmaktadır. Çipura ve levrek yetiştiriciliği ise deniz ortamında ağ kafeslerde, son yıllarda da toprak havuzlarda yapılmaktadır (Güney ve Aydın 2016). Türkiye de su ürünleri yetiştiriciliği yıllık ortalama %8 (%1-%13 arasında) büyümektedir. Son 10 yılda yetiştiricilikteki toplam üretim miktarı %99 artış göstererek, hemen hemen iki katına çıkmıştır. En yüksek üretim artışı alabalıkta (%130) daha sonra çipura (%100) ve levrekte (%50) gerçekleşmekte olup, avcılık yolu ile gerçekleşen üretimde yıllık ortalama %2.3 oranında azalma söz konusudur (Sarıözkan 2016).

2.2. Yetiştiriciliği Yapılan Salmonid Balıklar

Balıkların kontrollü şartlar altında yetiştirilmesi yada kültürü binlerce yıldır uygulanmaktadır. Ancak salmonid balıkların salmon ve alabalık gruplarının yetiştirilmesi oldukça yeni bir faaliyettir. Salmon ve alabalıklar geçen yüzyıl boyunca ilk defa yumurtadan elde edilmiş ve yapay şartlar altında yetiştirilmiş, birincil olarak sulara stoklamak amacı güdülmüştür. Danimarkalılar tüketim amaçlı gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yetiştiriciliğine öncülük etmişlerdir. Atlantik salmonu (*Salmo salar*) yetiştiriciliği özellikle İskoçya ve Norveç'te ve yakın zamanda da Şili ve Tazmania'da çok hızlı gelişmiştir. Pasifik salmonu (*Oncorhynchus spp.*) ise ABD ve Kanada'nın batı sahillerinde, Şili ve Yeni Zelanda'da da yetiştirilmektedir. Salmonid balıklar arasında kahverengi alabalık (*Salmo trutta*) ve dere alabalığı (*Salvelinus fontinalis*), her ikisi de düzenli olarak yetiştirilmektedir. Salmonidae familyası 2 alt familyaya ayrılır. Bunlardan Salmonini Alt familyası sportif ve ticari amaçlı üretilen türleri kapsar (Roberts ve Shepherd 1991).

2.2.1. *Salmo* cinsi

Salmonidlerin en tanınmış olanı Atlantik salmonudur. Atlantik salmonu, kahverengi alabalık ve deniz alabalığı ile yakın akrabadır. Genç salmonlar gümüşü renk oluncaya kadar 'PARR' olarak adlandırılır. Denize ilk göç etme döneminde 'SMOLT' olarak adlandırılır, orada bulunan zengin gıdalarla beslenerek çok hızlı gelişirler. Denizden tekrar geri dönüşlerinde eğer bir kış mevsiminden sonra dönerlerse bunlara 'GRILSE' denilir. Eğer bir kıştan fazla bir süreyi denizde geçirirlerse bunlar da 'SALMON' adını almaktadır. Son yıllarda *Oncorhynchus* cinsinin bir üyesi olarak sınıflandırılan gökkuşağı alabalığı genellikle daha küçük noktalı, küçük pullu; kuyruk yüzgeçleri daha fazla noktalı olup her iki yanlarında belirgin ve yaygın parlak yüzeyli bant iner. Gökkuşağı alabalığı tatlı sularda Atlantik salmonu veya kahverengi alabalığa göre daha hızlı gelişir. Bundan dolayı da en fazla sofralık olarak yetiştirilen balık türüdür. Dere alabalığı ise sadece stoklamak amaçlı yetiştirilir (Roberts ve Shepherd 1991).

2.2.2. *Oncorhynchus* cinsi

Pasifik salmonları pek çok Kuzey Pasifik sahillerinin doğu ve batısındaki nehirlerde bulunur. Önceden *Salmo gairdneri* olarak bilinen gökkuşağı alabalıkları günümüzde *Oncorhynchus* cinsine bağlı olduğu kabul edilerek *Oncorhynchus mykiss* olarak adlandırılmaya başlanmıştır. Coho Salmonu (*Oncorhynchus kisutch*) sofralık pasifik salmonlarının en popüleridir. Coho Salmonu tuzlu sularda gümüşü renkte iken yumurtlamak için tatlı sulara girdiğinde kırmızı renge dönüşür. Sockeye Salmonu (*Oncorhynchus nerka*), pasifik salmonlarının konserve sanayisinde kullanılan en popüler üyesidir. Pembe (*Oncorhynchus gobuscha*) ve Chum Salmonu (*Oncorhynchus keta*) yumurtadan çıktıktan sonra yavruların tatlı sularda beslenme periyodu yerine derhal denize göç etmeleriyle diğerlerinden ayrılan pasifik salmonlarıdır. *Oncorhynchus masoo* asıl olarak Kuzey Japonya'da bulunan bir türdür. Bu tür *O. Nerka*'ya çok benzer (Roberts ve Shepherd 1991).

2.2.3. *Thymallus* cinsi

T. thymallus balıkları Kuzey Avrupa tatlı sularında bulunur (Roberts ve Shepherd 1991).

2.2.4. *Salvelinus* cinsi

Bu cinse dair balıkların karakteristik ayırıcı özelliği ağzın üzerinde yer alan uzunlamasına kemik olarak yerleşen vomer kemiğidir. Bu kemik alabalık ve salmonlarda düzdür ve aşağı inen bütün yolları dişlerle kaplıdır. Halbuki bu cins üyelerinde gemi omurgası şeklindedir ve sadece üst kısımda olmak üzere çok az diş bulunur. Bu cinse ait balıklar ABD, Kanada ve bazı avrupa ülkelerinde yeniden stoklamak için yetiştirilir. Normal olarak soğuk sularda yaşarlar (Roberts ve Shepherd 1991).

2.3. Gökkuşağı Alabalığı Yetiştiriciliği

Dünyada su ürünleri yetiştiriciliği, öncelikle tatlısularda yapılan balık yetiştiriciliği çalışmalarıyla başlamıştır. Tatlısulardan yetiştiricilik yoluyla elde edilen üretimin, ihtiyacı karşılayamaması ve denizlerden avlanan su ürünlerinin yıldan yıla

azalması, deniz balıklarının da yetiştiricilik yoluyla elde edilmesi zorunluluğunu ortaya koymuş ve buradan hareketle denizde ağ kafeslerde balık yetiştiriciliği çalışmaları başlamıştır.

Türkiye’de balık yetiştiriciliği denilince akla, öncelikle tatlısuda yapılan balık yetiştiriciliği gelmektedir. Dünyada olduğu gibi, ülkemizde de tatlısuda yetiştirilen balık türleri arasında alabalığın önemi büyüktür. Ancak alabalıkların tuzlusuya olan adaptasyon yeteneklerinden dolayı son yıllarda bu balık türünün denizde ağ kafeslerde yetiştirilmesi hızlı bir artış içerisinde girmiştir (Yiğit ve Aral 1999).

Alabalık türleri içerisinde yetiştiriciliği en yaygın olanı Kuzey Amerika kökenli Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) olmuştur (Şekil 2.1). Gökkuşağı alabalığı yaklaşık 130 yıl önce Kuzey Amerika’dan Avrupa’ya getirilmiş ve Gökkuşağı Alabalığı yetiştiriciliği hızlı bir artış göstermiş olup günümüzde bir endüstri haline gelmiştir (Çağiltay 2007).



Şekil 1.1. *Oncorhynchus mykiss* (Gökkuşağı alabalığı) (Anonim 2018)

Gökkuşağı alabalığının vücudu, kısmen basık bir yapılanma gösterir. Sırtta bir yağ yüzgeci mevcuttur. Yumurtlama dönemlerinde akarsuların kaynak kısımlarına yakın yerlerde yaşamlarını sürdürürler ve yumurtlama akarsuyun kumlu ve çakıllı tabanında olur. Vücut kenarları gümüş, beyaz veya soluk sarı-yeşilden griye eğilimli bir renktir (Özgür 2008).

Gökkuşağının taksonomik sınıflandırılması ile ilgili olarak 30’dan fazla tür ismi tanımlanmıştır. Uzun yıllar *Salmo gairdneri* R. ismiyle bilinmiştir. Ancak 1988’de Amerika Balıkçılık Derneği Balık İsimlendirme Komitesi, bütün Pasifik alabalık ve salmonlar için *Oncorhynchus*’un cins ismi olarak kullanılmasını ve böylelikle, Atlantik alabalık ve salmonlardan ayırt edilmesini kararlaştırmıştır. Böylece gökkuşağının tür ismi olarak bilinen *Salmo gairdneri* yerine *Oncorhynchus mykiss* olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu isim değişikliği uluslar arası düzeyde de kabul görmüştür (Özgür 2008).

Ülkemizdeki yetiştiriciliği 1969-1970’li yıllara dayanmaktadır. Bugün bazı illerimizde alabalık çiftliği sayısı 60-70’i bulmaktadır. Bu çiftlik yoğunluğu sektörün çok hızlı geliştiğinin belirgin bir işaretidir. Hızlı gelişmeye paralel olarak üretimde, beslemede ve sağlıkta değişik problemlerin ortaya çıkması oldukça doğal bir sonuçtur. Bu nedenle, problemlerden daha az etkilenmek için balığın beslenmesi, üretilmesi, ıslah ve hastalık ile tedavi yöntemleri konusunda sürekli bir dinamizm söz konusudur. Tüm

bu gelişmelerin aktif olarak izlenmesi ve uygulanması, sorunsuz bir yetiştiricilik faaliyetlerinin sürdürülmesini sağlar (Kürüm vd. 1998).

Gökkuşuğu alabalığının tercih edilmesinin başlıca nedenlerini şu şekilde özetlemek mümkündür:

- 1-) Gökkuşuğu alabalığının çevre koşullarına çok iyi uyum göstermesi yanında özellikle yüksek sıcaklıklara oransal olarak dayanıklı olması,
- 2-) Aktif yem alması nedeniyle yemlenmesinin kolay olması ve yemi değerlendirmesinin daha iyi olması nedeniyle iyi bir büyüme göstermesi,
- 3-) Daha yüksek ilkbahar sıcaklığında diğer alabalık türlerine göre daha kısa süreli kuluçka dönemine sahip olması,
- 4-) Sağım, döl alımı, yavruların yapay yemlerle beslenmesi ve büyüme işlemlerinin daha kolay olması, dolayısıyla daha ekonomik olması,
- 5-) Diğer türlere göre hastalıklara daha dayanıklı olması,
- 6-) Yetiştiriciliğinin 100 yılı aşkın süreden beri yapıyor olması nedeniyle pek çok yetiştiricilik sorununun çözümlenmiş olması (Kürüm vd. 1998).

2.4. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Balık Hastalıklarının Önemi

Dünyanın birçok bölgesinde kemikli balıklar insanlar için başlıca hayvansal protein kaynağıdır. Artan dünya nüfusu, doğal balık stokları üzerine aşırı avlanma baskısı ve balığa olan yoğun talep gibi birçok faktör balık yetiştiriciliğinin artmasına neden olmuştur. Diğer hayvansal üretim sistemlerinde olduğu gibi gerek ağ kafeslerde yapılan yetiştiricilik faaliyetleri gerekse karada kurulu üretim tesislerinde yapılan yetiştiricilik çalışmalarında hastalıklar başarılı üretimi sınırlayan başlıca faktörler arasında yer alır (Vijayan vd. 2015). Hastalık bir balığa veya bir popülasyona zarar vererek, onu veya onları dezavantajlı duruma sokan herhangi bir durum olarak tanımlanabilir. Hastalık abiyotik veya biyotik kökenli olabilir. Bir hastalık genetik bir bozukluktan kaynaklanabildiği gibi, fiziksel bir yaralanma, beslenme bozuklukları veya kirlilik gibi abiyotik faktörler, mikroorganizmalar veya bütün bu faktörlerin bir kombinasyonu şeklinde de ortaya çıkabilir (Timur ve Timur 2003). Balıklarda görülen ve ölümcül enfeksiyonlara neden olan enfeksiyöz hastalıklar, bakteri, mantar, virüs ve parazit türü mikroorganizmalardan kaynaklanır (Arda vd. 2002). Doğal koşullarda hastalanan balıklar avcılar tarafından hızla popülasyondan uzaklaştırılır. Bu nedenle, doğal ortamda balık hastalıkları fazla dikkati çekmez. Ayrıca, doğal ortam koşullarında balık yoğunluğu kültür koşullarındaki gibi olmadığından mikroorganizmalar önemli olmayabilir. Ancak, kültür koşullarında yoğunluk ve stres arttığından enfeksiyon hastalıkları görülme sıklığı artar. Kültür koşullarında balık hastalıkları üreticilerin maddi kayıplarının önemli bir kısmını oluşturur. Hastalıkların görülmesi ile ölen balıklar için yapılan yatırım, tedavi masrafları ve iyileşme döneminde görülen yavaş büyüme üretim maliyetlerini arttırır (Kürüm vd. 1998). Balıklarda görülen bulaşıcı hastalıklar genellikle balıkların optimal yaşam koşullarının mikroorganizma lehine, balığın ise aleyhine değiştiği ve konak-mikroorganizma-çevre dengesinin bozulduğu durumlarda ortaya çıkmaktadır. Balıkları sağlıklı koşullarda tutmak, kazanç ve işletmenin geleceği ile yakından ilişkilidir. Bu da ancak koruyucu önlemlerin alınması ile sağlanabilmektedir (Arda vd. 2002).

2.5. Kültür Gökkuşığı Alabalıklarında Gözlenen Başlıca Bakteriyel Enfeksiyonlar

2.5.1. Gram-negatif bakteri türlerinden kaynaklanan enfeksiyonlar

2.5.1.1. Enterik kızıl ağız hastalığı (Yersiniozis)

Enterik kızıl ağız hastalığı (ERM) ya da yersiniozis sistemik bakteriyel bir enfeksiyon olup tüm dünyada ciddi ekonomik kayıplara neden olur (Zorriehzahra vd. 2017; Huang vd. 2015). Hastalığın etkeni *Yersinia ruckeri* ilk kez 1950'li yıllarda Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nin Hagerman Idaho vadisinde gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss*)'dan izole edilmiştir. Günümüzde ERM Kuzey ve Güney Amerika, Avrupa, Avustralya, Güney Afrika, Orta Doğu ve Çin de mevcuttur (Zorriehzahra vd. 2017; Kumar vd. 2015). *Y. ruckeri* *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan enterik bir bakteri türüdür. Tür; Gram-negatif, 0.5-0.8x1.3-3.0 µm boyutlarında, kapsülsüz ve çoğunlukla flagellalı olup, suşlar değişebilir hareketlilik özelliği gösterir (Zorriehzahra vd. 2017). *Y. ruckeri* izolatlarının G+C oranı %47.5-%48.5'tur. Yapılan çalışma sonuçlarına göre, bakterinin biyokimyasal olarak homojenlik gösterdiği ortaya koyulmuştur. Günümüzde *Y. ruckeri*'nin beş O-serotipinin (O1, O2, O5, O6 ve O7), beş dış zar protein çeşidinin (OMP 1-5) ve iki biyotipinin bulunduğu ve hastalık çıkışları ile balık kayıplarından *Y. ruckeri* O1 serotipinin sorumlu olduğu bildirilmiştir (Zorriehzahra vd. 2017; Tkachenko vd. 2016).

Y. ruckeri gökkuşığı alabalığı, göl alabalığı (*Salvelinus namaycush*), kahverengi alabalık (*Salmo trutta*) ve Atlantik salmonu (*Salmo salar*) olmak üzere başlıca gökkuşığı alabalığını etkiler (Huang vd. 2015; Kumar vd. 2015). Çizege 2.2.'de ERM'den etkilenen balık türleri verilmiştir (Zorriehzahra vd. 2017).

Çizelge 2.2. ERM'den etkilenen balık türleri (Zorriehzahra vd. 2017)

<u>Yaygın isim</u>	<u>Bilimsel isim</u>
Gökkuşığı alabalığı	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
Atlantik salmonu	<i>Salmo salar</i>
Mersin	<i>Acipenser sturio</i>
Morina	<i>Gadus morhua</i>
Nil tilapyası	<i>Oreochromis niloticus</i>
Kahverengi alabalık	<i>Salmo trutta</i>
Kalkan	<i>Scophthalmus maximus</i>
Sazan	<i>Cyprinus carpio</i>
Avrupa yılan balığı	<i>Anguilla anguilla</i>
Kanal kedi balığı	<i>Ictalurus punctatus</i>
Avrupa levrek balığı	<i>Dicentrarchus labrax</i>

ERM'den etkilenen balıklarda çeşitli dokularda özellikle ağız etrafında, kaslarda, karın zarı ve arka bağırsakta kanamalar görülür (Huang vd. 2015). Hastalığın preakut-akut formu genellikle su sıcaklığının ilkbahar ve yaz ayları başlangıcında görülürken, akut-subakut formları ise su sıcaklığında düşüşlerin yaşandığı sonbahar ve kış mevsimi başlangıcında görülür (Zorriehzahra vd. 2017). Akut epizootikler balığın büyüklüğüne, stres durumuna, su sıcaklığına, balığın hassasiyetine ve suşun virülensine bağlı olarak balık kayıpları ile sonuçlanabilir (Zorriehzahra vd. 2017). Hasta balıklarda durugunluk,

deri renginde koyulaşma, yüzey yakınında yüzme ve iştahsızlık gözlenen bulgular arasında yer alır (Zorriehzahra vd. 2017). İç organlarda da kanamalar görülür (Tkachenko vd. 2016). Peteşiyel kanamalara karaciğer, pankreas, pilorik seka, hava kesesi ve yan kaslarda da rastlanır. Dalak genellikle büyümüş ve rengi koyulaşmıştır. Arka bağırsakta kırmızı renkte olup, opak-sarımsı sıvı ile doludur (Kumar vd. 2015).

Y. ruckeri enfeksiyonları enfekte ve enfekte olmayan balıklar arasında doğrudan temas ile nakledilebilir (Kumar vd. 2015). *Y. ruckeri* konak dışında suda, sedimentte veya balık tanklarının biyofilminde birkaç ay canlı kalabilir (Huang vd. 2015). Dkiye nakil henüz bildirilmemiştir (Zorriehzahra vd. 2017). Hastalığın tedavisine yönelik antimikrobiyal ilaçlar kullanılmakla birlikte, *Y. ruckeri* suşlarının birçok antimikrobiyal ilaca karşı direnç geliştirdiği bildirilmiştir (Zorriehzahra vd. 2017). Piyasada ticari aşılar mevcuttur. Stres faktörlerini azaltma ve aşı uygulamaları yersiniozis'i önlemede etkili olduğu bildirilmiştir (Tkachenko vd. 2016).

2.5.1.2. Bakteriyel soğuksu hastalığı

Flavobacterium psychrophilum (önceden *Cytophaga psychrophila*, *Flexibacter psychrophilus*) salmonid balık türlerinde bakteriyel soğuksu hastalığına neden olurken, genç balıklarda görülen gökkuşağı alabalığı fry mortalite sendromu (FMS)'nin da etiyolojik etkenidir (Castillo vd. 2012). Bakteriyel soğuk su hastalığı genellikle su sıcaklığının 16 °C'nin altında olduğu zamanlar görülür. Hastalık 4-10 °C de epizotikler oluşturur ancak hastalıktan dolayı balık kayıpları su sıcaklığı 15-18 °C'ye yükseldiğinde genellikle azalır (Starliper 2011; Cipriano ve Holt 2005). Son yıllarda Kuzeybatı Pasifik'te bulunan bazı balık kuluçkahanelerinde juvenil alabalıklarda su sıcaklığı 15-18°C'ye yükseldiğinde bakteriyel soğuk su hastalığının görüldüğü ve balık kayıplarının meydana geldiği bildirilmiştir (Cipriano ve Holt 2005). Bakteriyel soğuk su hastalığı genel olarak daha yüksek su sıcaklıkları ile alakalı değilken, bazı araştırmacılar hastalığı 18 °C su sıcaklığına sahip nehirlerdeki doğal ayu balıklarında gözlemlediklerini bildirmiştir (Cipriano ve Holt 2005). Epizotikler su sıcaklığına, konağın gelişim evresine de bağlıdır (Cipriano ve Holt 2005). *F. psychrophilum* 1948 de Kuzeybatı Pasifik'te gümüş (coho) salmon (*Oncorhynchus kisutch*)'undan izole edilmiştir. Bakteriyel soğuk su hastalığı Kuzey Amerika'daki salmonid balık türlerinden yoğun bir şekilde bildirilmekle birlikte, hastalık pekçok Avrupa ülkesinde gökkuşağı alabalığı fry sendromu, fry mortalite sendromu veya viseral myxobakteriyozis olarak bilinmektedir (Cipriano ve Holt 2005). *F. psychrophilum* salmonid balık türleri ile ayu (*Plecoglossus altivelis*), Avrupa yılan balığı (*A. anguilla*) ve tatlı su levreği (*Perca fluviatilis*) gibi salmonid olmayan çeşitli balık türlerinden de bildirilmiştir (Elsayed vd. 2006). Çizelge 2.3'de *F. psychrophilum*'un izole edildiği çeşitli balık türleri verilmiştir.

Çizelge 2.3. *F. psychrophilum*'un izole edildiği çeşitli balık türleri (Cipriano ve Holt 2005)

<u>Yaygın isim</u>	<u>Bilimsel isim</u>
Coho salmonu	<i>Oncorhynchus kisutch</i>
Chinook salmonu	<i>O. tshawytscha</i>
Sockeye salmonu	<i>O. nerka</i>
Chum salmonu	<i>O. keta</i>
Atlantik salmonu	<i>Salmo salar</i>
Kahverengi alabalık	<i>S. trutta</i>
Deniz alabalığı	<i>S. trutta</i>
Gökkuşığı alabalığı	<i>O. mykiss</i>
Çelikbaş alabalığı	<i>O. mykiss</i>
Göl alabalığı	<i>Salvelinus namaycush</i>
Ayu	<i>P. altivelis</i>
Sazan	<i>C. carpio</i>
Avrupa yılan balığı	<i>Anguilla Anguilla</i>
Kadife balığı	<i>Tinca tinca</i>
Tatlı su levreği	<i>Perca fluviatilis</i>

Bakteriyel soğuk su hastalığından etkilenen balıklarda hastalığın klasik bulgusu vücut yüzeylerinde gözlenen açık lezyonlardır. Enfeksiyon ilerledikçe bakterilerin yerleşme gösterdikleri kısımlarda nekroz gelişir (Starliper 2011). Hastalıktan etkilenen gökkuşığı alabalıklarında deri renginde koyulaşma, abdominal kısımda sıvı birikmesi nedeni ile abdominal şişkinlik, anormal yüzme davranışı, yeme ilgisizlik ve iki taraflı ekzoftalmi gözlenir (Starliper 2011; Cipriano ve Holt 2005). Gökkuşığı alabalığı fry sendromu *F. psychrophilum*'un neden olduğu diğer bir hastalık formudur. Hastalığın isminden anlaşıldığı gibi gökkuşığı alabalığı fry sendromu balıkların erken evrelerini veya keseli fry'dan ilk yem alımı dönemine kadar olan evredeki balıkları etkiler. Hastalığın bu formu akut olup balık popülasyonları arasında yüksek oranda ölümle sonuçlanabilir. Durgunluk, ekzoftalmi (çoğu kez iki taraflı), koyu deri pigmentasyonu ve solgun solungaçlar gökkuşığı alabalığı fry sendromu'nun diğer karakteristik hastalık bulgularıdır (Starliper 2011). *F. psychrophilum* Gram-negatif, ince, uzun, 0.75-1.0 x 3-5 µm boyutlarında bir bakteri türüdür (Starliper 2011; Elsayed vd. 2006). İzolatlar balık hastalıkları teşhis laboratuvarlarında rutin olarak kullanılan beyin kalp infüzyon agar (BHIA), kanlı vasat ve tryptic soy agar (TSA) gibi yüksek nütrient içerikli vasatlarda gelişme gösteremez veya yeterince gelişemez (Cipriano ve Holt 2005). Pek çok *F. psychrophilum* izolatının sitokrom oksidaz ve katalaz pozitif olduğu, jelatin ve kazeini hidrolize ettiği ve flexirubin tip pigment ürettiği bildirilmiştir (Cipriano ve Holt 2005).

F. psychrophilum yatay olarak nakledilebildiğinden, su sütunu canlı bakteri hücrelerinin hareket ettiği bir ortamdır. *F. psychrophilum*'un rezervuarları arasında patojeni taşıyan balıklar, bakteriyi saçan hasta ve ölü balıklar ve su stokları yer alır. *F. psychrophilum*'un konak dışında uzun süre canlı kalabildiği ve balık dışında diğer sucul hayvanlarda da bulunabildiği ayrıca dikey olarak nakledilebildiği bildirilmiştir. Bakteri seksüel yönden olgun chum, coho ve chinook salmonu, gökkuşığı alabalığı ve çelikbaş ile Atlantik salmonunun yumurtalık sıvılarından, yumurtadan, yumurta yüzeylerinden, süt, mukus ile böbrekten izole edilmiştir (Starliper 2011). Bakteriyel soğuk su hastalığından korunmak amaçlı patojenin işletmeye girişini azaltan ve hastalık

çıkışlarını minimize eden işletme stratejilerini uygulamak tercih edilen alternatifler olup hali hazırda ticari olarak aşilar mevcut değildir (Cipriano ve Holt 2005).

2.5.1.3. Furunkulozis

Furunkulozis *Aeromonas salmonicida*'nın neden olduğu sistemik bir bakteriyel enfeksiyondur. Hastalık ilk kez 1894'de hasta kahverengi gökkuşağı alabalığında gözlenmiştir. Daha sonra, bakteri ile deneysel enfeksiyon oluşturulmuş ve bakteriye *Bacterium salmonicida* ismi verilmiştir. 1902'de Amerikan biyologlar benzer organizmayı kültür kahverengi (*Salmo trutta*) alabalığı ile dere alabalığı (*Salvelinus fontinalis*)'ndan izole ederek bakteriye *Bacterium truttae* ismi verilmiştir. Günümüzde yapılan taksonomik çalışma sonuçlarına göre, bakteri *Aeromonas salmonicida* olarak yeniden adlandırılmıştır (Bruno 2015; Chalkoo vd. 2007; Engelking 1999). *A. salmonicida* geniş bir coğrafik dağılıma sahip olup, tür K. Amerika, Avrupa, Avustralya ve Asya da da endemiktir (Engelking 1999).

Furunkulozis'in akut ve kronik formları su sıcaklığına, balığın yaşına ve suşun patojenitesine bağlı olarak değişebilir (Bruno 2015). Furunkulozis'in tipik bulguları çibanlar ve deride gözlenen ülserlerdir. Nekropsi de bağırsak yangısı özellikle pilorik ve rektal bölgelerde görülür. Hava kesesi hiperemiktir. Küçük benekler ve kanamalar operkulumun iç kısımlarında, gözlerde ve yüzgeçlerde rastlanır (Chalkoo vd. 2007). Kronik evrede balıklarda durgunluk, iştahsızlık, deri renginde koyulaşma ile birlikte ekzoftalmi, pektoral, pelvik ve anal yüzgeçlerin taban kısımlarında kanamalar görülür. Nekropsi de asites, dalakta büyüme ve karaciğerde subkapsüler kanama da gözlenebilir (Bruno 2015). Kronik evrede gözlenen deri ülserlerinden bakteriler etrafa yayılabilir ve bu durum enfeksiyonun yayılmasına yardımcı olur (Bruno 2015).

Aeromonas salmonicida subsp. *salmonicida* Gram-negatif, hareketsiz, fakültatif olarak anaerobik, 1.3-2.0x0.8-1.3 µm büyüklüğünde kısıdan oval çomak şekilli formlara sahip bir bakteri türüdür (Bruno 2015; Engelking 1999). *Aeromonas* cinsi (gaz üreten) *salmonicida* ismi ise salmon öldürücü anlamına gelmektedir. Bakteri spor oluşturmaz, cinsin diğer üyelerinin tersine az veya hiç gaz üretmez. Gelişme sıcaklığı 6 ila 34.5 °C'dir. *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*'nın optimum gelişme sıcaklığı 20 ile 22 °C'dir (Chalkoo vd. 2007; Engelking 1999). Atipik *A. salmonicida* koloni büyüklüğü, gelişme oranı, kanlı vasatta hemoliz ve sükroz fermentasyonu ile ilgili morfolojik ve biyokimyasal farklar ile tipik *A. salmonicida*'dan ayırt edilir (Bruno 2015). *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* ile ekimli Petri kutularında 20 °C'de agarlı besiyeri koyulaşır ve ortamda oksijenin varlığında melanin oluşumundan dolayı 2-3 gün içerisinde besiyerinin rengi siyahlaşabilir. *A. salmonicida*'nın son yıllarda konak dağılımı artış göstererek sazan ve turna gibi salmonid olmayan balık türlerinden de bildirilmiştir (Chalkoo vd. 2007).

Furunkulozis hastalığının önlenmesi iyi sağlık yönetimi ve uygun tedavi uygulamaları ile hastalığın önlenmesi sağlanabilir. Antibiyotiklerin furunkulozis'i tedavi etmede etkili olmasına karşın, antibiyotik direnci ve antimikrobiyal ilaçların uygulanmasına yönelik kısıtlamalar ilaç uygulamalarında sıkıntı yaratmaktadır (Engelking 1999). Piyasada ticari aşilar bulunduğundan hastalığın kontrolü mevcuttur (Bruno 2015).

2.5.1.4. Hareketli *Aeromonas* Septisemisi (MAS)

Hareketli *Aeromonas* Septisemisi (MAS) tüm dünyada deniz, tatlı su ve acı su sistemlerinde görülen, havuzlarda ve resirküle yetiştiricilik sistemlerinde yetiştiriciliği yapılan balıkların en yaygın hastalıkları arasında yer alır (Hanson vd. 2014; Camus vd. 1998). Hastalık; hareketli *Aeromonas* septisemisi (MAS), hemorajik septisemi, kızıl veba ve *Aeromonas* septisemisi gibi çeşitli isimler ile anılır (Yardımcı ve Aydın 2011; Camus vd. 1998). Hareketli *Aeromonas* türleri balık çiftliklerinde görülen önemli balık kayıplarından sorumlu olup pullu ve pulsuz tüm balık türlerş enfeksiyona karşı duyarlıdır. Bazı koşullarda balık kayıpları %100'e ulaşabilir (Camus vd. 1998). Hareketli *Aeromonas* türleri balıkların yanı sıra sürüngenlerde, kurbağalarda, kuşlarda ve insan dahil memelilerde hastalığı neden olur (Hanson vd. 2014).

MAS'ın yoğun patolojisi per akut vakalarda birkaç iç veya dış bulgudan, akut vakalarda hemorajik septisemiye, kronik vakalarda ise abse ve ülserlere kadar değişebilir (Hanson vd. 2014). Hastalığın inkübasyon süresi balığın türüne, direncine, içinde bulunduğu su ortamının çevresel koşullarına ve mevsime bağlı olarak değişir. Bu süre doğal enfeksiyon durumlarında 2-4 gün iken, deneysel olarak oluşturulan enfeksiyonlarda ise 8 ile 48 saat arasında değişebilmektedir (Yardımcı ve Aydın 2011). Hastalıktan etkilenen balıklarda iştahsızlık, havuz duvarına ve taban kısımlarına yakın yüzmeye, suda yüzen bağırsak şekilli feçesler ile zayıflama yaygın olarak görülen bulgular arasındadır (Yardımcı ve Aydın 2011). Ekzoftalmi, şişkin abdomen ve solgun solungaçlar hastalıkta gözlenen diğer bulgular arasında yer alır (Camus vd. 1998). Hastalığın akut formunda öldürücü septisemi bulgusuz veya birkaç bulgu ile gelişebilir. İnternal olarak karaciğer ve böbrekler akut septisemisinin hedef organları olup karaciğerde solgunluk, böbreklerde ise şişkinlik gözlenir (Yardımcı ve Aydın 2011).

Daha önce fenotipik özelliklerine göre Vibrionaceae familyası içerisine dahil edilen *Aeromonas* cinsi yapılan moleküler genetik çalışmalarla *Aeromonadaceae* familyasında yer alması gerektiği bildirilmiştir (Poobalan S. 2007). *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*'nin son baskısına göre (Martin-Carnahan ve Joseph 2005), *Aeromonas hydrophila*, *A. bestiarum*, *A. salmonicida*, *A. sobria*, *A. veronii* (biovarları *sobria* ve *veronii*), *A. jandaei*, *A. media*, *A. schubertii*, *A. trota*, *A. allosaccharophila*, *A. encheleia*, *A. popoffii* ve *Aeromonas* sp. HGII ile *Aeromonas* sp. HG13 türleri *Aeromonas* cinsinde yer alır (Martínez-Murcia vd. 2008). Hareketli *Aeromonas* türleri içerisinde *Aeromonas hydrophila*, *A. sobria* ve *A. caviae* en sık izole edilen hareketli *Aeromonas* türleri arasındadır. Bu grubun tüm üyeleri hareketli, Gram-negatif, çomak şekilli olup genel olarak çevresel suşların hasta balıklardan izole edilen suşlara göre daha az patojenik olduğu bildirilmiştir (Camus vd. 1998). Çizelge 2.4'de bazı *Aeromonas* türlerinin fenotipik ayırt edici özellikleri verilmiştir (Martínez-Murcia vd. 2008).

Çizelge 2.4. Bazı *Aeromonas* türlerinin ayırt edici fenotipik özelliklerinin izole edildiği çeşitli balık türleri (Martínez-Murcia vd. 2008).

Türler		1	2	3	4	5	6	7	8
<i>A. hydrophila</i>		-	+	+	+	+	-	+	d
<i>A. bestiarum</i>		-	+	+	+	+	-	+	+
<i>A. salmonicida</i>	-	+	+	+	+	-	+	+	
<i>A. caviae</i>		-	-	-	+	-	-	-	+
<i>A. media</i>		+	-	-	+	-	-	-	+
<i>A. sobria</i>		-	+	+	+	+	-	+	-
<i>A. veronii</i> bv. <i>veronii</i>		-	+	+	+	+	-	+	d
<i>A. schubertii</i>		-	-	-	-	+	-	+	-
<i>A. trota</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	
Türler		9	10	11	12	13	14	15	16
<i>A. hydrophila</i>		+	-	+	-	+	+	+	+
<i>A. bestiarum</i>		+	-	+	-	d	+	+	-
<i>A. salmonicida</i>	+	+	+	(-)	(-)	+	+	-	
<i>A. caviae</i>		+	-	+	+	+	+	+	d
<i>A. media</i>		+	-	+	+	d	+	+	+
<i>A. sobria</i>		+	-	+	+	-	-	-	-
<i>A. veronii</i> bv. <i>veronii</i>		+	-	+	d	-	-	-	-
<i>A. schubertii</i>		-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. trota</i>	+	-	-	+	-	-	d	+	

1: kahverengi pigment üretimi, 2: glukozdan gaz oluşturma, 3: sisteinden H₂S üretimi, 4: indol üretimi, 5: lizin dekarboksilaz, 6: ornitin dekarboksilaz, 7: Voges-Proskauer, 8: L-arabinoz'dan asit üretimi, 9: D-mannitol'den asit üretimi, 10: sorbitol'den asit üretimi, 11: sükroz'dan asit üretimi, 12: sellobiyoz'dan asit üretimi, 13: salisin'den asit üretimi, 14: eskülin hidrolizi, 15: arbutin hidrolizi, 16: l-laktat kullanımı, +: suşların %85-100'ü pozitif, d: suşların %16-84'ü pozitif, -: suşların %0-15'i pozitif, (-): tip suş çalışmalarından elde edilen sonuçlar.

Hareketli *Aeromonas* türleri fırsatçı balık patojenleridir. Yetersiz su koşulları gibi çevresel stres faktörleri hastalık çıkışlarını hızlandırır (Camus vd. 1998). Elleme, sıcaklık şoku, yüksek su sıcaklıkları, pH düzensizlikleri, düşük çözünmüş oksijen ile yüksek amonyak ve nitrit seviyeleri hastalığın gelişmesini hızlandıran faktörler arasında yer alır (Zaki 2004; Camus vd. 1998). Enfeksiyonlar herhangi bir yaş grubundaki balıklarda görülebilir. Hastalığın görülmesi genellikle mevsimsel olup hastalık çıkışları ilkbaharda ve yaz mevsimi başlangıcı ile sonbaharda pik yapar (Camus vd. 1998). Hareketli *Aeromonas* türlerinin neden olduğu enfeksiyonların önlenmesinde çevresel stresi belirleyip elimine etmek önemlidir. Sistemik bakteriyel enfeksiyonlar sadece antibiyotikli yemlerin kullanılması ile tedavi edilebilir. Ancak, bunun için erken teşhis yapılmalı ve hasta balıklar mümkün olduğunca erken antibiyotikli yemle tedavi edilmelidir (Camus vd. 1998). Hastalığı önlemeye yönelik aşı geliştirme çalışmalarının yapılmasına karşın, ticari aşılar henüz mevcut değildir (Yi vd. 2014). Farklı aeromonas suşları arasındaki belirgin genetik çeşitlilik olması hastalığa karşı etkili aşılardan geliştirilmesini güçleştirdiği bildirilmiştir (Camus vd. 1998).

2.5.2. Gram-pozitif bakteri türünden kaynaklanan enfeksiyonlar

2.5.2.1. Laktokokkozis

Laktokokkozis gökkuşağı alabalığı kültürünü etkileyen önemli bulaşıcı hastalıklar arasında yer almakta olup hastalık ilk kez 1990'lı yılların başlarında İspanya dan daha sonraları ise Bulgaristan, Fransa, Portekiz, Türkiye ve Yunanistan dahil olmak üzere Avrupa'nın farklı ülkelerindeki kültür gökkuşağı alabalıklarında görüldüğü bildirilmiştir (Kurtoğlu ve Korun 2018).

Hastalık etkeni *Lactococcus garvieae* zoonotik bir patojen olup insandan, çeşitli balık türlerinden ve sığırlardan izole edilmiştir. Etken bakteri türü ayrıca nil tilapyası (*O. niloticus*) gibi tropikal balık türünden de bildirilmiştir (Fukushima vd. 2017; Raissy ve Moumeni 2016). Çizelge 2.5'de hastalıktan etkilenen balık türleri verilmiştir (Meyburgh vd. 2017).

Çizelge 2.5. Laktokokkozis'den etkilendiği bildirilen bazı balık türleri (Meyburgh vd. 2017).

<u>Yaygın isim</u>	<u>Bilimsel isim</u>
Japon yılan balığı	<i>Anguilla japonica</i>
Nil tilapyası	<i>Oreochromis niloticus</i>
Pisi	<i>Paralichthys olivaceous</i>
Gökkuşağı alabalığı	<i>O. mykiss</i>
Kral balık	<i>Seriola quinqueradiata</i>
Gri kefal	<i>Mugil cephalus</i>
Kedi balığı	<i>Silurus glanis</i>

Balık havuzlarındaki yetersiz su kalitesi ve yüksek su sıcaklıkları balıkların *L. garvieae* enfeksiyonlarına olan hassasiyetini arttırmaktadır (Fukushima vd. 2017). Hastalıkta görülen ölüm oranı; konağın fizyolojik durumuna, çevresel faktörlere, su kalitesine ve suyun sıcaklığına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Raissy ve Moumani 2016).

Laktokokkozis sistemik hiperakut hemorajik sepsisemi ile karakterize bakteriyel bir enfeksiyondur (Fukushima vd. 2017; Meyburgh vd. 2017). Hastalığın başlangıcında iştahsızlık, deri renginde koyulaşma, düzensiz yüzme, durgunluk, denge kaybı, tek veya iki taraflı ekzoftalmi, asites, periorbital ve intraoküler bölgeye, yüzgeçlerin taban kısımlarında, perianal bölgede ve operkulumlarda kanamalar görülür. Nekropside karın boşluğunda asidik sıvı birikimi, karaciğer ve dalakta büyüme ile beyin örtün eksudat gözlenir (Fukushima vd. 2017; Meyburgh vd. 2017).

Hastalığın etkeni *L. garvieae* önceleri *Streptococcus garvieae* olarak isimlendirilmiştir. Daha sonraları, bakteri için *Enterococcus seriolicida* şeklinde isim değişikliği önerilmiştir (Korun vd. 2017). *L. garvieae* Gram-pozitif, fakültatif anaerobik, hareketsiz bir bakteri türü olup endospor oluşturmaz. Bakteri 4 ile 45 °C arasındaki sıcaklıklarda gelişme gösterir. Türün optimal gelişme sıcaklığı 37 °C'dir. *L. garvieae* kısa zincirler ve çiftler halinde bulunur (Meyburgh vd. 2017).

Hastalığın tedavisinde antimikrobiyal ajanlar yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Meyburgh vd. 2017).

2.6. Balık Hastalıklarının Tedavisinde Antimikrobiyallerin Kullanımı

Dünya genelinde artış gösteren dünya nüfusunu beslemek amacı ile küresel balık ve kabuklu su ürünlerinin doğal stokları %80'e varan azalma ile aşırı tahribata uğratılmıştır. Bu azalmayı en aza indirebilmek için uygun ve güvenilir gıda üretim sistemleri içerisinde bulunan su ürünleri yetiştiriciliği üzerine yoğunlaşmıştır. 2014 yılında dünya da yetiştiricilik yolu ile 70.5 milyon ton balık ve 26.1 milyon ton alg üretimi gerçekleştirilmiştir (Watts vd. 2017). Su ürünleri yetiştiricilik sistemlerinde başlıca hedef balıkları yoğun üretim koşullarında ve en yüksek hızda üretmektir. Bununla birlikte, bu yoğun yetiştiricilik sistemlerinde stoklama yoğunluğu ile birlikte, besin kirliliği de artış göstermekte bu durum ise yetersiz su kalitesi ile sonuçlanmaktadır (Watts vd. 2017). Yoğun stoklama ve yetersiz su kalitesi ise ortamda patojen mikroorganizmaların çıkışını arttırmakta ve bu durum üretim oranı ve kalitesi üzerine negatif etkilere neden olmaktadır (Watts vd. 2017).

Bütün çok hücreli organizmalar enfeksiyonlara karşı duyarlıdırlar çünkü mikrobun bakış açısından çok hücreli canlıların dokuları zengin besin kaynaklarıdır (Sarmaşık 2003). Tüm dünyada bulaşıcı hastalıklardan kaynaklanan balık kayıpları önemli bir sorun olmakla birlikte tüm dünyada özellikle bakteriyel patojenlerin neden oldukları hastalıklardan dolayı balık üretimini tehdit etmektedir (Womala vd. 2018; Sarmaşık 2003).

Streptococcus spp., *Aeromonas* spp., *Flavobacterium* spp., *Edwardsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Vibrio* spp. ve *Mycobacterium* spp. tatlı suda bildirilen önemli balık patojenleri arasında yer alır (Womala vd. 2018). Bakteriyel balık hastalıklarını tedavi etmek amacı ile sürekli olarak antimikrobiyal ajanların kullanımı sucul çevrelerde daha dirençli bakteri suşları ile sonuçlanmakta olup sentetik antimikrobiyal ajanların devamlı kullanımı sonucu tüketiciler ve ortamda bulunan hedef dışı diğer organizmalar ise tehdit altında kalmaktadır (Türker vd. 2009). Ayrıca, bakteriler doğal süreçlerin bir sonucu olarak birçok antimikrobiyal ajana dirençli hale gelmektedir. Bu direnç konjugasyon, mutasyon ya da doğal çevrede yatay gen transferi ile gerçekleşmektedir (Watts vd. 2017).

Çeşitli bitkiler ile bakteriyel hastalıkların tedavisini gerçekleştirmek tarım, veteriner ve insan tıbbında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Antik çağlardan bu yana tıbbi bitkiler bulaşıcı hastalıkları tedavi etmek amacı ile kullanılmış olup bitkiler ile yapılan tedavilerin su ürünleri yetiştiriciliği açısından faydalı olduğu da bulunmuştur. Alternatif ajanlar olarak tıbbi bitkileri bulaşıcı hastalıkları tedavi etmede ve sentetik ajanların birçok yan etkisini azaltmada etkili olduğu da bildirilmiştir. Ayrıca, bitki kökenli ilaçlar tedavi kullanımı için daha ucuz kaynaklar olup bu alanda kemoterapötik ajanlara göre daha güvenilir ilaçlardır (Türker vd. 2009).

2.7. Astaksantin ve Kullanım Alanları

Astaksantin (3, 3'-dihydroxy- β , β -carotene-4, 4'-dione) 1970 yılında organik kimyacı İngiliz profesör Basil Churles Weedon tarafından keşfedilmiştir. Astaksantin mikroalg, somon, alabalık, krill, karides, kerevit ve kabuklular gibi doğada bulunan deniz organizmalarında doğal olarak bulunan bir karetonoitdir. Yeşil mikroalg *Haematococcus pluvialis* zengin astaksantin kaynağı olarak kabul edilir. *Chlorella*

zofingiensis, *Chlorococcum* spp. ve *Botryococcus braunii* gibi diğer mikroalglerde astaksantin içermektedir. Karetonoidler antioksidan özellikleri nedeni ile çeşitli hastalıklarda ve yaşlanma sürecinde teröpatik faydalar içerdiği bildirilmiştir. Astaksantin; lutein, zeaksantin ve cryptoksantin gibi A vitaminine dönüştürülemeyen bir ksantofil karetonoidtir (Köksal 2008).

Astaksantin balıklarda sentezlenemeyen yem orijinli bir karetonoidtir. Doğal ortamlarda yaşayan balıklarda astaksantin, balıkların avladıkları organizmalardan sağlanırken, yoğun yetiştiricilik sistemlerinde ise balıkların yemine ilave edilerek balıkların alması sağlanır (Choubert vd. 2006).

Astaksantin kullanım alanları su ürünleri yetiştiriciliği çalışmalarında başta salmon ve alabalık olmak üzere çipura, mercan, karides ve kerevit gibi ekonomik değere sahip türlerin ve akvaryum balıklarının renklendirilmesinde, antioksidan etkisi sebebi ile insan sağlığında kullanımı şeklinde sıralamak mümkündür (Köksal 2008). Astaksantin kullanımına yönelik en büyük pazarı su ürünleri yetiştiriciliği oluşturmakta olup alabalık, karides, süs balığı ve somon yetiştiriciliğinde pigment kaynağı olarak kullanılır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan astaksantin renk verici özelliğinin yanı sıra balıkların hızlı gelişimi için yaşama oranlarının artırılmasında da önemli bir yere sahip olup ülkemizde gökkuşağı alabalıklarının yemlerine katılarak verilmektedir (Akın 2005; Diler vd. 2005).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırmanın yapıldığı yer

Hasta balıkların morfolojik incelemeleri, nekropsileri ve iç organlarından bakteri izolasyonu işlemlerinde gerçekleştirilmiştir.

Bakterilerin identifikasyonu için gerekli olan mikrobiyolojik çalışmalar Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Uygulama Laboratuvarı-Mikrobiyoloji laboratuvarında (Şekil 3.1, Şekil 3.2) gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Uygulama laboratuvarı



Şekil 3.2. Uygulama laboratuvarı

3.1.2. Balık örneklerinin temin edilmesi

Çalışmada materyal olarak kullanılan hasta balıklar 2017 yılı üretim döneminde Nisan-Mayıs aylarında Antalya ilinde faaliyet gösteren ticari alabalık işletmelerinden temin edilmiştir (Şekil 3.3, Şekil 3.4, Şekil 3.5). Vücut ağırlıkları 56-225 g, vücut uzunlukları ise 16.5-24 cm arasında olmak üzere altı adet balık örneği ile çalışılmıştır. Çalışmanın yapılabilmesi için Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan gerekli izin alınmıştır (744 / 2018.03.003).



Şekil 2.3. Balık örneklerinin temin edildiği ticari alabalık işletmelerinden beton havuz



Şekil 3.4. Balık örneklerinin temin edildiği ticari alabalık işletmelerinden toprak havuz



Şekil 3.5. Balık örneklerinin temin edildiği işletmelerden birinin genel görünümü

3.1.3. Çalışmada kullanılan astaksantin eldesi

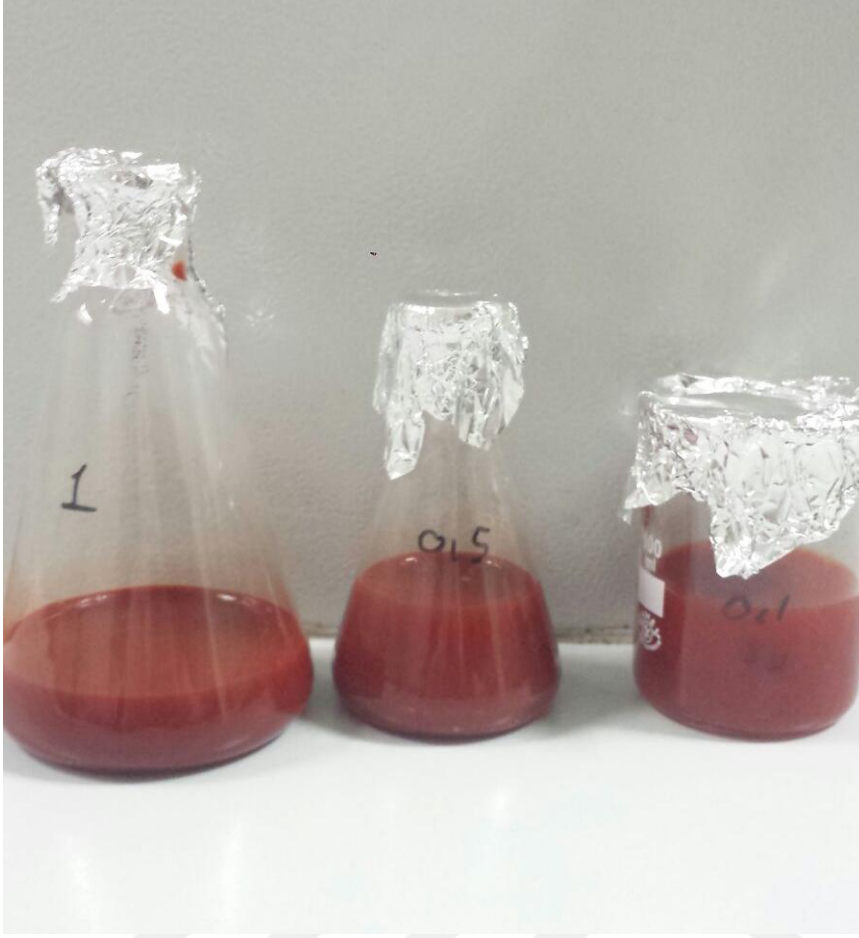
Çalışmalarda kullanılan astaksantin ticari olarak temin edilmiştir.

3.1.4. Çalışmada kullanılan besi yerleri ve solventler

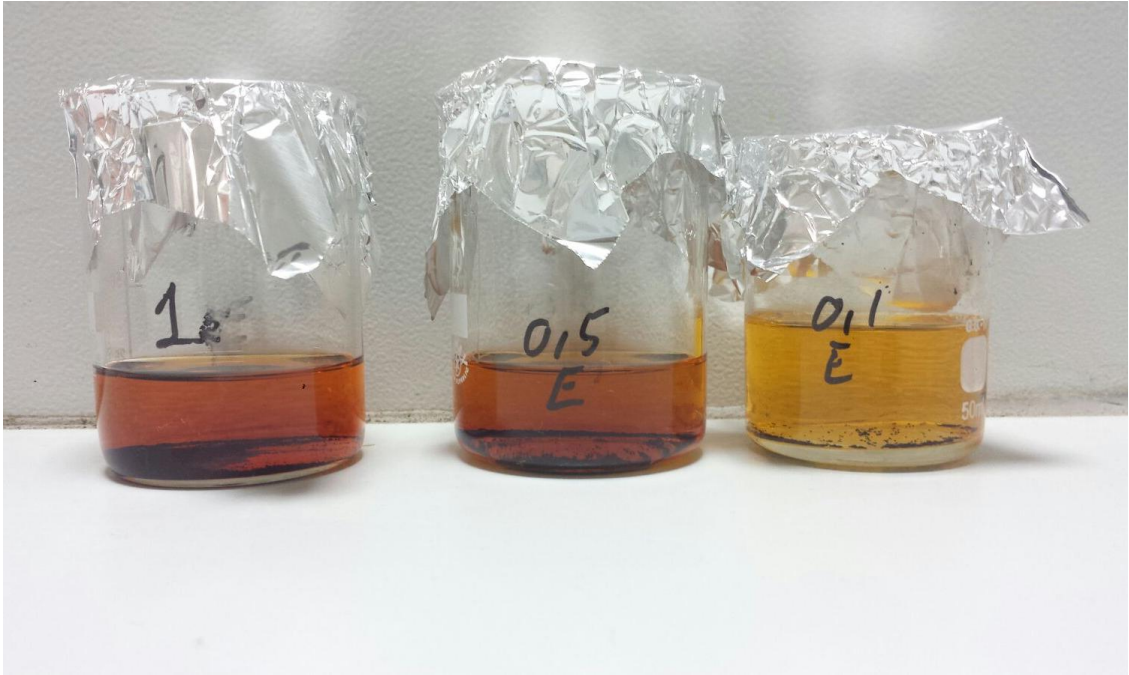
Çalışmada besiyeri olarak Beyin Kalp İnfüzyon Agar (BHIA), Metil Red-Voges-Proskauer buyyonu, O/F bazal vasatı (glükoz ilave edilmiştir), indol, nişasta, Moeller arjinin dihidrolaz, lizin ve ornitin dekarboksilaz besiyerleri, Mueller Hinton agar (MHA) ve Mueller-Hinton Buyyonu (MHB) de kullanılmıştır. Çalışmada solvent olarak su, metanol, etanol, kloroform ve 2-propanol de kullanılmıştır.



Şekil 3.6. Astaksantin metanollü çözeltisi



Şekil 3.7. Astaksantin sulu çözeltisi



Şekil 3.8. Astaksantin etanollü çözeltisi

3.2. Metot

3.2.1. Nekropsi

Hasta balıkların havuz ortamında sergilediği davranışlar tespit edildikten sonra nekropsi için hasta balıklar havuz ortamından alınarak 0.5 ml/L anestezi madde (2-phenoxyethanol) içeren solüsyonda hareketleri durana kadar bekletilmiştir (Ferguson 1988). Operkulum hareketleri duran balıklar öncelikle dış yönden incelenerek tespit edilen bulgular kaydedilmiştir (Timur ve Timur 2003). Balıklar daha sonra kesim tahtasına yerleştirilerek vücut yüzeyindeki mukus kağıt havlu ile giderilmiş ve tüm vücut yüzeyi %70 etil alkol ile dezenfekte edilmiştir. Balıklara ventral ve lateral insizyonlar uygulanarak iç organları ortaya çıkartılmıştır (Timur ve Timur 2003).

3.2.2. Hasta balıklardan bakteri izolasyonu

Hasta gökkuşağı alabalıklarına uygulanan nekropsi sonrası iç organlar steril bir şekilde ortaya çıkarılmıştır. Bakteri izolasyonu için karaciğer, dalak ve ön böbrekten BHIA içeren besi yerlerine ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan besi yerleri soğutmalı etüvde $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ de 72 saat süre ile inkübe edilmiştir (Timur ve Timur 2003).

3.2.3. İzole edilen bakterilerin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin tespiti

BHIA besi yerlerinde 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda gelişme gösteren bakterilerin koloni morfolojisi ve rengi tespit edildikten sonra alt kültürleri yapılmıştır. İzole edilen bakterilerin hareketli olup olmadıklarının tespiti için asılı damla yöntemi; bakterilerin hücre morfolojisinin tespiti için Gram boyama yöntemi uygulanmıştır. Bakterilerin fenotipik özelliklerini belirlemek amacı ile sitokrom oksidaz reaksiyonu, katalaz üretimi, farklı sıcaklık derecelerinde gelişme, metil – red (MR) ve Voges – Proskauer (VP) testleri, O/F glükoz testi, lizin ve ornitin dekarboksilaz üretimi, arjinin dihidrolaz üretimi, TSI’ da H₂S üretimi, vibriostat testleri (10 µg ve 150 µg), TCSB ve MacConkey agarda gelişme, Simmon’s sitrat agarda sadece sitratı kullanma, nitrat redüksiyon testi, gelişme için tuzluluk tolerans testleri ile amilaz (Nişasta) üretimi ile ilgili testler yapılmıştır (Timur ve Timur 2003).

3.2.3.1. Bakterilerin hareketlerinin tespiti

Bir bakteri türünün hareketli yada hareketsiz olup olmadığının tespiti için hareketlilik deneyi gerçekleştirilir. Bazı organizmalar sadece belli bir sıcaklık derecesinde hareketlilik göstermektedir. Bu nedenle deney belli bazı şartlar altında gerçekleştirilmelidir. Hareketlilik testi 1-Asılı damla yöntemi, 2-Tüpte olmak üzere iki şekilde gerçekleştirilir.

Yöntem 1 : Asılı damla test yöntemi

Temiz bir lamelin ortasına bir damla bakteriyel süspansiyondan konur. Lamelin dört kenarına vazelin eklenir (buharlaşmayı önlemek için). Lamel, çukur lamın üzerine ters çevirilerek yerleştirilir. Işık mikroskobu altında önce 10x, daha sonra 40x büyütme ile incelenir.

Yöntem 2 : Tüpe inokülasyon

Test tüplerine yaklaşık 3 cm derinliğinde olacak şekilde hareket besiyeri ilave edilir (Hareket besiyeri; Nütrient buyyonu; 0.8 g, NaCl 0.5 g, Agar 0.5 g, dH₂O 100 ml). Test edilecek bakterinin kültüründen öze yardımı ile tüpe vasat boyunca dik olacak şekilde ekim yapılır. 22 ± 2°C’ de 24 - 72 saat süre ile inkübe edilir. Kontrol amaçlı olarak ekimsiz besiyeri içeren tüp kullanılır. Hareketli bakteri türleri ekim çizgisinden vasata doğru yayılarak tüpte bulanıklık oluştururken, hareketsiz organizmalar ekim çizgisi boyunca ürerler, çevresindeki vasatta bulanıklık görülmez. Kontrol amaçlı kullanılan tüp ise renksiz ve berrak olarak kalır (Korun vd. 2011).

3.2.3.2. Bakteri türlerinin boyaması (Gram boyama yöntemi)

Gram boyama, bakterilere uygulanan en önemli ayırt edici tekniktir. Kristal viyole dekolarizasyon esnasında Gram-pozitif hücreden ayrılmayı önleyen büyük kompleksi oluşturmak için sabitleyici iyota bağlanır. Gram-negatif organizmalar hücre duvarlarında daha fazla yağ içerir, bu durum kristal viyole-iyot kompleksinin yıkama ile uzaklaşmasına izin verir ve böylece hücre karşı (zıt) boya ile boyanabilir.

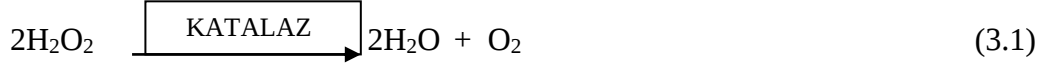
Uygulanışı :

- 1- Bakteriyel film hazırlanır ve ısı ile fiske edilir.
- 2- Kristal viyole lam yüzeyine eklenir ve 30 sn bekletilir.
- 3- Akan su altında 2 sn yıkanır.
- 4- İyot ile lam kaplanır, 1 dk bekletilir.
- 5- Lam tekrar nazik bir şekilde akan su ile yıkanır.
- 6- Lam dik açı şeklinde alkol-aseton karışımında mor renk kaybı olana kadar 2 sn tutulur.
- 7- Lam su ile hemen yıkanır, fazla su uzaklaştırılır.
- 8- Lam yüzeyi fuksin ile kaplanır, 30 sn kadar bekletilir.
- 9- Lam nazikçe akan su altında yıkanır.
- 10- Kurutma kağıdı arasında kurutulup, lamel ile kapatılarak ışık mikroskobu altında incelenir.

Gram-pozitif bakteriler mor; Gram-negatif bakteriler ise pembe/kırmızı olarak gözükürler (Korun vd. 2011).

3.2.3.3. Katalaz testi

Pek çok bakteri türü tarafından üretilen bir enzim olan katalaz enzimi serbest oksijeni açığa bırakmak için hidrojen peroksidin yıkımını katalize eder (Formül 3.1).



Bu amaçla; 24-48 saatlik bakteri kültürüne %3' lük H_2O_2 ' den birkaç damla damlatılır. Oksijen kabarcıklarının gözlenmesi pozitif sonuç olarak kabul edilir (Korun vd. 2011).

3.2.3.4. Sitokrom oksidaz reaksiyonu

Bu testin amacı; bir bakteri türünün renkli son ürünleri oluşturmak amacıyla belli bazı aminleri okside edip edemeyeceğini tespit etmektir. Bu reaksiyon iki şekilde gerçekleştirilmiştir. Birincisinde ticari şekilde piyasada mevcut bulunan sitokrom oksidaz test stripleri kullanılmıştır. İkinci yöntemde ise sitokrom oksidaz ayırıcı emdirilmiş kağıt şeritler kullanılmıştır. Kağıt şeritlerinin üzerine 24 saatlik bakteri kültüründen koloni aktarılmıştır ve 30 sn bekletilmiştir. Bekleme süresinden sonra eğer mor renk gözlemlendiğinde pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Korun vd. 2011).

3.2.3.5. Oksidasyon - Fermantasyon testi (O/F testi)

Test için oksidatif - fermantatif vasat (O/F bazal vasatı) olarak adlandırılan düşük pepton içerikli vasat kullanılır. Bu test; fermantasyon oksijensiz (üzeri steril mineral yağ ile kaplı olan tüp) ortamda gerçekleşir. Karbonhidratı fermente edebilen organizmalar şekeri de okside edebilirler (açık tüp). Bu organizmalara fermente edici mikroorganizmalar denir. Asit üreten ve sadece açık tüplerde sarı reaksiyon veren organizmalara ise okside edici mikroorganizmalar denir. Fermantatif ya da oksidatif olarak şekeri (glikozu) kullanmayan organizmalara ise nonokside edici mikroorganizmalar denir. Ticari olarak mevcut O/F vasatı 200 ml olacak şekilde 121°C ' de 15 dakika otoklavlanır. Otoklavlama sonrası 20 ml' ye 2 g karbonhidrat eklenir ve çözündürülür. O/F bazal vasatı 50°C ' ye kadar soğuduğunda şeker solüsyonu filtreden geçirilir ve besiyerine aktararak türlere dağıtılır. Tüplere 18 - 24 saatlik bakteri kültürlerinden ekim yapılır. Tüplerin biri açık diğeri steril mineral yağ ile kaplandıktan sonra $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ' de 4 gün inkübe edilir. Tüpler günlük kontrol edilir (Korun vd. 2011).

3.2.3.6. İndol üretimi

İndol bazı bakteriler tarafından triptofan amino asidinin indirgenmesi sonucunda oluşturulabilen bir bileşiktir. Triptofan içeren ortamda yetiştirilen bir kültürde, indolün varlığından Kovacs solüsyonundan ekleyerek kolayca bahsedilebilir. Eğer indol varsa, Kovacs solüsyonuyla birleşir ve parlak kırmızı bir renk oluşturur. Eğer indol yok ise, reaktifin kendisi hariç renk olmayacaktır. %1 tripton buyyonlu tüpler bakteri kültürü ile inoküle edilir ve $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ' de inkübe edilir. Bu süre zarfında tüplerdeki besiyerlerinde herhangi bir gelişme gösteren bakteri kültürü gözlemlenirse bu bakteri kültürüne 0.3 ml Kovacs solüsyonundan eklenir. Besiyerinin üst kısmında halka oluşumu varsa pozitif olarak kabul edilir (Korun vd. 2011).

3.2.3.7. Jelatin hidrolizi

Hayvanların tendonları ve bağ doku bileşeni olan kollajenin hidrolize edilmesi sonucu jelatin proteini elde edilir. Jelatin proteolitik enzimler için mikroorganizmaları test etme amaçlı genel bir substrattır. Deneyde kullanılan konsantrasyonlarda jelatin sulu solüsyonları oda sıcaklığında sıvıdır ancak su banyosunda katılaşır. Fakat jelatin, test edilen mikroorganizmalar tarafından hidrolize edilmişse, su banyosunda sıvı halde kalacaktır. Deneyin yapılışı;

- Bakteri kültürleri nutrient jelatinli ortama inoküle edilir.
- $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ' de 1 hafta süre ile inkübe edilir.
- Hidrolizi incelemek için tüpler buzlu suda soğutulur. Hidrolize olan tüp sıvı halde kalacaktır, kontrol tüpü ve hidrolizin olmadığı tüp katılaşacaktır.
- Sonuçlar kaydedilir. Tüplerin içerikleri sıvı haldeyken tüpleri çalkalama, hidrolize olmuş ve olmamış jelatinin karışmasına yol açabilir. Hatalı sonuç vermemesi için tüpler çalkalanmamalıdır. Protein yıkımı karbonhidratların yıkımı ile karşılaştırıldığında daha yavaş olduğundan, görerek tespit etme daha uzun süreli inkübasyonu gerektirebilir (Korun vd. 2011).

3.2.3.8. Metil Kırmızısı / Voges-Proskauer testi (MR/VP)

Bu testler; Gram-negatif, spor oluşturmeyen çomaklar ile bazı *Bacillus* türlerini tanımlamada faydalı olmaktadır (Korun, 2011). Bazı mikroorganizmalar glikozu fermente ederek, nötral bir ürün olan asetilmethylcarbinol'u (asetoin) meydana getirir. Asetilmetil karbinol, VP testi tarafından kolaylıkla tespit edilir (Günel 2013). Metil-Kırmızısı testi asidik ürünleri nötral ürünlere dönüştürmeyen organizmaları tespit eder ve bu nedenle asidik olarak kalır. Metil-Kırmızısı indikatörü kırmızı renge dönüştürür. Kırmızı renk oluşumu pozitif olarak kabul edilir. Asetilmetil karbinol testinde, kültürün yarısı temiz bir cam tüpe alınır. Daha sonra kültürün üzerine 0.5 ml α - naftol solüsyonundan eklenir. Üzerine %40' lık KOH solüsyonundan eklenir. Tüp çalkalanır ve 5-30 dakika beklenir. Tüpte pembe-kırmızı renk oluşumu pozitif sonuç kabul edilir. Metil kırmızısı testi için ise; oluşturulan kültür ortamına metil kırmızısının alkolik solüsyonundan birkaç damla eklenir. Farklı kırmızı renk pozitif, sarı renk ise negatif sonuç olarak kabul edilir (Korun vd. 2011).

3.2.3.9. Hidrojen Sülfid üretimi

Bazı bakteriler H_2S ' i serbest bırakmak için sülfür içeren amino asitlere etki ederler. Bu reaksiyona en güzel örnekler çürüyen yumurtaların aroması ve belli bazı kaynatılmış yiyeceklerin siyahlaşmasıdır (H_2S ve kutunun metali arasındaki reaksiyon sebep olur). H_2S içeren tüplere 18-24 saatlik bakteri kültürlerinden ekim yapılır. $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ' de 48 saat inkübe edilir. FeS ' in siyah birikimi H_2S ' in varlığının kanıtıdır (Korun vd. 2011).

3.2.3.10. Nişasta hidrolizi

Nişasta polisakkarit tipi karmaşık bir karbonhidrattır. Kalitatif test iyot solüsyonunun eklenmesi ile mavi rengin oluşumu nişastanın varlığını gösterir. Nişasta su ile ayrıştırıldıktan sonra (hidrolize edilir), ayrışma ürünleri; maltoz, glukoz

(ayrışmada güçlük sırasına göre) bu renk reaksiyonunu vermez. Bu prensip, deneydeki nişasta hidroliz testi için kullanılır. Eğer organizma nişastayı hidrolize edebiliyorsa, amilaz enzimini üretir. Bütün organizmalar amilaz enzimini üretmedikleri için bu test bize bakterileri tanımlamada yardımcı olabilir. Deney şu şekilde gerçekleştirilir;

- Nişastalı petri kaplarına bakteri kültüründen ekim yapılır.
- Petri kapları $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ' de 1 hafta süre ile inkübe edilir.
- Koloni yüzeyine Gram' ın lugol solüsyonundan eklenir.
- Organizmanın gelişme gösterdiği bölgenin etrafında açık zon oluşumu varsa pozitif sonuç olarak kabul edilir (Korun vd. 2011).

3.2.3.11. Sitrat kullanımı

Sitrat kullanımı belli bazı Gram-negatif çomakları ayırt eder. Bunun için Simmon's sitrat agar kullanılır. Eğer bu vasat üzerinde gelişme gözlemlenirse pozitif sonuç olarak kabul edilir. Pozitif sonuçlarda bazı mikroorganizmalar agarın pH' ını artırır. Bu durumda brommitol mavisini indikatörü yeşilden maviye döndürür. Deneyde Simmon's sitrat agarlı besi yerlerine bakteri kültürleri eklenir. $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ' de 48 saat süre ile inkübe edilir. Renk dönüşümü gözlenir ise sonuçlar pozitif olarak kaydedilir (Korun vd. 2011).

3.2.3.12. MacConkey agarda gelişme

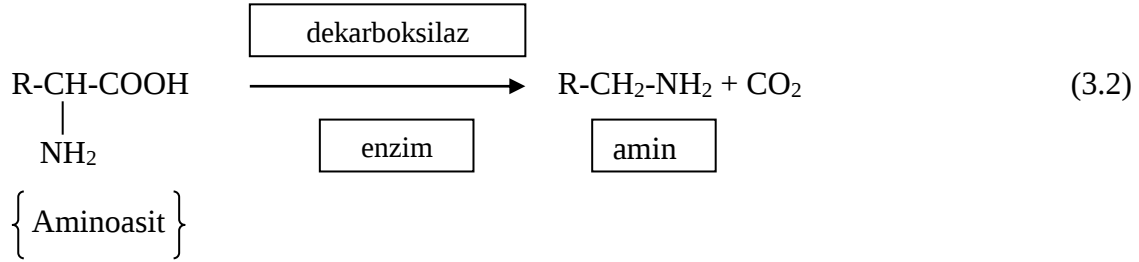
Bu test; Gram-negatif bakterileri, Gram-pozitif bakterilerden ayırt etmek amacıyla kullanılır. Gram-pozitif organizmaların bu besi yerinde gelişimi safra tuzlarının ortamda bulunması ile engellenir. Bu ortamın içeriği şu şekildedir;

- Laktoz	20 g
- Pepton	10 g
- Sodyum klorid	5 g
- Safra tuzları no.2	1.5 g
- Kristal viyole	0.001 g
- Nötral kırmızı	0.03 g
- Agar	14 g
- pH	7.0

Besiyeri 15 dakika süre ile 121°C ' de otoklavlanır. Otoklavlanan besiyerleri soğuyunca steril ortamda petri kaplarına dökülür. Hazır haldeki besiyerlerine bakteri kültürlerinden ekim yapılır. $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ' de 1 hafta süre ile inkübe edilir (Korun vd. 2011).

3.2.3.13. Dekarboksilasyon ve Amin üretimi

Bir amino asidin dekarboksilasyonu amin ve CO₂ vermek için karboksil grubunun yıkımıdır. Reaksiyon şu şekilde açıklanabilir (Formül 3.2):



Reaksiyon aminin birikmesi ile sonuçlandığından dekarboksilasyon pH' daki artışın ölçülmesi ile gösterilebilir. Bu deney için;

- Lizin, ornitin ve dekarboksilaz temel buyyonu içeren iki tüpe ihtiyaç vardır.
- Bakteri kültürleri her bir tüpe inoküle edilir ve tüpler steril yağ ile kapatılır.
- 22 ± 2°C' de 48 saat süre ile inkübe edilir.
- pH değişiklikleri kontrol edilir. Aminlerin birikmesi ile pH' ın artışı, besiyerindeki pH indikatörü olan bromkresol morunu sarıdan mora değiştirir (Korun vd. 2011).

3.2.3.14. Nitrat indirgeme

Nitrat indirgeme testinin amacı; bir organizmanın nitratı nitrite indirgeme yeteneğinin olup olmadığını tespit etmektir. Bu test için kullanılan kimyasallar ve materyaller;

- Nitrat buyyonu
- Ayıraç A (α-naphthylamine % 0.5)
- Ayıraç B (sulphanilic acid % 0.8)
- Çinko tozu
- Cam tüpler

Nitrat içeren besiyerine test edilecek organizmaya ait kültürden inoküle edilir. Bakteri türü için uygun sıcaklıkta 24 saat süre ile inkübe edilir. A ve B ayıraçlarından besiyerlerine ilave edilir. Kırmızı renk pozitif (+) sonuç olarak kabul edilir (Korun vd. 2011).

3.2.3.15. Tuz toleransı

Bu test, farklı oranlarda NaCl içeren besiyerlerinde bakteri türünün gelişme gösterip göstermediğini test etmek için kullanılır. NaCl' ün farklı oranlarını (% 0.2, % 0.4 gibi) içeren Nutrient Buyyonu kullanılır. Soğutmalı etüvde 22 ± 2°C' de 96 saat süre

ile inkübe edilir. Ekim yapılan besi yerindeki bakteri süşunun yoğun üremesi pozitif (+) sonuç olarak kabul edilir (Korun vd. 2011).

3.2.3.16. O/129 Vibriostat Testi

O/129 Vibriostatik ajana hassasiyet *Vibrio* cinsinin üyelerini diğer sitokrom oksidaz gram-negatif bakteri türlerinden, özellikle de *Aeromonas* sp. ve *Plesiomonas* sp. türlerinden ayırt etmek için kullanılır.

Bakteri kültürü içeren sıvı besiyerinin bulanıklığı önce McFarland 0.5 olacak şekilde ayarlanır. Daha sonra tuz ilave edilerek hazırlanan TSA besiyeri yüzeyine yayılır. 15 dakika bekletilir. Daha sonra Vibriostatik ajan diskleri yerleştirilir ve 20 dakika beklenir. Soğutmalı etüvde $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ' de 24 saat inkübe edilir.

Sonuç:

Disklerin etrafında mevcut zon pozitif olarak değerlendirilir. Bu test sadece sitokrom oksidaz pozitif gram-negatif bakteri türleri için gerçekleştirilir (Korun vd. 2011)

3.2.3.17. Api 20 E kitinin uygulanışı

Api 20E ticari kiti üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlanıp kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

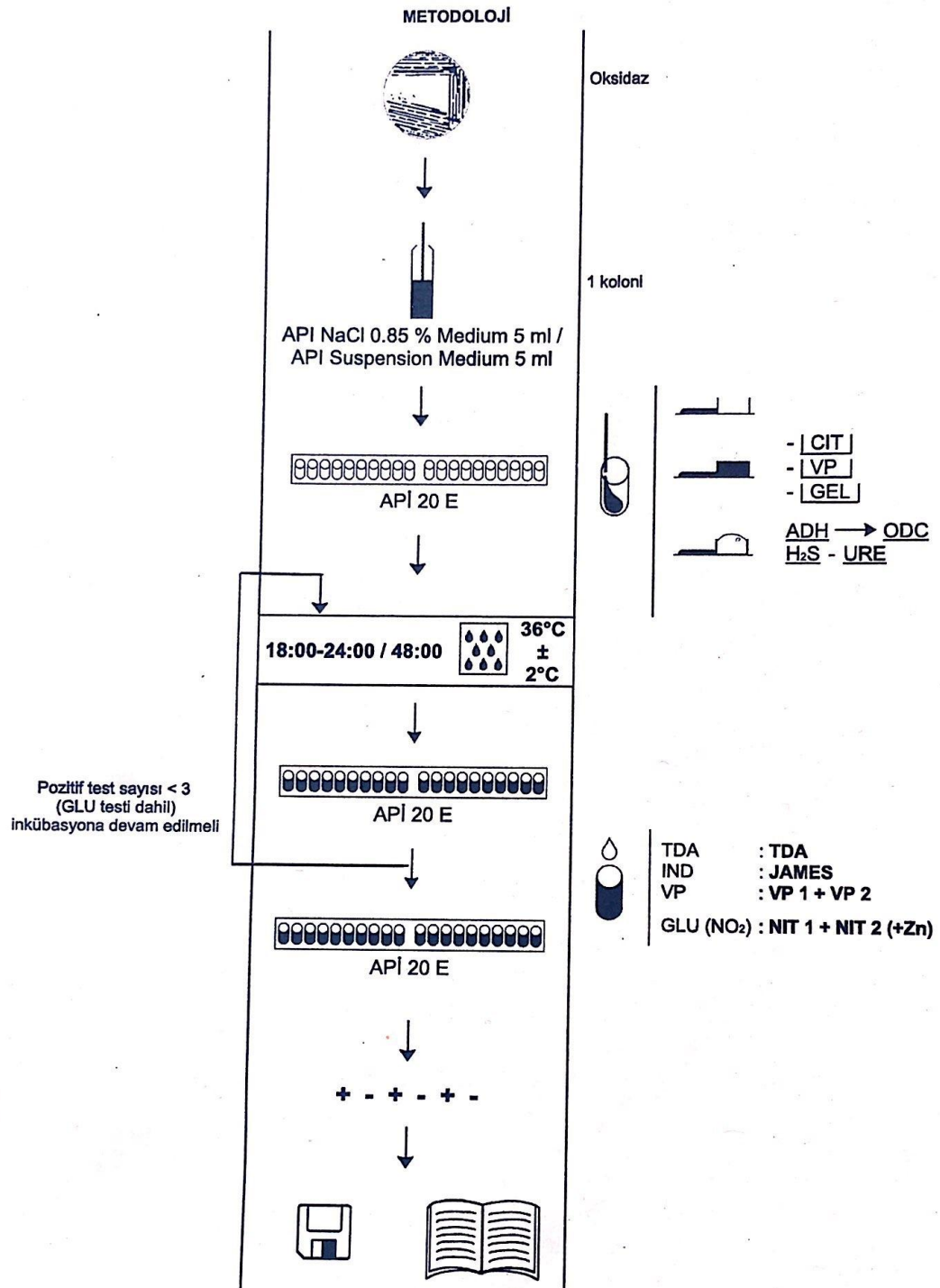
Kitin içeriği:

Api 20 E kitinin (ref. 20 100) içeriği aşağıdakilerden oluşmaktadır:

- 25 adet API 20 E stripleri
- 25 inkübasyon kutusu
- 25 sonuç kağıtları
- 1 klip kapatması
- 1 prospektüs

Ayırarlar:

- API NaCl % 0.85 Medium, 5 ml (Ref. 20 230) veya- API Suspension Medium, 5 ml (Ref. 20 150), API 20 E reaktif kit (Ref. 20 120), TDA (Ref. 70 402), James (Ref 70 542), VP 1 + VP 2 (Ref. 70 422), NIT 1 + NIT 2 (Ref. 70 442), Zn reaktif (Ref. 70 380), Mineral yağ (Ref. 70 100), Pipetler yada Pastör pipetleri.



Çizelge 3.1. API 20 E'nin uygulanışının şematik açıklaması

3.2.4. Çalışmada izole edilen bakteri suşlarının antimikrobiyal duyarlılıklarını belirleme

Çalışmada izole edilen bakteri suşlarının farklı antibiyotiklere duyarlılıkları Mueller-Hinto agar (MHA)'lı besiyerlerinde standart disk difüzyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır (Kurtoğlu ve Korun 2018). Bakteri solüsyonunun bulanıklığı McFarland No 0.5'e göre hazırlanarak MHA içeren besiyerlerine 0.1 ml olacak şekilde aktararak tüm besiyeri yüzeyine yayılmış ve oda sıcaklığında bekletilmiştir (Kurtoğlu ve Korun 2018). Petrilerin kuruması beklendikten sonra, besiyeri yüzeyine çeşitli konsantrasyonlarda değişik antibiyotikleri içeren ticari diskler yerleştirilerek 24 ± 2 °C de 24 ila 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda diskler etrafında oluşan zonların çapları ölçülerek, bakteri suşlarının hassas veya dirençli olup olmadıkları tespit edilmiştir. Çalışmada ticari antibiyotik diskleri olarak Ampisilin (Amp 10 µg), Eritromisin (E15 10 µg), Flumekuin (UB30 10 µg), Kanamisin (K30 10 µg), Nalidiksik asit (NA30 10 µg), Oksalinik asit (OA2 10 µg), Kloramfenikol (C30 10 µg), Trimetoprim (W5 10 µg), Streptomisin (S10 10 µg), Tetrasiklin (TE10 10 µg), Tetrasiklin (TE30 10 µg) ve Sülfametaksazol (RL25 10 µg) kullanılmıştır.

3.2.5. Astaksantin çalışmada izole edilen bakteri suşları üzerine antimikrobiyal etkisini belirleme

Makrodilüsyon yöntemi kullanılarak astaksantin antimikrobiyal özelliği tespit edilmiştir. Bu amaçla, astaksantin kloroform, etanol, su, metanol ve 2-propanol ile ayrı ayrı çözücü ve sulandırıcılar kullanılarak solüsyonları hazırlanmıştır. Bunun için 13X100 ml boyunda steril tüpler kullanılmıştır (UMS 2015). Çalışmada bakteri süspansiyonlarını hazırlamak için logaritmik faza kadar üretilen her bir bakteri inokulumunun bulanıklığı 0.5 McFarland (1.5×10^8 cfu/ml) olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra son konsantrasyonu 10^6 cfu/ml olması için otoklavda steril edilerek hazırlanan ticari besiyeri Mueller-Hinton buyyonu ile 1/100 oranında sulandırılmıştır. Bakteri solüsyonunun son konsantrasyonu 10^6 cfu/ml'ye ayarlanmıştır (Erdağlı 2011).

Çalışmada 1 mg, 0.5 ve 0.1 mg'lık toz halde ticari astaksantin kullanılmıştır. 1 mg/ml stok konsantrasyon eldesi için 10 mg astaksantin 10 ml etanol, metanol, 2-propanol, kloroform ve su ile çözdürüldü (Erdağlı 2011). 0.5 mg/ml için 10 mg astaksantin 20 ml etanol, metanol, 2-propanol, kloroform ve su ile çözdürülmüştür. 0.1 mg/ml için 10 mg astaksantin 100 ml etanol, metanol, 2-propanol, kloroform ve su ile çözdürülmüştür. Stok solüsyonlar kullanılmadan önce 0.2 µm'lik atılabilir membran filtreler kullanılarak steril hale getirildi. Daha sonra her bir tüpe 1 ml'lik katyonu ayarlanmış Mueller-Hinton buyyonu (CMHB) (CLSI 2006) eklenerek her tüpe 10 µl bakteri süspansiyonu inoküle edilmiştir. Birinci tüpten başlanılarak iki katlı dilüsyonları yapılarak ekimli tüpler 24 ± 2 °C da 16-24 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda üremenin kaçınıcı tüpten başladığı belirlenerek astaksantin mik değerleri % konsantrasyon cinsinden belirlenmiştir. Bulanıklığın tespit edilmediği en düşük konsantrasyon o suş için minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak değerlendirilmiştir. Kontrol amaçlı olarak ekimli bakteri solüsyonu kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Hasta Balıkların Klinik ve Nekropsi Bulguları

Çalışmada hasta balıklarda durgunluk, su yüzeyine yakın yüzme, iştahsızlık ve yem alımında azalma şeklinde davranışsal bulgular tespit edilmiştir. Dış bakıda, ekzoftalmi, karın kısmında şişkinlik (Şekil 4.1), solungaçlarda solgunluk, solungaç filamentlerinin uç kısmında yapışma ve erimeler, çene altında kanamalar (Şekil 4.2) ile deride lezyonlar (Şekil 4.3), pul kaybı (Şekil 4.4), yüzgeçlerde kanama (Şekil 4.5) ve balıklarda deri renginde koyulaşma (Şekil 4.6) gözlenmiştir.



Şekil 4.1. Hasta balıkta karın kısmında şişkinlik



Şekil 4.2. Çene altında kanamalar



Şekil 4.3. Deride lezyonlar



Şekil 4.4. Deride pul kaybı ve lezyonlar



Şekil 4.5. Yüzgeçlerde kanama

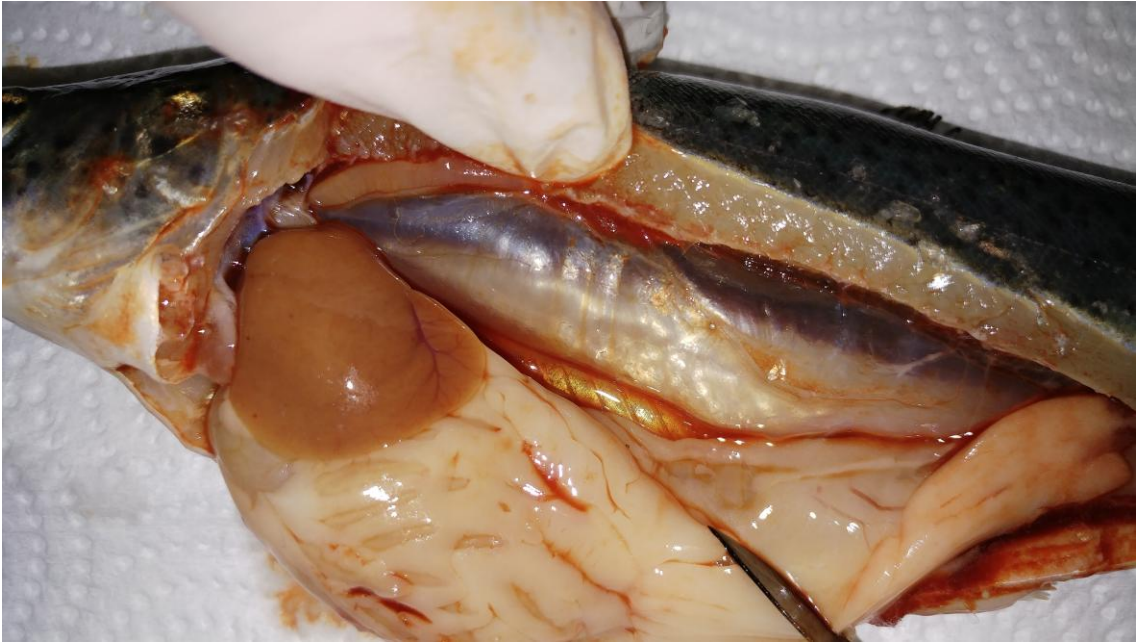


Şekil 4.6. Deride koyulaşma

İç bakıda hasta balıklarda ağız içerisinde kanamalar (Şekil 4.7), kas dokusunda kanama, karaciğerde solgunluk ve damarlaşma (Şekil 4.8), hava keseinde şişkinlik ve kanama (Şekil 4.9), dalakta büyüme (splenomegali) ve böbreklerde ise kıvamında erime olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.7. Ağız içi kanamalar



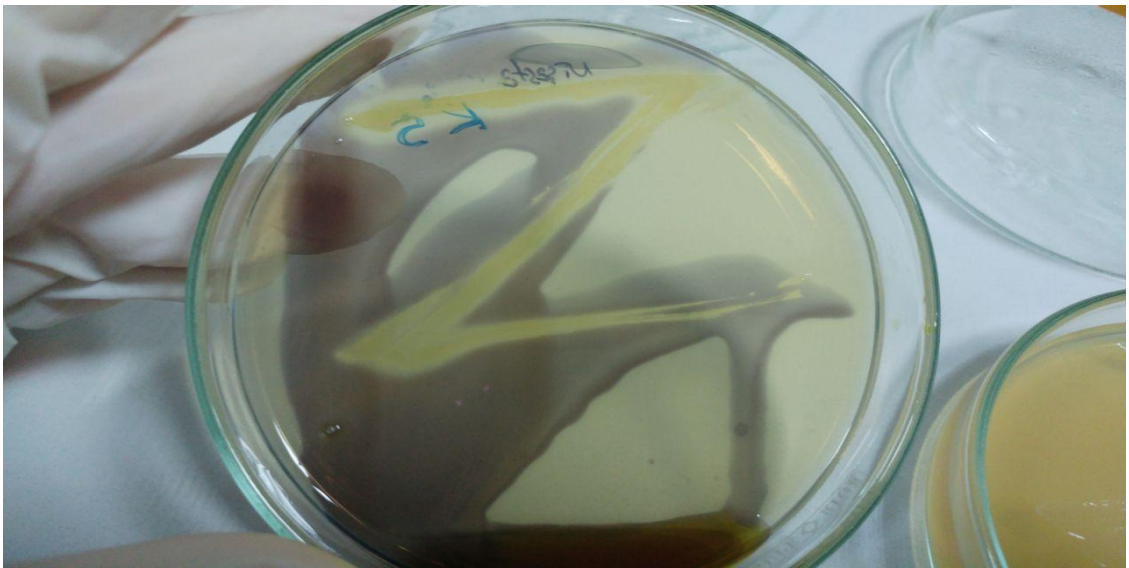
Şekil 4.8. Karaciğerde solgunluk ve damarlaşma



Şekil 4.9. Hava kesesinde şişkinlik ve kanama

4.2. Hasta Balıklardan İzole Edilen Bakteri Suşlarının Koloni ve Hücre Morfolojisi, Fenotipik Özelliklerine Ait Bulgular

Hasta balıklardan yapılan bakteriyolojik ekim çalışmaları sonucunda, hasta balıkların karaciğer, dalak ve böbreklerinden krem renkli, hareketli, fermentatif, sitokrom oksidaz pozitif, katalaz pozitif, çomak şekilli bakteri suşları izole edilmiştir. Suşların indol üretimleri pozitif, arjinin dihidrolaz pozitif oldukları, nişastayı hidrolize ettikleri (Şekil 4.10) ve MacConkey agarda gelişme gösterdikleri tespit edilmiştir. İzole edilen altı suşun biyokimyasal özellikleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.10. Bakteri suşuna ait amilaz üretimi

Çizelge 4.1. İzole edilen bakterilerin biyokimyasal özellikleri

TESTLER/ ÖRNEKLER	İzolat I	İzolat II	İzolat III	İzolat IV	İzolat V	İzolat VI
Hareket	+	+	+	+	+	+
Gram boyama	-	-	-	-	-	-
S. oksidaz	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+
O/F	+	+	+	+	+	+
MR	+	+	+	+	+	+
VP	-	-	-	-	-	-
Vibriostat (10µg)	H	H	H	H	H	H
Vibriostat (150µg)	H	H	H	H	H	H
% 0 NaCl	+	+	+	+	+	+
% 2 NaCl	+	+	+	+	+	+
% 4 NaCl	+	-	-	-	-	-
% 6 NaCl	-	-	-	-	-	-
% 8 NaCl	-	-	-	-	-	-
Sıcaklıkta gelişme	+	+	+	+	+	+
Sitrat	+	+	+	+	+	+
TSIA	+	+	+	+	+	+
Laktoz	+	+	+	+	+	+
Fruktoz	+	+	+	+	+	+
Mannoz	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+
Xylose	+	+	+	+	+	+
İnositol	+	+	+	+	+	+
Arjinin	+	+	+	+	+	+
Lizin	+	+	+	+	+	+
Sükroz	+	+	+	+	+	+
Galaktoz	+	+	+	+	+	+
Arabinoz	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+
Üre	-	-	-	-	-	-
Kazein	-	-	-	-	-	-
Nişasta	Zon var	Zon var	Zon var	Zon var	Zon var	Zon var
İndol	+	+	+	+	+	+
Nitrat	-	+	-	-	+	-
Jelatin	-	-	-	-	-	-
MacConkey agarda gelişme	+	+	+	+	+	+

4.3. API 20E Test Sonuçları

API 20 E kiti üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlanmıştır. Kitler $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 24-48 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda, kitlere ayıraçlar eklenerek (Şekil 4.11), sonuçlar APIWEB identification software'e göre okunmuştur.



Şekil 4.11. Çalışmada kullanılan API 20E test şeridi ve sonucu

Bakteri suş profilleri APIWEB identifikasyon software'e göre okunmuştur. Buna göre, hasta balıklardan izole edilen bakteri suşları 7247125 olarak bulunarak suşlar *Aeromonas hydrophila* olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.2. API 20E test sonuçları

Testler	Çalışmada kullanılan suşlar (n=6)
Beta-galaktosidaz (ONPG)	+
Arjinin dihidrolaz (ADH)	+
Lizin dekarboksilaz (LDC)	+
Ornitin dekarboksilaz (ODC)	-
Sitrat kullanımı (CIT)	+
H ₂ S üretimi (H ₂ S)	-
Üreaz üretimi (URE)	-
Triptofan deaminaz (TDA)	-
İndol üretimi (IND)	+
Asetoin üretimi (VP)	+
Jelatinaz üretimi (GEL)	+
Glükoz (GLU)	+
Mannitol (MAN)	+
İnositol (INO)	-
Sorbitol (SOR)	-
Ramnoz (RHA)	-
Sukroz (SAC)	+
Melibiyoz (MEL)	-
Amigdalın (AMY)	+
Arabinoz (ARA)	-

Çizelge 4.3. API 20E ek test sonuçları

Testler	Çalışmada kullanılan suşlar (n=6)
NO ₂	+
N ₂	-
Hareketlilik (MOB)	+
McConkey agarda gelişme (McC)	+
OF-Oksidatif testi	+
OF-Fermantatif testi	+

4.4. Çalışmada İzole Edilen Bakteri Suşlarının Antimikrobiyal Duyarlılık Test Sonuçları

Antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre, *A. hydrophila* suşlarının oksitetrasiklin'e dirençli, suşlar arasında kanamisin, flumequin, trimetoprim, ampisilin, eritromisin, nalidiksik asit, sülfametaksomal'e değişken derecede direnç gösterdikleri tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Bakteri suşlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçları

Antibiyotik Grubu (mm)	İzolat I	İzolat II	İzolat III	İzolat IV	İzolat V	İzolat VI
K30	20	19	D	D	24	D
E15	16	12	D	D	D	D
NA30	14	12	D	D	D	D
UB30	27	26	D	D	35	D
TE10	20	D	D	D	D	D
RL25	22	D	D	D	D	D
AMP10	19	D	D	D	23	D
W5	29	26	D	D	35	D
OA2	17	D	D	D	D	D
C30	30	25	D	D	40	D
S10	19	16	D	D	28	D
TE30	D	D	D	D	D	D

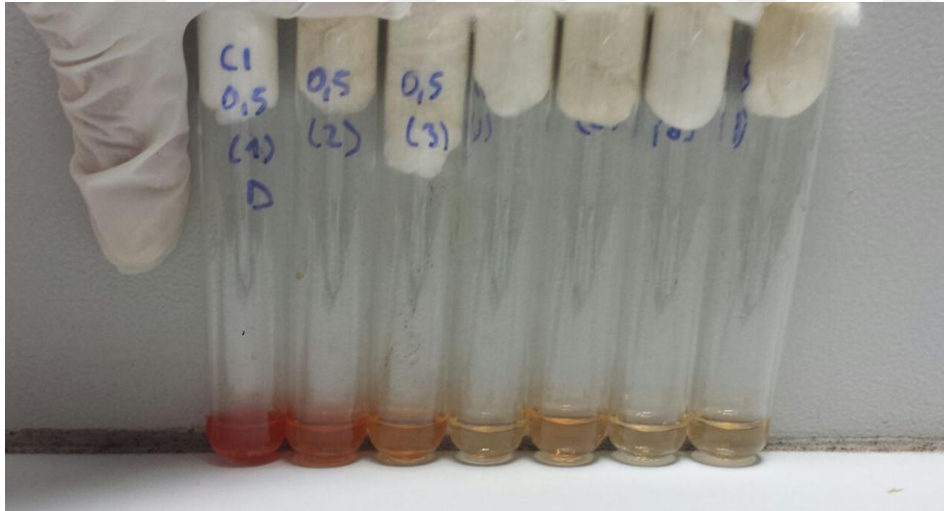
*K30: Kanamisin, E15: Eritromisin, NA30: Nalidiksik asit, UB30: Flumekuin, TE10: Tetrasiklin, RL25: Sulfametoksazol, AMP10: Ampisilin, W5: Trimetoprim, OA2: Oksalinik asit, C30: Kloramfenikol, S10: Streptomisin, TE30: Tetrasiklin, D: Dirençli

4.5. Astaksantin Antimikrobiyal Hassasiyet Test Sonuçları

Çalışmada *A. hydrophila* suşları üzerine astaksantin farklı çözücüler ile hazırlanan solüsyonları kullanılarak antibakteriyel test sonuçlarına göre, suyun etkili olmadığı, kloroform'un ise en etkili olduğu bulunmuştur. Çalışmada etanol'ün 7.8125 µg/ml, 15.625 µg/ml ve 31.25 µg/ml konsantrasyonlarının suşlar üzerinde antimikrobiyal etkilerinin olmadığı tespit edilirken, 62.5 µg/ml'den 500 µg/ml olan konsantrasyonlarda ise üremenin gelişmediği görülmüştür. 62.5 µg/ml etanol için MİK değerini vermiştir. çalışmada benzer sonuç 2-propanol ile hazırlanan solüsyonlarda da tespit edilmiştir.

Çizelge 4.5. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi sonuçlarına göre astaksantin kloroformlu çözeltisinin antimikrobiyal test sonuçları

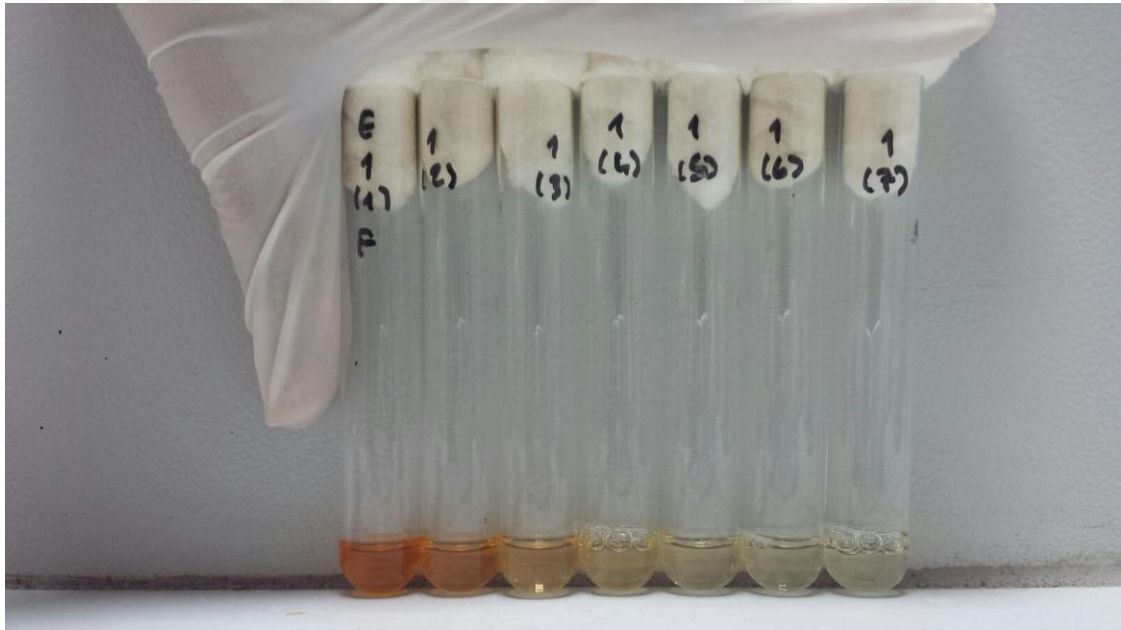
Mikroorganizmalar		Kloroform (µg/ml)						
		7.8125	15.625	31.25	62.5	125	250	500
1	0.1	-	-	-	-	-	+	+
	0.5	-	-	-	-	+	+	+
	1.0	-	-	-	+	+	+	+
2	0.1	-	-	-	-	-	+	+
	0.5	-	-	-	-	+	+	+
	1.0	-	+	+	+	+	+	+
3	0.1	+	+	+	+	+	+	+
	0.5	-	-	-	+	+	+	+
	1.0	-	+	+	+	+	+	+
4	0.1	+	+	+	+	+	+	+
	0.5	-	-	-	-	+	+	+
	1.0	-	-	-	-	+	+	+
5	0.1	-	-	-	-	+	+	+
	0.5	-	-	-	-	-	+	+
	1.0	+	+	+	+	+	+	+
6	0.1	+	+	+	+	+	+	+
	0.5	-	-	-	-	+	+	+
	1.0	-	-	-	+	+	+	+



Şekil 4.12. Astaksantin kloroformlu çözeltisine bakterilerin inokülasyonu sonucu bir örnek

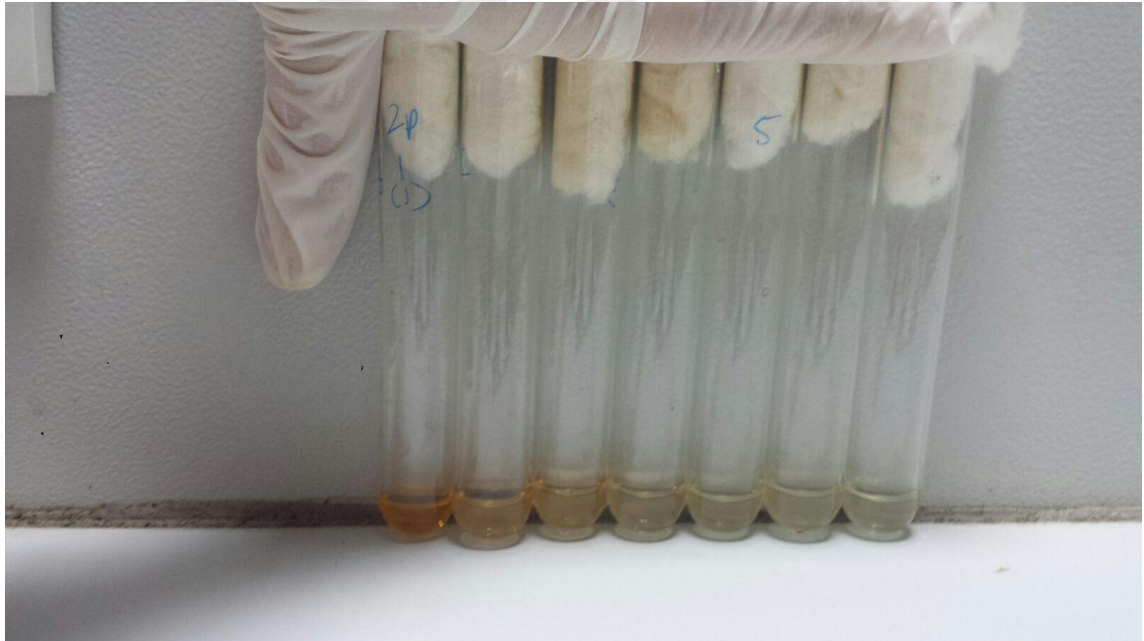
Çizelge 4.6. Astaksantin etanollü çözeltisinin antimikrobiyal test sonuçları

Mikroorganizmalar		Etanol (µg/ml)						
		7.8125	15.625	31.25	62.5	125	250	500
1	0.1	+	+	+	-	-	-	-
	0.5	+	+	+	-	-	-	-
	1.0	+	+	+	-	-	-	-
2	0.1	+	+	+	-	-	-	-
	0.5	+	+	+	-	-	-	-
	1.0	+	+	+	-	-	-	-
3	0.1	+	+	+	-	-	-	-
	0.5	+	+	+	-	-	-	-
	1.0	+	+	+	-	-	-	-
4	0.1	+	+	+	-	-	-	-
	0.5	+	+	+	-	-	-	-
	1.0	+	+	+	-	-	-	-
5	0.1	+	+	+	-	-	-	-
	0.5	+	+	+	-	-	-	-
	1.0	+	+	+	-	-	-	-
6	0.1	+	+	+	-	-	-	-
	0.5	+	+	+	-	-	-	-
	1.0	+	+	+	-	-	-	-

**Şekil 4.13.** Astaksantin etanollü çözeltisine bakterilerin inokülasyonu sonucu bir örnek

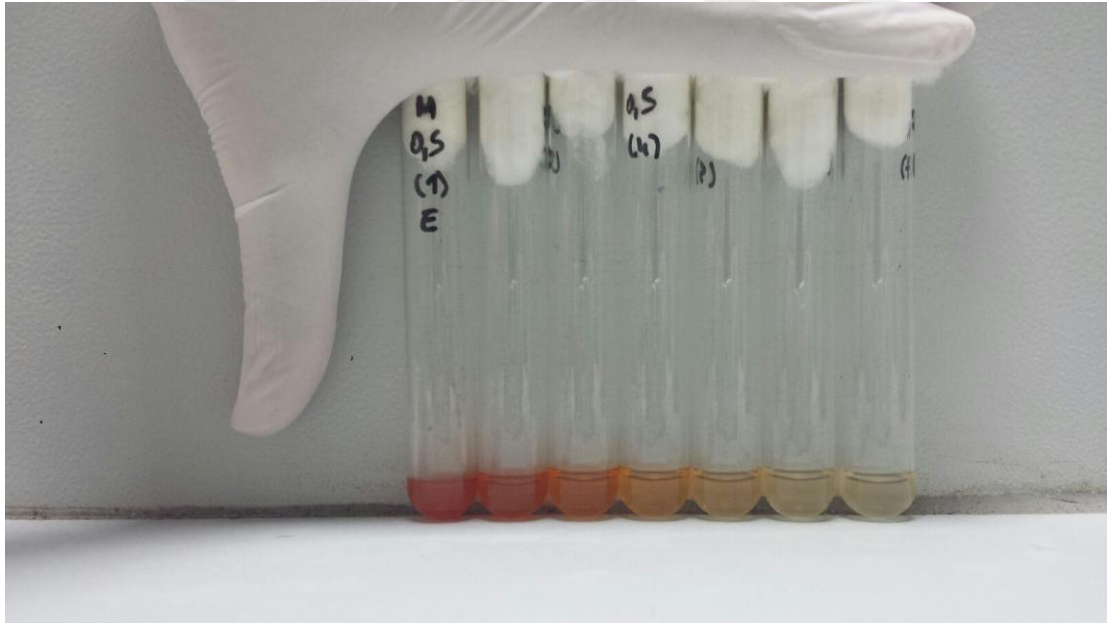
Çizelge 4.7. Astaksantin 2-propanollu çözeltisinin antimikrobiyal test sonuçları

Mikroorganizmalar		2-propanol (µg/ml)						
		7.8125	15.625	31.25	62.5	125	250	500
1	0.1	+	+	+	-	-	-	-
	0.5	+	+	+	-	-	-	-
	1.0	+	+	+	-	-	-	-
2	0.1	+	-	-	-	-	-	-
	0.5	+	+	-	-	-	-	-
	1.0	+	+	+	-	-	-	-
3	0.1	+	+	+	-	-	-	-
	0.5	+	+	-	-	-	-	-
	1.0	+	+	+	-	-	-	-
4	0.1	+	+	+	-	-	-	-
	0.5	+	+	+	-	-	-	-
	1.0	+	+	-	-	-	-	-
5	0.1	+	+	-	-	-	-	-
	0.5	+	+	-	-	-	-	-
	1.0	+	+	-	-	-	-	-
6	0.1	+	+	-	-	-	-	-
	0.5	+	+	+	-	-	-	-
	1.0	+	+	-	-	-	-	-

**Şekil 4.14.** Astaksantin 2-propanollu çözeltisine bakterilerin inokülasyonu sonucu bir örnek

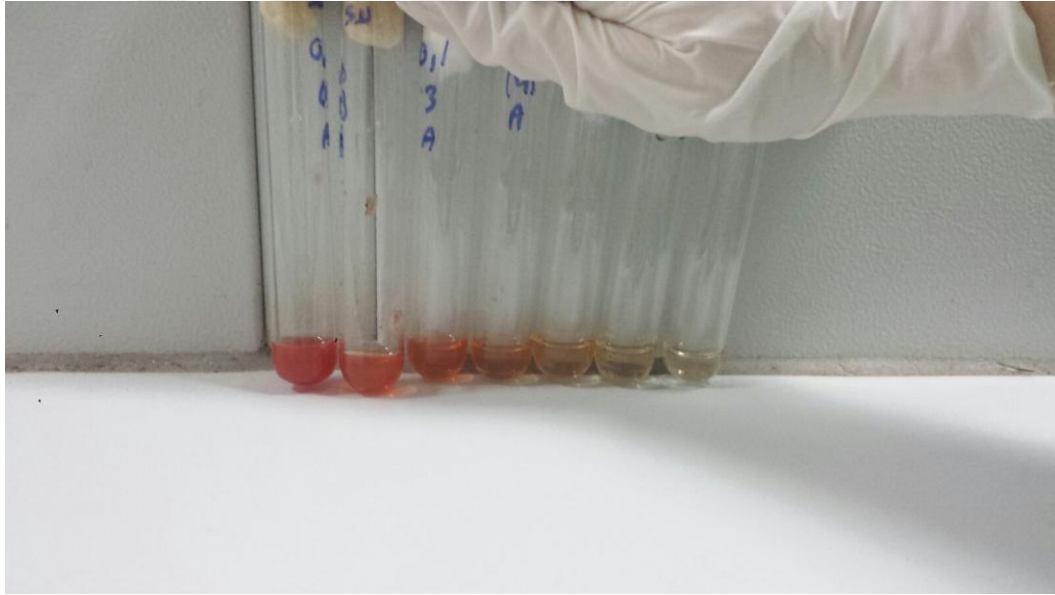
Çizelge 4.8. Astaksantin metanollü çözeltisinin antimikrobiyal test sonuçları

Mikroorganizmalar		Metanol (µg/ml)						
		7.8125	15.625	31.25	62.5	125	250	500
1	0.1	+	+	+	-	-	-	-
	0.5	-	+	+	-	-	-	-
	1.0	+	+	+	-	-	+	+
2	0.1	+	+	+	+	-	-	-
	0.5	+	+	+	-	-	+	+
	1.0	+	+	+	+	-	+	+
3	0.1	+	+	+	-	-	-	-
	0.5	-	-	+	+	+	+	+
	1.0	-	-	-	-	-	+	+
4	0.1	+	+	+	-	-	-	+
	0.5	-	-	-	-	-	+	+
	1.0	-	-	-	-	-	+	+
5	0.1	+	+	+	-	-	-	-
	0.5	+	+	+	+	-	-	+
	1.0	+	+	+	-	-	+	+
6	0.1	+	+	-	-	-	-	+
	0.5	-	-	-	-	-	+	+
	1.0	-	-	-	-	-	+	+

**Şekil 4.15.** Astaksantin metanollü çözeltisine bakterilerin inokülasyonu sonucu bir örnek

Çizelge 4.9. Astaksantin sulu çözeltisinin antimikrobiyal test sonuçları

Mikroorganizmalar		Su ($\mu\text{g/ml}$)						
		7.8125	15.625	31.25	62.5	125	250	500
1	0.1	+	+	+	+	+	+	+
	0.5	+	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	+	+	+	+
2	0.1	+	+	+	+	+	+	+
	0.5	+	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	+	+	+	+
3	0.1	+	+	+	+	+	+	+
	0.5	+	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	+	+	+	+
4	0.1	+	+	+	+	+	+	+
	0.5	+	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	+	+	+	+
5	0.1	+	+	+	+	+	+	+
	0.5	+	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	+	+	+	+
6	0.1	+	+	+	+	+	+	+
	0.5	+	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	+	+	+	+

**Şekil 4.16.** Astaksantin sulu çözeltisine bakterilerin inokülasyonu sonucu bir örnek

5. TARTIŞMA

Aeromonas hydrophila tüm dünyada dağılım gösteren homeotermik ve poikilotermik konak dağılımına sahip patojenik bir bakteri türüdür (Harikrisnan ve Balasundaram 2005). *A. hydrophila* kanal kedi balığı (*Ictalurus punctatus*), ayu (*P. altivelis*), tilapya, bazı tatlı su levrek türleri gibi çeşitli tatlı su balık türlerinde, süs balıklarında, deniz balıklarında ve salmonidler gibi soğuk su balık türlerinde hastalığa neden olduğu bilinmektedir (Swan ve White 2014; Harikrisnan ve Balasundaram 2005). *A. hydrophila*'nın insanlarda özellikle de çocuklar ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde su ile alakalı mide-bağırsak enfeksiyonlarına yol açtığı bildirilmiştir (Mahanty vd. 2013; İşleyici ve Sancak 2009). Yoğun kültür sistemlerinde tutulan balıklar *A. hydrophila* enfeksiyonlarına duyarlı olmakla birlikte, bakterinin balıkların vücut yüzeyinden ve bağırsağından da izole edilmiştir (Harikrisnan ve Balasundaram 2005).

Ülkemizde *A. hydrophila* enfeksiyonları farklı balık türlerinden bildirilmiştir. Onuk vd. (2017) çalışmalarında Türkiye'nin farklı bölgelerinden gökkuşağı alabalıklarının iç organlarından *A. hydrophila*'yı izole ettiklerini bildirmiştir.

Ürkü ve Yardımcı (2013) İstanbul da bulunan bir akvaryum balığı işletmesindeki melek balıklarında (*Pterophyllum scalare*) görülen ölümlerin nedenini belirlemek amacı ile yapmış oldukları çalışmada hasta balıklardan *A. hydrophila* ile *Citrobacter freundii*'yi izole ve identifiye etmiştir.

Timur vd. (2010) *A. hydrophila*'yı 2002-2003 yıllarında beton havuzlarda yetiştiriciliği yapılan genç rus mersin balıklarında (*Acipenser gueldenstaedtii*) tek etken tür ya da *Flavobacterium hydatidis* ile birlikte karma enfeksiyon şeklinde izole ettiklerini bildirerek, bu hastalık etkenlerinin balıklarda bakteriyel hemorajik septisemiye neden olarak düşük mortalite ile sonuçlandığını bildirmiştir.

A. hydrophila balıklarda 'Hareketli *Aeromonas* Septisemisi (MAS), 'Ülser Hastalığı', 'Hemorajik Septisemisi' veya 'Kırmızı Boğaz' isimleri ile anılan hastalıklara neden olur (Swan ve White 2014). *A. hydrophila* ile enfekte balıklarda iştahsızlık, solungaçlarda solgunluk, deri ülserleri semptomlarıyla görülebilir. Hastalıktan sıklıkla etkilenen organlar arasında solungaçlar, böbrek, karaciğer, dalak, pankreas ve iskelet kası da yer alır (Swan ve White 2014). Hastalıkta gözlenen bulgular organizmanın virülensine, balığın enfeksiyona olan direncine, bakteriyemi veya septiseminin olup olmamasına ve balıkla ilgili diğer stres faktörlerine bağlıdır (Swan ve White 2014).

Wamala vd. (2018) Nil tilapyası (*O. niloticus*) ile Afrika kedi balığı (*Clarias gariepinus*)'ndan izole ettikleri *A. hydrophila*'nın balıklarda deri de kanamalara ve ülserlere, ekzoftalmus, şişkin abdomen ile karın kısmında asidik sıvı birikimine neden olduğunu bildirmiştir. Ayrıca, tilapya balıklarında yüzgeç çürümesi görülürken, her iki balık türünde de ölümler gözlenmiştir.

Laith ve Najiah (2013) *A. hydrophila* ile doğal enfekte *Clarias gariepinus* da durgunluk, sıkı hemorajik ülserler yanı sıra kas dokusunu açığa çıkaran derin ülserleri bildirmiştir. Bazı balıklarda yüzgeçlerin taban kısımlarında ve anüste hemorajilere rastlanılmıştır. İç organlarda ise solgun karaciğer ve solungaçlar, böbrekte büyüme ve vücut boşluğunda sarımsı sıvı birikimi de tespit edilmiştir.

Yardımcı ve Aydın (2011) tilapyalarda deneysel olarak oluşturdıkları *A. hydrophila* enfeksiyonunda balıklarda iştahsızlık, su yüzeyine yakın olarak yüzme, deri renginde koyulaşma ve yüzgeçlerde erime görüldüğünü bildirmiştir. Hasta balıkların iç organlarının makroskopik incelemesinde ise balıkların karaciğerinin sarımsı kahverengi renkte olduğu, yüzeyinde kanamaların görüldüğü, safra kesesinin ise safra ile dolu olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte, balıklarda deri, dalak, solungaç ve gözlerde ise önemli bir bulgunun gözlenmediğini bildirmiştir.

Timur vd. (2010) *A. hydrophila*'yı izole ettikleri mersin balıklarında deri renginde koyulaşma, yüzgeç dip kısımlarında hemoraji, iç organlarda ise hiperemi ve hemoraji bildirmiştir.

Mevcut çalışmada hasta gökkuşağı alabalıklarında durgunluk, su yüzeyine yakın yüzme ve yem alımında azalma, deri renginde koyulaşma, ekzoftalmi, karıncısında şişkinlik, solungaçlarda solgunluk, boğaz bölgesinde kanamalar, deride lezyonlar ile pul kaybı tespit edilmiştir. İç organların makroskopik incelemesinde ağız içerisinde ve kaslarda kanama, karaciğerde solgunluk, hava kesesinde kanama, dalakta büyüme (splenomegali) ve renginde koyulaşma ile böbreklerde ise erime gözlenmesi, karın boşluğunda asidik sıvı birikimi olması diğer araştırmacıların (Wamala vd. 2018; Laith ve Najiah 2013; Yardımcı ve Aydın 2011; Timur vd. 2010) çalışmalarında bildirdikleri bulgulara benzerlik göstermiştir.

Nahar vd. (2016) çalışmalarında juvenil kültür panga (*Pangasius hypophthalmus*) balıklarından izole ettikleri *A. hydrophila* suşlarının TSA da sarımsı opak yuvarlak koloniler oluşturduğu, suşların Gram-negatif ve çomak şekilli olduğunu bildirmiştir. Suşlar sitokrom oksidaz pozitif, fermentatif, hareketli olup 37 °C de gelişme göstermiştir. Suşların sükrozdan asit üretimi pozitif, O/129'a dirençli bulunurken, %0 NaCl de geliştikleri bildirilmiştir.

Çalışmamızda izole edilen bakteri suşları BHIA da sarımsı krem renkli koloniler oluşturduğu ve hareketli oldukları tespit edilmiştir. Suşlar Gram-negatif, fermentatif, sitokrom oksidaz ve katalaz pozitif olup sukrozdan asit üretmiştir. Suşların ayrıca vibriostatik ajanlara dirençli olduğu ve %0 NaCl içeren sıvı besiyerinde gelişme gösterdiği de tespit edilmiştir. Çalışma bulguları Nahar vd. (2016) tarafından *A. hydrophila* suşları için bildirilen bulgulara benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır.

Ürkü ve Yardımcı (2013) hasta melek balıklarından izole ettikleri *A. hydrophila* suşlarının krem renkli, fermentatif, indol üretimi pozitif olduğu, arjinin dihidrolaz ile lizin dekarboksilaz pozitif, fruktoz ve sukrozdan asit ürettiklerini ancak laktozdan ise asit üretmediğini bildirmiştir.

Çalışmamızda izole edilen bakteri suşları fermentatif, indol üretimi pozitif, arjinin dihidrolaz ve lizin dekarboksilaz pozitif olduğu, fruktoz, sukroz ve laktozdan asit ürettiği tespit edilmiştir. Çalışmamızda suşların laktozdan asit üretimi pozitif bulunarak bu sonucun Ürkü ve Yardımcı (2013) tarafından bildirilen sonuçtan farklı olduğu tespit edilmiştir.

Nahar vd. (2016) çalışmalarında izole ettikleri 10 *A. hydrophila* suşunu tanımlamak için API 20E hızlı tanı kitini de çalışmalarına dahil etmiştir. Araştırmacılar suşların beta-galaktosidaz, arjinin dihidrolaz, lizin dekarboksilaz, sodyum sitrat, üre, triptofan deaminaz, triptofan, sodyum piruvat, jelatinaz, glükoz, mannitol, sukroz,

melibiyoz, amigdalin ve arabinoza pozitif reaksiyon verdiği, bununla birlikte, suşların ornitin dekarboksilaz, sorbitol ve ramnoz test sonuçlarının ise negatif olduğunu bildirmiştir.

Chirilă vd. (2008) *Cyprinus carpio*'dan izole ettikleri bakteri suşlarının tanımlanmasında API 20E hızlı tanı kitini kullanmıştır. Kit sonuçlarına göre, hasta sazan balıklarından izole ettikleri bakteriler *A. hydrophila* grup 1 olarak tanımlanmıştır.

Çalışmamızda izole edilen *A. hydrophila* suşlarının API 20E hızlı tanı kitinde beta-galaktosidaz, arjinin dihidrolaz, lizin dekarboksilaz, sodyum sitrat, jelatinaz, glukoz, mannitol, amigdalin test sonuçlarının pozitif olduğu ancak üre üretimi, arabinoz ile tda sonuçlarının Nahar vd. (2016) tarafından bildirilen sonuçlardan farklı olduğu bulunmuştur. Çalışmada *A. hydrophila* suşlarının API 20E hızlı tanı kitinde ornitin dekarboksilaz, sorbitol ve ramnoz üretimleri negatif olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar Nahar vd. (2016) tarafından bildirilen sonuçlar ile uyumlu olduğu anlaşılmıştır.

Genel olarak balık hastalıklarının tedavisinde antimikrobiyalardan yararlanılmaktadır (Harikrishnan ve Balasundaram 2005). Ne var ki, bakteriyel balık hastalıklarını tedavi etmek için kullanılan antimikrobiyal ajanlar ilaca karşı dirençli bakteri suşlarının gelişmesi ile sonuçlanabilmektedir (Harikrishnan ve Balasundaram 2005).

Uygun olmayan su kalitesi, yetersiz yem ve baskılanmış immun sistem *A. hydrophila* gibi fırsatçı balık patojenleri için enfeksiyon oluşturmada yardımcı olur ve antibiyotikler gibi antimikrobiyaller genellikle hastalık çıkışlarını önlemek amacı ile kullanılır (Mahanty vd. 2013).

Laith ve Najiah (2013) çalışmalarında *C. gariepinus*'tan izole ve tanımlayan ettikleri *A. hydrophila* suşlarının ampisilin'e dirençli, tetrasikline ise duyarlı olduğunu bildirmiştir.

Nahar vd. (2016) çalışmalarında *P. hypophthalmus*'tan izole ve tanımlayan ettikleri *A. hydrophila* suşlarının doksisisiklin, eritromisin, kloramfenikol, streptomisin, trimetoprim ve oksitetrasiklin'e hassas, amoksiklav'a ise dirençli olduğunu bildirmiştir.

Yaptığımız çalışmada hasta gökkuşağı alabalıklarından izole edilen altı *A. hydrophila* suştan 2'sinin kanamisin, eritromisin, nalidiksik asit, flumekuin, tetrasiklin, sülfametoksazol, ampisilin, trimetoprim, oksalinik asit, kloramfenikol ve streptomisin'e dirençli oldukları bulunmuştur. Çalışmada tüm suşların 30 µg'lık tetrasiklin'e dirençli olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada altı suştan 4'ü ampisilin, eritromisin ve nalidiksik aside dirençli olduğu anlaşılmıştır.

Aeromonas enfeksiyonlarının tedavisi antibiyotikler ile yapılmakta olup, antimikrobiyal dirençten dolayı *Aeromonas* kökenli enfeksiyonların tedavisi güçleşmektedir. *Aeromonas* izolatlarındaki antimikrobiyal direncin genellikle kromozomal olmakla birlikte, betalaktamaz üretiminin sıklıkla plazmit veya integron kaynaklı olduğunda bildirilmiştir (Onuk vd. 2017). İnsan ve hayvanlara ait

antimikrobiyalleri içeren atık suların akarsulara karışması sonucu kommensal florada bulunan bakteriler direnç genlerini o ortamın florasında bulunan bakterilere aktarabilmekte bunun sonucu olarak da akarsuların doğal florasında yer alan bakteriler antimikrobiyal direnç genleri için rezervuar görevi görürler. Bu suların insan ve hayvanlar tarafından kullanımının sonucu olarak da antimikrobiyal ilaçların etkinliğinde azalma ortaya çıkmaktadır (Onuk vd. 2017).

Çeşitli balık dokularından izole edilen *A. hydrophila* suşlarının amoksisilin, ampisilin, linkomisin, novobiosin, penisilin, rifampisin ve tetrasiklin gibi bir çok antibiyotik maddeye direnç geliştirdiğinden dolayı antibiyotiklere alternatif çalışmalarda artış görüldüğü bildirilmiştir (Mahanty vd. 2013). Bu alternatiflerin arasında prebiyotikler, probiyotikler ve bakteriyosinlerin yanı sıra tıbbi ve yerel bitkilerin kullanımı da gelmektedir (Tareq Uz Zaman vd. 2014; Bhuvaneswari ve Balasundaram 2006).

Mevcut çalışmada hasta gökkuşağı alabalıklarından izole edilen *A. hydrophila* suşları üzerine astaksantin farklı çözücüler ile hazırlanan solüyonları kullanılmıştır. Antibakteriyel test sonuçlarına göre suyun etkili olmadığı, kloroform'un ise etkili olduğu bulunmuştur.

Ushakumari ve Romanujan (2013) bir karides türü olan *Metapenaeus dobsoni*'den elde ettikleri astaksantin antibakteriyel aktivitesini değerlendirmeye yönelik çalışmalarında astaksantin *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerine antimikrobiyal aktivitesini araştırmıştır. 50 ml'lik hekzan ve 6 ml'lik DMSO ilavesi ile hazırladıkları ekstraktın standart kloramfenikol ile karşılaştırıldığında, hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakteriler üzerinde etkili olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte farklı çözücüler kullanılarak deneylerin yapılması gerektiğini önermiştir.

6. SONUÇLAR

Aeromonas hydrophila başta gökkuşağı alabalığı da dahil olmak üzere diğer tatlı su balıkları, deniz balıkları ve ve süs balıklarının yetiştiriciliğini etkileyen önemli bakteriyel enfeksiyon etkenleri arasında yer almaktadır. Günümüze kadar bakteriyel balık hastalıklarının tedavisinde antimikrobiyal ilaçlardan faydalanılmıştır. Yoğun ve rastgele ilaç kullanımı bakteri türlerinde bu ilaçlara karşı direnci gelişmesine yol açabilmektedir. *A. hydrophila* kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde de antimikrobiyal ilaçlar kullanılması, bakterinin birden fazla antimikrobiyale dirençli hale gelmesi sonucunu ortaya çıkartmıştır. Bu nedenle, antimikrobiyal ajanlara özellikle antibiyotiklere yönelik alternatiflerin araştırılması ve kullanılması gündeme gelmiştir. Bugün, bu konuda birden fazla çalışma yapılmakta ve çözüm önerileri üretilmeye çalışılmaktadır. Astaksantin güçlü antioksidan özelliğinin olduğu bilinmektedir.

Bu çalışma ile gökkuşağı alabalık işletmelerinde balıkların strese girmeleri sonucu ortaya çıkan Hareketli *Aeromonas* Septisemisi vakalarında sıklıkla izole edilen *A. hydrophila* suşu üzerine astaksantin, antibiyotiklere alternatif olarak antibakteriyel özelliğinin olup olmadığı *in vitro* olarak araştırılmıştır. Bu amaçla astaksantin su, etanol, metanol, kloroform ve 2-propanol ile hazırlanan farklı çözücülerinin *A. hydrophila* üzerine antibakteriyel etkisi çalışılmıştır. Çalışmada astaksantin farklı çözücüler ile hazırlanan solüsyonlarından özellikle kloroform'un en etkili olduğu, suyun ise etkisiz olduğu tespit edilmiştir. Mevcut çalışma astaksantin için temel bir çalışma olup öncesinde astaksantin herhangi bir balık patojeni üzerine etkisinin araştırıldığı ilk çalışma özelliği taşımaktadır. Bu yüzden astaksantin *in vitro* çalışma sonuçlarının daha sonra yapılacak *in vivo* çalışmalara da temel olabileceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

Akbulut B., Kurtoğlu İ. Z., Üstündağ E., Aksungur M., 2009. Karadeniz Bölgesi'nde balık yetiştiriciliğinin tarihsel gelişimi ve gelecek projeksiyonu. *Journal of Fisheries Sciences*, 3(2), 76-85 (2009). DOI: 10.3153/jfscm.2009011.

Akın O., 2005. *Haemotococcus pluvialis* mikroalginden astaksantin ekstraksiyonu. Ege Ün. Fen Bil. Ens. Biyomühendislik ABD, Yüksek Lisans Tezi, 37 sayfa, İzmir.

Akyar I., Can S., 2013. Rapid identification of *Aeromonas* species in tool samples with chromogenic media and matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: an institutional experience. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 43: 388-392.

Anonim: <https://salibahtiyar.tr.gg/Turkiye-h-nin-Endemik-ve-Egzotik-Alabalıklıkları.htm>

Arda M., Seçer S., Sarıeyyüboğlu M., 2002. Balık Hastalıkları Medisan Yayınları Serisi, No:56, Ankara, 1429.

Aydın H., 2016. Türkiye'de kültür balıkçılığı potansiyeli ve akuakültür sektörünün ekonomiye katkısı. ICOMEP 2016 | International Congress of Management Economy and Policy | Proceedings Book, 1-6.

Belém Costa A., Cyrino J. E. P., 2006. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, 63(3): 81-84.

Bhuvaneswari R., Balasundaram C., 2006. Traditional Indian herbal extracts used *in vitro* against growth of the pathogenic bacteria-*Aeromonas hydrophila*. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 58(2): 89-96.

Bruno D. W., 2015. Furunculosis. Revised edition. ICES Identification Leaflets for Diseases and Parasites of Fish and Shellfish. Leaflet No: 37, 35 pp.

Camus A. C., Durborow R. M., Hemstreet W. G., Thune R. L., Hawke J. P., 1998. *Aeromonas* bacterial infections-motile Aeromonad septicemia. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC) Publication 478. Staneville.

Castillo D., Higuera G., Villa M., Middelboe M., Dalsgaard I., Madsen L. Espejo R. T. 2012. Diversity of *Flavobacterium psychrophilum* and the potential use of its phage for protection against bacterial cold water disease in salmonids. *Journal of Fish Diseases*. 35: 193-201.

Chalkoo S. R., Najar A. M., Quershi T. A., Shafi A., 2007. Furunculosis in snow trout (*Schizothoracinae*) in Kashmir: first report. *J. Indian Fish Assoc.*, 34: 59-73.

Chirilă F., Fiț N., Nadăș G., Negrea O., Ranga R., 2008. Isolation and characterization of an *Aeromonas hydrophila* strain in a carp (*Cyprinus carpio*) toxemia focus. *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine*, 65(1): 244-247.

Choubert G., Mendes-Pinto M. M., Morais R., 2006. Pigmenting efficacy of astaxanthin fed to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: effect of dietary astaxanthin and lipid sources. *Aquaculture*, 257, 429-436.

Cipriano R.C., Holt R.A., 2005. *Flavobacterium psychrophilum*, cause of Bacterial cold-water disease and rainbow trout fry syndrome. *Fish Disease Leaflet*

No.86. United States Dept. of the Interior U.S. Geological Service, National Fish Health Research Laboratory, Kearneysville, WV.

CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute), 2006. Methods for antimicrobial disk susceptibility testing of bacteria isolated from aquatic animals; approved guideline. CLSI Document M42-A, 26 (23), ISBN: 1-56238-611-5). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road Suite 1400 Wayne, Pennsylvania 19087-1898-USA.

Çağıltay F., 2007. İçsu Balıkları Yetiştiriciliği Nobel Yayın Dağıtım Nobel J.

Çelikkale M. S., Düzgüneş E., Okumuş İ., 1999. Türkiye su ürünleri sektörü, potansiyeli, mevcut durumu, sorunları ve çözüm önerileri. İstanbul Ticaret Odası, Yayın No: 1992-2, İstanbul, 414.

Diler İ., Hassu B., Dilek K., Emre Y., Sevgili H., 2005. Effects of natural and synthetic pigments in diets on flesh coloration and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.). The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 57(3), 175-184.

Doukas V., Athanassopoulou F., Karagouni E., Dotsika E., 1998. *Aeromonas hydrophila* infection in cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., and *Puntazzo puntazzo* Cuvier from the Aegean Sea. Journal of Fish Diseases, 21, 317-320.

Elsayed E.E., Eissa A.E., M. Faisal, 2006. Isolation of flavobacterium psychrophilum from sea lamprey, *Petromyzon marinus* L., with skin lesions in Lake Ontario. Journal of Fish Diseases, 29: 629-632.

Engelking H. M., 1999. Literature review, *Aeromonas salmonicida*, the causative agent of furunculosis. Pelton Round Butte Hydroelectric Project Ferc No. 2030. 21 p.

Erdağlı İ., 2011. Kapsaisin *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis* üzerine antimikrobiyal etkisinin incelenmesi. Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bitirme Ödevi, Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Kayseri, 53 sayfa.

Ferguson H., 1988. Fish Diseases Post Graduate Committee in Veterinary Science, University of Sydney, Australia.

Fukushima H. C. S., Bailone R. L., Ranzani Paiva M. J. T., 2017. Lactococcosis in reared fish in Brazil and control strategies. Journal of Vaccines and Vaccination. 8:3. DOI: 10.4172/2157-7560.1000357.

Gudmundsdóttir B. K., Hvanndal I., Björnsdóttir B., Wagner U., 2003. Analysis of exotoxins produced by atypical isolates of *Aeromonas salmonicida*, by enzymatic and serological methods. Journal of Fish Diseases, 26: 15-29.

Güney C., Aydın H., 2016. Su ürünleri yetiştiriciliği yapan işletmelerde çevresel maliyetlerin muhasebeleştirilmesi. Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi, 9(40), 1095.

Hanson L. A., Liles M. R., Hossain M. J., Griffin M. J., 2014. Motile *Aeromonas* Septicemia. In: AFS-FHS (American Fisheries Society-Fish Health Section) FHS blue book: Suggested procedures for the detection and identification of certain finfish and shellfish pathogens. Bethesda, Maryland. 1-11.

Harikrishnan R., Balasundaram O., 2005. Modern trends in *Aeromonas*

hydrophila disease management with fish. Rreviews in Fisheries Sciences, 13: 281-320.

Huang Y.,Jung A., Schäfer W. J., Mock D., Michael G. B., Runge M., Schwarz S., Steinhagen D., 2015. Analysis of *Yersinia ruckeri* strains isolated from trout farms in northwest Germany. Diseases of Aquatic Organisms. 116: 243-249.

Igbinsa I.H., Igumbor E.U., Aghdasi F., Tom M., Okoh A.I., 2012. Emerging *Aeromonas* species infections and their significance in public health. Scientific World Journal, 2012:625023. doi: 10.1100/2012/625023.

İşleyici Ö., Sancak Y. C., 2009. Gidalarda hareketli *Aeromonas*'lardan kaynaklanan sağlık riskleri. YYU Veteriner Fakültesi Dergisi, 20(2): 69-74.

Janda J. M., Abbott S. L., 2010. The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. Clinical Microbiology Reviews, 23(1): 35-73.

Jeeva S., Packia Lekshmi N. C., Rja Brindha J., Vasudevan A., 2013. Studies on antibiotic susceptibility of *Aeromonas hydrophila* isolated from gold fish (*Carassius auratus*). International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 2(12): 7-13.

Korun J., Falakalı Mutaf B., Akşit D., 2011. Kültür levrek balıklarından (*Dicentrarchus labrax*, L.) izole edilen *Vibrio* suşlarının antibiyotik hassasiyetleri, plazmit profilleri, siderofor üretimleri ve hemolitik aktiviteleri üzerine bir çalışma. Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi, Proje No: 2007.01.0121.003. Antalya, 116 sayfa.

Korun J., 2015. A study on the present disease situation of the cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) in Turkey. Sixth International Scientific Agricultural Symposium, Agrosym 2015. Book of Proceedings, 1729-1733.

Korun J., Timur G., Yardımcı R. E., Balcı A. B., 2017. Histopathological changes of rainbow trout after experimental infection with *Lactococcus garvieae*. Journal of Advances in VetBio Science and Techniques. 2(3): 12-20.

Köksal M., 2008. Farklı ortam koşullarının (Işık, sıcaklık, besin eksikliği ve havalandırma) *Haemotococcus pluvialis* Flatow'da büyüme ve astaksantin miktarına etkisi, Çukurova Üniversitesi Fen Bil. Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi 2008, 52.

Kumar G. S.,Menanteau-Ledouble S., Saleh M., El-Matbouli M., 2015. *Yersiniaruckeri*, the causative agent of entericred mouth disease in fish. Veterinary Research, 46: 103-113.

Kumar K., Pande V., Singh L., Sharma L., Saxena N., Thakuria D., Singh A. K., Sahoo P. K., 2016. Pathological findings of experimental *Aeromonas hydrophila* infection in golden mahseer (*Tor putitora*). Fisheries and Aquaculture Journal, 7: 160. doi.10.4172/2150-3508.1000160.

Kurtoğlu M., 2010. Fethiye Yöresinde Bulunan Bazı Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) İşletmelerindeki Yavru Balıkların Laktokokkozis Yönünden İncelenmesi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Antalya.

Kurtoğlu M., Korun J., 2018. Yavru gökkuşığı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, W.)'ndan *Lactococcus garvieae*'nin izolasyonu ve plazmit profilleri üzerine bir çalışma. Journal of Advances in VetBio Science and Techniques. 3(1): 11-22.

Kürüm V., Emre Y., Bayrak M., 1998. Havuz ve kafeslerde alabalık yetiştiriciliği. Minpa Matbaacılık Tic. Ltd.

Laith A. R., Najiah M. 2013. *Aeromonas hydrophila*: antimicrobial susceptibility and histopathology of isolates from diseased catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). J. Aquat Res Development, 5: 215. doi: 10.4172/2155-9546.1000215.

Mahanty A., Mishra S., Bosu R., Maurya U. K., Netam S. P., Sarkar B., 2013. Phytoextracts-synthesized silver nanoparticles inhibit bacterial fish pathogen *Aeromonas hydrophila*. Indian J Microbiol., 53(4): 438-446.

Martin-Carnahan A., Joseph S. W., 2005. Order XII *Aeromonadales* ord nov. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd edn., vol. 2, part B, p. 556. Edited by Brenner D. J., Krieg N. R., Staley J. T., Garrity G. M., New York, Springer.

Martínez-Murcia A. J., Saavedra M. J., Mota V. R., Maier T., Stackebrandt E., Cousin S., 2008. *Aeromonas aquariorum* sp. nov., isolated from aquaria of ornamental fish. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 58: 1169-1175.

Meyburgh C. M., Brogg R. R., Boucher C. E., 2017. *Lactococcus garvieae* : an emerging bacterial pathogen of fish. Diseases of Aquatic Organisms. 123: 67-99.

Nahar S., Rahman M. M., Ahmed G. V., Faruk A. R., 2016. Isolation, identification, and characterization of *Aeromonas hydrophila* from juvenile farmed pangasius (*Pangasianodon hypophthalmus*). International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 4(4): 52-60.

Nya E. J., B. Austin, 2009. Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas Hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases, 2009, 32(11), 963-970.

Onuk E. E., Tanrıverdi Çaycı Y., Çoban A. Y., Çiftçi A., Balta F., Didinen B. I., Altun S., 2017. Balık ve yetiştirme suyu kökenli *Aeromonas* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının saptanması. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 64: 69-73.

Ögüt H., Akyol A., 2005. Prevalence and intensity of *Hexamita salmonis* in rainbow trout farms in the southeastern Black Sea and their relationship to environmental factors. The Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh, 57(2), 97-104.

Özgür E. G., 2008. Farklı özellikteki iki işletmede Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)' nın büyüme performansının incelenmesi. Marmara Üniversitesi Fen Bil. Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi 2008, 45.

Öztürk R. Ç., Altınok İ., 2014. Bacterial and Viral Fish Diseases in Turkey. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 14: 275-297.

Poobalane S., 2007. *Aeromonas hydrophila* vaccine development using immunoproteomics. Ph. Thesis, Institute of Aquaculture, University of Stirling, 217 pages.

Raissy M., 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.

Roberts R. J., Shepherd C. J., 1974. Handbook of trout and salmon diseases,

Fishing News (Books) Ltd, West Byfleet.

Salihoğlu H., Melek H., Bayçelebi H., Aksungur M., Çakmak E., Başçınar N., Akhan S., 2013. Doğu Karadeniz bölgesi alabalık işletmelerinde anaç stok yönetim sistemi oluşturulması. Yunus Araştırma Bülteni, 2: 21-33.

Sarıözkan S., 2016. Türkiye’de balıkçılık sektörü ve ekonomisi. Aquatic Sciences and Engineering, 31(1): 15-22.

Sarkar M. J. A., Rashid M. M., 2013. Pathogenicity of the bacterial isolate *Aeromonas hydrophila* to catfishes, carps and perch. J. Bangladesh Agril. Univ., 10(1): 157-161.

Sarmaşık A., 2002. Antimicrobial peptids a potential therapeutic alternative for the treatment of fish diseases. Turk J Biol., 26: 201-207.

Starliper C.E., 2011. Bacterial cold water disease of fishes caused by *Flavobacterium psychrophilum*. Journal of Advanced Research, 2, 97-108.

Stratev D., Vashin I., Daskalov H., 2013. Antimicrobial resistance of β -haemolytic *Aeromonas hydrophila* strains isolated from rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss*). Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 16, 4: 289-296.

Swan L., White M. R., 2014. Diagnosis and treatment of *Aeromonas hydrophila* infection of fish. fact Sheet AS-461, Aquaculture Extension, Illinois, 1-2.

Tareq Uz Zaman M., Chowdhury M. B. R., Dipu M. R. K., 2014. Isolation of bacterial fish pathogen *Aeromonas hydrophila* and therapeutic effects of medicinal plants on its invasion. Journal of Fisheries, 2(1): 76-79.

Thiyagarajan P., Lakshmi Bhavani A., Ebbie M. G., Chandra G., 2014. A study on the control of *Aeromonas hydrophila* infection in the cat fish by medicinal plants. Scholars Academic Journal of Biosciences, 2(2): 144-150.

Timur G., Akaylı T., Korun J., Yardımcı R. E., 2010. A study on bacterial haemorrhagic septicemia in farmed young russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) in Turkey. İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 25(1): 19-27.

Timur G., Timur M., 2003. Balık Hastalıkları. İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayın No: 5, 538 sayfa.

Tkachenko H., Grudniewska J., Pękala A., Paździor E., 2016. Effects of vaccination against *Yersinia ruckeri* on oxidative stress biomarkers and liver and heart biochemistry in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). ArchPolFish, 24: 33-46.

Türker H., Birinci Yıldırım A., Pehlivan Karakaş F., 2009. Sensitivity of bacteria isolated from fish to some medicinal plants. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 9: 181-186.

UMS (Ulusal Mikrobiyoloji Standartları), 2015. Laboratuvar Tanı Rehberi. T. C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Ankara.

Ürkü Ç., Yardımcı R. E., 2009. Melek balıklarında (*Pterophyllum scalare*) *Capilaria* sp. enfestasyonu ve bakteriyel sepsisemi. Journal of Fisheries Sciences, 7(3): 232-240.

Vijayan K. K., Rajendran K. V., Sanil N. K., Alavandi S. V., 2015. Fish health management in cage aquaculture. 5th International Symposium on Cage Aquaculture in Asia CAA5, November 25-28, Kochi, India, 94-103.

Wamala S. P., Mugimba K. K., Mutoloki S., Evensen Ø., Mdegela R., Byaruga D. K., Sørum H., 2018. Occurrence and antibiotic susceptibility of fish bacteria isolated from *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia) and *Clarias gariepinus* (African catfish) in Uganda. Fisheries and Aquatic Sciences, 21: 6. doi 10.1186/541240-017-0080-x.

Watts J. E. M., Schreier H. J., Lanska L., Hale M. S., 2017. The rising tide of antimicrobial resistance in aquaculture: sources, sinks and solutions. Marine Drugs, 18: 158-174.

Yardımcı B., Aydın Y., 2011. Pathological findings of experimental *Aeromonas hydrophila* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 58: 47-54.

Yi S. W., Kim D. C., You M. J., Kim B. S., Kim W. II., Shin G. W., 2014. Antibiotic and heavy-metal resistance in motile *Aeromonas* strains isolated from fish. African Journal of Microbiology Research. 8(17): 1793-1797.

Yiğit M., Aral O., 1999. Gökkuşığı Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Tatlısu ve Deniz Suyundaki Büyüme Farklılıklarının Karşılaştırılması. Tr. J. Of Veterinary and Animal Sciences, 23(1999), 53-59, TÜBİTAK.

Zaki V. H., 2014. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* on the immune status of *Oreochromis niloticus* against transportation stress and motile *Aeromonas* septicemia. 1st Ann Confr, FVM, Moshtoh, Sept., 1-4.

Zepeda-Velázquez A. P., Vega-Sánchez V., Salgado-Miranda C., Soriano-Vargas E., 2015. Histopathological findings in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) naturally infected with 3 different *Aeromonas* species. The Canadian Journal of Veterinary Research. 79: 250-254.

Zorriehzahra M. J., Adel M., Torabi Delshad S., 2017. Enteric red mouth disease: past, present and future: A review. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 16(4): 1135-1156.

ÖZGEÇMİŞ

HALİL İBRAHİM KÜÇÜKER

ibrahim_kucuker@hotmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2014-2018	Su Ürünleri Fakültesi, Su ürünleri Mühendisliği, Antalya
Lisans	Ege Üniversitesi
2008-2012	Su Ürünleri Fakültesi, Su ürünleri Mühendisliği, Antalya
Lise	Gazi Lisesi
2003-2007	Antalya
İlköğretim	Namık Kemal İlköğretim Okulu
1996-2003	Antalya