



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**KARKAMIŞ BARAJ GÖLÜ'NDE YETİŞTİRİLEN ALABALIKLARDAN
AEROMONAS BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU VE LİTİK
BAKTERİYOFAJLARININ ARAŞTIRILMASI**

EMİNE ATÇI SAYTEKİN

BİYOLOJİ ANA BİLİMDALİ

**Şanlıurfa
2025**



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ**

DOKTORA TEZİ

**KARKAMIŞ BARAJ GÖLÜ'NDE YETİŞTİRİLEN ALABALIKLARDAN
AEROMONAS BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU VE LİTİK
BAKTERİYOFAJLARININ ARAŞTIRILMASI**

EMİNE ATÇI SAYTEKİN

**BİYOLOJİ ANA BİLİMDALİ
Tez Danışmanı: Doç. Dr. MUHAMMED YAŞAR DÖRTBUDAK**

**Şanlıurfa
2025**

TEŞEKKÜR

Tezin konusunun seçiminde, uygulamasında ve çalışmamda yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın Doç. Dr. Muhammed Yaşar DÖRTBUDAK'a çalışmam sırasında maddi ve manevi olarak her zaman yanımda olan, desteğini esirgemeyen eşim Dr. Öğretim Üyesi Ahmet Murat SAYTEKİN'e, bilgi ve deneyimlerini paylaşan Prof. Dr. Sevil ERDENLİĞ GÜRBİLEK', Prof. Dr. Oktay KESKİN'e, Prof. Dr. Osman Yaşar TEL'e, Dr. Öğr. Üyesi, Fuat ÖZYÖRÜK'e, laboratuvar çalışmalarında bana destek olan Dr. Öğretim Üyesi Ayfer GÜLLÜ YÜCETEPE'ye, Dr. Müzeyyen DEMİR'e çalışmalar sırasında maddive manevi desteğini her zaman hissettiğim annem Şükran ATÇI' ya babam Ömer ATÇI'ya ve her daim yanımda olan arkadaşım Zübeyde SELBİSU' ya çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
SİMGELER	v
KISALTMALAR	vi
1. GİRİŞ	1
1.1. Su Ürünleri ve Alabalık Yetiştiriciliği	1
1.1.1. Su ürünleri tarihçesi	1
1.1.2. Su ürünleri yetiştiriciliğinin dünyadaki durumu	2
1.1.3. Türkiye'de su ürünleri yetiştiriciliği	2
1.1.4. Karkamış Baraj Gölü'nde yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalığı'nın (Oncorhynchus mykiss) biyolojisi, morfolojisi ve sistematigi	4
1.1.5. Balık yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyen hususlar	5
1.2. Balık Hastalıkları	5
1.2.1. Balıklarda görülen bakteriyel hastalıklar	6
1.2.1.1. Vibriosis	6
1.2.1.2. Bakteriyel Böbrek Hastalığı	6
1.2.1.3. Kolumnaris hastalığı	7
1.2.1.4. Yersiniosis	7
1.2.1.5. Aeromonas'lar ve oluşturdıkları hastalıklar	7
1.2.1.6. Hareketli Aeromonas enfeksiyonları	9
1.2.1.7. Furunkulozis	9
1.3. Bakteriyofajlar	10
1.3.1. Bakteriyofajların üreme döngüsü	11
1.3.2. Bakteriyofajların sınıflandırılması	13
1.3.3. Fajların uygulama alanları	14
1.3.3.1. Kullanım alanları	15
1.3.3.2. Faj terapisinin balıklarda kullanımı ve uygulayan ülkeler	15
1.4. Çalışmanın Amacı	16
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. Gereçler	21
3.1.1. Çalışma sahası	21
3.1.2. İnceleme örnekleri	21
3.1.3. Besiyerleri ve solüsyonlar	21
3.1.3.1. Tryptic soy agar (TSA)	22
3.1.3.2. Tryptic soy broth (TSB)	22
3.1.3.3. Oksidasyon-Fermantasyon (O/F) besiyerleri	22
3.1.3.4. MacConkey agar	22
3.1.3.5. Ampisilinli kanlı agar	23
3.1.3.6. %15 Gliserinli tryptic soy broth	23
3.1.3.7. Luria Bertani (LB) yarı katı agar	23
3.1.3.8. Luria Bertani (LB) agar	23
3.1.3.9. Saline magnesium buffer (SM buffer)	24
3.1.4. Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) analizi için jel ve solüsyonlar	24
3.1.4.1. %12 'lik Seperasyon jeli	24
3.1.4.2. %4'lük Yükleme Jeli	24
3.1.4.3. %30 Akrilamid/Bisakrilamid Solüsyonu (Akrilamid Mix)	25
3.1.4.4. %10 Sodium Dodesil Sülfate Solüsyonu (SDS)	25
3.1.4.5. %10 Amonyum Persülfat Solüsyonu (APS)	25

3.1.4.6. pH: 6.8'e ayarlı 1,5 Molar Tris-HCl	26
3.1.4.7. pH: 8.8'e ayarlı 1.5 Molar Tris-HCl	26
3.1.4.8. Destaining Solüsyonu	26
3.1.4.9. 10X SDS Running Buffer	26
3.1.4.10. 10X SDS Running Buffer	27
3.1.5. Geçirimli elektron mikroskopisi (TEM) analizi için gereçler	27
3.1.6. Bakteriyofajların moleküler analizi için gereçler	27
3.1.7. Kullanılan diğer gereçler	27
3.2. Yöntem	29
3.2.1. Anamnez bilgileri ve nekropsi	29
3.2.2. Bakteriyel izolasyon	29
3.2.2.1. Gram boyama	30
3.2.2.2. Ampisilinli kanlı agar testi	30
3.2.2.3. Oksidaz testi	30
3.2.2.4. Katalaz testi	30
3.2.2.5. Oksidasyon-Fermantasyon testi (O/F)	30
3.2.2.6. Hareket testi	31
3.2.3. Bakteriyofaj izolasyonu ve karakterizasyonu için çalışmalar	31
3.2.3.1. Bakteriyofaj izolasyonu ve litik aktivasyonunun belirlenmesi	31
3.2.3.2. Bakteriyofajın saflaştırılması ve çoğaltılması	31
3.2.3.3. Bakteriyofajın titresinin belirlenmesi	32
3.2.3.4. Multiplicity of infection (MOI) optimum değerinin belirlenmesi	33
3.2.3.5. Bakteriyofajın pH duyarlılığının belirlenmesi	33
3.2.3.6. Bakteriyofajın sıcaklık duyarlılığının belirlenmesi	34
3.2.3.7. Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) analizi	34
3.2.3.8. Bakteriyofajın geçirimli elektron mikroskopunda (TEM) incelenmesi	35
3.2.3.9. Bakteriyofajın moleküler analizi	35
4. BULGULAR	36
4.1. Anamnez ve nekropsi sonuçları	36
4.2. Bakteriyel izolasyon sonuçları	44
4.3. Bakteriyofaj izolasyonu ve karakterizasyonu sonuçları	45
4.3.1. Konakçı yelpazesinin belirlenmesi için test sonuçları	45
4.3.2. Faj Titresi ve Optimal MOI Sonuçları	46
4.3.3. Bakteriyofajın pH ve sıcaklık duyarlılığı sonuçları	47
4.3.4. Bakteriyofajın SDS-PAGE analiz sonuçları	48
4.3.5. Bakteriyofajın elektron mikroskopunda görüntülenme sonuçları	48
4.3.6. Bakteriyofajın moleküler analiz bulguları	49
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇLAR	58
7. ÖNERİLER	59
KAYNAKLAR	60
ÖZGEÇMİŞ	69

ÖZET

DOKTORA TEZİ

KARKAMIŞ BARAJ GÖLÜ'NDE YETİŞTİRİLEN ALABALIKLARDAN AEROMONAS BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU VE LİTİK BAKTERİYOFAJLARININ ARAŞTIRILMASI

EMİNE ATÇI SAYTEKİN

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİMDALI

Tez Danışman: Doç. Dr. MUHAMMED YAŞAR DÖRTBUDAK

Yıl: 2025, Sayfa : 68

Bu tez çalışmasında amaç, Karkamış Baraj Gölü'nde yetiştirilen ve hastalık semptomları göstererek ölen alabalıklardan *Aeromonas* türlerini izole etmek ve çevresel örneklerden bu türlere spesifik litik bakteriyofaj varlığını araştırmaktır. Bu çalışmada Şanlıurfa iline bağlı farklı konumlardaki 4 farklı çiftlikten farklı zaman periyotlarında, bakteriyel izolasyon için toplam 96 ölü gökkuşağı alabalığı ile bakteriyofaj izolasyonu için su ve bentos örnekleri toplandı. Balıklara uygulanan nekropsi sonrasında, deri lezyonları ve balıkların çeşitli organlarına ait 138 inceleme örneğinden klasik bakteriyel izolasyon ve identifikasyon yöntemiyle *Aeromonas* 'ların izolasyonu için ekimler yapıldı. Elde edilen izolatların doğrulama analizleri MALDİ-TOF ile gerçekleştirildi. Balıklardan 18 adet *Aeromonas* etkeni izole edildi. Bu etkenlerin altısının *Aeromonas veronii*, dördünün *Aeromonas hydrophila*, dördünün *Aeromonas sobria*, ikisinin *Aeromonas ichthiosmia*, birinin *Aeromonas caviae* ve birinin de *Aeromonas bestiarum* olduğu tespit edildi. Bakteriyofajların tespiti için alınan su ve bentos örneklerine ön zenginleştirme işlemi uygulanarak şüpheli süspansiyonlar hazırlandı. Bu süspansiyonlardan elde edilen izolatlar ile spot-test yapılarak bakteriyofaj içeriği yönünden araştırıldı. Bir adet çiftlikten elde edilen *Aeromonas hydrophila* bakterisine karşı litik aktivite gösteren 1 adet faj belirlenerek izole edildi. İzole edilen faj çift tabaka agar yöntemiyle saflaştırıldı, besiyerinde konakçısıyla çoğaltıldıktan sonra faj titresi 6.40×10^8 Pfu/ml olarak belirlendi. Optimal MOI değeri 0.1 bulundu. Faj, pH 3-11 ve sıcaklık 4-60°C aralıklarında test edildi. Fajın pH 5-9 ve sıcaklığın 4-40°C arasındaki test ortamlarında stabil olduğu tespit edildi. Bakteriyofaj morfolojik inceleme amacıyla geçirimli elektron mikroskopunda (TEM) görüntülendi. Fajın *Siphoviridae* familyasına ait olabileceği morfolojik olarak belirlendi. Fajın moleküler analiziyle, daha önce tanımlanarak gen banka bilgileri girilen *Aeromonas* 'ların T7-Ah ve PZL-Ah152 fajlarına genetik olarak çok yakın bir faj olduğu görüldü. Sonuç olarak Şanlıurfa bölgesinde Karkamış barajında üretim faaliyetleri gösteren balık çiftliklerinde *Aeromonas* etkenlerinin enfeksiyonlara sebep olduğu, etkenlerle birlikte bakteriyofajlarının da izole edilebileceği görüldü. Hastalıklardan korunma için gerekli tedbirlerin alınabileceği ve bakteriyofajların koruma ve tedavide kullanılabilirliğiyle ilgili ileri çalışmaların yapılması gerektiği kanaatine varıldı.

ANAHTAR KELİMELEER: izolasyon, enfeksiyon, *Aeromonas*, bakteriyofaj, balık

ABSTRACT

DOCTORATE THESIS

Isolation of *Aeromonas* Bacteria from Trouts Grown in Karkamış Dam Lake and Investigation of Lithic Bacteriophages of *Aeromonas*

EMİNE ATÇI SAYTEKİN

HARRAN UNIVERSITY
INSTITUTE OF GRADUATE EDUCATION
BİOLOGY

Thesis Supervisor: Assoc. Prof. Dr. MUHAMMED YAŞAR DÖRTBUDAK
Year: 2025, Page : 68

The aim of this thesis was to isolate *Aeromonas* species from rainbow trout reared in Karkamış reservoir that died with disease symptoms and to investigate the presence of specific lytic bacteriophages from environmental samples. In this study, a total of 96 dead rainbow trout and the water-benthos samples were collected from 4 different farms in different locations in Şanlıurfa province at different time periods for bacterial isolation and bacteriophage isolation respectively. After necropsy, 138 examination samples of skin lesions and various organs of the fish were cultured for the isolation of *Aeromonas* by classical bacterial isolation and identification method. Confirmatory analysis of the isolates obtained was performed by MALDI-TOF MS. Eighteen *Aeromonas* agents were isolated from fish. Six of these agents were *Aeromonas veronii*, four were *Aeromonas hydrophila*, four were *Aeromonas sobria*, two were *Aeromonas ichthiosmia*, one was *Aeromonas caviae* and one was *Aeromonas bestiarum*. Suspicious suspensions were prepared by pre-enrichment of water and benthos samples taken for the detection of bacteriophages. These suspensions were spot-tested with the isolates obtained and investigated for bacteriophage content. One phage showing lytic activity against *Aeromonas hydrophila* bacteria obtained from one farm was identified and isolated. The isolated phage was purified by double layer agar method, and the phage titer was determined as 6.40×10^8 Pfu/ml after multiplication with its host in the medium. The optimal MOI value was found to be 0.1 The phage was tested at pH 4-11 and temperature 4-60 °C. The phage was found to be stable in test media with pH 5-9 and temperature 4-40 °C. The bacteriophage was imaged by transmission electron microscopy (TEM) for morphological examination. It was morphologically determined that the phage may belong to the *Siphoviridae* family. Molecular analysis of the phage revealed that the phage was genetically very similar to the *Aeromonas* T7-Ah and PZL-Ah152 phages, which were previously identified and entered into GenBank. As a result, it was observed that *Aeromonas* agents cause infections in fish farms in Karkamış dam in Şanlıurfa region and bacteriophages can be isolated together with the agents. It was concluded that necessary precautions can be taken for the prevention of diseases and further studies should be carried out on the use of bacteriophages in protection and treatment.

KEYWORDS: isolation, infection, *Aeromonas*, bacteriophage, fish

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	2023 yılı FAO raporlarına göre dünyada su ürünleri üretiminin yüzdelik dağılımı.	2
Şekil 1.2.	2023 yılı TÜİK raporlarına göre Türkiye’de illere göre su ürünleri üretiminin dağılımı.	3
Şekil 1.3.	Bakteriyofajların genel yapısı (https://turanturan.com.tr/bakteriyofaj)	11
Şekil 1.4.	Bakteriyofajların üreme döngüsü T4 bakteriyofajı temsil etmektedir (https://turanturan.com.tr)	12
Şekil 1.5.	Bradley yaptığı morfoojik sınıflandırma (Soykut ve Tunail; 2008)	14
Şekil 3.1.	Titre hesaplanması	33
Şekil 4.1.	Balıklarda bazı dış lezyon görüntüleri	37
Şekil 4.2.	Bakteriyel ekim öncesi diseksiyonu yapılan balık örnekleri	38
Şekil 4.3.	. Aeromonas bakterilerinin Gram boyama görüntüsü	45
Şekil 4.4.	Bakteriyofajın konakçısı ile agar spot test görüntüsü	46
Şekil 4.5.	5 Faj titresinin hesaplanmasında kullanılan ikili agar kaplama yönteminde gözlenen faj plakları	47
Şekil 4.6.	Konakçı ve bakteriyofajın SDS-PAGE görüntüsü	48
Şekil 4.7.	Bakteriyofajın TEM mikroskop görüntüsü	49
Şekil 4.8.	Bhr1 fajı ile diğer fajların genom hizalanma uyumları	50
Şekil 4.9.	Bhr1 fajının yerini gösteren filogenetik ağaç Çizim MEGA11 programında Maximum Likelihood method and Tamura-Nei modelleme kullanılarak oluşturuldu	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Gökkuşuğu alabalığı (<i>Onchorhynchus mykiss</i>) genel sistematığı	4
Çizelge 3.1.	Çalışma alanı işletmeler, ziyaret tarihleri ve toplanan balık sayıları	21
Çizelge 3.2.	. %12'lik Seperasyon jeli hazırlama protokolü	24
Çizelge 3.3.	%4'lük Yükleme jeli hazırlama protokolü	24
Çizelge 3.4.	%30 Akrilamid/Bisakrilamid Solüsyonu (Akrilamid Mix) hazırlama protokolü	25
Çizelge 3.5.	. %10 Sodium Dodesil Sülfate Solüsyonu (SDS) hazırlama protokolü	25
Çizelge 3.6.	%10 Amonyum Persülfat Solüsyonu (APS) hazırlama protokolü	25
Çizelge 3.7.	pH: 6.8'e ayarlı 1.5 Molar Tris-HCl hazırlama protokolü	26
Çizelge 3.8.	. pH: 8.8'e ayarlı 1.5 Molar Tris-HCl hazırlama protokolü	26
Çizelge 3.9.	Destaining Solüsyonu hazırlama protokolü	26
Çizelge 3.10.	. 10X SDS Running Buffer hazırlama protokalü	26
Çizelge 3.11.	1X SDS Running Buffer hazırlama protokolü	27
Çizelge 3.12.	Bakteriyofaj MOI değerleri çizelgesi	33
Çizelge 4.1.	Birinci ziyarette toplanan balıkların lezyonlu bölgeleri ve izolasyon sonuçları	38
Çizelge 4.2.	İkinci ziyarette toplanan balıkların lezyonlu bölgeleri ve izolasyon sonuçları	39
Çizelge 4.3.	Üç ziyarette toplanan balıkların lezyonlu bölgeleri ve izolasyon sonuçları	40
Çizelge 4.4.	Dördüncü ziyarette toplanan balıkların lezyonlu bölgeleri ve izolasyon sonuçları	41
Çizelge 4.5.	Balıklarda lezyonlu dokuların yüzdelik dağılımı	42
Çizelge 4.6.	İzolatlarda <i>Aeromonas</i> türlerinin sayısal dağılımı	44
Çizelge 4.7.	Bakteriyofajın MOI değerlerinin belirlenmesi	46
Çizelge 4.8.	Bhr1 Faj bilinen diğer <i>Aeromonas</i> faj genomları ile %'lik farklılıkları	49

SİMGELER

%: Yüzde

g : Gram

M: Molarite

μ : mikrolitre

KISALTMALAR

cm : Santimetre

dk : Dakika

kg : kilogram

mg : miligram

mL : Mililitre

pH : Hidrojen İyon Konsantrasyonu

rpm : Dakikadaki devir sayısı

SDS-PAGE : Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi

TEM : Transmisyon elektron mikroskopunda

TMB : Tarım Bakanlığı Teşhiste Metot Birliği

°C : Santigrat derece

µL : Mikrolitre

1. GİRİŞ

Dünyadaki nüfus artışı ve teknolojinin sürekli gelişmesi, hızlı bir yaşam tarzının oluşması ve buna bağlı olarak beslenme yönteminin değişmesi ile hazır gıda tüketiminin artmasına neden olmuştur. Hazır gıda tüketiminin artması sonucunda, gıda ürünlerinde elde edilme ve saklanma koşulları insan sağlığı açısından önemli bir durum haline gelmiştir. Hazır gıdalarda yaşanan en önemli sorunlardan biri; gıdalarda patojen mikroorganizmaların varlığı, ikincisi ise patojen olmasa bile normal depolama koşullarında gıdada bozulmaya neden olan mikroorganizmaları varlığıdır. Gıdaların saklama koşulları sırasında gıda kalitesini ve beslenme değerlerini en az olumsuz yönde etkileyecek yöntemlerin kullanılması önemli bir durum haline gelmiştir (Kanber, 2024). Ucuz ve sağlıklı protein kaynağı olan balık eti taze tüketilebildiği gibi dondurulmuş ürün olarak ta tüketime sunulmaktadır. Bu durum deniz ürünlerine ve çiftliklerde üretilen balıklarda bulunabilecek olası patojenlere karşı dikkatli olunmasını gerektirmektedir. Su ürünlerinde bulunabilecek ve buzdolabı ısısında da üreyebilme yeteneğine sahip bazı mikroorganizmaların mevcut bulaş riskini arttırmaktadır. Bu mikroorganizmalardan biri olan ve insanlarda enteropatojen olarak bilinen *Aeromonas* bakterileri; su ürünlerinde, kırmızı et çeşitlerinde, yumurta, süt, meyve ve sebze gibi gıda ürünlerinde bulunmaktadır. Buzdolabı ısısı yani +4 °C’de üreme yeteneğine sahip *Aeromonas* bakterilerine karşı daha dikkatli olunması gerekmektedir (Wadström ve Ljungh, 1991; Kılınç, 2019). Bu riski azaltmak için patojen bakterilere karşı alınan tedbirlerin yanında, insan sağlığı açısından da güvenli olabilecek antibakteriyel mücadeleyi öne çıkarmaya başlamış; birçok bakteri türüne karşı litik bakteriyofajların kullanılması, gıda kaynaklı bulaşların engellenmesi açısından kullanışlı bir yöntem olarak kabul edilmeye başlanmıştır.

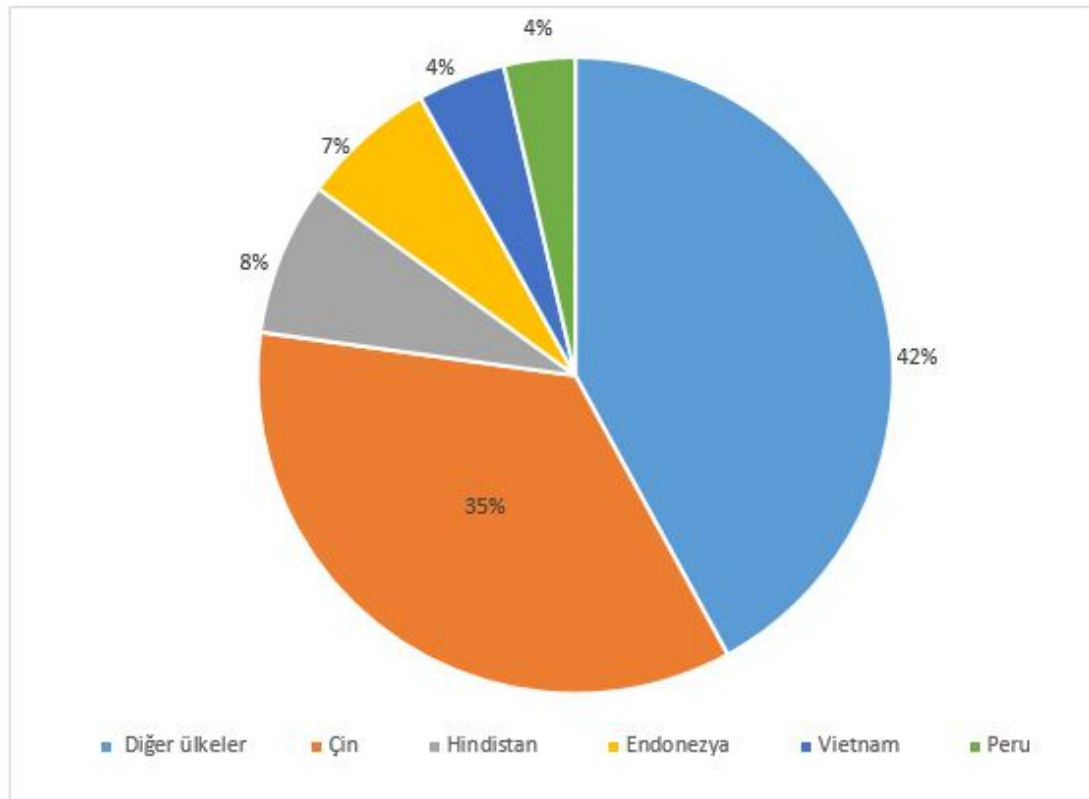
1.1. Su Ürünleri ve Alabalık Yetiştiriciliği

1.1.1. Su ürünleri tarihçesi

Su ürünleri yetiştiriciliği; balık, kabuklu deniz ürünleri, yumuşakça, eklembacaklılar ve algler gibi su canlılarının yetiştirilmesi olarak tanımlanabilir. Su ürünleri yetiştiriciliği çalışmaları ilk defa Çin’de M.Ö. 2000’li yıllarda başladığı düşünülmektedir (Başçınar, 2004). Milattan önce 1400’lü yıllarda yaşanan gel-git olayları nedeniyle denizlerde yavru balıkların havuzlarda saklanması sonucu deniz kültür balıkçılığı başlamıştır (De Silva, 2001). Dünyada sazan yetiştiriciliğinin ilk kayıtlarına göre M.S. 312 yıllarına dayanırken, alabalık yetiştiriciliğinin son 100 yılda üretildiği bilinmektedir (Hoşsucu vd., 1997; Çelikkale vd., 1999).

1.1.2. Su ürünleri yetiştiriciliğinin dünyadaki durumu

2022 yılında Birleşmiş Milletler Tarım ve Gıda Örgütü (FAO)'nın yayımladığı verilere göre su ürünleri üretimi 182.8 milyon ton olduğu rapor edilmiştir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde en büyük üretim payı Asya kıtasında yer alan ülkelerin olduğu belirlenmiştir. Dünyada su ürünleri üretiminde 64.2 milyon tonla toplam üretimin %35'nini oluşturan Çin, su ürünleri üretiminde ilk sırada yer almaktadır. Çin'den sonra en çok üretim 14.3 milyon ton ile Hindistan üretmekte ve bunları sırayla Endonezya (12.6 milyon ton), Vietnam (8.2 milyon ton) ve Peru (6.6 milyon ton) izlemektedir. Dünyada su ürünleri üretiminin yüzdelik dağılımı şekil 1.1.' de verilmiştir (FAO, 2023).

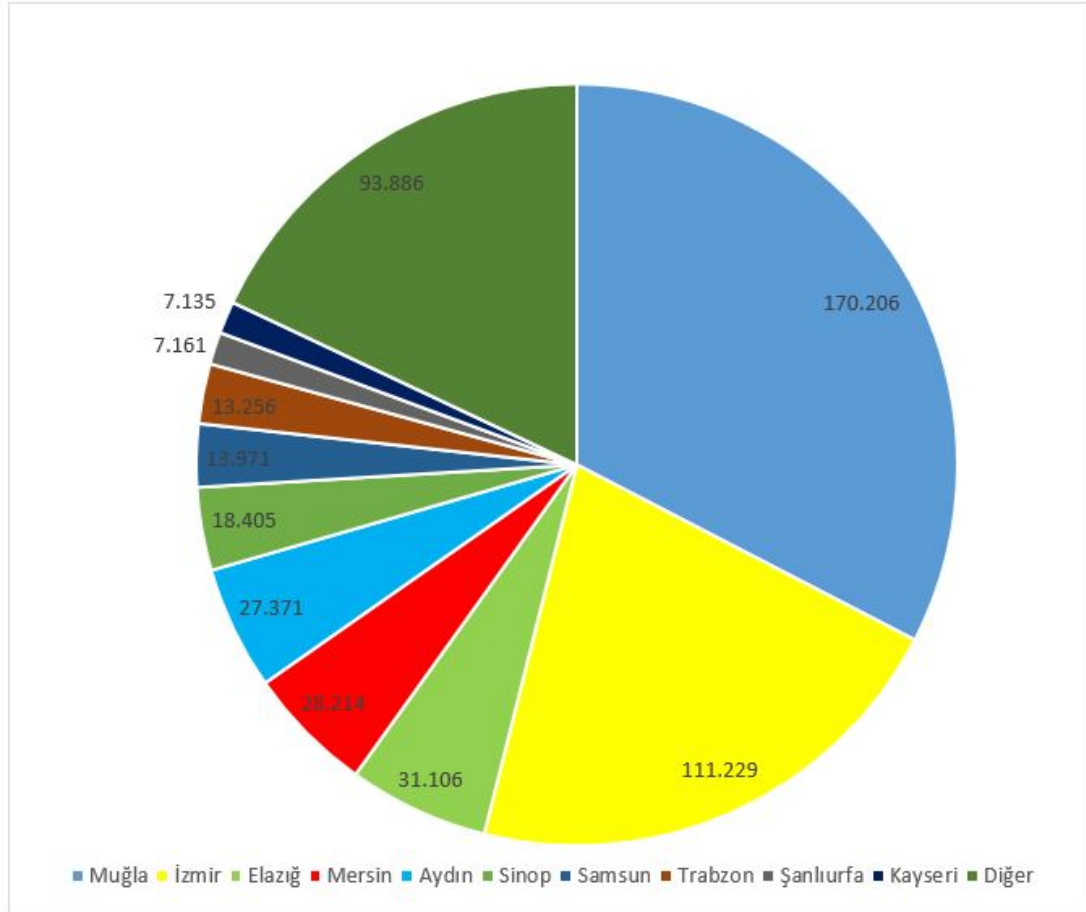


Şekil 1.1. 2023 yılı FAO raporlarına göre dünyada su ürünleri üretiminin yüzdelik dağılımı.

1.1.3. Türkiyede su ürünleri yetiştiriciliği

Türkiyede su ürünleri yetiştiriciliği diğer ülkelere göre daha geç başlamıştır. İlk kez 1960 yılında Bilecik (Bozöyük)'te kurulan alabalık işletmesinde gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üretime başlamıştır. Aynı yıllar içerisinde Diş Teknisyeni olan Ali Bak, Sakarya'da önce küçük bir işletme kurmuş, daha sonra

1969 yılında yurtdışından gökkuşağı alabalığı yumurtaları getirterek üretime başlamıştır (Aydın vd., 2016; Doğan, 2000; Korkut vd., 2023). Türkiye’de alabalık üretimi ve yaygınlaşması Sapanca İç Su Ürünleri Üretimi Araştırma ve Uygulama Birimi’nin 1978 yılında 1200 yavru ve 4000 alabalık yumurtası ile üretime başlamış ve 1982 yılında “Marmara Bölgesi İç Su Ürünlerini Geliştirme Projesi” çerçevesinde özellikle gökkuşağı alabalığı üretimi yaparak Türkiye’de su ürünleri üretimi hız kazanmıştır (Aydın vd., 2016; Korkut vd., 2023). Günümüzde alabalık üretimi ve ticareti su ürünleri, üretimin en başında yer almaktadır. TÜİK verilerine göre 2000’li yıllarda 79.031 ton balık üretimi yapılırken, son verilere göre balık üretimi 2023’te %18 artarak yaklaşık 1 milyon ton oldu rapor edilmiştir. Bu da Türkiye’de su ürünleri yetiştiriciliğinin artarak devam ettiğini göstermektedir (TÜİK, 2023). Türkiye’de su ürünleri üretiminin sayısal verileri şekil 1.2.’de verilmiştir.



Şekil 1.2. 2023 yılı TÜİK raporlarına göre Türkiye’de illere göre su ürünleri üretiminin dağılımı.

Fırat nehri üzerinde kurulan Karkamış Baraj Gölü, Şanlıurfa ilinin Birecik ilçesinde yer almaktadır. Bu göl, Türkiye-Suriye sınırına, dört buçuk km. mesafede beton ve toprak dolgudan yapılmıştır. Karkamış Baraj’ında ilk kez 2000 yılında balık

üretimine, birkaç kafes ile başlanmıştır. Fakat son zamanlarda balık üretiminde gittikçe büyüyen bir yere sahiptir. Balık üretimine Tarım ve Orman Bakanlığı (TOB)'ın raporuna göre baraj üzerinde 43 tane alabalık üretim tesisi bulunmakta 7.290 ton balık üretimi yapılmaktadır. Bu balık çiftliklerinin 22'si Şanlıurfa iline bağlı Birecik ilçesinde yer almaktadır. Çiftliklerde gökkuşağı alabalığı olan tek tip balık yetiştiriciliği yapılmaktadır (TOB, 2023).

1.1.4. Karkamış Baraj Gölü'nde yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalığı'nın (*Onchorhynchus mykiss*) biyolojisi, morfolojisi ve sistematigi

Çalışmamızda ekonomik değeri yüksek, iç sularda yetiştiriciliğe en uygun ve Karkamış Baraj Gölü'nde de üretimi yapılan balık türü olan gökkuşağı alabalığı tercih edilmiştir.

Türkiye'de kültür balıkçılığında en çok tercih edilen tür gökkuşağı alabalığıdır. Bu tür, bir yıl içinde 200-300 gram ağırlığa ulaşabilir. 14-17°C su sıcaklığı aralığında yaşayabilir. Ortalama 12 yıl kadar yaşayabilmektedirler (Alpbaz, 2005; Lucas vd., 2019). Ağız büyüklüğü, gözün arka ucuna kadar ulaşabilir. Çatallı bir kuyruk yüzgeç yapısı vardır. Dış görünümü derelerde yaşayan alabalıklara benzer. Renkleri yeşil-kahve tonlarında değişir. Yan kısımları daha açık renkte, karın bölgesi parlak beyazlıktadır. Vücudunun çeşitli yerlerinde (baş, kuyruk, sırt, yüzgeçler) siyah birçok benek; yanlarda geniş ve gökkuşağı renginde bir şerit bulunur. Gökkuşağı alabalığı ismini bu şeritten almaktadır (Çelikkale vd., 1999; Sarihan vd., 2005).

Türün ismi 1792 yılında Johann Julius Walbaum tarafından *Onchorhynchus mykiss* olarak verilmiştir. Bu tür Kuzey Amerika'nın Pasifik bölgesinde yaşayan çelikbaş alabalığı (*Salmo gairdneri*) ile Shasta (*Salmo irideus*) balıklarının melezlenmesiyle ortaya çıkmıştır (Alpbaz, 2005). Gökkuşağı alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*) sistematik olarak *Chordata* şubesinin *Actinopterygii* sınıfında yer almaktadır. Gökkuşağı alabalığının sistematigi Çizelge 1.1' de sıralı olarak verilmiştir.

Çizelge 1.1. Gökkuşağı alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*) genel sistematigi

Alem	<i>Animalia</i>
Şube	<i>Chordata</i>

Sınıf	<i>Actinopterygii</i>
Takım	<i>Salmoniformes</i>
Familya	<i>Salmonidae</i>
Cins	<i>Oncorhynchus</i>
Tür	<i>Onchorhynchus mykiss</i>

1.1.5. Balık yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyen hususlar

Son zamanlarda hem sağlıklı hem de ucuz olduğu için su ürünlerine talep giderek artmakta bu durum dünyada su ürünleri yetiştiriciliğine hız kazandırmaktadır. Ülke ekonomisine büyük katkı sağlayan deniz ürünleri ile çiftliklerde üretilen balıkların kaliteli ve sağlıklı olması büyük önem kazanmıştı (Dikel, 2005).

Balık üretiminde karşılaşılan: Uygun kafes tipi seçiminde hatalar, üretim kapasitesinin doğru belirlenemeemesi, yavru bulunmasındaki zorluklar, balık türüne uygun yem formülasyonunun seçilmemesi, yemleme eksiklikleri başlıca sorunlardır. Ayrıca üretim kapasitesine paralel olarak hastalık ihtimalinin artması ve enfeksiyonlarla mücadeledeki yetersizlikler üretimi olumsuz etkileyebilmektedir. Balık yetiştiriciliği yapılan suların tuz içeriğinin ve su sıcaklığının türün yaşayabilmesine uygun olması gerekir. Aksi durumda stresle birlikte hastalık yatkinliklarını artmaktadır (Dikel, 2005).

1.2. Balık Hastalıkları

Balık hastalıklarının nedenleri arasında: virüsler, bakteriler, mantarlar, parazitler, besleme hataları, genetik bozukluklar, olumsuz çevresel koşulları sayılabilir. Bunların çoğu önlenmediğinde işletmelerde büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Dikel, 2005).

İnfeksiyöz balık hastalıkları: bakteriyel, viral, paraziter ve fungal olmak üzere 4 ayrı şekilde incelenmektedir. Başlıca bakteriyel hastalıklar arasında: Yersiniosis, furunkulozis, pedinkul hastalığı, hareketli *Aeromonas* septisemisi vibriosis, kolumnaris hastalığı ve pasteurellosis yer almakta. Başlıca fungal hastalıklar

arasında: Aphanomycosis, ichtyosporidiosis, saprolegniosis ve branchiomycosis yer almakta. Başlıca paraziter hastalıklar arasında: Myxozoan enfestasyonları, beyaz benek hastalığı, solungaç hastalığı yer almakta ve son olarak başlıca viral hastalıklar arasında enfeksiyöz pankreatik nekrozis, viral hemorajik sepsis, enfeksiyöz hematopoetik nekrozis sayılabilir (Yıldırım, 2022)

Balıklarda görülen bakteriyel hastalıklar, yemlerin kötü şartlardaki muhafazası ve kontamine materyal kullanımıyla da ilgili olabilir (Durmaz, 2010). Balıklarda *Aeromonas spp.* başta olmak üzere *Shigella spp.*, *Edwardsiella spp.*, *Streptococcus spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *Mycobacterium spp.*, *Vibrio spp.*, *Listeria spp.* ve *Escherichia coli* türleri hastalık etkenleri olarak sıklıkla izole edilmektedir (Janda ve Abbott, 2010; Yıldırım, 2022).

1.2.1. Balıklarda görülen bakteriyel hastalıklar

1.2.1.1. Vibriosis

Kültür balıkları, akvaryum balıkları ve deniz balıklarında yaygın olarak görülen bir hastalıktır. *Vibrio anguillarum*, *V. ordalii*, *V. alginolyticus*, *V. damsela*, *V. vulnificus*, *V. cholera* balıklarda enfeksiyonlara neden olan *Vibrionaceae* familyası türleridir. Hastalık semptomları arasında iştahsızlık, uyuşukluk, su yüzeyine yakın yüzme, denge bozuklukları ile birlikte normal dışı davranışlar yer alır. Deride koyulaşma, deri yüzeyinde lezyonlar, yüzgeç uçlarında deformasyonlar, ekzoftalmus ve korneada opaklaşma görülebilir (Akaylı vd., 2008).

Tedavide, antibiyotik duyarlılık test sonucuna dayanarak antibiyotikler kullanılabilir. Takviye olarak yemlere C vitamini ilavesi tedaviyi güçlendirir. En etkin koruma yöntemi aşılama değildir. Aşılama 1-4 g arasında balıklarda, banyo yöntemiyle, 15 g' dan büyük balıklarda enjeksiyon yöntemi ile yapılır (TBO, 2022).

1.2.1.2. Bakteriyel Böbrek Hastalığı

Renibacterium salmoninarum, balıklarda tanımlanmış en eski bakteriyel patojenlerden biridir. Gram pozitif yapıda olan bu bakteri, özellikle düşük sıcaklıklarda yaşayan salmonoid türlerinde görülen kronik bir enfeksiyon olan bakteriyel böbrek hastalığına (BKD) neden olur. Hastalık nedeniyle dışardan görülen belirtiler; balıklarda ekzoftalmi (gözlerin dışı doğru çıkması), deri kabarcıkları, ülserasyonlar, yüzgeç tabanlarında ve yanıl çizgi boyunca kanamalar gözlenebilir. İç belirtiler; Böbrek, kalp, dalak ve karaciğerde şişlik, granülom oluşumu, kanamalar ve

organların yalancı zarla kaplanması yaygındır. Ayrıca karın boşluğunda sıvı birikimi (asit) meydana gelebilir (Sakai vd., 1992).

Tedavisi zor bir bakteriyel hastalıktır. Bakterinin antibiyotiklere dirençli olması durumu zorlaştırır da tedavi için antibiyotik kullanımı tavsiye edilmektedir (Sakai vd., 1992).

1.2.1.3. Kolumnaris hastalığı

Hastalığın etkeni *Flavobacterium columnare*'dir. Bu bakteri, ticari öneme sahip kültür balıkları ve yabani tatlı su balıklarında yüksek oranda görülmektedir. Solungaç nekrozu, yüzgeç deformasyonu, deride gri-beyaz lezyonlar, ileri aşamalarda lezyonların ağız çevresi ve baş bölgesine yayılması ve bu bölgelerde kıkırdak dokularında dejenerasyon görülebilir. Tedavide banyo ya da oral yolla antibiyotik kullanımı yaygındır. Uygun doz bakır sülfatla hastalıklı balıklara banyo yaptırılması tedavide kullanılabilir (Declercq vd., 2013).

1.2.1.4. Yersiniosis

Hastalık etkeni *Yersinia ruckeri* bakterisidir. Ciddi semptomları vardır. Durgunluk, iştahsızlık görülür. Hastalığın en belirgin özeliği ağız içinde ve etrafında kanama odaklarının görülmesidir (Altınok vd., 2016).

Tedavisi için antibiyogram test sonuçlarına göre, oral yolla antibiyotik kullanımı tavsiye edilmektedir (Altınok vd., 2016).

1.2.1.5. Aeromonas'lar ve oluşturdıkları hastalıklar

Aeromonas kelime anlamı olarak Yunanca hava anşamına gelen “Aer” ile birim anlamına gelen “Mona” kelimelerinden türetilmiştir. Zimmermann 1890' da *Aeromonas*'ları ilk kez musluk suyundan izole edilmiş ve *Bacillus punctatus* olarak isimlendirilmiştir. *Aeromonas*'lar, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin 8. ve 9. baskılarında *Vibrionaceae* familyasına eklenmiştir. Daha sonraki çalışmalarda yapılan genetik incelemelerde *Vibrionaceae* familyasından farklı olduğu belirlenmiş ve *Aeromonadaceae* olarak yeniden isimlendirilmiştir (Farmer vd., 2006; Özdemir ve Arslan, 2021).

Aeromonas türleri, gram negatif ve basil görünümlü bakterilerdir. Bir kısmı, hafif kavisli olabilir. Kutupsal flagellaları vardır. Oksidaz pozitif, fakültatif

anaerobik özellik gösterirler. Doğada en çok sular ve sucul ortamlarda bulunurlar (Carter, 1990). *Aeromonas*’lar insan enteropatojenleridir. Bu bakteriler hayvansal ürünler, sebze ve meyvelerden izole edilebilirler (Wadström ve Ljungh, 1991; Levin, 2014). Gıdaların tuzluluğu, sıcaklığı ve pH’ı bu etkenlerin bulunabilirliği açısından etkilidir (Martin-Carnahan ve Joseph, 2005). Et, et ürünleri ve pişmemiş balık gibi gıdalarda koruyucu olarak belirli konsantrasyonlarda tuz kullanılmaktadır. Ancak bu bakteriler %3 tuz konsantrasyonların da bile üreyebilmektedirler (Ray, 2004; Fernandez-Bravo ve Figueras, 2020). Bazı *Aeromonas* türleri, 4°C sıcaklıkta muhafaza edilen hayvansal ürünlerde çoğalabilir ve böylece gıdaların bozulmasına sebebiyet vererek gıda kökenli enfeksiyonlara yol açabilirler (Ray, 2004; Janda ve Abbott, 2010).

Aeromonas cinsi bakterileri temelde iki grupta yer almaktadır: Psikrofil (*Aeromonas salmonicida* ve alt türleri *Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida*, *Aeromonas salmonicida subsp. maoucida*, *Aeromonas salmonicida subsp. achromogenes*, *Aeromonas salmonicida subsp. simitha*) ve mezofil (*Aeromonas sobria*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*)’dir. *Aeromonas* türler arasında *Aeromonas salmonicida* grubu hareketsizdirler. İnsanlar için patojen değildirler fakat balıklarda ciddi hastalık etkeni gösterdiği için balık çiftliklerinde ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Hareketsiz *Aeromonas*’ların en iyi üreme gösterdikleri sıcaklık 22-25°C’dir. Fakat 37°C’de üreyemezler. Mezofil *Aeromonas*’lar ise hareketlidir. Bu bakteriler 35-37 °C’de sıcaklıkta gelişim gösterebilirler (Martin-Carnahan ve Joseph 2005; Farmer vd., 2006). Bunların insanlarda oluşturduğu başlıca iki hastalık tipi vardır. Kolera şeklinde olanda hafif ateş bulunur. Dizanteri şeklinde olanda ise kanlı, mukuslu bir ishal görülür (Kirov, 2004; Farmer vd., 2006; Özdemir ve Arslan, 2021). Tayland’ da yakın zamanda yaşanan tsunami felaketinde mağdurları ile yapılan çalışmada, 305 tsunami mağdurunun deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının nedeni büyük oranda *Aeromonas*’lardan kaynaklı olduğu belirlenmiştir (Janda ve Abbott, 2010).

Hareketli *Aeromonas* türlerinin balıklar arası bulaşma yolları su ve temas yoluyla olduklarından, çiftlik balıklarında enfeksiyonların yayılımı riskini daha fazla artırmaktadır. Bu durum balıkçılık ve su ürünleri yetiştiriciliği sektöründe önemli ekonomik kayıplar neden olmaktadır (İşleyici ve Sancak, 2009; Fernandez-Bravo ve Figueras, 2020). *Aeromonas* türleri arasında yer alan *A. hydrophila*, *A. sobria* ve *A. caviae* önemli balık patojenleri olarak kabul edilmekte olup, “Hareketli *Aeromonas* septisemisi” olarak bilinen hemorajik septisemiye neden olurlar. Enfekte olmuş balıkların yüzgeç diplerinde, karın altında, ağız bölgesinde, alt çenede, anüs etrafında

kızarıklık ve hemorajik alanlar görülür. Vücutta çeşitli derinlikte ülseratif lezyonlar ortaya çıkabilir. Yüksek ölüm oranları ile sonuçlanan çeşitli enfeksiyonlara yol açarlar (Camus vd., 1998; Şık, 2020). Bu enfeksiyonların yeterli bakım ve tedavisi yapılmadığında balıkçılık ve su ürünleri yetiştiriciliği sektöründe önemli kayıplar yaşanabilmektedir (İşleyici ve Sancak, 2009; Fernandez-Bravo ve Figueras, 2020; Janda ve Abbont, 2010).

1.2.1.6. Hareketli *Aeromonas* enfeksiyonları

Hareketli *Aeromonas*'lardan *A. hydrophila* primer patojen olarak kabul edilirken, diğer *Aeromonas* türler ise fırsatçı patojen olarak kabul edilmektedir (Timur ve Timur, 2003; Gong vd., 2015).

Sitotoksik (β -hemolisin) ve sitotonik enterotoksinleri sebebiyle *A. hydrophila* yüksek seviyede toksik özellik gösterebilir. Bu tip 2 salgı sisteminden üretilen toksin, bağırsaklardan kana geçerek hücre ölümlerine neden olmaktadır. Bu tür hücre ölümleri sonucunda doku yıkımı gerçekleşmektedir (Albert vd., 2000) ve doku kayıplarına neden olabilmektedir. Bu virulent özellikleriyle *A. hydrophila*, hareketli *Aeromonas* septisemisi (MAS) hastalığına ve salgınlara neden olabilir (Abdelhamed vd., 2019). Bu hastalık sonucunda balıklarda: deri ülseri, hemorajik septisemi, nekrozlar, ekzoftalmus, yüzgeç ile kuyruk çürüklüğü görülebilir (Zhang vd., 2014; Baldissera vd., 2019). Çoğu hastalıkta olduğu gibi bu enfeksiyonların ortaya çıkışı da balıkların yetiştirme şartlarının kötüleşmesi ile doğrudan ilgilidir. Su sıcaklığının, karbondioksit düzeyinin ve organik maddelerin artmasına paralel olarak oksijenin düşmesi; stresi arttırmakta ve sonuçta bu hastalığa yakalnama riskini artırmaktadır (Walters ve Plumb, 1980; Post, 1987; Çerçi, 2011; Şahin vd., 2018). Bu hastalığın tedavisinde antibiyotikler kullanılmaktadır (Filik ve Kubilay, 2020).

1.2.1.7. Furunkulozis

Hastalığın etkeni *Aeromonas*'lara ait *A. salmonicida* türüdür. Balıklarda sık görülen bu hastalık büyük kayıplara neden olabilmektedir. Balıklarda hastalık inkübasyon süresi alınan bakteri miktarı ve çevre koşullarına bağlı olarak değişebilir. Hastalık klinik olarak akut (ani ölüm, deri ve yüzgeçlerde kanamalı lezyonlar), subakut ve kronik (kanlı lezyonları, ülserler) seyirler gösterebildiği gibi asemptomatik (portör) seyir de gösterebilir (Akşit ve Kum, 2008).

Gençlerde akut form yaygınlık gösterirken, genel olarak belirti göstermeden balık ölümleri izlenmektedir. Bazen vücudun yan tarafında ve yüzgeç diplerinde

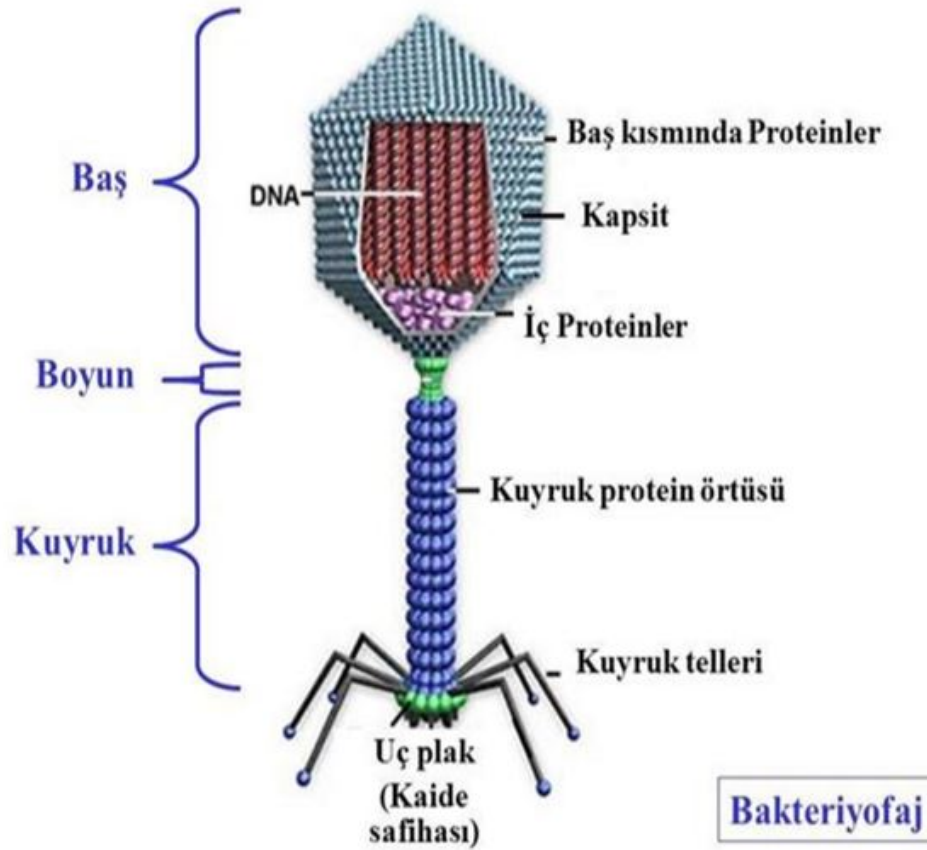
kanama bölgeleri görülebilir. Hastalık semptomları genellikle subakut ve kronik formlarda izlenir. Kan lezyonların (furunküllerin) görülmesi tanıyı kolaylaştırır. Kaslarda, vücut yüzeyinde ve derialtı dokularda çok sayıda küçük kanlı çıban lezyonu meydana gelebilir. Bunlar 2-15 mm değişen çaplarda kenarları yüksek lezyonlardır. Balıklarda genel hastalık semptomları olan durgunluk, iştahsızlık ve yüzmede yavaşlama görülebilir. Renk koyulaşması ve ekzoftalmus ise hasatalığın ileri vakkalarda görülebilir (Küçüker, 2018). Hastalığın tedavisinde, enfekte balıklar izole edilir ve balık bakım şartları iyileştirilerek yoğun bakım uygulanır. Tedavide çeşitli antibiyotikler ve sülfonamidler kullanılabilir. Antiseptikli ajanlarla banyolar faydalı olabilir (Küçüker, 2018).

1.3. Bakteriyofajlar

Bakteriyofaj antik Yunanca'da "bakteri yiyen" anlamına gelmektedir. Bakteriyofajların keşifleri, bin yıldan daha eski bir sürece dayanmaktadır. Bir İngiliz bakteriyolog olan Ernest Hanbury Hankin 1896 yılında, Hindistan'ın Yamuna ve Ganj nehirlerinde bir varlığın Kolera'ya sebep olan bakteriyi olumsuz yönde etkilediğini keşfetmiştir. Yapılan araştırmada nehir suları içindeki varlığın filtrelerden geçibildiğini ve filtreden geçerken bile özelliğini kaybetmediğini gözlemlemiştir (Hankin, 1896). Felix d'Herelle isimli bilim insanı 1917 yıllarında yaptığı araştırmada, bakterisiz kanalizasyon sularının filtratlarının, dizanteri bakterisinin öldüren bir ajan olduğunu ve bu ajanı "görünmeyen bir dizanteri mikrobunun antagonistiği " olarak rapor etmiştir (d'Herelle, 1917).

Bakteriyofajlar canlı konak dışında yaşam belirtisi göstermemekte fakat canlı bakteri içinde canlılık özelliği göstermekte ve çoğalmaktadır (Kılıç, 2008). Bakteriyofajlar su, toprak, hava, okyanus dibinde, çölde, termal gölde, bağırsak sistemi gibi geniş bir alana yayılabildiklerinden biyosferde en çok bulunan biyolojik varlıklar olduğu düşünülmektedir (Mc Grath, 2007).

Genel olarak bakteriyofajlar baş ve kuyruğu birbirine bağlayan bir boyundan oluşur. Baş kısmı protein yapılı olup içinde DNA ya da RNA bulunmaktadır. Kuyruk kısmı konakçı olan bakteriye tutunmasını sağlayarak, genetik materyalin içeri girmesine yardımcı olur (Ergüllü, 1982). Şekil.1.3 'te bakteriyofajın genel görüntüsü yer almaktadır.



Şekil 1.3. Bakteriyofajların genel yapısı (<https://turanturan.com.tr/bakteriyofaj>)

Fajlar, canlı bakteri hücresi içinde çoğalmakta ve bakteri hücresinden ayrıldıkları ise metabolizma faaliyetlerini sürdüremediklerinden hücre dışınd kristal bir yapıya dönüşmekte (Kılıç, 2008).

Her bakteriyofajın etkilediği bakteri farklıdır “konak bakteri” adı verilir. Dünyada çok fazla bakteriyofajların olduğunu ve bu fajların her 48 saatte bakterilerin yaklaşık yarısını yok ettiği düşünülmektedir (Baş, 2020).

1.3.1. Bakteriyofajların üreme döngüsü

Bakteriyofajların hayat döngüleri litik, lizogenik ya da her ikisi de olabilir. Litik hayatsal döngüsü adsorpsiyon, penetrasyon, latent dönem ve fajların serbest kalması ile dört aşamada gerçekleşir.

Adsorpsiyon: Bu dönem fajların bakteriye bağlanma evresidir. Kuyuksuz fajlar bakteriye yüzeyi ile bağlanırken, kuyruklu fajlar bakteriye kuyruk kısımları ile bağlanır. Bakteri yüzeyinde bulunan pilus, teikoik asit, flagella, lipoprotein, protein ve lipopolisakkarit molekülleri bakteriyofaj adsorpsiyon yerleri olarak bilinmektedir

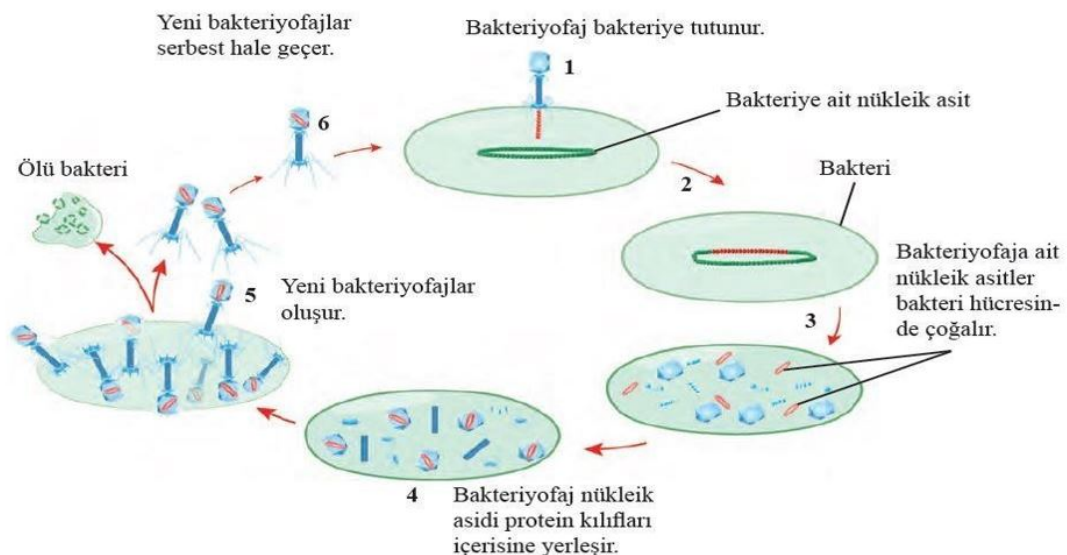
(Arda, 2011; Baş, 2020).

Penetrasyon: Adsorpsiyon döneminden sonra fajların genetik materyali bakteri içine aktarıldığı dönem penetrasyon dönemidir. Penetrasyon döneminde genetik materyalin aktarıldığı bölgelerde delikler oluşur. Bu delikler daha sonra bakteri tarafından onarılır. Bu bölgeler onarılmayacak olursa bakteri genetiği dışarı çıkar ve faj üremesi gerçekleşmez (Arda, 2011; Baş, 2020)

Latent Dönem: Fajların genetiği bakteri içine girmesi ile latent dönem başlar. Bu dönemde fajın yapı taşları ve proteinler sentezlenir. Yani fajın genetik replikasyonu gerçekleşir daha sonra sentezlenen bu yapılar bir araya gelerek birleşir ve olgun faj partikülleri oluşturur (Arda, 2011; Baş, 2020).

Fajların serbest kalması: Bakteri içerisinde çok sayıda üreyen fajlar bakteriyi parçalayarak dışarı çıkar yani bakter lizis olur. Bakteriyi lizis etmeyen fajlar latent dönemden sonra bakteriyeye zarar vermeden hücre duvarından çıkar (Arda, 2011; Baş, 2020).

Serbest kalan fajlar hayat döngülerini devam ettirebilmek için yeni bakteri konağına ihtiyaç duyar. Bakteriyofajlara ait litik hayat döngüsü şekil.1.4. gösterilmektedir



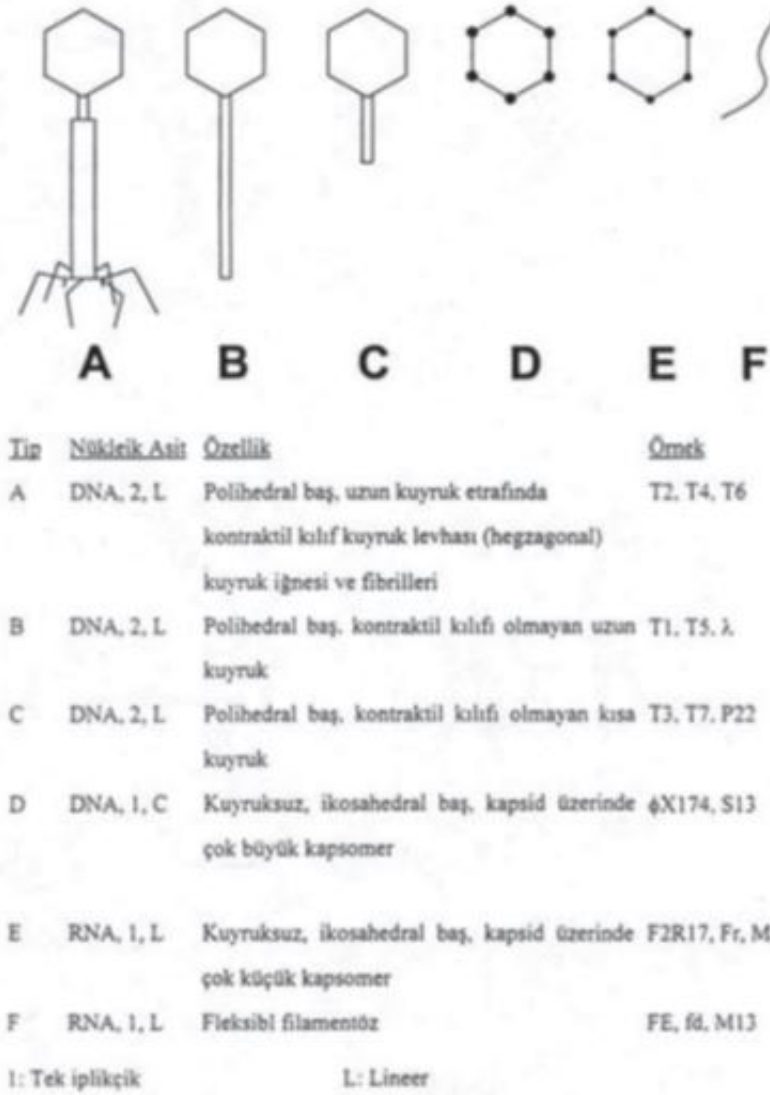
Şekil 1.4. Bakteriyofajların üreme döngüsü T4 bakteriyofajı temsil etmektedir
(<https://turanturan.com.tr>)

Lizojenik döngü, litik döngüden farklı olarak, konakçı hücreyi parçalamazlar.

Lizojenik hayat döngüsüne sahip fajlar konakçı içine girdikten sonra fajın genomu konakçının genomu ile birleşir. Konakçının genomunun her replikasyonunda fajında genomu çoğalır. Böylece yeni oluşan bakteri hücrelerine fajın genetiğide aktarılmış olur (Arda, 2011). Ilımlı (Temperate) fajlar, laboratuvar çalışmalarında kullanılsalarda, faj tedavisinde kullanımlar daha azdır. Bunun nedeni, ılımlı fajların konakçı bakterilerini öldürmemesi ve bazen bakterinin virülent etkilerini artırmasına neden olan genlere sahip olmasıdır (Aydoğan vd., 2016).

1.3.2. Bakteriyofajların sınıflandırılması

Uzun yıllar araştırma konusu olan fajların sınıflandırılması endüstriyel amaçlı kullanılan fajların belirlenmesinde ve faj araştırma çalışmalarında kolaylık sağlayacağı düşünülmüştür (Soykut vd., 2009). İlk araştırmalarda faj konakçı cinsine göre gruplandırılmış olsa da 1967 yılında fajın ilk sınıflandırılması yapılmıştır. Altı gruba ayrılan bu sınıflandırma morfoloji ve nükleik asitlerine bakılarak sınıflandırılmış (Ackermann, 2006). Bradley morfolojik olarak yaptığı sınıflandırma şekil 1.5’ te gösterilmektedir.



Şekil 1.5. Bradley yaptığı morfoojik sınıflandırma (Soykut ve Tunail; 2008)

Ackermann yaptığı sınıflandırmaya göre fajların %95'ten fazlası *Caudovirales* takımından çift zincirli DNA yapısında olup kuyrukludur. *Caudovirales*ler: *Siphoviridae*, *Myoviridae* ve *Podoviridae* olarak 3 familya ayrılmıştır. *Caudovirales* takımını oluşturan %60'ı uzun kuyruklu *Siphoviridae* familyası, %25'i oluşturan çift katlı ve esnek kuyruklu *Myoviridae* familyası ve %15'i kalın ve kısa kuyruklu *Podoviridae* familyasıdır. Ackermann yaptığı sınıflandırma şekil 1.6. da verilmiştir (Ackermann, 2006).

1.3.3. Fajların uygulama alanları

Faj terapisi, bakteriyel enfeksiyonların tedavisi amacıyla bakteriyofajların kullanılmasıdır. Bakteriyofajlar ilk olarak 20. yüzyılın başlarında bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılmıştır. Fakat antibiyotiğin keşfiyle birlikte

bakteriyofajların antimikrobiyal olarak kullanılması göz ardı edilmiştir. Antibiyotiğin uzun yıllar kullanılması, bakterilerde antibiyotiğe karşı direnç oluşmasına neden olmuştur. Bu durum bakterilere karşı alternatif yol olan bakteriyofajların kullanıldığı “faj terapisi” yönteminin tekrar gündeme gelmesine ve bununla ilgili çalışmaların hızlanmasına yol açmıştır.

1.3.3.1. Kullanım alanları

İnsan Sağlığı: Multidrug-resistant (çoklu ilaç dirençli) bakterilere karşı enfeksiyonların tedavisinde umut verici bir biyolojik ajan olarak kullanılabilir. Özellikle yara enfeksiyonları, cilt enfeksiyonları, akciğer enfeksiyonları ve idrar yolu enfeksiyonlarında uygulama alanına sahiptir (Abedon vd., 2011; Sulakvelidze vd., 2001).

Tarım ve Hayvancılık: Hayvanlardaki bakteriyel hastalıkların kontrolü için kullanılan antibiyotiklerin yerine tercih edilebilirler. Ayrıca bitkilerde hastalığa yol açan bakterilere karşı da kullanımı araştırılmaktadır (O’Flaherty vd., 2009).

Gıda Güvenliği: Gıdalarda kontaminasyonu önlemek için kullanılan fajlar, özellikle Salmonella, Listeria gibi yaygın görülen bakterilere karşı gıdalarda biyolojik koruma sağlar (Sillankorva vd., 2012).

1.3.3.2. Faj terapisinin balıklarda kullanımı ve uygulayan ülkeler

Faj terapisi, balıklarda özellikle Aeromonas, Vibrio, Flavobacterium gibi bakteriyel patojenlere karşı alternatif bir biyolojik kontrol yöntemi olarak kullanılmaktadır. Antibiyotik direncinin artması ve çevresel etkilerin azaltılması, faj terapisinin su ürünleri yetiştiriciliğinde önemini artırmıştır. Fajlar, balıklarda enfeksiyona yol açan bakterileri spesifik olarak hedefleyerek enfekte balıkların tedavisinde başarı sağlamaktadırlar. Faj terapisi, özellikle antibiyotiklerin etkisiz kaldığı durumlarda ya da antibiyotik kullanımının kısıtlandığı ülkelerde tercih edilebilmektedir (Imbeault vd., 2020).

Rusya Federasyonu, faj terapisini en erken ve yaygın olarak kullanan ülkelerden biridir. Sovyetler döneminde bakteriyofajlar balık hastalıklarının kontrolünde yoğun biçimde uygulanmıştır. Polonya, Gürcistan ve Ukrayna, Rusya’dan sonra faj terapi yöntemini kullanan ülkelerdir. Bu ülkelerde faj terapisi, su ürünleri sektöründe rutin bir tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır. Çin ve Hindistanda yoğun olarak su ürünleri yetiştiriciliğinin yapılması, bu ülkelerde

bakteriyofajların kullanımı arttırmaktadır. ABD ve Avrupa'nın bazı ülkelerinde araştırma ve pilot uygulamalar yapılmakla birlikte, ticari uygulamalar henüz sınırlıdır ancak giderek artan bir ilgi mevcuttur (Nakai ve Park, 2002; Jończyk-Matysiak vd., 2019).

1.4. Çalışmanın Amacı

Ülkemizde kültürü yapılan alabalık çiftliklerinde çevre kirliliğine bağlı su kaynaklarının kirlenmesi, iklim değişikliği ile suların ani ısınması gibi durumlar balıklarda *Aeromonas* enfeksiyonlarının sıklığını artırmaktadır. *Aeromonas* enfeksiyonlarının balıkların yoğun ve uzun süreli stoklanması ve suda bulunan organik atıkların fazlalığı balıklarda %87.6'ya varan ölümlere neden olmakta ve balık çiftliklerinde ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Toranzo vd., 1984). Bu tür ekonomik kayıplara neden olan ve zoonoz özellikli patojen bakterilere karşı uzun süre antibiyotikler kullanarak önlenmeye çalışılmıştır. Fakat bu yoğun ve uzun süreli kullanım bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç oluşturmalarına neden olmuştur. Son dönemlerde antibiyotiklerin yerine alternatif bir yol olan bakteriyofaj terapisi yöntemi, yoğun olarak araştırılmaktadır. Aslında 20. yüzyılın ilk zamanlarında tedavi için bakteriyofajların kullanımı düşünülmüştür. Fakat antibiyotiğin keşfiyle birlikte bakteriyofajların antimikrobiyal olarak kullanılması göz ardı edilmiştir. Antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin oluşması, bakterilere karşı alternatif yol olan bakteriyofajların kullanıldığı “faj terapisi” yönteminin tekrar gündeme gelmesini ve bununla ilgili çalışmaların hızlanmasını artırmıştır (Yüksel vd., 2016; Aydoğan ve Hadımlı, 2016; Ergin vd., 2017).

Bu çalışmada, Karkamış Baraj Gölü'ndeki alabalık işletmelerinde hastalık etkeni olarak görülen *Aeromonas* türlerinin varlığı ve bu türlere karşı litik bakteriyofajların bulunup bulunmadığının araştırması amaçlanmıştır. Karkamış Baraj Gölü bölgesinde bu konuya yönelik çalışmaların sınırlı olması, bölgede faaliyet gösteren işletmelerde balık kayıplarının yaşanması ve antibiyotik tedavilerinin istenilen başarıyı sağlayamaması, çalışmanın yapılmasında önemli etkenler olmuştur.

Araştırmada, bölgenin iklim koşulları dikkate alınarak, yüksek sıcaklık toleransına sahip *Aeromonas* bakterilerinin tespiti hedeflendi ve bu bakterilere karşı etkili litik bakteriyofajların varlığı araştırıldı.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Mkakosya 1999'da yaptığı çalışmada hayvansal ve çevresel kaynaklar kullanılarak "hareketli *Aeromonas* ve *Aeromonas*'lara karşı litik bakteriyofajlarının izolasyonu" konulu doktora tez çalışmasında toplam 70 bağırsak içeriği, 20'si su numunesi olmak üzere 90 adet materyalin 15'inden hareketli *Aeromonas* türü izole edilmiş ve bu izolatların 5 *A. hydrophila*, 4 *A. schubertii*, 3 *A. jandaei*, 2 *A. sobria* ve 1 *A. caviae* olarak belirlenmiştir. En yüksek izolasyon oranına sahip atık sularda en düşük bağırsak içinde yapılmıştır. İzole edilen bakteriyofajlardan ise en geniş litik spektrum, sığır bağırsak içeriğinden elde edilen *A. hydrophila* bakteriyofajında gözlenmiştir. En düşük litik spektrum ise tavuk bağırsağı içeriğinden izole edilen *A. sobria* bakteriyofajında gözlenmiştir.

Düğenci ve Candan 2003'da yaptığı çalışmada karadeniz ve tatlı sularda sağlıklı olarak elde edilen *Salmo salar* türü balıkların bağırsaklarında bulunan *Aeromonas* cinsi bakterilerin izolasyonu araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda tatlı su balıklarından 6, deniz balıklarından 2 hareketli *Aeromonas* suşu izole etmiştir.

Aydoğan ve Metin 2010'da yaptığı çalışmada *A. salmonicida* ile enfekte gökkuşağı alabalıklarında patolojik bulguları olan 50 adet deney, 15 adet kontrol grubu olacak şekilde 65 adet gökkuşağı alabalığı kullanılmış. Deney grubu iki eşit gruba ayırıp farklı yöntemler deneyerek incelemiştir. Sonuç olarak her iki grupta da hastalığın kronik formu gözlenmiştir.

Körkoca vd., 2006'da yaptığı çalışmada içme sularından, hayvanlardan ve insanlardan izole edilen hareketli *Aeromonas* bakterilerinin DNA profillerinin karşılaştırılması yapılmıştır. Sonuç olarak insanlar ve hayvanlardan izole edilen *Aeromonas* bakterilerinde, baskın bir klon tespit edememiştir.

Doğançay 2006'da yaptığı çalışmada Ankara'da satışı yapılan bazı örnek balıklardan *Vibrio* ve *Aeromonas* cinsi bakterilerin izolasyonu çalışmasında incelenen balıkların; 46 deniz balığı örneğinin 44'ünden *Vibrio* türleri 45'inden *Aeromonas* türleri izole edilmiştir. Satışı yapılan tatlı su balıklarından ise 10 tatlı su balığının 3'ünden hareketli *Aeromonas* türleri izole etmiştir.

Mutlu 2015'de yaptığı çalışmada, *Listeria monocytogenes*'e özgü faj izolasyonu ve fajın genotipik karakterizasyonu çalışmasında çevresel kaynaklı 50 örnekten litik ve lizojenik faj izolasyonu gerçekleştirmiş. Bu çalışmada toplam

örnekten 12 faj izole edilmiştir. Bu fajların 1 lizojenik faj olduğu belirlenirken, diğer 11 fajın litik faj olduğu belirlenmiştir.

Kumar vd., 2016'da yaptığı çalışmada, Deneysel *Aeromonas hydrophila* Enfeksiyonunun Patolojik Bulguları Golden Mahseer (*Tor putitora*) çalışmalarında, Golden Mahseer için *A. hydrophila*'nın LD50 değeri başarılı bir şekilde standardize edilmiştir. Yavaş hareket etme, yüzeye yakın yüzme, yüzgeç kanamaları ve bağırsak bölgesinde kırmızı lekeler gibi klinik belirtiler gözlenmiştir. Enfekte balıklarda hemorajik septisemi belirtileri ile birlikte dalak büyümesi ve doku nekrozu da görülmüştür. Karaciğer dokusunun histolojik kesitinde hepatositlerin nekrozu gözlenmiştir.

Khorshidtalab 2016'da yaptığı çalışmada, atık sulardan litik bakteriyofaj izolasyonu ve karakterizasyonu çalışmasında toplam 14 faj ve bu 14 faja ait konakçıları izole etmişlerdir. Bu bakterilerin *Moraxellaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae* ve *Alcaligenaceae* familyalarına ait oldukları tespit edilmiştir. Bu bakterilerin fajları Bradley Sınıflandırmasına göre sınıflandırılmış ve *Myoviridae*, *Sphoviridae* ve *Podoviridae* familyasına ait oldukları tespit edilmiştir.

Başkaya 2017'de yaptığı çalışmada, Adana 'da tüketime sunulan bazı balıkların *A. hydrophila* varlığının araştırılması çalışmasında *A. hydrophila* tespit edilen balık türlerinin Çipura balığı olduğu tespit edilmiştir. Gökkuşluğu alabalığında ise aerobik mezofilik bakterileri, *E.coli*, koliform bakterileri ve psikrotrof bakteriler tespit edilmiştir.

Karaçoban 2017'de yaptığı çalışmada balık patojenlerine karşı bakteriyofajların araştırılması sonucunda farklı yerlerden alınan su örneklerinin balık patojenlerine karşı faj izole edilmesi çalışmasında üç farklı ticari kuluçkahaneden alınan su örneklerinden ise balık patojenlerine karşı faj izole edilememiştir. Fakat diğer su örneklerinden çeşitli patojenlere karşı faj izole edilmiştir. İzole edilen fajlar zenginleştirilerek çoğaltılmış daha sonra geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ile görüntülenmiştir.

Balta 2020'de yaptığı çalışmada Fırtına deresindeki yetiştiriciliği yapılan gökkuşluğu alabalık işletmelerinden alınan örneklerden izole edilen *Aeromonas* türlerinin antimikrobiyel hassasiyetinin belirlenmesi çalışmasında, işletmelerden hastalık belirtisi gösteren balıklarda *Aeromonas* türleri izole edilmiş ve izolasyon sonrası *Aeromonas* olduğu tespit edilen izolatlar disk difüzyonu yöntemi ile

antibiyotiklere karşı duyarlılıklarına bakılmış. Sonuç olarak ampicillin ve amoxicillin %100 sulfametoksazola %79.31, oksitetrasikline % 62.07 yüksek dirençli, oldukları antibiyotikler olduğu tespit edilmiştir. Eritromisin %51.72, trimetoprim/sulfametoksazol %48.27, oksolinik asid %37.93, florfenikole %17.24 daha düşük dirençli olduklarından ve kinolon olan enrofloksasine %10.34 çok daha düşük dirence sahip oldukları belirlenmiştir. Oksitetrasikline dirençli 20 bakterilerin 7'sinde tetA varlığı tespit edilmiştir. 16 izolatın ise sınıf 2 integron ve Sekiz izolatın sınıf 1 integron gen yapılarına sahip olduğu tespit edilmiştir.

Akmal vd., 2020'de yaptığı çalışmada, çalışmalarında Güney Kore'nin Geoje Adası'nda ki sulara *Aeromonas*'lara karşı bakteriyofajın araştırılmasında; Geoje Adası'ndaki sulara Akh-2. bakteriyofajın varlığı tespit edilmiş ve fajı geçirimli elektron mikroskopu analizi sonucu Siphoviridae ailesine ait olduğu belirlenmiştir. Akh2'nin bakteriyofajın balıklarda *Aeromonas*'ların neden olduğu hastalıklara karşı tedavisi için potansiyel bir biyolojik ajan olabileceği belirlenmiştir.

Bağcı vd., 2021'de yaptığı çalışmada metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* bakterisini etkileyen bakteriyofajın karakterizasyonu çalışmasında elde edilen faj; kuyruk kısmındaki proteinlerini kodlayan genlerin varlığı *Caudovirales*'e, genomlarının dizilim şekli ve büyüklüğüne bakılarak da *Podoviridae* sınıfına dahil edilmiştir.

Özdemir ve Arslan 2021'de yaptığı çalışmada balıklardan elde edilen hareketli *Aeromonas* türlerinin izolasyonu ve izole edilen bakterilerin bazı ekstrasellüler enzimlerinin varlığının belirlenmesi çalışmasında, örneklerinden izole edilen hareketli *Aeromonas*'larda ekstrasellüler enzim kodlayan genlerin en az birinin varlığı tespit edilmiştir.

Ture vd., 2022'de yaptıkları çalışmada; *A. veronii*, *A. salmonicida*, *Aeromonas sp.*, ve *A. media*'ya karşı AP-T65, AP-T5, AP-Y28 ve AP-AT fajlarının litik özellik gösterdikleri belirlenmiş. Bu fajlardan oluşan bir kokteylin *Aeromonas*'ların neden olacağı hastalıklara karşı uygulanabileceği tespit edilmiştir.

Li vd., 2023'de yaptığı çalışmada Gibel sazanlarında (*Carassius auratus gibelio*) *A. veronii* enfeksiyonunun önlenmesinde faj kokteylinin etkilerinin değerlendirilmesi araştırılmıştır. Çalışmada, gibel sazanlarında *A. veronii* 1810 enfeksiyonuyla mücadele etmek için alternatif bir strateji olarak bir faj kokteyli kullanılmıştır. 60 günlük yetiştirme süresi boyunca, sonuçlar faj kokteyli içeren yem

ile beslemenin gibeli sazanlarının büyüme performansını ile sindirim enzimi aktivitelerini etkilemediğini ortaya koymuştur. Mücadele aşamasındaki 12 günlük gözlemin sonunda, gibeli sazanlarının hayatta kalma oranı faj kokteyli tedavisi için %80 olarak hesaplanmıştır.

Ötkün vd., 2023’de yaptıkları çalışmada sığır çiftliklerindeki çevresel örneklerden *B. abortus*’a karşı litik faj izolasyonları gerçekleştirmişler ve bu fajların litik aktivitelerini Brusella standart suşları ile saha izolatlarıyla araştırmışlardır. Sonuçta, 3 farklı *B. abortus* spesifik faj izolasyonunu bildirmişlerdir.

Ekici vd., 2023’de yaptıkları çalışmada sağlıklı buzağılardan alınan dışkı örneklerinden elde edilen bakteriyofajların kinolon direnç geninin sıklığının belirlenmesi araştırılmıştır. Şanlıurfa ilinde yapılan araştırmada daha önce antibiyotik kullanılmayan sağlıklı buzağılardan toplam 50 dışkı örneği alınmıştır. Herhangi bir antibiyotik tedavisi uygulanmamasına rağmen, 11 buzağıdan izole edilen fajların DNA parçalarına bakıldığında qnrB gen en çok tespit edilen gen olmuştur.

Bestil vd., 2023’de bakteriyofajın *Pseudomonas aeruginosa* üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında UHT süt kullanmışlar, kurdukları deneysel tasarımda sütleri konakçı ile kontamine ettikten sonra spesifik fajla sütleri muamele etmişlerdir. Sonuç olarak fajların *P. aeruginosa*’nın konataminasyonunda faydalı olabileceği belirlenmiştir.

Adah vd., 2024’de yaptıkları çalışmada, balıklardan (*Clarias gariepinus*) toplam 230 *Aeromonas* bakterisi izole etmişler ve bunları *Aeromonas enteropelogenes*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii*, *Aeromonas caviae* ve *Aeromonas dhakensis* olmak üzere beş tür olarak tanımlamışlar ve genetik olarak karakterize etmişlerdir. Tespit edilen türlerin antibiyotik dirençlerine bakıldığında ise çoklu antibiyotik direnç indeks değerlerinin 0.20 ile 0.80 arasında değişkenlik gösterdiğini belirlenmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Çalışma sahası

Karkamış Baraj Gölü, Şanlıurfa iline bağlı Birecik ilçesinin güneyinde yer almaktadır. Şanlıurfa ve Gaziantep sınırında yer alan göl Şanlıurfa'ya 86.7 km uzaklıktadır. Bu çalışma, Şanlıurfa iline bağlı alabalık çiftlikleri içerisinde, yüksek miktarda üretim kapasitesine sahip olan 4'ü seçilerek yürütüldü. A1, A2, A3, A4 olarak kodlanan çiftliklerden 4 farklı dönemde örnekler toplandı.

3.1.2. İnceleme örnekleri

Karkamış Baraj Gölü'nde üretim faaliyeti gerçekleştiren ve çalışma sahası olarak seçilen 4 adet balık çiftliğinden elde edilen toplam 96 adet ölü balık inceleme örneği olarak kullanıldı. Hastalık semptomlu balık örnekleri, farklı tarihlerde 4 işletme ziyareti yapılarak toplandı (Çizelge 3.1.). Her ziyarette alınan balık örnekleri, ivedilikle ve soğuk zincir şartları altında Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Su Ürünleri ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı Laboratuvarına getirildi.

Bakteriyofaj izolasyonu için her ziyarette işletmelerden yaklaşık 1 lt su ve yaklaşık 1 kg. bentos örneği toplanarak analizlerde kullanıldı.

Çizelge 3.1. Çalışma alanı işletmeler, ziyaret tarihleri ve toplanan balık sayıları

İstasyon Kodu	İstasyonlardan Alınan Balık Sayısı ve Çiftlik Ziyaret Tarihleri				Toplam
	29.03.2023	12.05.2023	26.07.2024	07.09.2024	
A1	6	8	2	6	22
A2	6	7	9	5	27
A3	3	5	12	6	26
A4	7	5	4	5	21

3.1.3. Besiyerleri ve solüsyonlar

Tryptic Soy Agar (TSA) (Oxoid, İngiltere), Tryptic Soy Broth (TSB) (Oxoid, İngiltere), O/F besiyeri (Sigma, USA), MacConkey agar (Merck, Almanya),

Ampisilinli kanlı agar (Sigma, 70133), %15 gliserinli TSB (Oxoid, İngiltere), %0,4 agar agar içerecek şekilde hazırlanan (Merck, Almanya) Luria Bertani broth (LB) (Merck, Almanya) yarı katı agar, Luria Bertani broth (LB) (Merck, Almanya) agarı ile Saline magnesium buffer (SM) çalışmalarda farklı amaçlar için hazırlanarak kullanıldı.

3.1.3.1. Tryptic soy agar (TSA)

TSA besiyeri, bakterilerin izolasyonunda genel besiyeri olarak kullanıldı. Dehidre besiyeri kullanım talimatına uygun olarak 40 g/l olacak şekilde distile su ile hazırlandı. Karışım, besiyeri eriyene kadar ısıtarak karıştırıldı. Daha sonra 121°C’de 15 dakika otoklavda (Biobase BKQ-B50 II) steril edildi. Karışım 45-50 °C’ye soğutulduktan sonra biyogüvenlik kabinin içinde, 90 mm steril petri kaplarına yaklaşık 25 ml olacak şekilde eşit miktarlarda dağıtıldı. Kullanılana kadar 4°C sıcaklıkta saklandı.

3.1.3.2. Tryptic soy broth (TSB)

Tryptic soy broth besiyeri fajların ön zenginleştirilmesinde ve genel besiyeri olarak kullanıldı. Besiyeri, kullanım talimatına uygun olarak 40 g/l distile suda eritildi. Karışım otoklavda 121°C’da 15 dakika sterilize edildi. Daha sonra 45-50°C’ye kadar soğuyan besiyeri biyogüvenlik kabinin içinde 50 ml’lik steril falkon tüplere (İsolab, Almanya) 40 ml olarak eşit miktarlarda dağıtıldı. Kullanılana kadar 4°C sıcaklıkta saklandı.

3.1.3.3. Oksidasyon-Fermantasyon (O/F) besiyerleri

Mikroorganizmanın sahip olduğu oksidatif ya da fermentatif tip metabolizmanın tespiti için kullanıldı. Dehidre besiyerinden (Hugh Leifson besiyeri) (Sigma, USA), 19.4 gram tartılarak 1lt distile su içinde süspanse edildi. Isı yardımıyla toz besiyeri tamamen çözdürüldükten sonra, aerobik ve anaerobik fermantasyonlar için steril tüplere 10 ml olarak taksim edildi. Tüpler Otoklavda 121 °C, 15 dakika süreyle steril edildikten sonra besiyerleri dik bir şekilde soğutuldu ve kullanılana kadar 4°C sıcaklıkta saklandı.

3.1.3.4. MacConkey agar

Aeromonas’ların tanısında kullanıldı. MacConkey agar (Merck, Almanya) kullanım talimatına uygun şekilde 50g/l distile su ile hazırlandı. Su içinde dehidre besiyeri ısıtılarak eritildikten ve homojenize hale getirildikten sonra otoklavda

121°C’de 15 dakika steril edildi. Daha sonra 45-50°C ye kadar soğutuldu. Berrak ve kırmızı-kahve renkte olan besiyeri biyogüvenlik kabini içinde yaklaşık 25 ml olacak şekilde eşit miktarda petri kaplarına dağıtıldı. Kullanılana kadar 4°C sıcaklıkta saklandı.

3.1.3.5. Ampisilinli kanlı agar

Ampisilinli kanlı agar, *Aeromonas* suşlarını diğer bakterilerden ayırmak için kullanıldı. Kanlı agar base besiyerinden 40 g/l distile su içinde homojen oluncaya kadar karıştırıldı. Homojen olan karışım ph 7.4’de ayarlanarak otoklavda steril edildi. 45-50°C’ye soğutulan karışıma 10 mg ampisilin (AMP-10 µg) ve %5 defibrine koyun kanı eklendi. Elde edilen agar, steril petri kaplarına yaklaşık 25 ml olacak şekilde eşit olarak dağıtıldı. Kullanılana kadar 4°C sıcaklıkta saklandı.

3.1.3.6. %15 Gliserinli tryptic soy broth

İzolatların saklanması için kullanıldı. Tryptic soy broth, 40 g/l olacak şekilde hazırlandı ve 150 ml gliserin ilave edilerek homojenize edilerek eritildi. Karışım otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edildi. Daha sonra 45-50°C’ye kadar soğuyan besiyeri biyogüvenlik kabinin içinde 2 ml olacak şekilde steril kroviyal tüplere eşit miktarlarda dağıtıldı. Kullanılana kadar 4°C sıcaklıkta saklandı.

3.1.3.7. Luria Bertani (LB) yarı katı agar

Bu besiyeri faj testlerinde, fajların plak sayımlarında yarı katı besiyeri olarak hazırlanarak kullanıldı. Luria Bertani Broth, bu yarı katı agarı hazırlamak için temel besiyeri olarak seçildi. Ticari olarak temin edilen temel besiyeri kullanım talimatında belirtildiği üzere 25 g/l distile suda eritildi. Üzerine agar agar besiyerinden son konsantrasyon %0.4 olacak şekilde agar ilave edildi. İçerisine litreye 50 µl olacak şekilde 1molar kalsiyum klorid (CaCl₂) eklendi. Besiyeri 121°C’de 15 dakika süre otoklavda steril edildi. Otoklav sonrası besiyeri 50 ml’lik steril falkon tüplere (Isolab, Almanya) taksim edildi ve falkon tüpler kullanım zamanına kadar 4°C sıcaklıkta saklandı.

3.1.3.8. Luria Bertani (LB) agar

Bakteriyofaj çalışmalarında, spot test ve çift tabaka agar testlerinde kullanıldı. Ticari olarak temin edilen LB Broth, kullanım talimatında belirtildiği üzere 25 g/l distile suda eritildi. Üzerine Agar agar besiyerinden son konsantrasyon %1.5 olacak şekilde agar ilave edildi. Besiyeri 121°C’de 15 dakika süre otoklavda steril

edildi. Otoklav sonrası besiyeri 90 mm steril petrilere (Isolab, Almanya) yaklaşık 25 ml olarak döküldü. Kullanım zamanına kadar 4°C sıcaklıkta saklandı.

3.1.3.9. Saline magnesium buffer (SM buffer)

Fajların dilüsyonu ve saklanması amacıyla kullanıldı. 1 M Trishidroklorürden (pH 7.5) den 50 ml alındı. NaCl den 5.8 g ve Magnezyum sülfattan 2 g alınarak karıştırıldı. Karışım distile suyla 1 litreye tamamlanarak çözündürüldü ve ardından 15 dk süre, 121°C sıcaklıkta otoklavlanarak steril edildi. Kullanılana kadar 4°C sıcaklıkta saklandı.

3.1.4. Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) analizi için jel ve solüsyonlar

Bir protein karışımını çözmeye yarayan bu yöntem, yüklü protein parçacıklarının boyutlarına göre bir çözücü içinde taşınarak bantlar elde edilen bir yöntemdir. Protein ve nükleik asitlerin, hassas ve hızlı bir şekilde ayrılmasına yardımcı olur. Böylece proteinlerin büyüklükleri ve ağırlıkları hakkında güçlü bilgiler elde etmeyi sağlar.

3.1.4.1. %12 'lik Seperasyon jeli

Çizelge 3.2. . %12'lik Seperasyon jeli hazırlama protokolü

Kimyasal Adı	Miktar
TEMED	4 µl
Akrilamid karışım (%30)	3.3 ml
pH: 8.8 ayarlanmış 1,5 Molar Tris	2.5 ml
SDS (%10)	10 µl
Amonyum persülfat (%10)	100 µl
Distile su	4 ml

3.1.4.2. %4'lük Yükleme Jeli

Çizelge 3.3. %4'lük Yükleme jeli hazırlama protokolü

Kimyasal Adı	Miktar
--------------	--------

TEMED	4 µl
Akrilamid karışım (%30)	3.3 ml
1.5 M Tris (pH: 6.8)	2.5 ml
SDS (%10)	10 µl
Amonyum persülfat (%10)	100 µl
Distile su	4 ml

3.1.4.3. %30 Akrilamid/Bisakrilamid Solüsyonu (Akrilamid Mix)

Çizelge 3.4. %30 Akrilamid/Bisakrilamid Solüsyonu (Akrilamid Mix) hazırlama protokolü

Kimyasal Adı	Marka/Katalog No	Miktar
Akrilamid	Sigma/A8887	29 g
Bisakrilamid	Applichem/A3636	1 g
Saf su	-	100 ml

3.1.4.4. %10 Sodium Dodesil Sülfate Solüsyonu (SDS)

Çizelge 3.5. . %10 Sodium Dodesil Sülfate Solüsyonu (SDS) hazırlama protokolü

Kimyasal Adı	Marka/Katalog No	Miktar
SDS	Sigma/L5750	1 g
Saf su	-	10 ml

3.1.4.5. %10 Amonyum Persülfat Solüsyonu (APS)

Çizelge 3.6. %10 Amonyum Persülfat Solüsyonu (APS) hazırlama protokolü

Kimyasal Adı	Marka/Katalog No	Miktar
Amonyumperssülfat	Applichem/A2941	1 g
Saf su	-	10 ml

3.1.4.6. pH: 6.8'e ayarlı 1,5 Molar Tris-HCl**Çizelge 3.7.** pH: 6.8'e ayarlı 1.5 Molar Tris-HCl hazırlama protokolü

Kimyasal Adı	Marka/Katalog No	Miktar
Tris	MERCK/108387	18.17 g
HCl	Sigma/30721	-
Saf su	-	100 ml

3.1.4.7. pH: 8.8'e ayarlı 1.5 Molar Tris-HCl**Çizelge 3.8.** . pH: 8.8'e ayarlı 1.5 Molar Tris-HCl hazırlama protokolü

Kimyasal Adı	Marka/Katalog No	Miktar
Tris	MERCK/108387	18.17 g
HCl	Sigma/30721	-
Distile su	-	100 ml

3.1.4.8. Destaining Solüsyonu**Çizelge 3.9.** Destaining Solüsyonu hazırlama protokolü

Kimyasal Adı	Miktar
% 50 methanol	200 ml
% 10 glacial asetic asid	100 ml
% 40 Distile su	700 ml

3.1.4.9. 10X SDS Running Buffer**Çizelge 3.10.** . 10X SDS Running Buffer hazırlama protokalü

Kimyasal Adı	Miktar
Distile su	1000 ml
Glisin	144 g
SDS	10 g
Tris	30 g

3.1.4.10. 10X SDS Running Buffer

Çizelge 3.11. 1X SDS Running Buffer hazırlama protokolü

Kimyasal Adı	Miktar
10X SDS Running Buffer	100 ml
Distile su	900 ml

3.1.5. Geçirimli elektron mikroskopisi (TEM) analizi için gereçler

Titresini belirlediğimiz fajın morfolojik görüntüleme analizi için faj solüsyonundan 1 ml alınarak ağzı vida kapaklı steril bir eppendorf tüpe aktarıldı. Soğuk zincir şartları altında Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜBTAM) laboratuvarına gönderilerek ilgili kurumdan bu amaçla hizmet alımı yapıldı

3.1.6. Bakteriyofajların moleküler analizi için gereçler

Bakteriyofajların moleküler analizi için titresini belirlenen faj solüsyonundan 1 ml alınarak ağzı vida kapaklı steril eppendorf tüpe aktarıldı. Ankara’da faaliyet gösteren BM Yazılım Danışmanlık ve Labortuvar Sistemleri Ltd. Şti. ne soğuk zincir şartları altında gönderilerek ilgili kurumdan bu amaçla hizmet alımı yapıldı.

3.1.7. Kullanılan diğer gereçler

Oksidaz test çubukları (Oxoid, İngiltere)

Hidrojen Peroksit

Mikroskop (Olimpus, Japonya)

Lam (Isolab, Almanya)

Falkon Tüpleri (15 ml ve 50 ml) (Isolab, Almanya)

Steril Plastik Öze (Isolab, Almanya)

Etüv (Nüve, Türkiye)

Buzdolabı (Nüve, Türkiye)

Mikrosantrifüj Tüp (Isolab, Almanya)

Satrifüj Cihazı (Santrifüj 1650R Model 18.500 rpm)

Derin Dondurucu (Nüve, Türkiye)

Steril Plastik Bag

Petri Kabı (Isolab, Almanya)

15 ml Şırınga (BeyanLab)

Vorteks (Weightlab Instruments)

Su Banyosu (Thermomac)

Otomotik Pipet (Isolab, Almanya)

10, 200, 1000, ml Steril Filtreli Pipet Ucu (Isolab, Almanya)

Balon Joje (BOROSİL)

Hassas Terazı (RADWAG WTC 2000)

Dereceli Tek Kullanımlık steril plastik Pipet 25ml (BOROX) Gram Boyama

Seti (Merck, Almanya)

Eppendorf tüpler (BOROX) Steril Eküvyon çubuğu (BOROX) kroviyal tüp (BOROX)

0.22, 0.40 Mikron Şırınga Ucu Filtre (Sartorius, Midi Sard Almanya),

Jel görüntüleme Cihazı (UVP)

%70'lik etil alkol (yüzey ve mazamelerin temizliği için)

3.2. Yöntem

3.2.1. Anamnez bilgileri ve nekropsi

Her işletme ziyaretinde işletme sahibinden hastalıklar ile ilgili bilgi alındı. Laboratuvara getirilen balıklara anamnez bilgileri ışığında nekropsi işlemi uygulandı (TMB, 2024).

3.2.2. Bakteriye izolasyon

Laboratuvara getirilen balıklardan nekropsi sonrası tespit edilen lezyonlu organlardan, dokulardan ve patolojik sıvılardan aseptik şartlarda alınan örnekler 1/10 oranında TSB besiyerine aktararak karıştırıldı ve homojenize edildi. Daha sonra TSA ve MacConkey besiyerlerine 100 µl miktarında ekimleri yapıldı, petriler aerobik ortamda 21 ve 37°C'de ayrı ayrı 1 gün inkübasyona bırakıldı (Quinn vd., 1994; TMB, 2024; Arda, 2011).

İnkübasyon sonrası üreyen koloniler incelendi. Saflaştırma pasajları yine TSA besiyerine yapılarak gram boyanma özelliklerine bakıldı. Makro ve mikro görüntüsü ile *Aeromonas sp.* şüphelisi olduğu düşünülen kolonilere; oksidaz, katalaz, O/F ve hareket testleri yapıldı. Bu koloniler ayrıca ampisilinli kanlı agara pasajlandı. Pasajlanan bakteriler 37°C'de 1-2 gün inkübasyona bırakıldı (Quinn vd., 1994; TMB, 2024; Arda., 2011).

Genel ve zenginleştirilmiş besiyerlerinde üreyen ve *Aeromonas* şüphelisi olmayan bakteri kolonileri de pasajlanarak saflaştırıldı. Tüm izolatlar cins ve tür seviyesinde tanımlanmaları için MALDI-TOF MS analizine gönderildi.

Araştırmada identifiye edilen *Aeromonas* suşları uzun süreli saklama amacıyla %15 gliserin içeren TSB ortamında eppendorf tüplerde -80°C derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.2.2.1. Gram boyama

TSA kültürlerinden steril bir öze yardımı ile kültür alınarak lam üzerine steril birkaç damla distile su ile yayıldı. Lam üzerine yayılan kolonin kuruması için kabin içinde bir süre bekletildi. Lam kuruduktan sonra alevden 3 kez geçirilerek sabitlendi. Boyama safhasında, hazırlanan preparata kristal viyole damlatılarak 1-2 dakika bekletildi. Daha sonra su ile yıkandı. Sonra preparata lugol çözeltisi damlatılıp 1-2 dakika bekletildikten sonra tekrar yıkandı. Dekolorizasyon için lam üzerine %96 etil alkol damlatılarak 30-60 saniye bekletildi ve yıkandı. Son aşamada safranin boyası ilave edilerek 30-40 saniye bekletildi ve sonra su ile yıkandı. Preparat kurutulduktan sonra immersiyon yağı damlatılarak 100'lük objektifli mikroskopta incelendi (Arda, 2011).

3.2.2.2. Ampisilinli kanlı agar testi

Ampisilinli kanlı agar'a tek koloni olacak şekilde ekimler yapıldı. Daha sonra petriler aerobik şartlarda 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. *Aeromonas*'lar ampisiline dirençli olduğu bilindiğinden, ampisilinli kanlı agarda üreme gösteren bakteri kolonileri *Aeromonas* şüpheli olarak değerlendirildi (Halkman ve Yücel, 2005).

3.2.2.3. Oksidaz testi

Kültürler oksidaz testi şeridine sürüldü. 10-30 saniyedeki renk değişimi gösteren koloniler *Aeromonas* şüpheli olarak değerlendirildi (Arda, 2011; Quinn vd., 1994).

3.2.2.4. Katalaz testi

Katı besiyerinde üremiş olan koloniden steril öze yardımı ile koloniler alınarak bir lamin üzerine konuldu. Üzerine hidrojen peroksit kimyasalından bir damla damlatıldı. Kabarcıkların görüldüğü pozitif reaksiyon gösteren koloniler *Aeromonas* şüpheli olarak değerlendirildi (Arda, 2011; Quinn vd., 1994).

3.2.2.5. Oksidasyon-Fermantasyon testi (O/F)

İki ayrı tüpe Hugh ve Leifson yarı katı agar besiyeri hazırlandıktan sonra bakteri kolonilerinden iğne uçlu öze ile alınarak besiyerlerine dik batırılarak ekim yapıldı. Daha sonra yarı katı agarlardan birinin üstü sıvı steril parafin ile kaplandı. Tüpler 24 saat boyunca 37°C’de aerobik şartlarda inkübe edildi. Parafinsiz tüpte sarı renk oluşması ve parafinli tüpteki rengin değişmemesi oksidasyon pozitif, tüplerin tamamında sarı rengin oluşması fermentasyon pozitif olarak değerlendirildi (Arda, 2011; Quinn vd., 1994).

3.2.2.6. Hareket testi

Bir gecelik saf kültürden, steril iğne uçlu öze yardımıyla alınarak yarı katı agar içeren tüplere daldırılarak ekildi. Tüpler, aerobik şartlarda 37 °C’ de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Besiyerine daldırılan noktadan agar içerisine doğru yayılmalar, bakterinin hareketli (+); daldırma hattı boyunca olan üremeler ise bakterinin hareketsiz (-) olduğunu gösterdi (Arda, 2011; Quinn vd., 1994).

3.2.3. Bakteriyofaj izolasyonu ve karakterizasyonu için çalışmalar

3.2.3.1. Bakteriyofaj izolasyonu ve litik aktivasyonunun belirlenmesi

Bakteriyofaj izolasyonu için su ile bentos örnekleri her çiftlik için karıştırılarak bir gece bekletildi. Üstte kalan sudan 10 ml alınarak 40 ml TSB besiyeri üzerine eklendi. Besiyerleri 37°C sıcaklıkta 24 saat aerobik şartlarda inkübe edilerek ön zenginleştirme yapıldı. İnkübasyondan sonra besiyeri 6.000 rpm devirde 20 dk santrifüj edildi. Süpernatant 0.22 mikrpnlük por çapında filtreden geçirilerek steril hale getirildi. Litik aktivite gösterebilen bakteriyofaj varlığının tespiti için, yaklaşık 0.5 McFarland bulanıklıkta SM buffer ile dilüsyonları yapılmış Aeromonas bakteri süspansiyonları süpernatant filtratlarıyla LB agar besiyerinde spot-teste tabi tutuldu. Bunun için kültürlerden 100 µl alınarak, LB agar üzerine yayıldı. Kuruduktan sonra 20 µl her bir şüpheli filtrattan damlatıldı. Damlalar da kuruduktan sonra 37°C’de aerobik şartlarda 24 saat inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün litik faj plakları damlatma alanları içinde görsel olarak arandı. Plak olduğu tespit edilen petriler, SM buffer ile toplandı. Konak hücre artıklarını ayırmak için 10 dakika boyunca 6000 × g’de santrifüj edildi. Süpernatant 0.22 mikronlük bir filtreden süzülerek steril edildi ve faj-stok solüsyonu olarak kullanıldı (Kropinski vd., 2009; Cormier vd., 2014; Ture vd., 2022).

3.2.3.2. Bakteriyofajın saflaştırılması ve çoğaltılması

İkili agar yöntemi için önce bakteriyofajın dilüsyonu yapıldı. Bunun için

önceden hazırlanan kroviyal tüplere 900 µl SM buffer eklendi. Daha sonra 1. kroviyal 100 µl faj stoğu filtratı eklenerek pipetajla karıştırıldı. Bu şekilde 10-1 dilüsyonu elde edildi. Bu dilüsyondan 100 µl alınarak ikinci tüpteki 900 µl SM buffer üzerine ilave edildi ve böylece 10-2 faj dilüsyonu elde edildi. Bu işlem 10-10 dilüsyona kadar devam ettirildi. İkili agar kaplama yöntemi için 50 ml falkonlarda hazırlanmış olarak bekletilen LB yarı katı agarlar kullanılmadan önce eritildi. Eritilen bu yarı katı agardan 6 ml alınarak 15'lik falkon tüplere eklendi ve 45-55°C sıcaklıktaki su banyosunda bekletildi. Daha önce katı agardan çeyrek öze dolusu alınarak ve SM buffer içinde süspanse edilerek hazırlanan konakçı bakteri dilüsyonu ile faj dilüsyonlarından ayrı ayrı 100'er µl, hazırlanan 6 ml lik yarı katı agar falkon tüpleri içerisine inoküle edildi. Karışım vortekslendi ve hızlıca önceden hazırlanan LB alt agar üzerine yayıldı. Petriler, yumuşak agar katılaştıktan sonra aerobik şartlarda 37°C'de inkübasyona bırakıldı. 24 saat sonra petrilere her bir dilüsyon için plak oluşumları incelendi. Tek plak oluşumu gözlenen petrilere kesik pipet ucu ile belirgin bir plak seçilip alındı. Bu plak 10 ml LB broth içerisine aktarıldıktan sonra vortekslendi. Bu karışım içerisine 100 µl *Aeromonas* konakçı bakteri kültürü aktarıldı. 50 µl 1M CaCl₂ solüsyonu eklendi ve tekrar vortekslendi. 37°C'de 1 gecelik inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün elde edilen kültür 6.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant, 0.22 mikron por çapına sahip şırınga uçlu filtreden geçirildi ve bu faj stoğu ile ikili agar kaplama yöntemi tekrarlandı. Bu işlemler en az 3 kez tekrar edildi. Üç işlem sonrasında elde edilen süpernatanttaki fajın saf olduğu kabul edildi.

Saflaştırılan faj, konakçısı ile inkübasyona bırakılarak yoğunlaştırılarak çoğaltıldı. Bunun için faj stoğundan 100 µl ve bakteri dilüsyonundan 100 µl alınarak 50 ml TSB içerisine eklendi ve aerobik şartlarda 37°C 1 gece inkübe edildi. Daha sonra besiyeri 20 dakika boyunca 6000 × g' de santrifüj edildi. Süpernatant 0.22 mikronluk bir filtreden süzülerek steril edildi. Çoğaltma işlemi en az üç kez tekrar edildi (Van Twest ve Kropinski, 2009; Kropinski vd., 2009; Cormier vd., 2014; Türe vd., 2022).

3.2.3.3. Bakteriyofajın titresinin belirlenmesi

Bakteriyofaj süspansiyonunun titresini belirlemek için ikili agar kaplama yöntemi ile faj plaklarının sayımı yapıldı. Faj süspansiyonunun titresini plak oluşturma birimi/ml (pfu/ml) olarak aşağıdaki formülle belirlendi (Liu vd., 2020).

$$\text{Faj Titresi (PFU/mL)} = \frac{\text{Plak Sayısı} \times \text{Dilüsyon Faktörü}}{\text{Eklenen Hacim (mL)}}$$

Şekil 3.1. Titre hesaplanması

3.2.3.4. Multiplicity of infection (MOI) optimum değerinin belirlenmesi

MOI değeri esas olarak konakçı ve faj partikülleri arasındaki adsorpsiyon oranlarını ifade etmektedir. Bu değer; litik bakteriyofaj sayısının (pfu/ml), konakçı bakteri sayısına (cfu/ml) oranlanmasıyla bulunur. Tepit edilen faj titresine yakın değerler kullanılarak *Aeromonas* bakterilerinin belirli dilüsyonlarda ayarlanması yapıldı (Çizelge 3.12.). Fajdan 200 µl ve konakçıdan 200 µl karıştırılarak 37°C’de 3 saat inkübe edildi. Daha sonra faj titresi ikili agar yöntemi ile ölçüldü. Bulunan değerleri karşılaştırılarak optimum MOI hesaplandı (Liu vd., 2020).

Çizelge 3.12. Bakteriyofaj MOI değerleri çizelgesi

Bakteri (cfu/ml)	Faj (pfu/ml)	MOI değerleri
10 ⁵	10 ⁷	100
10 ⁶	10 ⁷	10
10 ⁷	10 ⁷	1
10 ⁷	10 ⁶	0.1
10 ⁷	10 ⁵	0.01
10 ⁷	10 ⁴	0.001
10 ⁷	10 ³	0.0001

3.2.3.5. Bakteriyofajın pH duyarlılığının belirlenmesi

PH değerlerinin bakteriyofaj üzerindeki etkisini araştırmak için önce 900 µl distile su, pH değeri 1 M HCl ve 1 M NaOH kullanılarak 3 ile 11 arasında ayarlandı. Her bir pH değerindeki su içerisine 100 µl faj stoğu eklendi ve karışım 60 dakika 37 °C sıcaklıkta inkübe edildi. Her bir pH değerinde bakteriyofaj miktarını

öğrenmek için ikili agar yöntemiyle faj plakları sayılarak hesaplandı (Fu vd., 2016; Liu vd., 2020).

3.2.3.6. Bakteriyofajın sıcaklık duyarlılığının belirlenmesi

Fajın sıcaklığa karşı duyarlılığını belirlemek için Ph 7 'ye ayarlanmış içlerinde 900 µl distile su içeren 6 kroviyal her birisine 100 µl bakteriyofaj stoğu eklendi ve 4, 20, 30, 40, 50 ve 60°C'de bir gün boyunca inkübe edildi. Her bir sıcaklıkta bakteriyofaj miktarları varlığını öğrenmek için ikili agar yöntemiyle faj plakları sayılarak hesaplandı (Fu vd., 2016; Liu vd., 2020).

3.2.3.7. Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) analizi

140 µl laemmli buffer (Sigma, Almanya), 500 milimolar Tris hidroklorür (pH 6.8) ve %4 oranında SDS, %10 konsantrasyonda 2-β-merkaptoetanol, %10 oranında gliserol ve %0.04 bromfenol mavisini karışımına 60 µl faj süspansiyonu ile 60 µl bakteri süspansiyonu ilave edilerek edilen yeni karışım 5 dakika kaynatılarak hem faj hem de konakçı bakterileri proteinlerine parçalandı.

Distile su ve alkolle temizlenen cam plakalar daha sonra kurumaya bırakıldı. Kuruyan plakalar tutucuya yerleştirildi. Önce %12'lik seperasyon jeli hazırlanarak plakalar arasına yukarıdan boşluk bırakılarak döküldü. Jelin üst kısmına bu bölgeyi düzleştirmek için donma gerçekleşmeden önce distile su döküldü ve daha sonra jel ilave edilerek oda sıcaklığında 20 dk donması için bekletildi. Daha sonra %4'lük 6 ml yükleme jeli hazırlanarak ayırıcı jelin üstüne hemen eklendi ve camlara jel için taraklar yerleştirildi. 20-30 dakika beklendi. Yükleme jeli de donduktan sonra taraklar yavaşça çıkarıldı ve jel, dikey elektroforez sistemine camlarla birlikte yerleştirildi. Marker 10 µl miktarında, numuneler ise 20 µl olacak şekilde jeldeki kuyucuklara yüklendi. Elektroforez yürütme solüsyonu hazırlanarak jel tankına ilave edildi. Önce yükleme jelinde 30 dakika boyunca 40 voltajda yürütülen proteinler daha sonra yürütme jelinde 2 saat boyunca 120 voltajda yürütülerek ayrıştırıldı.

Elektroforez işlemi bittikten sonra jel, çalkalayıcı platform üzerinde çalkalanır vaziyette Coomassie blue boyama çözeltisinin içinde 3-4 saat çalkalandı. Sonra destaining buffer ile jeldeki fazla boya uzaklaştırıldı. Boyanmış ve ayrılmış protein bantları incelenerek analiz edildi. Marker olarak Thermo Scientific PageRuler Prestained NIR Protein Ladder kullanıldı (SDS-PAGE-protocol, 2024).

3.2.3.8. Bakteriyofajın geçirimli elektron mikroskobunda (TEM) incelenmesi

Dicle Üniversitesi Bilim Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezin (DÜBTAM)'e gönderilen numunemizden 10 µl alınarak karbon kaplı bakır grid üzerine aktarıldı. Numunenin üzerine %2'lik uranil-asetat eklenerek negatif boyama yapıldı ve sonra faj partikülleri 100 nanometre ölçek ayarlanarak transmisyon elektron mikroskobunda (TEM) görüntülendi.

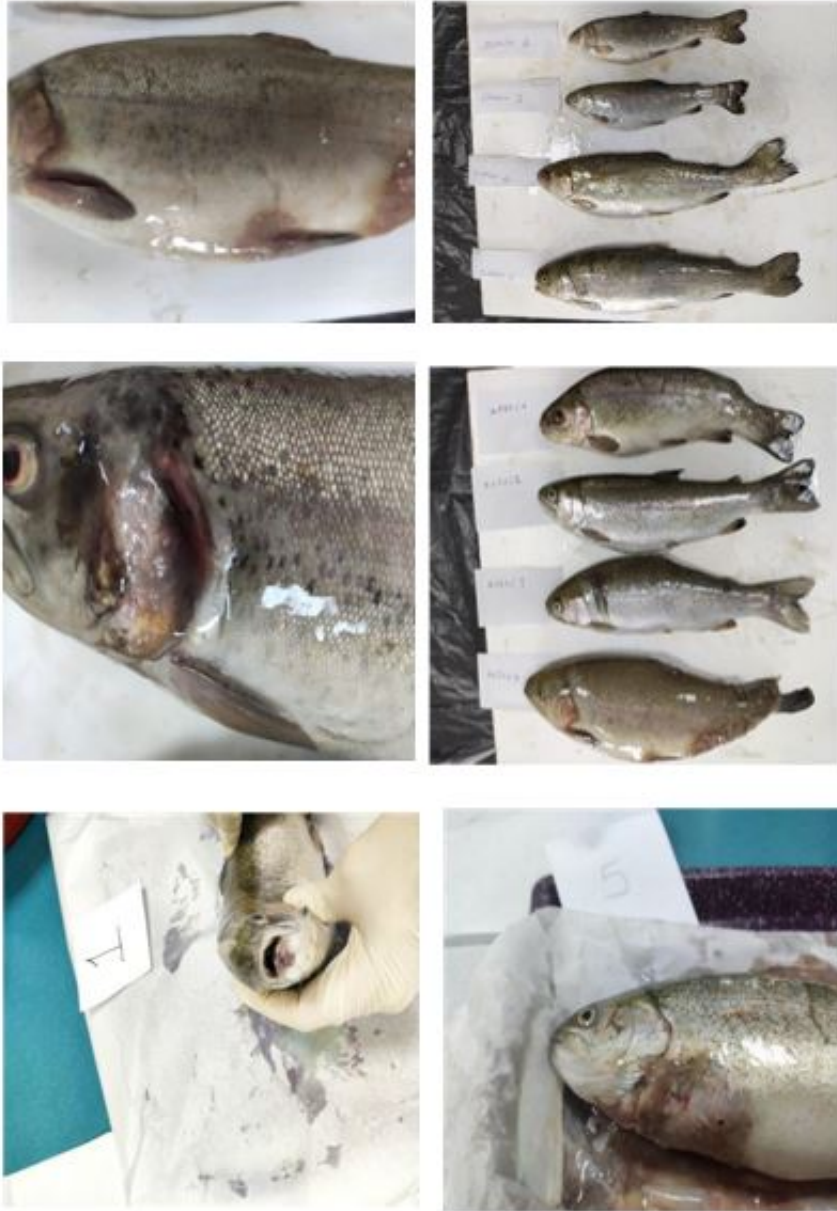
3.2.3.9. Bakteriyofajın moleküler analizi

Laboratuvara hizmet alımı için gönderilen fajın moleküler analizi için de novo genomik analiz çalışması yapıldı. Öncelikle bir NGS (Next-Generation Sequencing) sistemiyle (Solexa technology, Illumina) genomik DNA sekanslandı. Sonuçlar alındıktan sonra biyoinformatik analiz sürecinden geçirildi. Analiz sürecinde: kalite kontrol (FastQc), kalite trimleme (Trimmomatic), okuma-hizalama (Bowtie2), Birleştirilmiş Raporlama (MultiQC), Genom Assembly (Shovill), Anotasyon (Prokka) ve Genom Kalite Değerlendirmesi (QUAST) biyoinformatik aşamaları yer aldı.

4. BULGULAR

4.1. Anamnez ve nekropsi sonuçları

Alınan anemnez bilgilerine göre genel olarak hasta balıklarda iştah kaybı, uyuşukluk, kanama ve yüzeysel ülseratif lezyonlar ile balıkların hareketlerinde yavaşlama, vücut yüzeyinde eritem, karında bölgesinde şişkinlik, gözlerinde sarılık, kuyruk ve dorsal yüzgeçlerinde deformas olduğu bildirildi. Alınan anamnez bilgileri ışığında yapılan nekropsi sonucunda dış bakıda vücudun çeşitli yerlerinde deri lezyonları (karaciğerlerde solgunluk ve büyüme, böbreklerde kanama ve deformasyon, karın içinde kanamalar ve asites gözlendi. Bazı hasatlıklılı balıkların görselleri şekil 4.1. ve şekil 4.2’ de verilmektedir. Sonuç olarak bu çalışmada 96 ölü balıktan lezyon tespit edilen yerlere göre: Deri, solungaç, anüs, ağız, yüzgeç, göz, karaciğer, dalak, böbrek, asites sıvısı ve periton olmak üzere toplam 11 çeşit inceleme örneği çalışıldı (Çizelge 4.1., 4.2., 4.3., 4.4., 4.5.).



Şekil 4.1. Balıklarda bazı dış lezyon görüntüleri



Şekil 4.2. Bakteriyel ekim öncesi diseksiyonu yapılan balık örnekleri

Çizelge 4.1. Birinci ziyarette toplanan balıkların lezyonlu bölgeleri ve izolasyon sonuçları

Lokasyon	Örnek sayısı	Lezyon bölgeleri											İzolat
		Deri	Göz	Ağız	Anüs	Periton	Solungaç	Yüzgeç	Karın	Asites sıvısı	Karaciğer	Böbrek	
A1	1.						✓						
	2.			✓									<i>A. hydrophila</i>
	3.						✓				✓		
	4.	✓									✓		
	5.										✓		
	6.										✓		
A2	1.						✓						
	2.				✓					✓	✓		
	3.						✓						
	4.		✓										
	5.		✓									✓	
	6.	✓											
A3	1.							✓					
	2.										✓		<i>A. sobria</i>
	3.					✓						✓	
A4	1.										✓		
	2.						✓						
	3.					✓			✓				
	4.						✓						
	5.						✓						
	6.					✓							
	7.						✓						

Çizelge 4.2. İkinci ziyarette toplanan balıkların lezyonlu bölgeleri ve izolasyon sonuçları

Lokasyon	Örnek sayısı	Lezyon bölgeleri											İzolat	
		Deri	Göz	Ağız	Anüs	Periton	Solungaç	Yüzgeç	Karın	Asites	Sıvısı	Karaciğer		Böbrek
A1	1.		✓											
	2.						✓							<i>A.veronii</i>
	3.									✓				
	4.								✓	✓				
	5.				✓									
	6.						✓							
	7.		✓											
	8.				✓			✓						
A2	1				✓								✓	
	2									✓		✓		
	3						✓					✓		
	4									✓				
	5			✓										
	6											✓	✓	
	7				✓									<i>A.veronii</i>
A3	1									✓				
	2						✓	✓						
	3												✓	
	4				✓								✓	
	5							✓				✓	✓	
A4	1			✓				✓						
	2						✓							
	3	✓					✓							
	4												✓	<i>A.hydrophila</i>
	5				✓								✓	

Çizelge 4.3. Üç ziyarette toplanan balıkların lezyonlu bölgeleri ve izolasyon sonuçları

Lokasyon	Örnek sayısı	Lezyon bölgeleri											İzolat
		Deri	Göz	Ağız	Anüs	Periton	solungaç	Yüzgeç	Karın	Asites sıvısı	Karaciğer	Böbrek	
A1	1				✓		✓						
	2				✓		✓						<i>A. bestiarum</i>
A2	1		✓										<i>A. hydrophila</i>
	2	✓											
	3	✓									✓	✓	<i>A. veronii</i>
	4									✓	✓		
	5	✓									✓		<i>A. veronii</i>
	6									✓		✓	
	7										✓		
	8										✓		
	9											✓	<i>A. sobria</i>
A3	1				✓		✓						
	2				✓		✓						
	3				✓		✓						
	4		✓										
	5						✓			✓	✓		
	6										✓		<i>A. sobria</i>
	7										✓		
	8										✓		
	9		✓									✓	
	10											✓	<i>A. sobria</i>
	11		✓										
	12										✓	✓	
A4	1						✓						<i>A. veronii</i>
	2										✓	✓	<i>A. veronii</i>
	3										✓		
	4	✓										✓	

Çizelge 4.4. Dördüncü ziyarette toplanan balıkların lezyonlu bölgeleri ve izolasyon sonuçları

Lokasyon	Örnek sayısı	Lezyon bölgeleri											İzolat
		Deri	Göz	Ağız	Anüs	Periton	Solungaç	Yüzgeç	Karın	Asites sıvısı	Karaciğer	Böbrek	
A1	1		✓										<i>A. caviae</i>
	2									✓			
	3		✓		✓								
	4			✓							✓		<i>A. hydrophila</i>
	5										✓		
	6	✓					✓						
A2	1						✓						
	2			✓	✓								
	3	✓											
	4						✓						
	5							✓				✓	
A3	1					✓							
	2										✓		<i>A. ichthiosmia</i>
	3												
	4						✓						<i>A. ichthiosmia</i>
	5	✓											
	6									✓			
A4	1						✓						
	2										✓	✓	
	3	✓		✓									
	4						✓				✓		
	5											✓	

Çizelge 4.5. Balıklarda lezyonlu dokuların yüzdelik dağılımı

Lezyonlu organlar (n=138)	Yüzdelik oran (%)
Deri	8 (n=11)
Göz	6.5 (n=9)
Ağız	4.3 (n=6)
Anüs	9.4 (n=13)
Periton	2.1 (n=3)
Solungaç	20.3 (n=28)
Yüzgeç	5.0 (n=7)
Karın	1.4 (n=2)
Asites sıvısı	7.9 (n=11)
Karaciğer	20.3 (n=28)
Böbrek	14.5 (n=20)

Yapılan çalışmada balıklardan alınan 138 lezyonlu doku örneklerinin yüzdelik dağılımına baktığımızda % 20.3 oranında solungaç ve karaciğer en yüksek lezon bölgesi olduğu belirlenirken, en az ise % 2.1 periton ve %1.4 karın bölgesinde lezyonların olduğu belirlendi. Bu da lezyonların en sık görüldüğü organların solungaç ve karaciğer olduğunu yani bu organların enfeksiyöz ve toksik etkenlere daha duyarlı olduğunu ve maruziyetinin fazla olduğunu göstermektedir. Vücuttan metabolik atıkların uzaklaştırılmasında görev alan böbrek (%14.5; n:20) lezyonların en sık görüldüğü diğer bir organdır. Bu da sistematik enfeksiyonlardan etkilendiği için olduğu düşünülmektedir (Kumar vd., 2020). Yine bu çalışmada %1.4' lük oranla (n:2) en düşük lezyon bulunan dokular karın bölgesinden olmuştur. Bu dağılım, enfeksiyonun belirli organ ve dokularda daha yoğun hasara yol açtığını ortaya koymaktadır. Ayrıca, bu bulgular lezyonların rastgele dağılmadığını, aksine patolojik ajanların belirli hedef organları tercih ettiğini düşündürmektedir.

4.2. Bakteriyel izolasyon sonuçları

İlk izolasyonlardan sonra TSA 'ya pasajlandı ve saf olarak elde edilen izolatların yapılan testlerinde, Gram (-), çomak görünümlü (Şekil 4.3), Ampisilinli kanlı agarda üreyebilen, Mac Conkey agarda üreyebilen, O/F testine göre fermentatif, Oksidaz ve Katalaz testleri pozitif (+) ve hareketli olanlar, *Aeromonas* şüpheli koloniler olarak belirlendi. Bu şekilde şüpheli olanlar ile şüpheli olmayan diğer izolatlardan toplam 30'u MALDI-TOF analizine gönderildi. Bunların 18'i *Aeromonas sobria*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii*, *Aeromonas bestiarum* ve *Aeromonas ichthiosmia* türlerine ait olduğu, geriye kalan 12 izolatın *Lactococcus garvieae*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas oleovorans*, *Hafnia alvei* ve *Escherichia coli* türlerine ait olduğu belirlendi. *Aeromonas* türlerinin sayısal olarak dağılımı Çizelge 4.6.de verildi.

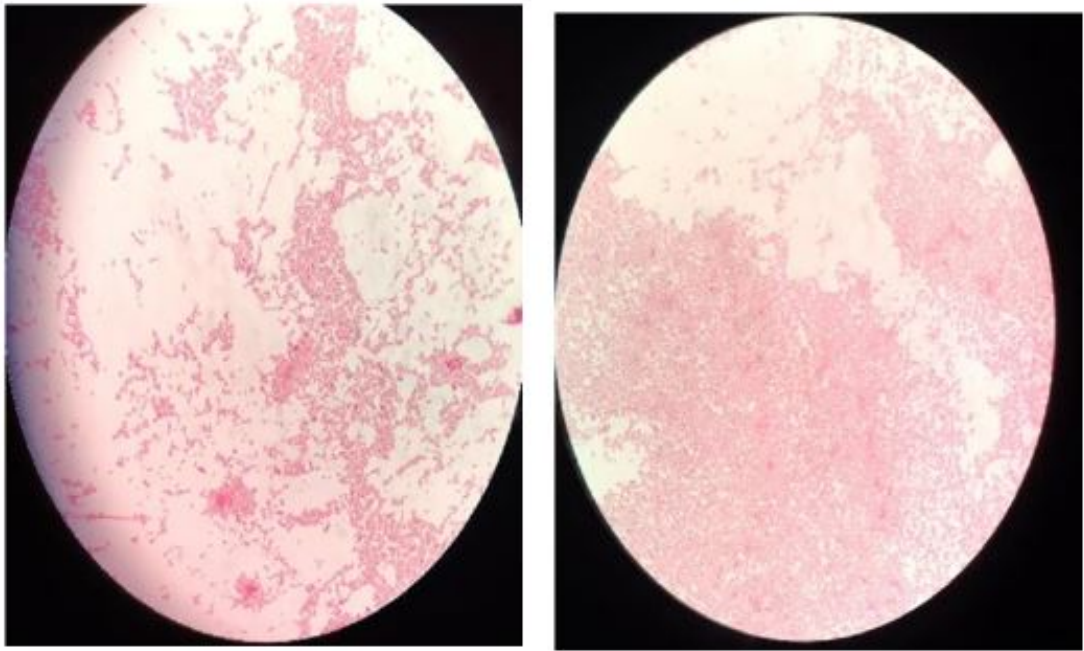
Çizelge 4.6. İzolatlarda *Aeromonas* türlerinin sayısal dağılımı

<i>Aeromonas</i> türleri	Sayıları
<i>Aeromonas sobria</i>	4
<i>Aeromonas caviae</i>	1
<i>Aeromonas hydrophila</i>	4
<i>Aeromonas veronii</i>	6
<i>Aeromonas bestiarum</i>	1
<i>Aeromonas ichthiosmia</i>	2

Çalışmada elde edilen toplam 18 *Aeromonas* izolatı, tür düzeyinde incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.6'te sunulmuştur. Bu izolatlar arasında en yüksek oranda tespit edilen tür *Aeromonas veronii* olmuş, toplam 6 izolat ile en baskın tür olarak belirlenmiştir. *Aeromonas hydrophila* ve *Aeromonas sobria* türleri ise eşit sayıda,

4'er izolat ile diğer en yüksek türler oldukları belirlendi. Daha düşük oranlarda ise *Aeromonas ichtiosmia* (2 izolat, %11.1), *Aeromonas caviae* ve *Aeromonas bestiarum* (1'er izolat, %5.6) tespiti bu türlerin düşük görülme oranı, çalışmanın gerçekleştirildiği çevresel koşullar veya konakçı özellikleriyle ilişkilendirilebilir.

Bu sonuçlar, balıklarda enfeksiyona neden olan *Aeromonas* türleri arasında çeşitlilik bulunduğunu ve özellikle *A. veronii*, *A. hydrophila* ve *A. sobria* türlerinin baskın olduğunu göstermektedir. Elde edilen bulgular, su ürünleri sağlığı açısından izlenen türlerin hem tanımlanması hem de kontrol önlemlerinin planlanması bakımından önem taşımaktadır.



Şekil 4.3. . *Aeromonas* bakterilerinin Gram boyama görüntüsü

4.3. Bakteriyofaj izolasyonu ve karakterizasyonu sonuçları

Birinci dönem A1 çiftliğinden alınan su örneğinden aynı çiftlik ve aynı dönemde alınan 2 numaralı balığın lezyonlu ağız bölgesinden izole edilen *A. hydrophila* bakterisine litik aktivite gösteren bir adet faj izole edildi. İzole edilen faj Bhr1 olarak isimlendirildi (Şekil 4.4).

4.3.1. Konakçı yelpazesinin belirlenmesi için test sonuçları

Saflaştırılan ve çoğaltılan Bhr1 fajı bu çalışmada izole edilen tüm izolatlarla spot-test yöntemi ile test edilmesinin sonucunda, tek bir *A. hydrophila* izolatu dışında farklı bir izolata karşı litik aktivite göstermediği tespit edildi. İzole edilen fajın tek

bir *A. hydrophila* izolatına özgü olduğu değerlendirildi



Şekil 4.4. Bakteriyofajın konakçısı ile agar spot test görüntüsü

4.3.2. Faj Titresi ve Optimal MOI Sonuçları

Saflaştırılan ve çoğaltılan Bhr1 bakteriyofajının titresinin 6.40×10^8 Pfu/ml olduğu belirlendi (çizelge 4.7.) Bu fajın optimal MOI değeri ise 0.1 olarak hesaplandı.

Çizelge 4.7. Bakteriyofajın MOI değerlerinin belirlenmesi

Bakteri (cfu/ml)	Faj (pfu/ml)	MOI değerleri	Fajların çoğaltılması (Pfu/ml)
10^5	10^7	100	$1,01 \times 10^7$
10^6	10^7	10	$3,11 \times 10^7$
10^7	10^7	1	$3,80 \times 10^8$
10^7	10^6	0,1	$6,40 \times 10^8$
10^7	10^5	0,01	$4,10 \times 10^8$
10^7	10^4	0,001	$2,50 \times 10^8$
10^7	10^3	0,0001	$1,80 \times 10^7$

Çalışmada farklı MOI değerlerinin faj çoğaltımı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çizelge 4.7’te görüldüğü üzere, bakteriyel yoğunluk sabit tutulup faj

miktarı kademeli olarak azaltıldığında, MOI değeri de buna paralel şekilde azalmaktadır. Farklı MOI koşulları altında elde edilen faj çoğaltım verileri karşılaştırıldığında, en yüksek faj üretimi MOI: 0.1 seviyesinde gözlenmiştir. Ancak, yüksek enfeksiyon içeren MOI oranlarında (MOI:10 ve MOI:100) faj üretimi anlamlı şekilde azalmıştır. Bu bulgular doğrultusunda, çalışmada kullanılan fajın çoğaltımı için değerinin en verimli oran olduğu tespit edilmiştir.



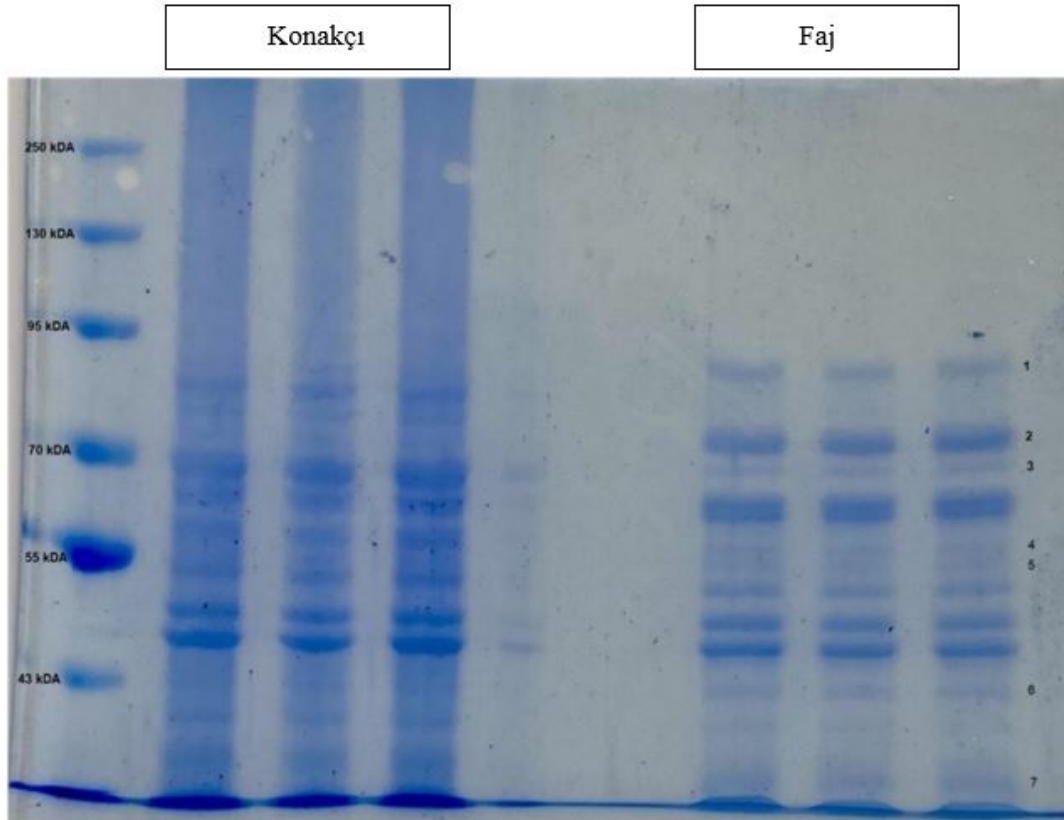
Şekil 4.5. 5 Faj titresinin hesaplanmasında kullanılan ikili agar kaplama yönteminde gözlenen faj plakları

4.3.3. Bakteriyofajın pH ve sıcaklık duyarlılığı sonuçları

Bakteriyofajın duyarlılıkları pH 5-9 arası yapılan ekimlerde plak sayılarında çok büyük değişiklikler olmadığı fakat pH 4'te ve pH 11'de plak sayılarında azalma olduğu tespit edildi. Buda bakteriyofajın yüksek asit ve yüksek baz ortamlarına karşı duyarlı olduğunu gösterdi. Bakteriyofajın 1 günlük farklı sıcaklıktaki inkübasyonu sonucunda fajın 4-40°C'deki sıcaklıklarda oluşan plak sayılarında başlangıca göre önemli bir değişikliğin olmadığı fakat daha yüksek sıcaklıkta fajların plak sayısında düşüşlerin olduğu gözlemlendi. Bu durum fajın yüksek sıcaklığa duyarlı olduğunu göstermektedir.

4.3.4. Bakteriyofajın SDS-PAGE analiz sonuçları

Konakçı ve bakteriyofajların SDS-PAGE sonucunda, faja ait olduğu düşünülen 7 protein bandı izlendi. Oluşan bu bantların yaklaşık 80 kDa, 75 kDa, 68 kDa, 60 kDa, 57 kDa, 45 kDa ve 38 kDa ağırlıklarında oldukları görüldü (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Konakçı ve bakteriyofajın SDS-PAGE görüntüsü

Faj'ların, konakçılarda bulunan bazı protein bantlarının bulunmaması, faj izolasyonunun başarılı olduğunu ve konakçı protein kontaminasyonunun minimal seviyede kaldığını göstermektedir. Bu, faj saflaştırma işleminin etkinliğini ortaya koyan önemli bir göstergedir.

Sonuç olarak, SDS-PAGE ile yapılan bu analiz, fajlara ait özgün protein bantlarının tespit edilmesine olanak sağlamış, ayrıca konakçı kontaminasyonunun düzeyini ortaya koyarak yapılan izolasyon işleminin doğruluğunu desteklemiştir.

4.3.5. Bakteriyofajın elektron mikroskopunda görüntülenme sonuçları

Bakteriyofajların elektron mikroskobu görüntüsünde fajın Siphoviridae

famlyasına ait olduğu düşünölmektedir. (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Bakteriyofajın TEM mikroskop görüntüsü

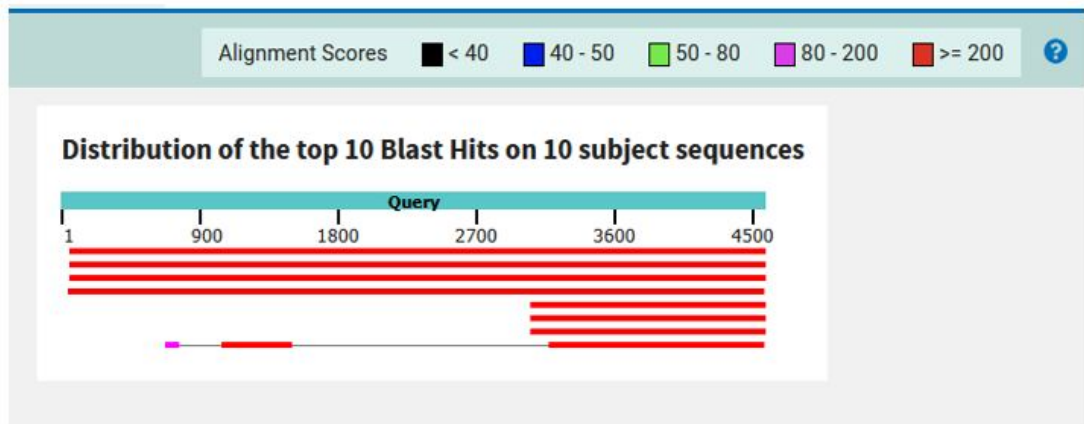
4.3.6. Bakteriyofajın moleküler analiz bulguları

Yapılan moleküler analizlerde assembly işleminden sonra Contig olarak isimlendirilen baz topluluklarından 59 adet elde edildi. Bunlar Genbankta Blast (Basic Local Alignment Search Tool) işlemine tabi tutulduklarında (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), 9223 bazlık Contig-2'nin çeşitli Aeromonas fajlarıyla genomik yakınlık gösterdiği görüldü. Bu parsiyel sekansın fenotipik olarak identifiye edilen faja ait olduğu düşünüldüğünden filogenetik ağaç çizilerek mevcut bilinen Aeromonas fajları içindeki genomik yeri belirlendi (Şekil 4.8., şekil 4.9.).

Çizelge 4.8. Bhr1 Faj bilinen diğer Aeromonas faj genomları ile %'lik farklılıkları

Genbankta bilinen faj genomları	Bhr1 Fajla genomik farklılıkları (%)
MW671054 <i>Aeromonas</i> phage PZL-Ah152, complete genome	2,5288376220 %
MT740748 <i>Aeromonas</i> phage T7-Ah, complete genome	2,7506654836 %
MZ851152 <i>Aeromonas</i> phage PZL-Ah8, complete genome	4,3139871025 %
OM716005 <i>Aeromonas</i> phage vB_AhP_PT2, complete genome	9,5652173913 %
PP226939.1 <i>Aeromonas</i> phage phiA014S, complete genome	25,8249641320 %
OX090892 <i>Escherichia</i> phage vB_Eco_Titus genome assembly, chromosome:1	26,4511873351 %
OX001577 <i>Escherichia</i> phage vB_Eco_Mak genome assembly, chromosome: 1	26,4511873351 %
OW991346 <i>Escherichia</i> phage vB_Eco_Bam genome assembly, chromosome:1	26,4511873351 %

Bhr1 olarak adlandırılan fajın, GenBank veritabanında yer alan sekiz farklı faj genomu ile genomik karşılaştırması yapılmıştır (çizelge 4.8). Bu analiz sonucunda, özellikle *Aeromonas* phage PZL-Ah152, *Aeromonas* phage T7-Ah ve *Aeromonas* phage PZL-Ah8 ile olan genomik farklılık oranlarının sırasıyla %2.52, %2.75 ve %4.31 gibi düşük seviyelerde olması, Bhr1 fajının bu fajlarla yakın akraba olduğunu ve aynı faj grubuna ait olabileceğini düşündürmektedir. Bu genomik analiz, Bhr1 fajının taksonomik konumunun belirlenmesi açısından önemli bilgiler sunmaktadır.

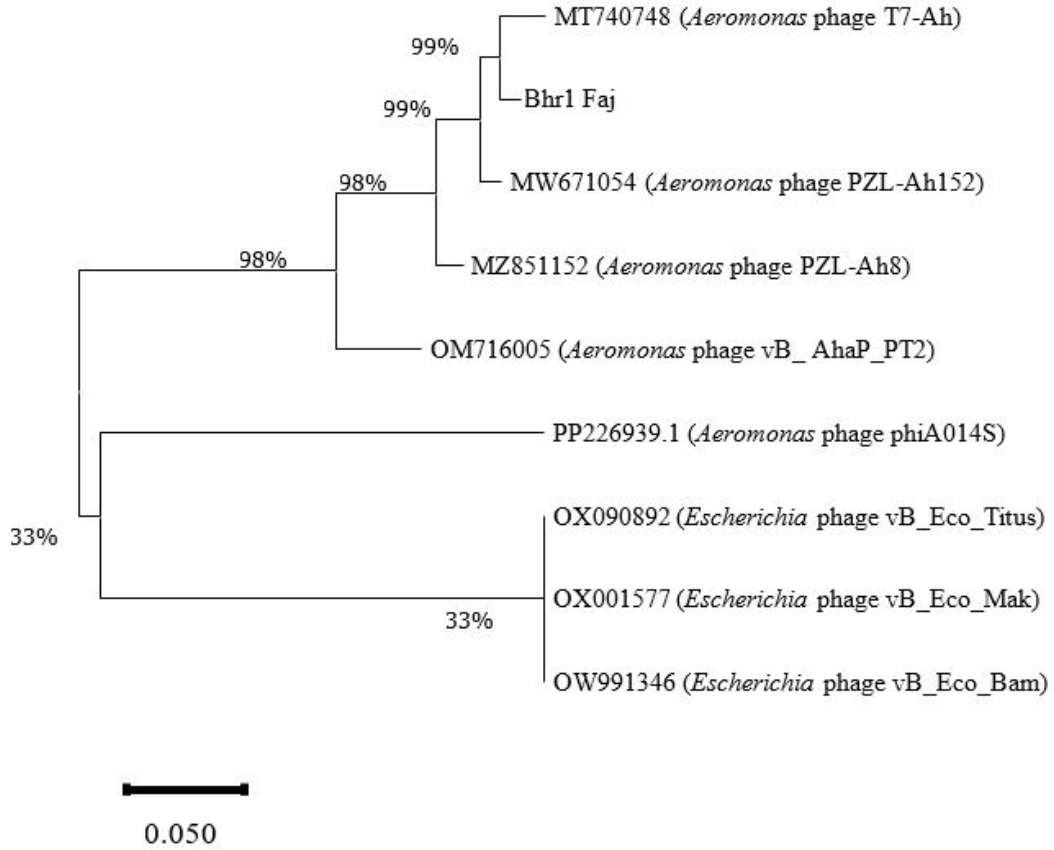


Şekil 4.8. Bhr1 fajı ile diğer fajların genom hizalanma uyumları

Üstteki mavi çubuk (Query) Sorgu dizisinin (yaklaşık 4500 bp uzunluğunda) tam uzunluğunu gösterirken kırmızı çubuklar en iyi Blast hizalama skorlarını göstermektedir. Kırmızı çubukların skor 200 üzerinde olması fajların yüksek oranda benzerlik gösterdiği anlamına gelmektedir. Diğerlerinde kesikli ya da kısa olması daha uzak akrabalık gösteren fajlara ait olabileceği düşünülmektedir.

BLAST analiz sonucuna bakıldığında sorgu dizisinin en iyi 10 eşleşmede 200 büyük skoruna sahip olması fajın genbak'taki sekanslarla yüksek oranda benzerlik

taşıdığını göstermektedir. Bunun yanında bazı kısmi hizalamaların görülmesi ve skroun 200 altında olması Bhr1 fajının bazı genom bölgelerinin diğer fajlardan farklılık gösterdiğini bu da Bhr1 fajının yeni bir faj varyantı olabileceğini düşündürmektedir



Şekil 4.9. Bhr1 fajının yerini gösteren filogenetik ağaç Çizim MEGA11 programında Maximum Likelihood method and Tamura-Nei modelleme kullanılarak oluşturuldu

Yapılan filogenetik analiz sonucunda, Bhr1 fajının *Aeromonas* türüne ait fajlarla yakın akrabalık gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4). Filogenetik analize baktığımızda Bhr1, özellikle MT740748 (T7-Ah) ve MW671054 (PZL-Ah152) fajları ile %99 oranında benzerlik gösterdiğini görmekteyiz. Bu durum, Bhr1'in bu fajların bulunduğu familyanın tür veya alt tür grubuna ait olabileceğini düşündürmektedir. Diğer fajlarla benzerliğin daha düşük olduğu (%33) bu da Bhr1'in *Aeromonas*'a özgü bir faj olduğunu ve diğer cinslere uzak akraba olduğunu göstermektedir. Bu filogenetik konumlandırma, BLAST ve genomik benzerlik analizleri ile de tutarlıdır.

5. TARTIŞMA

Aeromonas cinsindeki bakteriler, tatlı su ve denizlerde yaşayan fırsatçı patojenlerdir. Antibiyotiklere karşı da dirençli olabilen bu bakteriler, özellikle su ürünlerinin kültür yetiştiriciliğinde hastalıklara ve verim kayıplarına sebep olarak üretimi olumsuz yönde etkileyebilirler (Woo vd., 2022). Dünyanın çeşitli noktalarında faaliyet gösteren çok sayıda balık üretim tesisinde, yaygın bir sorun olarak karşılaşılan bu etkenlere karşı alınacak koruma tedbirleri ve uygulanacak tedavi yöntemleri, doğru ve zamanında yapılacak etken tanılamasıyla yapılabilir. Bu amaçla etken izolasyonu ve identifikasyonu için dünyada çeşitli üretim alanlarında çok sayıda çalışma yürütülmüştür. Tayvan'da gerçekleştirilen bir çalışmada araştırmacılar, satışa sunulan balıklardan çeşitli bakteri türlerinden 128 izolasyon yapmışlar ve bu izolatlar arasından *A. caviae*, *A. dhakensis* ve *A. veronii* etkenlerinin başlıca türler olduklarını bildirmişlerdir (Wu vd., 1981.). Tayland bölgesinde balık örnekleriyle yürütülen başka bir çalışmada ise, fenotipik özellikleri ve 16S rDNA homolojisine dayanarak *A. jandaei* ve *A. veronii* identifikasyonları bildirilmiştir (Dong vd., 2017). İran'da yapılan başka bir çalışmada ise araştırmacılar, 100 adet balık ve su örneği çalışarak, balık örneklerinden *A. hydrophila* (3 izolat, %15), *A. veronii*, *A. sobria* (8 izolat, %40), *A. bestiarum/piscicola* (5 izolat, %25), *A. media* (3 izolat, %15), *A. jandaei* (1 izolat, %5) türlerinin, su numunelerinden ise, *A. veronii*, *A. sobria* (6 izolat, %75), *A. media* (1 izolat, %12.5) ve *A. aquariorum* (1 izolat, %12.5) türlerinin izole edildiğini bildirmişlerdir (Modarres vd., 2014). Hänninen vd., 1997'de Finlandiya bölgesinde yaptıkları çalışmada *Aeromonas* türlerinin balık ve deniz ürünlerinin yaygın kirleticileri olduğunu, su ortamında her yerde bulunabileceklerini, yapmış oldukları çalışmalarında ise 29 balığın 27 sinde (%93), 17 balık yumurtasının tamamında (%100), 12 karides örneğinin ikisinde (%16) ve 23 tatlı su örneğinin tamamında (%100) *Aeromonas* türlerini tanımlamışlardır. Araştırmacılar, Hindistan, Pakistan ve Çin sınırındaki Jammu ve Keşmir eyaletine bağlı Poonch Bölgesi'ndeki kontrollü bir balık havuzundan toplanan hastalık semptomlu 10 kültür balığından *A. sobria* suşu izole ettiklerini, identifikasyonda ayrıca VİTEK sisteminin kullanıldığını bildirmişlerdir (Dar vd., 2016).

Türkiyede farklı bölgelerde faaliyet gösteren balık üretim çiftliklerinde de yapılmış çok sayıda izolasyon çalışması mevcuttur. Van bölgesinde yetiştirilen balıklarda yürütülen bir çalışmada, balıklardan *A. hydrophila* ve *A. caviae* türlerinin izolasyonları bildirilmiştir (İşleyici vd., 2009). Akdeniz bölgesinde yürütülmüş olan başka bir çalışmada ise araştırmacılar, balık böbreklerinden hastalık etkeni olarak *A. schubertii* etkenini izole ettiklerini ve bunun Türkiye'de yetiştirilen alabalıklardan ilk

izolasyon olduğunu bildirmişlerdir (Akaylı vd., 2011). Yine Erzurum bölgesinde, gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan 20 işletmede yürütülen bir çalışmada, yeni ölmüş veya hastalık belirtisi gösteren balık örneklerinden *A. hydrophila* ve *Y. ruckeri* etkenlerinin varlığı araştırılmış, 7 işletmeden *A. hydrophila*, 3 işletmeden de *Y. ruckeri* etkenlerinin izole edildiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada araştırmacılar ayrıca *A. sobria*, *Flavobacter spp.*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas spp.* ve *Streptococcus spp.* izolasyonlarını da bildirmişlerdir (Sağlam vd., 2006). Korun vd., 2010'da Bolu bölgesinde gökkuşağı alabalıklarına ait örnekleri kullanarak çalışma yürütmüşler, üç adet *A. caviae*, dört adet *A. hydrophila* ve bir adet *A. sobria* türünün izolasyon ve identifikasyonunu bildirmişlerdir. Bolu ilinde market ve açık halk pazarlarında satışı sunulan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) örneklerinden yürütülen başka bir çalışmada ise toplam 36 hareketli *Aeromonas* türünün izole edildiği, bu izolatlardan sekizinin *A. hydrophila*, ondokuzunun *A. caviae* ve dokuzunun *A. veronii* bv *sobria* olduğu bildirilmiştir (Özdemir ve Arslan, 2021). Karkamış Baraj Gölü'nde yapılan *Aeromonas* izolasyon çalışmaları için literatür incelendiğinde ise, 2024 yılında tamamlanmış bir doktora tez çalışması dışında başka bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Çalışmada, baraj gölünde üretimi yapılan alabalıklardan *A. sobria*, *Lactococcus garvieae* ve *Pseudomonas sp.* türlerinin izolasyonları bildirilmiştir (Kuzucu, 2024).

Dünyanın birçok ülkesinde ve Türkiye'de kültür balıklarındaki hastalık olgularından çeşitli *Aeromonas* türlerinin izole edilmiş olması, bu cinsin yetiştiricilik açısından risk potansiyelini göstermektedir. Bu bilinçle hareket eden araştırmacılar, *Aeromonas*'ların tanısı için çalışmışlar bu amaçla da bakteriyel izolasyon ve identifikasyon yöntemlerini sıklıkla kullanmışlardır. Bu çalışmaların bir kısmında, klasik bakteriyel izolasyon ve identifikasyon yapılırken biyokimyasal testler tamamen manuel olarak (Esteve vd., 1995) gerçekleştirilse de, gelişen teknolojiyle birlikte, identifikasyonda ticari biyokimyasal test kitleri (Rahman vd., 2002; Yu vd.2004), yine biyokimyasal test temeline dayanan tam otomatize VİTEK cihazı (Dar vd., 2016; Yıldırım, 2022; Kavak, 2023) ve protein analizine dayanarak hassas bir identifikasyon sağlayan MALDI-TOF MS cihazı (Kaur ve Kaur, 2024) çok sayıda çalışmada tercih edilerek kullanılmıştır. Yakın tarihte yayımlanan bir derleme çalışmasında, *Aeromonas*'ların fenotipik özelliklerine göre yapılan identifikasyonlarının çok yakın türlerin ayrımında yanıltıcı olabileceğini, MALDI-TOF MS yöntemiyle ise neredeyse moleküler analizlere denk doğrulukta hassas identifikasyon gerçekleştirildiğini bu konuda yapılmış referans çalışmalar ifade edilerek bildirilmiştir (Fernández-Bravo ve Figueras, 2020).

Karkamış Baraj Gölü'nde gerçekleştirilen bu çalışmada da hastalık semptomlu balıklardan klasik izolasyon ve identifikasyon yöntemiyle izolasyonlar yapıldı. Altı farklı hareketli *Aeromonas* türünden toplam 18 adet izolat önce cins seviyesinde tanımlandı. İzolatların doğrulanması ve tür seviyesinde tanımlanması için MALDI-TOF MS cihazı ile analiz yöntemi kullanıldı. Bu analize göre, izolatların dördü *A. sobria*, biri *A. caviae*, dördü *A. hydrophila*, altısı *A. veronii*, biri *A. bestiarum* ve ikisi *A. ichthiosmia/veronii* olarak tür seviyesinde identifiye edildi. Sonuçların tamamının, daha önce yapılan çalışmalarda tespit edilen türlerle uyumlu olduğu görüldü.

Bakteriyofajlar, artan antibiyotik dirençliliği ve yeni antibiyotik etken maddelerinin bulunması ve ruhsatlandırılmalarındaki zorluklar nedeniyle önleyici ve tedavi edici alternatif potansiyelleri düşünülerek son yıllarda oldukça popüler bir çalışma alanı haline gelmiştir. Araştırmacılar, *Aeromonas* bakterilerinin yaygınlığı ve fırsatçılığını dikkate almışlar ve bu bakterilerin fajları konusunda çok sayıda çalışma yürütmüşlerdir.

Wu vd., 1981'deki çalışmalarında, *A. hydrophila*'ya spesifik AH1 fajını tanımlamışlardır. Wang vd., 2016'da Tayvan'da gerçekleştirdikleri çalışmalarında, *A. hydrophila*'nın Ahp1 olarak adlandırdıkları yeni bir litik fajını atık sulardan izole ettiklerini bildirmişlerdir. Daha sonra faj özelliklerini araştırmışlar ve bu fajın hızlı bir adsorpsiyona sahiptir olduğunu, 15 dakikalık bir latent dönem ve enfekte hücre başına 112 PFU'luk bir patlama boyutuna sahip olduğunu bildirmişlerdir. SDS poliakrilamid jel elektroforezinde en az on sekiz Ahp1 virion proteinini görselleştirilmişler ve 36-kDa'lık bir proteinin tahminen ana kapsid proteini olduğunu belirtmişlerdir. Ahp1'in genom analizini yapmışlar, %58.8 G + C içeriğine sahip 42.167 bp'lik doğrusal çift sarmallı bir DNA genomunu ortaya çıkarmışlardır. Ahp1'in dar bir konak aralığına sahip olduğunu, etkili faj tedavisi için, heterojen *A. hydrophila* suşlarını öldürebilen kokteyllerin hazırlanması için farklı fajlara ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir.

Le vd., 2018'de Vietnamda yürüttükleri çalışmalarında *A. hydrophila* etkenine karşı 2 adet faj izole ettiklerini, fajların *Myoviridae* ailesinden olduklarını ve yaptıkları deneysel çalışmada fajlar ile tedavi uygulamalarından çok başarılı sonuçlar aldıklarını bildirmişlerdir.

Cao vd., 2020'de *A. hydrophila*'ya karşı daha önce izole edilen MJG bakteriyofajının ileri biyolojik özelliklerini incelemişler ve tedavide

kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Sonuçta, fajın geniş bir sıcaklık (10°C- 60°C) ve pH (2-10) aralığında aktiviteye sahip olduğunu, latent ve yükselme sürelerinin sırasıyla 30 ve 40 dakika olduğunu, fajın dar bir konakçı aralığında litik aktivite göstererek 20 *A. hydrophila* suşundan sadece 4'ünü enfekte edebildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca yaptıkları deneysel çalışmada, faj ile tedavi için fajın balıklara enjeksiyon ve daldırma uygulamalarından çok iyi sonuçlar alındığını vurgulamıştır.

Akmal vd., 2020'de Güney Kore'nin Geoje adasında gerçekleştirdikleri çalışmada Akh-2 olarak isimlendirdikleri bir bakteriyofajı izole ettiklerini, bu faj ile test edilen yedi *A. hydrophila* suşundan dördüne karşı litik etkisinin tespit edildiğini bildirmişlerdir. Geçirimli elektron mikroskobu analizinde görüntülenen bu fajların morfolojik özellikleri dikkate alınarak fajın *Siphoviridae* ailesine ait olduğunu belirlemişlerdir. Tek adımlı büyüme eğrisi analizi ile fajın 50 ± 5 dakikalık bir latent periyoda sahip olduğunu, pH 6-8 ve -80 ile 46°C sıcaklık aralıklarında fajın kararlı olduğunu bildirmişlerdir. Yeni nesil dizileme analizine göre gerçekleştirdikleri analizde, faj genomunun 114.901 bp büyüklüğünde olup, %44.22 G+C içeriğine ve 254 açık okuma çerçevesine (ORF) sahip olduğunu belirtmişlerdir. Yaptıkları deneysel çalışma ile fajın balıklarda *Aeromonas* enfeksiyonlarının tedavisi için potansiyel bir biyolojik ajan olduğunu vurgulamışlardır.

Wang vd. 2021 yaptıkları çalışmada Ahp2 olarak isimlendirdikleri *A. hydrophila* bakterisine spesifik litik faj izole ettiklerini bildirmişlerdir. Ahp2 partiküllerinin %96'sının 18 dakika içinde *A. hydrophila*'ya adsorbe olduğunu gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Fajın genom analizini gerçekleştirdiklerini, fajın %57 GC içeriğine sahip 47.331 bp'lik doğrusal çift sarmallı bir DNA genomuna sahip olduğunu vurgulamışlardır. Yaptıkları SDS-poliakrilamid jel elektroforezi ile en az 20 faj proteinini tespit ettiklerini, bunların arasında 40-kDa'lık bir proteini, ana kapsid proteini olarak tahmin ettiklerini bildirmişlerdir. Ahp2 fajının genomik dizi analizi sonuçlarına göre *A. hydrophila* ve *A. salmonicida*'yı enfekte eden bir grup *Aeromonas* fajıyla yakın olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada Ahp2'nin *A. hydrophila* AH300206 suşunu 0,0001 MOI'de 3.5 saatte tamamen lize ettiği ve konağını lizojenize etmediği bulunmuştur. Tüm bu bulguların Ahp2'nin litik bir *Aeromonas* fajı olduğunu ve terapötik faj kokteylleri için bir aday olabileceğini gösterdiğini bildirmişlerdir.

Türe vd., 2022'de Türkiyede gerçekleştirdikleri çalışmalarında *A. hydrophila* bakterilerine karşı litik aktivite gösteren AP-T65, AP-T5, AP-Y28 ve AP-AT olarak isimlendirdikleri 4 adet fajın izolasyonunu bildirmişlerdir. Fajlar üzerinde

gerçekleştirdikleri karakterizasyon testleriyle bu fajların Myoviridae ailesinden olduklarını, fajların *Aeromonas sp.*, *A. salmonicida*, *A. veronii* ve *A. media* türlerine karşı litik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. İlave testlerle fajların yaklaşık 10-15 dakikalık kısa bir latent periyodu olduğunu, *Aeromonas* fajlarının 3 ile 10 arasında değişen geniş bir pH değeri aralığında, 4 ile 37 °C arasında değişen sıcaklıklarda efektif olabildiğini bildirmişlerdir. Tespit ettikleri özellikleriyle izole edilen fajların güvenilir şekilde balıklarda *A. hydrophila* enfeksiyonunu tedavi etmek için kokteyl olarak kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Kaur ve Kaur, 2024’de gerçekleştirdikleri çalışmalarında *A. veronii* etkenine karşı AVP3 bakteriyofajını izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Bu konuda yapılan önceki çalışmalarda da bildirildiği gibi *A. hydrophila* fajlarının izolasyonunu birçok çalışmada görebilmekteyiz. Bu çalışmada da balık çiftliklerinden elde edilen su örneklerinin bir tanesinden yine aynı çiftlikteki balıklardan izole edilen *A. hydrophila* izolatına karşı bakteriyofaj izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen bakteriyofajın çift tabaka agar yöntemiyle saflaştırılması ve çoğaltılması işlemlerinden sonra bu fajın litik aktivite gösterebileceği konakçı spektrumu, çalışmada izole edilen tüm *Aeromonas* izolatlarında test edilmesiyle gerçekleştirildi. Fajın sadece tek bir *A. hydrophila* izolatına karşı litik aktivite gösterdiği görüldü. Yukarıdaki benzer çalışmalarda, izole edilen *A. hydrophila* fajlarının genellikle birden fazla konakçıda litik aktivite gösterdiği belirtilmektedir. Bu çalışmada optimum MOI değeri 0.01 olarak bulundu. *A. hydrophila* ve izole edilen fajlarıyla gerçekleştirilen benzer çalışmalarda araştırmacılar, optimal MOI değerlerini 0.1 ve 0.01 olarak (Liu vd., 2020) bildirmişlerdir. Wang vd., (2021) ise bu değeri 0.0001 olarak belirlemişlerdir. Genellikle faj miktarının konakçı hücre miktarından az olduğu oranlar (MOI <1) optimal MOI değeri olarak belirlenmektedir. Bu çalışmada bulunan değer in literatürde belirtilen değerlerle uyumlu olduğu görülmektedir. Bu çalışmada izole edilen bakteriyofajın etkinliğinin pH 5-9 arasında ve sıcaklığının 4-40 arasında kararlı olduğu görüldü. Sıcaklıkta etkinlik özellikleri çok sayıda literatürle benzer olsa da özellikle pH değerlerindeki etkinlik, Cao vd., (2020) ve Türe vd., (2022) ’nın bulgularına paralel olarak geniş bir spektrumda tanımlandı. Akmal vd., (2020) nin bulduğu pH etkinlik değerinin ise çok dar bir spektrumda olduğu görülmektedir. Bu gibi farklılıkların bakteriyofajların yapısal dayanıklılık farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. TEM mikroskop görüntüsüne göre bu çalışmada izole edilen Bhr1 fajının kuyruklu olduğu, morfolojik olarak *Siphoviridae* ailesindeki virüslerin yapısal görüntüsüne sahip olduğu görsel olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç,

Akmal vd., (2020) nin bulgularıyla paraleldir. Ancak farklı ailelere mensup *A. hydrophila* fajlarının varlığı da bildirilmiştir (Le vd., 2018; Türe vd., 2022). SDS-PAGE analizi sonucunda, fajın protein profili incelendiğinde, konakçı hücresi ile benzer protein bantları tespit edilmiştir. Bu görüntünün fajın yapısal bir özelliği olmayıp konakçı kaynaklı olduğu düşünüldüğünden ekarte edilmiştir. Böylece faj profilinde konakçı band profilinden farklı 7 adet protein bandı gözlendi. Bu bandların faja ait olduğu düşünüldü. Nitekim, 18 farklı protein bandının tespit edildiği *A. hydrophila* fajı literatürde tanımlanmıştır (Wang vd., 2016). Fajın moleküler analizi, de novo yöntemi kullanılarak gerçekleştirildiğinden elde edilen Contigler ayrı ayrı değerlendirildi. Sonuç olarak Contig-2 de yer alan 9223 bazlık sekans için yapılan BLAST analizinde bulunan fajın daha önce tespiti yapılan *Aeromonas* T7-Ah ve PZL-Ah152 fajlarıyla yakın genetik benzerlik gösterdiği görüldü. Literatüre kazandırılacak olan bu faj için kısa süre içinde genbank girişleri yapılarak elde edilen bilgi araştırmacıların istifadesine sunulmuş olacaktır.

6. SONUÇLAR

Gerçekleştirilen bu çalışma ile Şanlıurfa'da, Karkamış Baraj Gölü'nde faaliyet gösteren balık üretim çiftliklerinde özellikle hareketli *Aeromonas* türlerinin çeşitli enfeksiyonlara sebep olduğu ve sonuçta hastalıkların hem direkt hem de dolaylı etkileri sebebiyle üretim kayıplarına yol açtığı görülmektedir. Özellikle havaların ısınması, su debisindeki azalmalar ve su kalitesinin çeşitli sebeplerle zaman zaman bozulmasına ilave olarak kafeslerin aşırı kalabalık tutulması gibi bazı hatalı yetiştirme uygulamaları, balıkları hastalıkların oluşumu açısından predispoze kılmakta, hastalıkların görülme sıklığını ve etkisini arttırabilmektedir. Mücadelede yetiştirme bölgesine spesifik alanlarla ilgili olumsuzlukların tek tek tespit edilmesinin ardından öncelikle hastalıkların oluşumunu önleyici koruyucu tedbirlerin ivedilikle alınması oldukça önemlidir. Böylelikle prevalans düşürülebilir. Tedavi amacıyla ise etkene yönelik akılcı antibiyotik uygulamaları, özellikle uygun antibiyotik, uygun veriliş yolu, uygun doz ve uygun süre açısından irdelenerek belirlenmelidir.

7. ÖNERİLER

Çalışmada *Aeromonas*'lara yönelik litik bakteriyofaj varlığı araştırılmış ve bir adet *A. hydrophila* izolatına litik aktivite gösteren bakteriyofaj izole edilerek karakterize edilmiştir. Bakteriyofajların bakteriyel hastalıklardan korunma ve tedavi edilme süreçlerinde kullanımı son zamanlarda oldukça merak edilen ve çalışılan bir alan haline gelmiştir. Balık hastalıkları için yapılan çalışmalarda oldukça iyi sonuç alındığı birçok çalışmada bildirilmiştir. Bu çalışmada bulunan fajın tedavide kullanımı açısından ileri çalışmaların gerçekleştirilmesi oldukça faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Abdelhamed, H. A., Banes, M., Karsi, A., & Lawrence, M. L. (2019). Recombinant ATPase of virulent *Aeromonas hydrophila* protects channel catfish against motile *Aeromonas* septicemia. *Frontiers in Immunology*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01641>
- Abedon, S. T., Kuhl, S. J., Blasdel, B. G., & Kutter, E. M. (2011). Phage treatment of human infections. *Bacteriophage*, 1(2), 66–85. <https://doi.org/10.4161/bact.1.2.15845>
- Ackermann, H. W. (2006). Classification of bacteriophages. *Bacteriophage*, 2, 8–16.
- Adah, A. D., Saidu, L., Oniye, J. S., Adah, S. A., Daoudu, B. O., OlaFadunsin, V., & D, S. (2024). Molecular characterization and antibiotics resistance of *Aeromonas* species isolated from farmed African catfish *Clarias gariepinus* Burchell 1822. *BMC Veterinary Research*, 20(16).
- Akaylı, T., Çanak, Ö., & Başaran, B. (2011). A study on *Aeromonas schubertii* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). *BİBAD*.
- Akaylı, T., Timur, G., & Yardımcı, R. (2008). Çipura balığında (*Sparus aurata* L.) *Vibrio* suşlarının patojenik özelliklerinin tespiti. *Aquatic Sciences and Engineering*, 23(2), 19-26.
- Akmal, M., Rahimi-Midani, A., Hafeez-Ur-Rehman, M., Hussain, A., & Choi, T. J. (2020). Isolation, characterization and application of a bacteriophage infecting the fish pathogen *Aeromonas hydrophila*. *Pathogens*, 9(3), 215.
- Akşit, D., & Kum, C. (2008). Gökkuşığı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)'nda sık görülen patojen mikroorganizmaların tespiti ve antibiyotik duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(1), 1-7.
- Albert, M. J., Ansaruzzaman, M., Talukder, K. A., Chopra, A. K., Kuhn, I., Rahman, M., Faruque, A. S. G., Islam, M. S., Sack, R. B., & Mollby, R. (2000). Prevalence of enterotoxin genes in *Aeromonas* spp. isolated from children with diarrhea, healthy controls, and the environment. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(10), 3785-3790.
- Alpbaz, A. (2005). Su ürünleri yetiştiriciliği ders kitabı içinde (s. 567). Alp Yayınları.
- Altınok, I., Ozturk, R. C., Kahraman, U. C., & Capkin, E. (2016). Protection of rainbow trout against yersiniosis by lpxD mutant *Yersinia ruckeri*. *Fish & Shellfish Immunology*, 55, 21-27.
- Arda, M. (2011). Genel. In M. Arda (Ed.), *Temel mikrobiyoloji* (s. 558). Medisan Yayınevi.
- Aydın, H., & Baltacı, M. A. (2016). Sakarya bölgesi su kaynakları ve alabalık yetiştiriciliği yapan işletmelerin mevcut durumu. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 9, 26-28.

- Aydoğan, A., & Metin, N. (2010). *Aeromonas salmonicida* ile enfekte edilen gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) patolojik bulguların incelenmesi. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Kafkas, Kars (Turkey)*, 5, 6-9.
- Aydoğan, D. Y., & Hadimli, H. H. (2016). Bakteriyofaj tedavisi. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 27(1), 38-47.
- Bağcı, Ö. U., Şahin, F., & Kiyan, M. (2021). Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)'dan elde edilen fajın karakterizasyonu. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 51(2), 156-162.
- Balta, F. (2020). Fırtına deresindeki gökkuşağı alabalık çiftliklerinde izole edilen *Aeromonas* spp. izolatlarının antimikrobiyel hassasiyetin belirlenmesi. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 5(3), 397-407.
- Baş, B. (2020). Bakteriyofajlar (Bakteri Virüsleri): Antibiyotiklere alternatif tedavi. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 11(1), 38-43.
- Başçınar, N. (2004). *Sümae Yunus Araştırma Bülteni*, 4(1), 6.
- Başkaya, B. (2017). Adana'da tüketime sunulan bazı balıkların *Aeromonas hydrophila* açısından değerlendirilmesi (Yüksek lisans tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Adana.
- Bestil, A., Ayaz, N. D., & Çufaoğlu, G. (2023). Bakteriyofaj uygulamasının sütte *Pseudomonas aeruginosa*'nın üremesi üzerine etkisi. *Akademik Et ve Süt Kurumu Dergisi*, (5), 17-21.
- Camus, A. C., Durborow, R. M., Hemstreet, W. G., Thune, R. L., & Hawke, J. P. (1998). *Aeromonas bacterial infections - motile aeromonad septicemia* (Vol. 478). Southern Regional Aquaculture Center.
- Cao, Y., Li, S., Han, S., Wang, D., Zhao, J., Xu, L., & Lu, T. (2020). Characterization and application of a novel *Aeromonas* bacteriophage as treatment for pathogenic *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout. *Aquaculture*, 523, 735193. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735193>
- Carter, G. R. (1990). *Pseudomonas, Aeromonas, Plesiomonas and Vibrio*. In *Diagnostic procedure in veterinary bacteriology and mycology* (pp. 77–86).
- Cormier, J., & Janes, M. (2014). A double layer plaque assay using spread plate technique for enumeration of bacteriophage MS2. *Journal of Virological Methods*, 196, 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.11.023>
- Çelikkale, M. S., Düzgüneş, E., & Okumuş, İ. (1999). *Türkiye su ürünleri sektörü ve Avrupa Birliği entegrasyonu* (İstanbul Ticaret Odası, Yayın No: 1999-63, 534 s.).
- Çerçi, N. (2011). Ankara ili ve çevresindeki akarsularda bulunan bazı tatlı su balıklarından izole edilen GR (-) bakterilerin izolasyonu ve antibiyotik dirençliliklerinin incelenmesi (Yüksek lisans tezi, Gazi Üniversitesi Fen

Bilimleri Enstitüsü). Ankara.

- D'Herelle, F. (1917). On an invisible microbe antagonistic to dysentery bacilli. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris*, 165, 373–375.
- Dar, G. H., Kamili, A. N., Chishti, M. Z., Dar, S. A., Tantry, T. A., & Ahmad, F. (2016). Characterization of *Aeromonas sobria* isolated from fish Rohu (*Labeo rohita*) collected from polluted pond. *Journal of Bacteriology & Parasitology*, 7(3), 1–5.
- De Silva, S.S. 2001. A global perspective of aquaculture in the new millennium. In R.P. Subasinghe, P. Bueno, M.J. Phillips, C. Hough, S.E. McGladdery & J.R. Arthur, eds. Aquaculture in the Third Millennium. Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium, Bangkok, Thailand, 20- 25 February 2000. pp. 431-459. NACA, Bangkok and FAO, Rome.
- Declercq, A. M., Haesebrouck, F., Van den Broeck, W., Bossier, P., & Decostere, A. (2013). Columnaris disease in fish: A review with emphasis on bacterium-host interactions. *Veterinary Research*, 44, Article 27. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-44-27>
- Dikel, S. (2005). *Kafes balıkçılığı*. Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Ders Kitapları, No. 18. Adana: Dikici Basımevi.
- Doğan, K. (2000). Türkiye’de su ürünleri yetiştiriciliği ve pazarlaması. *Tarım İstanbul TKB İstanbul İl Müdürlüğü Yayın Organı*, 83, 12–21.
- Doğançay, Y. (2006). Ankara’da tüketime sunulan bazı balıklarda *Vibrio* ve *Aeromonas* cinsi mikroorganizmaların izolasyonu (Yüksek lisans tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü). Ankara.
- Dong, H. T., Techatanakitarnan, C., Jindakittikul, P., Thaiprayoon, A., Taengphu, S., Charoensapsri, W., & Senapin, S. (2017). *Aeromonas jandaei* and *Aeromonas veronii* caused disease and mortality in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of Fish Diseases*, 40(10), 1395–1403. <https://doi.org/10.1111/jfd.12618>
- Durmaz, Y. (2016). Balıklarda viral enfeksiyonlara karşı immün sistemin işleyişi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 11(3), 355. <https://doi.org/10.17094/ataunivbd.282995>
- Düğenci, S. K., & Candan, A. (2003). Isolation of *Aeromonas* strains from the intestinal flora of Atlantic salmon (*Salmo salar* L. 1758). *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 27(5), 1071–1075.
- Ekici, S., Demirci, M., Dülger, D., & Yiğın, A. (2023). The quinolone resistance genes in the bacteriophage DNA fractions in the healthy calf stool samples via qPCR. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 29(1).
- Ergin, F., Yıldız, G., Göçer, E. M. Ç., & Küçükçetin, A. (2017). Bakteriyofajların antibakteriyel ajan olarak kullanımı. *Akademik Gıda*, 15(2), 172–181.
- Ergüllü, E. (1982). Bakteriyofaj ve süt teknolojisinde yarattığı sorunlar. *Ege*

- Esteve, C., Gutiérrez, M. C., & Ventosa, A. (1995). *Aeromonas encheleia* sp. nov., isolated from European eels. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45(3), 462–466. <https://doi.org/10.1099/00207713-45-3-462>
- Farmer III, J. J., Arduino III, M. J., & Hickman-Brenner, F. W. (2006). The genera *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, & E. Stackebrandt (Eds.), *The Prokaryotes* (pp. 564–596). Springer.
- Fernández-Bravo, A., & Figueras, M. J. (2020). An update on the genus *Aeromonas*: Taxonomy, epidemiology, and pathogenicity. *Microorganisms*, 8(1), 129. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010129>
- Filik, N., & Kubilay, A. (2020). *Aeromonas hydrophila* balık patojeninde biyosensör suşlar aracılığıyla çevreyi algılama sisteminin tespiti ve virülens faktörleri. *Ege Journal of Fisheries & Aquatic Sciences (EgeJFAS)/Su Ürünleri Dergisi*, 37(1).
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2023). *The state of world fisheries and aquaculture(SOFIA)*. <https://www.fao.org/3/cc0461en/online/sofia/2022/consumption-of-aquatic-foods.html>
- Fu, C. Q., Zhao, Q., Li, Z. Y., Wang, Y. X., Zhang, S. Y., Lai, Y. H., Xiao, W., & Cui, X. L. (2016). A novel *Halomonas ventosae*-specific virulent halovirus isolated from the Qiaohou salt mine in Yunnan, Southwest China. *Extremophiles*, 20, 101–110. <https://doi.org/10.1007/s00792-015-0780-9>
- Gong, Y. X., Zhu, B., Liu, G. L., Liu, L., Ling, F., Wang, G. X., & Xu, X. G. (2015). Single-walled carbon nanotubes as delivery vehicles enhance the immunoprotective effects of a recombinant vaccine against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 42(1), 213–220. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.09.030>
- Halkman, H. B., & Yücel, P. K. (2005). Gıdalarda radyasyon uygulamalarının mikroorganizmalar üzerine etkileri. *Gıda*, 30(6).
- Hankin, E. (1896). L'action bactericide des eaux de la Jumna et du Gange sur le vibron du cholera. *Annales de l'Institut Pasteur*, 10, 511.
- Hänninen, M. L., Oivanen, P., & Hirvelä-Koski, V. (1997). *Aeromonas* species in fish, fish eggs, shrimp and freshwater. *International Journal of Food Microbiology*, 34(1), 17–26. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(96\)01239-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(96)01239-9)
- Hoşsucu, H., Bayrak, M., Çağırkan, H., & Bağcı, M. (1997). Şura öncesi oluşturulan hazırlık komisyonlarının raporları (Yetiştiricilik Komisyonu). In *Türkiye I. Su Ürünleri Şurası* (pp. 79–93). Çetin Ofset Ankara.
- İşleyici, Ö., & Sancak, Y. C. (2009). Gıdalarda hareketli *Aeromonas*'lardan kaynaklanan sağlık riskleri. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(2), 69–74.

- Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2010). The genus *Aeromonas*: Taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(1), 35–73. <https://doi.org/10.1128/CMR.00039-09>
- Kanber, A., Paksoy, C., Kaya, E., Dağlı, G. S., Önger, L. N., Karahan, S. S., Kaya, E., Yüksel, Ö., Zeybeklioğlu, N., Bektaş, M., & B. Y. (2023). Gıda güvenliği ve saklanma koşulları. *Gidabilgi*. <https://www.gidabilgi.com>
- Karaçoban, F. (2017). *Balık patojenlerine karşı bakteriyofajların kullanımının araştırılması* (Yüksek lisans tezi). İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı.
- Kaur, S., Kaur, H., Kaur, B., Kumar, B. N., Tyagi, A., Singh, & Munang'andu, H. M. (2024). Isolating pathogenic multidrug-resistant *Aeromonas hydrophila* from diseased fish and assessing the effectiveness of a novel lytic *Aeromonas veronii* bacteriophage (AVP3) for biocontrol. *Microbial Pathogenesis*, 196, 106914. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106914>
- Kavak, N. (2023). *Balıklardan Aeromonas sobria izolasyonu, antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi ve genotiplendirilmesi* (Yüksek lisans tezi). Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Khorshidtalab, M. (2016). *Atık sulardan litik bakteriyofaj izolasyonu ve karakterizasyonu* (Yüksek lisans tezi). Sağlık Bilimleri Enstitüsü
- Kılıç, S. (2008). *Süt endüstrisinde laktik asit bakterileri*. Ege Üniversitesi Basımevi.
- Kılınç, B. (2019). Su ürünlerinde *Aeromonas* ve *Plesiomonas* cinsi mikroorganizmalar ve etkileri. *Ege Journal of Fisheries & Aquatic Sciences (EgeJFAS)/Su Ürünleri Dergisi*, 36(2).
- Kirov, S. M., Castrisios, M., & Shaw, J. G. (2004). *Aeromonas* flagella (polar and lateral) are enterocyte adhesins that contribute to biofilm formation on surfaces. *Infection and Immunity*, 72(4), 1939–1945. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.4.1939-1945.2004>
- Korkut, A., Gamsız, K., & Yurga, L. (2023). Türkiye’de alabalık yetiştiriciliğinin tarihsel süreci. *Acta Aquatica Turcica*, 19(2), 195–208.
- Korun, J., & Toprak, H. B. (2010). Kültürü yapılan gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*)’nın barsağından izole edilen hareketli *Aeromonas* suşlarının antibiyotik hassasiyetleri üzerine NaCl’ün etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(2).
- Körkoca, H., Berktaş, M., Durmaz, R., & Gürsoy, N. (2013). The research of clonal relationship among *Aeromonas* strains isolated from human, animal and drinking water by PFGE. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(2).
- Kropinski, A. M., Prangishvili, D., & Lavigne, R. (2009). Position paper: The creation of a rational scheme for the nomenclature of viruses of Bacteria and Archaea. *Environmental Microbiology*, 11(11). <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01970.x>

- Kumar, R., Pande, V., Singh, L., Sharma, L., Saxena, N., Thakuria, D., Singh, K. A., & Sahoo, P. K. (2016). Pathological findings of experimental *Aeromonas hydrophila* infection in golden mahseer (*Tor putitora*). *Fish & Aquatic Journal*, 7(01), 2150-3508.
- Kuzucu, O. (2024). *Karkamış Baraj Gölü'ndeki gökkuşağı alabalığı işletmelerinde bakteriyofajların izolasyonu, moleküler karakterizasyonu ve bakteriyofaj tedavisinin balıklara deneysel uygulaması* (Doktora tezi). Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Ana Bilim Dalı, Kahramanmaraş.
- Küçüker, H. İ. (2018). *Astaksantinin Aeromonas hydrophila üzerine antibakteriyel etkisinin araştırılması* (Yüksek lisans tezi). Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Antalya.
- Le, T. S., Nguyen, T. H., Vo, H. P., Doan, V. C., Nguyen, H. L., Tran, M. T., Taran, T. T., Soutgahe, P. C., & Kurtböke, D. İ. (2018). Protective effects of bacteriophages against *Aeromonas hydrophila* causing motile Aeromonas septicemia (MAS) in striped catfish. *Antibiotics*, 7(1), 16. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7010016>
- Levin, M. (2014). Molecular bioelectricity: How endogenous voltage potentials control cell behavior and instruct pattern regulation in vivo. *Molecular Biology of the Cell*, 25(24), 3835–3850. <https://doi.org/10.1091/mbc.E13-12-0718>
- Li, Z., Zhang, Y., Zhou, D., Li, Q., Jiang, Z., Zhang, J., & Qiao, G. (2023). Evaluation on the effects of phage cocktail in preventing *Aeromonas veronii* infection in Gibel carps (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture*, 563, 738998. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.738998>
- Liu, J., Gao, S., Dong, Y., Lu, C., & Liu, Y. (2020). Isolation and characterization of bacteriophages against virulent *Aeromonas hydrophila*. *BMC Microbiology*, 20, 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01756-5>
- Lucas, J. S., Southgate, P. C., & Tucker, C. S. (Eds.). (2019). *Aquaculture: Farming aquatic animals and plants*. Wiley-Blackwell.
- Martin-Carnahan, A., & Joseph, S. W. (2005). Genus I. *Aeromonas*. In D. J. Brenner, N. R. Krieg, & J. T. Staley (Eds.), *Bergey's manual of systematic bacteriology* (pp. 557–578). Springer.
- Mkakosya, S. R. (1999). *Hayvansal ve çevresel kaynaklardan hareketli aeromonas bakteriyofajlarının izolasyonu* [Doktora tezi, Ankara Üniversitesi].
- Modarres, M. B. S., Akhlaghi, M., & Sharifiyazdi, H. (2014). Phenotypic and genetic diversity of motile aeromonads isolated from diseased fish and fish farms. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 15(3), 238–243.
- Mutlu, N. (2015). *Çevresel örneklerden Listeria monocytogenes'e özgü faj izolasyonu ve genotipik karakterizasyonu* [Doktora tezi, Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı].

- O'Flaherty, S., Ross, R. P., & Coffey, A. (2009). Bacteriophage and their lysins for elimination of infectious bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 33(4), 801–819. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00175.x>
- Ötkün, S., Gürbilek, S. E., & Saytekin, A. M. (2023). The isolation and examination of the host specificity of local bacteriophages for use against *Brucella abortus*. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12(1), 80–85. <https://doi.org/10.55290/harvunfd.1234567>
- Özdemir, F., & Arslan, S. (2021). Balıktan izole edilen hareketli *Aeromonas* türlerinin bazı ekstrasellüler enzimlerinin belirlenmesi. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 2(1), 13–23.
- Post, G. (1987). Bacterial diseases of fish. In G. Post (Ed.), *Textbook of fish health* (pp. 44–47). T.F.H. Publications.
- Quinn, P. J., Carter, M. E., Markey, B. K., & Carter, G. R. (1994). *Clinical veterinary microbiology*. Mosby.
- Rahman, M., Colque-Navarro, P., Kühn, I., Huys, G., Swings, J., & Möllby, R. (2002). Identification and characterization of pathogenic *Aeromonas veronii* biovar *sobria* associated with epizootic ulcerative syndrome in fish in Bangladesh. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(2), 650–655. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.2.650-655.2002>
- Ray, S. C. (2004). *Data envelopment analysis: Theory and techniques for economics and operations research*. Cambridge University Press.
- Sağlam, Y. S., Işık, N., Arslan, A., & Erer, H. (2006). Erzurum bölgesindeki gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* W. 1792) *Aeromonas hydrophila* ve *Yersinia ruckeri* izolasyonu ve patolojik incelemeler. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 1(1), 6–10.
- Sakai, M., & Kobayashi, M. (1992). Detection of *Renibacterium salmoninarum*, the causative agent of bacterial kidney disease in salmonid fish, from pen-cultured coho salmon. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(3), 1061–1063.
- Sarihan, E., & Tekelioğlu, N. (2005). *Balık üretimi* (175 s.). Nobel Kitabevi.
- Savaş, H. V., & Türe, M. (2007). Bölgemizde doğal ve kültürü yapılan balıklarda görülen hastalıklar. *Aquaculture Studies*, 7(2), 45–49.
- Shields, P., & Cathcart, L. (2010). Oxidase test protocol. *American Society for Microbiology*, 1–9. <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.8.1.1.3>
- Sillankorva, S., Oliveira, H., & Azeredo, J. (2012). Bacteriophages and their role in food safety. *International Journal of Microbiology*, 2012, Article ID 863945. <https://doi.org/10.1155/2012/863945>
- Soykut, E. A., & Tunail, N. (2008). Süt endüstrisinde sorun yaratan termofilik fajlar. *Gıda*, 34(2), 107–113.
- Sulakvelidze, A., Alavidze, Z., & Morris, J. G. (2001). Bacteriophage therapy.

- Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(3), 649–659. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.3.649-659.2001>
- Şahin, A. G., San, A. T., Gürçay, S., & Alkan, S. M. (2018). Green Terror (*Andinoacara rivulatus*) balığında motil *Aeromonas* olgusu. *International Journal of Pure and Applied Sciences*, 4(1), 72–76.
- Timur, G., & Timur, M. (2003). *Balık hastalıkları* (Yayın No: 5, s. 538). İstanbul Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi.
- Toranzo, A. E., Combarro, P., Lemos, M. L., & Barja, J. L. (1984). Plasmid coding for transferable drug resistance in bacteria isolated from cultured rainbow trout. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(4), 872–877. <https://doi.org/10.1128/aem.48.4.872-877.1984>
- Türe, M., Altınok, İ., Cebeci, A., & Çalışkan, N. (2022). Characterization of novel bacteriophage HP-T19 that targets *Hafnia alvei*. *Aquaculture Research*, 53(2), 457–466. <https://doi.org/10.1111/are.15559>
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). (2023). *Su ürünleri istatistikleri 2023 raporu* (Yayın No: 4349).
- Van Twest, R., & Kropinski, A. M. (2009). Bacteriophage enrichment from water and soil. In M. R. J. Clokie & A. M. Kropinski (Eds.), *Bacteriophages: Methods and protocols, Volume 1: Isolation, characterization, and interactions* (pp. 15–21). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_2
- Wadström, T., & Ljungh, A. (1991). *Aeromonas* and *Plesiomonas* as food and waterborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 12(4), 303–311. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(91\)90041-4](https://doi.org/10.1016/0168-1605(91)90041-4)
- Walters, G. R., & Plumb, J. A. (1980). Environmental stress and bacterial infection in channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. *Journal of Fish Biology*, 17(2), 177–185. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1980.tb02752.x>
- Wang, J. B., Yu, M. S., Tseng, T. T., & Lin, L. C. (2021). Molecular characterization of Ahp2, a lytic bacteriophage of *Aeromonas hydrophila*. *Viruses*, 13(3), 477. <https://doi.org/10.3390/v13030477>
- Wang, J.B., Lin, N.T., Tseng, Y.H., & Weng, S.F. (2016). Genomic characterization of the novel *Aeromonas hydrophila* phage Ahp1 suggests the derivation of a new subgroup from phiKMV-like family. *PLoS ONE*, 11(9), e0162060. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162060>
- Woo, S. J., Kim, M. S., Jeong, M. G., Do, M. Y., Hwang, S. D., & Kim, W. J. (2022). Establishment of epidemiological cut-off values and the distribution of resistance genes in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* isolated from aquatic animals. *Antibiotics*, 11(3), 343. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030343>
- Wu, J. L., Lin, H. M., Jan, L., Hsu, Y. L., & Chang, L. H. (1981). Biological control of fish bacterial pathogen, *Aeromonas hydrophila*, by bacteriophage AH1.

Fish Pathology, 15(3–4), 271–276. <https://doi.org/10.3147/jsfp.15.271>

- Yıldırım, F. (2022). *Afyonkarahisar, Antalya ve Eskişehir'den temin edilen balıklarda Aeromonas salmonicida etkeninin izolasyonu ve identifikasyonu ile antibiyotik duyarlılığının saptanması* [Yüksek lisans tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü].
- Yu, H. B., Rao, P. S., Lee, H. C., Vilches, S., Merino, S., Tomás, J. M., & Leung, K. Y. (2004). A type III secretion system is required for *Aeromonas hydrophila* AH-1 pathogenesis. *Infection and Immunity*, 72(3), 1248–1256. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.3.1248-1256.2004>
- Yüksel, H. T., Erbaş, G., Parın, U., & Kırcan, Ş. (2016). Antibiyotik dirençli bakterilerin tedavi ve biyokontrolünde bakteriyofaj kullanımı. *Animal Health Production and Hygiene*, 5(2), 477–480.
- Zhang, X., Yang, W., Wu, H., Gong, X., & Li, A. (2014). Multilocus sequence typing revealed a clonal lineage of *Aeromonas hydrophila* causing motile *Aeromonas* septicemia outbreaks in pond-cultured cyprinid fish in an epidemic area in central China. *Aquaculture*, 432, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.04.031>