



**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
VFT-YL-2007-0001**

**GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*)
SIK GÖRÜLEN PATOJEN MİKROORGANİZMALARIN
TESPİTİ VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIK
DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

Araş. Gör. Dilek AKŞİT

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Cavit KUM**

AYDIN - 2007

ÖNSÖZ

Günümüzde nüfus yoğunluğunun artmasına bağlı olarak azalan tarım alanları, ekonomik koşullar ve gıda yetersizlikleri gibi birçok nedenlerden dolayı beyaz et tüketimi gittikçe artış göstermiştir. Özellikle bedensel ve zihinsel gelişim açısından önemli olan yüksek kaliteli protein açığı ve doğal kaynakların ihtiyaçları karşılayacak yeterlilikte olmaması nedeniyle intensif balık yetiştiriciliğinde de hızlı bir gelişme sağlanmıştır. Doğal olarak daha yüksek yoğunlukta yetiştirme, su kalitesinde azalma, yetersiz diyet, manipulasyonlar gibi nedenler de hastalık problemlerini yoğun olarak ortaya çıkarmaktadır. Çeşitli nedenlerle ortaya çıkan bu hastalıklarla etkin bir şekilde mücadelede sınırlı da olsa antibakteriyel ilaç uygulamalarının göz ardı edilemeyeceği bir gerçektir. Zaman içinde bakteriyel patojenlerin antibakteriyellere karşı farklı duyarlılık düzeyleri göstermesi, değişken coğrafik özelliklere sahip bölgelerde doğru teşhis ve gerekli olduğu zaman ilaç uygulanması, koruyucu önlem stratejileri ile hastalıkla etkili bir mücadele için standart pratik uygulamalar geliştirilmesinin önemi bir kez daha ön plana çıkarmıştır.

Bunun için çalışmamız alabalıklarda etken izolasyonu ve bu etkenlerin çeşitli antibakteriyellere karşı gösterdikleri duyarlılık düzeylerinin belirlenerek bilinçsiz ve yüksek dozda antibakteriyel kullanımını engellemek ve bilinçsiz antibakteriyel kullanımına bağlı problemler (kalıntı, direnç, üretim maliyeti gibi) hakkında fikir edinebilmek adına oldukça önemlidir.

Bu çalışma “Gökkuşáğı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Sık Görülen Patojen Mikroorganizmaların Tespiti ve Antibiyotik Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi” isimli ve VTF-06017 kodlu proje olarak **Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi** tarafından desteklenerek gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY SAYFASI	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
RESİMLER DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ	1
1. 1. Vibriosis (Kızıl Hastalığı).....	4
1. 2. Furunkulozis (Balıkların Ülseratif Hastalığı).....	6
1. 3. Streptokokkozis.....	8
1. 4. Yersiniozis (Enterik Kızıl Ağız Hastalığı).....	10
1. 5. Bakteriyel Balık Hastalıklarında Antibakteriyel İlaç Kullanımı ve Önemi	12
2. GEREÇ VE YÖNTEM	16
2.1. Gereç	16
2. 1. 1. Besiyerleri.....	16
2. 1. 1. 1. İzolasyon Besiyerleri.....	16
2. 1. 1. 2. İdentifikasyon Besiyerleri.....	17
2. 1. 1. 3. Ayıraçlar.....	18
2. 1. 1. 4. Boyalar.....	19
2. 1. 1. 5. Tanı Diskleri.....	19
2. 1. 1. 6. Kullanılan Cihazlar.....	20
2. 2. Yöntemler.....	20
2. 2. 1. Bakteri İzolasyonu	20
2. 2. 2. Bakteri İdentifikasyonu.....	20
2. 2. 2. 1. Gram Boyama.....	21
2. 2. 2. 2. Katalaz Testi.....	21
2. 2. 2. 3. Oksidaz Testi.....	21
2. 2. 2. 4. Glikoz, Lactoz, Gaz, Hidrojen sülfid (H ₂ S) Testi.....	21
2. 2. 2. 5. Mannitol ve Hareket Testi.....	21
2. 2. 2. 6. Üreaz (Üre hidrolizi) ve İndol Testi.....	22

2. 2. 2. 7. Nitrat Testi.....	22
2. 2. 2. 8. Simmons Sitrat Testi.....	22
2. 2. 2. 9. Oksidasyon/Fermentasyon (O/F) Testi.....	22
2. 2. 2. 10. Metil Red-Voges Proskauer Testi (MRVP).....	23
2. 2. 2. 11. Jelatin Hidrolizi (Jelatinaz Üretimi).....	23
2. 2. 2. 12. Tryptic Soy Agarda 30 ve 37 °C’de Üreme.....	23
2. 2. 2. 13. Vibriostat Duyarlık Testi.....	24
2. 2. 3. Antibakteriyel Duyarlılığın Belirlenmesi.....	24
3. BULGULAR.....	25
3. 1. Bakteri Suşlarına Ait Fenotipik ve Biyokimyasal Testler.....	25
3. 2. Bakteri Suşlarının Antibakteriyel Duyarlılık Dereceleri.....	28
4. TARTIŞMA	32
5. SONUÇ	39
ÖZET	40
SUMMARY	42
KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	55
TEŞEKKÜR	56

ÇİZELGELER

		Sayfa
Çizelge 1.1.	Türkiye su potansiyeli	2
Çizelge 1.2.	Türkiye'deki alabalık yetiştiriciliğinde yıllara göre üretim dağılımı	2
Çizelge 1.5.1.	Su ürünlerinde standart kontrolü yapılacak antibakteriyeller ve bunlara ilişkin değerler	13
Çizelge 1.5.2.	Su ürünleri yetiştiriciliğinde 31.12.2003 tarihinden itibaren kullanımı Bakanlıktan ruhsat alımına ve reçeteye tabii antibakteriyeller ve bunlara ilişkin değerler	13
Çizelge 3.1.1.	İzole edilen bakteri suşlarının fenotipik ve biyokimyasal özellikleri	26
Çizelge 3.1.2.	Aylara göre su sıcaklık değerleri ile izole edilen mikroorganizma ve örnek sayıları	27
Çizelge 3.1.3.	İzole edilen mikroorganizmaların toplam sayıları ve yüzde değerleri	27
Çizelge 3.2.1.	Gram pozitif ve Gram negatif mikroorganizmalara ait National Committee for Clinical Laboratory Standards'ın (NCCLS) belirttiği zon çapları	29
Çizelge 3.2.2.	İzole edilen mikroorganizmaların antibakteriyellere karşı oluşturdukları duyarlılık dereceleri	30
Çizelge 3.2.3.	İzole edilen mikroorganizmaların antibakteriyellere karşı oluşturdukları duyarlılık derecelerinin yüzde değerleri	30

RESİMLER

		Sayfa
Resim 1.1.1.	<i>Vibrio anguillarum</i> 'un agar üzerindeki morfolojik görüntüsü	5
Resim 1.1.2.	Vibrioziste hemorojik ve şişkin karaciğer görüntüsü	5
Resim 1.2.1.	<i>A. salmonicida</i> 'nın agardaki kahverengi koloni görüntüsü	8
Resim 1.2.2.	Furunkuloziste iç organ görüntüsü	8
Resim 1.4.1.	<i>Y. ruckeri</i> etkeninin agardaki morfolojik görünümü	11
Resim 1.4.2.	<i>Y. ruckeri</i> enfeksiyonunun balıklardaki makroskopik görünümü	11
Resim 3.1.1.	Hastalıklı balıkların makroskopik görünümü	25
Resim 3.1.2.	Katalaz testinde meydana gelen gaz oluşumu	26
Resim 3.1.3.	Oksidaz test kiti ve oksidaz pozitifte renk oluşumu	26
Resim 3.2.1.	<i>Y. ruckeri</i> 'nin antibakteriyellere karşı oluşturdukları zon çapları	30
Resim 3.2.2.	<i>A. salmonicida</i> 'nın antibakteriyellere karşı oluşturdukları zon çapları	30

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun sürekli olarak artışı açlık tehlikesini de beraberinde getirmektedir. Dolayısıyla ülkeler besin üretimini arttırmak için entansif işletmeler kurmakta, geliştirmekte ve birim alandan maksimum ürün elde etme çalışmalarını hızla sürdürmektedirler. Ülkemizin genel itibarıyla çoğu bölgesi iklimsel, ekolojik ve teknik özellikleri bakımından balık üretimi açısından büyük bir potansiyele sahip olmasından dolayı çeşitli üretim alanlarını geliştirme kapsamında alabalık üretimine büyük önem verilmeye çalışılmaktadır (Akbulut ve Keten 2001, Aydın ve ark 2006).

Su ürünleri yetiştiriciliği, dünya besin gereksiniminin önemli bir kısmını karşılayan temel bir endüstri olmakla birlikte Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization, FAO) (1997) tarafından dünyada en hızlı büyüyen gıda sektörü olarak belirlenmiştir. Su ürünleri yetiştiriciliği, dünya balıkçılık üretiminin yaklaşık % 30'unu karşılamakta (Davenport ve ark 2003) ve yılda % 10'dan daha fazla artarak büyümektedir. Dünyada yetiştiricilikle üretilen su ürünleri miktarı 1980'de 7 400 000 ton iken 1990'da 16 800 000 tona ve 2002 yılında 40 000 000 tona ulaşmıştır. Ülkemizde avcılık yoluyla elde edilen su ürünleri miktarı 500 000 ton civarında hemen hemen sabit iken, yetiştiricilik yoluyla elde edilen miktar ise önemli ölçüde artış göstererek 2003 yılında 80 000 tona ve 2005 yılında ise 110 000 tona yükselmiştir (Savaş ve ark 2006, TÜGEM 2004).

Türkiye üretim miktarı dikkate alındığında, Avrupa Birliği ülkeleri arasında 7. sırada yer almaktadır. Fakat kişi başı su ürünleri tüketimi açısından 8 - 10 kg ile son sıralarda bulunmaktadır (Aydın ve ark 2006).

Türkiye iç su kaynakları ve denizleri yaklaşık 25 000 000 hektar yüzey alanı ile (Çizelge 1.1.) büyük bir yetiştiricilik potansiyeline sahiptir ve 2005 yılında yapılan

yetiştiricilik üretiminin 48 000 tonu iç sularda 1 249 tonu ise denizlerde gerçekleştirilmiştir (Çizelge 1.2.) (Aydın ve ark 2006, TÜGEM 2006).

Çizelge 1.1. Türkiye su potansiyeli (Aydın ve ark 2006).

Üretim alanı	Adet	Uzunluk (km)	Alan (ha)
Göl	200	-	906118
Baraj gölü	206	-	342377
Gölet	953	-	15500
Akarsular	33	177714	-
Denizler	-	8333	24607200
Toplam alan	1392	186047	25871195

Son yıllarda iç sularda alabalık yetiştiriciliği ağırlık kazanmış ve 2003 yılı verilerine göre 1215 alabalık işletmesi kurularak yetiştiricilikteki toplam iç su üretimi giderek artmaktadır. 2004 yılında ise yetiştiricilik yapılan toplam tesis sayısı 1659'a yükselmiştir. Yetiştiriciliğin toplam su ürünleri üretimindeki payı ise yaklaşık olarak toplam üretimin % 10'una ulaşmış (Aydın ve ark 2006) ve alabalık yetiştiriciliğinin yıllara göre üretim dağılımı ise giderek artış göstermiştir (TÜGEM 2006).

Çizelge 1.2. Türkiye'deki alabalık yetiştiriciliğinde yıllara göre üretim dağılımı (TÜGEM 2006)

Balık türü	Yıllar (ton)						
	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Alabalık (iç su)	36 870	42 572	36 827	33 707	39 674	43 432	48 033
Alabalık (deniz)	1 700	1 961	1 240	846	1 194	1 650	1 249

Tüm çevrede olduğu gibi sularda da meydana gelen kirlilik beraberinde balık yetiştiriciliği ile ilgili birçok sorunu gündeme getirmiştir. Su kaynaklarının kirlenmesi ile birlikte bakteriyel kökenli balık hastalıkları ekonomik kayıpların önemli bir nedeni oluşturmaktadır. Yakın geçmişe kadar balıklar için 15 – 20 bakteri türü patojenik etki gösterirken (Munro 1982), son yıllarda enfekte olmuş balıklarda 70'e yakın bakteri türü izole edilmiştir (Austin ve Austin 1993). Ülkemizde de yaygın olarak kültürü yapılan gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) farklı coğrafik bölgelerde enfeksiyona neden olan bakteriyel patojenlerin çeşitliliği yoğun olarak araştırılmış ve değerlendirilmiştir (Aydın ve ark 1997, Aydın ve ark 2001, Balta 1997, Diler ve ark 2000a,

Diler ve ark 2000b, İspir ve ark 2004, Karataş ve Candan 1997, Kum ve ark 2004, Timur ve ark 1996).

Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de alabalık üretimi yapılan işletmelerde oldukça sık rastlanan başlıca patojen bakteriyel etkenler (*Aeromonas spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Flexibacter spp.*, *Vibrio spp.*, *Yersinia spp.*, *Renibacterium spp.*, *Streptococcus spp.*, gibi) rapor edilmekle birlikte son yıllarda Gram pozitif kokların sporadik ve endemik olarak yayıldığı ve bunlardan altı farklı türün (*Streptococcus parauberis*, *Streptococcus diffcile*, *Streptococcus iniae*, *Vagococcus salmoninarum*, *Lactococcus piscium* ve *Lactococcus garvieae*) balık hastalıkları ile ilişkisi olduğu belirtilmiştir (Kum ve ark 2004, Supriyadi ve Rukyani 1992).

Bakteriyel balık hastalıklarında immunostimulan, probiyotik veya aşılama gibi ajanlarla sağaltım seçenekleri günümüzde hem beşeri hem de veteriner hekimlikte çoğu bakteriyel enfeksiyonların kontrolü için seçilen yöntemler olarak gösterilmektedir (Baker ve ark 1998, Sarma 2002, Schwarz ve Noble 1999, Sinha ve ark 2004). Antibakteriyel ajanlar insan ve hayvan enfeksiyonlarının kontrol ve önlenmesi için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır, fakat bazı çalışmalar göstermektedir ki bu etmenlerin aşırı kullanımı antibakteriyel dirençli bakteriyel popülasyonların ortaya çıkmasına katkıda bulunmaktadır (Gordon ve ark. 2006, Hirsch ve ark 1999). Yoğun balık yetiştiriciliği ile birlikte aquatik bakterilerdeki antibakteriyel direncinin artması, sağaltımda farklı antibakteriyel kullanımının yaygınlaşmasına ve bakteriyel hastalık problemlerinin artmasına neden olmuştur (Ko ve ark 1996, Mirand ve Zemelman 2002, Schwarz ve Noble 1999, Vivekanandhan ve ark 2002). Bununla birlikte balıklarda gözlenen hastalıklar da (paraziter, bakteriyel, viral, beslenme, stres gibi) artarak büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Balık yetiştiriciliğinin giderek yetiştirme endüstrisine dönüşmesi balık enfeksiyonlarının kontrol problemlerini de artırmaktadır (Al-Harbi ve Ahmed 1994). Giderek artan deniz ve göl kültür balıkçılığına paralel olarak akarsularda alabalık yetiştiriciliğinde de oldukça ümit verici artışlar gözlenmektedir. Özellikle balıkların içinde bulundukları ortam nedeniyle bakteriyel hastalıklar ve bunların etkin bir şekilde sağaltımı büyük önem taşımaktadır (Kum ve ark 2004).

Antibakteriyel ajan kalıntıları ve antibakteriyel dirençli bakteriler bugün özellikle yeraltı suları ile ortamda bulunabilmektedir. Yoğunluklarına bağlı olarak antibakteriyeller seçici bir baskı oluşturmakta ve böylece aquatik bakteriler arasında direncin yayılmasına

sebepe olabilmektedir. Önlem stratejilerine rağmen (aşılama, genel çiftlik hijyeni, zooteknik ölçümler) antibakteriyel ajanların halen geniş bir biçimde kullanıldığı kanıtlanmıştır (Gordon ve ark 2006). Aquakültürdeki normal sağaltım uygulamaları, çevresel bakteriler ve balık patojenlerindeki antibakteriyel direncin artışına yol açabileceğini göstermektedir (Alderman ve Hastings 1998).

Bakteriyel balık hastalıklarında öncelikli olarak kinolon (oksolinik asit, flumequin gibi), tetrasiklin (oksitetrasiklin gibi) yada sulfadiazin-diaminoprimidin grubu (sulfadiazin-trimetoprim gibi) ilaçlarla tedavi edilmektedir. Fenikol grubundan olan florfenikol ise son zamanlarda daha fazla ve spesifik olarak *Aeromonas salmonicida* tarafından oluşturulan furunkulozisin ve *Flavobacterium psychrophilum* tarafından oluşturulan gökkuşağı alabalığı fry sendromu [Rainbow Trout Fry Syndrome (RTFS)] hastalıklarının sağaltımında kullanılmaktadır (Rangdale ve ark 1997, Samuelsen ve ark 1998). Hastalıkların ortaya çıkması ile ölen balıklar için yapılan yatırım, sağaltım giderleri ve iyileşme döneminde görülen yavaş büyüme üretim maliyetlerini arttırdığından, son yıllarda ülkemizde yoğun olarak görülen *A. salmonicida*, *Vibrio anguillarum*, *L. garvieae* ve *Yersinia ruckeri* tarafından oluşturulan enfeksiyonlar ciddi ekonomik kayıplara yol açmakta ve alabalık işletmelerinin en önemli sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır (Arda ve ark 2002, Demircan ve Candan 2006, Guz ve Kozinska 2004, Kum ve ark 2004). Sağaltım maliyetinin yüksek olması, bilinçsiz antibakteriyel kullanımının patojenik ve nonpatojenik mikroorganizmalara karşı direnç oluşumuna neden olması ve bu durumda insan ve hayvan sağlığını tehdit etmesi gibi nedenlerden dolayı çalışmaların hastalığın tedavisinden ziyade daha çok hastalıktan korunma üzerinde yoğunlaştığı da bir gerçektir.

1. 1. Vibriozis (Kızıl Hastalığı)

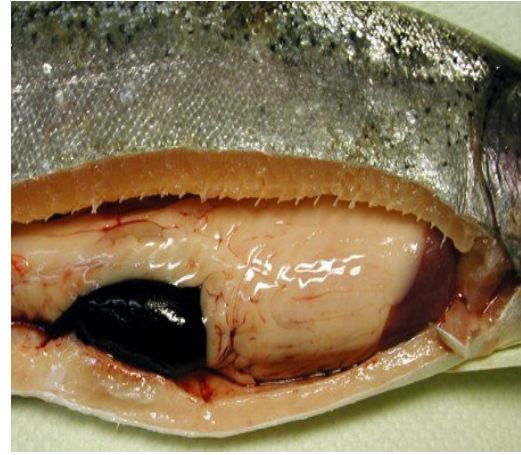
Vibriozis, *V. anguillarum*'un neden olduğu en önemli bakteriyel enfeksiyonlardan bir tanesi olup, tatlısu balıklarında hastalık sebebi olarak bildirilmektedir (Arda ve ark 2002, Demircan ve Candan 2006, Evelyn 1971, Reed ve Francis-Floyd 1996, Woo ve Bruno 2003).

Hastalığın spesifik etkeni olarak tanımlanan *V. anguillarum* Vibrinocea familyasında vibrio cinsinde yer alan türlerden birisidir (Resim 1.1.1.). Mikroorganizma genellikle düz veya virgül biçiminde, Gram negatif, hareketli, sporsuz, kapsülsüz, aerobik veya fakültatif

anaerobik bir özelliğe sahiptir (Arda ve ark 2002). *Vibrio* infeksiyonu balıklar yoğun bir şekilde stoklandığında hızlı bir şekilde yayılabilir ve kar amaçlı sistemlerde etkilenen tesislerde % 100'e varan morbiditeye, salgınlar ilerlediğinde ise % 50'yi aşan önemli ölümlere sebep olabilmektedir (Reed ve Francis-Floyd 1996). *V. anguillarum* ve yakın ilişkili bakteri türleri yaygın olarak ırmak ağızlarında ve kıyı liman doğal ortamlarında ve farklı çevresel kaynaklardan kolaylıkla izole edilebilmektedir (Larsen 1982, Larsen ve ark 1988, Roberts 1989, West ve ark 1983, West ve ark 1986). Bakteri aynı zamanda sağlıklı su balıklarının normal mikroflorasının bir parçasını oluşturabilmektedir (Colwell ve Grimes 1984, Larsen ve ark 1988).



Resim 1.1.1. *Vibrio anguillarum*'un agar üzerindeki morfolojik görüntüsü (Salmon Research at Bodega Marine Laboratory 2007)



Resim 1.1.2. Vibrioziste hemorajik ve şişkin karaciğer görüntüsü (Kalaterveytta 2007a)

İnfeksiyon daha ziyade suların uygun fiziksel, kimyasal ve biyolojik parametrelerinin değişmesi, balık populasyonlarının normal limitlerin üzerinde bulunması ve diğer stres faktörlerinin fazla etkili olduğu durumlarda ortaya çıkmakta ve kolayca yayılabilmektedir. Ayrıca su sıcaklığının yükselmesi ($> 20^{\circ}\text{C}$), balıkların yaşı ve türünün de etkisinin bulunduğu belirtilmektedir. Dışarıdan getirilerek karantinaya alınmadan havuzlara konan balıklar, hastalıktan şüpheliler, portör, hasta, asemptomatik veya ölmüş balıkların da infeksiyon için çok tehlikeli kaynak oluşturabileceği vurgulanmaktadır (Arda ve ark 2002).

Mikroorganizma balıklara deriden, sindirim sisteminden ve solungaçlardaki açık bölgelerden girmektedir. Hastalığın inkubasyon süresi doğal koşullar altında 7 - 10 gün olup klinik belirtileri balıklardaki diğer pek çok bakteriyel hastalığa benzerlik gösterebilmektedir. Hastalık genellikle letarji, iştah kaybı, suyun yüzeyine yakın bulunma veya yüzeysel yüzme ile başlar, hemorojiler ve şişkin karaciğer dokusunun geliştiği (Resim 1.1.2.) ilerlediğinde deride matlık, kırmızı ve ölü (nekrotik) alanların şekillendiği, oluşan lekelerin (erytema) yüzgeç ve ağız çevresinde yaygınlık gösterdiği dikkati çeker. Hastalık sistemik seyrettiğinde ekzoftalminin geliştiği, bağırsak ve rektumun kanlandığı ve sıvıyla dolduğu görülür (Arda ve ark 2002, Reed ve Francis-Floyd 1996); ancak, kesin teşhis bakteri izolasyonu ve identifikasyonu ile gerçekleştirilebilir (Reed ve Francis-Floyd 1996).

Hastalığın sağaltımında bazen kötü su kalitesi gibi elverişsiz şartların ortadan kaldırılması bile tüm enfeksiyonun kontrolü için gerekli olsa da aktif *Vibrio* salgınlarının sağaltımı ve kontrolü antibakteriyel, antiseptik ve dezenfektan sağaltımını gerektirmektedir. Ancak antibakteriyel seçimi ve kullanımının invitro duyarlılık testlerinin sonuçlarına dayanarak yapılması tavsiye edilmektedir (Reed ve Francis-Floyd 1996).

1. 2. Furunkulozis (Balıkların Ülseratif Hastalığı)

Furunkulozisin etkeni olan *A. salmonicida* salmonidlerde önemli bir patojen (Reed ve Francis-Floyd 1996) olmakla birlikte, tüm aquatik çevrelerde geniş ve yaygın olarak bulunabilmektedir (Guz ve Kozinska 2004). *A. salmonicida* Aeromonas ailesinin en fazla tanınan üyesidir.

Taksonomik olarak Aeromonas spp. hareketli ve hareketsiz olarak iki farklı grupta tanımlanmıştır. Hareketsiz sınıfı kapsayan *A. salmonicida* ekonomik olarak kültür balıklarında yok edici etkisinden dolayı değerli salmonidlerde önemli balık patojenleri arasında yer alır (Resim 1.2.1.) (Austin ve Austin 1993).

Normal koşullar altında *A. salmonicida*'nın tipik türleri tarafından oluşturulan klasik furunkuloz olgularında patojen bakteriler özellikle lezyon yüzeylerinden ve böbreklerden selektif olmayan bakteriyolojik agar ortamları kullanılarak izole edilebilir (Austin ve Austin 1993).

A. salmonicida kısa (1-2 x 0.8 µm), Gram negatif, fakültatif anaerobik, oksidaz pozitif, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz ve çubuk şeklinde mikroorganizmalardır (Arda ve ark 2002, Chapman ve ark 1991). Uygun olmayan çevresel koşullar, suyun biyotik (bakteri, mantar, virüs, parazit, alg vb) ve abiyotik (fiziksel, kimyasal kalitesinde değişiklik) özelliklerinin optimal koşullardan uzaklaşması, populasyon sıklığı, bakım-besleme düzensizliği ve noksanlığı, yem kalitesinin bozulması, nakiller, havuzlara dışarıdan kontrolsüz balık konulması, havuzlarda aktarmalı su kullanılması, bakıcıların bilgi ve deneyim noksanlıkları ve ihmalleri, havuzlarda hasta ve hasta görünümlü, portör, asemptomatik, kronik, gizli enfekte ve ölü hayvanların bulunması, mikroplu yemler ve diğer olumsuz faktörler hastalıkların çıkış ve yayılışında büyük rollere sahiptirler (Arda ve ark 2002).

Kalabalık havuzlarda yaralanma ve direkt temas nedeniyle bulaşmalar ve hastalığın yayılması daha hızlı olabilmektedir. Balıklarda bulaşma daha çok mikropla kontamine yem ve suların alınması, deride ve solungaçlardaki lezyonlardan veya infekte yumurta yada yumurta yüzeyine bulaşan mikroorganizmalarla meydana gelebilmektedir (Arda ve ark 2002, Woo ve Bruno 2003).

Normal (optimal) koşullarda inkübasyon süresi, etkenin virülensine, giriş yolu ve miktarına, balıkların yaşı ve türüne bağlı olarak 7 - 10 gün arasında değişmekle birlikte su sıcaklığının 20 °C'nin üzerine çıkması, oksijen miktarının 6 mg/l'tnin altına inmesi, balıklarda akut streslere yol açarak hastalık için hazırlayıcı neden oluşturabileceği vurgulanmaktadır (Arda ve ark 2002).

Furunkulozis balıklarda akut ve kronik bir seyir gösterse de subakut ve asemptomatik formlara da rastlanılmaktadır. Akut form genellikle genç balıkları hastalığı tanımlayacak klinik belirtiler oluşmadan öldürmektedir; ancak, bazı olgularda yüzgeçlerin tabanında vücudun yanlarında subkutan dokularda ve kaslarda nokta veya yaygın tarzda kanamalara rastlanabilmektedir. Subakut ve kronik formda hastalık belirtileri tam olarak oluşmakta ve enfeksiyonun tanımlanmasına yardımcı olabilmektedir (Resim 1.2.2.). Özellikle vücutta meydana gelen furunkeller (kan çıbanları) ve oluşan ülserasyon alanları gözlemlenebilmektedir. Zamanla bu ülserler birbirleriyle birleşip genişleyebileceği gibi kendiliğinden iyileşebilir ve yerlerinde koyu renkli bir skatriks alanı bırakırlar. Hasta balıklar durgun, iştahsız ve yavaş yüzerler. İleri olgularda, deri renginde koyulaşma ve ekzoftalmus gözlemlenebilir. Asemptomatik formlarda ise klinik belirti ve ölümlere

rastlanmaz. Ancak; bu grup balıklar portör kaynağı oluşturdıklarından hem diğer sağlıklı balıklar için hem de işletmenin geleceği açısından tehlike oluşturabilecekleri belirtilmektedir (Arda ve ark 2002).



Resim 1.2.1. *A. salmonicida*'nın agardaki kahverengi koloni görüntüsü (TAGC 2007)



Resim 1.2.2. Furunkuloziste iç organ görüntüsü (Ellard 2007)

1. 3. Streptokokkozis

Aquakültürün kuvvetlenmesinin bir sonucu olarak geçen on yılda, sayısı artan streptokokkal enfeksiyonlar balık çiftliği endüstrisinde önemli ekonomik kayıplara neden olmuştur (Baeck ve ark 2006, Eldar ve Ghittino 1999, Mata ve ark 2004). Taksonomik çalışmalar Gram pozitif kokların en az altı farklı türünün (*Streptococcus parauberis*, *S. iniae*, *S. diffcile*, *Lactococcus piscium*, *L. garvieae* (sinonim *Enterococcus seriolocida*) ve *Vagococcus salmoninarum*) olduğunu, bu türlerin balık hastalıkları ile ilişkili olduğunu işaret etmektedir (Bercovier ve ark 1997, Eldar ve ark 1999, Mata ve ark 2004, Muzquiz ve ark 1999, Williams ve ark 1990). *L. piscium*, *V. salmoninarum* ve *C. piscicola* tarafından oluşturulan enfeksiyonlar genellikle su sıcaklıklarının 15 °C'nin altında olduğunda meydana gelir ve Soğuk Su Streptokokkozisi olarak adlandırılır. Diğer taraftan su sıcaklıklarının 15 °C'nin üzerine çıktığında ise *L. garvieae*, *S. parauberis*, *S. iniae* ve *S. diffcile* Ilık Su Streptokokkozisi olarak tanımlanır (Baeck ve ark 2006, Mata ve ark 2004, Muzquiz ve ark 1999). *L. garvieae* tarafından oluşturulan streptokokkozis ise daha çok tatlı suda üretilen gökkuşağı alabalıklarında rapor edilmiştir (Eldar ve ark 1996). *L. garvieae* (sinonim *E. seriolocida*) oldukça farklı çevrelerdeki balık türleri arasında yaşayan ölümcül

septisemiye neden olan başlıca balık patojeni olup aynı zamanda insanlardan da izole edilmesi bu bakterinin önemini işaret etmektedir (Eldar ve ark 1999).

Gram pozitif kokların neden olduğu balık hastalıklarının varlığı Japonya'da yaklaşık elli yıldır bildirilmekte (Eyngor ve ark 2004) fakat *L. garvieae* ve enfekte balıklar arasındaki ortaklık sadece 1991'de tanımlanabilmiştir. 1970'lerde Japonya'da hasta balıklardan toplanmış türler analiz edilmiş ve *E. seriolocida sp.* olarak yanlışlıkla tanımlanmıştır (Eyngor ve ark 2004, Kusuda ve ark 1991). Aslında sonradan ortaya çıkan çalışmalar göstermiştir ki *E. seriolocida L. garvieae*'nin kıldemsiz bir benzeridir (Domonech ve ark 1993, Eldar ve ark 1996, Eyngor ve ark 2004). Bu patojen ve bununla ilgili olan hastalık 1970 ve 1980'lerde Avrupa aquakültüründe tanımlanmış ve Akdeniz ülkeleri boyunca *L. garvieae*'nin yayılması hızlanarak İspanya (Domonech ve ark 1993, Eyngor ve ark 2004), İtalya (Eyngor ve ark 2004, Ghittino ve Prearo 1992), Portekiz (Eyngor ve ark 2004, Ravelo ve ark 2003) ve Türkiye (Diler ve ark 2002, Eyngor ve ark 2004) gibi ülkeleri de içine alan Avrupa kıtasının güney parçası boyunca yayılma göstermiştir.

İnfeksiyona çeşitli balık türlerinde sporadik olgular halinde rastlanmakta ve hastalığın çıkışında, balıkların duyarlılıkları yanı sıra mikroorganizmaların patojenitesi ve olumsuz çevresel koşulların etkisinin oldukça büyük olduğu belirtilmektedir. Özellikle su sıcaklığının 20 °C'nin üstünde olduğu durumlarda infeksiyon daha fazla yayılım gösterebilmektedir (Arda ve ark 2002).

Streptokokkozis çeşitli balık türlerinde (alabalık, sazan ve tilapia gibi) deride kararma, bilateral ve ünilateral ekzoftalmus, korneal opasite, operkulumlarda ve yüzgeçlerin tabanında hemorajiler, hemorajik septisemi, asites, bağırsak, dalak, karaciğer, böbrek ve beyinde konjesyon, hemorajik enteritis ve vücut yüzeyinde değişik büyüklükte lezyonlar ve ülserasyonlarla karakterize sporadik bakteriyel bir infeksiyon olarak tanımlanmaktadır (Arda ve ark 2002, Cagırgan ve Tanrıkul 1995, Diler ve ark 2002, Domonech ve ark 1993, Salati ve ark 1996).

Patojenin hızlı bir şekilde yayılması kontamine sularla horizontal bulaşmaya ek olarak asemptomatik taşınması veya enfekte balıkların hareketleri boyunca direk olarak bu patojenin taşınmasının bir sonucu olduğu vurgulanmaktadır (Eyngor ve ark 2004, Muzquiz ve ark 1999, Vela ve ark 2000).

Streptokokkozisin varsayımı dayanan teşhisi internal organlarda Gram pozitif izolasyonu içeren klinik görünüşe dayansa da kesin teşhisi hasta balıkların mikrobiyolojik analizlerine bağlı olarak yapılmaktadır (Eldar ve ark 1996, Eldar ve Ghittino 1999, Lee ve ark 2001, Mata ve ark 2004).

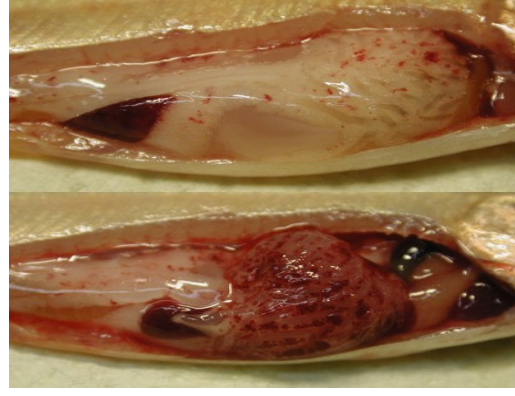
1. 4. Yersiniozis (Enterik Kızıl Ağız Hastalığı)

Yersiniozis Enterobactericea familyasının bir üyesi olan *Yersinia ruckeri* tarafından oluşturulan sepsis ile seyreden ve özellikle yavru döneminde önemli kayıplara neden olan alabalıkların bulaşıcı bakteriyel bir hastalığıdır (Arda ve ark 2002, Carson ve Wilson 2002). Organizma olumsuz şartlar altında alabalık yetiştiriciliğinde pek çok bölgede bulunduğu için geniş bir coğrafi dağılıma (Avrupa, Güney Amerika ve Avustralya gibi) sahiptir (Carson ve Wilson 2002). Ülkemizde de ilk kez 1991 yılında Denizli bölgesindeki bir işletmeden izole edilmiş (Timur ve Timur 1991), daha sonra başta Ege olmak üzere yurdumuzun çeşitli yerlerinden hastalık olgusu rapor edilmiştir (Kirkan ve ark 2000).

Mikrobiyolojik olarak etken Gram negatif, hareketli, sporsuz, kapsülsüz ve aerobik bir özelliğe sahiptir (Arda ve ark 2002). Hastalık, gelişmekte olan gökkuşağı alabalıklarında beslenmeye ve yemlenmeye başladıkları yazın erken dönemlerinde belirtilmektedir. Daha sonra bu balıklarda ilgisizlik, durgunluk ve deride kararmaların olduğu ve yemlemeyi durdurdukları bildirilmektedir (Roberts ve Stephered 2001). Hastalık balıkların tüm yaş sınıflarını etkileyebilir ve akut seyirlidir; ancak, büyük balıklarda daha çok kronik bir seyir gösterir. Balığın en fazla riskli olduğu dönemler stres faktörlerini doğrulayan kalitesiz yönetim, kötü su kalitesi ve su sıcaklığının yükselmesi gibi kötü çevre koşullarına dayandırılmaktadır. Hastalığın sepsisemik olgularda %50'nin üzerinde bir mortaliteye sahip olabileceği vurgulanmaktadır (Arda ve ark 2002, Rodgers 1991). Hastalık sıkça furunkulozisle karışsa da etkilenen balıkların genellikle yüzgeçlerinin tabanında ve anüste kanamalar gözlenir. İç organ muayenesinde, organlarda kanamalar veya kan damarlarının basınçlı halde oldukları görülür (Resim 1.4.1.) (Roberts ve Stephered 2001).



Resim 1.4.1. *Y. ruckeri* etkeninin agardaki morfolojik görünümü (Neumann 2007).



Resim 1.4.2. *Y. ruckeri* enfeksiyonunun balıklardaki makroskopik görünümü (Kalaterveytta 2007b).

Genç alabalıklarda *Y.ruckeri* enfeksiyonunun ilk belirtisi ölüm oranlarındaki artış olarak görülmektedir. Enfeksiyonun başlıca klinik belirtileri arasında rengin koyulaşması, iştahsızlık, ağzın iç ve dış kısımlarında, operkulumlarda, vücudun dış yüzeyinde ve yüzgeçlerin tabanında kanamalar, karında şişkinlik (sıvı toplanmasına bağlı), tek yada çift taraflı ekzoftalmus ile birlikte gözün iris tabakasında hemorajik kan toplanması, yüzeye yakın yüzme, uyuşuk hareketlilik, pektoral ve pelvik yüzgeçlerin tabanında hemorajik konjesyon, şişmiş delik ve özellikle küçük balıklarda anemiden dolayı solungaçlarda solgunluk dikkati çektiği belirtilmektedir. Anüs, deri ve yüzgeçler civarında eritemler, göz çukurunun çevresi ile iriste hemorajilerin görülmesi en karakteristik bulgularıdır (Busch 1982, Kocabatmaz ve Ekingen 1984). *Y. ruckeri* enfeksiyonu hastalığın spesifik semptomları olmaksızın bakteriyel sepsis ile sonuçlanabilse de en sık rastlanan bulgusu gözlerde ekzoftalmusun neden olduğu kan lekeleri olarak belirtilmiştir (Carson ve Wilson 2002).

Bu belirtilere bakılarak enfeksiyon için kesin teşhis konamaz. Ağız ve boğazda subkutan kanamalar enterik kızıl ağız hastalığında patognomik sayılmakla birlikte patojenlerin asemptomatik yayılımının alabalıklarla meydana geldiği bildirilmektedir (Arda ve ark 2002, Busch ve Lingg 1975, Carson ve Wilson 2002).

Y. ruckeri enfeksiyonunun teşhisi doku örneklerinden bakteri izolasyonu ve identifikasyonunu gerektirmekte, böbrek, dalak ve göz arkasını içeren bölgelerden alınan bakteriyel kültürlerle teşhis yapılabilmektedir (Carson ve Wilson 2002).

1. 5. Bakteriyel Balık Hastalıklarında Antibakteriyel İlaç Kullanımı ve Önemi

Ülkemizde kültür balıkçılığı ve yoğun işletmecilik modelinin giderek yaygınlaşması veteriner ilaçlarına olan ihtiyacı da katlamalı olarak arttırmıştır. 1980'li yıllara gelindiğinde, bu alanda baş gösteren veteriner ilaçları açığının giderilebilmesi için, bir yandan hızla yerli ilaç firmaları faaliyete geçerken diğer taraftan da dış alımlar yapılmıştır. Böylece; Türkiye'de bakteriyel balık hastalıklarında sınırlı sayıda antibakteriyel ilaç kullanımına izin verilmişse de (Çizelge 1.5.1. ve Çizelge 1.5.2.) bunun dışında denetim ve kontrol yetersizliği ile birlikte aşırı ilaç tüketimine bağlı suistimallerin de olduğu bildirilmektedir (Şanlı 1994).

Ülkemizde en çok kullanılan ilaçlarının başında antibakteriyeller gelmektedir ve antibakteriyel ajanlarla sağaltım hastalık salgınlarının kontrolü için en fazla kullanılan sağaltım seçeneklerinden bir tanesi olmuştur (Burka ve ark 1997, Demet 1994). Antibakteriyel ilaç kullanımından bu yana geçen süreçte kullanıma sunulan ilaçlar bulaşıcı salgın hastalıkları koruyucu, iyileştirici, verimliliğin artırılması ve besin güvenliğinin sağlanmasına yönelik uygulamalarda büyük olanaklar sağlamıştır. Bu kapsamda olmak üzere, bir yandan bütün bakteriyel hastalıklar bir sorun olmaktan çıkartılmaya çalışılmış diğer taraftan da yaygın bir biçimde hayvan yetiştiriciliğinde sağaltıcı, koruyucu ve verim artırıcı amaçlarla kullanılmak suretiyle balık üretiminde katlamalı artışlar sağlanmıştır; ancak, son yıllarda aynı gruptan ilaçların antibakteriyel etkinliklerinde dikkat çekici azalmaların olduğu gözlemlenmektedir (Şanlı 1994).

Geçen yıllar içerisinde bakteriler arasında antibakteriyel direnç oluşumunda artışların gözlenmesi aquakültür alanında hem terapötik hem de çevresel problemleri beraberinde getirmiştir (Aoki 1992, Bjorklund 1991, Levy 1998, Smith ve ark 2000, Tollefson ve ark 1999). Balıklardaki enfeksiyöz hastalıkların sağaltımında antibakteriyel ajanların aşırı kullanımı ilaca direnç gösteren bakteriler gibi dirençli mikroorganizmaların artışına yol açmaktadır (Alcaide ve ark 2004, Alderman ve Hastings 1998, Aoki 1992, DePaola ve ark 1995, Schmidt ve ark 2000). Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Avrupa Birliği, Kanada ve Norveç gibi gelişmiş ülkelerde antibakteriyel ürünlerin pek çoğu sınırlandırılarak, uygulamadaki ilerlemelerden dolayı düzenli kontroller güçlendirilmekte ve antibakteriyel kullanımının giderek azalması sağlanmaktadır (Burka ve ark 1997, Lillehaug ve ark 2003, WHO 2002). Yine de düzenli kontrollerin zayıf ve antibakteriyel kullanımının

yaygın olarak görüldüğü gelişmemiş ülkelerde aquakültür üretiminin % 90'ı gerçekleşmektedir (Bondad-Reantoso ve ark 2005).

Çizelge 1.5.1. Su ürünlerinde standart kontrolü yapılacak antibakteriyeller ve bunlara ilişkin değerler (TKB 2003).

Antibakteriyeller	Standart	Aranacak Tür	Atılım Süresi (gün/derece)
Sülfonamidler (Grup B1)			
Sülfonamidler	Sülfonamid	Bütün balık türlerinde	400
Diamino primidinler (Grup B1)			
Trimetoprim	Trimetoprim	Bütün balık türlerinde	300
Amoksisilin	Amoksisilin	Bütün balık türlerinde	500
Ampisilin	Ampisilin	Bütün balık türlerinde	400
Benzilpenisilin	Benzilpenisilin	Bütün balık türlerinde	600
Kloksasilin	Kloksasilin	Bütün balık türlerinde	400
Dikloksasilin	Dikloksasilin	Bütün balık türlerinde	400
Oksasilin	Oksasilin	Bütün balık türlerinde	400
Kinolonlar (Grup B1)			
Flumequin	Flumequin	Salmon balıklarında	500
Sarafloksasin	Sarafloksasin	Salmon balıklarında	600
Makrolidler			
Eritromisin	Eritromisin	Bütün balık türlerinde	600
Florfenikol (Grup B1)			
Florfenikol	Florfenikol	Bütün balık türlerinde	500
Tetrasiklinler (Grup B1)			
Klortetrasiklin	Bazı ana maddeleri ve onun 4-epimerleri	Bütün balık türlerinde	400
Oksitetrasiklin	Bazı ana maddeleri ve onun 4-epimerleri	Bütün balık türlerinde	500
Tetrasiklin	Bazı ana maddeleri ve onun 4-epimerleri	Bütün balık türlerinde	500
Linkozamidler			
Linkomisin	Linkomisin	Bütün balık türlerinde	400

Çizelge 1.5.2. Su ürünleri yetiştiriciliğinde 31.12.2003 tarihinden itibaren kullanımı Bakanlıktan ruhsat alınmasına ve reçeteye tabii antibakteriyeller ve bunlara ilişkin değerler (TKB 2003).

Antibakteriyeller	Standart	Aranacak Tür	Atılım Süresi (gün/derece)
Kinolonlar			
Flumequin	Flumequin	Salmon balıklarında	500
Oksolinik asit	Sarafloksasin	Salmon balıklarında	600
Florfenikol ve türevleri			
Florfenikol	Florfenikol	Bütün balık türlerinde	500
Tiamfenikol	Tiamfenikol	Bütün balık türlerinde	500

Besin değeri olan hayvanlarda hem yasaklanmış hem de tüketimine yasal olarak müsaade edilmiş antibakteriyel ilaçların bilinçsizce ve suistimal derecesinde uygulanması sonucunda bakteriyel direnç gelişimi dışında halk sağlığı açısından besin çeşitlerinde istenmeyen ve tehlikeli boyutlara ulaşabilen kalıntı sorununun baş gösterebileceği açıkça vurgulanmaktadır (Şanlı 1994).

Hayvansal besinlerle yansıyan antibakteriyel ilaç kalıntılarının tüketici insanlarda başlıca akut ve kronik toksisite, alerjik teratojen, mutajen ve karsinojenik etki riskleri yaratmasından kaynaklanan sakıncaları söz konusudur. Dolayısı ile hemen her çeşitten hayvansal besinde endüstriyel ölçekte ve yaygın nitelikte kirlenme kaynağı oluşturabilirler. Ayrıca aynı ilaç çeşitleri biyolojik yönden çok etkin oldukları için çok düşük kalıntı düzeylerinde bile sağlık sakıncası bugün için bütün yönleriyle açıklığa kavuşturulamamış olsa da diğer yandan sürekli kirlilik halinde alınan antibakteriyel ilaç artıklarının insanların sindirim sistemi mikroflorasını olumsuz yönde değiştirerek sindirim bozukluklarına, süperenfeksiyonlara ve çeşitli vitamin yetersizliklerine örnek olabilecekleri ortaya konmuştur (Şanlı 1994). Araştırmacılar kalıntı probleminin kamuoyu tarafından bir sorun olarak algılanmadığı sürece eldeki bilimsel veriler ile kalıntı probleminin desteklenmesinin hiçbir anlam ifade etmediğini önemle belirtmektedirler (Burka ve ark 1997).

Bugün için ülkemizde bütün antibakteriyel etkili veteriner ilaçları hiçbir denetim söz konusu olmaksızın rastgele sağlanarak suistimal derecesinde tüketilmektedir. Bütün antibakteriyeller anabolik ve antistres ilaçları halinde hazırlanmak suretiyle hayvanların yem ve sularına katılarak geniş ölçekte kullanılmaktadır. Son 15 - 20 yıllık süreç içerisinde konuya ilişkin olarak pek çok ülkenin ve uluslararası örgütün aynı alana yaklaşım biçimleri dikkate alındığında insanlığın en önemli sağlık güvencesi olan antibakteriyel ilaçların ülkemiz hayvancılık sektöründe üretimini, tüketimini ve kullanılmasını düzenleyen etkili bir bilimsel ve yasal denetimden söz etmek oldukça zordur. İnsan sağlığı ve çevresel etkileşmeler yönünden son derece etkin olan bu gruptan ilaçların mutlaka veteriner hekim reçetesi karşılığında ve onun denetiminde, eczanelerden sağlanması gerekirken, bugünkü durumyla yem satış bayilerinde ve zirai ilaç satış yerlerinde serbestçe satılarak istenildiği kadar alınabilmektedir. Bütün veteriner ilaçlarında olduğu gibi bu gruptan ilaçlar da ruhsatlandırılma işleminden sonra, kesinlikle piyasada kontrolü söz konusu olmamaktadır (Şanlı 1994).

Bütün bu olumsuz gelişmeler ve sakıncalı uygulamalara paralel olarak halkımızın gerek hayvan yetiştiriciliği ve gerekse böyle etkin maddelere ilişkin yeterli bilgiye sahip olmaması genellikle bu tür ilaçların aşırı ölçüde, yanlış ve suistimal derecesinde tüketilmesinin bir sonucu olarak, muhtemelen her yıl ülkemiz yüzmilyonlarca dolar dış alım kaybına uğramakta, ayrıca besin kirlenmesi olgularıyla da halkımızın sağlığı tehlikeye sokulmaktadır (Burka ve ark 1997, Şanlı 1994).

Avustralya’da hem tarımsal hem de medikal sektörler için ihtiyaç duyulan antibakteriyel direnç problemlerinin miktarını tanımlayan ve bunları azaltan stratejiler geliştirilerek Amerikan hükümetinin bu çalışmalara önem verdiği rapor edilmektedir. Avustralya aquakültüründe hiçbir antibakteriyel kullanılması için ruhsatlı olmamasına rağmen bu antibakteriyellerin veteriner reçetesi altında etiketsiz olarak halen kullanıldığı belirtilmektedir (Barton ve ark 2003).

Bu araştırmada bölgemizdeki alabalık çiftliklerinde önemli maddi kayıplara sebep olan önemli bazı bakteriyel etkenlerin tespit edilmesi (*A. salmonicida*, *V. anguillarum*, *L. garvieae* ve *Y. ruckeri*) bu etkenlere karşı antibakteriyel duyarlılıklarının saptanması ile bu enfeksiyon etkenlerine karşı bilinçsiz antibakteriyel ilaç kullanımına bağlı oluşan problemlerin (kalıntı, direnç, üretim maliyeti gibi) önlenmesi hedeflenmiştir.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2. 1. Gereç

Çalışmada ayda 8'er adet olmak üzere 12 ay boyunca 96 adet gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın iç organ (karaciğer, dalak ve böbrek) ve solungaçlarından toplam 384 adet numune incelenmiştir. Balıklar laboratuvara işletme suyu içinde canlı olarak getirilmiş ve aynı gün örnekleme çalışmaları yapılmıştır.

2. 1. 1. Besiyerleri

2. 1. 1. 1. İzolasyon Besiyerleri

1. Tryptic Soy Agar (MERCK-105458)

Karışımdan 40 g alınıp 1000 ml distile suda eritilmiştir. 121 °C'de 15 dakika otoklavlandıktan sonra yaklaşık 45 - 50 °C'ye kadar soğutulup steril petri kaplarına dökülerek hazırlanmıştır.

2. Cytophaga Agar (FAO Corporate Document Repository 2006)

Tryptone 0,5 g (DIFCO-211705), yeast extract 0,5 g (MERCK-103753), beef (meat) extract 0,2 g (MERCK-103979), sodium acetate 0,2 g (MERCK-106264), agar 9,0 g (MERCK-101613) 1000 ml distile su içinde eritilerek pH'sı 7,2 - 7,4'e ayarlanmış ve bu karışım daha sonra 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak 45 - 50 °C'ye kadar soğutulup steril petri kaplarına dökülerek hazırlanmıştır.

2. 1. 1. 2. İdentifikasyon Besiyerleri

1. Cytophaga Broth (FAO Corporate Document Repository 2006)

Tryptone 0,5 g (DIFCO-211705), yeast extract 0,5 g (MERCK-103753), beef (Meat) extract 0,2 g (MERCK-103979), sodium acetate 0,2 g (MERCK-106264) 1000 ml distile su içinde eritilerek pH'sı 7,2 - 7,4'e ayarlanmış ve bu karışım daha sonra 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak 45 - 50 °C'ye kadar soğutulup steril petri kaplarına dökülerek hazırlanmıştır.

2. Tryptic Soy Broth (MERCK-105459)

Karışımından 30 g alınıp 1000 ml distile suda eritilmiştir. Daha sonra tüplere aktarılarak 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi.

3. Oksidasyon - Fermentasyon Besiyeri (O/F Basal Medium) (MERCK-110282)

Karışımından 11 g tartıldı ve 1000 ml distile suda eritildi. Daha sonra tüplere 4'er ml aktarılarak 121 °C'de 15 dakika otoklavlanıp steril edildi.

4. Lassen'in 3'lü tüp besiyeri (Lassen 1975)

Lassen'in 3'lü tüp besiyerilerinden olan I. tüpün hazırlanmasında triple sugar iron agar (MERCK-103915) kullanıldı. Karışımından 65 g tartılarak 1000 ml distile suda eritildi. Karışımın pH'sı 7.2-7.4'e ayarlandı ve daha sonra tüplere aktarılarak 121 °C'de 15 dakika otoklavlanıp steril edildi. Tüpler otoklavdan çıkartıldıktan sonra 45° eğimli olacak şekilde soğutuldu (Lassen 1975).

Lassen'in 3'lü tüp besiyerilerinden olan II. tüpün hazırlanmasında 5,0 g pepton (MERCK-107228), 5,0 g neopepton, 2,0 g mannitol (MERCK-105982), 2,5 g agar (MERCK-101613), 1,7 g potassium nitrat (MERCK-105065), 20 ml fenol kırmızısı ayırıcı (%0,2'lik) ve 1000 ml distile su kullanıldı. Karışımın pH'sı 7.2 - 7.4'e ayarlanarak tüplere 4'er ml aktarıldı ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi (Lassen 1975).

Lassen'in 3'lü tüp besiyerilerinden olan III. tüpün hazırlanmasında üre broth (MERCK-108483) kullanıldı. Karışımından 17 g tartılıp 1000 ml distile suda eritildi. Daha sonra 0,22 µm steril milipore filtrelerden (MACHEREY-NAGEL Lot No: 603-001) süzülerek steril tüplere aktarıldı (Lassen 1975).

5. Nitrat Buyyonu

Nitrat buyyonunun hazırlanmasında 3,0 g beef (meat) extract (MERCK-103979), 5,0 g pepton (MERCK-107228), 1,0 g potassium nitrate (MERCK-105065) ve 1000 ml distile su kullanılmıştır. Karışım hazırlandıktan sonra tüplere 4'er ml aktarıldı ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi (Bilgehan 1995).

6. Simmons Sitrat Agar (OXOID-CM155)

Karışımından 23 g tartılarak 1000 ml distile suda eritildi ve tüplere 4'er ml aktarıldı. Daha sonra tüpler 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı ve otoklavdan çıkartıldıktan sonra 45° eğimli olacak şekilde soğutuldu.

7. Jelatin (MERCK-104070)

Tryptic Soy Broth'a % 4 oranında jelatin ilave edilerek homojenize edildi ve pH'sı 7,2 - 7,4'e ayarlandıktan sonra 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. Daha sonra 45 - 50 °C'ye kadar soğutulup steril petri kaplarına dökülerek hazırlandı (Bilgehan 1995).

8. Metil Red - Voges Proskauer Medium (MRVP) (OXOID –CM0043B)

Karışımından 17 g tartılarak 1000 ml distile suda eritildi ve tüplere aktarıldıktan sonra 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi.

9. Mueller-Hinton Agar (MERCK-105437)

Karışımından 34 g tartılarak 1000 ml distile suda eritildi ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. Daha sonra steril petri kaplarına dökülerek hazırlandı.

2. 1. 1. 3. Ayıraçlar

1. Kovac's İndol Ayırıcı (MERCK-109293)

2. Nitrat A Ayırıcı (DIFCO-BD261197)

3. Nitrat B Ayırıcı (DIFCO-BD261198)

4. O'Meara's Ayırıcı (FLUKA-07689)

5. Metil Kırmızısı Ayıracı

Metil kırmızısı ayıracının hazırlanmasında 0,05 g metil kırmızısı (DIFCO-611812), 150 ml etil alkol (MERCK-100986) ve 100 ml distile su kullanılmıştır. Metil kırmızısı etil alkolde eritilerek üzerine distile su eklendi (Bilgehan 1995).

6. Fenol Kırmızısı Ayıracı (% 0,2'lik)

Bir havanda 0,2 g fenol kırmızısı (MERCK-107241) üzerine 23,5 ml 20 Normal NaOH (MERCK-106482) eriyiği azar azar eklenerek eritildi. Distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak balon jode çalkalandıktan sonra renkli şişeler içerisinde oda ısısında saklandı (Bilgehan 1995).

2. 1. 1. 4. Boyalar

1. Gram Boya (MERCK-111885)
2. Metil Kırmızısı (DIFCO-0207-13)
3. Fenol Kırmızısı (MERCK-107241)

2. 1. 1. 5. Tanı Diskleri

Vibrio tanı diski 0-129 (OXOID-DD14), amoksisilin (AML) (OXOID-CT061B), ampicilin (AMP) (OXOID-CT0003B), basitrasin (B) (OXOID-CT0005B), enrofloksasin (ENR) (OXOID-CT0639B), eritromisin (E) (OXOID-CT0020B), florfenikol (FFC) (OXOID-CT1754B), fusidik asit (FD) (OXOID-CT0023B), gentamisin (CN) (OXOID-CT0024B), kloramfenikol (C) (OXOID-CT0012B), linkomisin (MY) (OXOID-CT0028B), nalidiksik asit (NA) (OXOID-CT0031B), neomisin (N) (OXOID-CT0032B), novobiyosin (NV) (OXOID-CT0037B), oksitetrasiklin (OT) (OXOID-CT0041B), sefoksitin (FOX) (OXOID-CT0119B), siprofloksasin (CİP) (OXOID-CT0425B) ve sulfametaksazol-trimetoprim (SXT) (OXOID-CT0052B) diskleri kullanıldı.

2. 1. 1. 6. Kullanılan Cihazlar

Derin dondurucu (Philco, Merloni Elettrodomestici), su banyosu (Nüve, NM 402), distile su cihazı (Nüve, NS 112), etüv (Nüve, FN 500), soğutmalı inkübatör (Nüve, ES 110), vortex (Nüve, NM 110), ısıtmalı manyetik karıştırıcı (Nüve, MK 418), terazi (Shimadzu, EB-2200 HU), hassas terazi (Shimadzu, AX120), otoklav (Nüve, OT4060), pH metre (Hana instrument, pH 211) ve ışık mikroskopundan (Leica DMLB).

2. 2. Yöntemler

2. 2. 1. Bakteri İzolasyonu

Bakteriyolojik ekim örnekleri için alabalıkların solungaçlarından aseptik olarak öze yardımıyla Cytophaga Agar'a vücut yüzeyi % 70'lik etil alkolle silindikten sonra aseptik bir şekilde karaciğer, dalak ve böbreklerinden de Tryptic Soy Agar'a (TSA) ekimler yapıldı.

Solungaçlar, karaciğer, dalak ve böbrek örneklerine ait ekimler 22 °C ve 37 °C'de 48 - 72 saat inkübe edildi.

2. 2. 2. Bakteri İdentifikasyonu

Solungaçlar ve iç organlara (karaciğer, dalak ve böbrek) ait farklı koloniler saflaştırıldı. Bunun için; Gram reaksiyonu, genel morfoloji, hareketlilik (üçlü tüp yöntemi) gibi morfolojik karakterlerin yanı sıra kolonilerin görünümü, pigmentasyonu, şekli, büyüklüğü gibi kültürel özellikleri ve ayrıca katalaz aktivitesi, karbonhidratların fermentasyonu, O/F testi, oksidaz, jelatin hidrolizi, vibriostat testi, indol, metil-red, nitrat redüksiyon gibi biyokimyasal özellikleri tespit edildi (Austin ve Austin 1989, Austin ve Austin 1993, Horsley 1977). Morfolojik ve biyokimyasal testlerin sonuçlarına göre identifikasyona gidildi.

2. 2. 2. 1. Gram Boyama

Cytophaga Agar ve Tryptic Soy Agar'da 48 - 72 saatlik inkübasyon sonucunda üreyen koloniler Gram boyamaya tabi tutuldu. Gram boyama sonucunda Gram pozitif ve Gram negatif olarak belirlenen suşlara diğer biyokimyasal testler uygulandı. Gram boyama ile hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu (Leica DMLB) ile incelendi.

2. 2. 2. 2. Katalaz Testi

Katı besiyerinde üreyen şüpheli kolonilerden steril öze ile alınıp bir lamın üzerine bırakıldı. Üzerine 1 - 2 damla % 30'luk hidrojen peroksit (MERCK-108597) damlatılıp bir kürdan ile karıştırıldı. Lam üzerinde oksijen açığa çıkışına bağlı olarak gaz oluşturan koloniler katalaz pozitif olarak değerlendirildi. Katalaz negatif bakterilerde herhangi bir gaz oluşumu gözlemlenmedi (Bilgehan 1995).

2. 2. 2. 3. Oksidaz Testi

Katı besiyerinde üreyen şüpheli koloniler steril öze ile alınarak oksidaz test çubuklarına (MERCK-113300) temas ettirildi. Renk değişimini gözlemlemek suretiyle 25 - 30 saniye beklendi. Çubuğun eflatun mor renk alması pozitif reaksiyon, çubukta herhangi bir değişikliğin olmaması negatif reaksiyon olarak değerlendirildi (Bilgehan 1995).

2. 2. 2. 4. Glikoz, Laktoz, Gaz, Hidrojen sülfid (H₂S) Testi

Şüpheli bakteri kolonisi steril iğne uçlu öze yardımıyla alındıktan sonra, iğne uçlu öze Lassen'in I. tüpüne dik bir şekilde batırıldı. Daha sonra besiyerinin yatık kısmının yüzeyine ekim yapıldı ve 22 °C ve 37 °C'de 18 - 24 saat inkübe edildi. Tüpün uç kısmında sarı renk oluşumu glikoz pozitif, dip kısmında sarı renk oluşumu laktoz pozitif, herhangi bir renk değişikliğinin olmaması glikoz ve laktoz negatif, besiyerinin üzerinde siyah renk oluşumu H₂S pozitif ve fermentasyon esnasında gaz kabarcıklarının oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (Lassen 1975).

2. 2. 2. 5. Mannitol ve Hareket Testi

Şüpheli bakteri kolonisi steril iğne uçlu öze yardımıyla alındıktan sonra Lassen'in II. tüpüne dik bir şekilde batırıldı ve 22 °C ve 37 °C'de 18 - 24 saat inkübe edildi. Inkübasyon

sonucunda tüpte sarı renk oluşumu mannitol pozitif olarak değerlendirildi. Lassen'in I ve II. tüpündeki iğne uçlu öze ile yapılan ekim hatları değerlendirilerek mikroorganizmaların hareketli olup olmadıkları saptandı (Lassen 1975).

2. 2. 2. 6. Üreaz (Üre hidrolizi) ve İndol Testi

Lassen'in III. tüpüne şüpheli bakteri kolonileri ekilerek 22 °C ve 37 °C'de 18 - 24 saat inkübe edildi. Üreaz testi için, inkubasyondan sonra besiyerinin kırmızı reнге dönmesi üreaz pozitif olarak değerlendirildi İndol testi için, inkubasyondan sonra indol test ayırıcından (Kovac's İndol Ayıracı) 3 - 5 damla tüpün yan tarafından akıtılıp, üst tarafta bir katman oluşturması sağlandı. Besiyeri ve ayıraç arasında kırmızı bir renk oluşmaması negatif reaksiyon olarak değerlendirildi (Lassen 1975).

2. 2. 2. 7. Nitrat Testi

İçinde nitratlı buyyon bulunan tüplere, saf kültürlerden birkaç koloni inoküle edildi. 22 °C ve 37 °C'de 18-24 saat inkübe edildi. Daha sonra buyyonun üzerine nitrat ayıraçlarından (Nitrat-A Ayıracı ve Nitrat-B Ayıracı) damlatıldığında besi yeri renginin kırmızı olması pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi (Bilgehan 1995).

2. 2. 2. 8. Simmons Sitrat Testi

Şüpheli bakteri kolonileri steril iğne uçlu öze yardımıyla Simmons sitrat besiyerine dik olarak ekildi. Ekimi yapılan tüpler 22 °C ve 37 °C'de 18 - 24 saat inkübe edildi. Ortamın orijinal yeşil renginin muhafaza edilmesi reaksiyonun negatif, ekim hattı boyunca üreme ile birlikte koyu mavi rengin meydana gelmesi pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi (Bilgehan 1995).

2. 2. 2. 9. Oksidasyon / Fermentasyon (O / F) Testi

Şüpheli bakteri kolonilerinden her bir bakteri için iki adet deney tüpüne iğne uçlu öze ile batırma yöntemiyle ekimler yapıldı. Tüplerden birisinin üzerine steril parafin yağı ile 5 mm'den az olmamak şartı ile kaplandı. Denemek istediğimiz her bakteri kolonisi için ikişer besiyerine aynı şekilde ekimler yapılarak koloniler 22 °C ve 37 °C'de 24 - 48 saat inkübe edildi. Parafinli tüpte sarı renk oluşumu fermentasyon pozitif, parafinsiz tüpte sarı

renk oluşumu oksidasyon pozitif, her iki tüpte de sarı renk oluşması oksidasyon-fermentasyon pozitif olarak değerlendirildi (Bilgehan 1995).

2. 2. 2. 10. Metil Red - Voges Proskauer Testi (MR - VP)

MR - VP besiyeri tüplere dağıtılarak hazırlandı. Her bir bakteri için iki adet tüp hazırlandı. Bakteri ekimi yapıldıktan sonra koloniler 22 °C ve 37 °C'de 24 - 48 saat inkübe edildi (Bilgehan 1995).

Metil kırmızısı deneyi için; İnkübe edilmiş besiyerlerine 5 - 6 damla metil kırmızısı ayırıcı damlatıldı. Kırmızı renk oluşumu pozitif, turuncu ve sarı renk oluşumu negatif reaksiyon olarak değerlendirildi (Bilgehan 1995).

Voges Proskauer deneyi için; İnkübe edilmiş besiyerlerine O'Meara's Ayırıcı damlatıldı ve kırmızı renk oluşumu pozitif, sarı renk oluşumu negatif reaksiyon olarak değerlendirildi (Bilgehan 1995).

2. 2. 2. 11. Jelatin Hidrolizi (Jelatinaz üretimi)

Şüpheli bakteri kolonisi steril iğne uçlu öze yardımıyla alındıktan sonra % 4'lük jelatinli Tryptic Soy Agar içeren besiyerlerine ekimi yapılarak 22 °C ve 37 °C'de 24 - 48 saat inkübe edildi. Üreme olduktan sonra kolonilerin üzerine amonyum sülfat (MERCK-101216) çözeltisi döküldü. Amonyum sülfat çözeltisi 100 ml distile suda 53,1 g tartılarak hazırlandı. Jelatini hidrolize eden kolonilerin etrafında açık-şeffaf bir zon oluşumu, pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi (Bilgehan 1995).

2. 2. 2. 12. Tryptic Soy Agarda 30 ve 37°C'de Üreme

Şüpheli bakteri kolonileri steril öze yardımıyla Tryptic Soy Agar besiyerine ekildi. Ekimi yapılan petriler 30 ve 37 °C'de 24 - 48 saat inkübe edildi. Besiyerlerinde meydana gelen üremeler pozitif reaksiyon olarak değerlendirilirken, üremenin olmaması negatif reaksiyon olarak değerlendirildi (Bilgehan 1995, Woo ve Bruno 2003).

2. 2. 2. 13. Vibriostat Duyarlık Testi

Vibrio tanı diski 0 – 129 (OXOID-DD14) kullanılarak yapıldı. 22 °C ve 37 °C’de 24 saat inkübasyondan sonra disk etrafında zon çapının oluşması pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi (Koneman ve ark 1997).

2. 2. 3. Antibakteriyel Duyarlılığın Belirlenmesi

İzole edilen suşlara ait antibakteriyel duyarlılık testinde Mueller-Hinton agar besi yeri kullanılarak, Kirby-Bauer Disk Difüzyon yöntemine göre yapıldı (Bauer ve ark 1966, Koneman ve ark 1997). Bu amaçla izolasyonu ve identifikasyonu yapılan bakteri suşları 4 ml Cytophaga Broth ve Tryptic Soy Broth bulunan tüplere ekilerek 22 ve 37 °C’de inkübe edildi. Tüplerin yoğunluğu 0,5 McFarland standart (bioMerieux sa, 69280, Marcy l’Etoile, Fransa) yoğunluğuna eşit oluncaya kadar inkübasyona devam edildi. Daha sonra Müeller-Hinton agara besiyerlerinde üreyen kültürlerinden 0,1 ml steril pipet aracılığı ile aktararak steril cam bagedle yayıldı. Standart antibakteriyel diskler steril bir pens yardımı ile eşit aralıklarla ekimi yapılan petrilere yerleştirilerek 22 ve 37 °C’de 24 - 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında her diskin çevresinde bulunan inhibisyon zon çapları kompas yardımı ile milimetrik olarak ölçüldü ve standart zon çapları ile karşılaştırıldı (NCCLS 1993, NCCLS 1994). Belirlenen antibakteriyel zon çapları National Committee for Clinical Laboratory Standards’ın (NCCLS 1993, NCCLS 1994) belirlediği standartlara göre değerlendirildi (Çizelge 3.2.1.).

Çalışmada beşeri hekimliğini ilgilendiren ya da çiftlik hayvanları üretiminde kullanıldığı rapor edilmiş 13 antibakteriyel ajan seçilmiştir. Bunlar amoksisilin (AML) (25µg), ampisilin (AMP) (10 µg), basitrasin (B) (10 U), enrofloksasin (ENR) (5µg), eritromisin (E) (15 µg), florfenikol (FFC) (30 µg), fusidik asit (FD) (10 µg), gentamisin (CN) (10 µg), kloramfenikol (C) (10 µg), linkomisin (MY) (15 µg), nalidiksik asit (NA) (30 µg), neomisin (N) (10 µg), novobiyosin (NV) (5 µg), oksitetrasiklin (OT) (30 µg), sefoksitin (FOX) (30 µg), siprofloksasin (CIP) (5 µg) ve sulfametaksazol - trimetoprim (SXT) (25 µg)’dir.

3. BULGULAR

3. 1. Bakteri Suşlarına Ait Fenotipik ve Biyokimyasal Testler

Araştırmada her ay 8 adet olmak üzere 12 ay boyunca toplam 96 adet gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) (Şekil 3.1.1.) iç organ (karaciğer, dalak ve böbrek) ve solungaçlarından mikrobiyolojik ekimlerin inkubasyonu sonucunda üreme gösteren şüpheli kolonilere Gram boyama yapıldı. Gram boyama ile hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu yardımı ile incelendi.



Resim 3.1.1. Hastalıklı balıkların makroskopik görünümü

Gram pozitif ve Gram negatif olarak belirlenen suşlara diğer mikrobiyolojik identifikasyon testleri (Gram boyama, katalaz (Resim 3.1.2.), oksidaz (Resim 3.1.3.), hidrojen sülfid (H_2S), glikoz, laktoz, hareket, gaz, üre, nitrat, indol, mannitol, oksidasyon-fermentasyon (O / F), metil red, voges proskauer, jelatin, vibriostat, sitrat, 30 °C’de üreme, 37 °C’de üreme) uygulanarak örnekleme periyotları sonucunda izole edilen bakterileri türleri (*A. salmonicida*, *L. garvieae*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri*) ile bu bakterilere ait fenotipik ve biyokimyasal test sonuçlarına (Austin ve Austin 1993, Woo ve Bruno 2003) ait bulgular Çizelge 3.1.1.’de gösterildi.

Çizelge 3.1.1. İzole edilen bakteri suşlarının fenotipik ve biyokimyasal özellikleri.

Bakterilerin Fenotipik ve Biyokimyasal Özellikleri	<i>A. salmonicida</i>	<i>L. garvieae</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>Y. ruckeri</i>
Gram boyama	-	+	-	-
Katalaz	+	-	+	+
Oksidaz	+	-	+	-
Hidrojen sülfid (H ₂ S)	D	-	-	+
Glikoz	+	+	-	+
Laktoz	-	-	-	-
Hareket	-	-	+	+
Gaz	+		-	
Üre	-	-	-	-
Nitrat	+	-	+	+
İndol	-	-	+	-
Mannitol	+	+	+	+
Oksidasyon-fermentasyon (O/F)	F	+	F	
Metil red (MR)	-	+	-	+
Voges proskauer (VP)	-	+	+	D
Jelatin	+	-	+	+
Vibriostat (O/129) duyarlılığı	-	-	+	-
30 °C'de üreme	+	+	+	+
37 °C'de üreme	-	+	+	+
Simmon sitrat		-	+	+

F: Fermentatif, D: Değişken



Resim 3.1.2. Katalaz testinde meydana gelen gaz oluşumu.



Resim 3.1.3. Oksidaz test kiti ve oksidaz pozitifte renk oluşumu.

Su sıcaklıklarının düşük olarak seyrettiği kış aylarında daha az bakteriyel hastalık etkeni izole edilirken, bu etkenlerin izole edildiği aylardaki su sıcaklık değerleri, izole edilen mikroorganizmaların aylara göre dağılımları ve incelenen örnek sayıları Çizelge 3.1.2.'de, yıl içerisinde izole edilen toplam bakteriyel mikroorganizma sayıları ve yüzde değerleri ise Çizelge 3.1.3.'de gösterildi.

Çizelge 3.1.2. Aylara göre su sıcaklık değerleri ile izole edilen mikroorganizma ve örnek sayıları.

Aylar	Su Sıcaklığı (°C)	İzole edilen mikroorganizmalar				Balık sayısı (n)	Örnek sayısı (n)
		<i>A. salmonicida</i>	<i>L. garvieae</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>Y. ruckeri</i>		
Temmuz	15-17	-	3	-	4	8	32
Ağustos	16-18	-	1	-	1	8	32
Eylül	16-18	-	2	-	1	8	32
Ekim	14-15	-	-	-	-	8	32
Kasım	13-14	-	2	-	-	8	32
Aralık	12-13	-	-	-	-	8	32
Ocak	11-13	-	-	-	-	8	32
Şubat	11-12	2	-	3	-	8	32
Mart	11-13	3	1	2	-	8	32
Nisan	12-14	1	-	2	-	8	32
Mayıs	15-16	-	2	-	2	8	32
Haziran	15-17	-	2	-	3	8	32
TOPLAM		6	13	7	11	96	384

Çizelge 3.1.3. İzole edilen mikroorganizmaların toplam sayıları ve yüzde değerleri.

İzole edilen MO'lar	<i>Aeromonas salmonicida</i>	<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Vibrio anguillarum</i>	<i>Yersinia ruckeri</i>	TOPLAM
Adet	6	13	7	11	37
% değeri	16,22	35,13	18,92	29,73	100

MO: Mikroorganizma

3. 2. Bakteri Suşlarının Antibakteriyel Duyarlılık Dereceleri

İzole edilen suşlara ait antibakteriyel duyarlılık testinde Mueller-Hinton agar besi yeri kullanılarak, Kirby-Bauer Disk Difüzyon yöntemine göre yapılan (Bauer ve ark 1966, Koneman ve ark 1997) antibiyogram testlerine ait zon çapları (Resim 3.2.1., Resim 3.2.2.) National Committee for Clinical Laboratory Standarts'ın (NCCLS 1993, NCCLS 1994) belirlediği standartlara göre değerlendirildi (Çizelge 3.2.1.).

Değerlendirmede ortaya çıkabilecek olan uygulama hatalarını en aza indirebilmek amacıyla her bir antibiyogram testi 3'er kez tekrarlandı ve değerlerin aritmetik ortalaması göz önünde tutuldu. İzole edilen bakteriyel mikroorganizmaların NCCLS (NCCLS 1993, NCCLS 1994) ile karşılaştırılması sonucu çeşitli antibakteriyellere karşı gösterdikleri duyarlılık dereceleri ve yüzde değerleri sırası ile Çizelge 3.2.2. ve Çizelge 3.2.3.'de gösterildi.

Çizelge 3.2.1. Gram-pozitif ve Gram-negatif mikroorganizmalara ait National Committee for Clinical Laboratory Standards'ın (NCCLS) belirttiği zon çapları (NCCLS 1993, NCCLS 1994).

		Antibakteriyel Duyarlılık Dereceleri	Antibakteriyel İlaçlar																
			Amoksisilin (AML) (25 µg)	Ampicilin (AMP) (10 µg)	Basitrasin (B) (10 U)	Enrofloksasin (ENR) (5 µg)	Eritromisin (E) (15 µg)	Florfenikol (FFC) (30 µg)	Fusidik asit (FD) (10 µg)	Gentamisin (CN) (10 µg)	Kloramfenikol (C) (10 µg)	Linkomisin (MY) (15 µg)	Nalidiksik asit (NA) (30 µg)	Neomisin (N) (10 µg)	Novobiyosin (NV) (5 µg)	Oksitetrasiklin (OT) (30 µg)	Sefoksitin (FOX) (30 µg)	Siprofloksasin (CIP) (5 µg)	Sulfametaksazol-Trimetoprim (SXT) (25 µg)
İnhibisyon Zon Çapları (mm)	Gram (+) MO'lar	R	≤ 11	≤ 28	≤ 8	≤ 15	≤ 13	≤ 14	≤ 15	≤ 12	≤ 12	≤ 18	≤ 13	≤ 12	≤ 16	≤ 14	≤ 14	≤ 15	≤ 10
		İ	12	-	9-11	16-20	14-22	15-18	16-21	13-14	13-17	19-22	14-18	13-17	-	15-18	15-17	16-20	11-15
		S	≥ 13	≥ 29	≥ 12	≥ 21	≥ 23	≥ 19	≥ 22	≥ 15	≥ 18	≥ 23	≥ 19	≥ 18	≥ 16	≥ 19	≥ 18	≥ 21	≥ 16
	Gram (-) MO'lar	R	≤ 11	≤ 13	≤ 8	≤ 15	≤ 13	≤ 14	≤ 15	≤ 12	≤ 12	≤ 18	≤ 13	≤ 12	≤ 16	≤ 14	≤ 14	≤ 15	≤ 10
		İ	12	14-16	9-11	16-20	14-22	15-18	16-21	13-14	13-17	19-22	14-18	13-17	-	15-18	15-17	16-20	11-15
		S	≥ 13	≥ 17	≥ 12	≥ 21	≥ 23	≥ 19	≥ 22	≥ 15	≥ 18	≥ 23	≥ 19	≥ 18	≥ 16	≥ 19	≥ 18	≥ 21	≥ 16

R: Dirençli, İ: Orta derecede duyarlı, S: Duyarlı, MO: Mikroorganizma.



Resim 3.2.1. *Y. ruckeri*'nin antibakteriyellere karşı oluşturdukları zon çapları.



Resim 3.2.2. *A. salmonicida*'nın antibakteriyellere karşı oluşturdukları zon çapları.

Çizelge 3.2.2. İzole edilen mikroorganizmaların antibakteriyellere karşı oluşturdukları duyarlılık dereceleri.

Antibakteriyeller	İzole edilen mikroorganizmalar											
	<i>A. salmonicida</i> n=6			<i>L. garvieae</i> n=13			<i>V. anguillarum</i> n=7			<i>Y. ruckeri</i> n=11		
	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S
Amoksisilin (AML)	4	2		1	1	11	5	1	1	11		
Ampicilin (AMP)	5	1		7	1	4	6	1		11		
Basitrasin (B)	6				3	10	6	1		11		
Enrofloksasin (ENR)		1	5		7	6		1	6		2	9
Eritromisin (E)		5	1		3	10	2	5		11		
Florfenikol (FFC)			6			13			7	1	1	9
Fusidik asit (FD)			6	10	3		7			11		
Gentamisin (CN)			6	13					7	2	1	8
Kloramfenikol (C)			6			13			7	8		3
Linkomisin (MY)	6			6	2	5	7			11		
Nalidiksik asit (NA)	1		5	13					7		1	10
Neomisin (N)	2		4	13				5	2	11		
Novobiyosin (NV)			6			13			7	11		
Oksitetrasiklin (OT)	2	1	3	3	3	7			7	7	1	3
Sefoksitin (FOX)	5	1		4	6	3	7			11		
Siprofloksasin (CIP)	1	1	4		10	3			7	3	1	7
Sulfametaksazol-Trimetoprim (SXT)	2	1	3	7	1	4			7	7	1	3

R: Dirençli, İ: Orta derecede duyarlı, S: Duyarlı.

Çizelge 3.2.3. İzole edilen mikroorganizmaların antibakteriyellere karşı oluşturdıkları duyarlılık derecelerinin yüzde değerleri.

Antibakteriyeller	İzole edilen mikroorganizmalar (%)											
	<i>A. salmonicida</i> n=6			<i>L. garvieae</i> n=13			<i>V. anguillarum</i> n=7			<i>Y. ruckeri</i> n=11		
	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S
Amoksisilin (AML)	66,7	33,3		7,7	7,7	84,6	71,4	14,3	14,3	100		
Ampicilin (AMP)	83,3	16,7		53,9	7,7	38,4	85,7	14,3		100		
Basitrasin (B)	100				23,1	76,9	85,7	14,3		100		
Enrofloksasin (ENR)		16,7	83,3		53,9	46,1		14,3	85,7		18,2	81,8
Eritromisin (E)		83,3	16,7		23,1	76,9	28,6	71,4		100		
Florfenikol (FFC)			100			100			100	9,1	9,1	81,8
Fusidik asit (FD)			100	76,9	23,1		100			100		
Gentamisin (CN)			100	100					100	18,2	9,1	72,7
Kloramfenikol (C)			100			100			100	72,7		27,3
Linkomisin (MY)	100			46,1	15,4	38,5	100			100		
Nalidiksik asit (NA)	16,7		83,3	100					100		9,1	90,9
Neomisin (N)	33,3	66,7		100				71,4	28,6	100		
Novobiyosin (NV)			100			100			100	100		
Oksitetrasiklin (OT)	33,3	16,7	50	23,1	23,1	53,8			100	63,6	9,1	27,3
Sefoksitin (FOX)	83,3	16,7		30,8	46,1	23,1	100			100		
Siprofloksasin (CIP)	16,7	16,7	66,6		76,9	23,1			100	27,3	9,1	63,6
Sulfametaksazol- Trimetoprim (SXT)	33,3	16,7	50	53,9	7,7	38,4			100	63,6	9,1	27,3

R: Dirençli, İ: Orta derecede duyarlı, S: Duyarlı.

4. TARTIşMA

Günümüzde nüfus yoğunluğunun artmasına bağlı olarak azalan tarım alanları, ekonomik koşullar ve gıda yetersizlikleri gibi birçok nedenlerden dolayı beyaz et tüketimi gittikçe artış göstermiştir. Özellikle bedensel ve zihinsel gelişim açısından önemli olan yüksek kaliteli protein açığı ve doğal kaynakların ihtiyaçları karşılayacak yeterlilikte olmaması nedeniyle intensif balık kültürü tekniklerinde de hızlı bir gelişme sağlanmıştır. İntensif bir yetiştiricilikte doğal olarak daha yüksek yoğunlukta yetiştirme, su kalitesinde azalma, yetersiz diyet, manipasyonlar gibi nedenler de hastalık problemlerini yoğun olarak ortaya çıkarmaktadır (FAO 1995).

Yakın geçmişe kadar balıklar için 15 – 20 bakteri türünün patojenik etki gösterdiğinin (Munro 1982) bilinmesine rağmen, günümüzde doğal olarak infekte balıklarda daha fazla sayıda bakteri türü izole edilmiştir (Austin ve Austin 1993, İspir ve ark 2004). Bakteriyel izolatların identifikasyon sonuçları (Çizelge 3.1.1.) ve etkenlerin bakteriyolojik doğrulama testleri sonucunda (Austin ve Austin 1993, Cagırgan 2004, Kılıç ve ark 2007, Woo ve Bruno 2003) bakteri türleri içerisinde oldukça önemli ekonomik kayıplara neden olan *A. salmonicida*, *L. garvieae*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri* etkenleri izole edilmiştir. İzole edilen bakteriyel etkenlerin suyun normal mikroflorasında bulunabileceği; ancak, başta mevsimlere bağlı olarak su sıcaklık değerlerinde meydana gelen ani değişiklikler ile stresin artmasına yol açan durumlarda (hijyenik kusurlar, üretim alanında yoğun balık olması, temiz bariyerlerinin olmaması gibi) hastalıkların görülme sıklığının arttığı belirtilmektedir (Austin ve Austin 1993, Cabello 2006). Çalışmada izole edilen hastalık etkenlerinin özellikle su sıcaklığının arttığı aylarda daha fazla gözlenmesi bu bulguları desteklemektedir (Çizelge 3.1.2.). Olumsuz koşullarda hastalıkların artış göstermesi balıkların immun sisteminin etkinliğinin azalması olarak belirtilmiş, enfekte

balıklardan izolasyon zorluğunun enfeksiyonların hızlı yayılma olasılığını arttırdığı da vurgulanmıştır (Cabello 2006).

A. salmonicida, *L. garvieae*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri* gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan bölgelerde yüksek mortalite ile seyreden, ciddi ekonomik kayıplı bakteriyel hastalıklar olarak tanımlanmıştır (Austin ve Austin 1993, Eyngor ve ark 2004, Stevenson ve Airdrie 1984, Woo ve Bruno 2003).

Çalışmamızda toplam otuzyedı adet patojen mikroorganizmanın altı adedini *A. salmonicida*, onüç adedini *L. garvieae*, yedi adedini *V. anguillarum* ve onbir adedini *Y. ruckeri* (Çizelge 3.1.3) oluşturmuş ve bunların çeşitli antibakteriyellere karşı farklı düzeylerde duyarlılık gösterdikleri tespit edilmiştir (Çizelge 3.2.2. ve Çizelge 3.2.3.).

Kültür balıkçılığında bakteriyel hastalıkların sağaltımı veya kontrol altında tutulmasının temelinde iyi bir bakımın yattığı vurgulanmakla birlikte (Çağırğan ve ark 1996, Roberts ve Shepherd, 2001), aşılama (Midtlyng 2002) ve immun sistemi uyarıcı ilaç uygulamalarının da (Ortega ve ark 1996) kullanılabileceği ifade edilmektedir. Ancak çeşitli nedenlerle (stres, su kirliliği, beslenme yetersizliği gibi) ortaya çıkan hastalıklarla etkin bir şekilde mücadelede sınırlı da olsa antibakteriyel ilaç uygulamalarının göz ardı edilemeyeceği belirtilmektedir (Burhan ve ark 1996, Kum ve ark 2004, Meyer 1991, Supriyadi ve Rukyani 1992).

Çalışmalarda *Aeromonas sp.*'nin tetrasiklinlere (Sinha ve ark 2004), kinolonlara (Barnes ve ark 1991) ve fenikollere (Michael ve ark 2003, Samuelsen ve ark 1998) doğal olarak duyarlı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca önceki çalışmalarda akarsulardan izole edilen bazı bakterilerde kloramfenikol ve florfenikol dirençliliğinin (*Aeromonas sp.*, *F. psychrophilum* ve *Y. ruckeri* gibi bazı türlerde) yaygın olduğu açıklanmıştır (Chang ve Bolton 1987, Scmith ve ark 2000).

Boaventura ve ark (1997) *Aeromonas sp.*'nin sayısının çoğunlukla yetiştirme planında organik ve mineral balık artıklarının artması, akarsuların bakteriyel yükünün zenginleşmesi ve bakteriyel çeşitliliğin artış göstermesi ile dirençli bakterilerin oranlarında ve bakteriyel hastalıklarda artış görülebileceğini bildirmektedirler. Aynı çalışmada oksolinik asit ve oksitetrasikline dirençli *Aeromonas*'ların doruğa ulaştığı, oksolinik asit, oksitetrasiklin ve florfenikol direnç oranları karşılaştırıldığında ise izole ettikleri 10 florfenikol dirençli türün oldukça değerli olduğunu belirtmişlerdir. Pasaribu ve ark (1990)

Aeromonas'ların bazı türlerinin 50 ppm'den fazla tetrasiklin konsantrasyonlarına karşı dirençli olduğunu açıklamışlardır. Gordon ve ark (2006) oksitetrasiklinin tatlı sularda hidroliz ve hafif bozulması yüzünden kalitesiz stabilite sergilendiğini göstermiş; ancak, bu yerlerde florfenikolün böyle bir etkisinin olmaması nedeniyle balıklarda daha etkin ve daha düşük düzeyde kullanılmasına imkan sağladığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise izole edilen hastalık etkenlerine karşı oksitetrasiklinin farklı düzeylerde duyarlılık gösterirken, florfenikolün bu bakterilere karşı daha etkili olmasını (% 100) destekler niteliktedir (Çizelge 3.2.3.).

Kültür balıkçılığında oksitetrasiklin uygulamalarına (Eldar ve Ghittino 1999, Kum ve ark 2004) karşı direnç gelişebileceği, hatta bazı *Aeromonas sp.* enfeksiyonlarında bunun % 30'lara ulaştığı belirtilmektedir (Supriyadi ve Rukyani 1992). Yine aynı şekilde tetrasiklinlerin balık yetiştiriciliğinde bakteriyel patojenlerde ve su mikroflorasında dirence neden oldukları ifade edilmektedir. Balıklarda kullanım sıklığına rağmen oksitetrasiklinin ağızdan yapılan uygulamalarda suyun özelliğine bağlı olarak (ısı, pH, sertlik derecesi gibi) bağırsaklardan emiliminin oldukça düşük düzeylerde kalabileceği vurgulanmaktadır (Kum ve ark 2004). Bu çalışmada da oksitetrasiklinin sağaltım etkinliğinin düşük düzeylerde kalması belirtilen nedenlerden kaynaklanabileceğini göstermektedir. Amoksisilin uygulamalarının oldukça sınırlı kaldığı ve daha çok Atlantik salmonlarında *A. salmonicida* etkeninin neden olduğu furunkulozis enfeksiyonlarında kullanım alanı bulunduğu belirtilmektedir (Inglis ve ark 1992, Inglis ve ark 1993). Eritromisin uygulamalarının amoksisilinde olduğu gibi daha çok furunkulozis enfeksiyonlarında tercih edildiği, fakat bu antibakteriyel ilacın kullanımının balık yemlerine hoşla gitmeyen lezzet kattığı ve balıklar tarafından kullanımını oldukça kısıtladığını belirtmektedir (Kum ve ark 2004). Bizim çalışmamızda da *A. salmonicida*'nın eritromisine duyarlı olduğu tespit edilmiş; ancak, günümüzde balıklarda uygulama açısından belirtilen nedenlerden dolayı pek kullanım alanı bulamamıştır.

Hastalık etkenlerine karşı antibakteriyellerin doğru bir şekilde ve zamanında kullanılmasıyla hastalık daha kısa sürede kontrol altına alınsa da kontrolsüz ve tekrarlayan tedaviler şeklinde kullanıldığında hastalık etkenlerine karşı direnç oluşumuna neden olduğu vurgulanmaktadır. Dünyanın çeşitli bölgelerinde çeşitli antibakteriyellere karşı dirençlerin sık sık meydana geldiği ve balıklardan izole edilen *Aeromonas sp.*'lerde benzer

direnç örneklerinin varlığı rapor edilmiştir (Holmström ve ark 2003, Ko ve ark 1996, Mirand ve Zemelman 2002, Sinha ve ark 2004, Vivekanandhan ve ark 2002).

Guz ve Kozinska (2004) tüm *Aeromonas sp.*'rinde ampisiline oksitetrasikline, eritromisine dirençli, sulfametaksazol-trimetoprim, kloramfenikol, enrofloksasin ve linkomisine duyarlı olduklarını belirtmişlerdir. Akinbowale ve ark (2006) *Aeromonas sp.* 22 adet izolatta % 86'sının ampisilin ve amoksisiline, % 23'ünün nalidiksik asite, % 45,5'inin oksitetrasikline karşı dirençli, siprofloksasin ve gentamisine duyarlı olduklarını belirtirken, Schmidt ve ark (2000) *Aeromonas sp.*'lerin oksitetrasikline % 72 ve sulfametaksazol-trimetoprim'e % 44 direnç gösterdiğini belirlemişlerdir. Kirkan ve ark (2006) mikrodilüsyon ve E-Test yöntemleri kullanarak yaptıkları karşılaştırmalı bir çalışmada *A. salmonicida*'nın siprofloksasine duyarlı, tetrasiklin ve eritromisine karşı dirençli olduklarını; ancak sulfametaksazol - trimetoprim'e karşı ise kullanılan yöntem farklılığına göre duyarlı ve dirençli sonuçları olduğunu tespit etmişlerdir.

Bizim verilerimize göre *A. salmonicida*'nın oksitetrasiklin ve sulfametaksazol-trimetoprim duyarlılığı % 50 olarak belirlenmiş ve eritromisine karşı bu mikroorganizmanın % 83,3 düzeyinde orta derecede duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Çalışmalardaki farklılıkların coğrafik özelliklerden kaynaklanan su sıcaklık değerlerindeki ve antibakteriyel kullanımındaki farklılığa bağlı etkilerden (direnç gelişimi gibi) kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Baeck ve ark (2006) da *L. garvieae* türlerinin çoğunlukla trimethoprim antibiyotiğine duyarlı olduğunu belirtirken, Diler ve ark (2002) Türkiye'de izole edilen *L. garvieae* türünün eritromisin, kloramfenikol ve ampisiline duyarlı olduklarını göstermişlerdir. Çalışmamızda ise ampisilin, fusidik asit, gentamisin, linkomisin, nalidiksik asit, neomisin ve sulfametaksazol-trimetoprim'e karşı *L. garvieae*'nin dirençli, diğer antibakteriyellere de (amoksisilin, basitrasin, eritromisin, florfenikol, kloramfenikol, novobiyoisin, oksitetrasiklin) duyarlı oldukları belirlenmiştir (Çizelge 3.2.2., Çizelge 3.2.3.).

Akinbowale ve ark (2006) yaptıkları bir çalışmada 62 adet *Vibrio sp.* izole etmiş ve bu türlerin kloramfenikol, florfenikol, siprofloksasin, sulfametaksazol-trimetoprim'e karşı duyarlı olduklarını, ayrıca izole edilen *Vibrio* etkenlerinin % 40'ının ampicilline, % 45'inin amoksisiline ve % 34'ünün eritromisine dirençli olduğunu belirtmişlerdir. Vaseeharan ve ark (2005) *V. anguillarum*'un ampisiline % 100, kloramfenikole % 5, siprofloksasine %

52, eritromisine % 10, gentamisine % 22, nalidiksik asite % 33 ve oksitetrasikline % 38 dirençli olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda benzer sonuçlar elde edilmekle birlikte izole edilen *Vibrio anguillarum*'ın % 85,7 ampisiline ve basitrasine, %71,4 amoksisiline, %28,6 eritromisine ve % 100 fusidik asit, linkomisin ve sefoksitine dirençli olduğu tespit edilmiştir. Ortaya çıkan bu farklı sonuçların farklı coğrafik özelliklere sahip bölgelerde etkenlerin antibakteriyellere karşı farklı düzeylerde dirençlilik sergileyebileceğini göstermektedir.

Kirkan ve ark (2006) *Y. ruckeri* etkeninin siprofloksasin, eritromisin ve tetrasikline karşı duyarlı olduğunu belirtirken, çalışmamızda bu etkenin siprofloksasine karşı duyarlı oldukları gözlenmiştir. Ayrıca DeGrandis ve Stevenson (1985) çalışmamız ile uyumlu olarak *Y. ruckeri*'nin sulfonamidlere ve oksitetrasikline dirençli olduğunu belirtmişlerdir. Önceki yıllarda bu antibakteriyellere karşı duyarlı olan *Y. ruckeri* etkeninin yoğun antibakteriyel kullanımına bağlı olarak zamanla direnç kazanabildiğini göstermektedir. Diler ve ark (1998) ile Kılıç ve ark (2007) alabalık işletmelerinin tamamında bakteriyel incelemeler sonucunda balıkların hiçbirinde enterik kızıl ağız hastalığına özgü klinik vakalara rastlanmaksızın (ağız bölgelerinde, deri, yüzgeç ve anüs bölgelerinde eritemler, vücut yüzeyinde ve iç organlarda hemoraji gibi) *Y. ruckeri* izole etmişlerdir. Bu çalışmada da yersiniozis bakımından herhangi bir belirti göstermemiş balıklardan da bakterinin izole edilmesi hastalığın balıklarda latent olarak taşınabildiğini göstermektedir.

Mevsimsel değişiklikler ile hem klinik hem de subklinik hastalıklar yoğun stoklama ile açığa çıkmakta, yüksek su sıcaklıklarının ilkbahar sonu ve yaz başlarında artmasıyla birlikte hastalığa yakalanma olasılığını arttırmaktadır (Woo ve Bruno 2003). Malnar ve ark (1988) yüksek su sıcaklıklarının furunkulozisin gelişmesinde etkili bir faktör olduğunu, benzer şekilde subklinik *A. salmonicida* enfeksiyonunda mevsimsel olarak farklılık göstermesi sağaltımda dönemsel önemi ortaya koymaktadır (Hiney ve ark 1994, Jensen ve Larsen 1980, Scallan ve Smith 1993). Scallan (1983) bakteriyel salgınların hem su sıcaklıklarının artması hem de su sıcaklıklarındaki ani değişikliklerle balıkların strese girmesi sonucunda meydana geldiğini belirtmiştir. Genel bir kural olarak klinik ve subklinik balık hastalıklarında su sıcaklıklarının daha yüksek olduğu ya da ani sıcaklık değişimlerinin yaşandığı ilkbaharda daha yüksek oranda rastlandığı belirtilmektedir (Woo ve Bruno 2003). Ayrıca Alderman ve Hastings (1998) aquakültürde antibakteriyel kullanımındaki dönemsel kontrollerin şehirden şehire büyük farklılıklar gösterebileceğini

de bildirmiştir. Diler ve ark (2000b) havuz sularının bakteri yükünün çeşitli nedenlerle yükselmesinin balıkların derisindeki bakteri yükünün artmasına neden olduğunu, dolayısı ile havuzdaki bakteri sayısının artmasının doğrudan balık sağlığını etkileyebilecek bir risk faktörü olduğunu ortaya koymaktadır. Çalışmamızda bakteriyel hastalık etkenlerinin su sıcaklıklarının arttığı dönemlerde (Çizelge 3.1.2.) daha yüksek oranlarda izole edilmesi, sıcaklık artışı ile hastalıkların görülme sıklığı arasındaki ilişkiyi destekler niteliktedir.

Diler ve ark (2000b) balıkların öncelikle yaşadıkları suyun bakteriyel florasını yansıttıklarını, balıkların bağırsaklarında *Aeromonas sp.*, *Enterobacteriaceae sp.* ve *Vibrio sp.* gibi fermentatif bakterilerin bölgeye uyum sağladıkları dolayısı ile sağlıklı balıklarda iç organların steril olması beklenirken üremelerin meydana geldiği gözlemlenmiştir. Özellikle yetiştiricilik koşullarında balıklarının sürekli olarak stres faktörlerinden olumsuz etkilendiği ve bağışıklık sisteminin zayıfladığı durumlarda steril olması beklenen iç organlarda bakteriyel üremelerin meydana gelebileceği belirtilmektedir. Sonuçta balıklarının bakteriyel florasının yaşadıkları su mikroflorasını yansıtmakta olduğu görüşü çalışmamızda su sıcaklıklarının düşük olduğu kış aylarında hastalık etkenlerinin izole edilmesiyle de desteklenmiştir. Kılıç ve ark (2007) alabalık işletmelerinin pek çoğunda hastalığına özgü klinik bulgulara rastlamadan *Y. ruckeri* izole etmesi, benzer şekilde Diler ve ark (1998)'nin da Fethiye bölgesinde herhangi bir klinik belirti göstermeyen balıkların iç organlarından *Y. ruckeri* izole etmesi hastalığın latent olarak taşınabileceğini göstermiştir. Çalışmamızda kış aylarında izole edilen üremeler ile (*A. salmonicida*, *V. anguillarum*) (Çizelge 3.1.2.) hastalıkların yıl içerisinde latent olarak seyredebileceğini ve olumsuz şartlarda (su sıcaklığı, pH, stres gibi) beklenmedik bakteriyel hastalıkların görülebileceğini destekler niteliktedir.

Sayırsız araştırmacı çoğunlukla tuzlu su aquakültür üretim sistemindeki antibakteriyel direnç olayını ve sürekliliğini açıklamak için çeşitli çalışmalar yapmışlardır (Herwing ve ark 1997, Kerry ve ark 1996, Nygaard ve ark 1992, Scmith ve ark 2000, Sorum ve ark 1993). Aksine, Türkiye'deki aquakültürel üretimde tatlı su yetiştiriciliği ve alabalık üretiminde kullanılan antibakteriyeller ve bunların direnç gelişimleri hakkında çok fazla bilgi bulunmamaktadır. Bunun için çalışmamız alabalıklarda etken izolasyonu ve bu etkenlerin çeşitli antibakteriyellere karşı gösterdikleri duyarlılık farklılığının belirlenerek bilinçsiz ve yüksek dozda antibakteriyel kullanımını engellemek ve bilinçsiz antibakteriyel kullanımına bağlı problemler hakkında fikir edinebilmek adına oldukça önemlidir.

Antibakteriyel ajanlar insan, hayvan ve bitki enfeksiyonlarının kontrol ve önlenmesi için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Fakat birçok çalışma, bu ajanların aşırı kullanılmasının dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına neden olduğunu göstermektedir (Cabello 2006, Gordon ve ark 2006). Bakteriyel türlerin oksitetrasikline karşı direnç göstermesinin yavaş bir şekilde ortaya çıkması orijinal olarak beklenmekte ise de günümüzde dirençli türlerin hızlı bir şekilde gelişerek bütün evcil hayvanlarda bulunduğu bildirilmektedir (Baywater 1982, Supriyadi ve Rukyani 1992).

Çeşitli antibakteriyel kalıntıları çiftlikteki sağaltımını takiben atık sularda halen bulunduğu (Schmidt ve ark 2000, Smith ve ark 1994b, Vaughan ve ark 1996) ve bu antibakteriyel kalıntılarının çiftlik etrafında kalabildiği rapor edilmektedir (Hektoen ve ark 1995, Jacobsen ve Berglind 1988). Birçok çalışma çiftliklerde kullanılan antibakteriyel ajanlar ile balık çiftlikleri etrafındaki artan bakteriyel direnç seviyeleri arasında ilişki olduğunu belirtmektedir (Alcaide ve ark 2004, DePaola ve ark 1988, DePaola ve ark 1995, Guardabassi ve ark 2000, McPhearson ve ark 1991, Schmidt ve ark 2000). Bakteriyel direnç seviyelerinin hastalık etkenleri arasında farklı ilaç kullanımının etkili olabileceği, özellikle aquakültür sektöründe teşhisin çok iyi bir şekilde yapıldıktan sonra sağaltımına geçilerek etkili ilaç kullanımının oldukça önemli olduğu vurgulanmaktadır. Dirençli izolatların özellikle sulfametaksazol - trimetoprim, oksitetrasiklin, florfenikol ve amoksisilin direncinde belirleyici genetik elementlerin aquakültürde de tanımlandığını vurgulamaktadır (Kim ve Aoki 1998, Kruse ve Sorum 1994, Rosser ve Young 1999, Toranzo ve ark 1984). Çalışmamızda da eritromisine karşı *Y. ruckeri*'nin %100 (Çizelge 3.2.3.) dirençli olmasına rağmen diğer etkenlerin bu antibakteriyele karşı duyarlı yada orta derecede duyarlı olması ilerleyen dönemlerde diğer etkenlerin de eritromisine karşı direnç geliştirebileceklerini göstermektedir.

Bazı çalışmalarda antibakteriyel ilaç tedavisi ile enfeksiyöz etkenlerine karşı birkaç yılda direnç meydana geldiği (Sorum 1998, Sorum 1999) ve bunun toplum sağlığı ile ilgili olması dışında balıkların bakteriyel hastalıklarının kontrolünde önemli bir limit faktörü olduğu vurgulanmıştır (Smith ve ark 1994b). Bu durum direnç dağılımı, antibakteriyel dirençliliği ve yoğun antibakteriyel kullanımının gözlemlenmesi gerektiğini ortaya koymuştur (Aoki 1992, WHO 2002). Dirençli bakterilerin ortaya çıkması antibakteriyel ajanların yanlış ve kontrolsüz kullanımının bir sonucu olarak ilaç kullanım miktarı ve sıklığı ile balıklardan izole edilen türlerdeki direnç gelişimi arasındaki ilişki açıkça

belirlenmektedir (Smith ve ark 1994a). Son yıllarda yapılan çalışmalarda direnç gelişiminde artışların gözlenmesi, ilaç kullanımında doğru teşhisin yapılması, sadece gerekli olduğu zaman ilaç uygulanması, koruyucu önlem stratejileri ile hastalık kontrollerinin etkili bir şekilde değerlendirilmesi için standart pratik uygulamalar geliştirilmesinin önemi bir kez daha ön plana çıkmıştır (Kum ve ark 2004, Kirkan ve ark 2006).

5. SONUÇ

Çalışma süresi içinde izole edilen bakterilerden *A. salmonicida*'nın enrofloksasin, florfenikol, fusidik asit, gentamisin, kloramfenikol, nalidiksik asit, novobiosin, oksitetrasiklin, siprofloksasin ve sulfametaksazol - trimetoprim'e duyarlı, eritromisin ve neomisin'e orta derecede duyarlı, *L. garvieae*'nin amoksisilin, basitrasin, eritromisin, florfenikol, kloramfenikol, novobiosin ve oksitetrasiklin'e duyarlı, enrofloksasin, sefoksitin ve siprofloksasin'e orta derecede duyarlı, *V. anguillarum*'un enrofloksasin, florfenikol, gentamisin, kloramfenikol, nalidiksik asit, novobiosin, oksitetrasiklin, siprofloksasin, sulfametaksazol - trimetoprim'e duyarlı, eritromisin ve neomisin'e orta derecede duyarlı, *Y. ruckeri*'nin de enrofloksasin, florfenikol, gentamisin, nalidiksik asit ve siprofloksasin'e duyarlı oldukları gözlenirken diğer antibakteriyellere dirençli oldukları tespit edilmiştir.

Bu etkenlerin tümünün ortak olarak enrofloksasin, florfenikol ve siprofloksasine duyarlı oldukları, dolayısıyla *A. salmonicida*, *L. garvieae*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri* enfeksiyonlarına karşı etkili bir şekilde kullanılabileceği gözlenmiştir.

İzole edilen bakteriyel patojenlerin alabalıklarda latent ve ölümcül enfeksiyonlara neden olduğu ve zaman içinde antibakteriyellere karşı farklı duyarlılık düzeyleri geliştirdikleri göz önüne bulundurularak işletmedeki hijyenik koşulların sağlanması yanında stok fazlalığından ve bilinçsiz antibakteriyel ilaç kullanımından kaçınarak bakteriyel hastalıklarla mücadele çalışmalarını yıl boyunca yapmaları önerilebilir.

ÖZET

Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Sık Görülen Patojen Mikroorganizmaların Tespiti Ve Antibiyotik Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi

Çalışma gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) önemli ekonomik kayıplara sebep olan bazı önemli bakteriyel hastalık ve etkenlerinin tespit edilmesi, sağaltımda gereksiz ilaç kullanımına bağlı kalıntı sorunlarının ve tedavi maliyetinin en aza indirilebilmesi için etkenlerin çeşitli antibakteriyellere karşı duyarlılık derecelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla çalışmada, alabalıklarda önemli bakteriyel hastalık etkenlerinin izolasyon, identifikasyon ve etkili antibakteriyel sağaltım seçeneklerinin belirlenmesi için aylık dönemler içinde 8'er adet olmak üzere 12 ay boyunca toplam 96 adet gökkuşığı alabalık örneklerinin iç organları (karaciğer, dalak, böbrek) ve solungaçlarından uygun besiyerlerine steril koşullarda ekimler yapılarak etkenlerin 22 ve 37 °C'lik sıcaklıklarda inkübasyonu sonucunda izolasyonları gerçekleştirilmiştir. İdentifikasyon amacıyla bakterilerin morfolojik ve biyokimyasal testlerini takiben balıklarda önemli bakteriyel enfeksiyonlara neden olan *Aeromonas salmonicida*, *Lactococcus garvieae*, *Vibrio anguillarum* ve *Yersinia ruckeri* izole edilmiştir. Toplam 96 adet gökkuşığı alabalık örneklerinden 37 adet (% 38,5) izolat elde edilmiştir. Bu izolatların 6'sı (% 16,22) *Aeromonas salmonicida*, 13'ü (% 35,13) *Lactococcus garvieae*, 7'si (% 18,92) *Vibrio anguillarum* ve 11'i (% 29,73) *Yersinia ruckeri*'dir. İzolatların çeşitli antibakteriyellere karşı duyarlılıklarında Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır.

Yapılan antibiyogram testlerine göre *Aeromonas salmonicida*'nın enrofloksasin, florfenikol, fusidik asit, gentamisin, kloramfenikol, nalidiksik asit, novobiosin, oksitetrasiklin, siprofloksasin ve sulfametaksazol - trimetoprim'e duyarlı, eritromisin ve neomisin'e orta derecede duyarlı, *Lactococcus garvieae*'nin amoksisilin, basitrasin,

eritromisin, florfenikol, kloramfenikol, novobiosin ve oksitetrasiklin'e duyarlı, enrofloksasin, sefoksitin ve siprofloksasin'e orta derecede duyarlı, *Vibrio anguillarum*'un enrofloksasin, florfenikol, gentamisin, kloramfenikol, nalidiksik asit, novobiosin, oksitetrasiklin, siprofloksasin, sulfametaksazol-trimetoprim'e duyarlı, eritromisin ve neomisin'e orta derecede duyarlı, *Yersinia ruckeri*'nin de enrofloksasin, florfenikol, gentamisin, nalidiksik asit ve siprofloksasin'e duyarlı iken bu etkenlerin diğ er antibakteriyellere dirençli oldukları tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu hastalık etkenlerinin tümünün enrofloksasin, florfenikol ve siprofloksasine duyarlı oldukları tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler; G okkuşağı alabalığı, patojen mikroorganizma, antibakteriyel duyarlılık

SUMMARY

Detection of Frequently Seen Pathogen Microorganisms and Determination of Antibiotic Susceptibility in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

The present study aimed to detect some significant bacterial agents that causes important economic loses in cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms and to determine their antibiotic susceptibility for reduction of the treatment costs and remainder problem related to unnecessary drug usage.

Totally 96 rainbow trout comprised 8 fish per mount during 12 mounts from were used in the study for detection of the important bacterial diseases, for isolation the agents and for determination of effective antibiotic treatment alternatives. Samples were taken from spleen, liver, kidney and gill and were streaked onto convenient agar plates at sterile condition. Agents incubated at 22 and 37 °C to make isolation at least. Following morphological and biochemical tests for identification of bacteria, *Aeromonas salmonicida*, *Lactococcus garvieae*, *Vibrio anguillarum* and *Yersinia ruckeri*, which cause important bacterial infections in fish, were isolated. From total 96 rainbow trout samples, 37 (% 38,5) isolates were obtained. 6 (% 16,22) *Aeromonas salmonicida*, 13 (% 35,13) *Lactococcus garvieae*, 7 (%18,92) *Vibrio anguillarum* and 11 (% 29,73) *Yersinia ruckeri* of total isolates were found.

Kirby-Bauer disc diffusion method was used for determination of antibacterial susceptibility. According to antibiotic susceptibility tests, *Aeromonas salmonicida* was susceptible to enrofloxacin, florfenicol, fusidic acid, gentamicin, chloramphenicol, nalidixic acid, novobiocin, oxytetracycline, ciprofloxacin and sulphamethoksazole-trimethoprim, but intermediate to erythromycin and neomycin *Lactococcus garvieae* was susceptible to amoxicillin, bacitracin, erythromycin, florfenicol, chloramphenicol, novobiocin and oxytetracycline but intermediate to enrofloxacin, cefoxitin and

ciprofloxacin, *Vibrio anguillarum* was susceptible to enrofloxacin, florfenicol, gentamicin, chloramphenicol, nalidixic acid, novobiocin, oxytetracycline, ciprofloxacin, sulphamethoxazole-trimethoprim, but intermediate to erythromycin and neomycin. *Yersinia ruckeri* was susceptible to enrofloxacin, gentamicin, nalidixic acid and ciprofloxacin but all of these bacteria were resistant to other antimicrobials.

In conclusion, it was determined that all of these pathogen agents isolated were susceptible to enrofloxacin, florfenicol and ciprofloxacin.

Key words; Rainbow trout, pathogen microorganism, antibacterial susceptibility

KAYNAKLAR

Akbulut S, Ketten A (2001) *Düzce yöresindeki alabalık yetiştiriciliği üzerine bir çalışma*, Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 2: 49-60.

Akinbowale OL, Peng H, Barton MD (2006) *Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia*, Journal of Applied Microbiology, 100: 103-113.

Alcaide E, Blasco MD, Esteve C (2004) *Occurrence of drug-resistance in two European eel farms*, Applied and Environmental Microbiology, 71 (6): 3348-3350.

Alderman DJ, Hastings TS (1998) *Antibiotic use in aquaculture: development of antibiotic resistance-potential for consumer health risks*, International Journal of Food Science and Technology, 33: 139-155.

Al-Harbi, Ahmed H (1994) *First isolation of Streptococcus sp. from hybrid tilapia (Orcheochromis niloticus x O. Aureus) in Saudi Arabia*, Aquaculture, 128: 195-201.

Aoki T (1992) *Present and future problems concerning the development resistance in aquaculture*, In Chemotherapy in Aquaculture, p: 254-262.

Arda M, Seçer S, Sarıeyyüpoğlu M (2002) *Balık hastalıkları*, Medisan Yayın Serisi, 1. Baskı, Ankara.

Austin B, Austin AD (1989) *Methods for the microbiological examination of fish and Shellfish*, Ellis Horwood, London, UK.

Austin B, Austin DA (1993) *Bacterial fish pathogens disease in farmed and wild fish*, Ellis Horwood, London.

Aydın S, Çıltas A, Akyurt İ, (1997) *Investigations on systemic Aeromonas hydrophila infections appeared in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss Walbaum) in 1991–1995*, Akdeniz Balıkçılık Kongresi (9–11 Nisan 1997), İzmir, s: 359–369.

Aydın S, Erman Z, Bilgin OC (2001) *Investigations of Serratia liquefaciens in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss Walbaum)*, Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 25: 643-650.

Aydın F, Köksal G, Demir N, Bekcan S, Kırkağaç M, Gözgözoğlu E, Erbaş S, Deniz H, Matlaş Ö, Arpa H (2006) *Su ürünleri yetiştiriciliği ve politikalar*, Erişim: [http://www.zmo.org.tr/etkinlikler/6tk05/039fikriaydin.pdf], Erişim Tarihi: 15.12.2006.

Baeck GW, Kim HJ, Gomez DK, Park SC (2006), *Isolation and characterization of Streptococcus sp. from diseased flounder (Paralichthys olivaceus) in Jeju Island*, Journal of Veterinary Sciences, 7 (1): 53-58.

Baker KB, Chandler EA, Evans GRE, Tyson JD, Miller DJS, Baird JH (1998) *General guidelines on the use of antimicrobials*, The Veterinary Record, 143: 565-566.

Balta F (1997) *Kültürü yapılan alabalıklarda (Oncorhynchus mykiss) görülen Flexibacter psychrophila enfeksiyonu*, IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, (17-19 Eylül 1997), Eğirdir/Isparta, p: 641 – 648.

Barnes AC, Lewin CS, Hastings TS, Amyes SGB (1991) *Bactericidal activity of quinolones, including flumequine, against Aeromonas salmonicida*, Meeting on Problems of Chemotherapy in Aquaculture, p: 287-293.

Barton MD, Pratt R, Hart WS (2003) *Antibiotic resistance in animals*, Communicable Diseases Intelligence, 27: 121-126.

Bauer AU, Kirby WM, Sherris JC and Track M (1966) *Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method*, Journal of Clinical Pathology, 45: 493-494.

Baywater RJ (1982) *The control of infectious diseases-chemotherapy*, The English Language Book Society and Bailliere Tidal, London.

Bercovier H, Ghittino C, Eldar A (1997) *Immunization with bacterial antigens: infections with streptococci and related organisms*, Developments in Biological Standardization, 90: 153-160.

Bilgehan H (1995) *Klinik mikrobiyolojik tanı*, 2. Baskı, Fakülteler Kitapevi, Barış Yayınları, s: 641-705, Ankara.

Bjorklund H (1991) *Oxytetracycline and oxolinic acid in aquaculture-analysis, pharmacokinetics and environmental impact*, Thesis, Abo University, Finland.

Boaventura R, Pedro AM, Coimbra J, Lencastre E (1997) *Trout farm effluents: characterization and impact on the receiving streams*, Environmental Pollution, 95: 379-387.

Bondad-Reantaso MG, Subasinghe RP, Arthur JR, Ogawa K, Chinabut S, Adlard R, Shariff M (2005) *Disease and health management in Asian aquaculture*, Veterinary Parasitology, 132: 249-272.

Burka JF, Hammell KL, Johnson GR, Rainnie DJ, Speare DJ (1997) *Drugs in salmonid culture*, Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 20: 333-349.

Burhan E, Akalın N, Yılmaz H (1996) *Balık sağlığı, çevre ilişkisi ve stres mekanizması*, Bornova Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi, 20: 173-188.

Busch RA, Lingg A (1975) *Establishment of an asymptomatic carrier state infection of enteric redmouth disease in rainbow trout (Salmo gairdneri)*, Journal of the Fisheries, Research Board of Canada, 32: 2429-2432.

Busch RA (1982) *Enteric redmouth disease*, Symposium international de talloires 10-12 May, Les Antigenes Des Micro-organismes Pathogens de Poissons, Collection Fondation Marcel Merieux, p: 201-224.

Cabello FC (2006) *Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment*, Environmental Microbiology, 8 (7): 1137-1144.

Cağırgan H, Tanrıkul TT (1995) *A new problem Enterococcus-like infection in Rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) farms in Turkey (in Turkish)*, Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü Dergisi C, 19 (33): 9-19.

Cağırgan H (2004) *Biotyping of Lactococcus garvieae Isolated from Turkey*, EU Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 21: 267-269.

Carson J, Wilson T (2002) *Yersiniosis in fish*, Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedures, p: 1-12.

Chang BJ, Bolton SM (1987) *Plasmids and resistance to antimicrobial agents in Aeromonas sobria and Aeromonas hydrophila clinical isolates*, Antimicrob Agents Chemother, 31: 1281-1282.

Chapman PF, Cipriano RC, Teska JD (1991) *Isolation and phenotypic characterization of an oxidase-negative Aeromonas salmonicida causing furunculosis in coho salmon (Oncorhynchus kisutch)*, Journal of Wildlife Diseases, 27 (1): 61-67.

Colwell RR, Grimes DJ (1984) *Vibrio diseases of marine fish populations*, Helgol Meeresunters, 37: 265-287.

Çağırgan H, Tanrıkul TT, Tokşen E (1996) *Balık hastalıklarından korunmada genel hijyenik tedbirler*, Bornova Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi, 20: 39-55.

Davenport J, Black K, Burnell G, Cross T, Culloty S, Ekaratne S, Furness B, Mulcahy M, Tretmeyer H (2003) *The ecological issues*, Aquaculture, Blackwell Publ, USA, p: 89.

DeGrandis SA, Stevenson RM (1985) *Antimicrobial susceptibility patterns and R plasmid-mediated resistance of the fish pathogen Yersinia ruckeri*, Antimicrob Agents Chemother, 27: 938-942.

Demet Ö (1994) *Türkiye’de veteriner ilaçları üretimi, pazarlanması ve güvenli kullanımına ilişkin değerlendirmeler*, Türkiye’de veteriner ilaçları üretimi, pazarlanması ve güvenli kullanımı ve kalıntı sorunları sempozyumu, Türk Toksikoloji Derneği ve Visad, Ankara.

Demircan D, Candan A (2006) *Identification of Vibrio anguillarum by PCR (rpoN gene) associated with vibriosis in marine fish in Turkey*, Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 30: 305-310.

DePaola A, Flynn PA, McPhearson RM, Levy SB (1988) *Phenotypic and genotypic characterization of tetracycline- and oxytetracycline-resistant Aeromonas hydrophila from cultured channel catfish (Ictalurus punctatus) and their environments*, Applied and Environmental Microbiology, 54: 1861-1863.

DePaola A, Peeler JT, Rodrick GE (1995) *Effects of oxytetracycline medicated feed on antibiotic resistance of gram-negative bacteria in catfish ponds*, Applied and Environmental Microbiology, 61: 2335-2340.

Diler Ö, Demirka T, Altun S, Çalıküşu F (1998) *Fethiye bölgesindeki bazı alabalık işletmelerinde görülen Yersiniosis'in mevsimsel dağılımı üzerine bir araştırma*, Doğu Anadolu III. Su Ürünleri Sempozyumu, p: 207-220.

Diler Ö, Altun S, Diler A, Işıklı B I, Gürcan OC (2000a) *Bazı balık çiftliklerinde gökkuşığı alabalıklarının (Oncorhynchus mykiss) mikroflorasının tespiti ve kontrolü üzerine bir çalışma*, SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4: 58-69.

Diler Ö, Altun S, Çalıküşu F, Diler A, (2000b) *Gökkuşığı alabalığı (Oncorhynchus mykiss)'nın yaşadığı ortam ile ilişkili kalitatif ve kantitatif bakteriyel florası üzerine bir araştırma*, Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 24: 251-259.

Diler O, Altun S, Adiloglu AK, Işıklı B (2002) *First occurrence of streptococcosis affecting farmed rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) in Turkey*, Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 22: 21-26.

Domonech A, Prieta J, Fernandez-Garayzabal JF, Collins MD, Jones D, Dominguez L (1993) *Phenotypic and phylogenetic evidence for a close relationship between Lactococcus garvieae and Enterococcus seriolicida*, Microbiologia, 9: 63-68.

Eldar A, Ghittino C, Asanta L, Bozzetta E, Gorla M, Prearo M, Bercovier H (1996), *Enterococcus seriolicida is a junior synonym of Lactococcus garvieae, a causative agent of septicemia and meningoencephalitis in fish*, Current Microbiology, 32: 85-88.

Eldar A, Ghittino C (1999) *Lactococcus garvieae and Streptococcus iniae infections in rainbow trout Oncorhynchus mykiss: similar, but different diseases*, Disease of Aquatic Organisms, 36: 227-231.

Eldar A, Gorla M, Ghittino C, Zlotkin A, Bercovier H (1999) *Biodiversity of Lactococcus garvieae strains isolated from fish in Europe, Asia and Australia*, Applied and Environmental Microbiology, 65 (3): 1005-1008.

Ellard K (2007) Erişim: [<http://www.disease-watch.com/documents/CD/index/html/fb005gud.htm#>], Erişim Tarihi: 27.06.2007.

Evelyn TPT (1971) *First records of vibriosis in Pacific salmon cultured in Canada, and taxonomic status of the responsible bacterium, Vibrio anguillarum*, Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 28: 517-525.

Eyngor M, Zlotkin A, Ghittino C, Prearo M, Douet DG, Chilmonczyk S, Eldar A (2004) *Clonity and diversity of the fish pathogen Lactococcus garvieae in Mediterranean Countries*, Applied and Environmental Microbiology, 70 (9): 5132-5137.

FAO (Food and agricultural Organisation) (1995) *The State of the World Fisheries and Aquaculture*, Rome, p: 27.

FAO (Food and Agriculture Organisation) (1997) *Review of the State of the World Aquaculture*, FAO Fish Circular, Number 886, Rev., 1.

FAO Corporate Document Repository (2006) *Development of intensive freshwater fish culture project, the Hungarian People's Republic*, Fish disease research, Erişim: [http://www.fao.org/docrep/field/003/P6713E/P6713E04.htm], Erişim Tarihi: 11.10.2006.

Ghittino C, Prearo M (1992) *Report of streptococcosis in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss in Italy: preliminary note*, Boll. Soc. It. Patol. Ittica., 8: 4-11.

Gordon L, Giraud E, Ganiere JP, Armand F, Bouju-Albert A, de la Cotte N, Mangion C, Le Bris H (2006) *Antimicrobial resistance survey in a river receiving effluents from freshwater fish farms*, Journal of Applied Microbiology, p: 1167-1176.

Guardabassi L, Dalsgaard A, Raffatellu M, Olesen JE (2000) *Increase in the prevalence of oxolinic acid resistant Acinetobacter spp. observed in a stream receiving the effluent from a freshwater trout farm following the treatment with oxolinic acid-medicated feed*, Aquaculture, 188: 205-218.

Guz L, Kozinska A (2004) *Antibiotic susceptibility of Aeromonas hydrophila and A. sobria isolated from farmed carp (Cyprinus carpio)*, Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 48: 391-395.

Hektoen H, Berge JA, Hormazabal V, Yndestad M (1995) *Persistence of antibacterial agents in marine sediments*, Aquaculture, 133: 175-184.

Herwig RP, Gray JP, Weston DP (1997) *Antibacterial resistant bacteria in surficial sediments near salmon net-cage farms in Puget Sound, Washington*, Aquaculture, 149: 263-283.

Hiney MP, Kilmartin JJ, Smith PR (1994) *Detection of Aeromonas salmonicida in Atlantic salmon with asymptomatic furunculosis infections*, Disease of Aquatic Organisms, 19: 161-167.

Hirsch R, Ternes T, Haberer K, Kratz KL (1999) *Occurrence of antibiotics in the aquatic environment*, Science of the Total Environment, 225: 109-118.

Holmström K, Graslund S, Wahlström A, Pongshompoo S, Bengtsson BE, Kautsky N (2003) *Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts and human health*, International Journal of Food Science and Technology, 38: 255-266.

Horsley RW (1977) *A review of the bacterial flora of teleost and elasmobranchs, including methods for its analysis*, Journal of Fish Biology, 10: 529-553.

Inglis V, Palmer R, Shatwell JP, Branson EJ, Richards RH (1993) *Amoxicillin concentrations in serum of Atlantic salmon (Salmo salar L.) during furunculosis therapy*, Veterinary Record, 133: 617-621

Inglis V, Soliman MK, Higuera-Ciapara I, Richards RH (1992) *Amoxicillin in the control of furunculosis Atlantic salmon parr*, Veterinary Record, 130: 45-48.

İspir Ü, Şeker E, Sağlam N, Dörücü M (2004) *Doğu Anadolu Bölgesinde bazı gökkuşağı alabalığı (Oncorhynchus mykiss) işletmelerinde görülen Flavobacterium psychrophilum enfeksiyonunun araştırılması*, Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 16 (4): 718-724.

Jacobsen P, Berglind L (1988) *Persistence of oxytetracycline in sediments from fish farms*, Aquaculture, 70: 365–370.

Jensen NJ, Larsen JL (1980) *Seasonal occurrence of Aeromonas salmonicida carriers*, Fish Diseases, p: 87-93.

Kalaterveytta (2007a) Erişim: [www.abo.fi/instut/fisk/Fin/Bakterier/vibrio.htm], Erişim Tarihi: 25.06.2007.

Kalaterveytta (2007b) Erişim: [http://www.abo.fi/instut/fisk/Fin/Bakterier/yersinia.htm], Erişim Tarihi: 26.06.2007.

Karataş S, Candan A (1997) *Marmara bölgesindeki bir gökkuşağı alabalığı (O. mykiss) işletmesinde yersiniozis vakası*, IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, (17 – 19 Eylül 1997), Eğirdir/Isparta, s: 641 – 648.

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

Kılıç A, Şeker E, Özcan M, İspir Ü (2007) *Elazığ'daki gökkuşağı alabalığı (O. mykiss) işletmelerinin bakteriyel yönden incelenmesi*, Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 19 (2): 129-132.

Kim EH, Aoki T (1998) *Sequence analysis of the florfenicol resistance gene encoded in the transferable R-plasmid of a fish pathogen, Pasteurella piscida*, Microbiology and Immunology, 9: 665-669.

Kirkan S, Goksoy OE, Kaya O (2000) *The isolation of Yersinia ruckeri from Rainbow trouts in Aydın region*, Journal of Pendik Veterinary Microbiology, 31: 27-30.

Kirkan S, Goksoy OE, Kaya O, Tekbiyik S (2006) *In-vitro antimicrobial susceptibility of pathogenic bacteria in rainbow trout (O. mykiss, Walbaum)*, Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 30: 337-341.

Ko CW, Yu KW, Lui CY, Huang CT, Leu SH, Chuang YC (1996) *Increasing antibiotic resistance in clinical isolates of Aeromonas strains in Taiwan*, Antimicrob Agents Chemother, 40: 1260-1262.

Kocabatmaz M, Ekingen G (1984) *Değişik tür balıklarda kan örneği alınması ve hematolojik metotların standardizasyonu*, Doğa dergisi, Veteriner ve Hayvancılık, 8 (2): 149-159.

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC (1997) *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, 5th Ed, Lippincott, New York.

Kruse H, Sorum H (1994) *Transfer of multiple drug resistance plasmids between bacteria of diverse origins in natural microenvironments*, Applied and Environmental Microbiology, 60: 4015-4021.

Kum C, Gökbulut C, Akar F, Kırcan Ş, Sekkin S (2004) *Gökkuşluğu Alabalıklarında (Oncorhynchus mykiss) Enterococcus seriolicida İzolasyonu ve Etkili Antibakteriyel Sağaltım Seçeneğinin Belirlenmesi*, Veteriner Hekimler Derneği Dergisi, 75 (3): 47-53.

Kusuda K, Kawai K, Salati F, Banner CR, Freyer JL (1991) *Enterococcus serolocida sp nov, a fish pathogen*, International Journal of Systematic Bacteriology, 41: 406-409.

Larsen JL (1982) *Vibrio anguillarum: prevalence in three carbohydrate-loaded marine recipients and a control*, Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene, 3: 519-530.

Larsen JL, Rasmussen HB, Dalsgaard I (1988) *Study of Vibrio anguillarum strains of different sources with emphasis on ecological and pathobiological properties*, Applied and Environmental Microbiology, 54: 2264-2267.

Lassen J (1975) *Rapid identification of gram negative rods using three tube methods combined with dictiomic key*, Acta Pathology Microbiology Scandinavian (Seed-B), 83: 525-532

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

Levy SB (1998) *The challenge of antibiotic resistance*, Scientific American, 3: 32-39.

Lillehaug A, Lunestad BT, Grave K (2003) *Epidemiology of bacterial diseases in Norwegian aquaculture-a description based on antibiotic prescription data for the ten-year period 1991 to 2000*, Diseases of Aquatic Organisms, 53: 115-125.

Malnar L, Tezkeredzic E, Coz-Rakovac R (1988) *Epizootiology, pathogenesis, diagnosis, treatment and prophylaxis of furunculosis*, Ichthyologia, 20: 67-76.

Mata AI, Gibello A, Casamayor A, Blanco MM, Dominguez L, Fernandez-Garayzabal JF (2004) *Multiplex PCR assay for detection of bacterial pathogens associated with warm-water Streptococcosis in fish*, Applied and Environmental Microbiology, 70 (5): 3183-3187.

McPhearson RM, DePaola A, Zywno SR, Motes ML, Jr AM, Guarino AM (1991) *Antibiotic resistance in Gram negative bacteria from cultured catfish and aquaculture ponds*, Aquaculture, 99: 203-211.

Meyer FP (1991) *Aquaculture disease and health management*, Journal of Animal Science, 69: 4201-4208.

Michel C, Kerouault B, Martin C (2003) *Chloramphenicol and florfenicol susceptibility of fish-pathogenic bacteria isolated in France: comparison of minimum inhibitory concentration, using recommended provisory standards for fish bacteria*, Journal of Applied Microbiology, 95: 1008-1015.

Middlyng JP (2002) *A review of the main methods for prevention and control of infectious fish diseases*, Aquaculture Seminar, İzmir, p: 1-15.

Mirand CD, Zemelman R (2002) *Antimicrobial multiresistance in bacteria isolated from freshwater Chilean salmon farms*, Science of the Total Environment, 293: 207-218.

Munro ALS (1982) *The pathogenesis of bacterial diseases of fish*, Microbial Disease of Fish, Academic Press, London, p: 131-149.

Muzquiz JL, Royo FM, Ortega C, De Blas I, Ruiz I, Alonso JL (1999) *Pathogenicity of streptococcosis in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss): dependence on age of diseased fish*, Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 19: 114-119.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (1993) *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, 5th Edition, Approved Standard, M2-A5, Volume 13, No:24, Villanova, PA.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (1994) *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, 5th Informational Supplement, M100-S5, Volume 14, No:16, Villanova, PA.

Neumann A (2007) Erişim: [<http://www.cartinafinland.fi/kuvapankki/browse.php?a=all&cid=175>], Erişim Tarihi: 25.06.2007

Nygaard K, Lunestad BT, Hektoen H, Berge JA, Hormazabal V (1992) *Resistance to oxytetracycline, oxolinic acid and furazolidone in bacteria from marine sediments*, Aquaculture, 104: 31-36.

Ortega C, Ruiz I, De Blas I, Musquiz JL, Fernandez A, Alonso JL (1996) *Furunculosis control using using a paraimmunization stimulant (Baypamun) in rainbow trout*, Veterinary Record, 27: 561-568.

Pasaribu FH, Dalimunthe N, Poeloengan M (1990) *Treatment and prevention of red spot disease*, Proceedings of national seminar II fish and shrimp disease, Seameo-Biotrop, Indonesia.

Rangdale RE, Richards RH, Alderman DJ (1997) *Minimum inhibitory concentrations of selected antimicrobial compounds against Flavobacterium psychrophilum the causal agent of rainbow trout fry syndrome (RTFS)*, Aquaculture, 158: 193-201.

Ravelo C, Magarinos SB, Lopez-Romalde S, Toranzo AE, Romalde JL (2003) *Molecular fingerprinting of fish pathogenic Lactococcus garvieae strains by random amplified polymorphic DNA analysis*, Journal of Clinical Microbiology 41: 751-756.

Reed PA, Francis-Floyd R (1996) *Vibrio infections of fish*, Erişim: [http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/FA/FA03600.pdf], Erişim Tarihi: 10.05.2007.

Roberts RJ (1989) *Fish pathology*, Baillere Tindall, London, p: 302-312.

Roberts RJ, Shepherd JC (2001) *Handbook of trout and salmon disease*, 3rd Ed, Blackwell Science, London, UK.

Rodgers CJ (1991) *The usage of vaccination and antimicrobial agents for control of Yersinia ruckeri*, Journal of Fish Diseases, 14: 291-301.

Rosser SJ, Young HK (1999) *Identification and characterization of class 1 integrons in bacteria from an aquatic environment*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 44: 11-18.

Salati F, Tassi P, Bronzi P (1996) *Isolation of Enterococcus like bacterium from diseased Adriatic Sturgeon Acipenser naccarii, farmed Italy*, Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 16 (3): 96-99.

Salmon Research at Bodega Marine Laboratory (2007) Erişim: [www-bml.ucdavis.edu/facresearch/salmonpath.html], Erişim Tarihi: 25.06.2007.

Samuelsen OB, Hjeltne B, Glette J (1998) *Efficacy of orally administered florfenicol in the treatment of furunculosis in Atlantic salmon*, Journal of Aquatic Animal Health, 10: 56-61.

Sarma PS (2002) *Aeromonas jandaei cellulitis and bacteremia in a man with diabetes*, American Journal of the Medical Sciences, 112: 325.

Savaş H, Yıldırım Y, Kurtoğlu İZ, Başınar N, Alkan A, Gürel M, Ergün H, Firidin ř, Kutlu İ, Serdar S, Zengin B (2006) *Ordu ilinin Perşembe ilçesinde faaliyet gösteren yüzer kafes işletmelerinin çevresel etki ve su ürünleri sağlığı yönünden izlenmesi projesi*, T.C. Tarım ve Köyışleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Trabzon.

Scallan A (1983) *Investigations into asymptomatic carriers of furunculosis*, PhD Thesis, National University of Ireland.

Scallan A, Smith PR (1993) *Importance of sampling time in detecting stres inducible furunculosis in Atlantic salmon smolts*, Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 13: 210-212.

Schmidt AS, Bruun MS, Dalsgaard I, Pedersone K, Larsen JL (2000) *Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms*, Applied and Environmental Microbiology, 66: 4908-4915.

Schwarz S, Noble WC (1999) *Aspects of bacterial resistance to antimicrobials used in veterinary dermatological practise*, Veterinary Dermatology, 10: 163-176.

Sinha S, Shimada T, Ramamurthy T, Bhattachary SK, Yamasaki S, Takeda Y, Nair GB (2004) *Prevalence, serotype distribution, antibiotic susceptibility and genetic profiles of mezophilic Aeromonas species isolated from hospitalized diarrhoeal cases in Kolkata, India*, Journal of Medical Microbiology, 53: 527-534.

Smith P, Hiney M, Samuelson O (1994a) *Bacterial resistance to antimicrobial agents used in fish farming: a critical evaluation of method and meaning*, Annual Review of Fish Diseases, 4: 273-313.

Smith P, Donlon J, Coyne R, Cazabon D (1994b) *Fate of oxytetracycline in freshwater fish farm: influence of effluent treatment systems*, Aquaculture, 120: 319.

Sorum H (1998) *Mobile drug resistance genes among fish bacteria*, APMIS Suppl, 106: 74-76.

Sorum H (1999) *Antibiotic resistance in aquaculture*, Acta Veterinaria Scandinavica Supply, 92: 29-36.

Sorum H, Kvello JH, Hastein T (1993) *Occurrence and stability of plazmids in Aeromonas salmonicida ss salmonicida isolated from salmonids with furunculosis*, Disease of Aquatic Organisms, 16: 199-206.

Stevenson RMW, Airdrie DW (1984) *Isolation of Yersinia ruckeri Bacteriophages*, Applied and Environmental Microbiology, p: 1201-1205.

Supriyadi H, Rukyani A (1992) *The use of chemotherapeutic agents for the treatment of bacterial disease of fish and shrimps in Indonesia*, Disease in Asian Aquaculture I, p: 515-517.

Şanlı Y (1994) *Hayvan yetiştiriciliğinde antibakteriyel ilaç kullanımı ve çok yönlü sakıncaları*, Türkiye’de Veteriner İlaçları Üretimi, Pazarlanması ve Güvenli Kullanımı ve Kalıntı Sorunları Sempozyumu, Türk Toksikoloji Derneği ve Visad, Ankara.

TAGC (The Atlantic Genome Centre) (2007) Erişim: [<http://tagc.ca/aeromonas.php>], Erişim Tarihi: 25.06.2007.

Timur G, Timur M (1991) *An outbreak of enteric redmouth disease in farmed rainbow trout (O. mykiss) in Turkey*, Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 11 (5): 182–183.

Timur G, Karataş S, Çolak S, Akaylı T, (1996) *Gökkuşluğu alabalık (Oncorhynchus mykiss, W, 1792) yavrularında görülen furunkulosis hastalığı üzerine bir çalışma*, II. International Symposium on Aquatic Products, İstanbul, Türkiye.

TKB (Tarım ve Köyişleri Bakanlığı) (2003) *TKB’nın 09.06.2003 tarih ve 2003/33 sayılı oluru ile “Su Ürünleri, Kanatlı Hayvan ve Etleri, Bal ve Çiğ Sütte Kalıntı İzleme Genelgesi” ve 23397 sayılı Resmi Gazete*.

Tollefson L, Fedorka-Cray PJ, Angulo FJ (1999) *Public health aspects of antibiotic resistance monitoring in the USA*, Acta Veterinaria Scandinavica Supply, 92: 67-75.

Toranzo AE, Combarro P, Lemos ML, Barja JL (1984) *Plazmid coding for transferable drug resistance in bacteria isolated from cultured rainbow trout*, Applied and Environmental Microbiology, 48: 872-877.

TÜGEM (Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü) (2004) *Su ürünleri yetiştiriciliği ile ilgili istatistiki bilgiler*, Erişim: [http://www.tugem.gov.tr/tugemweb/suurunleri_istatistikler.html], Erişim Tarihi: 12.05.2003.

TÜGEM (Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü) (2006), *Su ürünleri yetiştiriciliği ile ilgili istatistiki bilgiler*, Erişim: [<http://www.tugem.gov.tr/db/sud/sudweb/yap/istatistikYAYIN2005.xls>], Erişim Tarihi: 27.08.2007

Vaseeharan B, Ramasamy P, Murugan T, Chen JC (2005) *In vitro susceptibility of antibiotics against Vibrio spp. and Aeromonas spp. isolated from Penaeus monodon hatcheries and ponds*, International Journal of Antimicrobial Agents, 26: 285-291.

Vaughan S, Coyne R, Smith P (1996) *The critical importance of sample site in the determination of oxytetracycline resistance in the effluent microflora of a freshwater fish farm*, Aquaculture, 139: 47-54.

Vela AI, Vazquez J, Gibello A, Blanco MM, Moreno MA, Liebana P, Albendea C, Alcalá B, Mendez A, Dominguez L, Fernandez-Garayzabal JF (2000) *Phenotypic and genetic characterization of Lactococcus garvieae isolated in Spain from lactococcosis outbreaks in comparison with isolates of other countries and sources*, Journal of Clinical Microbiology, 38: 3791-3795.

Vivekanandhan G, Savithamani K, Hatha AAM, Lakshmanaperumalsamy P (2002) *Antibiotic resistance of Aeromonas hydrophila isolated from marketed fish and prawn of South India*, International Journal of Food Microbiology, 76: 165-168.

West PA, Brayton PR, Bryant TN, Colwell RR (1986) *Numerical taxonomy of vibriosis isolated from aquatic environments*, International Journal of Systematic Bacteriology, 36: 531-543.

West PA, Lee JV, Bryant TN (1983) *A numerical taxonomic study of species of vibrio isolated from the aquatic environment and birds in Kent, England*, Journal of Applied Bacteriology, 55: 263-282.

WHO (World Health Organization) (2002) *Use of antimicrobials outside human medicine and resultant antimicrobial resistance in humans*, Fact Sheet Number, 268: 2.

Williams AM, Freyer JL, Collins MD (1990) *Lactococcus piscium sp nov, a new Lactococcus species from salmonid fish*, FEMS Microbiology Letters, 68: 109-114.

Woo PTK, Bruno DW (2003) *Fish disease and disorders volume 3 viral, bacterial and fungal infections*, CABI Publishing, Great Britain.

ÖZGEÇMİŞ

Manisa ilinin Alaşehir ilçesinde 1981 yılında doğdu. İlkokulu, Yeniköy ilkokulunda, ortaokulu, Hüseyin Özkan Ortaokulunda, liseyi, Çine Lisesi'nde tamamladı. Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 2004 yılında mezun oldu. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda 2004 yılında Yüksek Lisans eğitime başladı. 2005 yılında Araştırma Görevlisi olarak atandı. 2006 yılında evlendi. Halen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.

TEŐEKKÖR

Tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörisünü eksik etmeyen ADÖ Veteriner Faköltesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ferda AKAR'a ve çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen danışmanım Yrd. Doç. Dr. Cavit KUM'a ve Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Doç. Dr. Cengiz GÖKBULUT, Yrd. Doç. Dr. Selim SEKKİN ve Araştırma görevlisi Murat BOYACIOğLU ve Ümit KARADEMİR ile deneme aşamasında desteğini aldığım Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. şükrü KIRKAN, Araş. Gör. Serten TEKBIYIK ve Araş. Gör. Uğur PARIN' a sonsuz destek ve anlayışlarından dolayı teşekkür ederim.

Eşim Araş. Gör. Hasan AKşİT'e sabır, özveri ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

SUMMARY

Detection of Frequently Seen Pathogen Microorganisms and Determination of Antibiotic Susceptibility in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

The present study aimed to detect some significant bacterial agents that causes important economic loses in cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms and to determine their antibiotic susceptibility for reduction of the treatment costs and remainder problem related to unnecessary drug usage.

Totally 96 rainbow trout comprised 8 fish per mount during 12 mounts from were used in the study for detection of the important bacterial diseases, for isolation the agents and for determination of effective antibiotic treatment alternatives. Samples were taken from spleen, liver, kidney and gill and were streaked onto convenient agar plates at sterile condition. Agents incubated at 22 and 37 °C to make isolation at least. Following morphological and biochemical tests for identification of bacteria, *Aeromonas salmonicida*, *Lactococcus garvieae*, *Vibrio anguillarum* and *Yersinia ruckeri*, which cause important bacterial infections in fish, were isolated. From total 96 rainbow trout samples, 37 (% 38,5) isolates were obtained. 6 (% 16,22) *Aeromonas salmonicida*, 13 (% 35,13) *Lactococcus garvieae*, 7 (%18,92) *Vibrio anguillarum* and 11 (% 29,73) *Yersinia ruckeri* of total isolates were found.

Kirby-Bauer disc diffusion method was used for determination of antibacterial susceptibility. According to antibiotic susceptibility tests, *Aeromonas salmonicida* was susceptible to enrofloxacin, florfenicol, fusidic acid, gentamicin, chloramphenicol, nalidixic acid, novobiocin, oxytetracycline, ciprofloxacin and sulphamethoksazole-trimethoprim, but intermediate to erythromycin and neomycin *Lactococcus garvieae* was susceptible to amoxicillin, bacitracin, erythromycin, florfenicol, chloramphenicol, novobiocin and oxytetracycline but intermediate to enrofloxacin, cefoxitin and

ciprofloxacin, *Vibrio anguillarum* was susceptible to enrofloxacin, florfenicol, gentamicin, chloramphenicol, nalidixic acid, novobiocin, oxytetracycline, ciprofloxacin, sulphamethoxazole-trimethoprim, but intermediate to erythromycin and neomycin. *Yersinia ruckeri* was susceptible to enrofloxacin, gentamicin, nalidixic acid and ciprofloxacin but all of these bacteria were resistant to other antimicrobials.

In conclusion, it was determined that all of these pathogen agents isolated were susceptible to enrofloxacin, florfenicol and ciprofloxacin.

Key words; Rainbow trout, pathogen microorganism, antibacterial susceptibility

ÖZET

Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Sık Görülen Patojen Mikroorganizmaların Tespiti Ve Antibiyotik Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi

Çalışma gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) önemli ekonomik kayıplara sebep olan bazı önemli bakteriyel hastalık ve etkenlerinin tespit edilmesi, sağaltımda gereksiz ilaç kullanımına bağlı kalıntı sorunlarının ve tedavi maliyetinin en aza indirilebilmesi için etkenlerin çeşitli antibakteriyellere karşı duyarlılık derecelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla çalışmada, alabalıklarda önemli bakteriyel hastalık etkenlerinin izolasyon, identifikasyon ve etkili antibakteriyel sağaltım seçeneklerinin belirlenmesi için aylık dönemler içinde 8'er adet olmak üzere 12 ay boyunca toplam 96 adet gökkuşığı alabalık örneklerinin iç organları (karaciğer, dalak, böbrek) ve solungaçlarından uygun besiyerlerine steril koşullarda ekimler yapılarak etkenlerin 22 ve 37 °C'lik sıcaklıklarda inkübasyonu sonucunda izolasyonları gerçekleştirilmiştir. İdentifikasyon amacıyla bakterilerin morfolojik ve biyokimyasal testlerini takiben balıklarda önemli bakteriyel enfeksiyonlara neden olan *Aeromonas salmonicida*, *Lactococcus garvieae*, *Vibrio anguillarum* ve *Yersinia ruckeri* izole edilmiştir. Toplam 96 adet gökkuşığı alabalık örneklerinden 37 adet (% 38,5) izolat elde edilmiştir. Bu izolatların 6'sı (% 16,22) *Aeromonas salmonicida*, 13'ü (% 35,13) *Lactococcus garvieae*, 7'si (% 18,92) *Vibrio anguillarum* ve 11'i (% 29,73) *Yersinia ruckeri*'dir. İzolatların çeşitli antibakteriyellere karşı duyarlılıklarında Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır.

Yapılan antibiyogram testlerine göre *Aeromonas salmonicida*'nın enrofloksasin, florfenikol, fusidik asit, gentamisin, kloramfenikol, nalidiksik asit, novobiosin, oksitetrasiklin, siprofloksasin ve sulfametaksazol - trimetoprim'e duyarlı, eritromisin ve neomisin'e orta derecede duyarlı, *Lactococcus garvieae*'nin amoksisilin, basitrasin,

eritromisin, florfenikol, kloramfenikol, novobiosin ve oksitetrasiklin'e duyarlı, enrofloksasin, sefoksitin ve siprofloksasin'e orta derecede duyarlı, *Vibrio anguillarum*'un enrofloksasin, florfenikol, gentamisin, kloramfenikol, nalidiksik asit, novobiosin, oksitetrasiklin, siprofloksasin, sulfametaksazol-trimetoprim'e duyarlı, eritromisin ve neomisin'e orta derecede duyarlı, *Yersinia ruckeri*'nin de enrofloksasin, florfenikol, gentamisin, nalidiksik asit ve siprofloksasin'e duyarlı iken bu etkenlerin diğ er antibakteriyellere dirençli oldukları tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu hastalık etkenlerinin tümünün enrofloksasin, florfenikol ve siprofloksasine duyarlı oldukları tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler; G okkuş ağı alabalığı, patojen mikroorganizma, antibakteriyel duyarlılık