



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MB- DR- 2006- 0001

**GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA ENTERİK KIZILAĞIZ
HASTALIĞINA KARŞI *YERSİNİA RUCKERİ* SEROTİP I VE
SAHA SUŞLARINDAN HAZIRLANAN MONOVALAN VE
POLİVALAN AŞILARIN BAĞIŞIKLIK GÜÇLERİNİN
KARŞILAŞTIRMALI İNCELENMELERİ**

HAZIRLAYAN: Araş. Gör. Yeşim TIRAVOĞLU DEMİRTAŞ

DANIŞMAN: Prof. Dr. Osman KAYA

AYDIN - 2006

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MB- DR- 2006- 0001

**GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA ENTERİK KIZILAĞIZ
HASTALIĞINA KARŞI *YERSİNİA RUCKERİ* SEROTİP I VE
SAHA SUŞLARINDAN HAZIRLANAN MONOVALAN VE
POLİVALAN AŞILARIN BAĞIŞIKLIK GÜÇLERİNİN
KARŞILAŞTIRMALI İNCELENMELERİ**

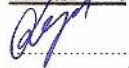
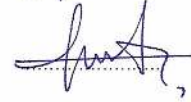
HAZIRLAYAN: Araş. Gör. Yeşim TIRAVOĞLU DEMİRTAŞ

DANIŞMAN: Prof. Dr. Osman KAYA

AYDIN – 2006

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE
AYDIN

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora programı öğrencisi Yeşim TIRAVOĞLU DEMİRTAŞ' ın hazırlanmış olduğu Doktora tezi, aşağıda isimleri bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.17.03.2006.....

<u>Adı ve Soyadı</u> :	<u>Üniversitesi</u>	<u>İmzası</u> :
Prof. Dr. Osman KAYA	Adnan Menderes Üniversitesi	
Prof. Dr. Ferda AKAR	Adnan Menderes Üniversitesi	
Prof. Dr. Hasan EREN	Adnan Menderes Üniversitesi	
Doç. Dr. Sait Uçkun UÇAN	Selçuk Üniversitesi	
Yrd.Doç.Dr. Serap SAVAŞAN	Adnan Menderes Üniversitesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nuntarih vesayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof. Dr. M. Kamil ÖCAL
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

ÖZ	i
ABSTRACT	ii
ÇİZELGELER LİSTESİ	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	vi
1. GİRİŞ	1
2. KONU İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR	2
3. MATERYAL VE METOT	32
3.1. Materyal	32
3.1.1. <i>Yersinia ruckeri</i> ve enterokok suşları	32
3.1.2. Araştırmada kullanılan balık örnekleri ve uygulama yeri	32
3.1.3. Araştırmada kullanılan su kaynağı ve suyun kalitesi	32
3.1.4. Araştırmada kullanılan yem rasyonu	32
3.1.5. Aşı	32
3.2. Metot	33
3.2.1. Çalışmada kullanılan suşların fenotipik özelliklerinin belirlenmesi	33
3.2.2. Deneysel aşının hazırlanması	33
3.2.3. Aşıların uygulanması	34
3.2.4. Aşı etkinliğinin değerlendirilmesi	35
3.2.5. Bağışıklığın değerlendirilmesi	36
3.2.6. İstatistiki hesaplamalar	37
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	38
4.1. Bulgular	38
4.1.1. Çalışmada kullanılan suşların fenotipik özellikleri ile ilgili bulgular	38
4.1.2. Hazırlanan aşının toksisitesinin belirlenmesi amacıyla yapılan	40

denemelerin sonuçları	41
4.1.3. Hazırlanan aşının LD ₇₀ dozunun belirlenmesinde kullanılan testlerin sonuçlarıyla ilgili bulgular	42
4.1.4. Deneysel aşılardan sağladığı bağışıklık seviyesinin sonuçları	
4.2. Tartışma	54
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	60
ÖZET	62
SUMMARY	63
TEŞEKKÜR	64
KAYNAKLAR	65
ÖZGEÇMİŞ	78

ÖZ

Bu araştırma ile gökkuşaağı alabalıklarında enterik kızılâğız hastalığına karşı *Yersinia ruckeri* serotip I ve saha *Yersinia ruckeri* suşlarından hazırlanan aşılarda bağışıklık güçlerinin karşılaştırmalı incelenmeleri amaçlanmıştır.

Araştırmada 1250 adet 6-10 g ağırlığındaki gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ülkemizden izole edilen saha *Yersinia ruckeri*, enterokok ve Danimarka'dan izole edilen referans *Yersinia ruckeri* suşlarından hazırlanan aşılarda oral, immersiyon ve enjeksiyon yöntemiyle aşılanmıştır.

Aşıların etkinliklerinin değerlendirilmesi için oral yöntemle aşılanan balıklarda 70. gün, immersiyon yöntemi ile aşılanan balıklarda 28. ve 75. günler, enjeksiyon yöntemi ile aşılanan balıklarda 45. ve 105. günler epruvasyona maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda saha suşlarından hazırlanan aşılarda (her üç aşılama yönteminde de) daha iyi koruma sağladığı tespit edilmiştir. Uygulanan polivalan aşılarda da monovalan aşılarda kadar iyi bir koruma sağladığı gözlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: *Yersinia ruckeri*, *Enterococcus seriolicida*, Aşı, polivalan, Gökkuşaağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)

ABSTRACT

The aim of this study presented here was to investigate the potency of the monovalant and polivalent vaccines of *Yersinia ruckeri* serotype I and field *Yersinia ruckeri* against rainbow trouts` red mouth disease.

In the study a total of 1250 rainbow trout weighed 6-10 g. were vaccinated by orally, immersion method and injection method with vaccine made by Denmark isolate of *Yersinia ruckeri* serotype I and field isolate of *Yersinia ruckeri* and enterococ.

Potency of vaccines were determined challenging at the day of 70 in orally vaccinated group, at the day of 28 and 75 in immersion group and at the day of 45 and 105 in injection vaccinated group.

At the end of the study vaccines made by the field isolate of *Yersinia ruckeri* provide more protection compared to other *Yersinia ruckeri* isolate. The polivalent vaccines was also as effective as monovalant vaccines.

KEY WORDS: *Yersinia ruckeri*, *Enterococcus seriolicida*, Vaccine, Polivalent, Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1.	<i>Yersinia ruckeri</i> izole edilen kaynaklar	5
Çizelge 2.	<i>Yersinia ruckeri</i> izolatlarının coğrafik orijinlere göre biyotip, OMP-tip ve serotiplerinin belirlenmesi	10
Çizelge 3.	<i>Yersinia ruckeri</i> serotip O ₁ izolatlarının OMP-tip (dış membran proteinleri) ve biyotiplerine göre klonal grupların belirlenmesi	11
Çizelge 4.	<i>Yersinia ruckeri</i> 'nin mevcut serotipleri ile bağlantı kurularak oluşturulan yeni serotipik şema	12
Çizelge 5.	<i>Yersinia ruckeri</i> 'nin, O antijenindeki farklılıklara göre Serotiplendirilmesi	12
Çizelge 6.	Waltman&Shotts Besiyerinin İçeriği	16
Çizelge 7.	ROD Besiyerinin İçeriği	17
Çizelge 8.	Aşılama Yöntemlerinin Avantaj ve Dezavantajları	24
Çizelge 9.	Gökkuşaklı alabalıklarında immersiyon, oral ve anal intubasyonla immunizasyonun karşılaştırılması	27
Çizelge 10.	<i>Yersinia ruckeri</i> aşısı ile <i>Salmo trutta</i> 'ların direkt immersiyon Aşılması	29
Çizelge 11.	3 aylık <i>Salmo trutta</i> 'larda <i>Yersinia ruckeri</i> 'ye karşı tek veya iki aşılamının koruma yüzdeleri	30
Çizelge 12.	Saha ve Referans <i>Yersinia ruckeri</i> 'nin Fenotipik Özellikleri	38
Çizelge 13.	Enterokok Suşunun Fenotipik Özellikleri	39
Çizelge 14.	Hazırlanan aşıların toksisitesinin belirlenmesi amacıyla yapılan denemelerin sonuçları	40
Çizelge 15.	LD ₇₀ oranının tespitinde deneysel infeksiyon sonuçları	41
Çizelge 16.	Lam Agglütinasyon ve Mikroagglütinasyon Testlerine ait Bulgular	42
Çizelge 17.	Oral yolla aşılanan balıklarda 70. günde yapılan	44

	epruvasyon (LD_{70}) sonrası elde edilen RPS değerleri	
Çizelge 18.	İmmersiyon yolla aşıl原因 balıklarda 28. günde yapılan epruvasyon (LD_{70}) sonrası elde edilen RPS değerleri	44
Çizelge 19.	İmmersiyon yolla aşıl原因 balıklarda 75. günde yapılan epruvasyon (LD_{70}) sonrası elde edilen RPS değerleri	45
Çizelge 20.	Enjeksiyon yolla aşıl原因 balıklarda 45. günde yapılan epruvasyon (LD_{70}) sonrası elde edilen RPS değerleri	45
Çizelge 21.	Enjeksiyon yolla aşıl原因 balıklarda 105. günde yapılan epruvasyon (LD_{70}) sonrası elde edilen RPS değerleri	46
Çizelge 22.	LD_{70} uygulanan Kontrol grupları	47

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Epruvasyonlar sonucu elde edilen RPS değerleri	43
Şekil 2.	Referans <i>Yersinia ruckeri</i> suşundan hazırlanan monovalan A1 aşısının oral, immersiyon ve enjeksiyon yolla uygulanması sonucu elde edilen koruyuculuk değerleri	48
Şekil 3.	Saha <i>Yersinia ruckeri</i> suşundan hazırlanan monovalan A2 aşısının oral, immersiyon ve enjeksiyon yolla uygulanması sonucu elde edilen koruyuculuk değerleri	49
Şekil 4.	Saha Enterokok suşundan hazırlanan monovalan A3 aşısının oral, immersiyon ve enjeksiyon yolla uygulanması sonucu elde edilen koruyuculuk değerleri	49
Şekil 5.	Saha <i>Yersinia ruckeri</i> ve saha Enterokok suşundan hazırlanan A4 aşısının oral, immersiyon ve enjeksiyon yolla uygulanması sonucu elde edilen koruyuculuk değerleri	50
Şekil 6.	Referans <i>Yersinia ruckeri</i> ve saha Enterokok suşundan hazırlanan A5 aşısının oral, immersiyon ve enjeksiyon yolla uygulanması sonucu elde edilen koruyuculuk değerleri	50
Şekil 7.	Oral yöntemle aşı uygulamalarında 70. günde yapılan epruvasyonlar sonucu elde edilen koruma değerleri	51
Şekil 8.	İmmersiyon yöntemle aşı uygulamalarında 28. günde yapılan epruvasyonlar sonucu elde edilen koruma değerleri	51
Şekil 9.	İmmersiyon yöntemle aşı uygulamalarında 75. günde yapılan epruvasyonlar sonucu elde edilen koruma değerleri	52
Şekil 10.	Enjeksiyon yöntemle aşı uygulamalarında 45. günde yapılan epruvasyonlar sonucu elde edilen koruma değerleri	52
Şekil 11.	Enjeksiyon yöntemle aşı uygulamalarında 105. günde yapılan epruvasyonlar sonucu elde edilen koruma değerleri	53

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

BHIA	Brain Heart Infusion Agar
cfu	Colony Forming Unite
ECA	Enterobacteriaceae Common Antigen
ERM	Enteric Redmouth Disease
HSF	Heat Sensitive Factor
IP	Intraperitoneal
KA	Kanlı Agar
LAP	Leucine Aminopeptidase
LD	Lethal Dose
LPS	Lipopolisakkarit
O.D.	Optik Dansite
OMP	Outer Membran Protein
ROD	Ribos Ornitin Dezoksikolat
RPS	Nisbi Hayatta Kalma Yüzdesi
RS	Rimler-Shotts Agar
TSA	Tryptic Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
SW	Shotts-Walltman
YRSM	<i>Yersinia ruckeri</i> selektif medium

1. GİRİŞ

Günümüzde dünya nüfusunda meydana gelen artış beraberinde gıda yetersizliğini de ortaya çıkarmıştır. Özellikle, bedensel ve zihinsel gelişim açısından önemli olan protein açığının karşılanma ihtiyacı yeni bir sektörün doğmasına neden olmuştur. Bu sektör içinde kültür balıkçılığı önemli bir yer tutmaktadır. Ülkemizde son yıllarda hızlı bir gelişme gösteren kültür balıkçılığı, su ürünlerinin kontrollü ve yarı kontrollü şartlar altında üretiminin yapılmasını kapsamaktadır. Bu işletmelerde balıklar doğal ortamları ile karşılaştırıldığında adet olarak daha yoğun bir ortamda yetiştirilmekte ve aynı zamanda balıkların daha hızlı büyüme ve gelişmesi sağlanmaktadır. Doğada hastalanan balıklar diğer canlılar tarafından av-avcı ilişkisi sonucu hızla popülasyondan alındığı için doğada balık hastalıkları dikkat çekmemektedir. Ayrıca balık yoğunluğu da daha düşük olduğu için parazit ve bakteriler doğal şartlarda pek önemli olmayabilirler. Ancak yetiştirme şartlarında yetiştirme yoğunluğunun artması, su sıcaklığının değişmesi, düşük çözünmüş oksijen, besin değeri düşük olan yemler ve elle tutma yüzünden balıklar strese girmekte ve stres arttığında da hastalık problemleri ortaya çıkmaktadır. Hastalıkların ortaya çıkması ile ölen balıklar için yapılan yatırım, tedavi giderleri ve iyileşme döneminde görülen yavaş büyüme üretim maliyetlerini arttırmaktadır. Son yıllarda dünyada ve ülkemizde yoğun olarak görülen *Yersinia ruckeri*'nin oluşturduğu Enterik Kızılalgız Hastalığı ciddi ekonomik kayıplara yol açmakta ve alabalık işletmelerinin en önemli sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Tedavinin masraflı olması, iş gücü gerektirmesi, antibiyotik kullanımının patojenik ve nonpatojenik mikroorganizmalara karşı direnç oluşumuna neden olması ve bu durumunda insan ve hayvan sağlığını tehdit etmesi gibi nedenlerden dolayı çalışmalar daha çok hastalıktan korunma üzerine yoğunlaşmıştır.

Bu araştırmada ülkemizde çıkan bir enfeksiyondan elde edilen saha suyu ile referans suştan hazırlanan monovalan ve polivalan bakterinlerin etkinliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. KONU İLE İLGİLİ ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Kızılağız Hastalığı (Enteric Redmouth Disease) alabalıklarda sepsisemiyle seyreden enfeksiyöz bir hastalıktır. İlk defa 1950’li yıllarda Amerika’nın Idaho eyaletinin Hagerman vadisinde gökkuşağı alabalığı çiftliklerinde büyük kayıplarla ortaya çıkmıştır. Hastalık etkeni olan *Yersinia ruckeri* 1966 yılında Ross, Rucker ve Ewing tarafından tanımlanmış (Ross et al., 1966), aynı patolojik belirtileri gösteren *Aeromonas* ve *Pseudomonas* enfeksiyonlarından ayırt edilmiştir. Daha sonra Ewing ve arkadaşları, ilk izole eden Rucker’e ithafen etkeni *Yersinia ruckeri* olarak isimlendirmişlerdir (Ewing et al., 1978).

Akut veya kronik formda seyredebilen hastalık diğer bakteriyel sepsisemilere benzerlik göstermektedir. Vücut yüzeyinde ve iç organlarda hemorajiler yaygındır. Hastalık stresle bağlantılı olup asemptomatik hasta balıklar tehdit oluşturmaktadır (Post, 1987; Stevenson et al., 1993). Önceleri Hagerman Kızılağız Hastalığı, Kızıl Boğaz Hastalığı, Kızıl Karın Hastalığı, Bakteriyolojik Hemorajik Sepsisemi gibi isimler verilen hastalık 1975 yılında Amerikan Balıkçılık Birliği, Balık Sağlığı Bölümü (American Fisheries Society, Fish Health Section AFS/FHS) tarafından “Enteric Redmouth” (ERM) olarak isimlendirilmiştir. Günümüzde hastalık Kızılağız Hastalığı veya Yersiniozis olarak isimlendirilmektedir (Busch, 1982; Post, 1987).

Hastalık Hagerman vadisinde ortaya çıktıktan sonra Amerika’nın çeşitli bölgelerinden izolasyonlar bildirilmiştir. *Yersinia ruckeri*, Almanya (Fuhrman et al., 1983), Avustralya (Bullock et al., 1978), Batı Afrika (Bragg ve Henton, 1986), Danimarka (Dalsgaard et al., 1984), Finlandiya (Rintamaki et al., 1986; Valtonen et al., 1992), Fransa (Lesel et al., 1983; Vuillaume et al., 1987), İngiltere (Roberts, 1983), İran (Soltani et al., 1999), İskoçya (Dear, 1988), İspanya (De La Cruz et al., 1986; Rodriguez et al., 1999), İtalya (Giorgetti et al., 1985), Kanada (Stevenson ve Daly, 1982; Wobeser, 1973), Venezuela (Alvarez et al., 1986) ve Yunanistan’da (Savvidis, 1990) da salgınlara neden olmuştur.

Türkiye’de ise etken ilk defa 1990 yılında Çağırğan ve Yüreklitürk tarafından İzmir’de gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan bir işletmeden izole edilmiştir (Çağırğan ve Yüreklitürk, 1991). Daha sonra Timur ve Timur, Denizli yöresindeki

balıklardan izole ettiklerini bildirmişlerdir (Timur ve Timur, 1991). Hastalık ülkemizde ilk bildirildiği tarihten itibaren özellikle ilkbahar ve sonbahar aylarında epizootiler halinde ortaya çıkmaktadır (Candan ve Karataş, 1997; Çağırğan, 1990; Tanrıku et al., 1996).

Yersinia ruckeri balıkların birincil önemli patojenidir. Temel olarak gökkuşağı alabalıklarının hastalığı olmakla beraber tüm salmonidler ve diğer balık türlerinin de hastalıktan etkilendiği bildirilmektedir (Austin ve Austin, 1987; Post, 1987).

Etkenin taksonomik durumunu belirlemede genetik kriterler önem taşımaktadır. Gram negatif, çomak şeklinde, oksidaz negatif, periferik flagellalı, fermentatif bir bakteri olması *Yersinia ruckeri*'nin Enterobacteriaceae familyası içinde yer almasına neden olmuştur (Bercovier ve Mollaret, 1984; O'Leary et al., 1979; Post, 1987). Yapılan çalışmalarda etkenin *Serratia*, *Yersinia*, *Hafnia* ve *Salmonella* cinslerine ait türlerle benzerlikleri incelenmiştir. Önceleri *Serratia* genusuna dahil edilmesi düşünülmüş, fakat diğer *Yersinia* türleri ile DNA G-C oranının % 48 olması nedeniyle daha yakın bulunmuştur. Green ve Austin (1983), *Yersinia ruckeri*'nin fenotipik özellikleri bakımından *Yersinia* genusundan çok *Salmonella* genusuna yakınlık gösterdiği belirtilmiştir. Etken *Salmonella*'dan jelatin ve tween 20 hidrolizi, arabinoz ve ramnoz fermentasyonu, arjinin hidrolaz ve hidrojen sülfid üretimi ile ayrılmaktadır. Sonuç olarak, biyokimyasal reaksiyonlar, guanin-sitozin oranı ve DNA hibridizasyon çalışmalarına göre *Yersinia ruckeri* olarak isminin kullanılmasına karar verilmiştir (Busch, 1982; Horne ve Barnes, 1999; Stevenson et al., 1993).

Yersinia ruckeri hücreleri 1x 2-3 µm büyüklüğünde, Gram negatif, çomak şeklinde olmakla beraber eski kültürlerde veya bazı suşlarda filamentöz formlarda da gözlenebilen bir bakteridir (Austin ve Austin, 1987; Austin et al., 1982; Post, 1987; Ross et al., 1966). Etken peritrik flagellaya sahiptir, hareketsiz suşlar yaygın değildir (Busch, 1982). O'Leary (1979), 37°C'de flagella oluşumunun görülmediğini belirtmektedir.

Etken Triptik Soy Agar (TSA), Brain Heart Infusion Agar (BHIA) gibi genel ortamlarda 20-25 °C'de 48 saat inkubasyondan sonra 2-3 mm çapında, yuvarlak, kenarları düz, kabarık, parlak, beyaz koloniler oluşturmaktadır (Ross et al., 1966).

Yersinia ruckeri, 9-37 °C'ler arasında üreyebilmekte ise de optimum üreme sıcaklığının 20-25 °C olduğu belirlenmiştir.

Yersinia ruckeri'nin biyokimyasal özellikler bakımından homojen karakterde olup bazı suşlarda metil red, voges proskauer, lizin dekarboksilaz, arjinin dihidrolaz ve laktoz fermentasyon testlerinde farklılıklar görülebildiği bildirilmektedir (Ross et al., 1966, Stevenson et al., 1993; Wobeser, 1973). *Yersinia ruckeri* 22 °C'de inkube edildiğinde katalaz, metil red, sitrat kullanımı, ornitin dekarboksilaz testlerinin pozitif, sitokrom oksidaz, indol üretimi, H₂S üretimi, üreaz, glikozdan gaz üretimi testlerinin negatif olduğu bildirilmektedir (Bercovier, 1984). Geleneksel yöntemlerin dışında API20E testinin de kullanılabileceği bildirilmiştir (Santos et al., 1993). Fakat API20E testinde arjinin dihidrolaz (ADH), sitrat kullanımı, voges proskauer, jelatin ve sorbitol testlerinin hatalı pozitif veya negatif sonuç verebileceği ve etkenin *Hafnia alvei* ile karışabileceği belirtilmektedir (Davies, 1991a; Rintamaki, 1986; Santos et al., 1993, Stevenson ve Daly, 1982).

Hastalıktan en fazla etkilenen tür gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) olup *Salmo salar*, *Salmo clarki*, *Salmo trutta*, *Salvelinus fontinalis*, *Oncorhynchus kisutch* ve *Oncorhynchus nerka* gibi salmonidlerden de *Yersinia ruckeri* izole edilmektedir (Austin ve Austin, 1987; Busch, 1982). Bunun yanında kalkan (*Scophthalmus maximus*), levrek (*Dicentrarchus labrax*), kırmızı balık (*Carassius auratus*), mersin balığı (*Acipenser baeri*), minowlar (*Pimephales promelas*), sazan (*Cyprinus carpio*), sudak (*Perca fluviatilis*), yılan balığı (*Anguilla anguilla*) da enfeksiyona duyarlı balık türleri arasındadır (Austin ve Austin, 1987; Valtonen et al., 1992; Vuillaume et al., 1987). Hastalık ayrıca 1995 ve 1996 yıllarında Arkansas'ta kedi balıklarında da görülmüştür (Danley et al., 1999).

ÇİZELGE- 1 *Yersinia ruckeri* izole edilen kaynaklar (Horne ve Barnes, 1999; Stevenson et al., 1993)

<i>Yersinia ruckeri</i> izole edilen Salmonidler	<i>Yersinia ruckeri</i> izole eden araştırmacılar	<i>Yersinia ruckeri</i> izolasyon yılı
Cutthroat trout (<i>Salmo clarkii</i>)	McDaniel	1971
Steelhead trout (<i>Salmo gairdneri</i>)	McDaniel	1971
Coho salmon (<i>Oncorhynchus kisutch</i>)	McDaniel	1971
Chinook salmon (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>)	McDaniel	1971
Dere alası (<i>Salvelinus fontinalis</i>)	McDaniel	1971
Atlantik salmon (<i>Salmo salar</i>)	McDaniel	1971
Kahverengi ala (<i>Salmo trutta</i>)	McDaniel	1971
Sockeye salmon (<i>Oncorhynchus nerka</i>)	Dulin ve ark.	1976
Gökkuşluğu alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Rucker	1966
Hasta balıklar		
Gümüş Balığı (<i>Notemigonus atherinoides</i>)	Mitchum	1981
Minow (<i>Pimephales promelas</i>)	Michel ve ark.	1986
Çipura (<i>Sparus auratus</i>)	Wigneule	1984
Deniz Levreği (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	Wigneule	1984
(<i>Coregonus muksun</i>)	Rintamaki ve ark.	1986
Mersin Balığı (<i>Acipenser baeri</i>)	Vuillaume ve ark.	1987
Kalkan (<i>Scophthalmus maximus</i>)	Michel ve ark.	1986
Sağlıklı gözüken balıklar		
Japon Balığı (<i>Carassius auratus</i>)	McArdle & Dooley	1985
Bayağı Sazan (<i>Cyprinus carpio</i>)	Fuhrmann ve ark.	1984
Yılan Balığı (<i>Anguilla anguilla</i>)	Fuhrmann ve ark.	1984
Burbot (<i>Lota lota</i>)	Dwilow ve ark.	1987
Deneyisel bulaştırılan		
Kanal Kedi Balığı (<i>Ictalurus punctatus</i>)	Lewis	1981
Dil Balığı (<i>Solea solea</i>)	Michel ve ark.	1986
Diğer Kaynaklar		
Misk Faresi (<i>Ondatra zibethica</i>)	Stevenson & Daly	1982
Hindi	Bangert ve ark.	1988
Kerkenez	Bangert ve ark.	1988
Martı	Willumsen	1989
İnsan	Farmer ve ark.	1985

İlk olarak Idaho'da 1950'li yıllarda çıkan hastalığın daha sonra Amerika'nın diğer bölgelerine yayılmasında taşıyıcı balıkların hareketinin veya kontamine yumurtaların rol oynadığı düşünülmektedir. Yine hastalığın Kanada'da ilk çıkışının Idaho'daki asemptomatik taşıyıcı balıkların ithali ile gerçekleştiği belirtilmiştir (Post, 1987).

Yersinia ruckeri obligat paraziter bir bakteri olup, konakçı dışında uzun süre yaşayamaz. Etkenin bitki veya hayvan bulunmayan suda 2-3 hafta, çamurda 2 ay yaşadığı bildirilmiştir (Austin ve Austin, 1987; Ellis, 1988b; Post, 1987).

Yersinia ruckeri'nin balıktan balığa bulaşması daha çok oral yolla olmaktadır (Ellis, 1988b; Post, 1987). Balık yumurtası içinde veya üstünde taşınıp taşınmayacağına dair bir bilgi yoktur. Yapılan çalışmalarda embriyonlanmış yumurtanın 25 ppm yoğunluktaki iodoformla dezenfeksiyonunun etkeni öldürdüğü bildirilmiş ve bu nedenden dolayı da vertikal bulaşmanın olmadığı düşünülmüştür (Bullock ve Snieszko, 1979; Dulin et al., 1976). Ama yaralanmalar, zarar görmüş ve bütünlüğü bozulmuş deri ve solungaçlarda enfeksiyon için uygun giriş yolu oluşturabilirler. Manipasyonların yol açtığı stres, stok yoğunluğu, çözünmüş oksijen azlığı ve diğer stres faktörleri hastalığın ortaya çıkmasına yol açan diğer faktörlerdir (Austin ve Austin, 1987; Bullock ve Snieszko, 1979; Post, 1987; Stevenson et al., 1993).

Hastalığı geçiren balıklar portör kalırlar ve hastalığın bulaşmasında bu portör balıklar önemli rol oynarlar. Enfeksiyondan sonra 30-60. günlerde iç organlardan izole edilebilen *Yersinia ruckeri* enfeksiyondan sonraki 60-65. günlerde balıkların % 50-75'inin ince bağırsaklarında lokalize olur. Enfeksiyondan sonra yaklaşık 100 gün kadar 30-40 günlük periyotlar halinde bağırsaktan etrafa saçılır ve bunu takiben hastalığın tipik belirtileri gözlenir (Austin ve Austin, 1987).

Su samuru, martı ve rat gibi sıcak kanlı hayvanların da *Yersinia ruckeri* taşıyabildiği ve rezervuar olarak rol oynayabildiği bildirilmiştir. Özellikle martıların enfeksiyonun değişik bölgelere taşınmasında önemli olduğu belirtilmiştir (Clark et al., 2006; Stevenson et al., 1993; Willumsen, 1989).

Su sıcaklığı ve balık duyarlılığının inkubasyon süresini etkilediği bildirilmektedir. Deneysel oluşturulan ERM enfeksiyonlarında inkubasyon periyodunun 13-15 °C su sıcaklığında 5-10 gün olduğu bildirilmektedir. Doğal salgınlarda inkubasyon periyodunun ısı, pH ve çözünmüş oksijen gibi çevresel faktörlerle etkilendiği belirtilmektedir (Bullock ve Cipriano, 1990). Enfekte olmayan balıklar 14.5 °C'de *Yersinia ruckeri* ile karşılaştıklarında 6. günde, 18.3 °C'de 9.

günde epizootiler oluşmaktadır (Post, 1987). Hastalık, % 30-70 arasında değişen mortaliteye sahiptir (Austin ve Austin, 1987; Waltman ve Shotts, 1984).

Deneyssel uygulamalardan 5-19 gün sonra başlayan ölümlerin inokulum miktarına bağlı olarak 30-60 gün sürdüğü bildirilmektedir (Austin ve Austin, 1987). Busch (1982), *Yersinia ruckeri*'nin 24 saatlik kültürünü banyo yoluyla uygulamış ve % 30-70 oranında mortalite oluştuğunu bildirmiştir.

Gökkuşağı alabalıklarında ERM'nin çoğunlukla 7.5 cm büyüklüğündeki balıkları etkilediği belirtilmektedir. Hastalığın en şiddetli seyrettiği su sıcaklığı 15-18 °C'dir. 10 °C'nin altında hastalığın gözükmediği bildirilmektedir (Austin ve Austin, 1987; Busch, 1982; Ellis, 1988b; Horne ve Barnes, 1999; Plump, 1999).

ERM'de oluşan dış değişiklikler ilk defa Rucker tarafından infekte gökkuşağı alabalıklarında hareketsizlik, renkte kararma, ağız ve operkulumlar etrafında ve yüzgeçlerin tabanında kızılama şeklinde rapor edilmiştir (Austin ve Austin, 1987; Rintamaki et al., 1986).

Hastalık akut, subakut ve kronik formlarda seyretnmektedir (Post, 1987). Akut form daha çok su ısının aniden yükseldiği ilkbahar döneminde ve genç balıklarda görülmektedir. Hastalık hiçbir dış belirti olmadan aniden çıkmaktadır. Ağızda, yüzgeçlerin tabanında, operkulumlarda ve anus etrafında eritem görüldüğü bildirilmektedir (Horne ve Barnes, 1999). Deride vücudun değişik kısımlarında hemorajiler görülmektedir. İç organlarda, peritonda, vücut yağında, gonadlarda ve mesenteriumlarda eritem ve peteşiyel hemorajilere rastlanılmaktadır. İntestinal organlar genellikle eritemiktir ve kanlı bir mukusla doludur. Dalak ve böbrek şişkindir. Karaciğer soluk renktedir. Kaslarda peteşiler görülebilir (Austin ve Austin, 1987; Bullock ve Cipriano, 1990; Çağırgan ve Yürekli Türk, 1991; Post, 1987; Rucker, 1966).

Subakut vakalar da akut vakalara benzerlik gösterir, ama hastalık belirtileri daha şiddetlidir. Ayrıca tek veya çift taraflı ekzoftalmus görülebilir. Böbrek ve dalak daha şişkindir ve genel eritem görülür (Post, 1987).

Kronik vakalar akut veya subakut vakalardan daha farklıdır. Hasta balıklarda kısmi veya tamamen körlük şekillenmektedir. Derinin rengi iyice koyulaşmıştır. Bu balıklar su yüzeyinde güçsüz ve düzensiz bir şekilde yüzerler. Bazılarında abdomen

gergin ve şişkin, bazılarında içine çekik olabilir. Yüzgeçlerin tabanında, ağızda ve operkulumlarda eritem görülebilir. Viscera etrafında seröz sıvı akımı ve genel eritem olabilir, ama hemoraji görülmemektedir. Böbrekler şişkin ve dalak büyümüştür. Karaciğer genellikle soluk renktedir. Otopside iştahsızlık sonucu barsakların boş olduğu izlenebilmektedir. Ancak bazı durumlarda barsak lümeninde sarımsı safra renkli mukus bulunabilmektedir (Austin ve Austin, 1987; Busch, 1982; Post, 1987).

İç organlarda patolojik değişiklikler şiddetli hemorajik septisemi ve peritonda, vücut yağında ve barsakların distal bölümünde kızılama şeklinde belirlenmiştir. Mide de sulu ve barsaklarda sarı bir sıvı bulunabilmektedir. Dalak koyulaşmış ve büyümüştür (Rucker, 1966; Stevenson et al., 1993). Wobeser (1973), incelediği bütün balıkların bir yüzünde veya her iki yüzünde peteşiyel hemorajiler belirlemiştir. Hemorajik septisemi nedeniyle hastalık furunkuloz ile karışabilmektedir (Fuhrman et al., 1983). Histopatolojik olarak ERM akut bakteriyemiyle, tüm dokularda özellikle yüksek oranda vaskülerize dokularda, böbrek, dalak, kalp, karaciğer ve yüzgeçlerde değişik yoğunluklarda bakteri konsantrasyonu ile karakterizedir. Wobeser (1973), infekte balıklarda anterior ve posterior böbrekte nekroza bağlı olarak oluşan şiddetli hematopoetik doku kaybı olduğunu gözlenmiştir. Dalakta normal lenfoid yapı kaybolmuş ve karaciğerdeki hücrelerde değişiklikler görülmüştür. Gözlerin arkasında şişkinlikle beraber perioküler lezyonlar da bulunmaktadır (Austin ve Austin, 1987; Stevenson et al., 1993; Wobeser, 1973).

Etkilenen balıklarda eritrosit sayılarında, hematokrit değerinde, hemoglobin içeriğinde ve lökosit sayısında azalmalar tespit edilmiştir (Altun ve Diler, 1999; Quentel ve Aldrin, 1986; Post, 1987).

Hastalığın en virulent ve en yaygın görülen tipi serotip 1 (Hagerman suşu) olarak bildirilmektedir (Austin ve Austin, 1987). Tip I hem klinik hem de taşıyıcı balıklardan izole edilebilmektedir. Yapılan çalışmalar suşlar arasında biyokimyasal ve serolojik farklılıklar olduğunu göstermiş ve serotip I'in iki biyotip altında incelenmesini sağlamıştır. Sorbitolü fermente etmeyen suş grupları Hagerman suş grubu olarak isimlendirilmiştir (Horne ve Barnes, 1999).

O'Leary (1977), Chinook salmonlarında (*Oncorhynchus tshawytscha*) virölensi Tip I'den daha düşük, sorbitölü fermente eden yeni bir serotip tanımlamıştır. Tüm-hücre antiserumu ve tüm-hücre antijenleri kullanarak yaptığı serolojik analizleri sonucu *Y. ruckeri* suşlarının iki serotipe ayrılabilmesini göstermiştir. Cipriano et al. (1986), Tip II'nin Chinook salmonlarında epizootilere neden olduğunu bildirmiştir.

Bullock et al. (1978), serotip I ve II antiserumu ile reaksiyona girmeyen Avustralya izolatını serotip III olarak belirlemişlerdir. Avustralya Salmonid Blood Spot (SBS) bakterisinin de *Yersinia ruckeri* olduğu belirlenmiş ve serotip I suşları ile kısmi kros-reaksiyon verdiği için serotip I-prime (I') olarak isimlendirilmiştir (Llewellyn, 1980).

Stevenson ve Airdrie (1984a) ile Daly et al. (1986), daha sonraki yıllarda tüm hücre antijenlerini kullanarak 6 serotip tanımlamışlardır.

De Grandis et al. (1988), Dot-blot hibridizasyon yöntemiyle suşları incelemiş serotip 1'in alt türleri olduğunu saptamışlardır. Ayrıca DNA ilişkilerini inceleyerek serotip 4 izolatlarının *Yersinia ruckeri* olmadığını tespit etmişlerdir.

Türkiye'den izole edilen *Yersinia ruckeri* suşları hareketli ve Tween 80 hidrolizi pozitif bulunmuştur ve suşlar biyotip 1 olarak tanımlanmıştır (Savaşer ve Diler, 1997).

Yersinia ruckeri'nin antijenik özellikleri konusunda araştırmalar daha çok somatik (O) antijenler üzerinde yapılmıştır. Lipopolisakkarit (LPS) ve dış membran proteinleri (Outer Membran Protein -OMP) dışında etkenin Enterobacteriaceae Common Antigen (ECA) ve flagella antijeni (H antijeni) de içerdiği bildirilmiştir (Busch, 1982).

Davies (1990), *Yersinia ruckeri* izolatlarını biyotip, serotip ve dış membran proteinlerine (OMP) göre sınıflandırmıştır. Bu sınıflandırmaya göre serotip O1 izolatlarının Avrupa izolatlarının % 91'ini oluşturduğu ve hastalık salgınlarının çoğundan sorumlu olduğu bildirilmiştir. Serotip O2 izolatlarının serotip O5, O6 ve O7'den daha yaygın olduğu ve serotip O5 ve O7 izolatlarının özellikle Fransa, Norveç, Büyük Britanya ve Danimarka'da, serotip O6 izolatlarının da Finlandiya ve Batı Almanya'da görüldüğü belirtilmiştir. Avustralya ve Güney Afrika'da ise

tiplendirilmeyen Avustralya izolatı hariç sadece serotip O₁ izolatının bulunduğu bildirilmiştir (Davies, 1990) (Çizelge-2).

ÇİZELGE-2 *Yersinia ruckeri* izolatlarının coğrafik orijinlere göre biyotip, OMP-tip ve serotiplerinin belirlenmesi (Davies, 1990)

Biyotip	OMP-tip	Serotip	İzolat Sayısı	Coğrafik Orijin
1	1	O ₁	4	Avustralya
1	1	O ₂	4	İngiltere, Kanada, ABD
1	1	O ₅	1	Kanada
1	1	O ₆	1	ABD
1	1	O ₇	2	Danimarka, ABD
1	1	T	1	Avustralya
2	1	O ₁	24	İngiltere
2	1	O ₂	1	Kanada
1	2	O ₁	8	Finlandiya, Fransa, Almanya, ABD, Avustralya
1	2	O ₂	6	Fransa, Almanya, ABD, Norveç
1	2	O ₅	4	İngiltere, ABD
1	2	O ₆	3	Finlandiya, Kanada, Almanya
2	2	O ₁	1	Norveç
1	3	O ₁	67	Danimarka, ABD, Fransa, Almanya, Bulgaristan, İtalya, İsviçre, Kanada, Güney Afrika, Referans suşlar
1	4	O ₁	5	Finlandiya, Fransa, Norveç, Kanada
1	5	O ₇	2	Kanada

T: Tiplendirilmemiş

Davies (1991a), *Yersinia ruckeri* serotip O₁ izolatlarının OMP-tip (dış membran proteinleri) ve biyotiplerine göre klonal grupları belirlemiştir (Çizelge-3).

ÇİZELGE-3 *Yersinia ruckeri* serotip O₁ izolatlarının OMP-tip (dış membran proteinleri) ve biyotiplerine göre klonal grupların belirlenmesi (Davies, 1991a)

Klonal Grup	Biyotip	OMP-Tip
1	1	1
2	2	1
3	1	2
4	2	2
5	1	3
6	1	4

Davies (1991b), değişik *Yersinia ruckeri* klonal gruplarda ve serotiplerde virülens ve serum dirençliliğini incelemiştir. Serotip O1 izolatlarının gökkuşağı alabalıklarındaki virülenslerinde farklılıklar olduğunu, klon 2 ve 5'in virulent iken 1, 3, 4 ve 6'nın avirulent olduğunu bildirmiştir. Virulent klonal grupların serum hassaslıklarına bakıldığında serum dirençli oldukları, avirulent klonal gruplarında serum hassas bulunduğu belirtilmiştir.

Davies (1991c), *Yersinia ruckeri*'nin Outer Membran Protein (OMP) profilleri üzerine çalışmıştır. Avrupa'dan elde edilen izolatların % 75.3'ünün OMP-Tip 3 olduğu bildirilirken, İngiltere'den elde edilen izolatların % 92.6'sının OMP-Tip 1 olduğu bildirilmiştir. OMP-Tip 3'ün virulent serotip O1 "Hagerman" suşunun özelliğini taşıdığı belirlenmiştir. OMP Tip 1, 2, 3 ve 4'ün hem Kuzey Amerika'da hem de Avrupa'da görülmesi hastalığın Avrupa'ya girişinde asemptomatik infekte taşıyıcı balıkların etkili olduğunu göstermektedir. Fakat Davies'in yaptığı OMP tiplendirilmesi daha sonraki çalışmalarda destek görmemiştir.

Romalde et al. (1993), LPS ve membran proteinlerine dayanarak yeni bir serotip şeması çıkarmıştır (Çizelge-4). LPS'de ve membran proteinlerindeki minor farklılıklara dayanarak serotip O1 ve O2 sırasıyla iki ve üç gruba ayrılmıştır. Romalde et al. (1993), *Yersinia ruckeri*'nin antijenik ve moleküler özelliklerinin serotip 1, 2 ve 3 suşlarında çok benzer olduğunu, serotip V ve VI izolatlarında ise LPS'nin çok belirgin farklılıklar gösterdiğini belirtmiştir.

ÇİZELGE-4 *Yersinia ruckeri*'nin mevcut serotipleri ile bağlantı kurularak oluşturulan yeni serotipik şema (Romalde et al., 1993)

Yeni Serotip	Alt Grup	Mevcut Tüm Hücre Serotipleri
O ₁	A	I
	B	III
O ₂	A	II
	B	II
	C	II
O ₃	-	V
O ₄	-	VI

Stevenson et al. (1993), LPS antijenlerine göre etkeni 6 serotipe ayırmıştır (Çizelge-5).

ÇİZELGE-5 *Yersinia ruckeri*'nin, O antijenindeki farklılıklara göre serotiplendirilmesi

O Antijeni	Tüm Hücre Serotipleri
O : 1	I, III
O : 2	II a
O : 3	II b
O : 4	II c
O : 5	V
O : 6	VI

Yersinia ruckeri suşları arasında çapraz korumanın olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmektedir (Austin ve Austin, 1987; Busch, 1982; Cipriano ve Ruppenthal, 1987; Horne ve Barnes, 1999; Horne ve Ellis, 1988). Ross et al. (1966), 14 *Yersinia ruckeri* kültüründen hazırlanan O antijenlerinin *Salmonella ariazona* O grup 26 antijenleri ile kuvvetli, O grup 29 antijenleri ile zayıf aglütinasyon verdiğini bildirmişlerdir.

Bullock et al. (1978), *Yersinia ruckeri*'nin saf O antijenlerinden hazırlanan diagnostik antiserumların kullanımının kros reaksiyon oluşturması nedeniyle klinik izolatların identifikasyonlarında yanlış sonuçlar verebileceğine dikkat çekmiştir. Bu

nedenle gerek aglutinasyonda ve gerekse floresan antikor metodunda O antijenine karşı hazırlanmış antiserumlar yerine *Yersinia ruckeri*'ye karşı hazırlanmış antiserumların kullanılması tavsiye edilmiştir.

Stevenson ve Daly (1982), balıklardan izole edilen *Salmonella arizonae*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Yersinia enterocolitica* ve *Hafnia alvei* gibi enterik bakterilerle lam aglutinasyon testlerinde benzer çapraz reaksiyonlar bulmuşlardır. Busch (1982), bu tür çapraz reaksiyonların “enterobakteriyel common antijenin” varlığından kaynaklandığını bildirmiştir.

Yersinia ruckeri'nin diagnostik antiserumlarının *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum* ve *Renibacterium salmoninarum* gibi balık patojenleriyle önemli bir serolojik çapraz reaksiyon vermediği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Amend ve Johnson, 1984; Anderson ve Dixon, 1980).

Çağırğan (1998), 20 *Yersinia ruckeri* suşunu Biotin-Avidin sandviç ELISA yöntemiyle incelemiş ve 6 *Aeromonas salmonicida*, 2 *Vibrio anguillarum*, 1 *Streptococcus* sp suşuna karşı çapraz reaksiyon görülmediğini bildirmiştir. Elde edilen bu sonuç bakteriyel balık hastalıklarında korunmada da önem taşımaktadır.

Hastalığın patogenezinin oldukça karışık ve multifaktöriyel olduğu belirtilmiştir. Her ne kadar hastalık belirtileri olası patogeneze mekanizmalarını belirtse de *Y. ruckeri*'nin virülens determinantları hakkında çok az ipucu bulunmaktadır (Horne ve Barnes, 1999).

Gökkuşığı alabalıklarında en virulent serotipin Tip 1 (Hagerman) suşu olduğu ve bunu Tip 2 (O'Leary)'in daha sonrada Tip 3 (Avustralya)'ün izlediği bildirilmiştir (Austin ve Austin, 1987; Ellis, 1988b). Yapılan çalışmalarda 10 gramlık gökkuşığı alabalıklarının 90 saniye süreyle *Yersinia ruckeri* içeren TSB'ye maruz kalmaları sonucu Tip 1 için LD₅₀ 3.0 X 10⁵ (hücre/ml) olarak belirlenirken Tip 2 için 1.0 X 10⁷ olarak belirlenmiştir (Austin ve Austin, 1987; Bullock et al., 1978; Horne ve Barnes, 1999; Stevenson ve Airdrie, 1984b).

De Grandis ve Stevenson (1982, 1985), virulansın plazmitle ilgili olabileceğine dikkat çekmiş ve 12 Tip I izolatından 10 tanesinde 40-50 x 10⁶ Mdal, 8 tanesinde ise 20-30 x 10⁶ Mdal, 5 Tip II izolatından 2 sinde ise 5,5 x 10⁶ Mdal veya daha küçük plazmid belirlemişlerdir.

Miller (1983), *Yersinia ruckeri* endotoksininin kan koagülasyonunu etkileyebileceğini ve kılcal damarlarda trombozlara ve hemorajilere neden olabileceğini belirtmiştir.

Michel ve Faivre (1987), *Yersinia ruckeri*'nin *Vibrio anguillarum* ve *Aeromonas sp.* gibi balık patojenlerinin üremesini inhibe eden bir antimikrobiyel faktör ürettiğini bildirmişlerdir.

Wastesan et al. (1989), *Yersinia ruckeri*'nin diğer *Yersinia ruckeri* suşlarının üremesini engellemeyen, fakat birçok Gram negatif ve Gram pozitif bakterinin üremesini engelleyen bir antimikrobiyel faktör ürettiğini belirlemiştir. Bu antibakteriyel faktör 4–20°C gibi düşük ısılarda üretilebilirken 37°C'de üretilmemiştir.

Furones et al. (1990, 1993), *Yersinia ruckeri* serotip I'in hücre ekstraktlarını SDS-PAGE ve Western-blot ile incelemiş ve sadece virulent suşlarda görülen ve lipid karakterde olduğu düşünülen Heat Sensitive Factor (HSF⁺) gözlemlemiştir. Fakat diğer bakteriyel komponentlerin özellikle de adhezinlerin enfeksiyonun oluşumunda önemli olduğu bildirilmiştir.

Davies (1991a), *Yersinia ruckeri*'nin dış membran proteinlerinde (OMP) demir bağlayıcı sisteme sahip olduğunu belirtmiştir.

Romalde ve Toranzo (1993), *Yersinia ruckeri*'nin sahip olduğu extrasellüler protein (ECP)'nin balıklar için çok toksik olduğunu ve kazeinaz, jelatinaz, amilaz, lipaz ve fosfolipaz aktiviteler gösterdiğini, eskülini hidrolize ettiğini saptamıştır. Santos et al. (1990), extrasellüler proteinin alabalık, salmon, koyun ve insan eritrositlerinde hemagglütinasyon yaptığını belirlemiştir.

Kızılağz Hastalığının tanısında klinik belirtiler, bakteriyel izolasyon ve identifikasyon ve histopatolojik bulgular önemlidir (Austin ve Austin, 1987; Bullock et al., 1978; Busch, 1982; Savaşer, 1997). Hastalığın hikayesi, balıkların enzootik Kızılağz Hastalığı bulunan bölgelerden alınmış olması da yine tanıda yardımcıdır (Post, 1987).

Klinik belirtiler ve otopsi bulgularına bakılarak hastalığın kesin teşhisi Gram negatif septisemilere benzerlik göstermesi nedeniyle yapılamamaktadır. Klinik ve patolojik bulgular önem taşımakla beraber kesin tanı için hastalıklı organlardan etken

izolasyonu ve identifikasyonu yapılmalıdır. Edward et al. (1998), balıklarda *Yersinia ruckeri* enfeksiyonlarını teşhis etmede non-letal bir metot olan böbrek biyopsisi ile örnek almayı denemiş ve başarılı olmuşlardır.

Yersinia ruckeri rutin bakteriyolojik ortamların çoğunda ürer. Bakteriyolojik ekimler için tripticase veya triptik soy agar (TSA), nutrient agar, waltman&shotts, ROD besiyeri, Rimler-Shotts Agar (RS), brain heart infüzyon Agar (BHIA) kullanılmaktadır (Bullock ve Snieszko, 1979; Rodgers, 1992; Shotts ve Bullock, 1975; Walltman ve Shotts, 1984). 20-25 °C’de 24-48 saat inkubasyondan sonra gözle görülebilen üremeler oluşur. Ancak klinik belirti göstermeyen balıkların ince barsaklarından etken izolasyonu güç olduğu için triptik soy broth gibi besiyerlerinde ön zenginleştirme yapılması gerektiği bildirilmektedir. İzolatların identifikasyonu etkenin morfolojik, serolojik ve biyokimyasal karakterlerine göre yapılır (Busch, 1982). Hareket muayenesi bakteriyi *A. salmonicida*’dan ayırır. Ayrıca *Yersinia ruckeri* sitokrom oksidaz negatif olmasıyla da *Aeromonas sp.*, *Pseudomonas sp.* ve *Vibrio sp.*’den ayrılır.

Miks kültürlerde Waltman&Shotts gibi selektif ve diferensiyal besiyerleri kullanılır (Walltman ve Shotts, 1984) (Çizelge-6). Özellikle portör balıkların tesbitinde fekal materyallerden Referans bakteriyolojik besiyerleri kullanılarak *Yersinia ruckeri* izolasyonu kontamine edici bakteri sayısının ve çeşidinin çok olması nedeniyle güçtür. Waltman&Shotts besiyerinde Tween 80’i hidrolize eden, sü krozu fermente etmeyen etkenlerin, 1 mm çapında mavi-yeşil renkte ve hidroliz zonuna sahip koloniler oluşturduğu bildirilmiştir. *Aeromonas hydrophila* ise bu besiyerinde *Yersinia ruckeri*’den farklı olarak sarı koloniler oluşturur. Böylece *Yersinia ruckeri*’nin *Aeromonas hydrophila* ve *H. alvei* gibi bakterilerden kolayca ayrılabilirdiği ileri sürülmüştür.

ÇİZELGE-6 Waltman&Shotts Besiyerinin İçeriği (Walltman ve Shotts, 1984)

İçerik	% (w/v veya v/v)
CaCl ₂ .H ₂ O	0.01
NaCl	0.05
Tween 80	1.0
Trypton	0.2
Maya Özütü	0.2
Brom Timol Mavisi	0.0003
Agar	1.5
Sukroz	0.5
pH 7.4	

Bu besiyerinin kullanımı, Güney İngiltere'den elde edilen izolatlarının Tween 80'i nadiren hidrolize etmesi nedeniyle sınırlıdır. Dolayısıyla bu probleme yönelik olarak Rodgers tarafından riboz ornitin dezoksikolat (ROD) besiyeri geliştirilmiştir (Çizelge-7). Bu besiyerinde *Yersinia ruckeri*'nin üremesi inkubasyonun ilk saatlerinde pH 'yı 7.4'den 6.8'e düşüren riboz fermentasyonuna dayanır. Bu reaksiyonu pH'yı stabilize eden ornitin dekarboksilasyonu izler. İzleyen günlerde maltozun fermentasyonu da pH 5'lere düşer. Bu pH'da fenol red indikatörü sarıya döner ve sodyum desoksikolat bakteri kolonileri etrafında besiyerinin karakteristik diferensiyal özelliklerini vermek üzere çöker. ROD ile saha koşullarında dışkıdan *Yersinia ruckeri*'nin izolasyonu akut klinik böbrek enfeksiyonu oluşmadan önceki 4-6 haftalık zamanda yapılabilir (Horne ve Barnes, 1999; Rodgers, 1992).

ÇİZELGE-7 ROD Besiyerinin İçeriği (Rodgers, 1992)

İçerik	
Maya Özü	3 g
Sodyum dezoksikolat	1 g
Sodyum tiyosulfat	6.8 g
Sodyum klorid	5 g
Ferrik amonyum sitrat	0.8 g
Riboz	3.75 g
Maltoz	7.5 g
Ornitin hidroklorid	5 g
Sodyum dodesil sulfat	% 1
Fenol red	0.08 g
Agar	12.5
pH 7.4	

Furones et al. (1993), 1993 yılında *Yersinia ruckeri* selektif mediumu (YRSM) geliştirmiştir. Bu besiyerinde *Yersinia ruckeri* kolonilerinin etrafında kremi renkte kalıntılar olduğu tespit edilmiştir.

Şüpheli kolonilerden alınan bakteriler biyokimyasal testlere tabi tutulur. *Yersinia ruckeri* suşları genel olarak biyokimyasal reaksiyonlarda homojen karakter gösterirler. Ama metil red, voges-proskauer, lizin dekarboksilaz, arjinin hidrolaz ve laktoz fermentasyon testlerinde suşlar farklılık gösterebilir. Değişik inkubasyon ısıları ve test prosedürleri bu farklılıkların nedeni olabileceği belirtilmiştir (Austin et al., 1982; Green ve Austin, 1983). Örnek olarak çoğu *Yersinia ruckeri* suşu 18 °C inkube edilirse glikoz fermentasyonundan gaz üretirken, 25 °C'de inkube edilirse gaz oluşturmaz veya zayıf oluşturur.

Yine *Yersinia ruckeri*'nin sitokrom oksidaz negatif olması *Aeromonas sp.*, *Pseudomonas sp.* ve *Vibrio sp.*'lerinden ayırt edilmesini sağlar. Antijenik yakınlığı olan *Salmonella arizona*'dan ayrımında jelatin, tween 20, arabinoz ve ramnoz fermentasyonu, arjinin hidrolaz ve hidrojen sülfid testleri kullanılmaktadır.

Saf kültürler ticari diagnostik Çizelgeler, serolojik çalışmalar veya API-20E gibi hızlı identifikasyon metodları kullanılarak identifiye edilebilir (Davies ve Frerichs, 1989; Horne ve Barnes, 1999; Stevenson ve Daly, 1982). API-20E ile *Yersinia ruckeri*'nin *Hafnia alvei* ile karışabileceği belirtilmiştir (Santos et al., 1993).

Hastalığın genellikle yüksek morbidite ve mortalite ile akut hastalık şeklinde seyretmesi teşhiste hızlı ve doğru sonuç veren metotlara ihtiyaç duyulmasına neden olmuştur. PCR geleneksel identifikasyon metotlarına göre daha hızlı sonuç vermektedir. Gibello et al. (1999), yaptıkları bir çalışmada PCR'ın sadece saf bakteriyel süspansiyonlarda değil aynı zamanda doğal ve deneysel enfekte olmuş alabalıkların doku homojenatlarında *Yersinia ruckeri* aranmasında da başarılı olduğunu belirtmiştir.

Enfeksiyonun tanısında aglutinasyon (lam ve mikroaglutinasyon), floresan antikor, ELISA gibi teşhis yöntemleri de başarıyla kullanılmaktadır (Post, 1987).

Balıklarda bakteri ve virüslerin meydana getirdiği hastalıkların tanısında Floresan Antikor (FAT) testinin yüksek sensiviteye sahip olduğu ortaya konmuştur. Bu yöntemle Kızılâğız hastalığının diagnozu hızlı bir biçimde konabilmektedir. Ancak *Yersinia ruckeri* ile fenotipik olarak benzer olan *Serratia liquefaciens* ve *Hafnia alvei* ile kross reaksiyonlar oluşabilmektedir (Busch, 1982).

Hastalığın kontrolünde karantina ve taşıyıcı balık hareketlerinin sınırlandırılması önemlidir. Enzoitik Kızılâğız hastalığı görülen bölgelerden enfekte olmayan coğrafik alanlara canlı balık, balık ürünleri ve balık yumurtası taşırken çok dikkatli olunmalı, gerekli önlemler alınmalıdır. Bu amaçla eksternal bakterisitler profilaktif amaçla kullanılabilir (Stevenson et al., 1993).

Korumada etkili olan bir diğer faktör iyi bir diyetdir. Özellikle stresten şüpheli durumlarda ek diyet kaynaklarının, vitaminlerin, özellikle de vitamin C ve E'nin verilmesi immün sistemi güçlendirir, hastalıklara karşı duyarlılığı azaltır (Blazer ve Wolke, 1984).

Kızılâğız Hastalığı'nın tedavisinde birçok antimikrobiyal ilaç kullanılmıştır. Rodgers (2001), sulfametazin ile 5 gün ve takiben 3 günlük kloramfenikol veya oksitetrasiklin uygulamalarını tavsiye etmiştir. Laboratuar çalışmaları sulfanamid tedavisinin hem deneysel hem de doğal *Yersinia ruckeri* enfeksiyonlarında etkili olduğunu göstermiştir. 14 günlük sulfamerazin tedavisi (Günlük 265 mg/kg, 3 gün boyunca; daha sonraki 11 gün 154 mg/kg) etkili bir uygulamadır. 55mg/kg oksitetrasiklinin 10 boyunca uygulanmasında etkilidir. Rodgers ve Austin (1982), 4 quinolone grubunun bir üyesi olan oxolinic asiti yersinioz hastalığında profilaksi ve

tedavi amacıyla uygulamıştır. Romet-30 (ormetoprim + sulfamethoksin) balık kg başına 14 gün boyunca 50 mg kullanıldığında etkilidir. Amerika’da “Food and Drug Administration” tarafından sulfamerazin, oksitetrasiklin ve Romet-30’ un Kızılâğız Hastalığı’nın tedavisinde kullanımına izin verilirken Tiamulin ve Tribressenin’in kullanımına, etkili olmasına rağmen onay verilmemiştir (Austin ve Austin, 1987; Post, 1987). Yanlış antimikrobiyal ajanların tedavide kullanılması birçok yan etkiye neden olmaktadır. Yetersiz kullanım, değişken dozlama, tavsiye edilen tedavi süresinin tamamlanmaması, tekrar eden kısa-dönemli antibiyotik tedavileri dirençli *Yersinia ruckeri* suşlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Amerika’da hastalığın enzootik olarak seyrettiği alanlarda sulfamerazin ve oksitetrasiklinin terapötik dozlarına karşı tam bir direncin oluştuğu gözlenmiştir (Rodgers, 2001).

Ülkemizde, Diler ve Altun’un yaptıkları bir çalışmada (1997), etkenin sefalosporin, mezosillin, trimetoprim+sulfametaksol ve gentamisine duyarlı, linkomisin, eritromisin, streptomisin, rifamisin, nitrofurantoin gibi antibiyotiklere de dirençli olduğunu bildirmiştir.

Eksternal bakterisidlerin profilaktik kullanımı da konakçıdan konakçıya bulaşmayı azalttığı için sudaki patojen popülasyonunu düşürmekte etkilidir. Bu amaçla bazı quartarner amonyum bileşikleri kullanımı iyi sonuçlar vermektedir (Post, 1987).

Ayrıca hastalığın kontrolünde kullanılacak antibiyotiklerin uygun dozda ve sürede verilmesi gerekmektedir. Fakat çoğu yetiştirici bunlara dikkat etmediği için ya etkili bir sağaltım sağlanamamakta ya da dirençli suşların oluşmasına neden olunmaktadır. Amerika’da çoğu bölgede sulfamerazin veya oksitetrasiklinlerin yanlış uygulanmasına bağlı olarak bu antibiyotiklere tamamen dirençli *Yersinia ruckeri* suşları gelişmiştir.

Gökkuşığı alabalıklarında etkili olan diğer bir patojen etkende enterokoklardır. 1974 yılında Japonya’da Shikoku adasında *Seriola quinqueradiata*’larda ağır kayıplara neden olan bir epizooti ortaya çıkmıştır (Kusuda et al., 1976). Hastalık sonradan ülkenin tümüne yayılmıştır. Uzun yıllar etken *Streptococcus* genusuna dahil edilmiş fakat daha sonra *Enterococcus* genusuna sokulmuştur (Kusuda et al., 1991). *E.seriolicida* yellowtail’lerin en önemli hastalığını oluşturmaktadır. 1992

yılında toplam kayıplar 5954 tonu bulduğu bildirilmiştir. Hastalık artık streptokokal infeksiyon veya streptokokozis yerine enterokokal infeksiyon veya enterokokozis olarak isimlendirilmektedir (Kusuda ve Salati, 1999).

Etiyolojik ajan önceleri streptokok olarak kabul edilmiş fakat sonradan *Enterococcus* genusuna dahil edilmiştir (Kusuda et al., 1991). Daha sonraki çalışmalar *Lactococcus garviae* ve *Enterococcus seriolicida* arasında yakın bir bağlantı olduğunu belirlemiştir (Domenech et al., 1993). Fakat streptokok, enterokok, laktokok gibi hareketsiz gram pozitif kokların klasifikasyonu hala tam olarak belirlenememiştir. *Enterococcus seriolicida* 0.7x1.4 µm büyüklüğünde Gram-pozitif, kısa zincirler oluşturan, oval şekilli bir bakteridir. Fakültatif anaerobik, hareketsiz, sporsuzdur. Bakteri nutrient agar, % 40 bile agar ve % 0.1 metilen blue sütte ürerken MacConkey agar, Salmonella-Shigella agar veya *Streptococcus faecalis* brothda üreyememektedir (Kusuda et al., 1991). Koloniler küçük, beyaz, yuvarlak ve düzdür. Etken 10-45 °C arasında 0 ve % 65 sodyum kloridde ve pH 4.5-9.6lar arasında üreyebilmektedir. Optimal üreme koşulları 37 °C’de, % 0 NaCl’de ve pH 7.6’da olmaktadır. Katalaz, sitokrom oksidaz, kazein sindirimi ve potastum tellürit redüksiyonu negatiftir. İndol, hidrosülfid, amonyum veya jelatinaz üretimi olmamakta, metilen mavisi ve nitrat ise redükte olmaktadır. Metil red testi, voges proskauer reaksiyonu, 2,3,5 trifeniltetrazolyum klorid redüksiyonu ve eskülin hidrolizi pozitifdir. *Enterococcus seriolicida* fermentatiftir, D-glukoz, D-mannoz, galaktoz, D-fruktoz, trehaloz, maltoz, sellobioz, dekstrin, sorbitol, mannitol, salisin ve eskülin’den asit üretir, fakat D-ksiloz, D-arabinoz, L-ramnoz, sukroz, laktoz, melibioz, raffinöz, melezitoz, nişasta, glikojen, gliserol, inositol veya adonitol’den üretmez. Deoksiribonükleik asidin guanin plus sitozin içeriği % 44 bulunmuştur (Kusuda et al., 1991).

Domenech et al., (1993) hasta gökkuşağı alabalıklarından izole edilen *Lactococcus garviae* suşlarını ve *Enterococcus seriolicida*’yı kültürel, biyokimyasal ve protein profilleri bakımından incelemiştir. 16 rRNA sekans analizleri sonucu *Enterococcus seriolicida*’yı *Lactococcus* genusuna dahil etmişlerdir.

Carson et al. (1993), 1993 yılında Avustralya ve Güney Afrika gökkuşağı alabalıkları için patojenik olan Enterokok-benzeri bakteri izole etmişlerdir.

Eldar et al. (1996), İtalya'dan hasta gökkuşuğu alabalıklarından izole edilen *L. garviae* ve referans *E. seriolicida*'yı fenotipik ve genotipik olarak incelemişler ve benzer bulmuşlardır. Yüksek DNA-DNA homologluğu *L. garviae* ve *E. seriolicida*'nın sinonim olduğunu göstermiştir. Daha sonraları *L. garviae*'nin oluşturduğu infeksiyonlar birçok ülkeden bildirilmiştir.

Bakteri tüm yıl boyunca bulunmakta fakat hastalık su sıcaklığının en yüksek olduğu yaz ayında görülmektedir (Kusuda ve Kimura, 1978). Ayrıca deniz suyu, çamur, İspanya uskumrusu (*Scomber japonicus*), siyah raspa (*Novodon modestus*) gibi vahşi balıkların barsağında da etkene rastlanmıştır (Kusuda et al., 1982). Enterokok benzeri bir bakteriye kültür kalkan balığı (*Scophthalmus maximus*) ve son zamanlarda Adriyatik mersinbalığında (*Acipenser naccarai*) da rastlanmıştır (Toranzo et al., 1994). 1991 yazından beri İtalya, İspanya, Avustralya Güney Afrika'da yetiştirilen gökkuşuğu alabalıklarında şiddetli hastalık salgınları rapor edilmiştir (Carson et al., 1993; Ceschia et al., 1992; Ghittino ve Prearo, 1992; Palacios et al, 1993) . Etken yüksek düzeyde organik madde içeren deniz suyunda bulunmaktadır ve özellikle de yılın sıcak periyodu boyunca çevresel stres balıkları hastalığa predispoze kılmaktadır (Kusuda, 1990).

Laktokokların farklı büyüklük ve yaştaki balıkları etkileyebileceği araştırmacılar tarafından bildirilmektedir. Bu nedenle de üretim siklusunun tüm basamakları süresince önlemler alınmalıdır (Romalde et al., 1996).

Etken horizontal yolla iki şekilde bulaşmaktadır; özellikle vücut yüzeyinde yaralanmalar oluştuysa su yoluyla veya rektal-oral yolla bulaşma belirlenmiştir (Romalde et al., 1996). Hastalığın hem hastalığa duyarlı hem de duyarlı olmayan balıklar tarafından taşınabileceği bildirilmiştir.

Enterokokal infeksiyonlar hemorajik septisemilerle karakterize infeksiyöz sistemik bir hastalıktır. Enterokokal infeksiyonun tipik belirtisi bilateral ekzoftalmustur. Hastalığın diğer belirtileri operkulumun iç duvarında peteşiler, kaudal ve pektoral yüzgeçlerdeki kan damarlarının konjesyonudur. Abdomen gerilmiştir ve peritoneal kavite genellikle kanlı asitik sıvı içerir. Karaciğer, dalak, böbrek, beyin ve barsaklarda konjesyon ve hemorajilere rastlanır (Egusa, 1978; Kusuda ve Salati, 1999).

Enterokokal infeksiyonlarda histopatolojik lezyonlar hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. İç organların ve dokuların histolojik kesitlerinde bakterinin serbest veya makrofajlar içinde bulunduğu belirlenmiştir. Kalp, solungaçlar, deri, dalak ve göz gibi organlarda etkenin proliferasyonu, dejenerasyon ve nekrozis görülmektedir. En büyük histolojik değişikliğin beyin ve beyin zarlarında oluşan irinli yangı, deskuamatif enteritis ve dalak ve böbreğin nekrozu olduğu bildirilmiştir.

Kusuda et al. (1982), tarafından serolojik testler yapılmıştır. Lancefield'in sıcak-asit metoduna göre yapılan ekstrakte edilen antijen Lancefield klasifikasyonunun A, B, C, D, E, F, G, H, K, L, M, N, O ve MG antijen gruplarından farklı bulunmuştur. Kanlı agarda alfa hemoliz belirlenmiştir.

Enterokokal infeksiyonları klinik belirtilere göre teşhis etmek kolaydır. Patojenin izolasyonu ve kolonilerin özellikleri teşhiste yardımcı olur. Etiyolojik ajanın identifikasyonunu sağlamak için biyokimyasal testler ve flüoresan antikor teknikleri önem taşımaktadır (Kawahara et al., 1989; Kusuda ve Kawahara, 1987).

1993 yılından itibaren Enterokokal sepsisemi kültür balıklarında en büyük tehditlerden biri haline gelmiştir. Kemoterapi, hastalığın kontrolünde etkili olmadığı ve oluşan dış klinik belirtilerin etkilenen balıkları pazarlanamaz hale getirmesi nedeniyle hastalık ağır ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Kültür balıklarında streptokokal ve enterokokal sepsisemilerin sebep olduğu üretim kayıpları, antimikrobiyal kullanımının getirdiği maliyetler ve Gram-pozitif kokların artan ilaç dirençliliği hastalıktan korunmada immunprofilaksiyi geliştirme ihtiyacını doğurmuştur.

Klesius et al. (2000), enterokok aşısının balıkların erken dönemde korunmasında etkili olduğunu ve korumanın da uzun sürdüğünü aşıl原因 balıklarda yem tüketimde artış ve balıkların büyüklüklerinde bir örneklik tespit edildiğini belirtmiştir. Günümüzde enterokoklara karşı ticari bir aşı geliştirilmiş olup bu aşı oral ve immersiyon şeklinde uygulanabilmektedir.

Günümüzde ticari olarak özellikle bu 3 hastalık; enterik kızılğaz hastalığı, furunkulozis ve vibriosis hastalıklarına karşı yaygın bir aşı üretim yapılmaktadır (Altun, 2001; Amend ve Johnson, 1984; Ellis, 1988b).

Balık aşılarının hazırlanmasında ;

1. Kimyasal veya ısı-inaktif tüm hücreler. Bunlar monovalan veya polivan olabilir. Hazırlaması en kolay ve ucuz aşılardır.
2. İnaktif soluble hücre ekstraktları, Örnek; toksoidler.
3. Hücre lizatları.
4. Attenüe canlı aşılar. Bu tür aşılarda kullanıma organizmanın tekrar patojenik hale geçebilme riskinden dolayı izin verilmemektedir.
5. Saflaştırılmış sub-selüler komponentler, Örnek; lipopolisakkaritler (LPS). Bu aşılar ayrıntılı bir mikrobiyal kimya bilgisi gerektirmektedir.
6. Pasif immunizasyon için serum. Bu daha çok bilimsel çalışmalarda kullanılmaktadır.
7. Tüm bu komponentlerin karışımı.

Tüm hücrelerin inaktivasyonu yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknik ile özellikle *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella ictaluri*, *Flexibacter columnaris*, *Pasteurella piscicida*, *Vibrio anguillarum*, *V. ordalii* ve *Yersinia ruckeri* karşı başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Balık aşıları oral, enjeksiyon, püskürtme, immersiyon ve anal intubasyonla uygulanmaktadır (Austin ve Austin, 1987; Ellis, 1988a; Ellis, 1988b; Johnson et al., 1982a). Bu yöntemlerin seçiminde balığın büyüklüğü ve bölgenin kontaminasyonu önem taşımaktadır. Her metodun değişik avantaj, dezavantaj, yan etki, pratikliği ve maliyeti vardır (Çizelge-8). Günümüzde ticari olarak sadece enjeksiyon ve immersiyon aşılar bulunmaktadır (Austin ve Austin, 1987; Ellis, 1988b; Gudding et al., 1999; Tanrıku, 1994).

Çizelge-8 Aşılama Yöntemlerinin Avantaj ve Dezavantajları (Ellis, 1988a)

	AVANTAJLARI	DEZAVANTAJLARI
ORAL	- Balık ellenmediği için stres durumu ortadan kalkar. - Her yaş balığa kolayca uygulanır.	- Her balık tarafından alınan aşı dozunun belirlenmesi mümkün değildir. - Populasyonda eşit bağışıklık sağlanamamaktadır. - Çok miktarda bakterin kullanımı gerekmektedir. - Aşılar mide ve barsağın ön kısmında yıkımlanmaktadır. - Sağladığı bağışıklık süresi kısadır.
ANAL INTUBASYON	Oral uygulamadan daha yüksek seviyede koruma sağlamıştır.	Pratik değildir.
PÜSKÜRTME	- Stres oluşturmaz. - Kısa sürede çok sayıda balığın aşılanmasına imkan vermesi.	- Balık ağırlığına göre dozun ayarlanması güç olmaktadır. - Özel ekipmana ihtiyaç duyulmaktadır. - Bağışıklığın uzun olmaması.
BANYO	- Az manipulasyon gerektirir. - Kısa sürede uygulanır. - Çok küçük balıklara uygulanabilir. - İnjektasyon yöntemine yakın bir koruma sağlar. - Strese yol açmaz.	- Büyük balıklarda daha fazla aşı solüsyonunu ihtiyaç duyulacağından ekonomik olmamaktadır. - Aşılama sırasında strese neden olmaktadır. - Bağışıklığın uzun olmaması.
ENJEKSİYON	- İmmunolojik olarak en etkili yöntemdir. - En uzun süre devam eden ve en yüksek koruma sağlayan bir yöntemdir. - Birçok hastalığa karşı kullanılabilir. - Adjuvantların kullanılmasına imkan vermesi. - Büyük balıkların rahat bir şekilde aşılanmalarının sağlanması. - Çevre kirliliği riskinin ihmal edilebilir düzeyde kalması.	- Yavaş bir tekniktir. Tek tek uygulama zorunluluğu bulunmaktadır. - Anestezik kullanımı gerektirmektedir. - Küçük boydaki balıklara uygulanamamaktadır. - Manipulasyonlardan dolayı hayvanlarda stres oluşturan ve uygulaması zor olan bir yöntemdir. - İş gücü ve maliyet fazladır.

Kızılbaş hastalığının kontrolünde de en etkili ve hızlı yöntemin aşılama olduğu belirtilmiştir. Bu amaçla 1970'lerden beri çalışmalar yapılmış ve triptik soy brothda üretilen tüm bakteriyel kültürlerin formol ile inaktivasyonu sonucu oluşturulan ve oral, enjeksiyon ve immersiyon yoluyla uygulanabilen aşılar geliştirilmiştir. 1976'da Amerikan Tarım Departmanı (American Agriculture Department) ticari bir ERM aşısı için lisans vermiştir (Tebbit et al., 1981).

Dünyada üretilen yersinia aşıları *Yersinia ruckeri* Tip I'den hazırlanmış olup Tip I'e karşı gelişen immunitenin Tip II ve III enfeksiyonlarına karşı da koruduğu belirlenmiştir (Busch, 1982; Ellis, 1988b). Tebbit et al. (1981), ticari aşının saha uygulamalarında başarılı olduğunu bildirmiştir. Fakat Ellis (1988b), ileride bilinmeyen serotiplerden dolayı meydana gelebilecek enfeksiyonlarda bu aşının koruma sağlayamayabileceğini belirtmiştir.

O'Leary et al. (1985), serotip I izolatlarının ticari aşılarında kullanımının serotip I bakterisine karşı direnci arttırabildiğini ve ayrıca serotip II izolatlarının balıklarda spesifik ERM nedeni olarak ortaya çıkmasını sağladığını belirtmiştir. O'Leary yaptığı bir çalışmada serotip I ve II'den hazırlanan aşının oluşturduğu bağışıklıkları incelemiş, serotip I'den hazırlanan bakterin serotip I'e karşı koruma sağlarken, serotip II'ye karşı korumadığını bildirmiştir. Serotip II'den hazırlanan bakterinin ise her iki serotipe karşı koruma sağladığı belirtilmiştir. Bu iki suştan hazırlanan bivalent aşılarında her iki serotipe karşı etkili koruma sağladığını belirtilmiştir.

Yersinioz hastalığına karşı ilk aşı denemeleri Ross ve Klontz (1965) tarafından yapılmıştır. Bu aşı fenolle öldürülmüş bakteriden hazırlanan ve yeme katılan (15 ml *Yersinia ruckeri* 10 kg yeme) oral bir preparasyondur. Gökkuşuğu alabalıkları ilk 2 hafta boyunca haftada 5 gün, çalışmanın devamında da hafta da 1 kez bu yemle beslenmiştir. 70 gün sonra balıklarda % 90 koruma gösterdiği ve bu korumanın 408 gün sürdüğü bildirilmiştir.

Anderson ve Ross (1972), *Yersinia ruckeri*'nin inaktivasyonunda % 3 kloroform, % 1 formalin, % 0.5 ve % 3 fenolün etkilerini karşılaştırmışlardır. Subkutan yapılan deneysel enfeksiyon sonunda kloroformla inaktive edilen bakterilerin daha iyi koruma sağladığı bildirilmiştir.

Oral yolla aşılama özellikle son yıllarda önem kazanmıştır (Ellis, 1988b). Hazırlanan aşı solüsyonlarının yemlerle verilmesi ile uygulanan bir aşılama yöntemidir.

Anderson ve Nelson (1974), enjeksiyon yoluyla aşılanan balıklarda 1:16 ve 1:32 titre elde ederken, 7 gün boyunca aşıyla beslenen balıklarda antikor belirleyememiştir. Oral yolla aşıladığı balıklarda koruma 6 hafta sürmüştür 1 mg bakterin enjekte edilerek aşılanan balıklarda korumanın 3 aydan fazla sürdüğü belirtilmiştir.

Wrathmell et al. (1989), oral, anal ve intraperitoneal uygulamaları karşılaştırmış en düşük bağışıklığı oral aşılamadan sağladığını, aşılamadan sonra 16. günde yapılan deneysel enfeksiyonlarda oral yolla aşılanan balıklarda mortalitenin %51, aşısız kontrollerde % 53, anal intubasyonla aşılananlarda ise % 16.6 olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlara göre en düşük mortalite enjeksiyon, en yüksek mortalite de aşılama yöntemiyle aşılanan balıklarda belirlenmiştir. Ellis (1988a), etkinliği diğer yöntemlere göre düşük olmakla beraber rapel olarak kullanılabileceği belirtmiştir.

Bakterinlerin anal intubasyonu oral uygulamadan daha yüksek seviyede koruma sağlamıştır (Johnson ve Amend, 1983b). Bu da immunize edici antijenlerin barsaklarda yıkımlandığını ve bu bölgeden geçişleri sırasında korunabilirler oral aşılamanın etkinliğinin artacağını göstermektedir (Ellis, 1988a).

1977'de vibriozise karşı immersiyon aşılamadan gelişmesiyle beraber bu tekniğin ERM içinde oral aşılamadan daha etkili olduğu belirlenmiştir. Daha çok küçük balıklara uygulanmaktadır. Enjeksiyon aşılama kadar iyi bir bağışıklık sağlamasa da oral uygulamaya göre daha yaygın kullanılmakta ve daha iyi koruma sağlamaktadır. Banyo yoluyla aşılama genelde kısa süreli daldırıp çıkarma ve birkaç saat gibi uzun bir süre aşının içinde tutma gibi iki şekilde uygulanmaktadır.

Banyo şeklinde kullanılan ilk ticari balık aşıları hiperozmotik filtrasyon şeklinde uygulanmıştır. Hiperozmotik infiltrasyonda balık ilk önce kuvvetli tuzlu suya batırılır daha sonra aşı solüsyonuna batırılır. Fakat bu yöntem stres oluşturuğu ve direkt banyo yöntemiyle eşdeğer koruma sağladığı için kullanılmamaktadır (Ellis, 1988a).

Amende ve Eshenour (1980), banyo yöntemiyle 1 gramın altındaki balıklarda belirgin bir koruma gelişmediğini 4 gr ağırlığındaki balıklarda optimum bağışıklığın oluştuğu belirtilmiştir.

Johnson et al., (1982a), çeşitli büyüklükteki alabalıkları ticari bir aşının 10 kat sulandırmasıyla 20 saniye banyo yaptırarak aşılamaştır. Deneysel enfeksiyon sonucunda bağışıklığın 1 gramlık balıklarda 120 gün, 2 gramlıklarda 180 gün, 4 g ve daha büyük balıklarda 1 yıl veya daha fazla sürdüğünü belirtmiştir.

Püskürtme yönteminde balığın ağırlığından çok aşının balıklara ne oranda temas ettiği önemlidir. Aşılama süresinin uzatılması bağışıklığın artırılmasında etkili olmaktadır.

Johnson ve Amend (1983a), yaptıkları bir çalışmada 1:10 ve 1:20 oranında dilüe edilmiş aşı solusyonlarını 20 saniye süreyle banyo ve 2-5 saniye süreyle püskürtme yoluyla uygulamış ve oluşan bağışıklığı karşılaştırmıştır. Aşısız kontrol gruplarında mortalite % 53-66 bulunurken aşıli gruplarda % 15'i geçmemiştir. Banyo ile püskürtme yönteminin etkinliği karşılaştırıldığında, deneysel enfeksiyon sonucu oluşan mortalite oranları arasında önemli bir fark olmadığı bildirilmiştir (Çizelge-9).

ÇİZELGE-9 Gökkuşuğu alabalıklarında immersiyon, oral ve anal intubasyonla immunizasyonun karşılaştırılması (1983a)

Aşılama Yöntemi	Balık Sayısı	Mortalite	Mortalite (%)
İmmersiyon	60	11	18
Oral İntubasyon	59	14	24
Anal İntubasyon	58	2	3
Aşılanmamış Kontrol	57	37	65

Johnson ve Amend (1983b), enjeksiyon ve banyo yöntemlerini karşılaştırmış, 1:10 oranında dilüe edilen bakterinin IP olarak verilmesinin, 1:10 ve 1:20 dilüsyonda 20 saniye banyo yoluyla yapılan aşılama göre daha iyi bir koruma oluşturduğunu bildirmiştir.

Wrathmell et al. (1989), ip yolla aşılamanın oral ve anal yolla yapılan aşılama dan daha yüksek bağışıklık sağladığını belirtmiştir.

Uygulama yolu, kültür, inaktivasyon metotları dışında bakterinlerin etkinliğinin, balığın büyüklüğü, su sıcaklığı, aşı suşu ve dilüsyon oranı, antijenin yapısı, immun sistemi baskılayan ve uyaran faktörlerden de etkilendiği belirtilmiştir.

İmmersiyon yoluyla aşılamanın 0.9 g ağırlığındaki chinook salmonlarında yeterli koruma sağladığı fakat 1 g veya altındaki gökkuşağı alabalıklarında yeterli bağışıklık oluşturmadığı bildirilmiştir. Oluşan bağışıklığın devamlılığının da yine balığın büyüklüğüne bağlı olduğu belirtilmiştir (Johnson et al., 1982a).

Johnson et al., (1982a), değişik büyüklükteki gökkuşağı alabalıklarını aşılamıştır. Koruma seviyeleri 1.8 g'lık iken aşılanan balıklarda 170 gün, 3.2 g iken aşılananlarda 210 gün sonra belirgin düştüğü, fakat 4.3 g iken aşılandığında korumanın en az 300 gün sürdüğü belirtilmiştir. Bu nedenle gökkuşağı alabalıklarını aşılamada optimum minimum büyüklük 4 g olarak belirlenmiştir.

Bruno ve Munro (1989), 2 ile 4 gramlık *Salmo salar*'ları ticari bir yersinioz aşısını 10 misli sulandırarak 30 saniye süreyle banyo yoluyla aşılamış ve balıkları 165 gün boyunca izlemiştir. 2 g ağırlığındaki balıklarda 6. ayda RPS 75, 4 g ağırlığındaki balıklarda 5. ayda 90 olarak bulmuştur.

Su sıcaklığının korunma üzerine etkili olduğu bilinmektedir. 2 °C'de yetiştirilen ve aşılanan Atlantik salmonlarında antikor üretimi 10 °C'de aşılanan balıklardan daha düşük bulunmuştur (Gudding et al., 1999). 8 °C'de immunité 5 haftada gelişirken 12 °C'de 2 haftada geliştiği bildirilmiştir.

Johnson et al. (1982b), gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) su sıcaklığının bağışıklık üzerine etkilerini incelemiş ve bağışıklığın 18 °C su sıcaklığında 5 günde, 10 °C'de 10 günde geliştiğini bildirmişlerdir.

Yersinia ruckeri tarafından oluşturulan enterik kızılâğız hastalığının kontrolünde çok sayıda ticari aşı bulunmaktadır. Uygulamada en yaygın ve kullanışlı metot immersiyon olarak belirtilmiştir.

Ticari aşılar da genellikle 1:10 dilüsyonda yaklaşık 30 saniye immersiyon tavsiye edilmektedir. Tatner ve Horne (1985), aşının artan dilüsyonlarıyla denemeler yapmış ve genellikle daha konsantre aşıların virulent uygulamalara karşı daha yüksek koruma seviyeleri ile sonuçlandığı belirtilmiştir. Dilüe aşı uygulamalarında etkili aşılamanın oluşabilmesi için uygulama süresi arttırılmalıdır. Dilüe aşıların kısa süreli

uygulanmaları balıkların suboptimal miktarda antijen almalarına dolayısıyla da ihtiyaç duyulan minimal dozu almamalarına neden olmaktadır. Bir aşı banyosunda sabit miktarda antijen vardır ve ticari preparasyonlar birim aşı hacminde aşılanabilecek balık ağırlığını belirtirler (Çizelge-10).

Çizelge-10 *Yersinia ruckeri* aşısı ile *Salmo trutta*'ların direkt immersiyon aşılması (Tatner ve Horne, 1985)

Aşı Dilüsyonu	İmmersiyon Süresi	Balık Sayısı	Aşı'nın Hacmi (ml)	Toplam Aşı Solüsyonunun Hacmi (l)	% Koruma
1/10	20 sn	200	500	5	28.5
1/100	20 sn	200	50	5	35.4
1/100	200 sn	200	50	5	27.0
1/1000	20 sn	100	2.5	2.5	20.0
1/1000	2000 sn	100	2.5	2.5	15.3
1/2000	1 saat	100	1.25	2.5	32.6
1/2000	6 saat	200	2.5	5	46.6
1/5000	1 saat	200	1.0	5	22.2
1/5000	6 saat	200	1.0	5	30.9

Yersinia ruckeri serotip I bakterisi antijenik olarak homolog ve patojenik olduğundan yetiştiriciliklerde immunizasyon, ERM'den korunmada ve hastalığın kontrolünde önemli hale gelmiştir.

Erdal (1989) tarafından yapılan araştırmada, 20-30 g ağırlığındaki *Salmo salar*'ları 6 farklı *Y. ruckeri* serotipi ile aşılamıştır. LD₅₀ ile IP yolla enfekte edilen balıklarda Serotip I ve II'den hazırlanan kombine aşı Serotip I'e (Hagerman) karşı %79 koruma sağlarken, Norveç'ten izole edilen Serotip I'e karşı % 71, Serotip II'ye karşı % 93, Serotip III'e karşı % 98 koruma sağlamıştır.

Altun (2001), serotip 1 ve serotip 2 özellikte olan iki *Yersinia ruckeri* izolatından üç farklı deneysel aşı hazırlamıştır. Deneysel aşılarda gökkuşağı alabalıklarına (immersiyon ve enjeksiyon yöntemleriyle) uygulanması sonucunda, serotip 1'den hazırlanmış olan aşının istenilen düzeyde koruma sağlayamadığını (serotip farklılıklarının önemli olduğunu) tespit etmiştir. Serotip 1 ve 2'nin kombinasyonundan hazırlanan aşının ise diğer aşılarından daha yüksek koruma sağladığını saptamıştır.

Aşılamalar sonucu oluşan korumanın 300 gün sürdüğü belirtilmiştir, fakat Atlantik salmonları gibi bazı balıkların pazarlama boyutuna gelmeleri bundan çok daha uzun sürmektedir. Bir populasyonda düşük seviyede oluşan enfeksiyonların doğal bir rapel görevi görüp hastalanmaya karşı koruma sağladığı belirtilmiştir. Doğal enfeksiyonların bulunmadığı durumlarda ise balıkların her yıl aşılmasına gerek duyulabileceği bildirilmiştir.

Tatner ve Horne (1985), 3 aylık kahverengi alabalıklarında değişik aşı dilüsyonlarında rapel aşılamalar yapmış ve yüksek koruma seviyeleri elde etmiştir. İlk aşılama dilüe solusyonda yapıldığında yüksek koruma sağlanamamıştır (Çizelge-11).

ÇİZELGE-11 Üç aylık *Salmo trutta*'larda *Yersinia ruckeri*'ye karşı tek veya iki aşılamının koruma yüzdeleri (Tatner ve Horne, 1985)

Aşılama Dilüsyonu	İmmersiyon Süresi	3. Haftada Tekrar Aşılama	% Koruma
1/10	20 sn	+	16
		—	4
1/100	20 sn	+	12
		—	0
1/100	200 sn	+	17
		—	7
1/1000	20 sn	+	18
		—	18
1/1000	2000 sn	+	20
		—	2
1/2000	1 saat	+	8
		—	17
1/2000	6 saat	+	5
		—	11
1/5000	1 saat	+	6
		—	5
1/5000	6 saat	+	12
		—	10

Aşılar aynı zamanda enjeksiyon yoluyla da uygulanabilmektedir. Özellikle intraperitoneal enjeksiyon korumanın hızlı gelişmesi ve uygulama kolaylığı nedeniyle tercih edilmektedir (Anderson ve Nelson, 1974). Uygulama masrafları, stres, zaman ve balık büyüklüğü gibi faktörler enjeksiyon metodunun

uygulanabilirliğini sınırlamaktadır. Fakat otomatik enjektörlerin kullanımı deneyimli bir uygulayıcı ile saatte 1000 balık aşılmasını sağlamaktadır. Çalışmalar enjeksiyon aşılamanın immersiyon aşılama göre daha iyi koruma sağladığını göstermiştir (Anderson ve Nelson, 1974).

Balıklarda furunkuloz aşılarının gelişimiyle beraber daha iyi koruma sağlamak amacıyla adjuvantlı aşılarda geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Salmonidlerde alüminyumlu adjuvantların tek enjeksiyonu kısa etkili olsa da iyi bir koruma sağlamıştır. Furunkuloza karşı oil-adjuvantların alum ve glukandan daha iyi uzun süren koruma sağladığı bildirilmiştir. Yağlı adjuvantlar günümüzde ticari aşılarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Fakat bu adjuvantların genellikle enjeksiyon bölgesinde hafiften şiddetliye kadar değişebilen lokal reaksiyonlara, granülomlara neden olduğu bildirilmiştir. Özellikle yağ bazlı adjuvantların en şiddetli reaksiyonlara neden olduğu ve büyüme oranı ve son ürünün kalitesini etkilediği bildirilmiştir (Gudding et al., 1999).

Cossarini (1986), *Yersinia ruckeri* bakterinini adjuvantla uygulamış fakat oluşan bağışıklıkta çok büyük fark görememiştir.

İmmün cevap üzerine yapılan araştırmalarda; aşılama takiben en yüksek antikor titresini dalakta 14. gün, dolaşımda ise 28. günde tespit edilmiştir. *Yersinia ruckeri*'ye karşı aşılama sonrası oluşan antikor titresini ile koruma arasında bir bağlantı olmadığı belirlenmiştir (Cossarini, 1986; O'Leary et al, 1985). Bu nedenle, aşılamanın başarısını ölçmede antikor titresine yerine epruvasyon uygulamalarına karşı korumanın ölçüt alınması tavsiye edilmektedir.

Toranzo et al. (1995), *Enterococcus sp.* ile enfeksiyona karşı intraperitoneal ve immersiyon aşılamanın etkinliğini çalışmıştır. Bu çalışma sonucunda yüksek derecede koruma sağlanmış ve bu korumanın en az bir yıl sürdüğü belirlenmiştir. Fakat aşılama sonrası oluşan koruma ile humoral cevap arasında bir korelasyon gözlenmemiştir. Bunun nedeni olarak antikor düzeyinin balıkları korumaya yeterli olduğu fakat lam aglütinasyon, mikroaglütinasyon gibi yöntemlerle belirlenemeyecek kadar düşük olması bildirilmiştir.

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. *Yersinia ruckeri* ve *Enterococcus sp.* suşları

Araştırmada Aydın bölgesinden izole edilen bir adet enterokok ve bir adet *Yersinia ruckeri* suşu ve Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi'nden temin edilen Danimarka'dan izole edilmiş referans *Yersinia ruckeri* suşu kullanılmıştır.

3.1.2. Araştırmada kullanılan balık örnekleri ve uygulama yeri

Araştırmada kullanılmak üzere ortalama 6-10 g ağırlığındaki 2315 adet yavru gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Nazilli İlçesi'nin Amasya Köyü'nde bulunan Bağcı Alabalık işletmesinde yetiştirilmiştir.

3.1.3. Araştırmada kullanılan su kaynağı ve suyun kalitesi

Araştırmada, akarsudan sağlanan su dinlendirme havuzundan, 20 l/dk su debisiyle araştırma havuzlarına aktarılmıştır.

Araştırma süresince havuzlarda su sıcaklığı 12 °C, pH 6.6 ve suda çözünmüş oksijen miktarı 7.4 olarak ölçülmüştür.

3.1.4. Araştırmada kullanılan yem rasyonu

Araştırma süresince balıklar, Pınar Yem A.Ş.'ne ait alabalık granül, pelet 2, 3, 4 yem ile günde 2 kez yemlenmiştir.

3.1.5. Aşı

Bu araştırmada, *Yersinia ruckeri* serotip 1 Referans suşu, *Yersinia ruckeri* saha suşu ve enterokok saha suşundan hazırlanan 5 farklı deneysel aşı 3 değişik yolla uygulanmıştır. Deneysel aşı 1 (A₁) referans *Yersinia ruckeri* suşundan; deneysel aşı 2 (A₂) sahadan izole edilen *Yersinia ruckeri* suşundan; deneysel aşı 3 (A₃) enterokok saha suşundan, deneysel aşı 4 (A₄), saha *Yersinia ruckeri* ve enterokok saha suşunun ve deneysel aşı 5 (A₅), referans *Yersinia ruckeri* ve enterokok saha suşunun eşit miktarda karışımından elde edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Çalışmada kullanılan suşların fenotipik özelliklerinin belirlenmesi

Çalışmada kullanılan suşlarının fenotipik özelliklerinin belirlenmesinde biyokimyasal testler ve karbonhidrat fermentasyon testlerinden yararlanılmıştır.

Yersinia ruckeri suşlarının fenotipik özelliklerini belirleme amacıyla tüm testlerde kültürler 22 °C’de 24–48 saat inkube edilmiştir. Gençleştirilen kültürler Gram boyama, 37 °C’de büyüme, 22 °C, 37 °C’de hareket, oksidasyon – fermentasyon (O/F), katalaz, sitokram oksidaz, tween 80 hidrolizi, % 1, % 3, % 7 NaCl’de üreme, simmon sitrat, jelatin hidrolizi, indol, metil kırmızısı, voges – proskauer reaksiyonu, sorbitol, maltoz, inositol, glukoz’dan asit ve gaz üretimi, TSI besi yerinde üreme özellikleri yönünden incelenmiştir. Kültürün saflığı 5’er adet TSA ve SW agara özeyle ekim yapılarak kontrol edildi (Austin ve Austin, 1987; Savaşer ve Diler, 1997).

Enterokok suşunun fenotipik özelliklerini belirleme amacıyla biyokimyasal testler ve karbonhidrat fermentasyon testleri yapılmıştır. Enterokok suşu Gram boyama, KA’da hemoliz, Grup D antijeni, % 6.5 NaCl broth’da üreme, 45 °C’de üreme, hareket, KA’da pigment oluşumu, lösin aminopeptidaz (LAP), hippurat hidrolizi, arjinin dihidrolaz, H₂S üretimi, asetoin üretimi (VP), alkalın fosfotaz testi, adonitol, glikoz, gliserol, glikojen, inositol, mannitol, laktoz, sorbitol, sukroz’dan asit üretimi yönünden incelenmiştir (Kleisus et al., 2000).

3.2.2. Deneysel aşının hazırlanması

Aşı çalışmalarında kullanılacak olan suşların saflık kontrolleri yapıldıktan sonra suşlar aşı üretimi amacıyla kullanılmıştır.

3.2.2.1. Aşının üretimi

Yersinia ruckeri Aşısının Üretimi;

Saflık kontrolleri yapılan *Yersinia ruckeri* suşları TSA’ya ekilmiştir. TSA’da 22 °C’de 48 saatlik inkubasyondan sonra koloniler TSB besi yerine alınmıştır. TSB’de

22°C’de 24 saat inkubasyondan sonra TSA’ya üçer paralel olacak şekilde ekimler yapılarak canlı bakteri sayımı yapılmıştır. Aynı zamanda kültürlerin spektrofotometrede 625 nm dalga boyunda Optik dansite değeri (0.80) belirlenmiştir. Böylece cuf/ml değeri ile O.D. değeri karşılaştırılarak, aşılarda standardizasyonu yapılmıştır. Aşı üretimi için *Yersinia ruckeri* suşları pH’sı 7.2 olan TSB içerisinde 24-48 saat inkube edilmiştir. İnkubasyon sonrası 2 N NaOH kullanılarak kültürlerin pH’sı 9.8’e yükseltilmiş ve 2 saat beklenmiştir. Lize olan hücreler santrifüjle ayrılarak % 0.3 formalinde (+4 °C’de 12 saat tutularak) inaktive edilmiştir. Daha sonra alınan 10’ar ml’lik örnekler 4’er tane 100 mililitrelik TSB ve Sabore Dextroz Broth’a ekilerek sterilite kontrolleri yapılmıştır. Hazırlanan aşılarda sterilite kontrolleri yapıldıktan sonra +4 °C’de muhafaza edilmiştir (Ellis, 1988b; Tanrıkul, 1994).

Enterokok Aşısının Üretimi;

Brain heart infuzyon broth kültür ortamında Enterokok suşları 48 saat 37°C’de inkubasyon edildikten sonra % 0.7 formalinle oda ısısında 24 saat tutularak inaktive edilmiştir. Formalinle inaktive edilmiş aşı optik dansite 2×10^{10} hücre/ml olacak şekilde son konsantrasyon ayarlanmıştır (Toranzo et al., 1995).

3.2.2.2. Toksisite denemeleri

Steril TSB kontrol olmak üzere, 5 deneysel aşıdan alınan örneklerle ile toksisite denemeleri yapılmıştır.

Her bir grup için 30 adet balık (ortalama ağırlıkları 6-10 g) kullanılmıştır. Bu balıkların her birine i.p. yolla 0.1 ml örnek inokulum verilmiştir. Balıklar 14 gün boyunca $18 \pm ^\circ\text{C}$ su sıcaklığında izlenmiştir (Amend ve Eshenour, 1980).

3.2.3. Aşıların uygulanması

Araştırmamızda, *Yersinia ruckeri* referans ve saha ve enterokok sp. saha suşlarından hazırlanan 5 deneysel aşı 3 farklı yolla uygulanmıştır.

Aşılar ortalama 6-10 g ağırlığındaki toplam 1250 adet gökkuşağı alabalığına oral (15 ml bakteri 10 kg yeme), immersiyon (1:10 sulandırılarak 1 dk süreyle) ve ip (0.1 ml) enjeksiyon yöntemiyle uygulanmıştır (Tanrıkul, 1994; Tanrıkul et al., 1996).

3.2.4. Aşı etkinliğinin değerlendirilmesi

Antikor seviyesini gözlemleme amacıyla immunizasyondan 3 hafta sonra her gruptaki aşılanmış ve kontrol balıklardan (5 balık) kan örnekleri kaudal damarlardan alınmıştır.

Ürettiğimiz deneysel aşılardan sağladığı koruyuculuğu tespit etme amacıyla gruplara suşlar 0.1 ml miktarda ip yolla (LD₇₀ dozunda) verilmiştir.

3.2.4.1. Epruvasyon uygulamaları

Aşı etkinliğinin değerlendirilmesi amacıyla epruvasyon uygulamasında *Yersinia ruckeri* kültürleri TSB besi yerinde, saha enterokok suşu brain heart infuzyon brothda 22 ve 37°C'de 24 saat inkube edildikten sonra mililitredeki canlı bakteri sayısı (cuf/ml) ve optik dansite (O.D.) değerleri tespit edilmiştir.

Aşılanan balıklarda oluşan bağışıklığın belirlenmesine geçmeden önce balık popülasyonunda % 70 mortalite yapan bakteri (LD₇₀) sayısı tayin edildi. Bunun için her biri 30 adet balıktan oluşan 6 grubun ikisi paralel olmak üzere iki farklı doz uygulanmıştır. Semi logaritmik grafik kağıdı üzerinde LD₇₀ tesbit edilmiştir. LD₇₀ her grup denemede kullanılan balıklar için ayrı ayrı belirlenmiştir.

LD₇₀ oranı tespit edilen mikroorganizma oral yolla aşılanan balıklara 70. gün, immersiyon yoluyla aşılanan balıklara 28, 75. günlerde, enjeksiyon yoluyla aşılanan balıklara 45 ve 105. günlerde 0.1 ml miktarında ip yolla uygulanmıştır (Altun, 2001). Uygulamadan önce balıklar fenoksietanol içeren kovalarda anesteziye alınmıştır.

Epruvasyon uygulanan balıklar 14 gün boyunca izlenmiştir. Ölen balıkların iç organlarından ekimler yapılmıştır. Reizolasyon yapılan balıklar spesifik mortalite olarak kaydedilmiştir.

3.2.4.2. Lam aglütinasyon ve mikroaglütinasyon yoluyla antikor belirlenmesi

Antijenlerin hazırlanması

Aglütinasyon testlerinde kullanılacak antijenin hazırlanması amacıyla *Yersinia ruckeri* suşları TSA'da gençleştirilmiştir. Suşlar NB'a geçilerek 22 °C'de 24 saat

inkube edilmiştir. % 0.3'lük formaldehit ile inaktive edilen suş 525 nm'de 0.65 yoğunluğa ayarlandı.

Enterokok suşu brain heart infuzyon brothda 37°C'de 24 saat inkube edilmiştir. % 0.3'lük formaldehit ile inaktive edilen suş 525 nm'de 0.65 yoğunluğa ayarlandı (Kusuda ve Salati, 1999).

Hazırlanan antijenler lam ve mikroaglutinasyon testlerinde antijen olarak kullanıldı (Kubilay ve Timur, 1997).

Lam aglutinasyon testi

Temiz bir lam üzerine 1 damla test serumundan, 1 damla da test antijeninden damlatılmıştır. Lamın sağa sola hareket ettirilmesiyle damlaların iyice karışmaları sağlanmıştır. 2-3 dakika içinde oluşan aglutinasyon reaksiyonuna göre sonuçlar değerlendirilmiştir (Kubilay ve Timur, 1997).

Mikroplate aglutinasyon testi

Tüm gözlere 50 µl PBS konulmuştur. Daha sonra ilk göze 50 µl serum konulmuştur. 1/2 dilüsyondan başlayarak her seferinde 50 µl diğer göze aktararak 2 katlı dilüsyonlar yapılmıştır. Tüm gözlere 50 µl aglutinasyon antijeninden konulmuş ve plate'ler iyice karıştırılmıştır. Oda ısısında 2 saat inkube edildikten sonra + 4 °C'de 1 gece bekletilmiştir. Kontrol amacıyla pozitif ve negatif serumlar sondan bir ve ikinci gözlere konulmuştur. Sonuçlar log₂ tabanına göre değerlendirilmiştir (Kawahara et al., 1989).

3.2.5. Bağışıklığın değerlendirilmesi

Aşıların sağladığı bağışıklık, nispi hayatta kalma yüzdesi (RPS) temel alınarak değerlendirilmiştir (Ellis, 1988b).

$$RPS = \left[1 - \frac{\text{Aşılılardaki ölüm oranı \%}}{\text{Aşısızlardaki ölüm oranı \%}} \right] \times 100$$

3.2.5. İstatistiki hesaplamalar

Aşıların verdiği bağışıklığın ve ölümlerin istatistiki olarak değerlendirilmesi, Pearson Chi-Square yöntemi kullanılarak yapılmıştır (Hayran ve Özdemir, 1995).

4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. Çalışmada kullanılan suşların fenotipik özellikleri ile ilgili bulgular

Çizelge-12 Saha ve Referans *Yersinia ruckeri*'nin Fenotipik Özellikleri

Fenotipik Özellikler	Referans <i>Yersinia ruckeri</i>	Saha <i>Yersinia ruckeri</i>
Gram Boyama	-	-
Oksidasyon – Fermentasyon (O/F)	F	F
Katalaz	+	+
Sitokram Oksidaz	-	-
22 °C’de Büyüme	+	+
37 °C’de Büyüme	+	+
22 °C’de Hareket	+	+
37 °C’de Hareket	-	-
Tween 80 Hidrolizi	+	+
% 1 NaCl’de Büyüme	+	+
% 3 NaCl’de Büyüme	+	+
% 7 NaCl’de Büyüme	-	-
Simmon Sitrat	+	+
Jelatin Hidrolizi	+	+
İndol	-	-
Metil Kırmızısı	+	+
Voges–Proskauer Reaksiyonu	-	-
Sorbitol	-	-
Maltoz	+	+
İnositol	-	-

Glukoz	A / G + / -	A / G + / -
--------	----------------	----------------

A:Asit Üretimi G:Gaz Üretimi F:Fermentatif

Çizelge-13 Enterokok Suşunun Fenotipik Özellikleri

Fenotipik Özellikler	Enterokok
KA'da Hemoliz	α
Grup D Antijen	-
% 6.5 NaCl Broth'da Üreme	+
45 °C'de Üreme	+
Hareket	-
KA'da Pigment Oluşumu (Sarı)	-
Leucine Aminopeptidaz (LAP)	+
Hippurat Hidrolizi	-
Arjinin Dihidrolaz	+
H ₂ S Üretimi	-
Asetoin Üretimi (VP)	+
Alkalın Fosfotaz	+
Adonitol	-
Glikoz	+
Gliserol	-
Glikojen	-
İnositol	-
Mannitol	+
Laktoz	-
Sorbitol	+
Sukroz	-

4.1.2. Hazırlanan aşının toksisitesinin belirlenmesi amacıyla yapılan denemelerin sonuçları

Aşının toksisitesinin belirlenmesi amacıyla yapılan denemelerin sonuçları Çizelge 14’da gösterilmektedir.

Çizelge-14 Hazırlanan aşılarda toksisitesinin belirlenmesi amacıyla yapılan denemelerin sonuçları

	Balık Adedi	Mortalite	Yaşama Oranı (%)
TSB Kontrol	30	0	100
A ₁	30	0	100
A ₂	30	0	100
A ₃	30	0	100
A ₄	30	0	100
A ₅	30	0	100

Hazırlanan aşılarda ile aşılanan balıklarda ölümler görülmemiş ve toksik bir etkiye rastlanmamıştır.

4.1.3. Hazırlanan aşının LD₇₀ dozunun belirlenmesinde kullanılan testlerin sonuçlarıyla ilgili bulgular

Çizelge- 15 LD₇₀ oranının tespitinde deneysel infeksiyon sonuçları

Aşılamada kullanılan suşlar	Balık sayısı	Ölen Balık Sayısı	Ölüm %	Cuf/ml*	O.D. (525 nm)**	LD ₇₀ ***
Referans <i>Yersinia ruckeri</i>	30	28	93.3	4x10 ⁹	0.720	5x10 ⁶ 0.620 OD ₅₂₅
Saha <i>Yersinia ruckeri</i>	30	29	96.6	4x10 ⁹	0.720	4x10 ⁵ 0.620 OD ₅₂₅
Saha enterokok suşu	30	29	96.6	5x10 ⁷	0.720	5x10 ⁵ 0.620 OD ₅₂₅
Referans <i>Yersinia ruckeri</i>	30	15	50.0	4x10 ⁵	0.420	-
Saha <i>Yersinia ruckeri</i>	30	16	53.3	4x10 ⁵	0.420	-
Saha enterokok suşu	30	15	50	5x10 ⁴	0.420	-

* O.D.₅₂₅ : Spektrofotometrede 525 nm dalga boyundaki optik dansite

** cuf/ml : mililitredeki canlı bakteri sayısı

*** LD₇₀ : Bir balık popülasyonunun %70'ini öldürebilen doz.

4.1.4. Deneysel aşıların sağladığı bağışıklık seviyesinin sonuçları

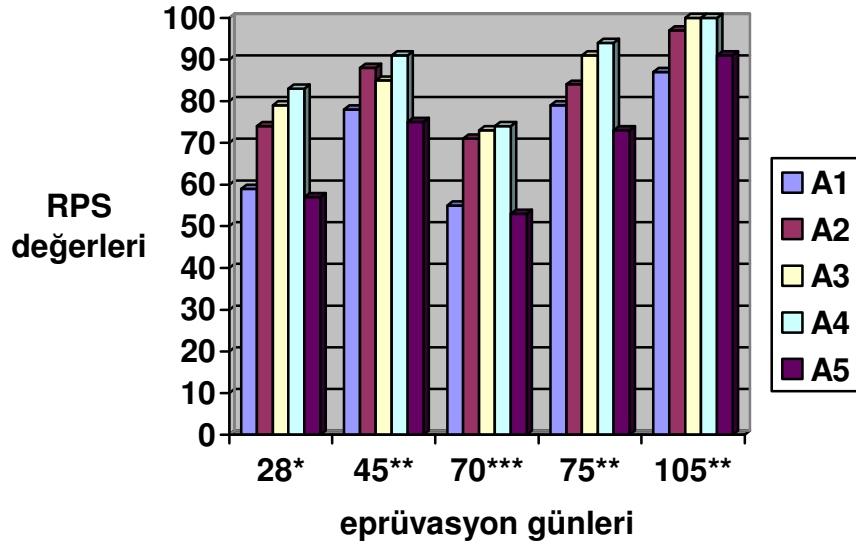
Aglütinasyon testine ait bulgular

Çizelge- 16 Lam Aglütinasyon ve Mikroaglütinasyon Testlerine ait Bulgular

Aşılama Yöntemi	Aşı Grupları	Lam Aglütinasyon	Mikroaglütinasyon
İMMERSİYON	A ₁	++	1/256 ++
	A ₂	++	1/32 +
	A ₃	+++	1/64 +++
	A ₄	+	1/32 +++
	A ₅	+	1/128 ++
ORAL	A ₁	+	1/512 ++
	A ₂	-	1/8 +
	A ₃	+	1/64 +
	A ₄	+++	1/128 +
	A ₅	-	1/128 ++
ENJEKSİYON	A ₁	+++	1/64 ++
	A ₂	+	1/128 ++
	A ₃	+	1/64 +
	A ₄	+++	1/64 ++
	A ₅	-	1/128 +++

Eprüvasyon sonuçları

Balıklar oral, immersiyon ve enjeksiyon yöntemi ile aynı gün içerisinde aşılandıktan sonra immersiyonla aşılanan balıklar 28. ve 75. günlerde, oral aşılanan balıklar 70. günde, enjeksiyon yoluyla aşılanan balıklar ise 45. ve 105. günlerde LD₇₀ dozunda suşlara maruz bırakılmıştır. Her üç yöntemde de aşı ve aşısız (kontrol) balıklar 50'şer adetlik gruplar halinde denemeye alınmıştır.



Şekil-1 : Epruvasyonlar sonucu elde edilen RPS değerleri

- A1 : Referans *Yersinia ruckeri*
A2 : Saha *Yersinia ruckeri*
A3 : Saha enterokok
A4 : Saha *Yersinia ruckeri* +enterokok
A5 : Referans *Yersinia ruckeri* +enterokok

* 28 ve 75. günlerde immersiyon aşılanan gruplara epruvasyon

**45 ve 105. günlerde enjeksiyon aşılanan gruplara epruvasyon

***70. günde oral aşılanan gruplara epruvasyon

Çizelge-17 Oral yolla aşılanan balıklarda 70. günde yapılan eprüvasyon** (LD₇₀) sonrası elde edilen RPS* değerleri ($\chi^2 = 6.809$ Ö.D.) (p>0.05)

A1				A2				A3				A4				A5			
n	M♦	M %	RPS*	N	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*
50	16	32	55.5	50	10	20	71.4	50	9	18	72.7	50	9	18	74.2	50	17	34	52.7

Çizelge-18 İmmersiyon yolla aşılanan balıklarda 28. günde yapılan eprüvasyon** (LD₇₀) sonrası elde edilen RPS* değerleri ($\chi^2 = 10.200$ Ö.D.) (p>0.05)

A1				A2				A3				A4				A5			
n	M♦	M %	RPS*	N	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*
50	15	30	59.4	50	9	18	74.2	50	7	14	78.7	50	6	12	83.3	50	16	32	56.7

A1 : Referans *Yersinia ruckeri*

A2 : Saha *Yersinia ruckeri*

A3 : Saha enterokok

A4 : Saha *Yersinia ruckeri* +enterokok

A5 : Referans *Yersinia ruckeri* +enterokok

M: Mortalite

* (RPS) Nisbi Hayatta Kalma Yüzdesi

♦ Spesifik mortaliteyi ifade etmektedir.

n: Balık sayısı

** Eprüvasyon ip olarak uygulandı

Ö.D.: Önemli Değil

Çizelge-19 İmmersiyon yolla aşılana balıklarda 75. günde yapılan epruvasyon** (LD₇₀) sonrası elde edilen RPS* değerleri ($\chi^2 = 7.040^{\text{ö.D.}}$) (p>0.05)

A1				A2				A3				A4				A5			
n	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*
50	7	14	79.4	50	5	10	84.3	50	3	6	90.6	50	2	4	93.7	50	9	18	73.5

Çizelge-20 Enjeksiyon yolla aşılana balıklarda 45. günde yapılan epruvasyon** (LD₇₀) sonrası elde edilen RPS* değerleri ($\chi^2 = 5.227^{\text{ö.D.}}$) (p>0.05)

A1				A2				A3				A4				A5			
n	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*	N	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*
50	8	16	77.7	50	4	8	88.5	50	5	10	85.2	50	3	6	91.4	50	9	18	75

A1 : Referans *Yersinia ruckeri*

A2 : Saha *Yersinia ruckeri*

A3 : Saha enterokok

A4 : Saha *Yersinia ruckeri* +enterokok

A5 : Referans *Yersinia ruckeri* +enterokok

M: Mortalite

* (RPS) Nisbi Hayatta Kalma Yüzdesi

♦ Spesifik mortaliteyi ifade etmektedir.

n: Balık sayısı

** Epruvasyon ip olarak uygulandı

Ö.D.: Önemli Değil

Çizelge-21 Enjeksiyon yolla aşılanan balıklarda 105. günde yapılan eprüvasyon** (LD₇₀) sonrası elde edilen RPS* değerleri ($\chi^2 = 8.523$ Ö.D.) (p>0.05)

A1				A2				A3				A4				A5			
n	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*	N	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*	n	M♦	M %	RPS*
50	4	8	87.5	50	1	2	96.7	50	0	0	100	50	0	0	100	50	3	6	90.6

A1 : Referans *Yersinia ruckeri*

A2 : Saha *Yersinia ruckeri*

A3 : Saha enterokok

A4 : Saha *Yersinia ruckeri* +enterokok

A5 : Referans *Yersinia ruckeri* +enterokok

M: Mortalite

* (RPS) Nisbi Hayatta Kalma Yüzdesi

♦ Spesifik mortaliteyi ifade etmektedir.

n: Balık sayısı

** Eprüvasyon ip olarak uygulandı

Ö.D.: Önemli Değil

Çizelge-22 LD₇₀ uygulanan Kontrol grupları

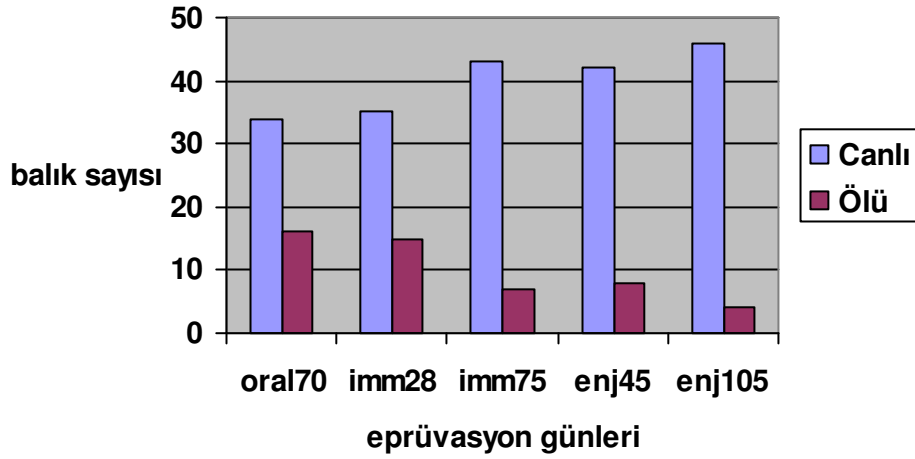
Kontrol grupları	Referans <i>Yersinia ruckeri</i>			Saha <i>Yersinia ruckeri</i>			Enterokok		
	n	M	M (LD ₇₀)	N	M	M (LD ₇₀)	n	M	M (LD ₇₀)
28. günde eprüvasyon	50	37	74	50	36	72	50	34	68
45. günde eprüvasyon	50	36	72	50	35	70	50	34	68
70. günde eprüvasyon	50	36	72	50	35	70	50	33	66
75. günde eprüvasyon	50	36	68	50	34	64	50	33	64
105.günde eprüvasyon	50	34	64	50	34	62	50	32	60

n: Balık sayısı

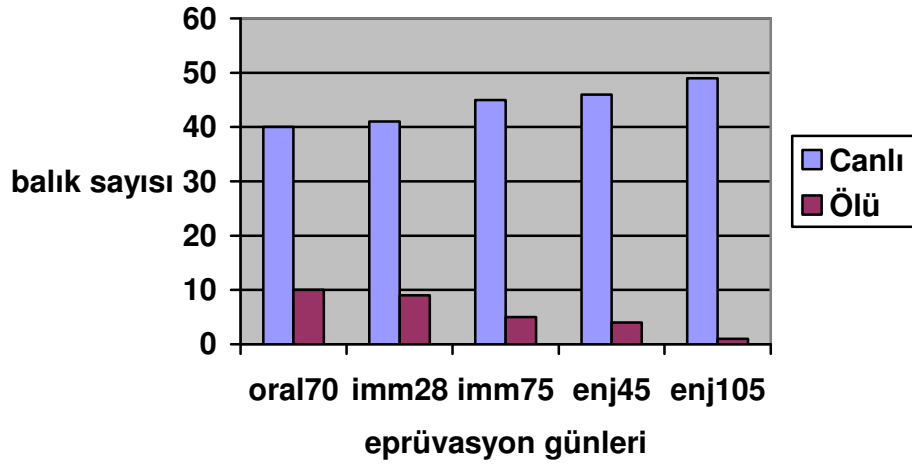
M:Mortalite

Epruvasyon uygulanan balıklar 14 gün boyunca izlenmiştir. Ölen balıkların iç organlarından reizolasyon için ekimler yapılmış ve üreme saptanan balıklar spesifik mortalite olarak kaydedilmiştir (Erdal, 1989; Johnson ve Amend, 1983).

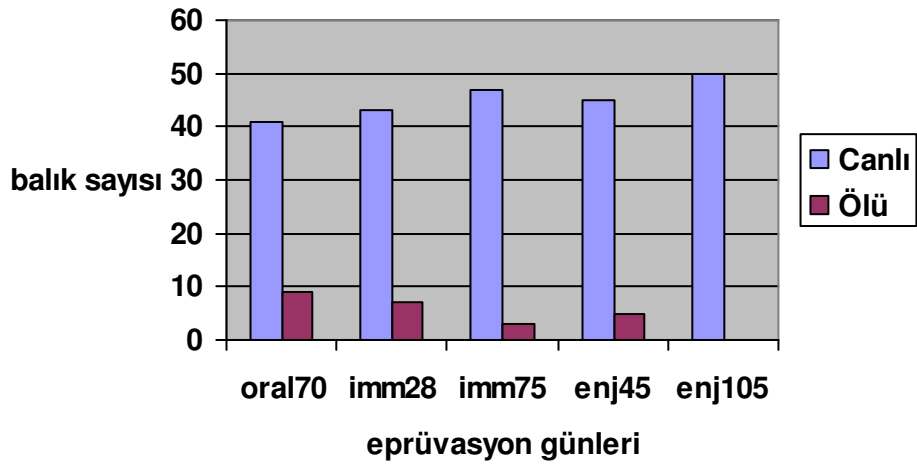
Araştırmamızda uygulanan yöntemler karşılaştırıldığında tüm gruplarda (A1, A2, A3, A4, A5) oral aşılamalardan sonra en çok balık ölümlerinin görüldüğü, immersiyon aşılamanın ikinci epruvasyonundan sonra balıklardaki ölüm sayısının azaldığı ve enjeksiyon ile aşılamadan sonra ise balıklardaki ölümlerin en az olarak görüldüğü tespit edilmiştir. Aşılama yapılan metodlar arasında istatistiki açıdan Pearson Chi-Square metoduna göre önemli farklılıklar görülmemiştir (Şekil 2, 3, 4, 5, 6).



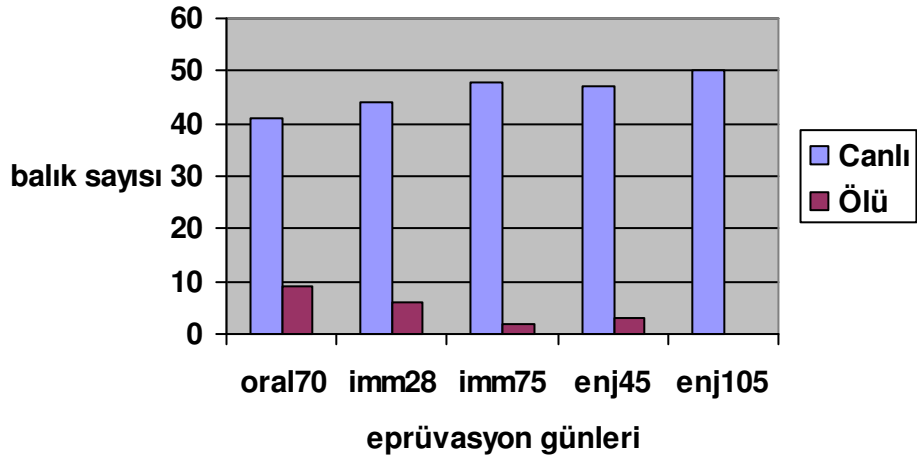
Şekil 2. Referans *Yersinia ruckeri* suşundan hazırlanan monovalan A1 aşısının oral, immersiyon ve enjeksiyon yolla uygulanması sonucu elde edilen koruyuculuk değerleri



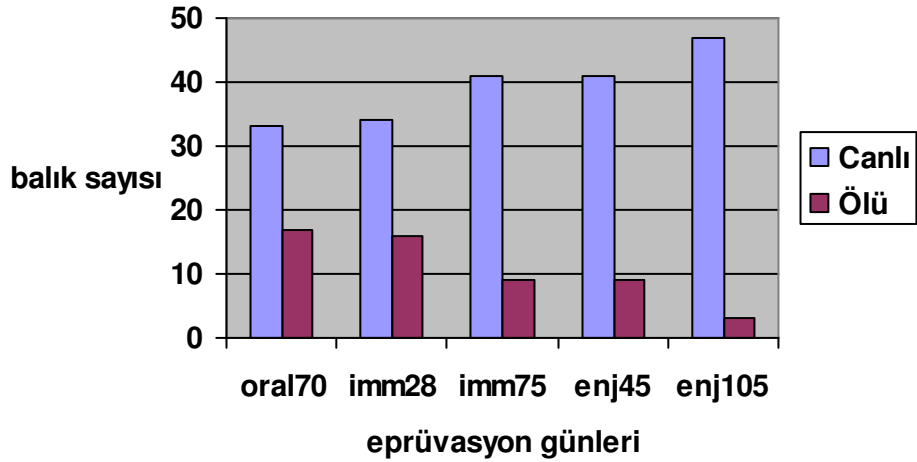
Şekil 3. Saha *Yersinia ruckeri* suşundan hazırlanan monovalan A2 aşısının oral, immersiyon ve enjeksiyon yolla uygulanması sonucu elde edilen koruyuculuk değerleri



Şekil 4. Saha Enterokok suşundan hazırlanan monovalan A3 aşısının oral, immersiyon ve enjeksiyon yolla uygulanması sonucu elde edilen koruyuculuk değerleri



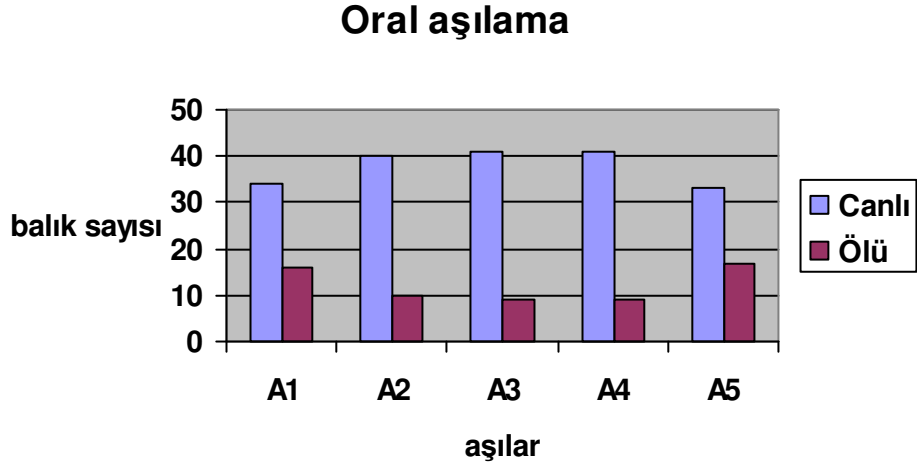
Şekil 5. Saha *Yersinia ruckeri* ve saha Enterokok suşundan hazırlanan A4 aşısının oral, immersiyon ve enjeksiyon yolla uygulanması sonucu elde edilen koruyuculuk değerleri



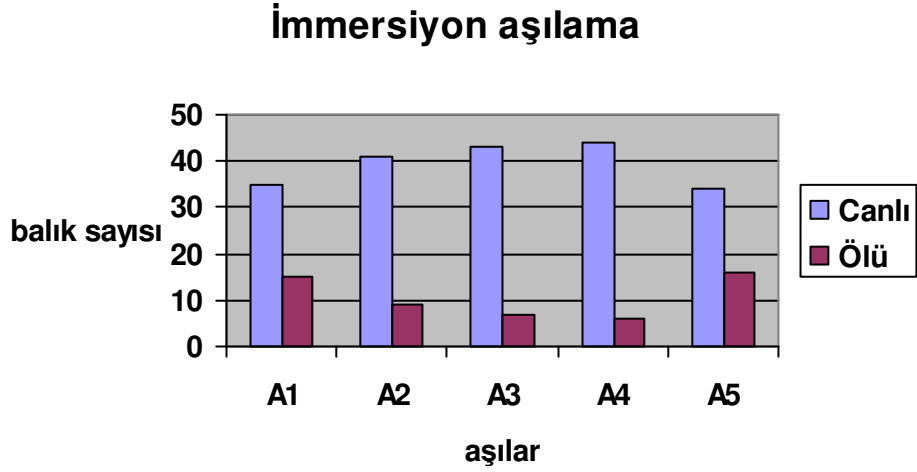
Şekil 6. Referans *Yersinia ruckeri* ve saha Enterokok suşundan hazırlanan A5 aşısının oral, immersiyon ve enjeksiyon yolla uygulanması sonucu elde edilen koruyuculuk değerleri

Araştırmamızda tüm uygulama metodlarında gruplar karşılaştırıldığında ise, enjeksiyonla aşılamanın ikinci eprüvasyonu hariç diğer gruplarda A5 grubunda en az bağışıklık elde edilmiş, bunu takiben A1 grubunda da bağışıklık oranı düşük tespit edilmiştir. A2, A3, A4 gruplarında (özellikle A3 ve A4 gruplarında) ise birbirine

paralel bağışıklık oranları görülmektedir. Aşılama yapılan gruplar arasında istatistiki açıdan Pearson Chi-Square metoduna göre önemli farklılıklar görülmemiştir (Şekil 7, 8, 9 , 10, 11).

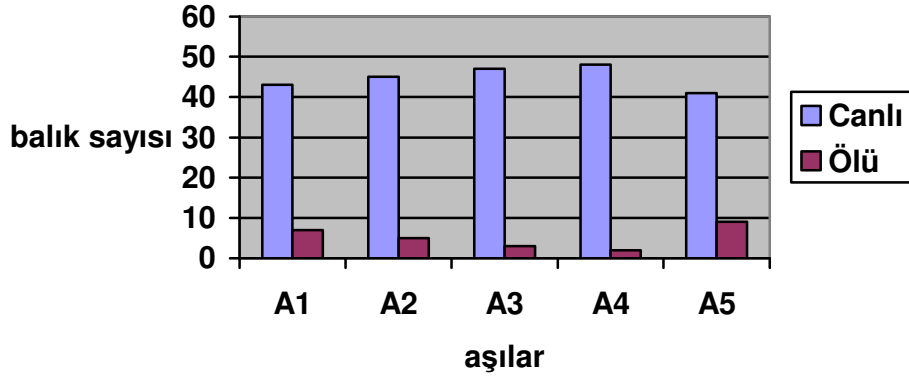


Şekil 7. Oral yöntemle aşı uygulamalarında 70. günde yapılan eprüvasyonlar sonucu elde edilen koruma değerleri



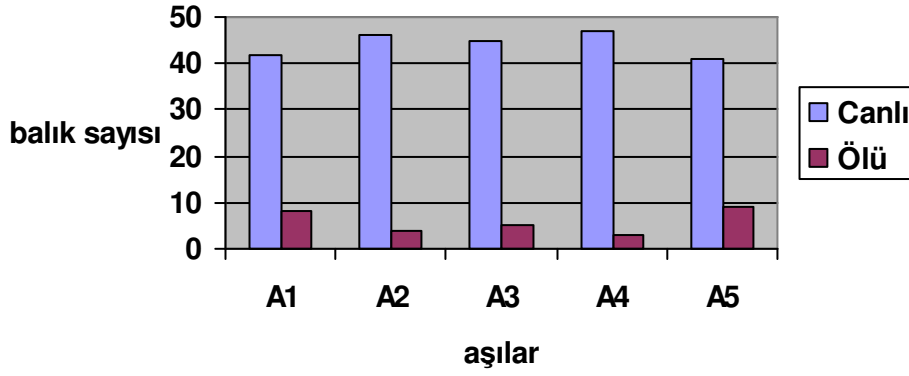
Şekil 8. İmmersiyon yöntemle aşı uygulamalarında 28. günde yapılan eprüvasyonlar sonucu elde edilen koruma değerleri

İmmersiyon aşılama



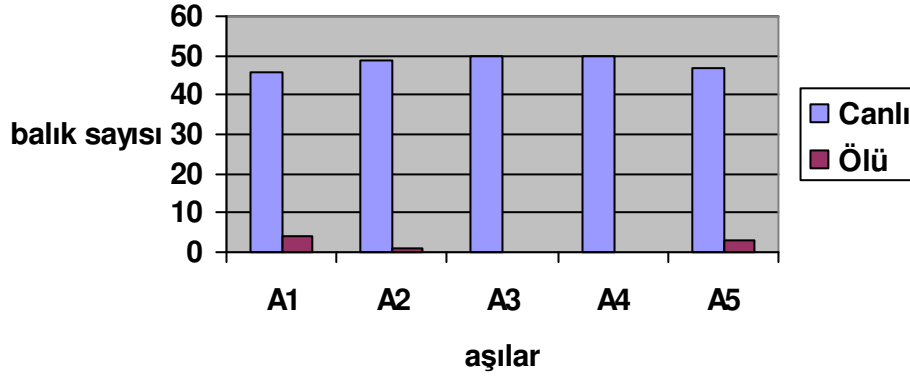
Şekil 9. İmmersiyon yöntemle aşı uygulamalarında 75. günde yapılan eprüvasyonlar sonucu elde edilen koruma değerleri

Enjeksiyon aşılama



Şekil 10. Enjeksiyon yöntemle aşı uygulamalarında 45. günde yapılan eprüvasyonlar sonucu elde edilen koruma değerleri

Enjeksiyon aşılama



Şekil 11. Enjeksiyon yöntemle aşı uygulamalarında 105. günde yapılan eprüvasyonlar sonucu elde edilen koruma değerleri

Sonuç olarak, enjeksiyon metodu ile yapılan aşılamalarda balık ölümlerinin daha az görüldüğü ve monovalan saha *Y. ruckeri*, monovalan enterokok ile karma saha *Y. ruckeri* + enterokok aşılarının daha etkili bağışıklık sağladığı görülmektedir.

4.2. Tartışma

Günümüzde nüfus yoğunluğunun artması ve buna bağlı olarak azalan tarım alanları, göçler, ekonomik koşullar, gıda yetersizlikleri, sağlık problemleri gibi birçok nedenlerden dolayı beyaz et tüketimi artmıştır. Özellikle bedensel ve zihinsel gelişim açısından önemli olan yüksek kaliteli protein açığı ve doğal kaynakların bu ihtiyacı karşılayacak yeterlilikte olmaması intensif balık kültürü tekniklerinde hızlı bir gelişme sağlamıştır. Bu amaçla kurulan işletmelerde yetiştiricilik kontrollü veya yarı kontrollü şartlar altında yapılmakta, maddi kazançların sağlanması için birim alanda daha fazla balık stoklanmaktadır. İntensif bir yetiştiricilikte doğal olarak yüksek yoğunlukta yetiştirme, su kalitesinde azalma, yetersiz diyet, manipulasyonlar gibi nedenlerden dolayı hastalık problemleri de yoğun olarak ortaya çıkmaktadır. Balıklar içerisinde bulundukları ortamda birçok mikroorganizma ile karşı karşıyadır. Bu mikroorganizmaların çoğu balık için patojen değildir. Fakat patojen etkenlerin su ortamında bulunması balıklar için her zaman potansiyel tehlikedir. Son yıllarda dünyada ve ülkemizde görülen *Yersinia ruckeri*'nin oluşturduğu Enterik Kızılığız Hastalığı alabalık işletmelerinde ciddi kayıplara yol açmaktadır. *Yersinia ruckeri* fakültatif patojen bir etkindir. Yersiniozis balık nakilleri, rezervuar canlıların rolü (salmonid olmayan balıklar, su samuru, kerkenez, hindi, misk faresi, kerevit, martı) ve koruyucu önlemlerin (hijyenik tedbirler, aşılama) alınmaması nedeniyle işletmelere hızla yayılarak alabalık çiftliklerinin en önemli sorunlarından biri haline gelmiştir. *Yersinia ruckeri*'nin alabalıklarda meydana getirdiği doğal enfeksiyonu atlatanlarda bir immunité gelişmektedir. Fakat gelişen bu immunité balıkları yeni enfeksiyondan korumaya yetmemektedir. Yersiniozun nüks eden bir enfeksiyon olması tedavinin pahalıya malolmasına neden olmaktadır. Bilim adamları son yıllarda balıklarda görülen hastalıklar ile ortaya çıkan tehditler ve bunların su ürünleri yetiştiriciliği üzerine ekonomik etkilerine önem vermektedirler (Çağırğan ve Yürekli, 1991; Post, 1987; Stevenson et al., 1993; Tanrıku, 1994; Tanrıku et al., 1996).

Hastalık problemlerine karşı koymak amacıyla üreticiler, koruyucu ve sağaltım amaçlı antibiyotik uygulamaları (yemlerin lezzetini etkiler ve dirençli bakteri suşları

oluşumuna neden olur) ile stoktaki tüm balıkların imha edilmesi ve işletmenin dezenfeksiyonu ve bunu takiben hastalıktan ari sürünün yerleştirilmesi gibi maliyeti yüksek uygulamalar denemişlerdir. Fakat *Yersinia ruckeri*'nin havuz dibindeki çamurda 2 ay canlı kalması, akuatik omurgasızlarla, kara hayvanlarının *Yersinia ruckeri*'nin taşıyıcısı olması hijyen tedbirlerini etkisiz kılmaktadır. *Yersinia ruckeri* laboratuvar teşhiste en erken 48 saatte primer koloni vermekte bu durumda hastalıkla mücadelede 4-5 gün geçmesini ve onbinlerce balığın kaybedilmesine neden olmaktadır. Bu nedenler aşı kullanımını zorunlu hale getirmiştir.

Aşı geliştirilmesinde çalışmalar 1970'li yıllarda başlamış ve 3 salmonid hastalığına karşı bakterinlerin üretimiyle sonuçlanmıştır. Bu hastalıklar Enterik Kızılalgız Hastalığı (*Yersinia ruckeri*), Vibriosis (*Vibrio anguillarum*) ve Furunkulozis'dir (*Aeromonas salmonicida*). Bu üç bakterin de Amerika Tarım Departmanı/Hayvan ve Bitki Sağlığını İzleme Servisi (U.S.D.A/A.P.H.I.S.) tarafından lisanslandırılmıştır. Salmonid virusları için aşılar (IPN, IHN, VHS), ve bakteriyel böbrek hastalığı (*Renibacterium salmoninarum*) için bakterin geliştirilme aşamasındadır (Amend ve Eshenour, 1980).

Rodgers (1992), yapılan aşılamaaların yeterli koruma sağlamadığını, aşılama yapılan çiftliklerde de hastalık çıktığını ve ilaçla tedavinin aşı uygulamasından daha ucuza geldiğini belirtmiştir. Fakat diğer çalışmalardan elde edilen bulgular bunu doğrulamamaktadır (Gudding et al., 1999). Antibiyotik kullanımının birçok yan etkileri bulunmaktadır. Amerika'da enzootik Yersiniozis görülen alanlarda sulfamerazin ve oksitetrasiklinlere karşı tam bir direncin geliştiği bildirilmiştir (Post, 1987).

Norveç'te aşı uygulamalarının geliştirilmesinden sonra, ilaç kullanımının 47 ton aktif maddeden 1 tona düştüğü bildirilmiştir (Gudding et al., 1999).

Antibiyotik uygulamalarının masraflı olması, iş gücü gerektirmesi, patojenik ve nonpatojenik mikroorganizmalara karşı direnç oluşumuna neden olması ve bu durumunda insan ve hayvan sağlığını tehdit etmesinden dolayı çalışmalar daha çok aşılama üzerine yoğunlaşmaktadır.

1993 yılından itibaren Enterokokal sepsisemi kültür balıklarında en büyük tehditlerden biri haline gelmiştir. Kemoterapi hastalığın kontrolünde etkili olmadığı

ve oluşan dış klinik belirtilerin etkilenen balıkları pazarlanamaz hale getirmesi nedeniyle hastalık ağır ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Streptokokal hastalıklarda aşının kullanımının yılda 100 milyon dolar zararı önlediği bildirilmiştir. Kültür balıklarında streptokokal ve enterokokal sepsisemilerin sebep olduğu üretim kayıpları, antimikrobiyal kullanımının getirdiği maliyetler ve Gram-pozitif kokların artan ilaç dirençliliği hastalıktan korunmada immunprofilaksiyi geliştirme ihtiyacını doğurmuştur (Kawahara et al., 1989).

Dünya sağlık teşkilatı 1966'da yayınladığı bir raporda aşılama karar vermeden önce hastalığın tabiatı ve şiddeti, enfeksiyona maruz kalma olasılığı, hastalığın yayılma olasılığı, aşılama ile elde edilen bağışıklığın süresi ve derecesi ve aşılama bireylerde gerek aşılama esnasında gerekse sonradan meydana gelebilen arzu edilemeyen reaksiyonların şiddeti ve görülme sıklığı gibi hususların değerlendirilmesi gerektiğini belirtmiştir (Anderson ve Nelson, 1974).

Balıklar enfeksiyöz ajanlardan mukus, pullar ve epidermis gibi nonspesifik bariyerler, komplement, interferon ve lizozimler gibi nonspesifik faktörler ve antikor üretimi gibi spesifik defans mekanizmaları ile korunmaktadır (Anderson ve Nelson, 1974; Ellis, 1988b; Tanrıku, 1994). Antikor, spesifik bir antijene karşı cevap olarak üretilen ve antijenle reaksiyona giren spesifik bir immunglobulindir. Bir antijen uygun koşullar altında antikor üretimine neden olan ve antikorla reaksiyona giren herhangi yabancı maddedir. Aşı ve bakterinler, atenué edilmiş hastalık etkenleri ve bir konakçıya uygulandığında spesifik antikor üretimini uyaran veya belirli hastalık etkenlerine karşı nonspesifik direnç neden olan antijenler içerirler. İmmünize bir hayvanda antikorların ve diğer faktörlerin üretimi ile oluşan koruma bir patojenle doğal karşılaşmalarda hayatta kalmalarını sağlamaktadır. Balıklar oral, immersiyon, sprey ve enjeksiyon aşılama yollarıyla aşılanabilmektedir (Amend ve Eschenour, 1980; Anderson ve Ross, 1972; Bullock ve Cipriano, 1990; Cossarini, 1986; Ellis, 1988a; Gudding et al., 1999).

Yersiniozis hastalığına karşı ilk aşılama Ross ve Klontz (1965) oral yolla uygulanmıştır. Hazırlanan bakterin yemle 2 hafta boyunca haftada 5 gün, çalışmanın devamında da hafta da 1 kez verilmiştir. 70 gün sonra balıklara LD₇₀ dozunda bakteri

ip olarak verilmiş ve % 90 koruma gösterdiği ve bu korumanın 408 gün sürdüğü bildirilmiştir (Austin ve Austin, 1987; Ellis, 1988b; Ross ve Klontz, 1965).

Enterococcus seriolicida'ya karşı oral aşı 0.2 g aşı/balık dozunda yemle verilmiştir. Bu miktar 10 günlük dozlar şeklinde yemleme programına dahil edilmiştir. 5 günlük yemle aşı uygulamasından sonra 5 günlük arayı takiben tekrar 5 gün aşı uygulaması yapılmıştır. Sonuç olarak küçük balıklarda ağır mortalite ile seyreden hastalıkta mortalitede belirgin azalma tespit edilmiştir. 11 haftalık gözlem periyodu boyunca aşıli balıklarda sadece %2.3 ölüm meydana geldiği bildirilmiştir (Clark et al., 2006).

Araştırmamızda oral aşılarla 70. günde yapılan epruvasyonlar sonucu referans *Yersinia ruckeri* suşundan hazırlanan A1 aşısında % 55.5, saha *Yersinia ruckeri* suşundan hazırlanan A2 aşısında % 71.4, sahadan izole edilen enterokok suşundan hazırlanan A3 aşısından % 72.7, saha *Yersinia ruckeri* ve enterokok suşundan hazırlanan A4 aşısından % 74.2 ve referans *Yersinia ruckeri* ve enterokok suşundan hazırlanan A5 aşısından % 52.7 RPS elde edilmiştir.

1977'de vibriozise karşı immersiyon aşılamanın gelişmesiyle beraber bu tekniğin ERM içinde oral aşılamadan daha etkili olduğu belirlenmiştir. Saha ve laboratuvar çalışmaları sonucunda immunizasyon ile aşılamanın % 80-97 oranında RPS oluşturduğu bildirilmiştir (Bruno ve Munro, 1989). Optimum koşullar altında bu korumanın 300 günden fazla sürdüğü belirlenmiştir (Amend ve Eshenour, 1980).

Bruno ve Munro (1989), ticari bir Yersinioz aşısını 10 misli sulandırarak 30 saniye süreyle banyo yoluyla aşılama sonucu 2 g ağırlığındaki balıklarda 6. ayda RPS % 75, 4 g ağırlığındaki balıklarda 5. ayda % 90 olarak bulmuştur.

Clark ve ark.'ın (2006), yaptığı bir çalışmada 1 g ağırlığındaki balıkların *Enterococcus seriolicida*'ya karşı immersiyon aşılama sırasında 12. haftada mortalite aşısız balıklarda %68 iken aşıli balıklarda %13.5'e düştüğü bildirilmiştir

Yapılan araştırmada immersiyon aşılama sonucu 28. günde A1 % 59.4, A2 % 74.2, A3 % 78.7, A4 % 83.3 A5 % 56.7, 75. günde A1 % 79.4, A2 % 84.3, A3 % 90.6, A4 % 93.7, A5 % 73.5 oranlarında RPS değerleri elde edilmiştir. İmmersiyon aşılamada da en iyi koruma A4 (saha *Yersinia ruckeri* +enterokok) aşısına karşı elde edilmiştir. 28. günde yapılan epruvasyonlarda A1 referans *Yersinia*

ruckeri ve A5 enterokok+referans *Yersinia ruckeri*'den oluşan karma aşı sırasıyla %30 ve %32 mortalite oranı ile en düşük korumayı sağlamıştır. Saha *Yersinia ruckeri* ve saha enterokok suşlarından hazırlanan monovalan aşılarında sırasıyla %18 ve %14 oranında mortalite oluşturduğu tespit edilmiştir. 75. günde yapılan ikinci eprüvasyonlarda da A3 ve A4 aşıları %6 ve %4 mortalite ile yüksek koruma sağlamıştır.

Araştırmamızda ip enjeksiyon yoluyla aşılanan balıklara 45 ve 105. günlerde eprüvasyonlar yapılmıştır. 45. günde A1 %77.7, A2 %88.5, A3 %85.2, A4 %91.4, A5 %75, 105. günde A1 % 87.5, A2 %96.7, A3, A4'te %100 ve A5 aşısında %90.6 oranlarında RPS elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre enjeksiyon aşılama en iyi korumanın saha *Yersinia ruckeri* suşu ile hazırlanan A2 ve enterokok+saha *Yersinia ruckeri* ile hazırlanan A4 karma aşılarına karşı sağlandığı tespit edilmiştir.

Bu araştırmada oral, immersiyon ve enjeksiyon yöntemleriyle yaptığımız aşılama çalışmaları neticesinde, enjeksiyon yönteminin (ip) immersiyon ve oral yöntemle oranınla daha yüksek bir koruma sağladığı tespit edilmiştir (Çizelge : 18, 19, 20, 21, 22). Yersiniozise karşı en uygun aşılama yönteminin enjeksiyon (ip) olduğu saptanmıştır (Ellis, 1988a; Ellis, 1988b; Johnson ve Amend, 1983a). Johnson ve Amend, (1983a), yersiniozis aşısını ip enjeksiyon ve immersiyon yöntemleriyle uygulayarak sağladıkları bağışıklıkları karşılaştırmış ve ip enjeksiyon yöntemiyle aşılama daha düşük ölüm yüzdesi ve daha yüksek koruma elde edildiğini bildirmeleri çalışmamızı desteklemektedir.

Araştırmamızda eprüvasyon uygulamaları sonucu 75. ve 105. günde 28. ve 45. güne oranla daha iyi koruma sağladığı tespit edilmesi konu ile ilgili olarak yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Bruno ve Munro, 1989; Johnson et al., 1982b). Bunun sebebi muhtemelen büyük balıkların hastalıklara küçük balıklardan daha dirençli olmasıdır (Ellis, 1988a).

Johnson ve ark. (1982b), 1/10 oranında sulandırılmış olan aşıyla 20 saniye süreyle aşıladıkları gökkuşağı alabalıklarında 70. günden sonra yapılan eprüvasyonlarda RPS değerlerinin arttığını ve 90. günde %100'e ulaştığını bildirmişlerdir.

Tanrıkul, (1994), 2-3 g ağırlığındaki alabalık yavrularını araştırmalar sırasında üretmiş olduğu iki aşı ile aşılayarak, yurt dışından ithal edilen İngiltere ve Fransa aşıları ile karşılaştırmıştır. Saha suşlarından geliştirmiş olduğu aşılarından başarılı sonuçlar elde etmiştir. Araştırmamız sonucunda da saha *Yersinia ruckeri* suşu ile hazırlanan A2 ve A4 aşılarının, referans *Yersinia ruckeri* suşundan hazırlanan A1 ve A5 aşılarına göre daha iyi koruma sağladığı belirlenmiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Su ürünleri yetiştiriciliğinde hızlı gelişimle birlikte hastalık sorunları da artmıştır. Kayıpların önüne geçebilmek için kemoterapi yapılmaktadır. Ancak kemoterapi ölümler başladıktan sonra uygulanabilmekte, teşhis yapıp antibiyogram sonuçları alınıncaya kadar da önemli miktarda kayıplar oluşmaktadır. Ülkemizde özellikle *Yersinia ruckeri*'nin ve son yıllarda da *Enterococcus seriolicida*'ların neden olduğu hastalıklar balık işletmelerinde önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Oluşan enfeksiyonlar sonucu balıkların pazarlanamaz hale gelmesi, antibiyotik kullanımının bakterilerde direnç gelişimine neden olması, masraflı olması, iş gücü gerektirmesinden dolayı aşılama önem kazanmıştır.

Bu çalışmada Danimarka'dan izole edilmiş referans bir *Yersinia ruckeri* ve ülkemizden izole edilmiş saha *Yersinia ruckeri* ve enterokok suşuna karşı hazırlanan aşılar ve bunların oral, immersiyon ve enjeksiyon yoluyla uygulanması sonucu elde edilen bağışıklıklar karşılaştırılmıştır. Geliştirilen aşılar arasında saha suşlarından hazırlanan aşılardan daha yüksek koruma elde edilmiştir. Özellikle immersiyon aşılama 28. günde yapılan epruvasyonlarda referans *Yersinia ruckeri* suşu ile aşılanan A1 grubunda mortalite %30 iken saha *Yersinia ruckeri* suşundan hazırlanan aşı ile aşılanan A2 grubunda mortalite %18'te kalmıştır.

Enjeksiyon aşılama yapılan gruplarda koruma diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur. Enjeksiyon aşılama 45. günde elde edilen RPS değerleri 75-91.1 arasında olup bu değerler 105. günde 87.5-100 RPS'ye çıkmıştır. İmmersiyon aşılama RPS değerleri enjeksiyon aşılama göre daha düşük bulunmuştur. Oral aşılamalarda ise bağışıklık düşük bulunmuştur.

Karma aşılar da tüm gruplarda saha *Yersinia ruckeri* suşundan hazırlanan A4 aşısının referans *Yersinia ruckeri* suşundan hazırlanan A5 karma aşısından daha yüksek koruma sağladığı belirlenmiştir. Özellikle immersiyon aşılama 28. günde yapılan epruvasyonlarda A4 aşısı uygulanan grupta mortalite %12 olarak belirlenirken A5 aşısında mortalite %32'ye çıkmıştır.

Araştırmamızda elde ettiğimiz verilere göre bağışıklığın değerlendirilmesinde antikor düzeyinin belirlenmesinin yanılıcı olduğu deneysel enfeksiyonlara karşı korumanın ölçü alınması gerektiği doğrulanmıştır.

Yersinioz ve enterokokus hastalığı özellikle yavru balıklarda fazla miktarda mortaliteye neden olarak büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. İşletmelerde hastalıklar tedavi edilmelerine rağmen yılda iki üç kez nksetmekte, hastalığı atlatan balıklarında gelişimleri yavaşlamaktadır. Bu nedenle tedaviden çok hastalığın işletmeye girişi önlenmelidir. En başta bu işletmelerde çalışan işçiler iyi bir eğitimden geçirilmeli, hastalıkların bulaşma yolları, hijyenin bulaşmadaki önemi işçilere anlatılmalıdır. Kulukahanesi bulunan çiftliklerde anaçlar portörlük bakımından kontrol edilmeli ve portör olan balıklar sürüden çıkarılmalıdır. Eğer anaçlar dışarıdan alınıyorsa hastalıktan ari, sertifikalı sürülerden alınmasına dikkat edilmelidir. Ülkemizdeki işletmelerde yoğun olarak hastalıkların gözükmesi nedeniyle aşılamada mutlaka yapılmalıdır. Tüm dünyada balık sağlığı ile uğraşan otoritelerin kabul ettiği gibi profilaksi tedaviden çok daha önemli ve ekonomiktir.

ÖZET

Yersinioz 1950 yılından beri bilinen salmonid balıkların kontagiyöz bir hastalığıdır. İlk izolasyonundan sonra Amerika, Avrupa, Asya ve Afrika'da birçok ülkeden bildirilmiştir. Hastalık Türkiye'de ilk kez 1990'ların sonunda teşhis edildi (Çağırğan ve Yüreklitürk, 1991). Bu ilk izolasyondan sonrada Türkiye'deki alabalık çiftliklerinin hemen hemen hepsinde görüldü.

Birçok ülkede yersinioz infeksiyonlarından korunmada aşılama yapılmaktadır. Bu aşılama uygulamada oral, enjeksiyon, immersiyon, sprey ve anal intubasyon gibi birçok metot rapor edilmiştir (Johnson ve Amend, 1983). Bu metotlardan immersiyon metodu kolay uygulanabilir olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada saha ve Danimarka *Yersinia ruckeri* izolatları ve saha enterokok izolatları kullanılarak beş değişik aşı geliştirilmiştir. Bu aşılama sırasıyla A1 referans *Yersinia ruckeri*'den, A2 saha *Yersinia ruckeri*'den, A3 saha enterokok suşundan, A4 aşısı saha *Yersinia ruckeri* ve saha enterokok suşlarından, A5 aşısında referans *Yersinia ruckeri* ve saha enterokok suşlarından hazırlanmıştır. Deneysel aşılama 6-10 g ağırlığındaki 1250 gökkuşağı alabalığına oral, immersiyon ve enjeksiyon metotlarıyla uygulanmıştır. Oral olarak aşılanan balıklar 70. günde, immersiyon yöntemiyle aşılanan balıklar 28 ve 75. günlerde, enjeksiyon yöntemiyle aşılanan balıklar 45 ve 105. günlerde epruvasyona maruz bırakılmıştır. Ölen balıklar günlük olarak toplanmış ve böbreklerinden reizolasyon yapılmaya çalışılmıştır. Aşıların etkinlikleri nisbi hayatta kalma yüzdesi olarak isimlendirilen formüle göre değerlendirildi.

Sonuçlar saha izolatının Danimarka izolatı ile karşılaştırıldığında daha iyi koruma sağladığını göstermiştir. Monovalan ve karma aşılar da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Nisbi koruma oranlarına göre enjeksiyon aşılama diğer metotlarla karşılaştırıldığında en iyi korumayı sağlamıştır.

Saha enterokok suşundan hazırlanan A3 aşısında %72.7-100 arasında değişen değerlerde nisbi koruma sağlamıştır.

SUMMARY

Yersiniosis is one of the contagious diseases of all salmonid fish and known since 1950's. After the first isolation of the *Yersinia ruckeri* disease was reported from several countries of America, Europe, Asia and Africa. The disease had diagnosed in Turkey at the end of the 1990 (Çağırman ve Yürekli, 1991). Since this first isolation the infection has been found nearly all of the trout farm in Turkey.

Vaccinations have been using to prevent ERM infection in many countries. Many methods were reported for ERM vaccination including administration routes of oral, injection, immersion, spray shower, anal intubation (Johnson ve Amend, 1983).

In this study five different vaccines were developed by using field and Denmark isolates of *Yersinia ruckeri* and field isolates of enterococ. The experimental vaccination was applied by orally, immersion and injection to a total of 1250 rainbow trout weighed 6-10 g. Orally vaccinated fish were challenged at 70 day, immersion vaccinated fish were challenged at 28 and 75 days and injection vaccinated fish were challenged at 45 and 105 days. Dead fish were taken daily and reisolations were tried from the kidneys. Potency of the vaccines were calculated using the formula, named relative percentage of survival.

The results showed that field isolates provided more protection compared to Denmark isolates. Monovalan and polivalan vaccines provided similar protection. Relative percentage of survival values calculated based on mortalities, it has been determined that injection method provided the best protection compared to others.

Enterococ vaccine (A3) provided relative protection between %72.7-100.

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamda ilgi ve yardımlarını gördüğüm danışmanım Prof. Dr. Osman KAYA'ya, anabilim dalı arkadaşlarıma, çalışmalarım sırasında sağladıkları olanaklarla araştırmanın yapılmasında katkıda bulunan Bağcı Balıkçılık çalışanlarına, Su Ürünleri Mühendisi Halit uşaklıgil ve Mustafa Bağcı'ya, literatürlere ulaşmamda yardımcı olan Necla Türk'e, bu tezde bana çalışmalarıyla yol gösteren ve referans suşu sağlamadaki yardımlarıyla Prof. Dr. Öznur Diler ve Dr. Soner Altun'a, ve beni her zaman destekleyen ailem ve eşime sonsuz teşekkürlerimi iletirim.

KAYNAKLAR

1. ALTUN, S.. 2001. *Yersinia ruckeri* Suşlarının Bazı Antijenik ve Fenotipik Özelliklerinin Belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Su Ürünleri Temel Bilimler Anabilimdalı Doktora Tezi, Eğirdir/Isparta.
2. ALTUN, S., DİLER, Ö.. 1999. *Yersinia ruckeri* ile İnfekte Edilmiş Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Hematolojik İncelemeler. Tr. Journal of Veterinary and Animal Sciences, 23: 301-309.
3. ALVAREZ, J.D., AUSTIN, B., CONROY, D.A.. 1986. First Outbreak of ERM in Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*) Cultured in Venezuela. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 12 : 189-190.
4. AMEND, D.R., ESHENOUR, R.W.. 1980. Development and Use of Commercial Fish Vaccines. Salmonid (March/April):8-12.
5. AMEND, D.R., JOHNSON, K.A.. 1984. Evidence for the Lack of Antigenic Competition of Various Combination of *Vibrio anguillarum*, *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas salmonicida* and *Renibacterium salmoninarum* Bacterins When Administred to Salmonid Fish. J. Fish Dis., 7 : 293-299.
6. ANDERSON, D.P., DIXON, O.W.. 1980. Immunological Memory in Rainbow trout to a Fish Disease Bacterin Administered by Flush Exposure: In : Manning, M. J. (ed), Phylogeny of Immunological Memory. Elsevier /North-Holland Biomedical Press., :103-111.
7. ANDERSON, D.P., NELSON, J.R.. 1974. Comparison of Protection in Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) Inoculation With and Fed Hagerman Redmouth Bacterins. J. Fish Res. Board Can. 31, 2 :214-216.
8. ANDERSON, D.P., ROSS, A.J.. 1972. Comparative Study of Hagerman Redmouth Disease oral Bacterins. Prog. Fish Cult. 34, 4, 226-228.
9. AUSTIN, B., AUSTIN, D.A.. 1987. Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish.1st. Ed., Ed. Simon and Schuster, Chichester, UK. : 207-224.
10. AUSTIN, B., GREEN, M., RODGERS, C.J.. 1982. Morphological Diversity Among Strains of *Yersinia ruckeri*. Aquaculture, 27:73-78.

11. BERCOVIER, H. and MOLLARET, H.H.. 1984. Genus XIV. *Yersinia* Van Loghem 1944 15. AL. In: Krieg, N.R. (ed.), Bergeys Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1 Baltimore, William Wilkins : 489-506.
12. BLAZER, V.S., WOLKE, R.E.. 1984. Effect of Diet on the Immune Response of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). Can. J. Fish. Aquat. Sci., 41: 1244-1247.
13. BRAGG, R.R., HENTON, M.M.. 1986. Isolation of *Yersinia ruckeri* from Rainbow Trout in South Afrika. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 6: 5-7
14. BRUNO, D.W., MUNRO, A.L.S.. 1989. Immunity in Atlantic Salmon, *Salmo salar* L., Fry Following Vaccination Against *Yersinia ruckeri*, and the Influence of Body Weight and Infectious Pancreatic Necrosis Virus (IPNV) on the Detection of Carriers. Aquaculture, 81, 205-211.
15. BULLOCK, G.L., CIPRIANO, R.C.. 1990. Enteric Redmouth Disease of Salmonids. Fish Disease Leaflet; 82.
16. BULLOCK, G.L., SNIESZKO, S.F.. 1979. Enteric Redmouth Disease of Salmonids. Dept. Interior, USFWS, FLD-57., 7 p.
17. BULLOCK, G.L., STUCKEY, H.M., SHOTTS, E.B.. 1978. Enteric Redmouth Bacterium: Comparison of Isolates from Different Geographical Areas. J. Fish Dis., 1:351-356.
18. BUSCH, R.A., 1982. Enteric Redmouth Disease. 'Symposium International de Talloires' 10-12 May., 1982, Les Antigenes Des Micro-organismes Pathogènes des Poissons. Collection Fondation Marcel Merieux : 201-224.
19. CANDAN, A.A., KARATAŞ, S.. 1997. Marmara Bölgesindeki Bir Gökkuşluğu Alabalığı İşletmesinde Yersiniosis Vakası. IX. Ulusal Su Ürün. Semp. Pos. Öz. 17-19 Eylül p.178 Eğirdir, Isparta.
20. CARSON, J., GUDKOV, N., AUSTIN, B.. 1993. Characteristics of an Enterococcus-like Bacterium from Australia and South Afrika, Pathogenic for Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Journal of Fish Diseases, 16:381-388.

21. CESCHIA, G., GIORGETTI, G., GIAVENNI, R., SARTI, M.. 1992. A New Problem for Italian Trout Farms: Streptococcosis in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 12:71-72.
22. CIPRIANO, R.C., RUPPENTHAL, T.. 1987. Immunization of Salmonids Against *Yersinia ruckeri* : Significance of Humoral Immunity and Cross Protection Between Serotypes. J. Wildlife Dis., 23(4): 545-550.
23. CIPRIANO, R.C., SCHILL, W.B., PYLE, S.W., HORNER, R.. 1986. An Epizootic in Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) Caused by a Sorbitol-Positive Serovar II Strain of *Yersinia ruckeri*. J. Wildlife Dis., 22 : 488-492.
24. CLARK, J.S., PALLER, B., SMITH, P.D.. 2006. Prevention of Streptococcosis in Tilapia by Vaccination the Philippine Experience. <http://ag.arizona.edu/azaqua/ista/ista5work/ista5papers/Clark/Vaccine%20Paper%20ISTA%20V.doc>.
25. COLLINS, R.O., FOSTER, G., ROSS, H.M.. 1996. Isolation of *Yersinia ruckeri* from an otter and salmonid fish from adjacent freshwater catchments. Veterinary Record, 139: 169.
26. COSSARINI-DUNIER, M.. 1986. Protection Against Enteric Redmouth Disease in Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Richardson, after vaccination with *Yersinia ruckeri* Bacterin. Journal of Fish Diseases, 9: 27-33.
27. ÇAĞIRGAN, H.. 1990. Ege Bölgesinde Görülen *Yersinia* Vakaları ve Tedavisi. Doğu Anadolu Bölgesi I ve II. Su Ürünleri Sempozyumu (1995) Kitabı, 316- 329, Erzurum.
28. ÇAĞIRGAN, H.. 1998. *Yersinia ruckeri*'nin Biostin-Avidin Sandviç Elisa ile Serotiplendirilmesi III. Su Ür. Semp. Teb. 10-12 Haziran. 1998, Erzurum.
29. ÇAĞIRGAN, H., YÜREKLİTÜRK, O.. 1991. First Isolation of *Yersinia ruckeri* from Rainbow Trout in Turkey. Fifth International Conference "Disease of Fish and Shellfish" Book of Abstracts 131.

30. DALSGAARD, I., FROM, J., HORLOCK, V.. 1984. First Observation of *Yersinia ruckeri* in Denmark. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 4 : 10.
31. DALY, J.G., LINDVIK, B., STEVENSON, R.M.W., 1986. Serological Heterogeneity of Recent Isolates of *Yersinia ruckeri* from, Ontario and British Colombia. Dis. Aquat. Org.. 1: 151-153.
32. DANLEY, M.L., GOODWIN, A.E., KILLIAN, H.S.. 1999. Epizootics in Farm-raised Channel Catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), Caused by the Enteric Redmouth Bacterium *Yersinia ruckeri*. Journal of Fish Disease, 22 : 451-456.
33. DAVIES, R.L.. 1990. O-Serotyping of *Yersinia ruckeri* with Special Emphasis on European Isolates. Veterinary Microbiology, 22: 299-307.
34. DAVIES, R.L.. 1991a. Colonel Analysis of *Yersinia ruckeri* Based on Biotypes, Serotypes and Outer Membrane Protein Types. Journal of Fish Disease, 14: 221-228.
35. DAVIES, R.L.. 1991b. Virulence and Serum Resistance in Different Clonal Groups and Serotypes of *Yersinia ruckeri*. Veterinary Microbiology, 29: 289-297.
36. DAVIES, R.L.. 1991c. Outer Membrane Protein Profiles of *Yersinia ruckeri*. Veterinary Microbiology, 26: 125-140.
37. DAVIES, R.L., FRERICH, G.N.. 1989. Morphological and Biochemical Differences Among Isolates of *Yersinia ruckeri* Obtained from Wide Geographical Areas. Journal of Fish Diseases, 12: 357-365.
38. DE GRANDIS, S.A., KRELL, P.J., FLETT, D.E., STEVENSON, R.M.W.. 1988. Deoxyribonucleic Acid Relatedness of Serovars of *Yersinia ruckeri*, the Enteric Redmouth Bacterium. Int. J. Sys. Bacteriol. 38, 1:49-55.
39. DE GRANDIS, S.A., STEVENSON, R.M.W.. 1982. Variation in Plasmid Profiles and Growth Characteristics of *Yersinia ruckeri* Strains. FEMS Microbiology Letters. 15: 199-202.
40. DE GRANDIS, S.A., STEVENSON, R.M.W.. 1985. Antimicrobial Susceptibility Patterns and R Plasmid-Mediated Resistance of the Fish

Pathogen *Yersinia ruckeri*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol.27 No.6: 938-942.

41. DE LA CRUZ, J.A., RODRIGUEZ, A., TEJEDOR, C., DE LUCAS, E., OROZCO, L.R.. 1986. Isolation and Identification of *Yersinia ruckeri*, Causal Agent of Enteric Redmouth Disease (ERM), for the First Time in Spain. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists., 6 (2) : 43-44.
42. DEAR, G.. 1988. *Yersinia ruckeri* Isolated from Atlantic Salmon in Scotland. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists., 8 (2) : 18-19.
43. DİLER, Ö., ALTUN, S.. 1997. Enterik Kızılâğız Hastalığının Kontrolü için Çeşitli *Yersinia ruckeri* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Tespiti Üzerine Bir Araştırma. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi, 9, (1): 175-182.
44. DOMENECH, A., PRIETA, J., FERNANDEZ-GORAYZABAL, J.F., COLLINS, M.D., JONES, D., DOMINGUEZ, L.. 1993. Phenotypic and Phylogenetic Evidence for a Close Relationship Between *Lactococcus garviae* and *Enterococcus seriolicida*. Microbiologia, 9 (1) : 63-68.
45. DULIN, M.P., HUDDLESTONE, T.R., LARSEN, R., KLONTZ, G.. 1976. Enteric Redmouth Disease. Bulletin 8, Forest Wildlife and Range Experimental Station, University of Idaho: 15.
46. EDWARD, J., NOGA, M.S., LEVINE, J.F., TOWNSEND, K., BULLIS, R.A., CARLSON, C.P., CORBETT, W.T.. 1998. Kidney Biopsy: A Nonlethal Method for Diagnosing *Yersinia ruckeri* Infection (enteric redmouth disease) in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). Am. J. Vet. Res., Vol 49, No:3: 363-365.
47. EGUSA, S.. 1978. Sakanano Kansensho (Infectious Diseases of Fish). Koseisha Koseikaku, Tokyo : 225-228.
48. ELDAR, A.C., GHITTINO, L., ASANTA, E., BOZZETTA, M., GLORIA, M.P. and BERCOVIER, H.. 1996. *Enterococcus seriolicida* is a Junior Synonym of *Lactococcus garviae*, a Causative Agent of Septisemia and Meningoencephalitis in Fish. Curr. Microbiol., 32: 85-88.
49. ELLIS, A.E.. 1988a. General Principle of Fish Vaccination. In: Ellis, A.E. (ed.) Fish Vaccination. Academic Pres Ltd., London : 1-19.

50. ELLIS, A.E.. 1988b. Vaccination Against Enteric Redmouth (ERM). 84-92 (Ellis, A.E. Eds.) Fish Vaccination, Academic Press., Publishers, London.
51. ERDAL, J.L.. 1989. Vaccination of Atlantik Salmon (*Salmo salar* L.) Against Different Serovar of *Yersinia ruckeri*. In: The IV. Conference of EAAP, Disease of Fish and Shellfish. 24-28 September 1989, Book of Abstract : 78.
52. EWING, W.H., ROSS, A.J., BRENNER, D.J., FANNING, G.R.. 1978. *Yersinia ruckeri* sp. nov., the Redmouth (RM) Bacterium. Int. J. Syst. Bacteriol., 28: 37-44.
53. FUHRMAN, H., BÖHM, K.H., SCHLOTFELDT, H.J.. 1983. An outbreak of Enteric Redmouth Disease in West Germany. Journal of Fish Diseases, 6: 309-311.
54. FURONES, M.D., GILPIN, M.J., ALDERMAN, D.J. and MUNN, C.B.. 1990. Virulence of *Yersinia ruckeri* Serotype I Strains is Associated with a Heat Sensitive Factor (HSF) in Cell Extracts. FEMS Microbiology Letters, 66: 339-344.
55. FURONES, M.D., GILPIN, M.L., MUNN, C.B.. 1993. Culture Media for the Differentiation of Isolates of *Yersinia ruckeri*, Based on Detection of a Virulence Factor. Journal of Applied Bacteriology, 74: 360-366.
56. GHITTINO, C., PREARO, M.. 1992. Report of Streptococcosis in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Italy: Preliminary note. Boll. Soc. Ital. Patol. 8:4-11.
57. GIBELLO, A., BLANCO, M.M., MORENO, M. A., CUTULI, M.T., DOMENECH, A., DOMÍNGUEZ, L., FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J.F.. 1999. Development of a PCR Assay for Detection of *Yersinia ruckeri* in Tissues of Inoculated and Naturally Infected Trout. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 65, No. 1: 346-350.
58. GIORGETTI, G., CESCHIA, G., BOVO, G.. 1985. First Isolation of *Yersinia ruckeri* in Farmed Rainbow Trout in Italy. In Fish and Shellfish Pathology, (ed, by A.E. Ellis): 161- 166. Academic Press, New York.

59. GREEN, M., AUSTIN, B.. 1983. The Identification of *Yersinia ruckeri* and its Relationship to Other Representatives of the *Enterobacteriaceae*. *Aquaculture*, 34: 185-192.
60. GUDDING, R., LILLEHAUG, A., EVENSEN, Ø.. 1999. Recent Developments in Fish Vaccinology. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 72: 203-212.
61. HAYRAN, M., ÖZDEMİR, O.. 1995. Bilgisayar istatistik ve Tıp. HYB Medikal Yayın Birimi (MEBAR). Ankara. 427-450.
62. HORNE, M.T., BARNES, A.C.. 1999. "Enteric Redmouth Disease" In: (ed. Woo, P.T.K., Bruno, D.W.) *Fish Diseases and Disorders*, Vol:3, Viral, Bacterial and Fungal Infections. CAB International: 455-477.
63. HORNE, M.T., ELLIS, A.E.. 1988. Strategies of Fish Vaccination. In: Ellis, A.E. (ed.) *Academic Press. Ltd. London* : 55-66.
64. JOHNSON, K.A., AMEND, D.F.. 1983a. Comparison of Efficacy of Several Delivery Methods Using *Yersinia ruckeri* Bacterin on Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Dis.*, 6: 331-336.
65. JOHNSON, K.A., AMEND, D.F.. 1983b. Efficacy of *Vibrio anguillarum* and *Yersinia ruckeri* Bacterins Applied by Oral and Anal Intubation of Salmonids. *J. Fish Dis.*, 6:473-476.
66. JOHNSON, K.A., FLYNN, J.K., AMEND, D.F.. 1982a. Duration of Immunity in Salmonids Vaccinated by Direct Immersion with *Yersinia ruckeri* and *Vibrio anguillarum* Bacterins. *J. Fish Dis.*, 5 : 207-213.
67. JOHNSON, K.A., FLYNN, J.K., AMEND, D.F.. 1982b. Onset of Immunity in Salmonid Fry Vaccinated by Direct Immersion in *Yersinia ruckeri* and *Vibrio anguillarum* Bacterins. *J. Fish Dis.*, 5 : 197-205.
68. KAWAHARA, E., KAWAI, K., KUSUDA, R.. 1989. Effectiveness of Chicken Secondary Antibody on the Indirect Fluorescent Antibody Technique for Identification of Yellowtail Pathogens. *Bulletin of Marine Science Fisheries, Kochi University*, 11:39-41.
69. KLESIUS, P.H., SHOEMAKER, C.A., EVANS, J.J.. 2000. Efficacy of Single and Combined *Streptococcus Iniae* Isolate Vaccine Administered by

Intraperitoneal and Intramuscular Routes in Tilapia (*Oreochromis Niloticus*).
Aquaculture 188: 237-246.

70. KUBİLAY, A., TİMUR, G.. 1997. Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Yersinia ruckeri* Bakterinine Karşı Antikor Üretiminin Aglutinasyon Yöntemleriyle Tespiti Üzerinde Bir Araştırma. IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. Eğirdir/Isparta.
71. KUSUDA, R.. 1990. Mariculture and Environment of Fish Farms. In Suisangaku Series. Koseisha Koseikaku, Tokyo : 79-88.
72. KUSUDA, R., KAWAHARA, E.. 1987. Direct and Indirect Fluorescent Antibody Identification of Yellowtail Pathogens. Nippon Suisan Gakkaishi, 53: 389-394.
73. KUSUDA, R., KAWAI, K., SALATI, F., BANNER, C.R. and FRYER, J.L.. 1991. *Enterococcus seriolicida* sp. Nov., a Fish Pathogen . Int. J. Syst. Bacteriol. 41 :406-409.
74. KUSUDA, R., KAWAI, K., SHIRAKAWA, T.. 1982. Serological Study of *Streptococcus* sp. Pathogenic to Cultured Yellowtail. Nippon Suisan Gakkaishi, 48, 1731-1738.
75. KUSUDA, R., KAWAI, K., TOYOSHIMA, T., KAMATSU, I.. 1976. A New Pathogenic Bacterium Belonging to the Genus *Streptococcus*, Isolated from an Epizootic of Cultured Yellowtail. Nippon Suisan Gakkaishi, 42, 1345-1352.
76. KUSUDA, R., KIMURA, H.. 1978. Studies on the Pathogenesis of Streptococcal Infection in Cultured Yellowtail *Seriola* spp.:the fate of *Streptococcus* sp. Bacteria After Inoculation. J. Fish Dis., 1:109-114.
77. KUSUDA, R., SALATI, F.. 1999. *Enterococcus seriolicida* and *Streptococcus iniae*. Fish Diseases and Disorders, vol 3, Viral, Bacterial and Fungal Infections, (eds. P.T.K. Woo and D.W. Bruno) : 303-317.
78. LESEL, R., LESEL, M., GAVINI, F., VUILLAUME, A.. 1983. Outbreak of Enteric Redmouth Disease in Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Richardson in France. Journal of Fish Diseases, 6: 385-387.

79. LLEWELLYN, L.C.. 1980. A Bacterium with Similarities to the Redmouth Bacterium and *Serratia liquifaciens* (Grimes and Hennerty) Causing Mortalities in Hatchery Reared Salmonids in Australia . J. Fish Dis., 3:29-39.
80. MICHEL, C., FAIVRE, B.. 1987. In vitro an in vivo Study of an Antimicrobial Activity Displayed by the Redmouth Disease Agent, *Yersinia ruckeri*. Annales Recherche Veterinaire., 18: 43-46.
81. MILLER, T.. 1983. Blood Coagulation in ERM Infected Trout: Role of Bacterial Endotoxine. In: Proceedings of the 8th Annual FHS / AFS Workshop Kearneysville, West Virginia, USA: 48.
82. O'LEARY, P.J.. 1977. Enteric Redmouth of Salmonids: A Biochemical and Serological Comparison of Selected Isolates. M. Sc. Thesis, Oregon State Univ., Corvallis, OR.: 93.
83. O'LEARY, P.J., ROHOVEC, J.S., FRYER, J.L.. 1979. A Further Characterization of *Yersinia ruckeri* (Enteric Redmouth Disease). Fish Pathol. 14, 2: 71-78.
84. O'LEARY, P.J., ROHOVEC, J.S., SANDERS, J.E., FRYER, J.L.. 1985. Serotypes of *Yersinia ruckeri* and Their Immunogenic Properties. Technical Paper No.6235, Oregon Aquacultural Experiment Station.
85. QUENTEL, C., ALDRIN, J.F.. 1986. Blood Changes in Catheterised Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) Intraperitoneally Inoculated with *Yersinia ruckeri*. Aquaculture. 53 : 169-185.
86. PALACÍOS, M.A., ZAMORA, M.J., VELAZQUES, J., ZAMORA, E., DURAN, A.. 1993. Streptococcosis in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Spain. Boll. Soc. Ital. Patol., 13:11-16.
87. PLUMB, J.A.. 1999. Health Maintenance and Principal Microbial Diseases of Cultured Fishes Iowa State University Press, Ames, Iowa: 328.
88. POST, G.. 1987. Bacterial Diseases of Fishes, Text Book of Fish Health, T.F.H. Publications : 47-51
89. RINTAMAKI, P., VOLTANEN, E.T., FRERICHS, G.N.. 1986. Occurrence of *Yersinia ruckeri* Infection in Farmed Whitefish, *Coregonus peled* Gmelin

- and C. muksun Pallas, and Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Northern Finland. Journal of Fish Diseases, 9:137-140.
90. ROBERTS, M.S.. 1983. A Report of an Epizootic in Hatchery Reared Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Richardson, at an English Trout Farm, Caused by *Yersinia ruckeri*. J. Fish Dis. 6: 551-552.
91. RODGERS, C.J.. 1991. The Usage of Vaccination and Antimicrobial Agents for Control of *Yersinia ruckeri*. Journal of Fish Diseases, 14 : 291-301.
92. RODGERS, C.J.. 1992. Development of a Selective-Differential Medium for the Isolation *Yersinia ruckeri* and its Application in Epidemiological Studies. Journal of Fish Diseases, 15: 243-254.
93. RODGERS, C.J.. 2001. Resistance of *Yersinia ruckeri* to Antimicrobial Agents in vitro. Aquaculture, 196: 325-345
94. RODGERS, C.J., AUSTIN, B.. 1982. Oxolinic Acid for the Control of Enteric Redmouth Disease in Rainbow Trout. Veterinary Record. 112, 83.
95. RODRIGUEZ, L.A., CASTILLO, A., GALLARDO, C.S., NIETO, T.P.. 1999. Outbreaks of *Yersinia ruckeri* in Rainbow Trout in North West of Spain Title. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 19, (3): 130-132.
96. ROMALDE, J.L., MAGARINOS, B., BARJA, J.L., TORANZO, A.E.. 1993. Antigenic and Molecular Characterization of *Yersinia ruckeri* Proposal for a New Intraspecies Classification. System. Appl. Microbiol. 16: 411-419.
97. ROMALDE, J.L., MAGARINOS, B., NUNEZ, S., BARJA, J.L., TORANZO, A.E.. 1996. Host Range Susceptibility of *Enterococcus* sp. Strains Isolated from Diseased Turbot: Possible Routes of Infection. Appl. Microbiol. 62, 2 : 607-611.
98. ROMALDE, J.L., TORANZO, A.E.. 1993. Pathological Activities of *Yersinia ruckeri*, the Enteric Redmouth (ERM) Bacterium. FEMS Microbiology Letters, 112 : 291-300.
99. ROSS, A.J., KLONTZ, G.W.. 1965. Oral Immunisation of Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) Against the Etiologic Agent of Redmouth Disease. J. Fish Res. Board. Can., 22 (3): 713-719.

100. ROSS, A.J., RUCKER, A.R., EWING, W.H.. 1966. Description of a Bacterium Associated with Redmouth Disease of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). Can. J. Microbiol., 12 : 763-770.
101. RUCKER, A.R.. 1966. Redmouth Disease of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). Bull. Off. Int. Epizoot., 65: 825-830.
102. SANTOS, Y., BANDIN, I., NIETO, T.P., BRUNO, D.W., ELLIS, A.E., TORANZO, A.E.. 1990. Comparison of the Cell Surface Hydrophobicity of Bacterial Fish Pathogens by Different Procedures. In: (Eds. Cheng, T.C., Perkins, F.O.) Pathology in Marine Science. Academic Press, New York. 101-115.
103. SANTOS, Y., ROMALDE, J.L., BANDIN, I., MAGARINOS, B., NUNEZ, S., BARJA, TORANZO, A.E.. 1993. Usefulness of the API-20E System for the Identification of Bacterial Fish Pathogens. Aquaculture, 116:111-120.
104. SAVAŞER, S.. 1997. Kızılbaş Hastalığı Etkeni *Yersinia ruckeri*'nin Kültürel Özellikleri Üzerine Bir Çalışma S.D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ür. Tem. Bil. Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi : 47.
105. SAVAŞER, S., DİLER, Ö.. 1997. Enterik Kızılbaş Hastalığı etkeni *Yersinia ruckeri* Suşlarının Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Bir Çalışma. Akdeniz Balıkçılık Kongresi, 9-11 Nisan, İzmir : 391-405.
106. SAVVİDİS, G.K.. 1990. First Isolation of *Yersinia ruckeri* from Rainbow Trout, *O. mykiss*, in Greece. Bulletin of the European Association of the Fish Pathologists., 10 :131-132.
107. SHOTTS, E.B., BULLOCK, G.L.. 1975. Bacterial Disease Fishes: Diagnostic Procedures for Gram-negative Pathogens. J. Fish. Res. Bd. Can. 32:1243-1247.
108. SOLTANI, M., FADAIIFARD, F., MEHRABI, M.R.. 1999. First Report of a Yersiniosis-like Infection in Iranian Farmed Rainbow Trout. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 19 (4): 173-176.
109. STEVENSON, R.M.W., AIRDRIE, D.W.. 1984a. Isolation of *Yersinia ruckeri* Bacteriophages. Appl. Environ. Microbiol., 47: 1201-1205.

110. STEVENSON, R.M.W., AIRDRIE, D.W.. 1984b. Serological Variation Among *Yersinia ruckeri* Strains. J. Fish Dis., 7: 247-254.
111. STEVENSON, R.M.W., DALY, J.G.. 1982. Biochemical and Serological Characteristics of Ontario Isolates of *Yersinia ruckeri*. Can. J. Fish Aquat. Sci. 39: 870- 876.
112. STEVENSON, R., FLETT, D., RAYMOND, B.T.. 1993. Enteric Redmouth (ERM) and Other Enterobacterial Infections of Fish pp.80-99 (Inglis, V., Roberts, R.J., Bromogo, N.R. Eds.) Bacterial Diseases of Fish, Blackwell Sciense Ltd., London.
113. TANRIKUL, T.T.. 1994. Yersinoz Hastalığından Korunmada Aşı Uygulamaları ve Bu Uygulamaların Sonuçlarının Değerlendirilmesi. Ege Üniv. Fen Bilimleri Enst. Su Ür. Anabilimdalı Doktora Tezi. s.95 Bornova/İzmir.
114. TANRIKUL, T.T., ÇAĞIRGAN, H., TOKŞEN, E.. 1996. Yersiniosis. Born. Vet. Kont. Araşt. Enst. Md. Derg. c.20 s.34: 112-115, İzmir.
115. TATNER, M.F., HORNE, M.T.. 1985. The Effects of Vaccine Dilution, Length of Immersiyon Time, and Booster Vaccinations on the Protection Levels Induced by Direct Immersion Vaccination of Brown Trout, *Salmon trutta*, with *Yersinia ruckeri* (ERM) Vaccine. Aquaculture, 46: 11-18.
116. TEBBIT, G.L., ERICKSON, J.D., VANDEWATER, R.B.. 1981. Development and Use of *Yersinia ruckeri* Vaccines to Control Enteric Redmouth Disease In: Anderson, D.P. and Hennessen, W. (ed.). Proceeding of the International Symposium on Fish Biologics: Serodiagnostics and Vaccines, National Fish Health Research Laboratory, Kearneysville, 26-30 April 1981: 395-401.
117. TİMUR, G., TİMUR, M.. 1991. An Outbreak of Enteric Redmouth Disease in Farmed Rainbow Trout (*O. mykiss*) in Turkey. Bull. Eur. Ass. Path. Vol. II, No:5: 182-183.
118. TORANZO, A.E., DEVESA, S., HEINEN, P., RIOZA, A., NUNEZ, S., BARJA J.L.. 1994. Streptococcosis in Cultured Turbot Caused by an Enterococcus-like Bacterium. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. 14:19-23.

119. TORANZO, A.E., DEVESA, S., ROMALDE, J.L., LAMAS, J., RIAZA, A., LEIRO, J., BARJA, J.L.. 1995. Efficacy of Intraperitoneal and Immersion Vaccination Against *Enterococcus* sp. Infection in Turbot. *Aquaculture*. 134 : 17-27.
120. VALTONEN, E.T., RINTAMAKI, P., KOSKIVAARA, M.. 1992. Occurrence and Pathogenicity of *Yersinia ruckeri* at Fish Farms in Northern and Central Finland. *Journal of Fish Diseases*, 15: 163-171.
121. VUILLAUME, A., BRUN, R., CHENE, P., LESEL, R.. 1987. First Isolation of *Yersinia ruckeri* from Sturgeon, *Acipenser baeri* Brandt, in South West of France. *Bulletin of the European Association of the Fish Pathologists.*, 7 :18-19.
122. WALLTMAN, W.D., SHOTTS, E.B.. 1984. A Medium for the Isolation and Differentiation of *Yersinia ruckeri*. *Canadian Journal of the Fisheries and Aquatic Sciences*, 41: 804-806.
123. WASTESON, U., HVAAL, A.B., SØRUM, H., MYHR, E. and FOSSUM, K.. 1989. Antibacterial Spectrum and Some Other Characteristics of an Antimicrobial Factor Produced by *Yersinia ruckeri*. *Acta Vet. Scand.*, 30: 253-257.
124. WILLUMSEN, B.. 1989. Birds and Wild Fish as Potential Vectors of *Yersinia ruckeri*. *Journal of Fish Diseases*, 12: 275-277.
125. WOBESER, G.. 1973. An Outbreak of Redmouth Disease in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) in Saskatchewan. *J. Fish Res. Bd. Canada*, 30: 571-575.
126. WRATMEL, A.B., BARTON, R.N., MORRIS, J.E., JENKINS, P.G., DOGGET, T.A.. 1989. Systemic and Sectors Immun Response of Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* to *Yersinia ruckeri*. IV. International Conference of EAFP, Disease of Fish and Shellfish, 24-28 September, 1989. Spain, Book of Abstract : 67.

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında İzmir’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimlerini İzmir’de tamamladı. 1993 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ni kazandı ve 1998 yılı Haziran ayında mezun oldu. 2 yıl İzmir’de küçük hayvan kliniğinde çalıştıktan sonra 2000 yılı Eylül ayında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda doktora yapmaya hak kazandı. 2001 yılında Araştırma Görevlisi kadrosuna atandı.

Yabancı dili ingilizce olup, evli ve bir çocuk annesidir.