T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

ANTALYA İLİ CİVARINDAKİ BAZI ALABALIK ÇİFTLİKLERİNDEN LACTOCOCCUS GARVİEAE'NİN İZOLASYONU

Erbülent ALTAN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARALIK 2019

ANTALYA

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

ANTALYA İLİ CİVARINDAKİ BAZI ALABALIK ÇİFTLİKLERİNDEN LACTOCOCCUS GARVİEAE'NİN İZOLASYONU

Erbülent ALTAN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARALIK 2019

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTALYA İLİ CİVARINDAKİ BAZI ALABALIK ÇİFTLİKLERİNDEN LACTOCOCCUS GARVİEAE'NİN İZOLASYONU

Erbülent ALTAN

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi tarafından FYL-2018-3637 nolu proje ile desteklenmiştir.

ARALIK 2019

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTALYA İLİ CİVARINDAKİ BAZI ALABALIK ÇİFTLİKLERİNDEN LACTOCOCCUS GARVİEAE'NİN İZOLASYONU

Erbülent ALTAN

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 13/12/2019 tarihinde jüri tarafından Oybirliği /~~Oyçokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Jale KORUN (Danışman)

Prof. Dr. Mehmet GÖKOĞLU

Prof. Dr. Öznur DİLER

ÖZET

ANTALYA İLİ CİVARINDAKİ BAZI ALABALIK ÇİFTLİKLERİNDEN LACTOCOCCUS GARVİEAE'NİN İZOLASYONU

Erbülent ALTAN

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Jale KORUN

Aralık 2019; 61 sayfa

Bu çalışmanın amacı Antalyadaki bazı gokkuşağı alabalıkları işletmelerindeki hasta balıklardan izole edilen *Lactococcus garvieae* suşlarının tanımlanmasıdır. Çalışmada ayrıca suşların antibiyotik duyarlılığı ile Çoklu Antibiyotik Direnç (ÇAD) indeks değerleri de çalışılmıştır. Bu amaçla 2018 yılının Haziran ile Eylül ayları arasında Kemer, Korkuteli, Manavgat ve Akseki deki alabalık işletmelerine gidilmiştir. İşletmelerdeki havuz suyu sıcaklığı 8 °C'den 21 °C'ye kadar değişmiştir. Çalışmada vücut ağırlıkları 180 gramdan 350 grama kadar olan toplam 30 adet örneği kullanılmıştır. Laktokokkozisden etkilenen balıklarda durgunluk, iştahsızlık, deri renginde koyulaşma, tek ya da iki taraflı ekzoftalmus, opaklaşma ve hemoraji gözlenmiştir. Nekropside, iç organlarda kanama, dalağın büyümesi ve koyulaşması, karaciğerde kanama ve asites tespit edilmiştir. Hasta balıkların karaciğer, dalak ve böbreklerinden alınan örnekler Beyin Kalp İnfuzyon Agar (BHIA)'a inoküle edilmiştir. Ekimli Petri kutuları 25 ± 2 °C de 72 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası, izole edilen bakteri suşlarına fenotipik ve moleküler tanı teknikleri uygunlamış ve 75 suş *Lactococcus garvieae* olarak tanımlanmıştır. Antibiyogram test sonuçlarına göre suşların hepsinin ampisiline dirençli olduğu bulunmuştur. Suşların ampisilin dışında diğer antibiyotiklere karşı duyarlılık ve direnç durumları değişiklik göstermiştir. Suşların Çoklu Antibiyotik Direnç (ÇAD) indeks değerleri sırasıyla 0,22; 0,33 ve 0,44 olarak bulunmuştur.

ANAHTAR KELİMELER: Gökkuşağı alabalığı, Laktokokkozis, *Lactococcus garvieae,* Antimikrobiyal duyarlılık, ÇAD.

JÜRİ: Prof. Dr. Jale KORUN

Prof. Dr. Mehmet GÖKOĞLU

Prof. Dr. Öznur DİLER

ABSTRACT

ISOLATİON OF LACTOCCOCCUS GARVİEAE FROM SOME TROUT FARMS NEAR ANTALYA PROVİNCE

Erbülent ALTAN

PhD Thesis in Aquaculture Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Jale KORUN

December 2019; 61 pages

The aim of this study is to identify of *Lactococcus garvieae* strains isolated from sick fish from some trout farms near Antalya province. Also, antibiotic sensivities and Multiple Antibiotic Resistance (MAR) index values of the strains were studied in the study. For this reason, trout farms in Kemer, Korkuteli, Manavgat and Akseki were visited between June and September of 2018. Temperatures of pond water in the farms were changed from 8 °C to 21 °C. In the study, total 30 fish samples which their weights of them were from 180 grams to 350 grams were used. Lethargy, anorexia, darkening of skin color, uni or bilateral exophthalmus, opacification and hemorrhagy in the fish affected by lactococcosis were observed. At necropsy, hemorrhagies in the internal organs, enlargement and darkening of the spleen, hemorrhagy in the liver and ascites were determined. Samples which were taken from the liver, spleen and kidney of the sick fish were inoculated onto Brain Heart Infusion Agar (BHIA). The inoculated Petri dishes were incubated at 25 ± 2 °C for 72 hours. After incubation, phenotypical and molecular diagnostic techniques to the isolated bacterial strains were applied and 75 strains were identified as *Lactococcus garvieae*. According to the antibiogram tests results, it was found that the all strains were resistance to ampicillin. Sensivity and resistance states of the strains to other antibiotics except ampicillin showed change. Multiple Antibiotic Resistance (MAR) Index values of the strains were found as 0,22; 0,33 and 0,44, respectively.

KEYWORDS: Rainbow trout, Lactococcosis, *Lactococcus garvieae*, Antimicrobial sensivity.

COMMITTEE: Prof. Dr. Jale KORUN

Prof. Dr. Mehmet GÖKOĞLU

Prof. Dr. Öznur DİLER

ÖNSÖZ

Balık yetiştirciliğinin verimli ve sağlıklı olması için doğru planlama, uygun yönetim ve eğitimli personel gibi birçok etken birlikte bulunmalıdır. Hayvansal üretim yapılan her sektörde olduğu gibi populasyon yoğunluğu, sağlıksız besin ve alan baskısına bağlı stres faktörleri hastalıkların ortaya çıkmasına ve hızlı yayılmasına neden olur.

Havuzlarda popülasyonun yoğunluğuna bağlı olarak biyotik ve abiyotik etkenlerin sucul ortamlarda görülmesi sonucu etkilerini azaltmak için kullanılan kemoterapötik ilaçların kullanımı artmaktadır. Bu etkenleri bir araya getirdiğimizde ise üretim tesislerinin iş gücü ve maliyetini aşan ürün elde etmesi ve zarara uğraması ile sonuçlanmaktadır.

Bu çalışmada iç su balık yetiştiriciliğinde en büyük paya sahip olan gökkuşağı Alabalığı yetiştiriciliğinde görülen ciddi sorunlara yol açan ve büyük kayıplara sebep olan laktokokkozis incelenmiştir.

Öncelikle beni bu tez konusunda çalışmaya yönlendiren, deneylerin yapılması ve tezin yazılması sırasında benden yardımlarını esirgemeyen Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Öğretim Üyelerinden, danışmanım Sayın Prof. Dr. JALE KORUN'a içtenlikle teşekkür ederim.

Son olarak maddi ve manevi desteklerinden dolayı aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET i

ABSTRACT ii

ÖNSÖZ iii

AKADEMİK BEYAN vii

SİMGELER VE KISALTMALAR viii

ŞEKİLLER DİZİNİ x

ÇİZELGELER DİZİNİ xii

1.GİRİŞ 1

2.KAYNAK TARAMASI 3

2.1.Dünya'da ve Türkiye'de Su Ürünleri Yetiştiriciliği 3

2.2. Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss,* Walbaum, 1792) Kültürü 4

2.3. Kültür Gökkuşağı Alabalıklarıında Görülen Bakteriyel Hastalıklar 5

2.4. Antimikrobiyaller ve Bakteriyel Balık Hastalıklarında Kullanılanımları 10

2.5. Çoklu Antibiyottik Direnci (ÇAD) 12

2.6. Laktokokkosiz 13

2.6.1. Etiyolojisi 14

2.6.2. Epizootiolojisi 16

2.6.3. Klinik ve nekropsi bulguları 16

2.6.4 Nakil 17

2.6.5 Kontrol ve tedavi 17

2.7. Balıklarda Görülen Bakteriyel Enfeksiyonların Teşhisinde Kullanılan Bakteriyolojik ve Moleküler Yöntemler 18

2.7.1. Bakteriyolojik yöntemler 18

2.7.2. Moleküler yöntemler 19

2.7.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) 19

3.MATERYAL VE METOT 22
3.1. Materyal 22
3.1.1. Araştırmanın yapıldığı yer 22
3.1.2. Hasta balık materyali temini 23
3.1.3. Çalışmada kulanılan besiyerleri 23
3.1.4. Çalışmada kullanılan kimyasallar 24
3.1.5. Çalımada kullanılan kitler 24
3.1.6. Çalışmada kullanılan antibiyotikler 24
3.2. Metot 25
3.2.1 Balıkların klinik yönden incelenmesi ve nekropsi 25
3.2.2 *Lactococcus garvieae*'nin fenotipik özelliklerinin tespiti 25
3.2.3 *Lactococcus garvieae*'den DNA izolasyonu 25
3.2.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) 25
3.2.5 Farklı primerler kullanılarak *Lactococccocus garvieae*'nin teyit edilmesi 26
3.2.6 Agaroz jel elektroforez yöntemi ile görüntüleme 26
3.2.7 Antibiyogram duyarlılık testi 27
3.2.8 Çoklu Antibiyotik Direnci(ÇAD) 27
4. BULGULAR 28
4.1. Klinik Bulgular 28
4.2. Hasta Balıklardan İzole Edilen Bakteri Suşlarının Fenotipik Bulguları 33
4.2.1. Bakteri suşlarının koloni morfolojilerine ait bulgular 33
4.2.2. Bakteri suşlarının hücre morfolojilerine ait bulgular 34
4.2.3.Bakteri suşlarının hareket özelliklerine ait bulgular 35
4.2.4. Bakteri suşlarının biyokimyasal özelliklerine ait bulgular 35
4.2.5. Bakteri suşlarının antibiyogram test çalışmalarına ait bulgular 43
4.2.6. Bakteri suşlarının çad indeks sonuçlarına ait bulgular 43

4.3. Moleküler Çalışma Bulguları 43

4.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) bulguları 43

4.3.2. Farklı primerler kullanılarak *Lactococcus garvieae*'nin teyit edilmesi ile ilgili bulgular 44

5. TARTIŞMA 45

6.SONUÇLAR 53

7. KAYNAKLAR 54

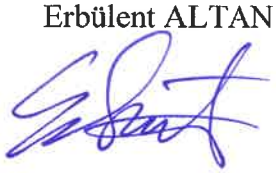
ÖZGEÇMİŞ

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum "Antalya İli Civarındaki Bazı Alabalık Çiftliklerinden Lactococcus Garvieae'nin İzolasyonu" adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

13/12/2019

Erbülent ALTAN



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

α : Alfa

β : Beta

g : Gram

mg/l : Mili gram/ litre

mm : Milimetre

pH : Çözeltinin asitlik veya bazlık derecesini tarif eden ölçü birimi

ppm : Milyonda bir birim

µg : Mikrogram

UV : Ultra Viyole

˚C : Derece

% : Yüzde

Kısaltmalar

ABD : Amerika Birleşik Devletleri

AGD : Ameboik Solungaç Hastalığı

BCWD: Bakteriyel Soğuk Su Hastalığı

BEA : Safra Eksülin Agar

BHIA : Beyin-Kalp Infuzyon Agar

BKD : Bakteriyel Böbrek Hastalığı

ÇAD : Çoklu Antibiyotik Direnci

DNA : Deoksiribonükleik Asit

dNTP : Deoksinükleosid trifosfat

dsDNA: Çift Sarmallı DNA İplikçiği

EDTA : EtilenDiamin Tetraasetik Asit

ERM : Enterik Kızıl Ağız Hastalığı

FAO : Gıda ve Tarım Örgütü

FMS : Fry Mortalite Sendromu

GSP : Glutamate Starch Phenol Red Agar

IPZR : İmmün-PZR Yöntemi

I.P. : Intro-Peritoneal

LAB : Laktik Asit Bakterileri

MAR : Multiple Antibiotic Resistance

MAS : Motile Aeromonas Septicemia

MRSA: Man, Rogossa ve Sharp agar

MR-VP: Metil Red-Voges-Proskauer

NA : Nurient Agar

NB : Nutrient Buyyonu

PZR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA

RPM : Dakikadaki Devir Sayısı

rRNA : Ribozomol RNA

RTFS : Rainbow Trout Fry Syndrome

RT-PZR: Eş Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

SKDM: Seçici Böbrek Hastalığı Vasatı

ssDNA: Tek Sarmal DNA

TCBS : Thiosulphate Citrate Bile Sucrose Agar

TSA : Tryptic Soy Agar

TSB : Tryptic Soy Buyyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Kültür koşullarında gökkuşağı alabalığının yetiştiriciliği 5
Şekil 3.1 Antalya Kemer de birinci örnekleme çalışmasının yapıldığı işletmeden bir görünüm 22
Şekil 3.2. Korkuteli'nde ikinci örnekleme çalışmasının yapıldığı işletme 22
Şekil 3.3. Üçüncü örnekleme yapıldığı ağ kafes işletmesinden bir görüntü 23
Şekil 4.1. Laktokokkosizden etkilenen balıkta baş ve dorsal kısımda koyulaşma 28
Şekil 4.2. Gözlerde ekzoftalmi 29
Şekil 4.3. Tek gözde ekzoftalmus, diğer gözde göz kaybı ile birlikte göz çukurunda hemoraji 29
Şekil 4.4. Solungaç filamentlerinde erime ve yapışma, pektoral yüzgeç tabanında kanama 30
Şekil 4.5. Hasta balık iç organlarında kanama, dalakta büyüme ve renginde koyulaşma 30
Şekil 4.6. İkinci örnekleme çalışmasında laktokokkosizden etkilenen balıkta deride koyulaşma gözlenmesi 31
Şekil 4.7. Hasta balıkta gözde opaklaşma ve kanama 31
Şekil 4.8. Hasta balıkta gözde ekzoftalmusun yandan görünüşü 32
Şekil 4.9. Hasta balıkta iç organlarda kanam ve dalakta büyüme (splenomegali) 32
Şekil 4.10. Üçüncü örnekleme çalışmasında laktokokkosizden etkilenen balıkta tek gözde ekzoftalmus ve hemoraji 33
Şekil 4.11. Hasta balıktan izole edilen bakteri suşunun BHIA da oluşturduğu beyaz 0,5-1.0 mm. Çapında küçük kolonilerin bir görüntüsü 34
Şekil 4.12. Bakteri suşunun Gram boyama sonrası mikroskopda görüntüsü 35
Şekil 4.13. Hasta balıktan izole edilen bakteri suşunun sitokrom oksidaz reaksiyon sonucu (okla gösterilmiştir) 36
Şekil 4.14. Bakteri suşunun katalaz reaksiyon sonucu 36
Şekil 4.15. O/F test sonucuna göre, fermantatif bakteri suşu 37
Şekil 4.16. Kanlı vasatta alfa (α) hemoliz oluşumu 37
Şekil 4.17. Voges-Proskauer reaksiyon sonucu 38
Şekil 4.18. Metil red reaksiyon sonucu 38

Şekil 4.19. İndol reaksiyon sonucu 39
Şekil 4.20. Bakteri suşlarının ONPG reaksiyon sonuçları 39
Şekil 4.21.a) Bakteri suşlarının jelatinaz test sonuçları 40
Şekil 4.21.b) Suşların buzda 15 dakika bekledikten sonra donması ile tespit edilen negatif reaksiyon sonuçları 40
Şekil 4.22. Hasta balıklardan izole edilen bakteri suşlarının PLG primerlerinin kullanıldığı PZR çalışma sonucu 44
Şekil 4.23. SA1B10 primer çifti kullanılarak yapılan PZR çalışmaları sonucu jelde bant oluşumu 44

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 2.1. *L. garvieae*'nin Fenotipik Özellikleri (Austin ve Austin 2012; Vendrell vd. 2006) 15
Çizelge 3.1. Çalışma amaçlı gidilen işletmelerdeki havuz suyu parametreleri 23
Çizelge 3.2 Moleküler çalışmalarda kullanılan TBE tamponunun hazırlanışı 24
Çizelge 3.3. Agaroz jelin hazırlanışı 24
Çizelge 3.4. PLG primerleri PZR bileşenlerinin miktarları 26
Çizelge 3.5. SA1B10 primerleri PZR bileşenleri miktarları 26
Çizelge 4.1. *L. garvieae*'nin Fenotipik Özelliklerinin mevcut çalışma ile karşılaştırılması (Austin ve Austin 2012; Vendrell vd. 2006) 42

1. GİRİŞ

Günümüzde doğal balık stoklarının aşırı avlanması, denizlerde yüksek miktarda plastik çöp adaları ile iklim değişikliklerinden kaynaklı etkiler, doğal balık stoklarının sürekliliğini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu nedenle, su ürünleri yetiştiriciliği gıda yönünden önem taşımaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliği Dünya Gıda Tarım Örgütü (FAO 2018) tarafından dünyada en hızlı büyüyen gıda sektörü olarak belirlenmiştir (Subasinghe vd. 2009; Yavuzcan vd. 2010).

Balık yetiştiriciliğinin başarılı olması büyük ölçüde uygun yönetim ile mümkün olmaktadır. Bu nedenle, balıkların yaşam siklusunu ve kültür koşullarını bilmek önem arz eder. Bununla birlikte, kültür koşullarında karşılaşılan olumsuzluklar balıkları strese sokacak şekilde aşırı stoklama yapılması ve balıkların patojenlere karşı duyarlılıklarının artmasından kaynaklanmaktadır (Aftabuddin vd. 2016). Diğer hayvansal üretim yapan sektörlerde olduğu gibi hastalıklarda su ürünleri yetiştiriciliğinin gelişimi ve sürekliliği üzerinde önemli bir engeldir. Hastalıklar sebebi ile kültürü yapılan balıklarda yaşanan kayıplar, tedavi giderleri, ürün miktarı ve kalitesindeki düşüş üretim maliyetini arttırır (Idowu vd. 2017). Hastalık canlı bir organizmanın normal fizyolojik fonksiyonlarını yerine getirmesine engel olan ve klinik bulgular ile ayırt edilebilen patolojik bir durumdur. Sağlıklı balıklar hastalıklara karşı dirençlidir. Ancak çevresel patojenler balıkların bağışıklığı düşük olduğunda ve su kalitesi yetersiz olduğunda aktif hastalık gelişebilir (Idowu vd. 2017). Hastalıklar kendi içerisinde bulaşıcı ve bulaşıcı olmayan hastalıklar şeklinde ikiye ayrılır. Bulaşıcı hastalıklara sucul ortamda bulunan ya da diğer balıklar tarafından taşınan virüs, bakteri, mantar ya da parazit gibi canlı faktörler neden olup bu hastalıklar gerek kültür koşullarında gerekse doğal ortamlarda balık üretiminde düşüşe neden olan önemli faktörler arasında yer alır (Aftabuddin vd. 2016; Idowu vd. 2017).

Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) dünya genelinde ekonomik yönden önemli balık türleri arasında yer alır. Gökkuşağı alabalığı kültürüne ilk kez 1879 yılında Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde başlanılmıştır. Daha sonraları ise gıda, stoklama ve sportif balıkçılık amacı ile diğer ülkelerede ithal edilmiştir. Ülkemizde gökkuşağı alabalığının kültür çalışmalarına 1970'li yıllarda başlanılmıştır. Bununla birlikte, kültür çalışmaları 1980'li yıllarda hız kazanmıştır (Korun 2015). Diğer ülkelerde olduğu gibi, ülkemizde de gökkuşağı alabalığı kültürünü etkileyen hastalıklar arasında *Lactococcus garvieae*'nin neden olduğu laktokokkozis gelir (Korun 2015). *L. garvieae* ülkemizde ilk kez 2002 yılında Diler ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (Diler vd. 2002). Bu tarihten itibaren hastalık, ülkemizin farklı bölgelerinde kültürü yapılan gökkuşağı alabalıklarından rapor edilmiştir (Korun 2015).

Laktokokkozis dünya genelinde çeşitli balık türlerini etkileyen önemli bir bakteriyel enfeksiyondur. Hastalık etkeni *L. garvieae*'dir. *L. garvieae* Gram pozitif, fakültatif olarak anaerobik, hareketsiz, oval-kok şekilli bir bakteri türüdür (Vendrell vd. 2006; Jung vd. 2009).

Laktokokkozis hiper akut ve septisemik bir durum olarak tanımlanmakla birlikte, hastalığın gelişimi büyük ölçüde çevresel koşullara, özellikle de su sıcaklığına ve suyun mikrobiyolojik kalitesine bağlıdır. Hastalıktan etkilenen balıklarda başlangıçta iştah kaybı sonrasında deri renginde koyulaşma, durgunluk, düzensiz yüzme davranışı

ile denge kaybı gözlenir. Etkilenen balıklarda ayrıca tek ya da iki taraflı ekzoftalmus, yüzgeçlerin taban kısımlarında, perianal bölgede, operkulumda, gözün periorbital ve intraoküler kısmında kanamalar mevcuttur. Ayrıca hasta balıklarda karın kısmında şişkinlik ile anal prolapsus da gözlenir. Nekropsi de ise hava kesesinde, bağırsakda, karaciğerde, dalak ve böbrekde kanama, dalakda büyüme, karaciğer ve dalakda nekroz ve bağırsak da kanlı sıvı mevcuttur (Vendrell vd. 2006).

Hastalık etkeni *L. garvieae*'nin tanımlanması bakterinin biyokimyasal ve antijenik özelliklerine göre yapılmasına karşın, *L. garvieae*'nin insan patojeni olarak bildirilen *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ya da hasta balıklardan izole edilen *Enterococcus*-benzeri bakteri türleri gibi diğer Gram pozitif koklardan ayırt edilmesi güçtür (Jung vd. 2009). Bu sebeplerden dolayı, *L. garvieae*'nin moleküler tanımlanması için 16S rRNA genini hedef alan PZR bazlı teknikler geliştirilmiştir (Kim vd. 2011). Tanımlamada kullanılan primer çiftleri arasında PLG-1 ve PLG-2 primer çifti ve SA1B10-1-F ve SA1B10-1-R primer çiftide yer alır (Zlotkin vd. 1998; Kim vd. 2011).

Gökkuşağı alabalığı işletmelerinde laktokokkozisin kontrolü için sıklıkla kullanılan antibiyotiklerin eritromisin, oksitetrasiklin, amoksisilin ve düşük dozda doksisiklin olduğu bildirilmiştir. Farklı çoğrafik bölgelerden izole edilen *L. garvieae* suşlarının enrofloksasin ve nitrofurantoine duyarlı olduğu ancak oksolinik asit ile sülfametoksozal-trimetoprime dirençli olduğu bildirilmiştir (Vendrell vd. 2006).

Diler ve arkadaşları (2002) *L. garvieae* suşlarının penisilin ve klindamisine dirençli olduğunu ancak eritromisin, ampisilin ve kloramfenikole ise duyarlı olduğunu bildirmiştir.

Soltani ve arkadaşları (2008) İrandaki alabalık işletmelerinde laktokokkozisin tedavisinde özellikle eritromisin, oksitetrasiklin ve enrofloksasin kullanıldığını ancak bu antimikrobiyal tedavilerin etkili olmadığını bildirerek, bu durumdan bakteriyel direnç artışının sorumlu olduğunu bildirmiştir.

Antibiyotik direnci gıda yolu ile bulaşan hastalıkların kontrolünde epidemiyolojik araç olarak kullanılmaktadır. Antibiyotik direnci ayrıca antibiyotik hakkında bilgi vererek bakteriden kaynaklanan hastalık tedavisine yardımcı olabilir. Çoklu Antibiyotik Direnci (ÇAD) gösteren bakteriler insan sağlığı yönünden de önemli bir tehdit oluşturabilir. ÇAD tıbda, tarımda ve su ürünleri yetiştiriciliğinde antibiyotiklerin gelişigüzel kullanımından kaynaklanmaktadır (Al-Dulaimi vd. 2019). Balıklarda hastalıklara neden olan bakteri türleri ile ilgili olarak ÇAD indeks değerinin belirlenmesine yönelik çalışmalarda mevcuttur. Bu çalışmalar özellikle *Aeromonas hydrophila* (El-Barbary 2017) üzerine olup *L. garvieae* ile ilgili çalışmalar ise mevcut değildir.

Bu tez çalışması ile Antalya ilinde yer alan bazı alabalık işletmelerinde laktokokkozis araştırılarak hastalık etkeni *Lactococcus garvieae*'nin tanımlanması, bakterinin antibiyotiklere duyarlılığı ve Çoklu Antibiyotik Direnç (ÇAD) indeks değerleri belirlenerek bu alandaki eksikliğin giderilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Dünya'da ve Türkiye'de Su Ürünleri Yetiştiriciliği

Dünya genelinde su ürünleri üretimi 2016 yılı itibari ile 171 milyon ton'luk bir değere ulaşmakla birlikte, su ürünleri yetiştiriciliğinin toplam içerisindeki payı %47 olup, balık yemi ve balık yağı kullanımı da dahil olmak üzere gıda dışı kullanım çıkarıldığında ise payının %53'lük bir değere ulaştığı görülmektedir (FAO 2018).

Su ürünleri yetiştiriciliği, avcılık üretiminin nispeten durağanlık gösterdiği 1980'li yıllardan bu yana, sürekli ve istikrarlı bir artış göstermektedir. Su ürünleri yetiştiricilik üretimi 1950'lerde yaklaşık 20 milyon ton iken üretim 2015 yılında 160 milyon tona ulaşmıştır. 2016 yılında ise üretim, sucul bitkilerde dahil olmak üzere 110,2 milyon ton olmuştur. Devamlı yükseliş gösteren su ürünleri yetiştiriciliğinin 2000 yılında küresel üretime katkısı %25,7 iken 2016 yılında katkısı %46,8 olarak hesaplanmıştır (FAO 2018).

Türkiye, Balkanlar ve Ortadoğu arasında bir geçiş yolu olup %97'lik kısmı Asya kıtasında yer alır. Türkiye Akdeniz, Ege, Karadeniz ve iç deniz özelliğine sahip Marmara olmak üzere ülke, su sütunları ile çevrili bir yarım adadır. Ülkemizde 8333 km. kıyı şeridi, 1750000 km.lik nehirleri, 1 milyon hektarlık doğal gölleri, 700 küçük baraj gölü dahil olmak üzere zengin su kaynaklarına sahiptir (Dirican vd. 2009).

Türkiye'nin sahip olduğu iklim, su kaynakları ve kıyıları boyunca topografyası yetiştiricilik çalışmaları için uygun bir zemin oluşturur.(Dirican vd. 2009). Türkiye'de yetiştiricilik faaliyetleri 1970'li yıllarda sazan (*Cyprinus carpio*) ve gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kültürü ile başlamış olup, 1980'li yıllardan itibaren Ege ve Akdeniz'de Avrupa levreği (*Dicentrarchus labrax*) ve yaldız başlı çipura (*Sparus aurata*) yetiştiriciliğine başlanmıştır. 1990'lı yıllarda ise gökkuşağı alabalığının denizde kafes sistemlerinde büyütme çalışmaları popülerlik kazanmıştır. Türkiye'de gökkuşağı alabalığı en fazla kültürü yapılan alabalık türü olmaktadır (Dirican vd. 2009).

Tarım ve Orman Bakanlığı istatistiklerine göre, Türkiye'de su ürünleri yetiştiriciliği yıldan yıla artış göstermekte olup, yetiştiricilik yoluyla üretim 2000 yılında denizde 35646 ton, iç suda 43385 ton olmak üzere yıllık üretim 79031 ton olmuştur. 2005 yılında ise denizdeki üretim miktarı 69673 ton iken iç sudaki üretim 48604 ton ile toplam üretim 118277 ton olmuştur. Yetiştiricilik üretim miktarı 2010 yılında denizdeki üretim miktarı, 88573 ton iken bu değer 2017 yılında 172492 tona ulaşmıştır. İç sularda yetiştiricilik yoluyla üretim 2010 yılında 78568 ton iken bu rakam 2017 yılında 104010 tona ulaşarak toplam üretim 276502 tona ulaşmıştır (TUİK 2017).

Türkiye'de yetiştiriciliği en çok yapılan türlerin üretim miktarlarına bakıldığında ise 2000 yılında iç sularda alabalık üretimi 42572 ton iken denizde çipura üretimi 15460 ton, levrek üretimi ise 17877 ton olmuştur. 2010 yılına gelindiğinde ise iç sularda alabalık üretimi 100239 ton, çipura üretimi 28157 ton, levrek üretimi ise 50796 tona ulaşmıştır. 2017 TUİK verilerine göre iç sularda alabalık üretimi 103705 ton iken, çipura üretimi 61090 ton, levrek üretimi ise 99917 ton olmuştur (Anonim 1 2019).

2.2. Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) Kültürü

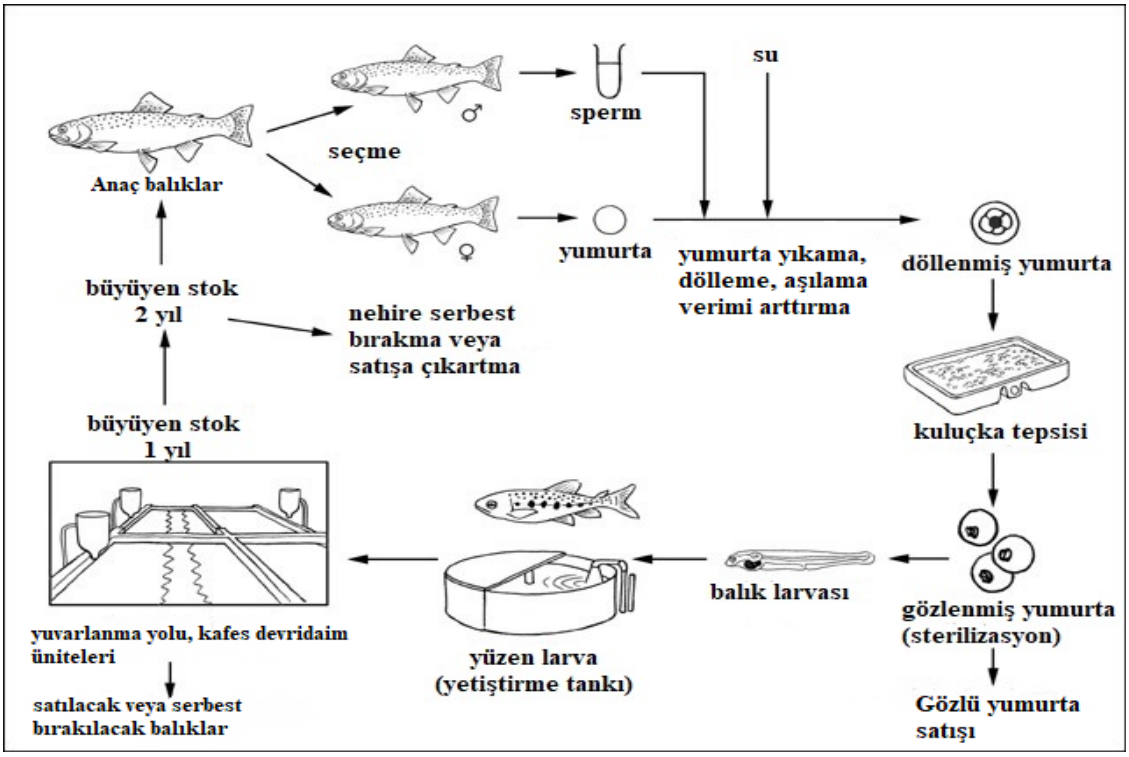
Salmonid balık türlerinin kültüre alınması sazan kültürüne göre daha yeni olmasına karşın, kültürüne yönelik çalışmalar daha yoğun yapılmıştır. Salmonid türler arasında yer alan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) en önemli türler arasındadır (Pillay 1993). Gökkuşağı alabalığı Kuzey Amerika'nın batı kısımları ile Kuzeydoğu Asya da ki Kamçatka bölgesinin doğal bir türüdür (Janssen vd. 2015). Gökkuşağı alabalığının kültür çalışmalarına önceleri sportif balıkçılığı desteklemek amaçlı olarak doğal çevredeki balık popülasyonlarının arttırılmasının hedeflenmesine karşın, günümüzde Güney Amerika, Avrupa, Balkanlar, Asya, Afrika ve Okyanusya da dahil olmak üzere dünyanın birçok ülkesinde kültürü yapılmaktadır (Janssen vd. 2015; Singh vd. 2016).

Dünya genelinde gökkuşağı alabalığı üreten ülkeler arasında İran, Şili, Türkiye, Norveç, Peru ve İtalya yer alır. Bu ülkelerin üretimi toplam gökkuşağı alabalığı üretiminin %64'ünü karşılar (Adeli ve Baghaei 2015; Singh vd. 2016).

Gökkuşağı alabalığı tarihsel yönden kültürü yapılan en eski balık türleri arasında yer alır. 1872'den bu yana gökkuşağı alabalığının yumurtaları gözlü evrede tüm dünya ya nakledilmekte olup, bu yumurtaların ilk nakilleri ABD'den 1877 yılında Japonya ya, 1885 yılında ise İngiltere ve İskoçya ya gerçekleştirilmiştir. Avrupa da gökkuşağı alabalığının ticari olarak kültürüne ilk kez 1980'li yıllarda Danimarka da başlanmıştır (Adeli ve Baghaei 2015).

Gökkuşağı alabalığı kültürünün yayılmasında başlıca sınırlayıcı faktör suyun kalitesidir. Gökkuşağı alabalığının su ihtiyacı; sıcaklık koşulları, kültür çeşidi ve yoğunluğa bağlı olarak değişir. Örneğin ılıman iklimde yüzey suyu kullanan bir tatlı su alabalık işletmesi için üretilen her ton başına yaklaşık olarak 5 l/s suya ihtiyaç vardır. Bununla birlikte, su sıcaklığı azaldıkça daha düşük miktarlarda su kullanılabilir (Pillay 1993). Gökkuşağı alabalığı kültüründe su sıcaklığı önemlidir. Optimal su sıcaklığı 10 ila 18 °C arasında iken en iyi gelişme sıcaklığı 10-12 °C arasındadır. Bununla birlikte, tür 25 °C'ye kadar olan sıcaklıkları da tolere edebilir. Yumurtlama 2-10 °C'ları arasında gerçekleşir (Pillay 1993; Adeli ve Baghaei 2015). Balıklar 3 ppm gibi düşük oksijende canlı kalabilmelerine karşın kültür koşullarında ise çözünmüş oksijen değerinin 5 ila 7 ppm arasında olması istenir. Kuluçkahanelerdeki suyun oksijen doygunluğu %100 olmalıdır. Amonyak önemli bir parametre olup protein katabolizmasını içeren metabolik boşaltım ürünlerinden üretilir. Su da sıcaklık ve pH'ın artması ile iyonize olmamış amonyak oranı artar. Bu durum balıklar için tehlikeli olur (Pillay 1993; Adeli ve Baghaei 2015).

ABD'nin birçok bölgesinde gökkuşağı alabalığı kültürü çiftlik koşullarında yapılır. Bununla birlikte, kanal sistemi en yaygın olarak kullanılan sistemdir. Danimarka da havuzlarda alabalık yetiştiriciliği yapılırken toprak havuzlarda ise balık yetiştiriciliği daha az tercih edilmektedir. Günümüzde gökkuşağı alabalığının kafeste kültürü hızlı bir şekilde yaygınlaşmış olup hem deniz hem tatlı su çevrelerinde kullanılmaktadır (Pillay 1993). Şekil 2.1. de kültür koşullarında gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği verilmiştir (Anonymous 1).



Şekil 2.1. Kültür koşullarında gökkuşağı alabalığının yetiştiriciliği (Anonymous 1)

2.3. Kültür Gökkuşağı Alabalıklarında Görülen Bakteriyel Hastalıklar

Balıklar, sediment de bulunan çeşitli saprofitik bakteri türlerin; bitkiler, fito ve zooplankton dahil diğer organizmaları da içeren zengin bir çevrede bulunur. Suda mevcut mikroorganizmaların bir kısmı balıkların deri, solungaç ve sindirim kanalına yerleşerek balık vücudunda kommensal olarak yaşarlar. Bu yerleşme ile birlikte, balıkların sindirim sistemini destekleyici ve böylece bu hayvanların bağışıklık sistemleri üzerine de faydalı bir etki gösterirler (Pękala-Safińska 2018). Ne var ki, bu mikroorganizmalar balık sağlığını olumsuz yönde etkileyerek tehdit edebilir. Bu koşullar altında ise, bu bakteriler şartlı patojenik etken olarak kabul edilir (Pękala-Safińska 2018).

Su ürünleri yetiştiriciliği en hızlı gelişme gösteren hayvansal gıda sektörlerinin ilk sıralarında yer alır. Yetiştiricilik sektörü dünyadaki toplam balık üretiminin neredeyse yarısını karşılamaktadır. Günümüzde yetiştiricilik uygulamaları ekstansif kültür sisteminden ticari balık yemlerinin kullanıldığı ve daha yüksek miktarlarda balıkların stoklandığı yarı entansif ve entansif kültür sistemlerine kaymıştır. Bununla birlikte, kültür koşullarında yetiştiricilik faaliyetlerinin hızla yayılması sonucunda çeşitli balık türlerini etkileyen hastalıkların görülme sıklığı da artmıştır (Shefat 2018). Ancak, hastalık gelişimi sadece balıkta hastalığa neden olan bakteri türleri ile sınırlı değildir. Balıklarda hastalık meydana gelmesi balığın bağışıklık durumu, ışık, güneş çarpması, oksijen, pH gibi eş-çevresel faktörler ile hastalık etkeninin virülensine önemli ölçüde bağlıdır. Bundan dolayı, tatlı su sistemlerindeki değişiklikler balık için önemli bir tehdit olmakla birlikte, hastalığın çıkışında ve yayılmasında kontrol edici faktörlerdir (Terech-Majewska 2016; Pękala-Safińska 2018).

Yoğun yetiştiricilik sistemlerinde hastalıklar balıklarda yüksek mortaliteye neden olarak ekonomik kayıplar ile sonuçlanır. Balıklarda görülen bulaşıcı hastalıklar arasında bakteriyel ve viral enfeksiyonlar dünya genelinde su ürünleri yetiştiriciliğinin sürdürülebilirliğinin önünde ciddi bir sorundur (Shefat 2018). Bununla birlikte, belirli bir hastalığının gelişimi, önemli ölçüde belirli bir zon, bölge ya da ülkedeki mevcut iklim koşullarına da bağlıdır. Örneğin, İskandinav ülkelerinde balıklarda en sık görülen hastalık sorunları arasında ameobik solungaç hastalığı (AGD) ile kopepodların istilası görülürken, orta Avrupa ülkelerinde ise *Aeromonas* spp. kaynaklı enfeksiyonlar en yaygın bakteriyel balık hastalığıdır (Pękala-Safińska 2018). Dalsgaard ve Madsen (2000) Danimarka da tatlı suda kültürü yapılan gökkuşağı alabalıklarında görülen başlıca bakteriyel hastalıkların *Yersinia ruckeri*'nin neden olduğu Enterik Kızıl Ağız (ERM) hastalığı, *Flavobacterium psychrophilum* kaynaklı enfeksiyonlar ile *Aeromonas salmonicida* etkenli furunkulozis olduğunu bildirmiştir. Pękala-Safińska (2018) Polonya da ki kültür balıklarında görülen epizootik durumun diğer karasal Avrupa ülkelerinde görülen hastalıklardan önemli ölçüde farklı olmadığını ancak son yıllarda bakteriyel tatlı su balık hastalıkları patolojisinde dinamik değişimlerin gözlendiğini bildirmiştir.

Balıklarda bildirilen bakteriyel patojenlerin sayıca fazla olmasına karşın dünya genelinde kültürü yapılan balık türlerinde yaşanan kayıpların *Aeromonas, Vibrio, Edwardsiella, Flavobacterium, Yersinia, Francisella, Photobacterium, Piscirickeetsia, Pseudomonas* ve *Tenacibaculum* gibi Gram-negatif bakteri türleri ile *Lactococcus, Streptococcus, Mycobacterium* ve *Renibacterium* gibi Gram-pozitif bir grup patojenin sorumlu olduğu rapor edilmiştir (Pridgeon ve Klesius 2012; Sudheesh vd. 2012).

Deniz balıkları yetiştiriciliğinde olduğu gibi tatlı suda kültürü yapılan balık türlerinin de *Flavobacterium, Aeromonas, Yersinia ruckeri, Renibacterium salmoninarum, Mycobacterium* ile *Streptococcus* ve *Lactococcus* türleri tarafından tehdit edildiği bildirilmiştir (Pridgeon ve Klesius 2012; Sudheesh vd. 2012).

Flavobacterium cinsi otuzdan fazla türü kapsamakla birlikte, bu cinste yer alan üç tür flavobakteriyozise neden olur. Bu türler *F. psychrophilum, F. columnare* ve *F. branchiophilum*'dur. *Flavobacterium* türleri toprakta, tatlı su ve deniz çevrelerinde yaygın olarak bulunurlar (Sudheesh vd. 2012; Pękala-Safińska 2018). Türler sucul çevrelerde doğal olarak bulunmakla birlikte, sağlıklı balıkların fizyolojik olarak solungaç mikroflorasının bir kısmını oluşturur. *Flavobacterium* türleri tipik kayma hareketi gösterir ve hidrokarbonlar gibi polimerik organik bileşikleri ayrıştırabilirler. *F. psychrophilum, F. columnare* ve *F. branchiophilum* taksonomisi başlangıçta türlerin fenotipik özelliklerine dayandırılarak yapılmıştır. Ancak, son yıllarda yapılan G+C miktarı, DNA-ribozomal Ribonükleik asit (rRNA) hibritleşme ve yağ asidi ile protein profillerine dayandırılan sınıflandırmaya göre bu üç türün Filum/Divizyon, Cytophage-Flavobacterium-Bacteriodes, *Flavobacteriaceae* ve *Flavobacterium* türüne ait olduğunu ortaya koymuştur (Sudheesh vd. 2012).

F. psychrophilum salmonid balıklarda Bakteriyel soğuk su hastalığı (BCWD) ile sıklıkla gökkuşağı alabalığı fryını etkileyen Fry Mortalite Sendromu (FMS)'na neden olur (Sudheesh vd. 2012). *F. psychrophilum* enfeksiyonları tüm dünyada görülür. Juvenil gökkuşağı alabalığı ile coho salmonu BCWD'ye özellikle hassastır. Bununla birlikte bakteri yılan balığı türleri (*Anguilla japonica* ve *A. anguilla*), sazan türleri (*Cyprinus carpio* ve *Carassius carassius*) ve *Rutilus rutilis* gibi balık türlerinde de

bildirilmiştir. Hastalığın başlıca karakteristik bulgusu etkilenen balıklarda pedunkülde, dorsal yüzgecin ön kısmında, anüste ve alt çenede deri ülserlerinin gözlenmesidir. Hastalıkta mortalite %70'e varabilir (Sudheesh vd. 2012). Dalsgaard ve Madsen (2000) Danimarka da *F. psychrophilum*'un 1985 yılından beri izole edilmekte olduğunu, bakterinin fingerling balıklarda soğuk su hastalığına yol açtığını bildirmiştir. RTFS'nin diğer birçok Avrupa ülkelerinde olduğu gibi Danimarka da ki kuluçkahanelerde alabalık fry'ında önemli kayıplara neden olduğu rapor edilmiştir (Dalsgaard ve Madsen, 2000). Pękala-Safińska (2018) son on yıl boyunca *Flavobacterium* türlerinin Polonya da ki salmonid ve cyprinid balıklardan izole edildiğini, BCWD'nin ise ilk kez gökkuşağı alabalığında gözlendiğini bildirmiştir.

Yersinia ruckeri Enterobacteriaceae familyasında yer alan Gram-negatif bir bakteri türü olup kültür gökkuşağı alabalıklarında ciddi ekonomik kayıplara yol açan Enterik Kızıl Ağız (ERM) hastalığının etkenidir (Huang vd. 2015; Ormsby vd. 2016; Menanteau-Ledouble vd. 2018). *Y. ruckeri* ilk kez 1956 yılında Idaho/ABD de Hagerman vadisindeki hasta gökkuşağı alabalıklarında izole edilmiştir. Günümüzde ise bakteri Kuzey ve Güney Amerika, Avrupa, Avustralya ve Güney Afrika da ki balık popülasyonlarında mevcut olmakla birlikte, dünyanın farklı bölgelerindeki kültür gökkuşağı alabalıklarındanda bildirilmiştir (Akhlaghi ve Sharifiyazdi 2008; Huang vd. 2015; Ormsby vd. 2016). *Y. ruckeri Salvelinus namaycush* ve *Salmo trutta* gibi alabalık türleri ile Atlantik salmon (*S. salar*)'u gibi diğer balık türlerinden izole edilmekle birlikte, en çok gökkuşağı alabalığını etkiler (Huang vd. 2015). Bu nedenle, ERM özellikle gökkuşağı alabalığının akut bir enfeksiyonudur. Enfeksiyon genelleştirilmiş bakteriyemi ve hemorajik septisemi ile karakterize edilir. Hemorajik septisemi durumunda özellikle ağız bölgesinde olmak üzere deri altı kanamalar görülür. Bu kanamalardan dolayı, hastalık 'kızıl ağız' olarak adlandırılmıştır. Hastalıktan etkilenen balıklarda gözlenen iç bulgular arasında karaciğer, pankreas, pilorik seka, lateral vücut kasları ile hava kesesi üzerinde peteşiyal kanamalar, yangılı dalak ve bağırsak yer alır. Arka bağırsak çoğunlukla opak sarımsı sıvı ile doludur (Ormsby vd. 2016; Menanteau-Ledouble vd. 2018). Son yıllarda *Y. ruckeri*'nin Avustralya, Şili, Norveç ve İskoçya gibi Atlantik salmonu üretiminin ekonomik yönden önemli olduğu ülkelerde enfeksiyona neden olduğu bildirilmiştir. Hastalık Yersiniozis ya da Salmon kanlı benek hastalığı olarak adlandırılmış olup ERM'nin daha az ciddi olarak seyreden bir formu olduğu bildirilmiştir. Yersiniozis/Salmon kanlı benek hastalığı belirgin bir şekilde tek ya da iki taraflı ekzoftalmus ile karakterize edilir. Hastalığın 1980'den bu yana Avustralya da ki Atlantik salmon balıklarında görüldüğü bildirilmiştir (Ormsby vd. 2016). *Y. ruckeri* işletme koşullarında balığın dışında suda, sediment ya da balık tanklarındaki biofilm de aylarca canlı kalabilir. Bakteri gökkuşağı alabalık işletmelerinde %70'e varabilen mortaliteye neden olabilir. ERM'den kurtulan balıklar asemptomatik taşıyıcı olup *Y. ruckeri*'yi etrafa saçarlar. Böylece ortamda bulunan diğer balıklarda enfekte olur. Bu durum, aynı işletme koşullarında olabileceği gibi asemptomatik balıkların bir işletmeden diğer işletmeye nakledilmeleri ile de olabilir ve bakteri, bir alabalık popülasyonundan diğer alabalık popülasyonuna, bir işletmeden diğer bir alabalık işletmesine yayılabilir (Huang vd. 2015). ERM antibiyotikler ile tedavi edilebilir ancak hastalık çıkışlarının ve yoğun antibiyotik uygulamalarını önlemek amacı ile uygun aşılama ve iyi bir bakım yapılması zorunludur (Huang vd. 2015). Ne var ki, ERM'ye karşı etkili bakterin bazlı aşılamanın *Y. ruckeri*'ye karşı balıkları korumada yaygın bir şekilde kullanılmasına karşın, bakterinin biyotip 2'ye ait hareketsiz suşlarının aşılı

balıklarda dahil olmak üzere tüm balıklarda hastalığa neden olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, biyotip 1 ve 2'yi içeren ve böylece balıkların bakterinin her iki biyotipine karşı korumanın amaçlandığı ticari aşılar geliştirilmiştir (Menanteau-Ledouble vd. 2018).

Aeromonacidaea familyası en az yirmi beş tür içeren *Aeromonas* cinsi de dahil olmak üzere beş cins ile temsil edilir. *Aeromonas* cinsi üyeleri *Vibrionaceaea* (*Vibrio*) ve *Enterobacteriaceae* (*Plesiomonas*) familyaları ile ortak olarak paylaştıkları sitokrom oksidaz ve katalaz gibi biyokimyasal özellikler, sucul ekosistem ve hastalık spektrumundan dolayı önceden *Vibrionaceae* familyasına dahil edilmiştir (Liu 2015). Bununla birlikte, DNA-DNA hibritleşme, 16S rRNA ve 5S rRNA nükleotid sekanslama ile, *rpoB, gyrB, DNA* ile *recA* gibi düzenleyici genlerin kullanılarak yapılan karşılaştırmalı analiz çalışmaları ile *Aeromonas* cinsinin *Aeromonacidaea* familyasına ait olma durumu kesinlik kazanmıştır (Liu 2015). 1943 ile 1970'li yılları arasında *Aeromonas* cinsi oluşturulurken türler gelişme ve biyokimyasal özelliklerine göre mezofilik ve psikrofilik olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. *Aeromonas hydrophila* ile temsil edilen mezofilik grup 35-37 °C sıcaklıklarda gelişme gösteren, insan hastalıkları ile alakalı ve hareketli izolatlardan oluşurken, psikrofilik grup ise balıklarda hastalık yapan, *A. salmonicida* ile temsil edilen, 20-25 °C'lik optimal gelişme sıcaklıklarına sahip, hareketsiz suşlardan oluşur (Liu 2015).

A. salmonicida'nın *achromogenes, masoucida* ve *smithia* olmak üzere dört alttürü bulunup *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*'nın salmonid balıklarda furunkulozise neden olduğu bildirilmiştir. Bakteri sazan ve deniz yassı balığı türlerinde ülsere neden olur (Bartkova 2016; Alghabshi vd. 2018). *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* en onemli balık patojeni olup ilk kez 1894 yılında Almanya da ki kahverengi alabalık (*S. trutta*) kuluçkahanesindeki balıklarda ülseratif lezyonlar ve çıban benzeri kabarcıklar ile tespit edilmiştir. Furunkulozis daha sonraları 1902 de ABD de ki kuluçkahanelerden, 1950'li yıllarda ise Danimarka da tatlı suda kültürü yapılan gökkuşağı alabalıklarından bildirilmiştir. Furunkulozisin tipik karakteristik bulguları durgunluk, iştah kaybı, deride hiperpigmentasyon, çıban veya ülserler, iç organlarda kanama ve dalakta büyümedir (Bartkova 2016).

Başlangıçta *A. salmonicida*'nın sadece klinik olarak hasta balıklardan izole edilebilmesi sebebi ile bakteri zorunlu balık patojeni olarak kabul edilmiştir. Bu durum üzerinde çevresel örneklerden ya da hastalığa dair bulgu göstermeyen balıklardan bakterinin canlı ve kültürü yapılabilir hücrelerinin izolasyon güçlüğü de etkili olmuştur. Ancak, bakterinin suda sekiz güne kadar canlı kalabildiği de yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Bartkova 2016; Alghabshi vd. 2018). Furunkulozisin naklinde taşıyıcı balıkların etkili olduğu bildirilmiştir. Hastalığa karşı aşılama çalışmaları 1937 de deneysel olarak denenmiştir. Ancak, 1990'lı yılların başlarına kadar yağ-adjuvantlı aşılama uygulamaları yapılamamıştır (Bartkova 2016).

Hareketli Aeromonas Septisemisi (MAS) mezofilik *Aeromonas* türlerinin neden olduğu bakteriyel bir enfeksiyondur. Hastalıkta gözlenen bulgular ani başlayan balık ölümleri, iştahsızlık, yüzme anormallikleri, solgun solungaçlar, deri de kabarcık ve ülserlerdir. Bu ülserler balıkların herhangi bir bölgesinde bulunabilir ve çoğunlukla parlak kırmızı kenar ile çevrilidir. Enfeksiyon stres ile alakalı olup en yaygın stres faktörleri su sıcaklığı, düşük kaliteli su, popülasyon yoğunluğunun yüksek olması ve ellemedir (Goharrizi vd. 2015; Duman vd. 2018). Hastalık başlıca yayın balıkları ve tatlı

su levreği gibi tatlı suda bulunan balık türlerini etkilemekle birlikte süs balıkları ve tropikal balık türlerini de etkiler. Balıklarda MAS'ye sebep olan hareketli *Aeromonas* türleri olarak sıklıkla *A. hydrophila* olduğu bildirilmiştir. Ancak son yıllarda kültürü yapılan balık türlerinden en yaygın olarak izole edilen *Aeromonas* türleri *A. hydrophila, A. sobria, A. caviae, A. veronii* ve *A. bestiarum* olmakla birlikte, bu türler arasında yer alan *A. sobria, A. veronii* ve *A. bestiarum* türlerinin gökkuşağı alabalıkları için olası patojenler olduğu bildirilmiştir (Goharrizi vd. 2015; Duman vd. 2018).

Pseudomonadaceae familyası Gram-negatif, hareketli, aerobik, çomak şekilli, sitokrom oksidaz ve katalaz pozitif bakteri türlerini içerir. *Pseudomonas* cinsi üyeleri toprak, tatlı su ve deniz çevreleri gibi doğal ortamlarda yaygın olarak bulunmakla birlikte, kozmetik ve medikal ürünlerden de izole edilmiştir. Bu cins ilk kez 1894 yılında tanımlanmıştır. Ne var ki, günümüzde Pseudomonadlar geniş ancak yeterince tanımlanmamış bir grup olarak kabul edilmekle birlikte sadece rRNA benzerlik Grup I'in gerçek *Pseudomonadaceae* türleri olduğu düşünülmektedir. Grup I'in pek çok üyesi psikrofildir. *Pseudomonas* türleri arasında pigmentli ve pigment üretmeyen türler de mevcuttur. Türlerin ürettikleri proteolitik ve lipolitik enzimler taze ve işlenmiş örneğin donuk balık ürünlerinin kalitesini düşürebilirler (Franzetti ve Skarpellini 2007; Lunestad ve Rosnes 2008). *P. fluorescens, P. putida* ve *P. fragi* en sık olarak izole edilen türlerdir. Bu türler arasında yer alan *P. putida* ve *P. fluorescens*'in balıklar için ciddi patojen oldukları kabul edilir. Bu türler balıklarda yüksek mortalite ve ekonomik kayıplara neden olurlar (Franzetti ve Skarpellini 2007; El-Barbary ve Hal 2017). *P. fluorescens* enfeksiyonu balıklardaki bakteriyel hemorajik septiseminin başlıca etkenlerinden biri olarak kabul edilir. Bakteri dünya genelinde gerek tatlı suda gerekse deniz de kültürü yapılan balık türlerinin stresle alakalı bir hastalığıdır. *P. putida* gökkuşağı alabalığı ve Avrupa yılan balığı (*Anguilla anguilla*) gibi çeşitli balık türlerinin yetiştiriciliğini tehdit eden önemli bir balık patojeni olduğu bildirilmiştir (El-Barbary ve Hal 2017). *P. anguilliseptica* diğer bir pseudomonas türü olup havuzda kültürü yapılan japon yılan balığı (*A. japonica*)'nın kırmızı benek hastalığının etkeni olarak tanımlanmıştır. Tür ilk kez 1981 de Avrupa da yılan balığında bildirilmiştir. Finlandiya da ise bakteri kültür salmonid balıkların bazı türlerinde de görülen hastalık çıkışları ile alakalı olarak izole edilmiştir. *P. anguilliseptica* kaynaklı enfeksiyonlardan etkilenen salmonid balıklarda gözlenen klinik bulguların Avrupa yılan balığında gözlenen klinik bulgulara benzerlik gösterdiği bildirilmiştir. Hasta balıklarda deride, peritoneum da ve karaciğerde peteşiyel kanamalar tespit edilmiştir (Winklund ve Bylund 1990).

Bakteriyel böbrek hastalığı (BKD) kültür ve doğal salmonid balıkları etkileyen bulaşıcı önemli bir hastalıktır. Hastalığına Gram-pozitif, basil şekilli *Renibacterium salmoninarum* neden olur. *R. salmoninarum* genellikle çiftler halinde bulunur. BKD ilk kez 1930'lı yılların başlarında İskoçya da Atlantik salmonu ile ABD de *S. fontinalis, S. trutta* ve gökkuşağı alabalığında özellikle böbrekleri etkileyen kompleks bir hastalık olarak tanımlanmıştır (Hardie vd. 1996; Jansson 2002). Günümüzde ise hastalık Kuzey yarımküredeki tüm salmonid türlerini tehdit eden ciddi bir hastalık olarak kabul edilmekle birlikte *Oncorhynchus* spp. hastalığa karşı en hassas türdür (Faisal vd. 2010; Faisal vd. 2012). BKD akut ve kronik olarak seyreder ve bakteriden etkilenen balıklarda böbreklerde özellikle hematopoietik doku kısımlarında granülamatöz doku oluşumlarına neden olur (Faisal vd. 2010). Hastalıkta gözlenen klinik bulgular arasında denge kaybı,

ekzoftalmi, solgun solungaç, şişkin abdomen, yüzgeçlerde ve yan çizgi etrafında nokta benzeri kanamalar ve hemorajik bölgeler yer alır. İç bakıda böbrek genellikle şişkin olup organ yüzeyinde çeşitli büyüklükte grimsi-beyaz nodüller görülür. Bu nodüllere dalak, kalp ve karaciğer de de rastlanır. Dalak büyümüş ve karaciğer parlak renkte olabilir. Karın boşluğunda asidik sıvı birikimi vardır. BKD'nin nakli balıktan balığa temas (yatay nakil yolu) ve damızlık stoklardan yumurtalara (dikey nakil yolu) şeklindedir. Hastalık stres ile alakalı bir hastalık olup hazırlayıcı faktörler arasında çevresel faktörler önemlidir (Jansson 2002). *R. salmoninarum*'a karşı geliştirilmiş etkili ticari bir aşı bulunmamaktadır. Bu nedenle hastalığın kontrolü enfekte stokların toplanması ve döllenmiş yumurta ile damızlık balıkların eritromisin gibi antibiyotikler ile tedavilerinin yapılmasıdır (Faisal vd. 2010).

Balıklarda streptokokkozis genel bir terim olup *Streptococcus*, *Lactococcus* ve *Vagococcus* türlerinin neden olduğu hastalıkları tanımlamak amacı ile kullanılan genel bir terimdir (Kia ve Mehrabi 2013; Raissy vd. 2016). Hastalığa sebep olan türler arasında *Streptococcus paraberis*, *S. iniae*, *S. difficilis*, *L. garvieae*, *L. piscium*, *Vagococcus salmoninarum* ve *Caryobacterium piscicola* bildirilmiştir. Bununla birlikte, hastalığa dair ilk yayınlarda hastalıktan izole edilen izolatlar belirli bir tür adı altında tanımlanmıştır. Suşlar hemoliz gibi fenotipik özelliklere göre gruplandırılmaya çalışılmıştır. Böylece alfa (α) hemolitik izolatların granülamatöz yangıdan sorumlu olduğu, beta (ß) hemolitik izolatların septisemi ve irinli, yangılı gözün gözlendiği septisemik enfeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir. Hemolitik olmayan izolatlarda tanımlanmıştır (Gomes vd. 2006). Günümüzde ise streptokokkozis su sıcaklıklarına bağlı olarak ılık su ve soğuk su streptokokkozisi şeklinde iki gruba ayrılmıştır (Gomes vd. 2006).

Streptokok enfeksiyonları ilk kez 1957 yılında Japonya da yoğun bir şekilde kültürü yapılan gökkuşağı alabalıklarından bildirilmiştir. O tarihten günümüze kadar hastalık birçok deniz ve tatlı su balık türlerinden rapor edilmiştir. Hastalıktan etkilenen türler arasında gökkuşağı alabalığı başta olmak üzere sarı kuyruk, kefal, yılan balığı, tilapya, mersin, Avrupa deniz levreği ve ayu balıkları örnek olarak verilebilir (Kia ve Mehrabi 2013; Raissy vd. 2016). Streptokokkozis karakteristik olarak iştahsızlık, denge kaybı, durgunluk, düzensiz yüzme, tek ya da iki taraflı ekzoftalmi, gözlerde hemoraji ve opaklaşma, deri renginde koyulaşma, operkulum ve anüs etrafında kanama ile gözlenir. Hastalıktan etkilenen başlıca organlar dalak, karaciğer ve beyindir. Böbrek, bağırsak ve kalp ise hastalıktan daha az etkilenir. İç bakıda dalakta büyüme, karaciğer de solgunluk ve fokal nekrotik bölgeler gözlenir (Gomes vd. 2006).

2.4. Antimikrobiyaller ve Bakteriyel Balık Hastalıklarında Kullanımı

Antimikrobiyel, antibiyotik ve antienfektif terimleri genel olarak bakteri, mantar, viral ve parazit türlerine karşı etkili olan ilaçları kapsayan farmasötik ajanların geniş bir grubunu kapsar. Bu farmasötik ajanlar içerisinde antimikrobiyal ajanlar en yaygın olarak kullanılandır. Antimikrobiyal tedavi 19.'uncu yy başlarında Paul Erlich tarafından kullanılmaya başlanmış olup, Erlich metilen mavisi, atoksin, trimarsemid ve savlarsan gibi ilk sistemik ilaçları bularak salvarsanın sifilis tedavisinde kullanılabileceğini ortaya koymuştur (Tabak 2002; Akkan ve Karaca 2003; Leekha vd. 2011). 1929 da Fleming, *Penicillium notatum* mantarının bazı stafilokok türleri üzerine etkili olduğunu göstermiştir. Florey ve arkadaşları bu mantarın metaboliti olan penisilini

bularak 1941 yılında insanlarda kullanımı ile antibiyotik devri başlamıştır (Tabak 2002; Akkan ve Karaca 2003).

Antibiyotikler; bakteri, mantar ve aktinomiset gibi mikroorganizmalar tarafından doğal olarak ya da sentetik yolla elde edilen, düşük yoğunlukta bile bakterinin gelişmesini etkileyen ya da onları öldüren biyoaktif maddelerdir (Akkan ve Karaca 2003; Topal vd. 2015). Antibiyotik terimi Yunanca karşı anlamına gelen *anti* kelimesi ile yaşam anlamına gelen *bios* kelimelerinden türetilmiştir. Bütün bakteri türlerinde yavaş, hızlı ve dinlenme olmak üzere üç çoğalma evresi mevcuttur. Antibiyotikler bakterinin hızlı veya yavaş gelişme dönemleri üzerine etki gösterirler (Akkan ve Karaca 2003; Topal vd. 2015). Antibakteriyel ajanlar arasındaki başlıca ayırım; ajanın bakteriyosidal veya bakteriyostatik özellikte bir ajan olup olmadığıdır. Bakteriyosidal ilaçlar bakteriyi öldüren ilaçlardır. Bu ilaçlar bakteri hücrelerini öldürmekle birlikte, bakteri hücresinin yıkımına da neden olurlar. Hücre duvarı üzerine örneğin ß-laktamlar, hücre zarı üzerine ve bakteriyel DNA üzerine etkileri bulunur. Sülfonamidler, tetrasiklinler ve makrolidler bakteriyostatik ilaç grubunda yer alır. Bakteriyostatik ilaçlar bakterinin gelişimini ve üremesini durdururlar. Bu ilaçların kullanımı kesildiğinde bakteriler tekrar üreyebilir. Bu nedenle, bakteriyostatik ilaçlar ile birlikte bakteriyi öldürmek için konak savunma mekanizmalarına da gerek duyulur. Bakteriyostatik ajanlar ile bakteriyosidal ajanlar arasındaki ayrım kesin değildir. Bir kısım ajanlar belirli mikroorganizmalar üzerine bakterisidal etki gösterirken, diğer mikroorganizmalara karşı ise bakteriyostatik etki gösterebilir (Çolak 1999; Akkan ve Karaca 2003; Leekha vd. 2011).

Antibiyotikler bakteri hücresi üzerinde gösterdikleri etki mekanizmalarına göre; 1-hücre duvarı sentezini engelleyenler, 2-sitoplazmik zarın geçirgenliğini değiştirme, 3-nükleik asit sentezini inhibe etme, 4-ara metabolizmayı bozma, 5-protein sentezini inhibe etme şeklinde ayrılır (Çolak 1999; Akkan ve Karaca 2003). Antibiyotikler etki spektrumlarına göre geniş ve dar olmak üzere gruplandırılır. Doğal penisilinler, nistasin ve polimiksin dar spektrumlu, sentetik ve yarı sentetik penisilinler, tetrasiklin ile sülfonamidler ise geniş spektrumlu antibiyotiklerdir (Akkan ve Karaca 2003).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde özellikle son 50 yıldır antibiyotik kullanımı dünya genelinde yaygınlaşmıştır. Antibiyotik kullanımına alabalıklarda furunkulozisin tedavisinde sülfonamidler ile bazı Gram-negatif patojenlere karşı tetrasiklinlerin kullanımı ile 1970'li yıllara gelindiğinde ise trimetoprim ve sülfonamidlerin kullanımını ile başlanmıştır (Özdemir 2010). Günümüzde bakteriyel balık hastalıklarının tedavisinde oksolinik asit ve flumekuin gibi kinolon grubu, oksitetrasiklin gibi tetrasiklin grubu ya da sülfadiazin + trimetoprim gibi sülfonamid-diaminoprimidin grubu tercih edilmekte ve kullanılmaktadır (Akşit ve Kum 2008). Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotikler, farklı coğrafya ve ülkelere göre değişiklik göstermektedir. Örneğin, ülkemizde 2013 yılının Temmuz ayı itibari ile su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan 41 adet ruhsatlı ilaç mevcuttur. Bu 41 ilacın 1'i oksolinik asit, 2'si amoksisilin, 2'si enrofloksasin, 9'u sülfadiazin + trimetoprim, 12'si oksitetrasiklin ve 15'i de florfenikol içerir (Özdemir 2010; Aydın 2013).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde balıklara antibiyotik uygulamaları üç farklı yöntemle yapılmaktadır. Bu uygulamalar yeme katılarak ağız yolu ile uygulama, banyo ya da daldırma şeklinde immersiyon uygulaması ile üçüncü yöntem enjeksiyondur

(Özdemir 2010). Su ürünleri yetiştiriciliğinde ß-laktam türü antibiyotikler İngiltere ile Japonya da uzun yıllar kullanılmaktadır. Ancak, bu grupta yer alan ilaçlar örneğin amoksisilin gibi hareketli *Aeromonas* türlerinin bu ilaca direnç göstermesi ve pahalı bir ilaç olması gibi faktörlerden dolayı hastalıkların tedavisinde geniş bir kullanım alanı bulamamıştır. Furazolidon ve nifürpirolini içeren nitrofuranlar sentetik antibiyotikler olup antibakteriyel etkilerinin yanında antiprotozoal etkiye de sahiptir. Bununla birlikte, bu grup ilaçların kansorejen etkilerinin olması sebebi ile günümüzde su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanımı yasaklanmıştır (Özdemir 2010). Eritromisin yetiştiricilikte kullanılan tek makrolid olup, eritromisin dar spektrumlu ve Gram-pozitif bakteri türleri üzerinde etkilidir (Özdemir 2010). Fenikoller geniş spektrumlu antibiyotik grubudur. Özellikle bu grup içerisinde yer alan florfenikol salmonid balıklarda görülen furunkulozis ile RTFS'nin tedavisinde kullanılmaktadır (Akşit ve Kum 2008; Özdemir 2010). Bu grupta yer alan kloramfenikolün yoğun kullanımı sonucu bakterilerde direnç gelişimi söz konusudur. Kloramfenikol, tiamfenikol ve florfenikol ile aynı grupta bulunmasına karşın tiamfenikol ve florfenikol ile ilgili olarak direnç gelişimi bildirilmemiştir. Kinolonlar sentetik antibakteriyellerdir. Birinci ve ikinci jenerasyon şeklinde ayrılır. Birinci jenerasyon kinolonlar arasında nalidiksik asit, oksolinik asit ve flumekuin yer alırken, ikinci jenerasyonlar arasında ise enrofloksasin ve sarafloksasin bulunur. Birinci jenerasyon kinolanlar arasındaki oksolinik asit geniş spekturumlu olup genellikle Gram-negatif bakterilere karşı etkilidir (Özdemir 2010; Aydın 2013).

2.5. Çoklu Antibiyotik Direnci (ÇAD)

20 yy'ın başlarından günümüze kadar olan süreçte antibiyotik ajanların yoğun olarak kullanılması, çoklu direnç gösteren bakteri türleri ile sonuçlanmıştır. Çoklu antibiyotik direnci (ÇAD) indeksi bir organizmanın dirençli olduğu toplam antibiyotik sayısının türün maruz kaldığı antibiyotik sayısına oranı şeklinde hesaplanır. ÇAD indeks değeri 0.2'nin üzerinde ise bu durum ortamda antibiyotiklerin yoğun olarak kullanıldığı yüksek riskli kontaminasyon durumunu gösterir (Bhuvaneshwari 2017; Nelson vd. 2019). Antibiyotik dirençli bakterilerin ortamda bulunması ve yayılması dünya genelinde halk sağlığı açısından ciddi sorunlara neden olmakla birlikte, önemli sağlık sorunları arasında yer alır (Agubo vd. 2017; Saxena ve Kaushik 2019).

Bakterilerdeki antibiyotik direnci doğal olduğu gibi direnç genlerinin aktarılması ile de olabilmektedir (Özaktaş 2007; Piotrowska vd. 2017). Balık çiftliklerinde bakteriyel hastalıkların tedavisinde antibiyotikler yaygın olarak kullanılır. Yaygın bir şekilde kullanılan antibiyotikler arasında oksitetrasiklin, florfenikol, sarafloksasin, eritromisin ve trimetoprimli ya da ornitoprimli sülfonamidler yer alır. Bu durum, antibiyotik baskısı ve diğer bakteri türlerine de antibiyotik direncinin yayılmasını da destekler. Balıklar kullanılan bu antibiyotiklerin hepsini absorbe edememekte ve bir kısmı su ve sediment de birikmektedir. Balık havuzlarında izole edilen *Aeromonas* cinsi bakterilerin çoklu antibiyotik direncini gösterdiği bildirilmiştir (Özaktaş 2007; Piotrowska vd. 2017). Danimarka da yapılan bir çalışmada ise *F. psychrophilum, Y. ruckeri* ve hareketli *Aeromonas* izolatlarından özellikle de *F. psychrophilum* ile *Aeromonas* türlerinde çoklu antibiyotik direnci rapor edilmiştir (Özaktaş 2007).

2.6. Laktokokkosiz

Laktokokkozis tüm dünyada gerek tatlı su gerekse denizde kültürü yapılan balık türlerini etkileyen önemli bulaşıcı bakteriyel bir enfeksiyondur (Sharifi Yazdi vd. 2010; Aron 2017). Laktokokkozis dünya genelinde özellikle su sıcaklığının 15 °C üzerine çıktığında su ürünleri yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara neden olur (Sharifi Yazdi vd. 2010). Hastalık etkeni *Lactococcus garvieae* her ne kadar levrek (*Dicentrarchus labrax*), yılan (*Anguilla anguilla*), sarı kuyruk (*Seriola dumerilii*), nil tilapyası (*Oreochromis Niloticus*), dev tatlı su karidesi (*Macrobrachium rosenbergii*) ve deniz memelilerinden izole edildiğinin bildirilmesine karşın, günümüzde kültür gökkuşağı alabalığının en duyarlı tür olduğu bildirilmiştir (Aguado-Urdo vd. 2010; Fadaeifard vd. 2012; Fukushima vd. 2017).

L. garvieae (*Enterococcus seriolica*'nın önceki sinonimi) ilk kez 1950'li yılların sonlarına doğru Japonya da yoğun bir şekilde kültürü yapılan gökkuşağı alabalıklarından izole edilmiştir. O tarihten bugüne kadar, bakteri birçok ülkeye yayılmıştır. *L. garvieae* önceleri *Streptococcus garvieae* olarak tanımlanmıştır. Ancak, Japonya da japon sarıkuyruk (*Seriola quenqueradiata*) balıklarından ve yılan balıklarından izolasyonları sonrası, bakteri *Enterococcus seriolicida* olarak yeni bir tür şeklinde önerilmiştir (Aguado-Urdo vd. 2010; Ferrario vd. 2013).

L. garvieae fenotipik olarak *L. lactis*'e benzerlik göstermekle birlikte, son yıllarda moleküler tekniklerdeki gelişmeler ile ilişkili olarak çiğ inek sütü, insan klinik örnekleri, inek ve bizon gibi diğer hayvan türlerinden de izole edilmiştir. *L. garvieae* insanlarda idrar yolu, kan, deri ve zatürreli hastalardan izole edilmesi, insanlardaki bağırsak bozukluklarının *L. garvieae* ile kontamine çiğ balık tüketimi ile alakalı olarak bulunması bakterinin potansiyel zoonotik bir bakteri olarak kabul edilebileceği öne sürülmüştür (Aguado-Urdo vd. 2010; Sharifiyazdi vd. 2010).

Laktokokkozis hiperakut hemorajik septisemi ile karakterize edilir. Hastalıkta gözlenen başlıca ayırt edici klinik bulgular iştahsızlık, durgunluk, denge kaybı, düzensiz yüzme, melanozis, tek ya da iki taraflı ekzoftalmi, ascites, rektal prolapsus, periorbital ve intraoküler bölgelerde, yüzgeçlerin taban kısımlarında, perianal bölgede, operkulum ve ağızdaki kanamalardır. Laktokokkozis ayrıca patlak göz (pop-eye) olarak tanımlanır (Aron 2017; Fukushima vd. 2017).

L. garvieae'nin yayılmasında oral yol etkili olmakla birlikte, solungaçlar ve gözlerde bakterinin hedef aldığı organlar arasında yer alır. Bakterinin nakli horizontal yol ile olup, hastalığın yayılmasında hasta balıklar, taşıyıcı ve asemptomatik balıklar rol oynar. *L. garvieae* solungaç ve gözlerden balığa geçiş yaptıktan sonra kan damarlarına yayılarak, septisemiye neden olur (Eyngor vd. 2004; Avcı vd. 2010).

Laktokokkozis'in tedavisinde eritromisin, flumekuin, oksitetrasiklin, enrofloksasin ve amoksisilin antibiyotikleri sıklıkla kullanılan antibiyotiklerdir (Savvidis vd. 2007; Fadeifard vd. 2012). Bununla birlikte, antibiyotik ilaveli yem ile enfekte balıkları beslemek genel bir uygulamadır. Ancak, bu uygulama bakteri de antibiyotiğe karşı direnç gelişimine yol açarak, tedavinin etkisiz hale gelmesine neden olur (Savvidis vd. 2007; Aron 2017).

Laktokokkozisden etkilenen balıkların beyin, karaciğer, böbrek, dalak ve göz gibi hayati organlardaki granülasyon dokunun bulunması bu balıklarda tedaviyi başarısız kılabilmektedir. Bu sebeple, *L. garvieae* ile enfekte balıkların ithalatından kaçınma, hasta balıkların düzenli olarak havuzlardan toplanarak yok edilmesi, işletme ekipmanlarının devamlı ve uygun dezenfeksiyonları, işletme koşullarında sağlık uygulamalarının geliştirilmesi ve sağlıklı balıkların aşılanması laktokokkozise karşı korunmada önemli önlemler arasında yer alır. Hastalıkla ilgili ticari aşılar da mevcuttur (Savvidis vd. 2007).

2.6.1. Etiyolojisi

Lactococcus garvieae Gram-pozitif, hareketsiz, pigmentsiz, fakültatif olarak anaerobik, sporsuz, sitokrom oksidaz ve katalaz negatif, oval-kok şekilli bir bakteri türüdür. Bakteri çiftler ve kısa zincirler şeklinde bulunur (Vendrell vd. 2006; Rubião vd. 2018).

Streptococcaceae familyası *Streptococcus, Lactococcus* ve *Lactovum* cinslerini içerir. *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris* ve *L. garvieae Lactococcus* cinsinin en önemli türleri arasında yer alır (Vendrell vd. 2006; Abachi vd. 2016). *L. garvieae* önceleri *Streptococcus garvieae* şeklinde tanımlanarak, ilk kez Birleşik Krallık da mastitik meme vakasından izole edilerek, ATCC 43921 kod ile referans suş olarak identifiye edilmiştir (Vendrell vd. 2006).

L. garvieae glikoz, mannitol, maltoz ve fruktozu fermente eder ancak arabinoz, rafinoz ve sorbitolü fermente edemez (Rubião vd. 2018). *L. garvieae* kanlı vasatta genellikle α (alfa)-hemoliz oluşturur. Bakteri beyin kalp infuzyon agar (BHIA), tryptic soy agar (TSA), tryptic soy buyyon (TSB), kanlı vasat, Man, Rogossa ve Sharp (MRSA) ve safra eskülin agar (BEA) gibi zengin ve genel amaçlı besiyerlerinde iyi gelişme gösterir (Vendrell vd. 2006; Gibello vd. 2016). *L. garvieae*'nin optimal gelişme sıcaklığı 37 °C olup bakteri 10 °C ila 42 °C arasındaki sıcaklıklarda gelişebilir. Bakteriyel gelişme %4 NaCl içeren sıvı besiyerinde ve pH'ı 4.5 ila 9.6 arasında olur. Bakterinin bazı suşları %6.5 NaCl'lü besiyerinde gelişebilir (Çizelge 2.1.). Yukarıda belirtilen bu özelliklerinden dolayı, *L. garvieae* sarı kuyruk (*Seriola queradiata*) balıklarında görülen septisemiden sorumlu yeni enterokok türü olan *Enterococcus seriolicida* şeklinde tanımlanmıştır. Daha sonra yapılan kapsamlı fenotipik, filogenetik ve genetik çalışmalar sonucu her iki türün tek bir türe ait olduğu sonucuna varılarak, *E. seriolicida*'nın *L. garvieae* şeklinde yeniden tanımlanması gerektiği öne sürülmüştür (Gibello vd. 2016).

Çizelge 2.1. *L. garvieae*'nin Fenotipik Özellikleri (Austin ve Austin 2012; Vendrell vd. 2006)

Özellikler	Austin & Austin 2012	Vendrell vd. 2006
Hücre morfolojisi	Kok	Oval kok
Gram boyama	-	-
Hareketlilik	-	-
Sitokrom oksidaz	-	-
Katalaz	-	-
O/F	F	F
Hemoliz	α	α
Sitrat (Simmon's)	*	-
Nitrat indirgeme	-	-
Metil kırmızısı	+	*
Voges-Proskauer	+	+
İndol üretimi	-	-
H_2S	-	-
Glukozdan gaz oluşumu	*	*
Büyüme		
0% NaCl	+	*
2 % NaCl	+	*
4 % NaCl	+	*
6 % NaCl	+	+
8 % NaCl	*	*
10% NaCl	*	*
4˚C	*	+
20˚C	+	+
30˚C	+	+
35˚C	+	+
ADH	+	+
LDK	*	-
ODK	*	-
Amilaz üretimi	*	*
ONPG	*	*
Asit oluşumu		
Laktoz	-	(+)
D-glukoz	+	*
D-fruktoz	+	*
Galaktoz	+	+
Mannitol	+	+
Sükroz	-	D
D-mannoz	+	+
Sorbitol	+	-
Rafinoz	-	-
İnositol	*	-
Arabinoz	-	-
D-ksiloz	-	-

+: pozitif, - : negatif, (+): zayıf ya da yavaş reaksiyon, D: değişken reaksiyon, *: belirtilmemiş, F:Fermentatif, α: alfa hemolitik. ADH: Arginin Dihidrolaz, ODK: Ornitin Dekarboksilaz ONPG:Beta Galaktosidaz, LDK:Lizin Dekorboksilaz.

L. garvieae'nın diğer yaygın mikroorganizmalar ile kıyaslandığında, fenotipik ve genetik olarak heterojenlik gösterdiği bildirilmiştir. Bakterinin farklı biyotiplerinin tanımlanması bazı şekerlerin asidifikasyonu ve pyroglutamic acid arylamidase ve N-acetyl-b-glucosaminidase enzimlerinin bulunuşuna dayandırılarak yapılmıştır (Gibello

vd. 2016). Genetik çalışmalar özellikle de alabalık izolatları üzerine gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar klonal genetik grupların bulunduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte, başlıca genetik heterojenite diğer konak, çevre ya da gıdalardan izole edilen izolatlar arasında gözlenir. Taksonomik görüş açısından *L. garvieae*'nın (türünün içindeki) alt türlerin olası bulunuşu genetik ve filogenetik verilere dayandırılarak öne sürülmüştür (Gibello vd. 2016).

2.6.2. Epizootiolojisi

Lactococcus garvieae ilk olarak 1950'li yılların sonlarına doğru Japonya da ki gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) işletmelerinden bildirilmiştir (Ferrario vd. 2013). O tarihten günümüze kadar bakteri birçok ülkeye giriş yapmış ve Japonya, Tayvan, Kore, ABD, İsrail, Portekiz, İspanya, İtalya ve İran da ki balık çiftliklerinde önemli ekonomik kayıplara neden olduğu bildirilmiştir (Vendrell vd. 2006; Wang vd. 2007; Raissy ve Moumeni 2016).

L. garvieae gökkuşağı alabalıklarının başlıca patojeni olmakla birlikte, tür sarı kuyruk (*Seriola dumerilii*), kırmızı dudak kefal (*Chelon haematocheilus*), has kefal (*Mugil cephalus*) ve dev tatlı su karidesi (*Macrobranchium rosenbergii*)'nde de enfeksiyona neden olduğu rapor edilmiştir (Han vd. 2015; Wang vd. 2007). Türkiye de ise hastalığın ilk kaydı 2001 yılında Diler ve arkadaşları (2002) tarafından bildirilmiştir. Daha sonraları laktokokkozis ciddi epizootikler oluşturarak yurdumuzun farklı coğrafik bölgelerinde yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalığı işletmelerinde de görüldüğü araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Kav ve Erganiş 2008; Avcı vd. 2010; Türe ve Savaş 2010; Timur vd. 2011; Didinen vd. 2014; Dolgun 2015; Kırkan vd. 2018; Korun vd. 2018; Kurtoğlu ve Korun 2018).

2.6.3. Klinik ve nekropsi bulguları

Laktokokkozis hiper akut ve hemorajik septisemi şeklinde tanımlanmakla birlikte, balıkların bulundukları çevresel koşulların özellikle yetersiz su kalitesi ve yüksek su sıcaklığı gibi faktörlerin hastalığın görülmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Vendrell vd. 2006; Kurtoğlu ve Korun, 2018). Hastalıktan etkilenen balıklarda hızlı ve genel iştahsızlık, durgunluk, düzensiz yüzme ve denge kaybı, vücut deri renginde koyulaşma, gözlerde tek veya çift taraflı ekzoftalmus, periorbital ve intraoküler bölgede, başta, operkulum üzerinde, yüzgeçlerin taban kısımlarında, ağız boşluğunda kanama ile anal prolapsus gözlenir (Vendrell vd. 2006; Dolgun, 2015).

Nekropside peritonal boşlukta genel olarak asidik sıvı birikimi mevcut olup bu sıvı kanlı ya da irinli olabilir. Makroskobik bulgular olarak hava kesesi, bağırsak, karaciğer, dalak, böbrek ve periton da kanamalar, dalak da büyüme, karaciğer ve dalak da fokal nekrotik bölgeler, kalp zarı iltihabı ve beyin yüzeyinde sarımsı eksudat ile kaplı olması bildirilmiştir. Laktokokkozisden etkilenen başlıca organlar arasında dalak, kalp, böbrek, beyin ve bağırsak yer alır (Vendrell vd. 2006; Korun vd. 2018). Bu patolojik bulguların Akdeniz ülkelerinde gerek ekonomik gerekse sağlık sorunlarına neden olduğu bildirilmiştir (Baños vd. 2018).

2.6.4. Nakil

Laktokokkozis İtalya, İspanya, Fransa, Portekiz, Türkiye ve Yunanistan'ın da dahil olduğu Akdeniz havzası boyunca hızlı bir yayılım göstermiştir. *L. garvieae*'nin bu şekilde hızlı yayılması bakterinin çoklu rotalarının bir sonucudur. Bu rotalar arasında balık işletmelerine yeni balık girişi en sık karşılaşılan şeklidir. Bununla birlikte, asemptomatik taşıyıcılar laktokokkozisin başlıca kaynağıdır. Bu balıklar bakterileri mikrobiyotalarında taşırlar ve *L. garvieae* feçeste bulunan mikroorganizmaları elimine edebilir. Bunun sonucunda taşıyıcı balıklar havuzdaki diğer sağlıklı balıkları enfekte eder (Savvidis vd. 2007; Aron 2017). *L. garvieae* enfeksiyonundan kurtulan balıklar belirli bir süre için bakteriyi bulundukları ortama yaymaya devam ederler. *L. garvieae* yem yolu ile balıklara nakledilebilir. Bu nedenle balık yemlerinin etkili bir şekilde sıcaklık uygulamalarından geçmeleri gerekir. Bakteri donuk balık etinde altı aya kadar kalabilir. Balıklarda hastalığın naklinde yatay mekanizmalar önemlidir. Su yolu ile özellikle balıkların derisi hasar görmüş ise ya da fokal-oral yol yatay mekanizmalar olarak kabul edilir (Aron 2017).

2.6.5. Kontrol ve tedavi

Laktokokkozis Japonya da 1974 yılındaki ilk bildiriminden günümüze kadar olan süreçte dünyanın çeşitli bölgelerindeki kültürü yapılan balıklarda ciddi ekonomik kayıplara neden olmuştur (Nakai ve Park 2002; Fukushima vd. 2017). Hastalık etkeni *L. garvieae* fırsatçı bir balık patojeni olup gerek kültür koşullarında gerekse balıklarda yaygın bir şekilde bulunur. Kültür koşulları altında yetersiz su kalitesi, yüksek stoklama yoğunluğu, balıkları aşırı yemleme ve balık için yetersiz besin gibi stres faktörlerini indirgemek genellikle laktokokkozisin kontrolü için önemlidir. Ancak, stres faktörlerini azaltmak işletme koşullarında uygulama güçlüğü sebebi ile kemoterapötiklere yoğun bir şekilde bağımlı olma ile sonuçlanmıştır (Nakai ve Park 2002).

Laktokokkozis gibi balık hastalıklarının önlenmesi ve kontrolünde antibiyotikleri yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Gökkuşağı alabalıklarında laktokokkozisin kontrolünde sıklıkla kullanılan antibiyotikler arasında eritromisin, oksitetrasiklin, amoksisilin ve düşük dozda doksisiklin yer alır (Fukushima vd. 2017; Kurtoğlu ve Korun 2018). Yurdumuzda hastalığın ilk kez Diler ve arkadaşları (2002) tarafından tespit edildiği tarihten günümüze kadar *L. garvieae* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıkları araştırılmış ve suşların *in vitro* koşullarda amoksisilin, amoksisilin/klavulanik asit, ampisilin, doksisiklin, enrofloksasin, eritromisin, kloramfenikol, oksitetrasiklin, pristinamisin, sefolatin ve tetrasikline duyarlı oldukları, apromisin, flumekuin, gentamisin, kanamisin, nikomisin, oksalinik asit, penisilin, streptomisin ve sülfametazole dirençli oldukları bildirilmiştir (Kurtoğlu ve Korun, 2018). Antimikrobiyal ajanların *L. garvieae*'ye karşı *in vitro* koşullarda etkili olmasına karşın, bu kemoterapötik ajanların etkileri, enfekte balıklarda gözlenen iştah kaybı nedeni ile saha koşullarında düşüktür (Meyburg vd. 2018). Bu nedenle, antibiyotik tedavisi laktokokkozis için etkili bir yöntem değildir (Fukushima vd. 2017).

Günümüzde balık hastalıklarını önlemek amacı ile aşılama üzerine yoğun çalışmalar mevcuttur. Ancak aşıların balık sağlığını olumlu yönde etkilediğinin

bildirilmesine karşın ne var ki hastalık çıkışlarını önlemede etkili olmadıkları bildirilmiştir. Bununla birlikte, aşılama ile sağlanan bağışıklığın 2-3 ay gibi kısa süreli etkili olması, maliyetinin yüksek olması özellikle intraperitoneal (I.P.) yolla uygulandığında da yüksek iş gücü gerektirmesi ve balıklarda strese neden olması sebebi ile dezavantajları söz konusudur (Altun vd. 2010; Baños vd. 2018).

Laktokokkozis'in kontrolünde üzerinde çalışılan alternatifler arasında *L. garvieae*'nin bakteriyofajları ile i.p. enjeksiyonu, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* ve *Enterococcus faecium* gibi laktik asit bakterileri (LAB)'nin probiyotik olarak kullanımı da mevcuttur (Fukushima vd. 2017; Baños vd. 2018). Ancak, antibiyotik kullanımı bakterilerde direnci yaygınlaşması, suda ve hayvan dokularında antibiyotik kalıntılarından dolayı halk sağlığı açısından önemli hale gelmiştir (Baños vd. 2018; Meyburgh vd. 2018). Bakteri suşlarında antibiyotik direncinin yayılmasında yatay gen naklinin çeşitli mekanizmaları görev alır (Meyburgh vd. 2018).

2.7. Balıklarda Görülen Bakteriyel Enfeksiyonların Teşhisinde Kullanılan Bakteriyolojik ve Moleküler Teknikler

2.7.1. Bakteriyolojik yöntemler

Su ürünleri yetiştiriciliği genellikle hastalığa neden olan bakteri türleri sebebi ile tehdit altındadır. Bununla birlikte, balıklarda görülen patojenli enfeksiyon ile hastalık durumunu birbirinden ayırt etmek her zaman için kolay olmamakla birlikte, gerek fizyolojik gerekse çevresel bakımdan stresli olan balıklarda bakteriyel enfeksiyonlar yoğun bir şekilde gözlenir (Lipton vd. 1998). Bakteriyel hastalıkları önleme ve kontrolünde ilk basamak, hastalık etkeninin izolasyonu ve tanımlanması ile başlar. Balıklar için özellikle Gram-negatif bakterileri içeren 12 cins, Gram-pozitif bakteri türlerini içeren 7 cins ve aside dirençli bakteri türlerinden oluşan 2 cins balıklar için önemli patojenler arasında yer almaktadır (Lipton vd. 1998; Ruangpan ve Tendencia 2004). Bu bakteri türlerinin saf olarak elde edilmesi ancak izolasyon ile olmaktadır. Böbrek ve dalak izolasyon amaçlı en sık kullanılan organlardır. Saf bakteri kültürü, belirli bir bakteri suşunun morfolojisi, fizyolojisi, biyokimyasal özelliklerini ve antimikrobiyal ajanlara karşı dirençli ya da duyarlı olma durumlarını çalışmak için gereklidir. Bakteriyel patojenlerin tanımlanması teşhis açısından da önemlidir. Enfeksiyonların tedavisi ancak bakteri türü tanımlandıktan sonra yapılabilir. Bakteriler morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre farklılık gösterdiklerinden bakterilerin tanımlanması bazı morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testler ile gerçekleştirilir (Ruangpan ve Tendencia 2004). Bakteri suşlarının izolasyonunda nutrient agar (NA), triptik soy agar (TSA) ve beyin kalp infuzyon agar (BHIA) gibi besiyerleri kullanılabildiği gibi sadece spesifik bir cinsin gelişmesine izin veren örneğin *Vibrio* türleri için thiosulphate citrate bile sucrose agar (TCBS), *Aeromonas* ve *Pseudomonas* türleri için glutamate starch phenol red agar (GSP) kullanılabilir. *R. salmoninarum* için seçici böbrek hastalığı vasatı (SKDM) kullanılabilir (Ruangpan ve Tendencia 2004; Austin 2011).

Bakteriyel izolatlar morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerine dayandırılan fenotipik tanı yöntemleri ile tanımlanabilir (Ruangpan ve Tendencia 2004). Fenotiplendirme dünya genelinde bakteri türlerinin tanımlanmasında kullanılmaktadır. Ancak, Voges-Proskauer reaksiyonu gibi testlerin tekrarlanabilirliği yönünden dikkat

edilmezse bakterilerin tanımlanmasında hataya ve yanlış tanımlamaya neden olabilir (Austin 2011). Günümüzde klasik fenotiplendirme yöntemleri API gibi ticari tanı kitleri ile yer değiştirmiştir. Ne var ki, bu kitlerin profillerinin yorumlanmasında karışıklık söz konusu olabilir. Örneğin, *A. hydrophila*'nın bazı profillerinin *A. allosaccharophila* ve *A. sobria*'nın profilleri ile benzerlik gösterdiği ayrıca *T. maritimum* ile *P. anguillaseptica*'nın API20E kiti ile ayırt edilemediğide bildirilmiştir (Austin 2011).

Bakteriyel balık hastalıkları açısından önemli olan bakteri türlerinin tanımlanmasında Gram-reaksiyonu, oksidaz testi, hareketlilik, oksidasyon ve fermentasyon testi, O/129 vibriostat testi ile novobiosine hassasiyet önemli fenotipik testler arasındadır. Ancak, hastalık etkeni bakterinin tür düzeyinde tanımlanmasına gereksinim duyulursa, ileri biyokimyasal testler gerçekleştirilebilir (Ruangpan ve Tendencia 2004).

2.7.2. Moleküler yöntemler

Kültür koşullarında balıklar çeşitli bakteriyel, viral, parazitik ve fungal enfeksiyonlara karşı duyarlıdır. Kültür balıklarında hastalıklardan kaynaklanan kayıplar Avrupa ülkeleri ile birlikte, dünya genelinde gerek üretim miktarı gerekse kalite yönünden önemli bir etkiye sahiptir. Patojenlerin hızlı olarak izolasyonu ve tanımlanması, hastalıkların kontrolünde etkili olmakla birlikte, antibiyotik ve kimyasalların kullanımlarında azalmayı sağlaması açısından önemli. Biyoteknoloji balık sağlığı açısından birçok uygulamayı içerir (Adams ve Thompson 2006).

2.7.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ilk kez 1985 yılında Mullis ve arkadaşları tarafından bulunan ve günümüzde yaygın bir şekilde kullanılan bir tekniktir. Bu teknik, DNA zincirinin bilinen iki parçası arasında uzanan özel bir DNA bölümünün *in vitro* koşullarda enzimatik olarak çoğaltıldığı bir tekniktir (Dilsiz 2004; Somma ve Querci 2010). PZR tekniği ilk başlarda orak hücre anemisinin teşhisinde kullanılmaya başlanmıştır. Daha sonraları tekniğin kullanım alanı genişleyerek hali hazırda allelik dizi varyasyonlarının gösterilebilmesi ile doku transpilantasyonu için doku tipinin belirlenmesi, adli tıpta genetik tiplendirme, su ürünleri dahil tarım alanlarında, çeşitli biyolojik çalışmalarda kullanılmaktadır (Cunningham 2002; Arı 2004; Dilsiz 2004).

PZR tekniği hücre içinde (*in vivo*) DNA'nın kendini eşlemesi mekanizmasına dayanır. Çift zincirli DNA (dsDNA) tek zincirli DNA (ssDNA)'ya çözülür. Bu kısım kopyalanarak çoğaltılır ve tekrar bağlanır (Somma ve Querci 2010). PZR tekniği denatürasyon, hibridizasyon (annealing) ve amplifikasyon (extension) basamaklarından oluşur.

Denatürasyon: Çift sarmal DNA'nın yüksek sıcaklıkta çözülerek tek sarmal haline gelmesidir.

Hibridizasyon (Annealing): Primer olarak kullanılan iki oligonükleotidin hedef DNA'ya bağlanmasıdır.

Amplifikasyon (Extension): DNA polimeraz, *Taq*, *Pfu*, *Vent*, *Tth* ile primerlerden

itibaren zincirin uzamasıdır (Dilsiz 2004; Somma ve Querci 2010).

PZR tekniğinde denatürasyon, primer birleşme ve uzama basamakları bir döngüyü meydana getirir (Somma ve Querci 2010). Bu basamakların ard arda tekrarlanması ile DNA parçaları üstel bir şekilde artar. Bu şekilde her PZR döngüsü DNA molekülü üzerinden istenilen bölgenin iki katına çıkmasına neden olur (Arı 2004). PZR tekniğinde her bir döngü başlıca üç temel basamağı kapsar. Bu basamaklar:

1-Bir çift sarmallı DNA'nın 90-95 °C de üç ila dört dakika ısıtılarak birbirinden ayrılması

2-Ayrılan her bir ipliğin 3' uçlarına eş bazların bağlanması

3-DNA polimeraz enziminin dNTP'leri kullanarak 70-75 °C de polimerizasyonu tamamlamasıdır (Dilsiz 2004).

Üç farklı sıcaklıktan ibaret olan amplifikasyon yaklaşık olarak 35 kez tekrarlanır. Her bir döngü üç-dört dakika sürer. PZR ile çoğaltılan ürünler agaroz ya da akrilamid jel elektroforezinde ayrılır. Etidyum bromid ile boyama sonrası UV ışık altında incelenir. DNA bantları DNA'nın etidyum bromid ile oluşturduğu fluoresans özelliğine bağlı olarak koyu zemin üzerinde beyaz bantlar şeklinde görülür (Dilsiz 2004).

Yuvalanmış (Nested), Çoklu (Multipleks), Demirlenmiş (Anchored), Geri (Reverse) Transkripsiyon (RT-PZR), Asimetrik, Ters (Inverse) (IPZR), *In situ,* Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) ve Immuno PZR gibi özel uygulamalar için geliştirilmiş PZR metotları da mevcuttur (Arı 2004; Somma ve Querci 2010).

Bakteri, mantar, virüs, metazoan ve protozoan parazit türleri dahil çeşitli balık patojenlerinden kaynaklanan bulaşıcı hastalıklar kültür balıklarının yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Bu durum, işletme koşullarında balık patojenleri ile enfeksiyöz hastalıkları kapsayan biyogüvenlik ya da diğer bir ifade ile patojen önleyici programları önemli hale getirmiştir. Balık patojenlerinin hızlı, doğru ve güvenilir tespiti; zaman alıcı olabilmekte ve bu durum balık patojenlerinin izolasyonu ve tanımlanması hastalıkların tedavi ve kontrol süreçleri ile biyogüvenlik çalışmalarını sınırlandırmaktadır (Frans vd. 2008).

Geleneksel olarak hastalıkların teşhisi, çoğunlukla hastalığın klinik ve histolojik bulgularına, etken bakterinin uygun besiyerlerinde kültürüne, izolasyonuna ve patojenin fenotipik ve serolojik özelliklerinin tespit edilerek tanımlanmasına dayanır. Bu yöntemler hastalıkla ilgili herhangi bir teşhis edici yöntemin geliştirilmesinde temel olmakla birlikte, bu tekniklerin güvenilirliği önemli ölçüde uzmanlık gerektirir (Frans vd. 2008; Kumar vd. 2014). Ayrıca, kültür basamağını kapsayan teşhis zaman alıcı olabilmektedir. Örneğin, önemli balık patojenleri arasında yer alan *Flavobacterium* ya da *Mycobacterium* türlerinin özel besiyerlerinde gelişebilmesi için birkaç güne gereksinim duyulur. Salmonid balıklarda gözlenen bakteriyel böbrek hastalığı etkeni *R. salmoninarum* izolasyonu 12 haftayı bulabilir. Bu teknikler organizmanın *in vitro* koşullarda kültürünü gerektirir (Frans vd. 2008).

Son 15-20 yıldan bu yana balık patojenleri ve konaklarının moleküler biyolojilerini anlamada gelişmeler kaydedilmiştir. Günümüzde moleküler teknikler balık hastalıklarının teşhisi ile kontrolünde ve bakteri dahil bulaşıcı etkenlerden kaynaklanan hastalıklarının epidemiyolojisini çalışmada rutinlik kazanmıştır. Örneğin, *Y. ruckeri*'nin spesifik tespiti için bazı PZR protokolleri geliştirilmiştir. Immun (Immunocapture) PZR, *F. psychrophilum*'un teşhisinde kullanılmıştır. *Aeromonas* spp. *Flavobacterium* spp. ve *Vibrio* spp. gibi spesifik balık patojenlerinin uygun bir şekilde tespiti için RT-PZR geliştirilmiştir (Frans vd. 2008; Kumar vd. 2014).

3. MATERYAL VE METOT

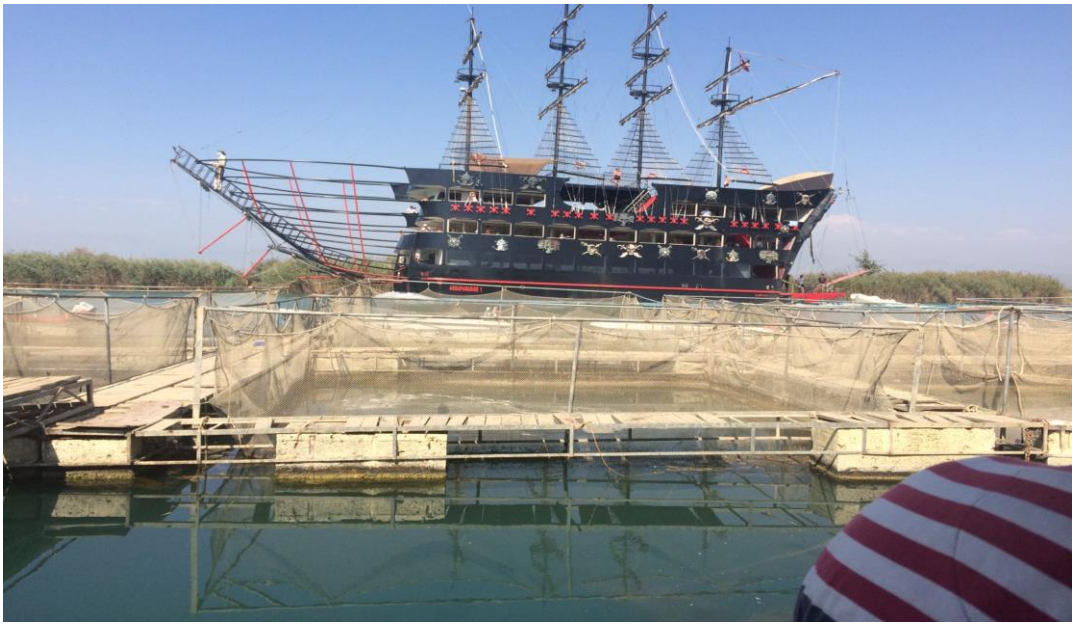
3.1. Materyal

3.1.1. Araştırmanın yapıldığı yer

Tez çalışmasının saha örneklemeleri Akdeniz Bölgesi Antalya sınırları içerinde yer alan Kemer (Şekil 3.1.), Korkuteli (Şekil 3.2.), Manavgat (Şekil 3.3.) ve Akseki ilçelerindeki ticari gökkuşağı alabalığı işletmelerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın bakteriyolojik ve moleküler kısımları ise Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuarı 4 de yapılmıştır. Çalışmaya başlayabilmek için Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul'unun onayı alınmıştır (Protokol No: 2018.01.030).

Şekil 3.1. Antalya Kemer de birinci örnekleme çalışmasının yapıldığı işletmeden bir görünüm

Şekil 3.2. Korkuteli'nde ikinci örnekleme çalışmasının yapıldığı işletme



Şekil 3.3. Üçüncü örnekleme çalışmasının yapıldığı ağ kafes işletmesinden bir görüntü

3.1.2. Hasta balık materyali temini

Bu çalışma Haziran 2018-Eylül 2018 tarihleri arasında Kemer, Korkuteli, Manavgat ve Akseki de yer alan ticari alabalık işletmelerinde gerçekleştirilmiştir. Her ay bir işletme ziyaretinde bulunulmuştur. Her işletmeden 10 adet balık örneği alınarak çalışma boyunca toplam 30 adet balık örneği ile çalışılmıştır. Akseki'deki su sıcaklıklarının düşük olmasından dolayı hastalık gözlenmemiştir. Balıkların vücut ağırlıkları 180 g'dan 350 g'a kadar değişmiştir. İşletme koşullarında havuz suyunun sıcaklığı, çözünmüş oksijen (mg/l) ve pH'ı Hanna marka portatif ölçüm cihazı ile ölçülerek kaydedilmiştir (Tablo 3.1). İşletme koşullarında balıklardan örnekleme yapılmadan önce balıklarda görülen hastalık durumları ile yetiştiricilik şartları, kullanılan antibiyotikler ve aşılar, hakkında işletme çalışanlarından bilgi alınmıştır.

Çizelge 3.1. Çalışma amaçlı gidilen işletmelerdeki havuz suyu parametreleri

	Sıcaklık	pH	O_2
KEMER	18˚C	7,5	7
KORKUTELİ	15˚C	7,5	7,2
MANAVGAT	21˚C	7,8	7,6
AKSEKİ	8˚C	7,5	7,4

3.1.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri

Çalışmada besiyeri olarak Tryptic Soy Agar (TSA), Beyin Kalp Infuzyon Agar (BHIA), Nutrient Buyyonu (NB), McConkey agar, Oksidasyon/Fermentasyon Hugh Leifson bazal besiyeri (O/F), Metil Red-Voges-Proskauer (MR-VP) besiyeri, Simmon's sitrat besiyeri, Triple Sugar Iron Agar (TSIA) besiyeri, jelatin, nişasta ve koyun kanlı (%5) besiyeri kullanılmıştır.

3.1.4. Çalışmada kullanılan kimyasallar

Bakterilerin morfolojik özelliklerinin tespiti için Gram boyama tekniğinde kullanılan boyalar (kristal viyole, lugol ve fuksin) kullanılmıştır. Sitokrom oksidaz testi için tetramethyl-p-phenylen-diamine dihydrochloride, katalaz üretimi için %3'lük H_2O_2, D-glukoz, Kovac's ayıracı, ONPG (o-nitrophenyl-ß-D-galactopyranoside), lizozim, alfa naftol (%5'lik), etil alkol, potasyum hidroksit (%40) ve metil red çalışmalar için TBE tamponu (Tablo 3.2.) ile agaroz (Tablo 3.3.) kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. Moleküler çalışmalarda kullanılan TBE tamponunun hazırlanışı

5X TBE Tamponu	
Trizma base	54 g
Borik asit	27,5 g
0,5 M EDTA (8,3 pH)	20 ml

Çizelge 3.3. Agaroz jelin hazırlanışı

%1 Agaroz jel	
1X TBE	100 ml
Agaroz	1 g
Etidyum bromid	2µl

3.1.5. Çalışmada kullanılan kitler

Çalışmada bakterilerden DNA izolasyonu için Hibrigen Genomik DNA ekstraksiyon kiti kullanılmıştır. Kit içeriğinde MS tamponu, DS tamponu, proteinaz K, yıkama tamponu ve elution tamponu bulunmaktadır. *Lactococcus garvieae* Gram-pozitif bir bakteri türü olduğu için lizis basamağı eklenmiştir. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) çalışması içinde Hibrigen PZR ve DNA Fragment Saflaştırma kiti ile MyTaq Bioline DNA Polimeraz kiti kullanılmıştır.

3.1.6. Çalışmada kullanılan antibiyotikler

Çalışmada bakteri suşlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının tespiti için dokuz antibiyotik kullanılmıştır. Bu antibiyotikler; Ampisilin (10 µg), Basitrasin (0.04 µg), Eritromisin (15 µg), Flumekuin (30 µg), Furazolidon (15 µg), Kanamisin (30 µg), Oksitetrasiklin (30 µg), Streptomisin (10 µg) ve Trimetoprim (5 µg) dir.

3.2. Metot

3.2.1. Balıkların klinik yönden incelenmesi ve nekropsi

İşletme koşullarında balıkların sergilediği davranışsal bulgular gözlemlenerek kaydedilmiştir. Gözlem sonrası hastalık belirtisi gösteren ve/veya hastalıktan şüpheli balıklar, içerisinde anestezik madde olarak karanfil yağı bulunan kovalara alınarak bayılmaları beklenmiştir. Balıklarda gözlenen dış bulgular tespit edilmiştir. Balıkların vücut yüzeyleri %70'lik etanol ile silinmiş ve balıklara nekropsi uygulanmıştır. Nekropsi de iç organlarda gözlenen klinik bulgular kaydedilmiştir. Balıkların dalak, karaciğer ve böbreklerinden önceden laboratuar koşullarında hazırlanarak steril hale getirilmiş olan Beyin Kalp Infuzyon Agar (BHIA) içeren Petri kutularına ekimleri yapılmıştır (Timur ve Timur 2003). Ekim çalışması sonrası Petri kutuları Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi 4 nolu Araştırma Laboratuarı'na getirilmiş ve burada bulunan soğutmalı etüv de 25±2°C de 72 saat süre ile bakterilerin inkübasyonu sağlanmıştır (Vendrell vd. 2006).

3.2.2. *L. garvieae*'nin fenotipik özelliklerinin tespiti

BHIA da izole edilen bakterilerin koloni morfolojisi ve rengi tespit edildikten sonra altkültürleri yapılmıştır. Bakterilerin fenotipik özelliklerinin tespiti için kullanılan tüm besiyerleri 25±2°C de 24-72 saat süre ile inkübe edilmiştir (Sıcaklık ve tuzluluk toleransları ile ONPG, MR-VP testleri hariç). Bakterinin hareketli olup olmadığının tespiti için asılı damla yöntemi; bakterinin hücre morfolojisinin tespiti içinse Gram boyama yöntemi uygulanmıştır. Bakterinin fenotipik özelliklerinin tespiti amacı ile sitokrom oksidaz reaksiyonu, katalaz üretimi, hemoliz, sıcaklık ve tuzluluk tolerans testleri, Metil Red ve Voges-Proskauer testleri, H_2S üretimi, Simmon's sitrat agar da sitrat kullanımı, nitrat indirgeme testi, jelatinaz ve amilaz üretimi ile ilgili testler yapılmıştır (Seeley vd. 1991; Vendrell vd. 2006; Timur ve Timur 2003; Austin ve Austin 2012).

3.2.3. *L. garvieae*'den DNA izolasyonu

Laboratuar koşullarında BHIA da gelişen bakteriler içerisinde 1.5 ml NB bulunan sıvı besiyerine ekimleri yapılarak 25 ±2 °C de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası sıvı besiyeri 1.5 ml'lik eppendorf tüplere alınarak 12000 RPM de soğutmalı santrifüj cihazında 3 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifügasyon sonrası üsteki sıvı kısım atılarak dipteki pelet halindeki bakterilerden DNA izolasyonu ticari kit kullanılarak yapılmıştır. *L. garvieae* Gram-pozitif olduğundan lizis basamağında lizozim ilavesi yapılmıştır. DNA örnekleri PZR çalışmalarında kullanılana kadar -20 °C de muhafaza edilmiştir (Temizkan ve Arda 2004).

3.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

DNA örnekleri çalışma öncesi oda sıcaklığında çözdürülmüştür. PZR ürün eldesi üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, 50 µl olacak şekilde standart reaksiyon hazırlanmıştır. PZR bileşenleri ve miktarları Tablo 3.4. de verilmiştir. Çalışmada ilk denatürasyon 95 °C de 3 dakika, annealing 44 °C de 15 saniye, extension 72 °C de 10 saniye olmak üzere 30 döngüye ayarlanmıştır. Son aşama

72 °C de 10 dakika inkübe edilmiştir. PZR ürünleri jel elektroforez de yürütülene kadar -20 °C de muhafaza edilmiştir. Çalışmada Zlotkin ve arkadaşları (1998)'in *L. garvieae*'nin tanısında 16S rRNA gen dizisini hedef alarak hazırladıkları ileri primer PLG-1 (5´-CATAACAATGACAATCGC-3´) ve geri primer (5´-GCACCCTCGCGGGTTG-3´) çiftleri ticari bir firmaya sentezlettirilmiştir.

Çizelge 3.4. PLG primerleri PZR bileşenlerinin miktarları

Bileşen	Hacim
5XMyTaq reaksiyon buffer	10µl
Dönor DNA	5µl
Primerler 20 µm (PLG)	2µl
MyTaq Hs DNA Polimeraz	1µl
Su (ddH_2O)	32µl

3.2.5. Farklı primerler kullanılarak *Lactococcus garvieae*'nin teyit edilmesi

Çalışmada hasta gökkuşağı alabalıklarından izole edilen *L. garvieae* suşlarının Zlotkin ve arkadaşları (1998)'nın primerlerinden farklı olarak Aoki ve arkadaşları (2000) tarafından bildirilen SA1B10-1-F ile SA1B10-1-R ve 16S rRNA JCM 10343^T primerleri kullanılmıştır. Bu amaçla, 50 µl olacak şekilde standart reaksiyon hazırlanmıştır. PZR bileşenleri ve miktarları Tablo 3.5. de verilmiştir. Çalışmada ilk denatürasyon 95 °C de 3 dakika, annealing 44 °C de 15 saniye, extension 72 °C de 10 saniye olmak üzere 30 döngüye ayarlanmıştır. Son aşama 72 °C de 10 dakika inkübe edilmiştir. PZR ürünleri jel elektroforez de yürütülene kadar -20 °C de muhafaza edilmiştir (Zlotkin vd. 1998; Aoki vd. 2000; Fadeifard vd. 2012).

Çizelge 3.5. SA1B10 primerleri PZR bileşenleri miktarları

Bileşen	Hacim
5XMyTaq reaksiyon buffer	10µl
Dönor DNA	5µl
Primerler 20 µm (SA1B10)	2µl
MyTaq Hs DNA Polimeraz	1µl
Su (ddH_2O)	32µl

3.2.6. Agaroz jel elektroforez yöntemi ile görüntüleme

%1'lik agaroz jel hazırlayabilmek amacı ile 100 ml 1XTBE tamponu eldesi için 5XTBE tamponu (54 g Trisma base, 27.5 g borik asit, 20 ml 0.5 M EDTA, pH 8.3) 80:20 ml (saf su: tampon) olacak şekilde seyreltilerek kullanılmıştır. 1XTBE tamponu içerisine 1 g agaroz eklenerek mikrodalga fırında eritilmiş ve 50-60 °C'ye kadar soğuması beklenmiştir. Daha sonra soğuyan agaroza 0.2 µl etidyum bromid solüsyonu eklenmiştir. Elektroforez cihazının tarakları yerleştirildikten sonra, tablasına hazırlanan

jelden dökülerek jelin donması beklenmiştir. DNA marker olarak 1000 bç'lik marker kullanılmıştır. Marker 6 µl olacak şekilde ilk kuyucuğa eklenmiştir. Diğer kuyucuklara PZR amplifikasyon ürünlerinden 5 µl alınarak 2 µl ladder (boyar madde) ile beraber kuyucuklara yüklenmiş ve örnekler 100 V da 60 dakika yürütülmüştür. Bu süre sonunda agaroz jelde yürütülen bantların görüntülenmesi U.V. lambası altında transilmilatörde gerçekleştirilmiştir.

3.2.7. Antibiyogram duyarlılık testleri

Çalışmada izole edilen bakteri suşlarının *in vitro* koşullarda antibiyotik duyarlılık testleri yapılmıştır. Bu amaçla standart disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır (CLSI, 2006). Bakteri suşları Mueller-Hinton agarda 24 ± 2 °C de 16-18 saat süre ile inkübe edildikten sonra bakteriyel süspansiyonları hazırlanmış ve Mueller-Hinton agarlı Petri kutularının yüzeyine yayılmadan önce bakteriyel süspansiyonun bulanıklığı McFarland No 0.5 ($1.5X10^8$ CFU/ml)'e göre ayarlanmıştır. Ticari antibiyotik disklerinin besiyeri yüzeyine yerleştirilmesinden sonra Petri kutuları aerobik koşullarda 28 ± 2°C de 24 ila 28 saat süre ile inkübe edilmiştir. Testler iki tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda tüm disk difüzyon çapları ölçülüp kaydedilerek aritmetik ortalama hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, suşların antibiyotik duyarlılıkları hassas, orta dirençli ve dirençli olarak belirlenmiştir. Sonuçların belirlenmesi EUCAST (2011), Laith ve arkadaşları (2017), CLSI (2006), Dolgun (2015), Kubilay ve arkadaşları (2005), Ruangpan ve Tendencia (2004), NCLS (2003) ve Baker (1984)'e yapılmıştır.

3.2.8. Çoklu Antibiyotik Direnci (ÇAD)

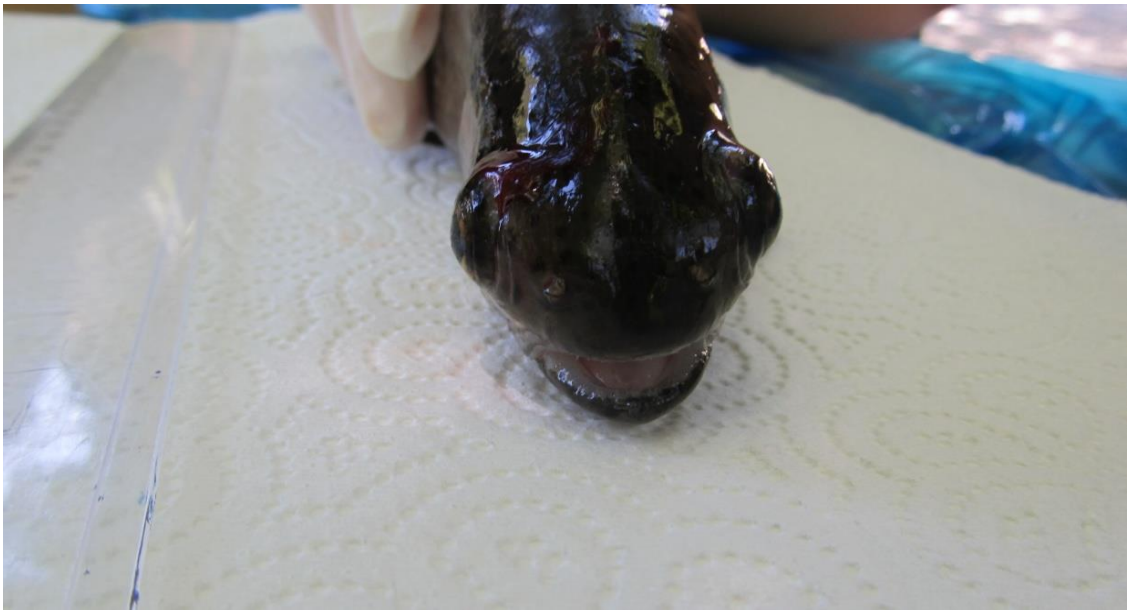
Çoklu Antibiyotik Dirençliliği (ÇAD) indeksi; test organizmalarının dirençli oldukları antibiyotik sayısının denenen toplam antibiyotik sayısına oranı ile hesaplanır. ÇAD indeksi verilen popülasyonlarda hesaplanan indeks sonucu 0.2'den büyükse birkaç antibiyotiğin kullanıldığı ortam kökenli bakteri suşlarının bulunduğunu belirtir (Ehinmidu 2003). Çalışmada örnekleme yapılan hasta balıklardan izole edilen bakteri suşlarının ÇAD indeksi a/b formülüne göre hesaplanmıştır. Bu formülde 'a' izole edilen bakterinin direnç gösterdiği antibiyotik sayısını temsil ederken, 'b' ise suşa uygulanan tüm antibiyotik sayısını temsil etmektedir (Krumperman 1985).

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Bu çalışmada Haziran 2018 tarihinde yapılan birinci örnekleme çalışmasında Antalya Kemer de bulunan ticari bir alabalık işletmesinde 250-300 gram ağırlığındaki gökkuşağı alabalıklarında 18°C su sıcaklığında ve günlük %2.8 düşük mortalite ile seyreden bir hastalığın çıktığı tespit edilmiştir. Havuz başında yapılan gözlemlere göre balıklarda durgunluk, su yüzeyine yakın olarak yüzme, yem alımında azalma ve iştahsızlık gibi davranışsal bozukluklar gözlenmiştir. Balıklarda dış klinik bulgu olarak deri renginde özellikle vücudun baş ve dorsal kısımlarında koyulaşma (Şekil 4.1.), tek ya da iki taraflı ekzoftalmus (Şekil 4.2.), bazı balıklarda ise tek gözde ekzoftalmus ile diğer gözde göz kaybı ile birlikte göz çukurunda hemoraji (Şekil 4.3.), karın kısmında şişkinlik, solungaç filamentlerinde erime ve yapışma (Şekil 4.4.), bazı balıklarda pektoral (Şekil 4.4.), pelvik ve anal yüzgeç taban kısımlarında hemoraji ile bazı balıklarda ise üst çenede lezyon gözlenmiştir. Nekropsi sonrası balıklarda dalakta büyüme ve renginde koyulaşma, vücut kasında, pilorik sekada, vücut yağında ve gonadlarda hemoraji (Şekil 4.5.), karaciğerde hemoraji ve kıvamında yumuşama, hava kesesinde şişkinlik ile bazı balıklarda hava kesesi yüzeyinde hemoraji, böbrekte erime ile karın kısmında asidik sıvı birikimi gözlenmiştir. Balıklarda bağırsağın gıda yönünden boş olduğu tespit edilmiştir.

Şekil 4.1. Laktokokkozisden etkilenen balıkta baş ve dorsal kısımlarında koyulaşma



Şekil 4.2. Gözlerde ekzoftalmi

Şekil 4.3. Tek gözde ekzoftalmus, diğer gözde göz kaybı ile birlikte göz çukurunda hemoraji

Şekil 4.4. Solungaç filamentlerinde erime ve yapışma, pektoral yüzgeç tabanında kanama

Şekil 4.5. Hasta balıkta iç organlarda kanama, dalakta büyüme ve renginde koyulaşma

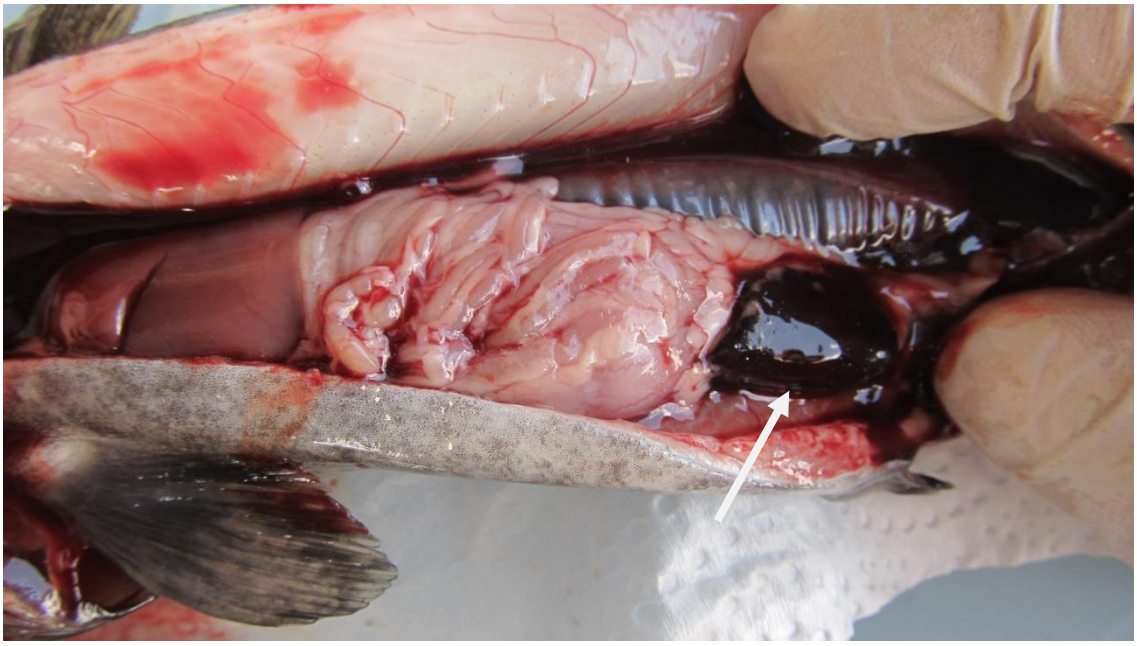
İkinci örnekleme çalışması Antalya Korkuteli'ndeki ticari bir alabalık işletmesinde Temmuz 2018 tarihinde yapılmıştır. Balıkların vücut ağırlığı 180-300 gram ağırlığında değişmiştir. Havuzlardaki su sıcaklığı 15°C olup balıklarda günlük olarak %1.7 oranında kayıplar gözlenmiştir. Hasta balıklarda durgunluk, iştahsızlık ve su yüzeyine yakın olarak yüzme gözlenen davranışsal bulgulardır. Balıklarda dış bakıda deride özellikle baş ve dorsal bölge olmak üzere yüzgeçlerde dahil koyulaşma (Şekil 4.6.), tek ya da iki taraflı ekzoftalmus, bazı balıklarda iki taraflı ekzoftalmus, gözde opaklaşma ve hemoraji (Şekil 4.7. ve Şekil 4.8.) ve karın kısmında şişkinlik tespit edilmiştir. İç bakıda ise dalakta büyüme ve renginde koyulaşma, vücut kasında, pilorik

sekada, gonadlarda, bağırsak yüzeyinde ve karaciğerde hemoraji gözlenmiştir (Şekil 4.9.). Ayrıca, böbrekte erime, renginde koyulaşma ve kıvamında yumuşama da tespit edilmiştir. Hasta balıklarda karın kısmında asidik sıvı birikimi mevcut olup bağırsak da ise yem tespit edilmemiştir.

Şekil 4.6. İkinci örnekleme çalışmasında laktokokkozisden etkilenen balıkta deride koyulaşma gözlenmesi

Şekil 4.7. Hasta balıkta gözde opaklaşma ve kanama

Şekil 4.8. Hasta balıkta gözde ekzoftalmusun yandan görünüşü



Şekil 4.9. Hasta balıkta iç organlarda kanama ve dalakta büyüme (splenomegali) (okla gösterilmiştir)

Üçüncü örnekleme çalışması Manavgat da Düden şelalesi üzerindeki ticari bir işletmeye ait ağ kafeslerde Ağustos 2018 tarihinde gerçekleştirilmiştir. Su sıcaklığı 21°C olup balıklarda günlük olarak %2.5 kayıp tespit edilmiştir. Balıklarda durgunluk, iştahsızlık, yem alımında azalma, kafes yüzeyine yakın yüzme gibi davranışsal bulgular gözlenmiştir. Balıklarda deri renginde koyulaşma, gözlerde tek ya da iki taraflı ekzoftalmus, bazı balıklarda tek gözde ekzoftalmus, diğer gözde göz kaybı veya opaklaşma ve kanama (Şekil 4.10.), karın kısmında şişkinlik, bazı balıklarda üst çenede

ve dil üzerinde kanama gözlenmiştir. İç bakıda dalakta büyüme ve renginde koyulaşma, karaciğerde büyüme ve renginde koyulaşma ve hemoraji, vücut kasında, pilorik sekada, yağ dokuda ve bağırsak yüzeyinde yoğun hemorajiler tespit edilmiştir. Bağırsak gıda yönünden boş olup, böbreklerin kıvamında yumuşama gözlenmiştir.

Şekil 4.10. Üçüncü örnekleme çalışmasında laktokokkozisden etkilenen balıkta tek gözde ekzoftalmus ve hemoraji

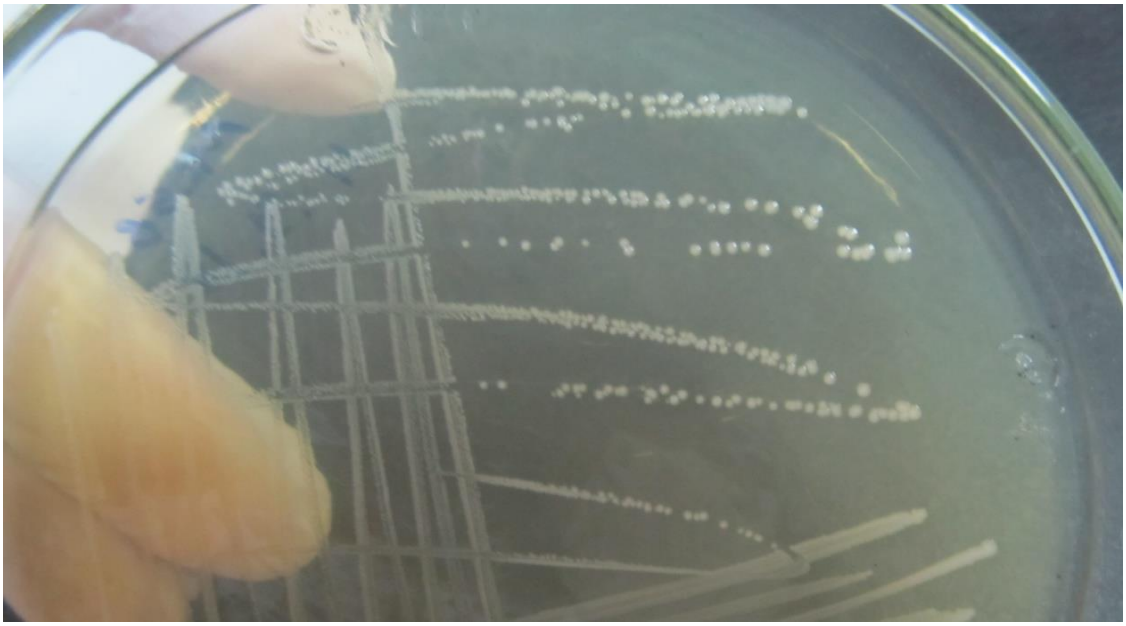
Dördüncü örnekleme çalışması Eylül 2018 tarihinde Antalya Akseki de bulunan ticari bir alabalık işletmesine gidilmiştir. Su sıcaklığı 8°C olduğundan laktokokkozis gözlenmemiştir.

4.2. Hasta Balıklardan İzole Edilen Bakteri Suşlarının Fenotipik Bulguları

4.2.1. Bakteri suşlarının koloni morfolojilerine ait bulgular

İşletme koşullarında hasta gökkuşağı alabalıklarının karaciğer, dalak ve böbreklerinden ekim yapabilmek amacı ile balıklara ventral ve lateral insizyonlar uygulanarak balıkların iç organları steril bir şekilde ortaya çıkartılmıştır. Balıkların karaciğer, dalak ve böbreklerinden içerisinde Beyin Kalp İnfuzyon Agar (BHIA) bulunan Petri kutularına ekimler yapılmıştır. Ekimli besiyerleri soğutmalı etüvde 25 ± 2°C de 72 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda bakterilerin ilk izolasyonları yapılmıştır.

Haziran 2018 tarihinde birinci örnekleme çalışmasında 10 adet gökkuşağı alabalığının iç organlarından izole edilen 30 bakteri suşunun BHIA da 25 ± 2°C de 24-72 saat süren inkübasyon süresi sonunda küçük, 0.5-1 mm çapında beyaz renkli ve yuvarlak koloniler oluşturdukları tespit edilmiştir (Şekil 4.11.).



Şekil 4.11. Hasta balıktan izole edilen bakteri suşunun BHIA da oluşturduğu beyaz, 0.5-1.0 mm çapında küçük kolonilerin bir görüntüsü

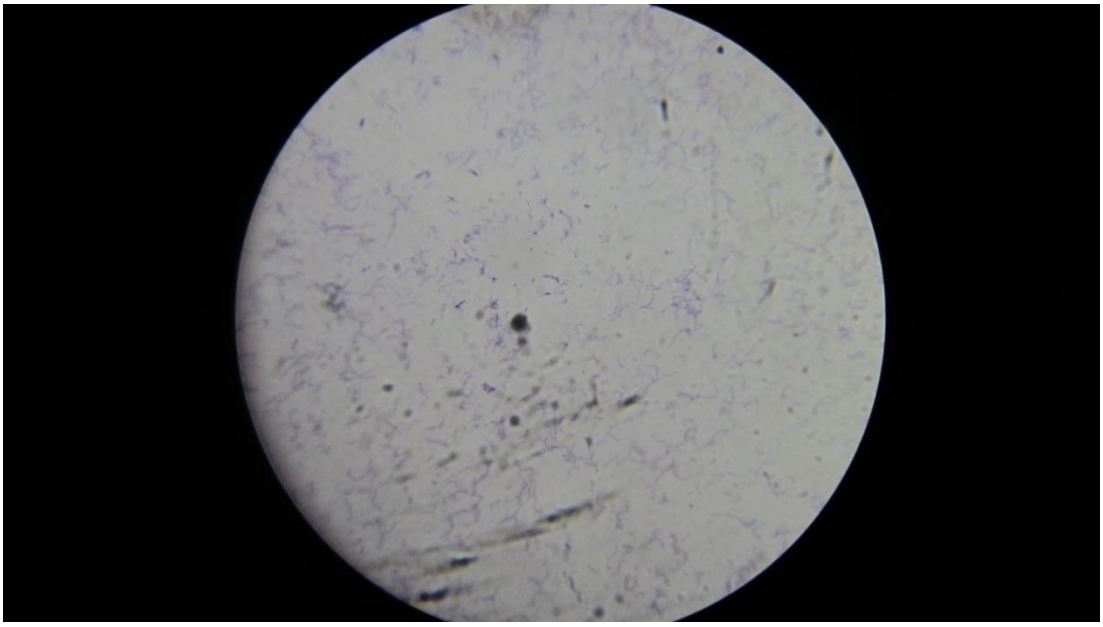
Temmuz 2018 tarihinde yapılan ikinci örnekleme çalışmasında 10 adet gökkuşağı alabalığını karaciğer, dalak ve böbreklerinden izole edilen 25 bakteri suşunun BHIA da 25 ± 2°C de 24-72 saat süren inkübasyon süresi sonunda küçük, beyaz renkli ve yuvarlak koloniler oluşturdukları tespit edilmiştir.

Ağustos 2018 tarihinde Manavgat Düden şelalesi üzerindeki ticari alabalık işletmesinde yapılan örnekleme çalışması sonucunda izole edilen 20 bakteri suşunun BHIA da 25 ± 2°C de 24-72 saat süren inkübasyon süresi sonunda küçük, 1 mm çapında beyaz renkli ve yuvarlak koloniler oluşturdukları tespit edilmiştir.

4.2.2. Bakteri suşlarının hücre morfolojilerine ait bulgular

Hasta gökkuşağı alabalıklarından izole edilen bakteri suşlarının mikroskobik morfolojisinin tespiti için bakteri kolonilerinden preparatlar hazırlanarak, Gram-boyama yöntemi ile boyanmıştır.

Haziran 2018 tarihinde Antalya Kemer de gerçekleştirilen birinci örnekleme çalışmasında izole edilen bakteri suşlarının Gram-pozitif, oval-kok şekilli ve kısa zincirler oluşturdukları ışık mikroskobu altında tespit edilmiştir (Şekil 4.12.).



Şekil 4.12. Bakteri suşunun Gram boyama sonrası mikroskop da görüntüsü

İkinci örnekleme çalışması Temmuz 2018 tarihinde Korkuteli'nde ki ticari bir alabalık işletmesinde gerçekleştirilmiştir. Bu işletmedeki hasta gökkuşağı alabalıklarından izole edilen bakteri suşlarının Gram-pozitif, oval-kok görünümlü oldukları vekısa zincirler meydana getirdikleri tespit edilmiştir.

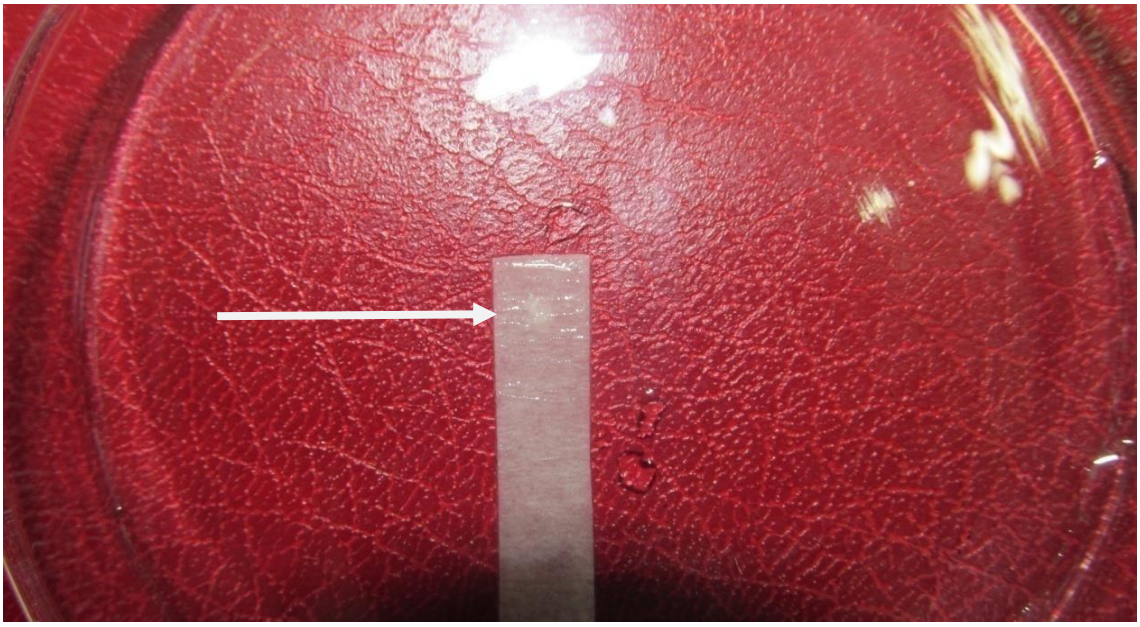
Üçüncü örnekleme çalışması Ağustos 2018 tarihinde Manavgat Düden şelalesi üzerindeki ticari bir alabalık işletmesine ait kafeslerde yapılmıştır. İzole edilen bakteri suşlarının Gram-boyama yöntemine göre Gram-pozitif, oval-kok şekilli bakteriler oldukları ve kısa zincirler oluşturdukları tespit edilmiştir.

4.2.3. Bakteri suşlarının hareket özelliklerine ait bulgular

Asılı damla yöntemi kullanılarak çukur lamda hazırlanan preparatların ışık mikroskobu altında yapılan inceleme sonuçlarına göre birinci, ikinci ve üçüncü örneklemelerde izole edilen bakteri suşlarının hareketsiz oldukları tespit edilmiştir.

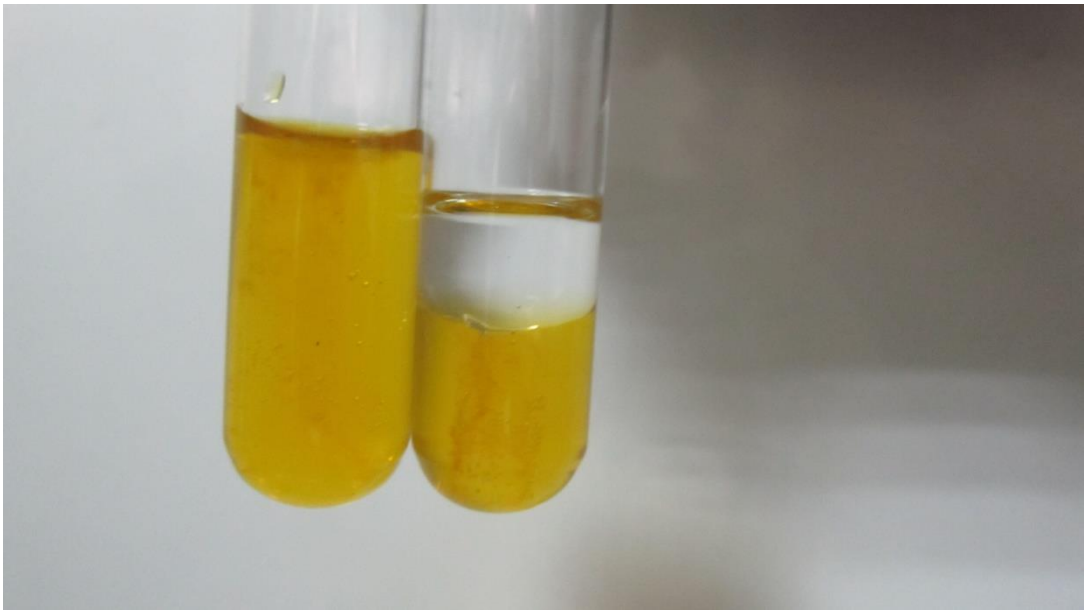
4.2.4. Bakteri suşlarının biyokimyasal özelliklerine ait bulgular

Haziran 2018 tarihinde yapılan birinci örnekleme çalışması sonucunda 30 bakteri suşu izole edilmiştir. Suşların sitokrom oksidaz ve katalaz negatif (Şekil 4.13. ve Şekil 4.14.), fermentatif (Şekil 4.15.) olup %5 koyun kanı içeren besiyerinde alfa (α)-hemoliz oluşturdukları (Şekil 4.16.), Voges-Proskauer (VP) reaksiyonu negatif (Şekil 4.17.) iken, metil red reaksiyonuna pozitif (Şekil 4.18.) yanıt verdikleri, H_2S üretimi, Simmon's sitrat, nitrat indirgeme reaksiyonlarının negatif olduğu, indol negatif (Şekil 4.19.), ONPG negatif (Şekil 4.20.), jelatinaz enzim üretimi (Şekil 4.21a. ve Şekil 4.21b.) ile amilaz enzim üretiminin negatif olduğu, %0 ile %6.5 NaCl dahil olmak üzere farklı tuzluluk oranlarında gelişme gösterdikleri, 4 °C ila 37 °C dahil olmak üzere farklı sıcaklıklarda geliştikleri tespit edilmiştir.

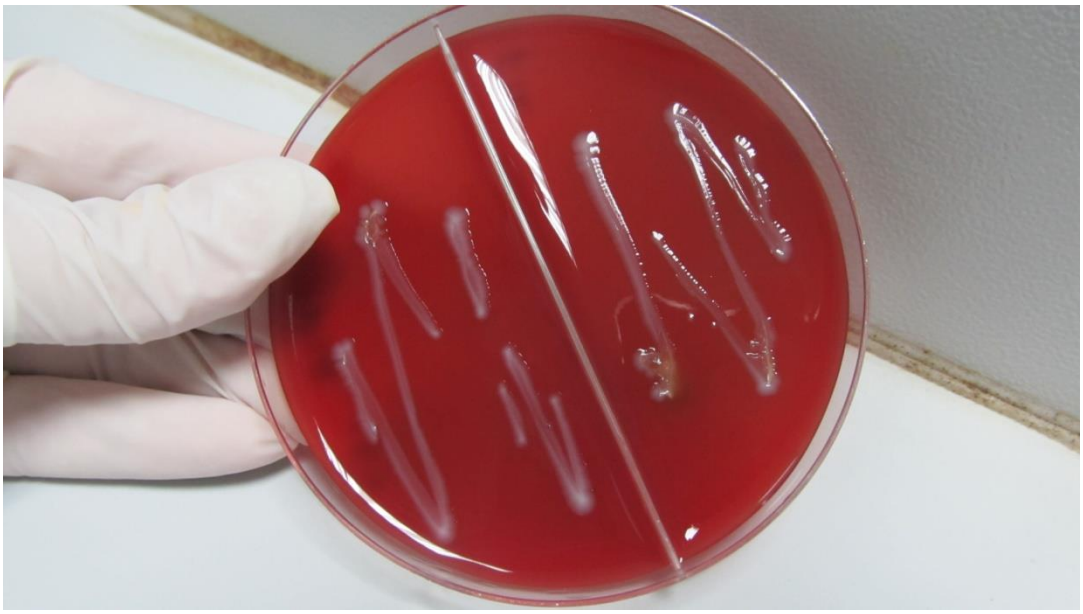


Şekil 4.13. Hasta balıktan izole edilen bakteri suşunun sitokrom oksidaz reaksiyon sonucu (okla gösterilmiştir)

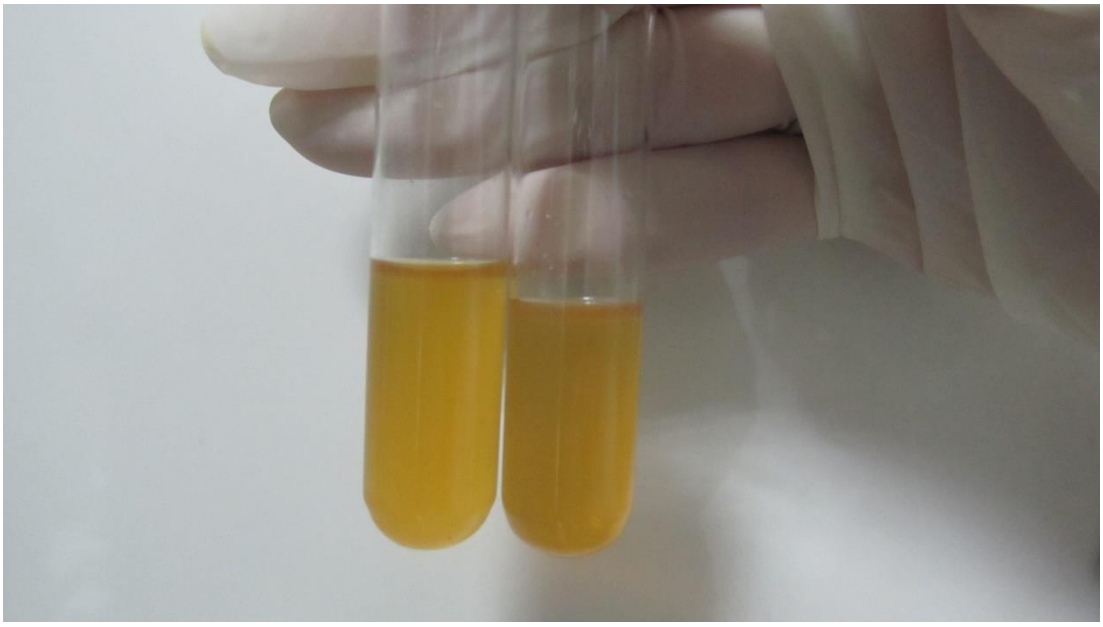
Şekil 4.14. Bakteri suşunun katalaz reaksiyon sonucu



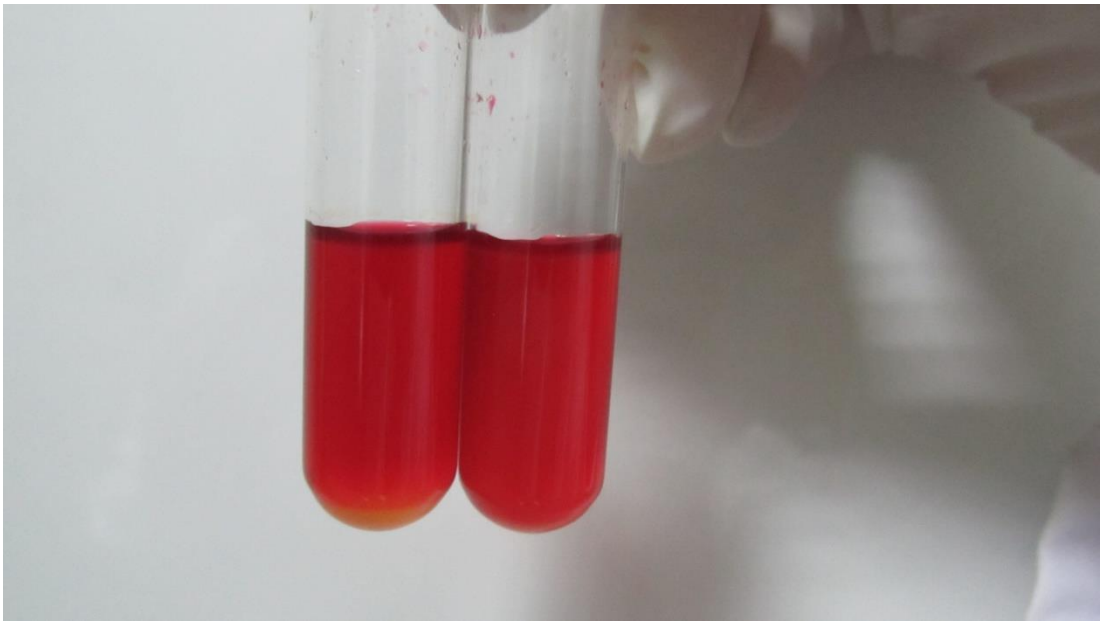
Şekil 4.15. O/F test sonucuna göre, fermentatif bakteri suşu



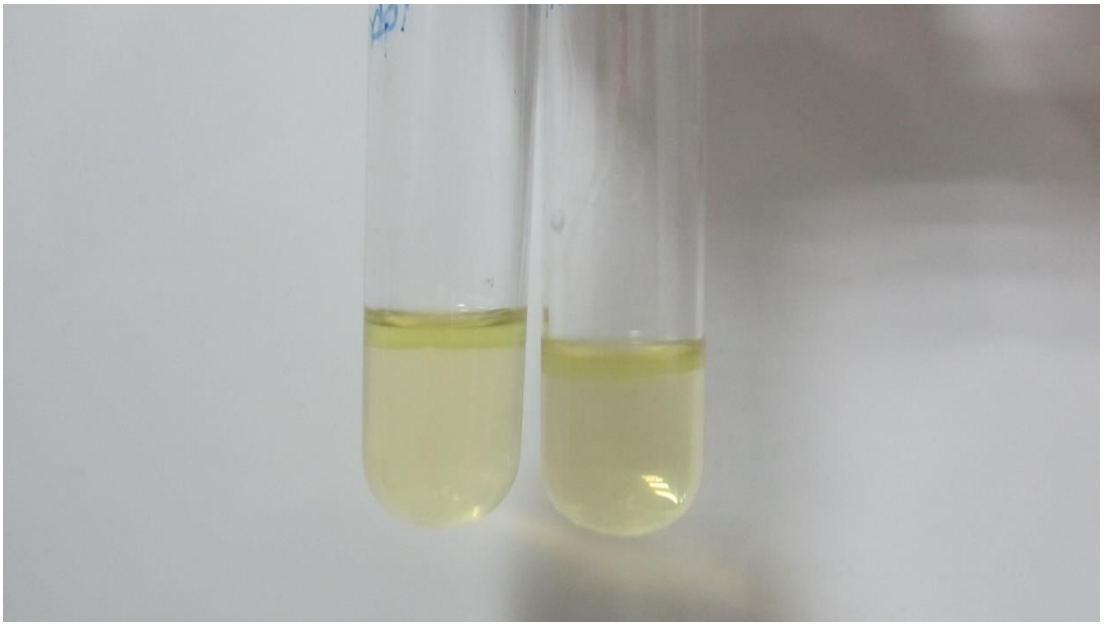
Şekil 4.16. Kanlı vasatta alfa (α) hemoliz oluşumu



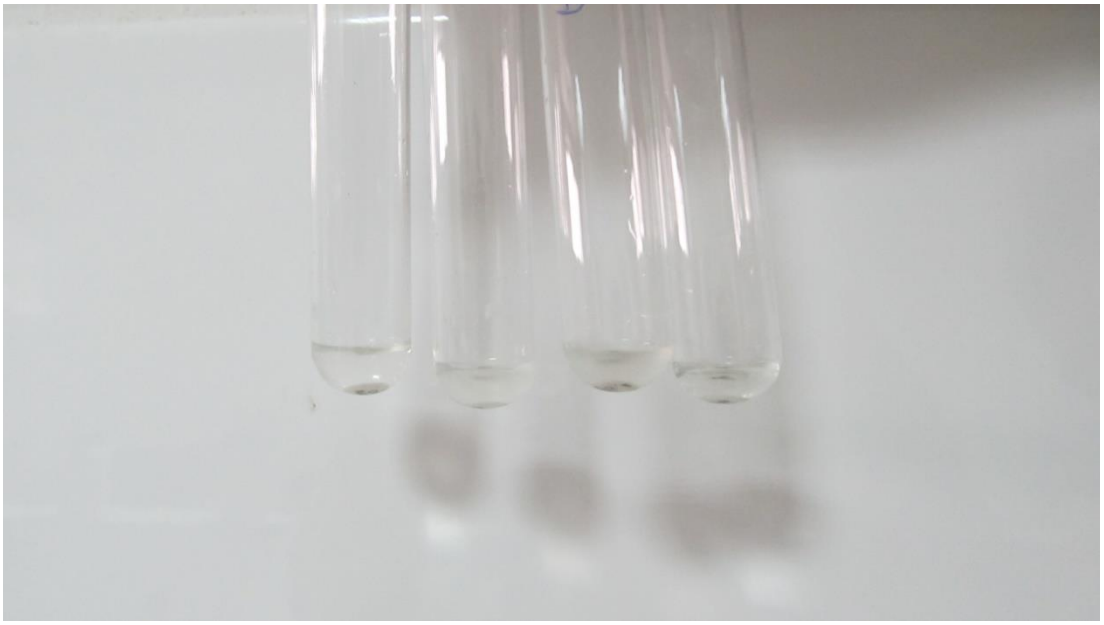
Şekil 4.17. Voges-Proskauer reaksiyon sonucu



Şekil 4.18. Metil red reaksiyon sonucu

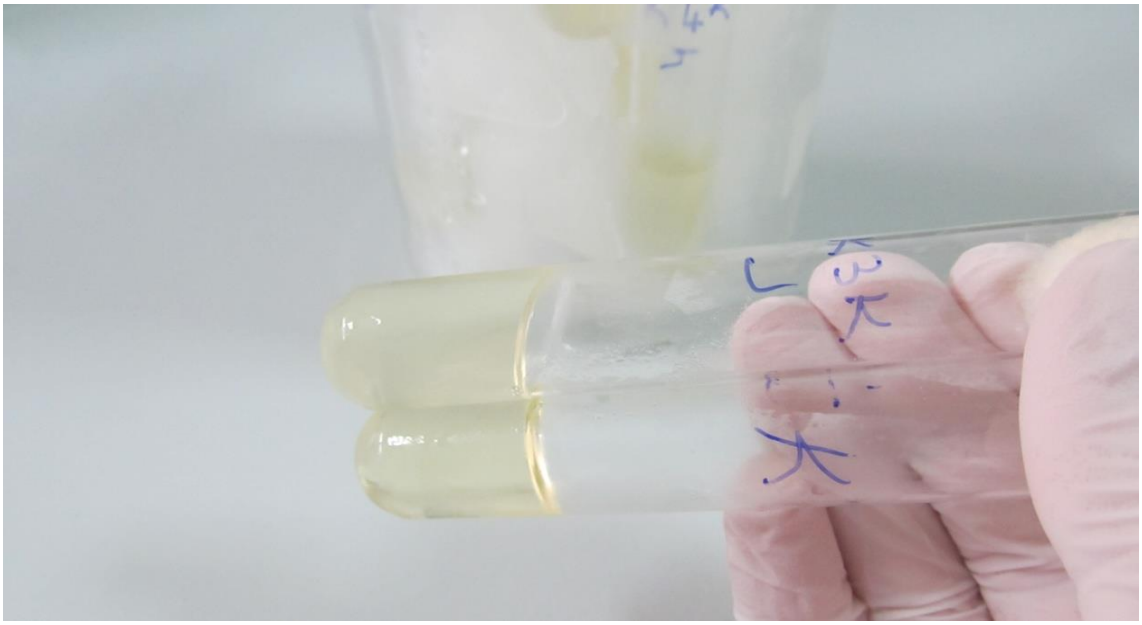


Şekil. 4.19. İndol reaksiyon sonucu



Şekil 4.20. Bakteri suşlarının ONPG reaksiyon sonuçları

Şekil 4.21.a) Bakteri suşlarının jelatinaz test sonuçları



Şekil 4.21.b) Suşların buz da 15 dakika bekletildikten sonra donması ile tespit edilen negatif reaksiyon sonuçları

İkinci örnekleme çalışması Temmuz 2018 tarihinde gerçekleştirilmiş ve bu örnekleme çalışmasından 25 bakteri suşu izole edilmiştir. İzole edilen bakteri suşlarının fermentatif, sitokrom oksidaz ve katalaz negatif oldukları, indol üretmedikleri, ONPG, H_2S, Simmon's sitrat ile nitratı indirgeyemedikleri tespit edilmiştir. Suşların metil red test sonucu pozitif olmasına karşın suşların amilaz ve jelatinaz enzimlerini üretmedikleri, 4 °C ila 37 °C sıcaklıklarda gelişebildikleri ve %0 ila %6.5 NaCl de gelişme gösterdikleri yapılan bakteriyolojik çalışma sonuçlarına göre tespit edilmiştir.

Üçüncü örnekleme çalışması Ağustos 2018 tarihinde gerçekleştirilmiş ve bu örnekleme çalışmasından 20 bakteri suşu izole edilmiştir. Suşların sitokrom oksidaz ve katalaz reaksiyonlarının negatif, fermentatif, Simmon's sitrat, ONPG negatif oldukları, amizlaz ve jelatinaz reaksiyonlarının negatif olduğu, kanlı vasatta alfa hemolitik koloniler oluşturdukları, 4 °C ila 37 °C sıcaklıklarda gelişebildikleri, %0 ile %6.5 NaCl dahil olmak üzere farklı tuzluluk oranlarında gelişme gösterdikleri, H_2S üretimi ile nitrat indirgeme reaksiyonlarının negatif olduğu tespit edilmiştir.

Birinci, ikinci ve üçüncü örnekleme çalışmalarından izole edilen bakteri suşlarının biyokimyasal özelliklerine ait bulgular Tablo 4.1. de verilmiştir. Suşların sitokrom oksidaz ve katalaz reaksiyonlarının negatif, fermentatif, Simmon's sitrat, ONPG negatif olmaları, nitratı indirgeyememeleri, jelatinaz ve amilaz enzimini üretememe, indol negatif olmaları, %0 ila %6.5 NaCl de gelişebilmeleri, %5 koyun kanı ilave edilerek hazırlanan kanlı vasatta alfa (α)-hemoliz oluşturmaları ve diğer araştırmacılar tarafından bildirilen ve Tablo 2.1. de verilen fenotipik özelliklere benzerlik göstermelerinden dolayı, birinci, ikinci ve üçüncü örnekleme çalışmalarından izole edilen 75 bakteri suşu *Lactococcus garvieae* olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.1. *L. garvieae*'nin Fenotipik Özelliklerinin mevcut çalışma ile karşılaştırılması (Austin ve Austin 2012; Vendrell vd. 2006)

Özellikler	Mevcut çalışma	Austin ve Austin(2012)	Vendrell vd. (2006)
Hücre morfolojisi	Oval kok	Kok	Oval kok
Gram boyama	+	+	+
Hareketlilik	-	-	-
Sitokrom oksidaz	-	-	-
Katalaz	-	-	-
O/F	F	F	F
Hemoliz	α	α	α
Sitrat(Simmon's)	-	*	-
Nitrat indirgeme	-	-	-
Metil kırmızısı	+	+	*
Voges-Proskauer	+	+	+
İndol üretimi	-	-	-
H2S	-	-	-
	Büyüme		
0% NaCl	+	+	*
2% NaCl	+	+	*
4% NaCl	+	+	*
6,5% NaCl	+	+	+
4˚C	+	*	+
20˚C	+	+	+
30˚C	+	+	+
Nişasta	-	*	*
ONPG	+	*	*

+: pozitif, - : negatif, *: belirtilmemiş, F:Fermentatif, α: alfa hemolitik.

4.2.5. Bakteri suşlarının antibiyogram test çalışmalarına ait bulguları

Çalışmada izole edilen ve *L. garvieae* olarak tanımlanan 75 suşun antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre suşların hepsinin ampisiline dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Birinci örnekleme çalışmasında 30 *L. garvieae* suşu izole ve identifiye edilmiştir. 30 suşun basitrasin, tetrasiklin, eritromisin ve streptomisine duyarlı olduğu, kanamisine orta derecede dirençli olduğu, flumekuin, ampisilin, trimetoprim ve furazolidona ise dirençli oldukları bulunmuştur.

İkinci örnekleme çalışmasında 25 suş izole ve identifiye edilmiştir. Suşların furazolidon, basitrasin, tetrasiklin ve eritromisine duyarlı olduğu, flumekuin ve trimetoprime orta derecede dirençli olduğu, kanamisin, ampisilin ve streptomisine ise dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Üçüncü örnekleme çalışmasında 20 suş izole ve identifiye edilmiştir. Suşların basitrasin, flumekuin, tetrasiklin, trimetoprim, furazolidon, kanamisine ve streptomisine duyarlı, eritromisin ve ampisiline dirençli olduğu tespit edilmiştir.

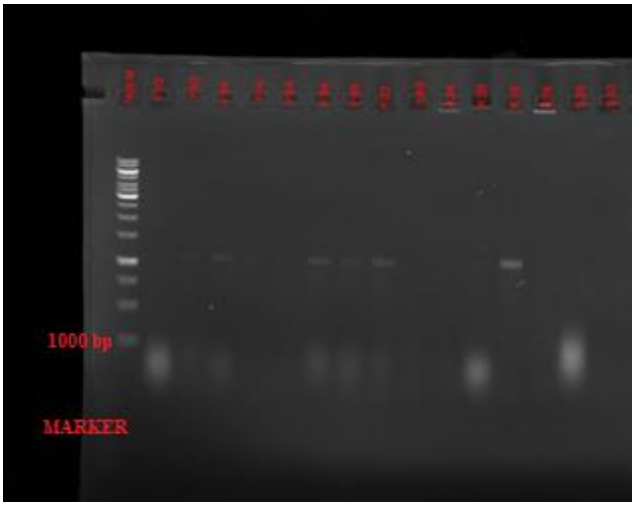
4.2.6. Bakteri suşlarının ÇAD indeks sonuçlarına ait bulgular

Çalışmada birinci örneklemedeki hasta balıklardan izole edilen *L. garvieae* suşlarının ÇAD indeksi 0.44; ikinci örneklemedeki hasta balıklardan izole edilen suşların ÇAD indeksi 0.33 ve üçüncü örneklemedeki hasta balıklardan izole edilen bakteri suşlarının ÇAD indeksi 0.22 olarak bulunmuştur. Birinci ve ikinci örneklemelerde izole edilen bakteri suşlarının ÇAD indeksleri 0.2'den yüksek, üçüncü örnekleme çalışmasında izole edilen bakteri suşlarının ÇAD indeksi 0.22 olup, 0.2'den biraz yüksek bulunmuştur. Her üç işletmede ÇAD indeksi 0.2'den büyük olmakla birlikte, bir ve ikinci işletmelerdeki ÇAD indeks değerlerinin yüksek olması işletmede birden fazla antibiyotiğin kullanıldığı ve bakteri suşlarında direnç artışının geliştiği tespit edilmiştir.

4.3. Moleküler Çalışma Bulguları

4.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu bulguları

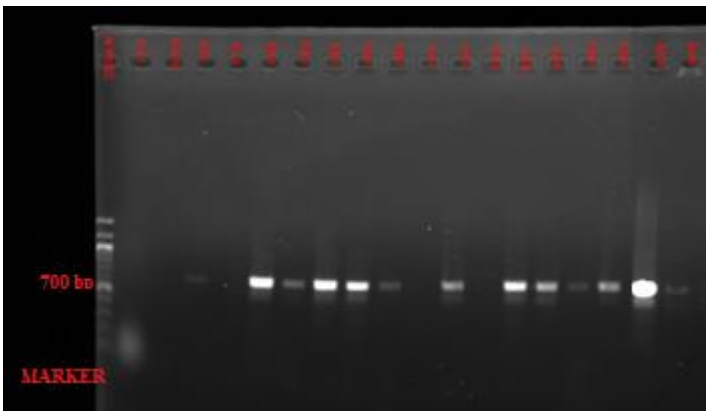
Haziran 2018 tarihinde yapılan birinci örnekleme çalışması sonucunda 30 bakteri suşu, Temmuz 2018 tarihinde gerçekleştirilen ikinci örnekleme çalışmasında 25 ve Ağustos 2018 tarihinde yapılan üçüncü örnekleme çalışmasında 20 bakteri suşu olmak üzere toplam 75 bakteri suşu izole edilmiştir. Suşlar fenotipik tanı test sonuçlarına göre *Lactococcus garvieae* olarak tanımlanmıştır. Yetmiş beş suşun 50'sine PZR tekniği uygulanarak çoğaltılan bakteriyel DNA örnekleri jel elektroforez de yürütülmüştür. Yürütme sonrası jelde 50 suştan 47'si pozitif sonuç vererek 1100 bç'lik amplifikasyon tespit edilmiştir (Şekil 4.22.) 50 suşun 3'ünde ise herhangi bir amplifikasyon gözlenmemiştir. PZR çalışma sonuçlarına göre 47 suş *L. garvieae* olarak identifiye edilmiştir.



Şekil 4.22. Hasta balıklardan izole edilen bakteri suşlarının PLG primerlerinin kullanıldığı PZR çalışma sonucu

4.3.2. Farklı primerler kullanılarak *Lactococcus garvieae*'nin teyit edilmesi ile ilgili bulgular

Çalışmada yetmiş beş suşun 50 adedine *L. garvieae*'nin tanısında kullanılan PLG-1 ve PLG-2 primerleri uygulanmıştır. PLG-1 ve PLG-2 primerlerinin tür tespitinde doğruluğunu teyit edebilmek amacı ile 3'ü negatif 22'si pozitif amplifikasyon veren toplam 25 suşa SA1B10-1-F ile SA1B10-1-R ve 16S rRNA JCM 10343^T primerleri kullanılmıştır. PZR çalışma sonuçlarına göre 25 suş pozitif sonuç vererek, *L. garvieae* olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.23.). 3 bakteri suşu ise SA1B10-1-F ile SA1B10-1-R ve 16S rRNA JCM 10343^T primerler çalışmasında pozitif sonuç verirken PLG-1 ve PLG-2 primer çiftinin kullanıldığı PZR çalışmasında ise negatif sonuç vermiştir.



Şekil 4.23. SA1B10 primer çifti kullanılarak yapılan PZR çalışmaları sonucu jel de bant oluşumu

5. TARTIŞMA

Su ürünleri yetiştiriciliğinde özellikle bulaşıcı etkenlerden kaynaklanan hastalıklar; balık kayıpları, tedavi masrafları ve hastalıktan iyileşme döneminde balıklarda gözlenen yavaş gelişme gibi faktörlerden dolayı işletme açısından önemli ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Ülkemizde gökkuşağı alabalığı kültürü yapılan başlıca türler arasında yer almaktadır. Türün kültür koşullarına kolaylıkla adapte olması, etinin lezzetli olması ve kültüre alındığı 1800'lü yıllardan bu yana üzerinde çeşitli araştırmalar yapılmış olması nedeni ile gökkuşağı alabalığının üretimine talep yoğundur. Ancak, kültür koşullarında yoğun üretim balıkların strese girerek hastalıklara duyarlı hale gelmesine yol açmaktadır. Laktokokkozis gökkuşağı alabalığı kültürünü etkileyen önemli bakteriyel hastalıklar arasında yer alır. Bu çalışma ile Antalya ili civarındaki bazı alabalık çiftliklerinden *Lactococcus garvieae*'nin izolasyonu amaçlanmıştır.

Ülkemizde laktokokkozis çıkışları farklı bölgelerden bildirilmiştir. Kav ve Erganiş (2008) çalışmalarında Haziran 2002 ile Ağustos 2004 tarihleri arasında inceledikleri 180 adet gökkuşağı alabalığında *L. garvieae*'yi izole ve identifiye ettiklerini bildirmiştir. Hastalıktan etkilenen balıklarda iki taraflı ekzoftalmus, balıkların vücut deri renginde koyulaşma gözlenirken, karaciğer, dalak ve böbrekte ise tıkanıklık bildirmiştir.

Altun ve arkadaşları ülkemizin orta batı bölgesindeki altı farklı balık çiftliğindeki genç ve ergin gökkuşağı alabalıklarından *L. garvieae*'yi izole etmiştir. Hastalık çıkışı su sıcaklığının 17 °C ve üzerinde gözlenmiştir. *L. garvieae*'den etkilenen balıklarda kanamalı ve opak kornea ile gözlerde bilateral ekzoftalmi, abdominal şişkinlik ve yüzgeçlerin taban kısımlarında yaygın kanamalar gözlenmiştir. İç bakıda solgun karaciğer, splenomegali ve hiperemik sindirim kanalı tespit edilmiştir. Karaciğer, dalak, böbrek, hava kesesi ve bağırsak da aşırı kanama tespit edilmiştir (Altun vd. 2010).

Kurtoğlu ve Korun (2018) yılında Fethiye'de faaliyet gösteren farklı alabalık işletmelerindeki hasta balıklarda laktokokkozisi tespit etmiştir. Araştırmacılar laktokokkozisli balıklarda durgunluk, yem alımında azalma ve iştahsızlık ile her iki gözde ekzoftalmus, hemoraji ve opaklaşma bildirmiştir. Nekropside iç organlarda kanama, karaciğer ve dalakta büyüme, deri renginde koyulaşma ile karın boşluğunda asidik sıvı birikimi olduğu bildirilmiştir (Kurtoğlu ve Korun 2018).

Timur ve arkadaşları (2011) yılında Marmara Bölgesi'nde kültürü yapılan gökkuşağı alabalıklarında yüksek mortalite ile seyreden epizootiklerden *L. garvieae*'yi izole ve identifiye etmiştir. Laktokokkozisden etkilenen balıklarda gözlerde tek ya da iki taraflı ekzoftalmus, hemoraji, korneada opaklaşma, göz kaybı, iç organlarda ve viseral yağda hiperemi ile karın bölgesinde asidik sıvı birikimi bildirmiştir (Timur vd. 2011).

Laktokokkozis yurt dışında da farklı ülkelerde gözlenmiş ve bildirilmiştir. Kuzey Portekiz de 2002 ile 2003 yılları yaz aylarında gökkuşağı alabalık çiftliklerinde yüksek su sıcaklıkları (>21°C) ile alakalı olarak laktokokkozis epizootikleri bildirilmiştir. Hasta balıklarda belirgin tek ya da iki taraflı ekzoftalmus, perioküler kanamalar ile bazı vakalarda göz kaybı bildirilmiştir. İç bakıda klinik bulgu olarak karın

boşluğunda asidik sıvı birikimi ile kas dokusunda kanamalar bildirilmiştir (Pereira vd. 2004).

Savvidis ve arkadaşları Yunanistan da 2003 ila 2006 yılları arasında yüksek su sıcaklıklarında *L. garvieae* enfeksiyonlarını bildirmiştir. Araştırmacılar hastalıkla ilgili olarak en önemli dış bulgunun genel olarak bilateral ekzoftalmus olduğunu bazı durumlarda balıklarda göz ya da gözlerin kaybı olduğunu tespit etmiştir. Yaz aylarında su sıcaklığı 14 °C ve üzerinde olup iç bakıda karın boşluğunda hemorajik sıvı birikimi, solgun karaciğer ve dalak da büyüme gözlenmiştir (Savvidis vd. 2007).

Güney Afrika'nın farklı bölgelerindeki gökkuşağı alabalığı işlemelerinde laktokokkozis tespit edilmiştir. Hastalıktan etkilenen balıklarda gözlerde belirgin ekzoftalmus, tek ya da iki taraflı göz kaybı, gözün oküler çemberinde kanama, melanozis, dalakta büyüme ve bağırsak da kanama bildirilmiştir (Meyburgh vd. 2018).

Mevcut çalışmada 2018 yılının Haziran ve Eylül ayları dahil olmak üzere Antalya ili ilçeleri olan Kemer, Korkuteli, Manavgat ve Akseki de bulunan çeşitli alabalık işletmelerine gidilerek laktokokkozis yönünden inceleme yapılmıştır. Akseki de bulunan alabalık işletmesi dışında diğer ilçelerdeki işletmelerde, hasta balıklarda benzer davranışsal ve klinik bulgular tespit edilmiştir. Hasta balıklarda genel olarak durgunluk, yem alımında azalma, iştahsızlık ve su yüzeyine yakın yüzme şeklinde davranışsal bulgular gözlenmiştir. Balıkların klinik muayenesinde; dış bulgular olarak balıklarda tek ya da iki taraflı ekzoftalmus, bazı balıklarda göz kaybı, gözde kanama ve opaklaşma, solungaçlarda solgunluk, solungaç filamentlerinde erime ve yapışma gözlenmiştir. Bazı balıklarda ise vücudun özellikle baş ve dorsal kısmında olmak üzere deri renginde koyulaşma, pektoral, pelvik ve anal yüzgeç tabanında kanama tespit edilirken bazı balıklarda ise üst çenede ve dil üzerinde kanama tespit edilmiştir. Nekropsi de dalakta büyüme (splenomegali) ve renginde koyulaşma, vücut kasında, pilorik sekada, vücut yağında (adipöz yağ doku) ve gonadlar da kanama, böbrekte erime ve yumuşama, bağırsak yüzeyinde yoğun kanamalar tespit edilmiştir. Bağırsak gıda yönünden boş olup karın kısmında asidik sıvı birikimi gözlenmiştir. Bu çalışmada laktokokkozisden etkilenen balıklarda gözlenen klinik bulguların yukarıda belirtilen araştırıcılar tarafından bildirilen bulgulara benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır.

Laboratuar koşullarında *L. garvieae* suşlarını tanımlamak için fenotipik, moleküler ve proteomik yöntemler dahil çeşitli tanı yöntemleri kullanılmaktadır. *L. garvieae* zoonotik bir balık patojenidir. Bakterinin balıklarda tanımlanması sorun olmamakla birlikte insanlardan izole edilen izolatlar bazı durumlarda *Enterococcus* spp. ile karıştırılabilmektedir (Gibello vd. 2016).

Mevcut çalışmada birinci, ikinci ve üçüncü örnekleme çalışmalarında toplam 75 bakteri izole edilmiştir. İzole edilen bakterilerin BHIA da 25 ± 2°C de 24-72 saatlik inkübasyon süresi sonunda 0.5-1 mm çapında, beyaz renkli ve yuvarlak koloniler oluşturduğu tespit edilmiştir. Suşlar hareketsiz, Gram-pozitif, oval-kok şekilli ve kısa zincirler oluşturduğu, sitokrom oksidaz ve katalaz negatif, fermantatif olduğu bulunmuştur. Suşlar α-hemolitik, VP negatif, H_2S, indol üretimleri negatif olup nitratı indirgeyemedikleri, amilaz ve jelatinaz enzimlerini üretmedikleri, 4 ila 37 °C sıcaklıklarda gelişebildikleri, %0 ila %6.5 NaCl dahil farklı tuzluluk oranlarında gelişme gösterdikleri tespit edilmiştir.

Akşit ve Kum (2008) gökkuşağı alabalıklarında ekonomik kayıplara neden olan başlıca bakteriyel etkenlerinin tespitine yönelik çalışmalarında hasta balıklardan 13 *L. garvieae* suşunun izole ve identifiye edildiğini bildirmiştir. Suşların Gram-pozitif, hareketsiz, sitokrom oksidaz ve katalaz negatif, fermentatif olduğunu, H_2S üretmediklerini, nitratı nitrite indirgemediklerini, indol üretimlerinin negatif, MR-VP reaksiyonlarının ise pozitif olduğunu, jelatinaz enzimini üretmediğin, Simmon's sitrat negatif iken, 30 °C ila 37 °C de gelişme gösterdiklerini bildirmiştir.

Timur ve arkadaşları (2011) kültür gökkuşağı alabalıklarında *L. garvieae*'yi izole etmiştir. İzolatlar hücre morfolojileri, Gram-boyama reaksiyonu, hareketlilik testi ve biyokimyasal test sonuçlarına göre tanımlanmıştır. Suşların hareketsiz, Gram-pozitif, ovoid şekilli ve kısa zincirler oluşturdukları, sitokrom oksidaz ve katalaz negatif olduklarını, %5 koyun kanı içeren katı besiyerinde α-hemolitik aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Suşlar fermentatif olup indol üretimleri negatif, MR ve VP reaksiyonları pozitif iken, 37 °C ve 45 °C de üredikleri, %0 ila % 6.5 NaCl de gelişme gösterdikleri ve sitrat üretimlerinin negatif olduğu tespit edilmiştir.

Didinen ve arkadaşları (2014) hasta gökkuşağı alabalıklarından 25 bakteri suşunu morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklere göre *L. garvieae* olarak tanımlamıştır. Araştırıcılar suşların kendi içerisinde oldukça homojenlik gösterdiğini bildirerek, suşların 2 mm altında (<2 mm) koloni büyüklüğüne sahip olduklarını, Gram-pozitif ve kok şekilli olduğunu bildirmiştir. Suşlar hareketsiz, α-hemolitik, sitokrom oksidaz ve katalaz negatif, fermentatif olup jelatinaz negatif ve sitratı kullanmadıkları indol üretimlerinin ise negatif olduğunu bildirmiştir. Suşlar VP ve MR reaksiyonları pozitif iken, nitratı nitrite indirgememiştir. Suşların TSI da H_2S üretimi negatif iken 4°C ila 45°C de gelişme gösterdikleri %1 ila %6.5 NaCl içeren besiyerinde gelişebildikleri, MacConkey agar da gelişemediklerini bildirmiştir.

İran'ın Güneybatısında yer alan Kokilne-Bayer Ahmad ilinde ki çeşitli alabalık işletmelerinden hiperakut hemorajik septisemili 280 adet gökkuşağı alabalığı incelenmiştir. 280 balığın 42'inde klasik biyokimyasal testler kullanılarak *L. garvieae* tespit edilmiştir. Suşların ovoid-kok şekilli, hareketsiz, fermentatif, Gram-pozitif, sitokrom oksidaz ve katalaz negatif olduğu, indol üretimlerinin negatif ve H_2S ile VP negatif olduğunu, %0 ila %6.5 NaCl de gelişme gösterdiğini, 37°C de gelişebildiğini bildirmiştir. Suşlar kanlı vasatta α-hemolitik olup jelatinaz ve amilaz üretimleri ise negatif olarak bulunmuştur (Kia ve Mehrabi 2013).

Kurtoğlu ve Korun (2018) Fethiye de ki bazı alabalık işletmelerindeki hasta yavru balıklardan *L. garvieae* suşlarını izole ve identifiye etmiştir. İzole edilen suşların Gram-pozitif, hareketsiz, besiyerinde yuvarlak ve beyaz renkli koloniler oluşturduklarını, fermentatif olduğunu ve kanlı vasatta alfa hemoliz oluşturduklarını bildirmiştir. Suşların ONPG pozitif olup amilaz üretmedikleri, %0 ila %8 NaCl içeren sıvı besiyerinde gelişebildiklerini, 4°C ile 35°C sıcaklıklarda geliştiklerini bildirmiştir.

Çalışmamızda hasta gökkuşağı alabalıklarından izole edilen 75 bakteri suşu morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal test sonuçlarına göre, *L. garvieae* olarak tanımlanmıştır. Suşların fenotipik özellikleri yukarıda belirtilen araştırmacıların *L. garvieae* için bildirdikleri fenotipik özelliklere benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır.

Geleneksel olarak balık için patojenik bakterilerin varlığı, enfekte balık organ ya da dokularından bakterinin besiyeri yüzeyine yayılarak tespit edilir. Birkaç gün süren inkübasyon sonrası mikroorganizmaların bulunması veya kolonilerin sayısı tespit edilir. Bu besiyeri üzerine yayma tekniği bakterilerin fenotipik özelliklerine dayandırılır. Ancak, bu teknik yoğun iş gücü gerektirmekle birlikte, sonuçlarının alınması birkaç günü bulabilir. Diğer taraftan, mikroorganizmanın genetik özelliklerine dayandırılan hızlı, oldukça hassas ve spesifik teknikler geliştirilmiştir. PZR tekniği bu teknikler içerisinde en iyi yöntem olarak bilinir. Bu teknik balıklar için patojenik bir çok bakterinin tespiti ve tanımlanmasında kullanılmaktadır (Aoki vd. 2000).

Kav ve Erganiş (2008) Konya bölgesindeki gökkuşağı alabalıklarındaki bilateral ekzoftalmusu tanımlamak amacı ile yaptıkları çalışmalarında hasta balıklarda *L. garvieae*'yi izole ve identifiye etmiştir. Suşların bu mikroorganizma için spesifik olduğu kabul edilen 1100 bç'lik PZR amplifikasyon ürününü verdiğini bildirmiştir.

Sharifi Yazdi ve arkadaşları (2010) hiperakut hemorajik septisemili 200 balığın 32'sinden klasik biyokimyasal testler kullanarak *L. garvieae*'yi tanımlamıştır. İzolatların konfirmasyonu PLG-1 ve PLG-2 primer çifti kullanılarak teyit edilmiştir. Yapılan PZR çalışması sonucunda 1107 bç'lik tek bir bant oluşumu gözlenmiştir.

Dolgun (2015) çalışmasında iki farklı alabalık işletmesinde 100 adet vücut ağırlıkları 80 ila 100 g arasında değişen gökkuşağı alabalığı örneklerine uygulanan PZR çalışması sonucunda PLG-1 ve PLG-2 primer çiftinin kullanıldığı PZR çalışmalarında 100 balığın 34'ünde *L. garvieae* suşunu identifiye etmiştir.

Fukishima ve arkadaşları (2017) Brezilya da ki hasta balıklarda *L. garvieae* suşlarını izole ve identifiye etmiştir. Suşların tanımlanmasında PLG-1 ve PLG-2 primer çiftini kullanmıştır. 16S rRNA'nın amplifikasyon ve sekanslanması için 3 izolat seçilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre 5 suşun *L. garvieae*'ye spesifik PZR uygulamasında pozitif sonuç verdiği ve 1100 bç'lik amplifikasyon bildirilmiştir. Suşların 16S rRNA sekanslarının blast analizi *L. garvieae*'nin suşları ile %99 benzerlik göstermiştir.

Korun ve arkadaşları (2018) Akdeniz bölgesindeki farklı gökkuşağı alabalığı işletmelerinde gözlenen hastalık çıkışlarından sorumlu etkenler olarak *L. garvieae, S. agalactiae* ve *S. iniae*'nin etken olup olmadığını araştırdıkları çalışmalarında *L. garvieae*'nin tanımlanması için türe özgü 1100 bç uzunluğunda bant oluşturan primer çifti PLG-1 ve PLG-2'yi kullanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre *L. garvieae* suşunun 1100 bç'lik amplikon verdiği tespit edilmiştir.

Mevcut çalışmada izole edilen 75 suşun 50'sine PZR tekniği uygulanarak çoğaltılan bakteriyel DNA örnekleri jel elektroforez de yürütülmüştür. PLG-1 ve PLG-2 primerlerinin bu PZR çalışması sonucunda jel de 1100 bç'lik amplifikasyon tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre suşlar *L. garvieae* olarak tanımlanmıştır. Çalışmamızda *L. garvieae*'nin PLG-1 ve PLG-2 primerleri uygulanarak yapılan PZR çalışması sonuçları diğer araştırmacıların bulgularına benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır.

Avrupa'nın birçok ülkesindeki kültür gökkuşağı alabalıklarında *L. garvieae* kaynaklı laktokokkozis yaygın bir şekilde görülmektedir. Bu nedenle, bakterinin hızlı

teşhisi laktokokkozisi kontrol etmede önemlidir. *L. garvieae*'nin kromozal DNA'yı hedefleyen PLG-1 ve PLG-2 primer çifti kullanılmıştır (Aoki vd. 2000; Dolgun, 2015; Korun vd. 2018). Zlotkin ve arkadaşları (1998) 16S rRNA genini taşıyan bölgeye dayandırılarak spesifik primer çiftini geliştirmiştir.

Kav ve Erganiş (2007) *L. garvieae*'nin biyokimyasal, API 20 strep ve API 50 CH strep test sonuçlarına göre Biyotip 1 (İtalya ve Japonya), Biyotip 2 (Avustralya) ve Biyotip 3 (İspanya) olmak üzere üç farklı biyotipinin bulunduğunu, serolojik olarak ise KG- (kapsüllü) ve KG+ (kapsülsüz) olmak üzere iki tip serotipinin olduğunu bildirmiştir. Kav ve Erganiş (2007) Konya ili ve çevresindeki alabalık işletmelerinden izole edilen 30 *L. garvieae* suşunun kapsül taşıdığını bildirerek, *L. garvieae*'nin 16S rRNA bölgesine yönelik seçilen PLG-1 ve PLG-2 ile yapılan PZR çalışması sonucunda 30 suş agaroz jel elektroforezinde 1100 bç'lik tür spesifik bantları verdiğini bildirmiştir.

L. garvieae önemli bir balık patojeni olmakla birlikte, zoonotik olduğu ve birçok vakada enfeksiyonun asıl kaynağının belirtilmemesine karşın özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde *L. garvieae* ile bir şekilde kontamine olmuş balığın tüketilmesinin enfeksiyona neden olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, karasal hayvanlardan izole edilen kapsüllü ya da kapsülsüz *L. garvieae* suşlarının balıklar üzerinde virülens göstermemekle birlikte, kapsüllü balık izolatlarının ise bazı istisnalar hariç balıklarda yüksek virülense sahip olduğu çalışmalar ile ortaya koyulmuştur. Bununla birlikte, suşların patojenitesinin kapsülün varlığı ya da yokluğu ve bakterinin nereden izole edildiği arasında herhangi bir ilişki ortaya koyulamamıştır. *L. garvieae*'nin konak seçiciliğinde izole edildiği ortamdan daha çok suşa bağlı olduğu ve endokardiditli hastadan izole edilen *L. garvieae* suşunun fare ya da balık için virülent olmadığı gibi hasta balıktan izole edilen *L. garvieae*'nin fare de patojenite göstermediği ortaya koyulmuştur (Eraclio vd. 2018).

Genellikle *Seriola* cinsine ait balık türlerinden izole edilen kapsüllü *L. garvieae* (KG- fenotipik hücreler) sarıkuyruk balıklarında kuvvetli patojenite gösterirken gökkuşağı alabalıklarından izole edilen *L. garvieae* suşlarının sarıkuyruk balıklarında zayıf patojenite gösterdiğini ve memelilerden izole edilen *L. garvieae*'nin ise sarıkuyruk balıklarında ayırt edici patojenite göstermediği bildirilmiştir (Oinaka vd. 2015).

Farklı çevrelerden izole edilen *L. garvieae* suşlarının RFLP, RAPD, API sistemi, serolojik korelasyon ve antibiyotik duyarlılığı ile yapılan genetik ve fenotipik analizler, her bir epidemiyolojik özelliğin önemli ölçüde değiştiğini ve konak ile alakalı olduğunu ortaya koymuştur (Jung vd. 2009).

Son yıllarda *L. garvieae* suşlarının bir kısmında genom sekanslarının bulunması, virülensle alakalı genler üzerine spesifik bilgi edinmesini sağlamıştır. Endokardiditli hastadan izole edilen *L. garvieae*'nin insan için patojenik olduğu ve hücre dışı kılıfı kodlayan genlere sahip olmadığını ortaya koymuştur. *L. garvieae* suşlarının karşılaştımalı genom analizi kapsül gen dizisinin bulunmasının bakterinin patojenitesi ile alakalı tek bir faktör olmadığını ve *L. garvieae*'nin genomunda yapışma yüzey proteinleri (*fbp*; fibronektin bağlayıcı protein), hemolizin (*hly III*) ve antibiyotiklere direnç (*pva*; penisilin V asilaz, *folP*; dihydropteroate synthase) bulunabileceği ve bu faktörlerin gerek insanlarda gerekse hayvanlarda patojenite de önemli olabileceği çalışmalar ile ortaya koyulmuştur (Eraclio vd. 2018).

L. garvieae'nin KG + ve KG – olmak üzere iki farklı serotipi mevcuttur. KG + serotip *L. garvieae* KG + serotip hücrelere karşı oluşturulan tavşan serumu tarafından aglütine edilirken, diğer serotip (KG +) ise aglütine edilmez. KG – fenotip suşlar anti *L. garvieae* KG – fenotipik tavşan serumu (anti KG -) serumu ile aglütine edilir. KG + fenotipik hücreler ise anti KG + tavşan serumu ile aglütine edilir. Serotip KG – hücreler serotip KG + hücrelere göre daha hidrofiliktir. Ayrıca bu hücreler sarı kuyruk balığının ön böbreğinde bulunan fagositler tarafından fagosite edilememekte ve yüzeylerinde kapsül yer almaktadır (Aoki vd. 2000).

Aoki vd. (2000) çalışmalarında *L. garvieae*'nin kormozomal DNA'sındaki dihydropteroate synthase geninin merkezi bölgesinde bulunan 709 bç'lik kısmı çoğaltabilmek için SA1B10-1-F ve SA1B10-1-R primer çiftini geliştirmiştir. Bu primer çiftini kullanarak PZR çalışmalarında *L. garvieae* referans suşları ile hasta sarıkuyruk balıklarından izole edilen *L. garvieae* suşlarının 709 bç'lik kısmını çoğaltıldığını ancak *L. lactis* ATCC 7962, *E. faecium* GIFU 8355, *E. faecalis* RIMD 3116001 ve iki ß-hemolitik *Streptococcus* spp. suşuna ait kromozomal DNA'ların template DNA olarak kullanıldığı PZR çalışmasında ise herhangi bir amplifikasyon meydana gelmediğini bildirmiştir.

Bugüne kadar *F. psychrophilum, A. salmonicida, R. salmoninarum* ve *V. vulnificus* gibi balık patojeni bakterilerin tespitinde 16S rRNA sekansının spesifik oligonuükleotidleri PZR çalışmalarında kullanılmıştır. Ancak, 16S rRNA gen bölgesini kodlayan universal primerlerinin kullanıldığı PZR çalışmalarında herhangi bir bakteride bu gen bölgesi kolaylıkla çoğaltılabilmektedir. Yapılan çalışmalarda *L. garvieae*'nin 16S rRNA sekansının bu bakteri dışında *L. lactis, L. piscium, L. plantarum, L. raffinolactis, S. agalactiae, S. bovis, S. canis* ve *S. equi*'nin 16S rRNA sekansları ile %90 üzerinde homoloji gösterdiği ortaya koyulmuştur (Aoki vd. 2000).

Aoki ve arkadaşları (2000) çalışmalarında *L. garvieae*'nin 16S rRNA geni için dizayn edilen primer setinin diğer bakteri türlerindeki, DNA kısımlarını çoğalttığını, bunun nedeni olarak 16S rRNA geni için PZR koşullarını ve primer çiftini tasarlamada yaşanan güçlüğü ifade etmiştir. Aynı araştırmacılar çalışmalarında SA1B10-1-F ve SA1B10-1-R primer çiftinin *L. garvieae* dışındaki bakteri türlerinin template DNA'larını çoğaltmadığını bildirerek PZR çalışma sonuçlarına göre *L. garvieae*'nin kromozomal DNA'sındaki dihydropteroate genini çoğaltmak için kullanılan SA1B10 primer çiftinin bakterinin tespitinde faydalı olabileceğini bildirmiştir.

PZR tekniği çeşitli balık patojenlerinin tespitinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. *L. garvieae*'nin PZR bazlı tespit çalışmalarında 16S rRNA geni ile dihydropteroate synthase geninin amplifikasyonuna dayanır (Tsai vd. 2013).

Mevcut çalışmada hasta balıklardan izole edilen 75 bakteri suşundan 50'si PLG-1 ve PLG-2 primer çifti kullanılarak yapılan PZR çalışması sonucunda 1100 bç'lik bant oluşumu tespit edilmiştir. Bu çalışmaya göre 47 suş *L. garvieae* olarak tanımlanmıştır. PLG-1 ve PLG-2 primerlerinin *L. garvieae*'nin tespitinde doğruluğunu teyit edebilmek amacı ile 25 suşa SA1B10-1-F ile SA1B10-1-R ve 16s rRNA JCM10343^T primerleri kullanılmıştır. PLG-1 ve PLG-2 primer çiftinin kullanıldığı PZR çalışmasında negatif sonuç alınan 3 suşun SA1B10-1-F ile SA1B10-1-R ve 16s rRNA JCM 10343^T primerlerinin kullanıldığı PZR çalışmasında ise pozitif sonuç alınmıştır.

Kubilay ve arkadaşları (2005) çalıştıkları *L. garvieae* suşlarının ampisilin, tetrasiklin, kloramfenikol ve eritormisine duyarlı olduğunu, kanamisin, streptomisin, trimetoprim/sülfametoksazole ise direnç gösterdiğini bildirmiştir.

Kav ve Erganiş (2008) Konya bölgesindeki gökkuşağı alabalıklarından *L. garvieae*'yi izole ve identifiye etmiştir. Suşların ampisilin, kloramfenikol, eritromisin, oksitetrasikline duyarlı, basitrasin ve sülfametoksazol/trimetoprime ise dirençli olduğunu bildirmiştir.

Sharifi Yazdi ve arkadaşları (2010) çalışmalarında *L. garvieae* suşlarının antibiyogram test sonuçlarına göre eritromisin, enrofloksasin ve kloramfenikole oldukça duyarlı olduğunu bildirmiştir.

Didinen ve arkadaşları (2014) çalışmalarında *L. garvieae* suşlarının oksitetrasiklin, kloramfenikol, kanamisin, streptomisin, tetrasiklin, trimetoprime dirençli olduklarını, ampisiline duyarlı olduklarını, eritromisine ise orta derecede dirençli olduklarını bildirmiştir.

Kirkan ve arkadaşları (2018) Aydın ili ve civarındaki işletmelerde laktokokkozisi araştırarak hasta balıklarda izole ettikleri *L. garvieae* suşlarının florfenikole orta derecede duyarlı olduğunu, ampisilin ve eritromisine ise dirençli olduğunu bildirmiştir.

Korun ve arkadaşları (2018) çalışmalarında izole ettikleri 55 *L. garvieae* suşunun hepsinin basitrasin, kanamisin ve trimetoprime dirençli olduğunu, 55 suştan 20'sinin oksitetrasikline orta derecede, 50 suşun ise furazolidona orta derecede dirençli olduğunu, 55 suştan 54'ünün eritromisine duyarlı iken 1 suşun dirençli olduğunu bildirmiştir.

Kurtoğlu ve Korun (2018) Fethiye bölgesindeki bazı alabalık işletmelerinde laktokokkozis belirtisi gösteren yavru balıklarda *L. garvieae* suşlarını tanımlamıştır. Araştırmacılar izole ettikleri *L. garvieae* suşlarının ampisilin, eritromisin, kloramfenikol, sülfametoksazol, oksitetrasiklin ve trimetoprime duyarlı olduklarını, suşların basitrasin, flumekuin, furazolidon, kanamisin, nalidiksik asit, oksalinik asit ve streptomisine ise dirençli olduğunu bildirmiştir.

Mevcut çalışmada *L. garvieae* olarak tanımlanan 75 suşun antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre, ampisiline dirençli olduğu, tetrasiklin ve basitrasine ise duyarlı olduğu tespit edilmekle birlikte, üç örnekleme de izole edilen tüm *L. garvieae* suşlarının ampisilin, tetrasiklin ve basitrasin dışında diğer antibiyotiklere (kanamisin, eritromisin, streptomisin, furazolidon, flumekuin ve trimetoprim) olan duyarlılık ve direnç durumlarının suşa bağlı olarak değiştiği anlaşılmıştır. 75 suşun ampisiline direnç göstermesi yönünden, Kubilay ve arkadaşları (2005), Kav ve Erganiş (2008), Didinen ve arkadaşları (2014) ve Kurtoğlu ve Korun (2018) tarafından bildirilen bulgulardan farklı olduğu tespit edilmiştir. Kav ve Erganiş (2008) ile Korun ve arkadaşları (2018) suşların basitrasine dirençli olduğunu bildirmesine karşın, bu çalışmada suşların aynı antibiyotiğe duyarlı olduğu anlaşılmıştır.

Balık patojeni bakteri türleri ile ilgili olarak yapılan ÇAD indeks çalışmaları genellikle *A. hydrophila* üzerinedir (Belém-Costa ve Cyrino 2006). Çalışmamızda *L. garvieae* suşunun ÇAD indeksi birinci örneklemeden izole edilen suşlar için 0.44; ikinci örneklemeden izole edilen suşlar 0.33 ve üçüncü örneklemeden izole edilen suşlar için 0.22 olarak bulunmuştur. Laktokokkozisden etkilenen balıklardan izole edilen *L. garvieae* suşları ile ilgili ÇAD indeks değerlerine dair çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle çalışmada elde ettiğimiz bulgular diğer araştırmacıların bulguları ile karşılaştırılamamıştır.

6. SONUÇLAR

Antalya ili ve çevresinde bulunan bazı alabalık işletmelerinden laktokokkozis etkeni *L. garvieae*'nin izolasyonu ve identifikasyonunun amaçlandığı bu tez çalışmasından aşağıda yer alan sonuçlar elde edilmiştir.

1-Örnekleme çalışmasının yapılabilmesi için Antalya Kemer, Korkuteli, Manavgat ve Aksekide bulunan alabalık işletmelerine gidilmiştir. Laktokokkozis yüksek su sıcaklıkları ile alakalı bakteriyel bir enfeksiyon olduğundan su sıcaklığının 15 °C ve üzerinde olduğu işletmelerdeki hasta balıklarda laktokokkozis tespit edilirken, su sıcaklığının 10 °C altında olduğu Akseki de ki işletmeden *L. garvieae* izole ve identifiye edilememiştir.

2-Laktokokkozisden etkilenen bütün balıklarda davranışsal bulgular, dış ve iç klinik bulgular benzerlik göstermiştir.

3-Çalışmada izole edilen 75 suş fenotipik yönden homojenlik göstermiştir.

4-Çalışmada hasta balıklardan izole edilen 75 suşun 50'sine PLG-1 ve PLG-2 primer çifti kullanılarak PZR tekniği uygulanmıştır. Suşların 47'si pozitif sonuç verirken, 3 suş da herhangi bir amplifikasyon gözlenmemiştir.

5-PZR tekniği uygulanan 50 suştan 3'ü negatif, 22'si pozitif amplifikasyon veren toplam 25 suşa SA1B10-1-F ve SA1B10-1-R primer çiftinin kullanıldığı PZR tekniği uygulandığında 25 suş pozitif sonuç vermiştir.

6-25 suş 16s rRNA JCM10343^T primer çifti kullanıldığında pozitif sonuç vermiştir.

7-KG- kapsüllü *L. garvieae* suşlarında bulunan dihydropteroate synthase sentezi için gerekli olan gen bölgesini tanımlamada SA1B10-1-F ve SA1B10-1-R primerleri suşun doğruluğunu güçlendirmekte, SA1B10 primer çifti KG faktörünün göz önüne almaksızın suşu belirlerken, PLG-1 primer çifti ise yalnız KG + suşların varlığını tespit etmekte olup PLG primerleri için belirlenen çoğaltılması gereken bölgede bulunan bir mutasyon veya ilaçlar aracılığı ile baskılanması sonucu primerlerin etkili sonuç veremediği anlaşılmıştır.

8-Suşların antibiyotik duyarlılıkları değerlendirildiğinde suşların ampisiline dirençli olduğu, tetrasiklin ve basitrasine duyarlı olduğu, bunların dışındaki antibiyotiklere ise duyarlık ve direnç durumlarının değiştiği tespit edilmiştir.

9-Suşların ÇAD indeks değerleri 0.20'nin üzerinde bulunmuştur. Bu durum işletmelerde antibiyotiklerin yoğun olarak kullanıldığı ve bu nedenle bakterilerde direnç artışının geliştiği sonucuna varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

Abachi**,** S. Lee, S. Vasantha Rupa and Singhhe, H.P. 2016. Molecular mechanisms of inhibition of *Streptococcus* species by phytochemicals. *Molecules*, 21(215): 1-31.

Adams, A. and Thompson, K.D. 2006. Biotechnology offers revolotion to fish health management. *Trends. Biotechnol*., 24(5): 201-205.

Adeli, A. and Baghaei, F. 2013. Production and supply of rainbow trout in Iran and the world. *World Journal of Fish and Marine Sciences* (WJFMS), 5(3): 335–341.

Aftabuddin, S. Islam, M.N. Bhuyain, M.A.B. Mannan, M.A. and Alam, M.M. 2016. Fish diseases and strategies taken by the farmers in freshwater aquaculture at southwestern Bangladesh. *J. Zool*, 44(1): 111-122.

Aguado-Urda, M. López-Campos, G.H. Fernández-Garayzábal, J.F. Martín-Sánchez, F. Gibello, A. Domínguez, O. and Blanco, M.M. 2010. Analysis of the genome content of *Lactococcus garvieae* by genomic interspecies microarray hybridization. *BMC Microbiology*, 10(79): 1-8.

Agoba, E.E. Adu, F. Agyare, C. Boamah, V.E. and Boakye, Y.D. 2017. Antibiotic resistance patterns of bacterial isolates from hatcheries and selected fish farms in the Ashanti region of Ghana. *J. Microbiol. Antimicrob*., 9(4): 35-46.

Akhlaghi, M. and Sharifi Yazdi, H. 2008. Detection and identification of virulent *Yersinia ruckeri*: the causative agent of enteric redmouth disease in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in Fars Province, Iran. *Iran. J. Vet. Res*., 9(4): 347−352.

Akkan, H.A. ve Karaca, M. 2003. Veteriner iç hastalıklarında antibiyotiklerin kullanımı, *Yyü Vet Fak Derg*, 14(2): 72-77.

Akşit, D. ve Kum, C. 2008. Gökkuşağı Alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)'nda sık görülen patojen mikroorganizmaların tespiti ve antibiyotik duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi. *Yyü Vet Fak Derg*, 19(1): 1-7.

Alghabshi, A. Austin, B. and Crumlish, M. 2018. *Aeromonas salmonicida* isolated from wild and farmed fish and invertebrates in Oman. *Int Aquat Res.*,10: 145–152.

Al-Dulaimi, M.M.K. Mutalib, S. Ghani, M. Zaini, N.A.M. and Ahmad, A.A. 2019. Multiple antibiotic resistance (MAR), plasmid profiles, and DNA polymorphisms among *Vibrio vulnificus* isolates. *Antibiotics*, 8: 68.

Altun, S. Kubilay, A. Ekici, S. Didinen, B.I. ve Diler, Ö. 2010. Oral vaccination against Lactococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using sodium alginate and poly (lactide-co-glycolide) carrier. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, 16 (B): 211-S217.

Anonim 1: 2019. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Su Ürünleri İstatistikleri, Mart 2019.

Anonymous 1: Infocampo.com.ar. https://www.infocampo.com.ar/trucha-arcoiris-una-de-las-especies-acuicolas-de-mayor-importancia-en-la-argentina/

Aoki, T. Park, C-I. Yamashita, H. and Hirono, I. 2000. Species-specific polymerase chain reaction primers for *Lactococcus garvieae*. *J. Fish Dis.*. 23: 1-6.

Arı, Ş. 2004. DNA'nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılması. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 101-120.

Aron, Y. 2017. Pond management practices, occurrence and antimicrobial resistance of *Streptococcus* and *Lactococcus* species in cultured tilapia in Morogoro, Tanzania. PhD Thesis. University of Sokoine, Tanzania p.72

Austin, B. 2011. Taxonomy of bacterial fish pathogens. Vet Res., 42(1): 20.

Austin, B. and Austin, D.A. 2012. Bacterial fish pathogens disease of farmed and wild. Fish. *UK: Springer*

Avcı, H. Aydoğan, A. Tanrıkul, T.T. S. ve Birincioğlu, S. 2010. Pathological and microbiological investigations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) naturally infected with *Lactococcus garvieae*. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, 16(B): 313-318.

Aydın, H. 2017. Türkiye'de kültür balıkçılığı potansiyeli ve akuakültür sektörünün ekonomiye katkısı. *Balkan Sosyal Bilimler Dergisi*, 6(11): 62-67.

Baker, J.S. 1984. Comparison of various methods for differentiation of *Staphylococci* and *Micrococci*. *J. Clin. Microbiol.*, 19: 875–879.

Baños, A. Ariza, J.J. Nuñez, C. Gil-Martínez, L. García-López, J.D. Martínez-Bueno, M. and Valdivia, E. 2018. Effects of *Enterococcus faecalis* UGRA10 and the enterocin AS-48 against the fish pathogen *Lactococcus garvieae*. Studies *in vitro* and *in vivo*, *Food Microbiol*. 77: 69-77.

Bartkova, S. 2016. *Aeromonas salmonicida* - Epidemiology, whole genome sequencing, detection and in vivo imaging, PhD Thesis, Technical University of Denmark. 156 p.

Belém-Costa, A. and Cyrino, J.E.P. 2006. Antibiotic resistence of *Aeromonas hydrophila* isolated from *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Scientia Agricola*, 63: 281-284.

Bhuvaneshwari, G. 2017. Multiple antibiotic resistance indexing of non-fermenting Gram-negative bacilli. *Asian J Pharm Clin Res*., 10(6): 78-80.

CLSI (Clinical and laboratory Standards Institute) . 2006. Temel Mikrobiyoloji. Ankara: Medisan yayın No: 25.

Cunningham, C.O. 2002. Molecular diagnosis of fish and shellfish diseases: present status and potential use in disease control. *Aquaculture*, 206: 19–55.

Çağıltay, F. 2011. İçsu balıkları yetiştiriciliği. Nobel Akademik Yayıncılık, İstanbul, 284 s.

Çolak, D. 1999. Antimikrobiyal ilaçlar ve etki mekanizmaları. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitapevi, Ankara, 81-89.

Dalsgaard, I. and Madsen, L. 2000. Bacterial pathogens in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), reared at Danish freshwater farms. *J. Fish Dis.*, 23: 199–209.

Didinen, B.I. Yardımcı, B. Onuk, E.E.Metin, S. ve Yıldırım, P. 2014. Naturally *Lactococcus garvieae* infection in rainbow trout (*Oncorhyncus mykiss* Walbaum,

1792): new histopathological observations, phenotypic and molecular identification. *Revue Méd. Vét.,* 1(2): 12-19.

Diler, Ö. Altun, S. Adiloglu, A. K. Kubilay, A. ve Işıklı, B. 2002. First occurrence of streptococcosis affecting farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.,* 22(1): 21-26.

Dilsiz, N. 2004. Moleküler Biyoloji. Palme Yayınları, Ankara, 220 s.

Dirican, S. Musul, H. ve Çilek, S. 2009. Some physico-chemical characteristic and rotifers of Camligoze dam lake, Susehri, Sivas, Turkey. *J. Anim. Vet. Adv.,* 8(4): 715-719.

Dolgun, O. 2015. Gökkuşağı alabalıklarından *Lactococcus garvıeae* identifikasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması. Yüksek lisans tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın, 57 s.

Duman, M. Saticioğlu, İ.B. Janda, J.M. ve Altun, S. 2018. The determination of the infectious status and prevalence of motile *Aeromonas* species isolated from disease cases in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and aquarium fish. *J. Fish Dis.,* 41: 1843-1857.

Ehinmidu, J.O. 2003. Antibiotics susceptibility patterns of urine bacterial isolates in Zaria, Nigeria. *Trop. J. Pharm. Res.,* 2(2): 223-228.

El-Barbary, M.I. 2017. Serum biochemical and histopathological changes associated with *Aeromonas hydrophila* isolated from *Oreochromis niloticus* and *Sparus aurata* with multiple antibiotic resistance index. *J. Biol. Sci.,* 17(5): 222-234.

El-Barbary, M.I. and Hal, A.M. 2017. Phenotypic and genotypic characterization of some *Pseudomonas* sp. associated with *Burkholderia cepacia* isolated from various infected fishes. *J. Aquac. Res. Development.,* 8(7): 1-7.

Eraclio, G. Ricci, G. Quattrini, M. Moroni, P. and Fortina, M.G. 2018. Detection of virulence-related genes in *Lactococcus garvieae* and their expression in response to different conditions. *Folia Microbiol.,* 63(3): 291-298.

EUCAST, 2011. European Committe on Antimicrobial Susceptibility Testing, Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters.

Eyngor, M. Zlotkin, A. Ghittino, C. Prearo, M. Douet, D. Chilmonczyk, S. and Eldar, A. 2004. Clonality and diversity of the fish pathogen *Lactococcus garvieae* in Mediterranean countries. *Appl. Environ. Microbiol.,* 70(9): 5132–5137.

FAO 2018 The State of World Fisheries and Aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Department.

Faisal, M. Eissa, A.E. and Starliper C.E. 2010. Recovery of *Renibacterium salmoninarum* from naturally infected salmonine stocks in Michigan usingh a modified culture protocol. *J. Adv. Res.,* 95–102.

Faisal, M. Schulz, C. Eissa, A. Brenden, T. Winters, A. Whelan, G. Wolgamood, M. Eisch, E. and VanAmberg J. 2012. Epidemiological investigation of *Renibacterium salmoninarum* in three *Oncorhynchus* spp. in Michigan from 2001 to 2010, *Prev. Vet. Med.,* 107: 260-274.

Fadaeifard, F. Momtaz, H. Rahimi, E. and Mirzakhani, A. 2012. Detection of *Streptococcus iniae* and *Lactococcus garvieae* by multiplex polymerase chain reaction (PCR) in some rainbow trout farms of Iran. *Afr. J. Biotechnol.*, 11(2): 260-263.

Ferrario, C. Ricci, G. Milani, C. Lugli, G.A. Ventura, M. Eraclio, G. Borgo, F. and Fortina M.G. 2013. *Lactococcus garvieae:* Where is it from? A first approach to explore the evolutionary history of this emerging pathogen. Plos one 8.

Frans, I. Lievens, B. Heusdens, C. and Willems, K.A. 2008. Detection and identification of fish pathogens: What is the future? *Isr. J. Aquacult.,* 60(4): 213-229.

Franzetti, L. and Scarpellini, M. 2007. Characterisation of *Pseudomonas* spp. isolated from foods. *Annals of Microbiology*, 57(1)**:** 39-47.

Fukushima, H.C.S. Leal, C.A.G. Cavalcante, R.B. Figueiredo, H.C.P. Arijo, S. Moriñigo, M.A. Ishikawa, M. Borra, R.C. and Ranzani-Paiva M.J.T. 2017. *Lactococcus garvieae* outbreaks in Brazilian farms lactococcosis in *Pseudoplatystoma* sp. – development of an autogenous vaccine as a control strategy. *J. Fish. Dis.,* 40, 263–272.

Gibello, A. Galán-Sánchez, F. Mar Blanco, M. Rodríguez-Iglesias, M. Domínguez, L. and Fernández-Garayzábal, J.F. 2016. The zoonotic potential of *Lactococcus garvieae*: An overviewon microbiology, epidemiology, virulence factors and relationship with its presence in foods. *Res. Vet. Sci.,* 109: 59–70.

Gohharrizi, L.Y. Zorriehzahra, M.E.J. and Adel M. 2015. The study on effect of temperature stres on occurrence of clinical signs caused by *Aeromonas hydrophila* in capoeta damascina in *in vitro* condition. *Adv. Anim. Vet. Sci.,* 3(7): 406-412.

Gomes, S. Afonso, A. and Gartner, F. 2006. Fish vaccination against infections by *Streptococcal* species and the particular case of lactococcosis. RPCV, 101: 25-35.

Han, H.J. Lee, N.S. Kim, M.S. and Jung, S.H. 2015. An ourbreak of *Lactococcus garvieae* infection in cage-cultured red lip mullet *chelon haematocheilus* with green liver syndrome. *Fish. Aquat. Sci.,* 18(3): 333-339.

Hardie, L.J. Ellis, A.E. and Secombes, C.J. 1996. In vitro activation of rainbow trout macrophages stimulates inhibition of *Renibacterium salmoninarum* growth concomitant with augmented generation of respiratory burst products. *Dis. Aquat. Org.,* 25: 175-183.

Huang, Y. Jung, A. Schäfer, W. Mock, D. Michael, G.B. Runge, M. Schwarz, S. and Steinhagen, D. 2015. Analysis of *Yersinia ruckeri* strains isolated from trout farms in northwest Germany. *Dis. Aquat. Org.,* 116: 243–249.

Idowu TA, Adedeji, HA. and Sogbesan OA. 2017. Fish disease and health management in aquaculture production. Int. *J. and Agri. Sci.,* 1(1): 1-6.

Jansson, E. 2002. Bacterial Kidney Disease in salmonid fish, department of fish, Swedish University of Agricultural Sciences. Doctoral thesis, Uppsala. 52.

Janssen, K. Chavanne, H. Berentsen, P. and Komen, H. 2015. Rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)- Current status of selective breeding in Europe. *Aquaculture Europe*, 1-12.

Jung, M.Y. Chang, Y.H. and Kim, W. 2009. A real-Time PCR assay for detection and quantification of *Lactococcus garvieae*. J Appl Microbiol., 108: 1694-1701.

Kav, K. ve Erganiş, O. 2008. Antibiotic susceptibility of *Lactococcus garvieae* in rainbow trout (*Oncorhyncus mykıss*) farms. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 52: 223-226.

Kia, E.R. and Mehrabi, Y. 2013. Detection and identification of different *Streptococcosis* strains in farmed rainbow trout in Boyerahmad and Dena regions (North South of Iran). *World Journal of Fish and Marine Sciences* (WJFMS), 5 (3): 315-321.

Kirkan, S. Parin, U. ve Dolgun, O. 2018. Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR from rainbow trout and investigation of susceptibility to antibiotics. *International Journal of Veterinary Science*(IJVS), 7(1): 28-32.

Kim, W. Park, H.K. Thanh, H.D. Lee, B. Shin, J.W. and Shin, H. 2011. Comparative genome analysis of *Lactococcus garvieae* usingh a suppression subtractive hybridization library: discovery of novel DNA signatures. *FEMS Microbiology Letters.* 325: 77-84.

Korun, J. 2015. A study on the present disease situation of the cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.) in Turkey. Sixth International Scientific Agricultural Symposium "Agrosym 2015", Jahorina, Bosnia and Herzegovina, October 15-18, Book of Proceedings 2015 pp. 1729-1733.

Korun, J. Timur, G. Yardımcı, R.E. ve Balcı B.A. 2018. Kültür Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W.)'nda bazı kok türlerinin neden olduğu enfeksiyonların tespiti üzerine bir çalışma. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 13(2): 149-158.

Krumperman, L. 1985. Effect of Pbemedication." Urology 8.

Kubilay, A. Altun, S. Uluköy, G. ve Diler, Ö. 2005. *Lactococcus garvieae* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 1(1): 39-48.

Kumar, V. Roy, S. Barman, D. ve Kumar, A. 2014. Immunoserological and molecular techniques used in fish disease diagnosis: a mini review. *Int. J. Fish. Aquat.*, 1(3): 111-117.

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

Leekha, S.Terrell, C.L. and Edson R.S. 2011. General principles of antimicrobial therapy. *Mayo. Clin. Proc.*, 86(2): 156-167.

Lipton, A.P. Rajan, A.N. and Selvin, J. 1998. Methods for the rapid diagnosis and control of bacterial diseases in shellfishes and finfishes. *Proc. First Natl. Semi. Mar. Biotech.*, 141-148.

Liu, D. (2015). Chapter 61: Aeromonas. Molecular Medical Microbiology (Second Edition). 2: 1099-1110.

Lunestad, B.T. and Rosnes, J.T. 2008. Microbiological quality and safety of farmed fish. Improving farmed fish quality and safety. Woodhead Publishing Cambrige, England, 399–427.

Menanteau-Ledouble, S. Lawrence, M.L. and El-Matbouli, E. 2018. Invasion and replication of *Yersinia ruckeri* in fish cell cultures. *BMC Vet. Res.*, 14: 81.

Meyburgh, C.M. Bragg, R.R. and Bouche, C.E. 2018. Detection of virulence factors of South African *Lactococcus garvieae* isolated from rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Vet. Res.*, 34(6): 483–487.

Nakai, T. and Park, S.C. 2002. Bacteriophage therapy of infectious diseases in aquaculture. *Res. Microbiol.*, 153: 13–18.

Nelson, D.W. Moore, J.E. and Rao, J.R. 2019. Antimicrobial resistance (AMR): significance to food quality and safety. *Food Quality and Safety*, 3(1): 15–22.

NCLS. 2003. Disk Difüzyon Ek Tablolar, M100-S13 (M2). İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti.

Oinaka, D. Yoshimura, N. Fukuda, Y. Yamashita, A. Urasaki, S. Wada, Y. and Yoshida, T. 2019. Isolation of *Lactococcus garvieae* showing no agglutination with Anti-KG- phenotype rabbit serum. *Fish. Pathol.*, 50(2): 37-43.

Ormsby, MJ. Caws, T. Burchmore, R. Wallis, T. Verner-Jeffreys, D.W. and Daviesa, R.L. 2016. *Yersinia ruckeri* Isolates recovered from diseased Atlantic Salmon (*Salmo salar*) in scotland are more diverse than those from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and represent distinct subpopulations. *Appl. Environ. Microbiol.*, 82(19): 5785-5794.

Özaktaş, T. 2007. Multiple antibiotic resistance of surface mucus dwelling bacterial populations in freshwater fish. Yüksek lisans tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara, 71s.

Özdemir, E. 2010. Gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*- Walbaum 1792) bazı antibiyotik kalıntılarının saptanması. Besin Hijyen ve Teknolojisi ABD. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi, Ankara, 75 s.

Pękala-Safińska, A. 2018. Contemporary threats of bacterial infections in freshwater fish. *J. Vet. Res.*, 62(3): 261-267.

Pereira, F. Ravelo, C. Toranzo, A.E. and Romalde, J.L. 2004. *Lactococcus garvieae*, an emerging pathogen for the Portuguese trout culture. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 24(6): 274-279.

Pillay, T.V.R. 1993. Aquaculture principles and practices. Fishing News Books. 624 p.

Piotrowska, M. Rzeczycka, M. Ostrowski, R. and Popowska, M. 2017. Diversity of antibiotic resistance among bacteria isolated from sediments and water of carp farms located in a Polish nature reserve. *Pol. J. Environ. Stud.*, 26(1): 239-252.

Pridgeon J.W. and Klesius, P.H. 2012. Major bacterial diseases in aquaculture and their vaccine development. *CAB Rev.*, 141-148.

Raissy, M. Sarshoughi, M. and Moumeni, M. 2016. Molecular identification of some causative agents of warmwater streptococcosis by M-PCR in cultured rainbow trout, Chaharmahal - Bakhtiari Province. *Iran. J. Fish. Sci.*, 15(2): 836-845.

Raissy, M. and Moumeni, M. 2016. Detection of antibiotic resistance genes in some *Lactococcus garvieae* strains isolated from infected rainbow trout. *Iran. J. Fish. Sci.*, 15(1): 221-229.

Ruangpan, L. and Tendencia, E.A. 2004. Chapter 1. Bacterial isolation, identification and storage, In laboratory manual of standardized methods for antimicrobial sensitivity tests for bacteria ısolated from aquatic animals and environment. Tigbauan, Iloilo, Philippines: Southeast Asian Fisheries Development Center, Aquaculture Department, 3-11.

Rubião, C.A. Fátima E. and Mesquita M. 2018. *Lactococcus garvieae*: emergent pathogen usually misidentified as enterococcal species. *MOJ Biol. Med.*, 3(2): 27–28.

Savvidis, G.K. Anatoliotis, C.Kanaki, C. and Vafeas, G. 2007. Epizootic outbreaks of lactococcosis disease in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), culture in Greece. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 27(6): 223- 228.

Saxena, T. and Kausik, P. 2019. emergence of antibiotic resistance in bacteria. MedDocs eBooks.

Seeley, H. W. Vandemark, P. J. and Lee, J. J. 1995. Microbes in action, a laboratory manual of microbiology, 4th ed. W.H. Freeman and Company, New York, NY.

Sharifiyazdi, H. Akhlaghi, M. Tabatabaei, M. and Mostafavi Zadeh, S. M. 2010. Isolation and characterization of *Lactococcus garvieae* from diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) cultured in Iran, *Iran. J. Vet. Res.*, 11(4): 342-350.

Shefat S.H.T. 2018. Vaccines for infectious bacterial and viral diseases of fish, J. Bacteriol. Infec. Dis., 2(2): 1-5.

Singh, A.K. Kamalam, B.S. and Kumar, P. 2016. Charting ways to invigorate rainbow trout production in India. *J. Fish. Sci.*, 10(2): 25-32.

Soltani, M. Nikbakht, Gh. Mousavi, H.A.E. and Ahmadzadeh, N. 2008. Epizootic outbreaks of lactococcosis caused by *Lactococcus garvieae* in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 28(5): 207-212.

Somma, M. and Querci, M. 2010. The analysis of food samples for the presence of genetically modified organisms. European Commission, Joint research centre. Special publication.

Subasinghe, R. Soto, D. and Jia, J. 2009. Global aquaculture and its role in sustainable development. *Rev. Aquacult.*, 1(1): 2–9.

Sudheesh, P.S. Al-Ghabshi, A. Al-Mazrooei, N. and Al-Habsi, A. 2012. Comparative pathogenomics of bacteria causing ınfectious diseases in fish. *Int. J. Evol. Biol.*, 16 p.

Tabak, F. 2002. Klinikte Antibiyotik kullanımı. Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi, 31: 101-109.

Temizkan, G. ve Arda, N. 2004. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 345 S.

Terech-Majewska, E. 2016. Improving disease prevention and treatment in controlled fish culture. *Arch. Pol. Fish.,* 24: 115-165.

Timur, G ve Timur, M. 2003. Balık Hastalıkları. İstanbul Üniversitesi Rektörlük Yayını No. 4426. 588 s.

Timur, G. Yardımıcı, R.A. Ürkü, Ç. ve Çanak, Ö. 2011. Marmara Bölgesi kültür gökkuşağı alabalıklarında *(Oncorhynchus mykiss,* L.*)* lactococosis'in bakteriyolojik ve histopatolojik metodlarla teşhisi. *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi,* 26: 63-81.

Topal, M. Şenel, G.U. Topal, E.A. ve Öbek, E. 2015. Antibiyotikler ve Kullanım Alanları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi,* 31(3): 121-127.

TUİK. 2017. Türkiye İstatistik Kurumu. Su Ürünleri İstatistikleri, www.tarimorman.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/BSGM.pdf (01.04.2019)

Türe, M. ve Savaş, H. 2010. Karadeniz Bölgesinde Gökkuşağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) lactococcosis (*Lactococcus garvieae*). *Yunus Araştırma Bülteni,* 10(3): 19-20.

Tsai, M.A. Wang, P.C. Yoshida, T. Liaw, L.L. and Chen, S.C. 2013. Development of a sensitive and specific LAMP PCR assay for detection of fish pathogen *Lactococcus garvieae*. *Dis. Aquat. Org.,* 102: 225–235.

Wang, CY. Shie, HS. Chen, SC. Huang, JP. Hsieh, IC. and Wen, MS. 2007. *Lactococcus garvieae* infections in humans: possible association with aquaculture outbreaks. *Int. J. Clin. Pract.,* 61: 68–73.

Vendrell, D. Balca´zar, J.L. Ruiz-Zarzuela, I. Blas, I. Girone´s, O. and Mu´zquiz, J.L. 2006. *Lactococcus garvieae* in fish: A review. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect,* 29: 177–198.

Wiklund, T. and Bylund, G. 1990. *Pseudomonas anguilliseptica* as a pathogen of salmonid fish in Finland. *Dis. Aquat. Org.,* 8: 13-19.

Yavuzcan, H. Pulatsü, S. Demir, N. Kırkağaç, M. Berkcan, S. Topçu, A. ve Başçınar, N. 2010. Türkiye'de sürdürülebilir su ürünleri yetiştiriciliği. TMMOB Ziraat Mühendisliği VII. Teknik kongresi. Bildiri kitabı 2. 767-789.

Zlotkin, A. Eldar, A. Ghittino, C. and Bercovier, H. 1998. Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR. *J. Clin. Microbiol.,* 36(4): 983-985.

ÖZGEÇMİŞ

ERBÜLENT ALTAN

erbulentaltan@gmail.com

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2017-2019	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Entitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Antalya
Lisans 2010-2014	Düzce Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Düzce