



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

DOKTORA TEZİ

**KÜLTÜR ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BAKTERİYEL
PATOJENLERİN KONVANSİYONEL VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE TANISI**

**Muhammed Yaşar DÖRTBUDAK
VETERİNER MİKROBİYOLOJİ**

**ŞANLIURFA
2026**



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

DOKTORA TEZİ

**KÜLTÜR ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BAKTERİYEL
PATOJENLERİN KONVANSİYONEL VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE TANISI**

**Muhammed Yaşar DÖRTBUDAK
VETERİNER MİKROBİYOLOJİ**

**DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Murat SAYTEKİN
2. DANIŞMAN: Doç. Dr. Jehona SHKODRA**

**ŞANLIURFA
2026**

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince araştırmalarımnda ve bilimsel gelişimimde büyük emekleri olan bilgi ve tecrübeleriyle bana rehberlik eden, her daim desteklerini esirgemeyen değerli Danışman Hocam Sayın Dr. Ahmet Murat SAYTEKİN'e şükranlarımı ve saygılarımı sunarım. İkinci Danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Jehona SHKODRA'ya katkılarından dolayı teşekkür ederim. Tez izleme komitesinde yer alan, tez sürecindeki değerli rehberlikleri ve önerileriyle katkı sağlayan Sayın Prof. Dr. Oktay KESKİN ve Sayın Doç. Dr. Akın YİĞİN'e, ders ve araştırma aşamasında desteklerini esirgemeyen Mikrobiyoloji Anabilim Dalının değerli Öğretim Üyelerine, laboratuvar çalışmalarımnda, araştırmamın başarıyla yürütülmesinde büyük katkıları olan Sayın Doç. Dr. Muhammet Bahaeddin DÖRTBUDAK ve Sayın Dr. Emine ATÇI SAYTEKİN'e, tez yazımında destek veren Sayın Dr. Hamza YALÇIN'e, Fakülte çalışanlarına, ferdi olmaktan gurur duyduğum, her daim bana güç veren ve sevgi dolu destekleriyle yolumu aydınlatan saygıdeğer ailem; annem, babam ve kardeşlerime, her türlü maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, bana olan inançlarıyla her an motive eden, sevgilerini her zaman hissettiren, her zaman arkamda duran çok kıymetli eşime, sevgili kızlarım ve oğluma en içten teşekkürlerimi, sevgilerimi ve saygılarımı sunuyorum.

ONAY

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	3
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
KISALTMALAR	vi
SİMGELER.....	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Kültür balıkçılığı ve önemi.....	1
1.2. Dünyada Su Ürünleri Üretimi.....	2
1.3. Türkiye’de Su Ürünleri Üretimi.....	3
1.4. Kültür balığı olarak Alabalık.....	3
1.4.1. Gökkuşluğu Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Yetiştiriciliği.....	5
1.4.1.1. Alabalık Yetiştiriciliğinde Su Kaynakları ve Kalite Parametreleri.....	5
1.4.1.2. Ağ Kafeslerde Alabalık Yetiştiriciliği Teknikleri.....	8
1.4.1.3. Alabalık Yetiştiriciliğinde Hastalık Yönetimi ve Ekonomik Etkileri	10
1.5. Karkamış Baraj Gölü ve Limnolojik Özellikleri	10
1.5.1. Karkamış Baraj Gölü’nde Alabalık Yetiştiriciliği	11
1.6. Gökkuşluğu Alabalıklarında <i>Aeromonas</i> ve <i>Lactococcus</i> Enfeksiyonları	11
1.6.1. <i>Aeromonas</i> Enfeksiyonları	12
1.6.2. <i>Lactococcus</i> Enfeksiyonları	14
1.7. Bakteriyel Balık Patojenlerinin Teşhisinde Kullanılan Konvansiyonel ve Modern Yöntemler.....	17
1.7.1. Konvansiyonel Tanı Yöntemleri	17
1.7.2. Modern Tanı Yöntemleri	18
1.7.2.1. Moleküler ve Genomik Teşhis Yöntemleri.....	18
1.7.2.2. Alternatif Ticari İdentifikasyon Sistemleri	20
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	23
2.1. Tanı Teknolojilerindeki Dönüşüm ve Moleküler Yaklaşımlar	23
2.2. <i>Lactococcus garvieae</i> ve Gram Pozitif Patojenlerin Epidemiyolojisi	24
2.3. Bölgesel Sürveyans ve Patojen Çeşitliliği	24
2.4. Çevresel Parametreler ve Direnç Mekanizmaları	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1. Gereç	26
3.1.1. Çalışma sahası	26
3.1.2. Örnekler.....	26
3.1.3. Besiyerleri	26
3.1.3.1. Tryptic Soy Agar (TSA)	27
3.1.3.2. Tryptic Soy Broth (TSB)	27
3.1.3.3. MacConkey Agar.....	27
3.1.3.4. Kanlı Agar	28
3.1.3.5. Oksidasyon-Fermantasyon (O/F) Test Besiyerleri	28
3.1.3.6. %15 Gliserinli Tryptic Soy Broth	28
3.1.4. Tür Seviyesinde Bakteriyolojik Tanı İçin Gereçler	28

3.1.5. Moleküler Analizler İçin Gereçler	29
3.1.5.1. Kültürden DNA Ekstraksiyonu Gereçleri.....	29
3.1.5.2. DNA Amplifikasyonu Gereçleri	29
3.1.5.3. Elektroforez ve Görüntüleme Gereçleri	30
3.1.5.4. Moleküler Analizler İçin Diğer Gereçler	30
3.1.6. Çalışmada Kullanılan Solüsyon, Kimyasal ve Diğer Gereçler	30
3.2. Yöntem	31
3.2.1. Anamnez ve Nekropsi	31
3.2.2. Bakteriyel İzolasyon.....	31
3.2.2.1. Gram Boyama.....	32
3.2.2.2. Kanlı Agarda Hemoliz Testi	32
3.2.2.3. Oksidaz Testi	32
3.2.2.4. Katalaz Testi	33
3.2.2.5. Oksidasyon-Fermantasyon Testi (O/F).....	33
3.2.2.6. Hareket Testi.....	33
3.2.3. Bakteriyel İzolatların Tür Seviyesinde Tanımlanmaları	33
3.2.4. Moleküler Tanı	33
3.2.4.1. Kültürlerden DNA Ekstraksiyonu	34
3.2.4.2. Aeromonas Türlerinin Cins Seviyesinde Moleküler Tanısı.....	35
3.2.4.3. L. garvieae Türünün Moleküler Tanısı.....	35
3.2.4.4. Multipleks PCR Uygulaması.....	35
4. BULGULAR	37
4.1. Anamnez ve Nekropsi Bulguları	37
4.2. Bakteriyel İzolasyon Bulguları.....	41
4.3. MALDI-TOF MS Analiz Sonuçları	45
4.4. Moleküler Tanı Bulguları	51
5. TARTIŞMA.....	54
6. SONUÇLAR	61
7. ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR.....	63
ÖZ GEÇMİŞ	75

ÖZET

DOKTORA TEZİ

KÜLTÜR ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BAKTERİYEL PATOJENLERİN KONVANSİYONEL VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE TANISI

Muhammed Yaşar DÖRTBUDAK

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNER MİKROBİYOLOJİ

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Murat SAYTEKİN

2. Danışman: Doç. Dr. Jehona SHKODRA

Yıl: 2026, Sayfa: 75

Küresel nüfus artışıyla beraber su ürünlerine yönelik talebin stratejik bir düzeye taşınması, yetiştiricilik süreçlerinde modern tekniklerin entegrasyonunu ve üretim miktarında belirgin bir artışı beraberinde getirmiştir. Ancak üretim kapasitesindeki bu yoğunlaşma, sucul ekosistemlerde biyolojik kontaminasyon risklerini ve patojen baskısını artırarak gıda güvenliği zincirinde kırılmalara yol açabilmektedir.

Bu çalışmanın amacını, Karkamış Baraj Gölü'ndeki ağ kafes işletmelerinde mortaliteye neden olan bakteriyel patojenlerin konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle (Multipleks PCR) hızlı ve kesin teşhisine yönelik yöntemlerin optimizasyonu ve karşılaştırmalı analizi oluşturmaktadır.

Araştırma kapsamında, Şanlıurfa ili Birecik ilçesi sınırlarında bulunan Karkamış Baraj Gölü'nde faaliyet gösteren dört farklı işletmeden (A, B, C, D), hastalık belirtileri göstererek ölen toplam 80 adet gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) örneklendi. Laboratuvara getirilen örneklerden izole edilen bakteriler; koloni morfolojisi, Gram boyama, oksidaz, katalaz, oksidasyon-fermantasyon ve hareket testleri gibi konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerle karakterize edildi. Elde edilen isolatların kesin tanımlanması için MALDI-TOF MS (Bruker Biotyper) analizi uygulandı; ayrıca *Aeromonas* türleri ve *Lactococcus garvieae*'nin eş zamanlı tespiti için multipleks PCR yöntemi optimize edildi. Bakteriyel izolasyon ve identifikasyon çalışmaları sonucunda toplam 64 adet izolat tanımlandı. Bulgular, bölgedeki alabalık işletmelerinde *L. garvieae* (15 adet) ve hareketli *Aeromonas* türlerinin (*A. veronii*, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. ichthiosmia*, *A. caviae*) ekonomik kayıplara yol açan baskın patojenler olduğunu ortaya koymuştur. MALDI-TOF MS analizlerinde Gram-negatif bakterilerde 2.000 ve üzeri skorlarla yüksek güvenilirlikli tanımlama yapılırken, *L. garvieae* isolatlarında skorların 1.700-2.000 aralığında yoğunlaştığı saptandı. Moleküler tanı sonuçları, geliştirilen multipleks PCR protokolünün hem *Aeromonas* türlerini hem de *L. garvieae*'yi tek bir reaksiyon içerisinde başarılı ve hatasız bir şekilde ayırt edebildiği kanıtlandı.

Sonuç olarak; *L. garvieae* ve hareketli *Aeromonas* türlerinin Karkamış Baraj Gölü'ndeki yetiştiricilik faaliyetlerine zarar veren temel etkenler olduğu tespit edildi. Tanı süreçlerinde multipleks PCR kullanımının, konvansiyonel biyokimyasal testlerin sınırlamalarını aşarak hızlı ve doğru teşhis imkânı sunduğu, antibiyotik seçimi ve koruma-kontrol tedbirlerinin ivedilikle alınması açısından kritik bir diyagnostik araç olduğu sonucuna varıldı.

ANAHTAR KELİMELE: Su ürünleri, Balık hastalıkları, Bakteriyel patojenler, Moleküler yöntem, Konvansiyonel yöntemler, *Oncorhynchus mykiss*

ABSTRACT

PHD THESIS

DIAGNOSIS OF BACTERIAL PATHOGENS IN CULTURED TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) WITH CONVENTIONAL AND MOLECULAR METHODS

Muhammed Yaşar DÖRTBUDAK

HARRAN UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL
VETERINARY MICROBIOLOGY

Thesis Advisor: Asst. Prof. Ahmet Murat SAYTEKİN

2. Thesis Advisor: Assoc. Prof. Jehona SHKODRA

Year: 2026, Page: 75

With the increase in global population, the demand for aquaculture products has reached a strategic level, leading to the integration of modern techniques in aquaculture processes and a significant increase in production volume. However, this concentration in production capacity can increase the risks of biological contamination and pathogen pressure in aquatic ecosystems, leading to disruptions in the food security chain.

The aim of this study is to optimize and comparatively analyze methods for the rapid and accurate diagnosis of bacterial pathogens causing mortality in net cage farms in Karkamış Dam Lake using conventional and modern molecular methods (MALDI-TOF MS and Multiplex PCR).

Within the scope of the research, a total of 80 rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) that died showing disease symptoms were sampled from four different farms (A, B, C, D) operating in Karkamış Dam Lake, located within the borders of Birecik district of Şanlıurfa province. The bacteria isolated from the samples brought to the laboratory were; Colony morphology was characterized using conventional microbiological methods such as Gram staining, oxidase, catalase, oxidation-fermentation, and motility tests. MALDI-TOF MS (Bruker Biotyper) analysis was applied for the definitive identification of the obtained isolates; in addition, the multiplex PCR method was optimized for the simultaneous detection of *Aeromonas* species and *Lactococcus garvieae*. As a result of bacterial isolation and identification studies, a total of 64 isolates were identified. The findings revealed that *L. garvieae* (15 isolates) and motile *Aeromonas* species (*A. veronii*, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. ichthiosmia*, *Aeromonas caviae*) are the dominant pathogens causing economic losses in trout farms in the region. MALDI-TOF MS analyses showed high reliability identification of Gram-negative bacteria with scores of 2,000 and above, while *L. garvieae* isolates showed scores concentrated in the 1,700-2,000 range. Molecular diagnostic results proved that the developed multiplex PCR protocol successfully and accurately differentiates both *Aeromonas* species and *L. garvieae* in a single reaction.

In conclusion, *L. garvieae* and motile *Aeromonas* species were identified as the primary factors damaging aquaculture activities in the Karkamış Dam Lake. It was concluded that the use of multiplex PCR in diagnostic processes offers rapid and accurate diagnosis, overcoming the limitations of conventional biochemical tests, and is a critical diagnostic tool for prompt antibiotic selection and the implementation of preventive and control measures.

KEYWORDS: Aquaculture, Fish diseases, Bacterial pathogens, Molecular method, Conventional methods, *Oncorhynchus mykiss*

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Küresel Ölçekte Tanınan Önemli Alabalık Türleri (Aydın, 2009)	4
Çizelge 1.2.	Türkiye’de Tanınan Önemli Alabalık Türleri (Aydın, 2011) . . .	4
Çizelge 1.3.	Alabalık Yetiştiriciliği İçin İdeal Su Kalitesi Parametreleri (Lindhorst-Emme, 1990)	7
Çizelge 1.4.	Alabalık Üretiminde Yoğunluk Kademeleri ve Sistem Parametreleri	8
Çizelge 1.5.	Ağ Kafeslerde Alabalık Yetiştiriciliği İçin Kritik Su Parametreleri (Ruhdel, 1977)	9
Çizelge 3.1.	İşletmeler, ziyaret tarihleri ve alınan balık sayıları	26
Çizelge 4.1.	Ziyaret-1 sonrası alınan numuneler ve izolasyon sayıları	40
Çizelge 4.2.	Ziyaret-2 sonrası alınan numuneler ve izolasyon sayıları	40
Çizelge 4.3.	Ziyaret-3 sonrası alınan numuneler ve izolasyon sayıları	41
Çizelge 4.4.	Ziyaret-4 sonrası alınan numuneler ve izolasyon sayıları	41
Çizelge 4.5.	Ziyaret-5 sonrası alınan numuneler ve izolasyon sayıları	41
Çizelge 4.6.	Bakteriyel izolasyon ve identifikasyon sonuçları	42
Çizelge 4.7.	MALDİTOF - MS Sonuçları 1	46
Çizelge 4.8.	MALDI-TOF MS Sonuçları - 2	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1.	Deride lezyon	37
Şekil 4.2.	Solungaçlarda lezyon	38
Şekil 4.3.	Karaciğerlerde solgunluk	38
Şekil 4.4.	Karın içinde kanamalar	39
Şekil 4.5.	Karında asites	39
Şekil 4.6.	MALDI-TOF MS Tür Dağılım Sayısı	51
Şekil 4.7.	<i>Aeromonas</i> türlerinin cins seviyesinde tanımlanmasına ait bir görüntü	52
Şekil 4.8.	<i>Aeromonas</i> türleri ve <i>Lactococcus garvieae</i> tanısında kullanılan multipleks PCR sonrası jel elektroforez görüntüsü	53

KISALTMALAR

DNA	Deoksiribonükleik Asit
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)
rRNA	Ribozomal RNA
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
GAP	Güneydoğu Anadolu Projesi
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
MAS	Motile Aeromonas Septicemia
CFU	Koloni Oluşturan Birim (Colony Forming Unit)
MR	Metil Red
NA	Nutrient Agar
ONPG	β -galaktozidaz Testi (Ortho-Nitrophenyl- β -D-galactopyranoside)
VP	Voges-Proskauer
O/F	Oksidasyon / Fermantasyon
SBV	Asit Bağlama Kapasitesi (Säure bindungs vermögen)
TSA	Triptik Soy Agar (Tryptic Soy Agar)
AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism)
API	Analitik Profil İndeksi (Analytical Profile Index)
BHIA	BHIA: Beyin Kalp İnfüzyon Agar (Brain Heart Infusion Agar)
RS	Rimler-Shotts Agar

SİMGELER

°C	Santigrat derece
CO₂	Karbondioksit
pH	Aktif asitlik
g	gram
KMnO₄	Potasyum Permanganat
kg	Kilogram
m²	metrekare

1. GİRİŞ

Küresel nüfus artışıyla beraber şiddetli hale gelen beslenme sorunları, yüksek biyolojik değerli protein kaynağı olan su ürünlerine yönelik talebi stratejik bir düzeye taşımıştır. Bu talebin sürekli ve ekonomik bir modelle karşılanması, mevcut stokların korunması ve üretim süreçlerinin optimizasyonu mümkündür. Bu doğrultuda, Türkiye’de de dünya genelinde olduğu gibi su ürünleri sektörü iyice ivme kazanmış; modern yetiştiricilik tekniklerinin entegrasyonu ile üretim miktarlarında her geçen yıl ciddi bir artış gözlenmiştir.

Ancak üretim kapasitesindeki bu yoğunlaşma ile sucul ekosistemlerde doğal veya toplumsal kaynaklı meydana gelebilecek biyolojik kontaminasyon riskleri de artmaktadır. Hastalık yapıcı bakteriyel, viral, fungal ve paraziter etkenler, yalnızca yetiştiriciliği yapılan türlerin sağlığını ve refahını tehdit etmekle kalmayıp, zoonotik karakterlerinden dolayı halk sağlığı açısından da önemli bir risk oluşturmaktadır. Özellikle yoğun yetiştiricilik ortamlarında patojen baskısının artması, gıda güvenliği zincirinde kırılmalara yol açabilmektedir.

Enfeksiyöz ajanların hızlı, spesifik ve güvenilir bir şekilde identifikasyonu, hem klinik müdahalelerin etkinliği hem de endüstriyel sürdürülebilirlik açısından kritik öneme sahiptir. Patojenlerin identifikasyonunda kullanılan konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerde; uzun inkübasyon süreleri, yoğun iş gücü gereksinimi ve düşük duyarlılık gibi durumlar, modern diyagnostik yaklaşımların geliştirilmesini zorunlu hale getirmektedir. Günümüzde, alternatif olarak geliştirilen ileri kimyasal analizler, moleküler teknikler ve hızlı tanı kitleri; daha kısa sürede, yüksek doğruluk payı ile sonuç vererek su ürünleri mikrobiyolojisi çalışmalarında da öncelikli tercih haline gelmektedir.

1.1. Kültür balıkçılığı ve önemi

Yıllık 130 milyon ton civarında balık istihsalinin gerçekleştirildiği su ürünleri sektörü, küresel ölçekte ticari hareketliliği en yüksek gıda kalemi konumunda olup toplam dünya rekoltesinin yaklaşık %40’ına tekabül eden ve 22 milyon tonu geçen bir miktar uluslararası ticarete arz edilmektedir. Yakın dönem makroekonomik göstergelerine göre bu hareketlilik, küresel pazarda 55 milyon dolarlık bir ihracat hacmi ile 60 milyon dolar tutarında bir ithalat girdisi oluşturmuştur. 2022 yılı itibarıyla küresel su ürünleri üretimi 223,2 milyon ton ile

rekor seviyeye ulaşmıştır (FAO, 2024). Yetiştiricilik yoluyla elde edilen sucul canlı üretimi (94,4 milyon ton), avcılık miktarını (91 milyon ton) ilk kez geride bırakarak toplam üretimin %51'ini oluşturarak sektörel bazda tarihi bir dönüm noktası olmuştur (FAO, 2024).

Türkiye'de su ürünleri sektörü, 26,1 milyon hektarlık üretim alanıyla Avrupa ve bölge coğrafyasında stratejik bir konumdadır (Demir ve Sönmez, 2012). TÜİK (2024/2025) verilerine göre, 2024 yılında Türkiye'nin toplam su ürünleri üretimi 933 bin 194 ton olarak gerçekleşmiş, bu üretimin 577 bin 124 tonu yetiştiricilikten, 356 bin 70 tonu ise avcılıktan sağlanmıştır. Bu rakamlara göre, Türkiye'nin yetiştiricilik odaklı büyüme stratejisinin istikrarlı bir şekilde devam ettiği, ancak toplam üretimde iklimsel ve stok bazlı faktörlere bağlı olarak bir önceki yıla göre yaklaşık %7,6 oranında bir daralma yaşadığı görülmektedir (TÜİK, 2025).

Tüketim projeksiyonlarına bakıldığında, küresel ölçekte kişi başı yıllık su ürünleri tüketimi 20,7 kg seviyesine yükselirken, Türkiye'de bu miktar 7,1 kg dolaylarında kalmaktadır (FAO, 2024; Tarım ve Orman Bakanlığı, 2024). Avrupa Birliği ülkelerinde ortalama tüketimin 22 kg olduğu dikkate alındığı zaman, Türkiye'nin mevcut potansiyelini iç pazar tüketimine kanallize etmesi ve halk sağlığı açısından hayvansal protein arzını bu yönde 2-3 kat arttırması gerekliliği önemini korumaktadır (Saygı, 2024).

1.2. Dünyada Su Ürünleri Üretimi

Dünya genelinde su ürünleri üretimi, artan nüfusun hayvansal protein ihtiyacını karşılamada stratejik düzeyde çok önemlidir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre tarihsel olarak, 2016 yılı itibarıyla toplamda 171 milyon tonluk üretimin yaklaşık 91 milyon tonu avcılık, 80 milyon tonu ise yetiştiricilikle sağlanmıştır (FAO, 2018; Tarım ve Orman Bakanlığı, 2025). Su kaynakları kullanım yoğunluğu açısından avcılık faaliyetleri denizlerde 79,3 milyon ton ile iç sulara oranla daha baskın olduğu, yetiştiriciliğin ise tam aksine iç sularda 51,4 milyon ton ile denizlerden elde edilen 28,7 milyon tona göre daha yüksek bir hacme ulaştığı saptanmıştır (FAO, 2018). Kişi başı su ürünleri tüketimi ise dünya genelinde 20 kg sınırını aşmış durumdadır.

1.3. Türkiye’de Su Ürünleri Üretimi

Türkiye, sahip olduğu konum ve su kaynakları zenginliği ile Akdeniz havzasında önemli bir üretici konumundadır. Kültür balıkçılığı faaliyetleri 1970’li yıllarda alabalık üretimiyle başlayarak, 1990’lardan sonra atağa geçmiş 2000’li yılların başında toplam üretim içerisindeki payını %3’ten %11’e taşımıştır (Aydın, 2017). Günümüzde bu oran %50 eşliğini aşarak avcılık miktarını geride bırakmıştır. 2024 ve 2025 yıllarında Türkiye’nin toplam üretimi 900 bin tonun üzerine çıkarken, yetiştiricilik kapasitesi de 600 bin ton seviyelerine ulaşmıştır (TÜİK, 2025).

Zengin su kaynaklarına ve yüksek üretim potansiyeline rağmen Türkiye’nin dünya üretiminde payının yaklaşık %0,3 ile potansiyelinin altında kalmasındaki en temel etken, geleneksel beslenme alışkanlıklarıdır (Başruh, 2013). Kişi başına tüketilen su ürünleri miktarı, dünya ve avrupa ortalamalarının gerisinde kalmaktadır. Sürdürülebilir sektörel yapı açısından, iç pazardaki tüketim kalıplarında modernizasyon ve yoğun yetiştiricilik ortamlarında karşılaşılan mikrobiyolojik riskler minimize edilmesi kritik bir zorunluluk olarak görülmektedir.

1.4. Kültür balığı olarak Alabalık

Ülkemizde tatlısularda yetiştiriciliği yapılan balık türleri arasında Gökkuşaağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), tarihsel olarak ilk sırada yer almaktadır. Küresel ölçekte alabalık yetiştiriciliğinde 17. sırada yer alan Türkiye, yerel bazda lider konumdadır. Alabalığı sırasıyla denizlerde üretilen Avrupa Deniz Levreği (*Dicentrarchus labrax*) ve Çipura (*Sparus aurata*) takip etmektedir (TÜİK, 2018; FAO, 2018). Özellikle bu iki deniz türü, Avrupa Birliği ülkelerine ihraç edilen tek hayvansal protein kaynağı olması bakımından Türkiye ekonomisi için yüksek katma değer yaratmaktadır (Bayram ve Altunçipek, 2008). Alabalıklar, ekolojik olarak berrak, düşük sıcaklıklı ve çözünmüş oksijen konsantrasyonu yüksek suları tercih eden, *Salmonidae* familyasının ekonomik değeri yüksek olan üyeleridir. Morfolojik olarak karakteristik bir Adipoz yüzgeç (yağ yüzgeci) ile tanımlanan bu türler, su ürünleri mikrobiyolojisi çalışmalarında özellikle mukoza bariyerleri ve deri bütünlüğü açısından patojen girişine karşı hassastırlar. *Salmonidae* familyası içerisinde hem ekonomik yetiştiricilik hem de doğal stokların balıklandırma açısından kritik önem arz eden türler,

temel olarak üç ana cins altında toplanmaktadır: *Salmo*, *Salvelinus* ve *Oncorhynchus*. Küresel literatürde en çok tanınan ve biyoteknik özellikleri tanımlanmış alabalık türleri Çizelge 1’de özetlenmiştir (Aydın, 2009). Türkiye’nin içsu faunası incelendiğinde, *Salmo platycephalus* ile *Salmo trutta abanticus*’un coğrafyaya özgü endemik taksonlar olduğu görülmektedir. Buna karşın, yerli ekosisteme ait olmayıp dışarıdan dahil edilen yabancı (egzotik) bileşenler arasında *Salmo salar*, *Oncorhynchus mykiss*, *Salvelinus alpinus*, *Salvelinus fontinalis* ve *Coregonus lavaretus* yer almaktadır (Polat vd., 2011).

Çizelge 1.1. Küresel Ölçekte Tanınan Önemli Alabalık Türleri (Aydın, 2009)

Bilimsel Adı	Türkçe Karşılığı
<i>Salmo salar</i>	Atlantik Salmonu
<i>Salmo trutta f.trutta</i>	Deniz alabalığı
<i>Salmo trutta f.fario</i>	Dere alabalığı
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Gökkuşağı alabalığı
<i>Salvelinus fontinalis</i>	Kaynak alabalığı
<i>Salvelinus alpinus</i>	Alp alabalığı
<i>Salhvelinus namaycush</i>	Göl alabalığı

Ülkemizin biyolojik çeşitliliği içerisinde yer alan endemik ve yerel alabalık alt türleri (Çizelge 2) ise sucul ekosistemlerimizin genetik zenginliğini oluşturmaktadır (Çelikkale, 1994). Bu alt türler koruma biyolojisi ve yerel yetiştiricilik potansiyeli açısından stratejik öneme sahiptir (Aydın, 2011).

Çizelge 1.2. Türkiye’de Tanınan Önemli Alabalık Türleri (Aydın, 2011)

Bilimsel Adı	Türkçe Karşılığı
<i>Salmo trutta macrostigma</i>	Anadolu Dağ alabalığı
<i>Salmo trutta abanticus</i>	Abant alabalığı
<i>Salmo trutta caspius</i>	Aras alabalığı
<i>Salmo trutta labrax</i>	Karadeniz alabalığı
<i>Salmo trutta f. lacustris</i>	Göl alabalığı

1.4.1. Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yetiştiriciliği

Kuzey Amerika kökenli tür olan Gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss*), sahip olduğu yüksek adaptasyon yeteneğiyle dünya genelinde endüstriyel bir önem kazanmıştır. Türün, diğer alabalık türlerine göre daha hızlı yayılmasının temel nedenleri arasında değişen ekolojik koşullara yüksek adaptasyon kabiliyeti, nispeten yüksek su sıcaklıklarına karşı gösterdiği fizyolojik direnç, aktif beslenme davranışı sergilemesi, yüksek yem değerlendirme oranı, hızlı büyüme performansı ve embriyonik gelişim evresinde benzer türlere kıyasla daha kısa sürede gelişimini tamamlaması sayılabilir (Steffens, 1981).

Türkiye’de 1970’li yıllarda başlayan *O. mykiss* yetiştiriciliği, 1990’lı yıllardan itibaren modern tesislere dönüşerek büyük bir gelişim kaydetmiştir. Günümüzde Türkiye, Gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss*) üretiminde küresel bir güç haline gelmiş ve katma değerli işlenmiş ürünleri Avrupa pazarına ihraç eden lider ülkeler arasında yer almaktadır (Özgür vd., 2015).

1.4.1.1. Alabalık Yetiştiriciliğinde Su Kaynakları ve Kalite Parametreleri

Alabalık yetiştiriciliğinde kullanılacak su kaynağının fizikokimyasal ve mikrobiyolojik niteliği, işletme başarısını ve balık sağlığını belirleyen en temel unsurdur. Su ürünleri mikrobiyolojisi açısından suyun kökeni, ortamdaki fırsatçı patojenlerin (örneğin *Flavobacterium spp.* veya *Aeromonas spp.*) kolonizasyon hızını ve balıkların immün direncini doğrudan etkilemektedir.

1.4.1.1.1. Su Kaynağı Tipleri ve Karakteristikleri

Alabalık üretiminde yararlanılan su kaynakları, hidrolojik özelliklerine göre dört ana kategoride sınıflandırılmaktadır:

Kaynak Suları: Yüzey katmanlarından (yaklaşık 40 m) çıkan sular, meteorolojik olaylara bağlı olarak debi ve kalite dalgalanmaları gösterse de genellikle yüksek çözünmüş oksijen (O_2) ve düşük karbondioksit (CO_2) seviyelerine sahiptir. Buna karşın, 1000 m ve üzeri derinliklerden gelen kaynak suları termal ve kimyasal açıdan stabil olmakla birlikte, düşük oksijen (<4 mg/L) ve yüksek karbondioksit (>50 ppm) seviyeleri nedeniyle havalandırma gerektirmektedir.

Dere ve Irmak Suları: Bu akarsuların kaynak çıkış noktasına yakın kesimleri mikrobiyolojik ve kimyasal açıdan yüksek saflıktadır. Ancak orta ve alt havzalar; tarımsal drenaj, endüstriyel deşarj ve evsel atıkların baskısı altındadır. Akarsuların sıcaklık rejimleri (6-12°C) mevsimsel olarak değişkendir.

Göl ve Gölet Suları: Bu sular genellikle yüksek oksijen doygunluğuna sahiptir. Ancak derinliği 10 m'yi aşan göllerde termal tabakalaşma (stratifikasyon) gözlenir. Yaz aylarında yüzey sıcaklığı 20°C'ye ulaşabilirken, derinliğe bağlı olarak 15-16 °C seviyelerinde uygun sıcaklık katmanları bulunabilmektedir.

Yeraltı Suları: Kalite ve miktar açısından en stabil kaynaklardır. Ancak yeraltı sularının yüzeye taşınması yüksek enerji maliyeti gerektirir ve bu suların biyolojik üretkenlik öncesinde oksijen yönünden zenginleştirilmesi şarttır (Leitritz, 1974).

1.4.1.1.2. Su Kalitesi ve Kritik Parametreler

Yetiştiricilik ortamında sürdürülebilir bir ekosistem tesisi için su miktarındaki stabilite ile kalite arasındaki korelasyonun korunması elzemdir. Su miktarındaki ani azalmalar, metabolik atıkların (amonyak, nitrit vb.) konsantrasyonunu artırarak balıklarda strese ve dolayısıyla bakteriyel enfeksiyonlara karşı duyarlılığa yol açar. Alabalık yetiştiriciliği için optimize edilmiş kalite parametreleri ve eşik değerleri Çizelge 3'te sunulmuştur (Lindhorst-Emme, 1990).

Çizelge 1.3. Alabalık Yetiştiriciliği İçin İdeal Su Kalitesi Parametreleri (Lindhorst-Emme, 1990)

Parametre	Sınır Değeri
Sıcaklık	20°C'a kadar
Oksijen	7 mg/l't'nin üzerinde
PH	5,5-8,5
Asit Bağlama Kapasitesi (SBV)	1,5 Vol/m ³ 'ün üstünde
Ammonium	1,0 mg/l't'e kadar
Demir, toplam	0,5 mg/l't'e kadar
Nitrit	0,2 mg/l't'e kadar
Nitrat	10 mg/l't'e kadar
Potasyum permanganat tüketimi (KMNO ₄)	40 mg/l't'e kadar
Kimyasal oksijen gereksinimi	40 mg/l't'e kadar
Biyokimyasal oksijen gereksinimi	15 mg/l't'e kadar
Oksijen tüketimi	6 mg/l't'e kadar
Serbest CO ₂ (Larva)	15 ppm/l't'nin altında
Serbest CO ₂ (Sofralık balık)	30 ppm/l't'nin altında

1.4.1.1.3. Suda Hidrolojik Debi ve Balık Üretim Kapasitesi İlişkisi

Alabalık yetiştiriciliğinde birim alandan elde edilecek toplam balık miktarı, suyun fizikokimyasal kalitesinin yanında doğrudan suyun debisi ile korelasyon içerisindedir. Bu süreçte su miktarıyla beraber yetiştirme sistemi ve sistemdeki teknolojik donanımlar sınırlayıcı rol oynamaktadır. 1000 m² yüzey alana sahip bir havuz sistemi için saniyede 8 litre debisi olan bir su kaynağı temel gereksinim olarak kabul edilmektedir. Herhangi bir teknik modifikasyonun uygulanmadığı geleneksel sistemlerde, bu debi yılda yaklaşık 400-500 kg alabalık üretimi gerçekleştirilebilirken; sisteme havalandırma gibi ilave tekniklerle üretim 1500-2000 kg/yıl seviyelerine çıkarılabilmektedir. Havuz yapısı su ihtiyacını etkileyen bir değişkendir. 1000 m²'den büyük ve 3 metre derinlikteki havuzlarda, rüzgârın etkisiyle oluşan yüzeysel dalgalanmaların doğal oksijen transferine katkı sağlaması nedeniyle birim hacim başına düşen su ihtiyacı nispeten azalmaktadır. Buna karşın, akarsu kanalları gibi

yoğun üretim sistemlerinde, metabolik atıkların ortamdaki hızla uzaklaştırılması gerekliliği nedeniyle geleneksel havuzlara oranla 10-20 kat daha fazla su değişimi gerekmektedir. Bu doğrultuda, 1000 m² yüzleminde bir kanal tipi işletmede saniyede 80-160 litre debili su girişi elzem hale gelmektedir. İşletme modelleri ve kullanılan teknolojiye göre alabalık üretimindeki yoğunluk aşamalarıyla teknik gereksinimler Çizelge 4’te sunulmuştur. Üretim yoğunluğu arttıkça, birim hacimdeki balık sayısı da artmakta ve mikrobiyolojik yükün kontrol altına alınması için daha hassas bir su kalitesi yönetimini zorunlu kılmaktadır (Lindhorst-Emme, 1990).

Çizelge 1.4. Alabalık Üretiminde Yoğunluk Kademeleri ve Sistem Parametreleri

Üretim Yoğunluğu	Tesis Türü	Su Yönetimi	Oksijen Takviyesi
Ekstansif	Geleneksel Toprak Havuz	Düzenli Akıntı	Gerekirse Havalandırma
Yoğun (İntansif)	Kanal Tipi Havuz / Ağ Kafes	Düzenli Akıntı / Çevreleyen Su	Havalandırma / Oksijenlendirme
Çok Yoğun (Hiper-İntansif)	Tank - Silo / Kapalı Devre Tank	Dolaşım Su Değişimi	Havalandırma ve Oksijenlendirme

1.4.1.2. Ağ Kafeslerde Alabalık Yetiştiriciliği Teknikleri

Ağ kafeslerde fingerling (parmak boy) ve Sofralık alabalık üretimi gerçekleştirilmektedir.

1.4.1.2.1. Fingerling Yetiştiricilik Stratejileri

Ağ kafeslerde fingerling (parmak boy) aşamasındaki yavruların yetiştirilmesi, sofralık (porsiyonluk) balık üretimine göre belirli teknik kısıtlamalar ve operasyonel zorluklara sahiptir. Bu kısıtlamaların temelinde, küçük boyutlu yavruların kafesten kaçışını önlemek amacıyla kullanılması gereken dar göz açıklığına sahip ağlar yer almaktadır. Ortalama 1 g ağırlığındaki yavrular için 4 mm göz açıklığına sahip ağların kullanımı zorunlu olduğundan bu tip dar gözenekli ağlar, sucul ortamdaki biyolojik birikim nedeniyle hızla tıkanmakta ve kafes içi su değişimini kritik düzeyde engellemektedir (Aydın, 2009).

Söz konusu risklerin minimize edilerek optimal su sirkülasyonunun sağlanması için kafeslere stoklanacak yavruların minimum 2 g ağırlığa ulaşmış olması ve 6 mm göz açıklığına

sahip ağların kullanılması gerekmektedir. Yavru balık yetiştiriciliğinde stok yoğunluğu genellikle 300-500 adet/m³ bandında tutulmaktadır. Büyüme sürecinde, balık boyu ile ağ göz açıklığı arasında doğrusal bir ilişki gözetilerek 1 cm balık boyuna 1 mm ağ gözü olacak şekilde periyodik olarak ağ değişimleri gerçekleştirilmelidir (Steffens, 1981). Bu süreçte suyun değişim oranının korunması, mikrobiyal yük ve metabolik atıkların ortamdaki uzaklaştırılması açısından oldukça önem taşımaktadır.

1.4.1.2.2. Sofralık Alabalık Üretimi

Sofralık alabalıkların kafeslerde üretimi, doğal göller, baraj rezervuarları ve büyük sulama kanalları gibi su kütlelerinde, balıkların ağ torbalar içerisinde kontrollü bir şekilde büyütülerek çoğaltılması esasına dayanır. Türkiye’de denizlerdeki çipura ve levrek yetiştiriciliğindeki teknolojik gelişmelerle beraber iç su kaynaklarında da ağ kafeslerde alabalık üretimi ivme kazanmıştır (Atay, 1995).

Kafes sistemlerinde yetiştiricilikte suyun fizikokimyasal parametrelerinin alabalık fizyolojisine uygunluğu biyolojik başarının temel şartıdır. Mikrobiyolojik olarak yüksek sıcaklık ve düşük oksijen seviyeleri patojenlerin virülansını artırırken balığın immün sistemini de baskılamaktadır. Kafeslerde sağlıklı sürdürülebilir bir üretime gerekli olan sınır değerler Çizelge 5’te sunulmuştur (Ruhdel, 1977).

Çizelge 1.5. Ağ Kafeslerde Alabalık Yetiştiriciliği İçin Kritik Su Parametreleri (Ruhdel, 1977)

Nitelik	Miktar
Su sıcaklığı	20°C’nin altında
Oksijen	6 mg/l’tin üzerinde (sabah)
pH	8’in altında
NH ₄	0,5 mg/l’tin altında
Zehirli madde	Olmamalı
Su derinliği	4 m’nin üzerinde
Oksijen tüketimi	600 g/ton/saat

1.4.1.3. Alabalık Yetiştiriciliğinde Hastalık Yönetimi ve Ekonomik Etkileri

Su ürünleri yetiştiriciliğinde sürdürülebilirlik ve kârlılığı tehdit eden en birincil unsurların başında enfeksiyöz hastalıklar gelmektedir. Özellikle yoğun entansif üretim modellerinde patojen baskısının artmasıyla, işletmelerin ekonomik yapısı doğrudan sarsılmaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde üretim periyodu boyunca meydana gelen kayıpların yaklaşık %50'si doğrudan hastalıklara bağlı olarak ortaya konulmaktadır. Bu durum küresel ölçekte yıllık yaklaşık 6 milyar dolarlık bir gelir kaybı olarak tahmin edilmektedir (Assefa ve Abunna, 2018).

Balıklarda patolojik tablonun klinik olarak şekillenmesi, çok boyutlu bir etkileşim sonucundadır. Balık patolojisinde "Hastalık Üçgeni" olarak tanımlanan bu modelde balığın fizyolojik durumu, patojenin virülansı ve çevresel stres unsurları arasındaki denge önemlidir. Hastalığın ortaya çıkışında rol oynayan temel bileşenler, balığın yaşı, genetik direnci, beslenme durumu ve mukozal bağışıklık düzeyi, bakteriyel, viral veya paraziter etkenin enfektif dozu, doku tropizmi, ani sıcaklık değişimi, düşük çözünmüş oksijen, yüksek amonyak, yetersiz hijyen protokolleri ve yüksek stoklama yoğunluğu olarak gözlenmiştir. Bu üç bileşen arasındaki denge bozulduğunda, balığın immün sistemi baskılanarak normalde sucul florada bulunan fırsatçı patojenler de septisemik salgınlara yol açabilmektedir (Austin ve Austin, 2007).

1.5. Karkamış Baraj Gölü ve Limnolojik Özellikleri

Su kaynaklarının sürdürülebilir yönetimi ve enerji üretimi gibi sosyoekonomik amaçların ötesinde Baraj gölleri, sucul biyoçeşitliliğin korunması, su ürünleri üretim faaliyetleri ve sulama gibi çok yönlü çevresel özelliklere sahip yapay ekosistemlerdir (UNESCO/IHA, 2008; Chowdhury ve Al-Zahrani, 2014). Akarsu yatağının baraj gölüne dönüşmesiyle suyun fizikokimyasal yapısı, tür kompozisyonu ve trofik seviyesi belirgin bir şekilde değişime uğrar. Bu dinamik süreçlerin takibi, sucul kaynakların ekolojik düzeni açısından kritik önem taşımaktadır (Küçükyılmaz vd., 2014).

Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP) kapsamında inşa edilen Karkamış Barajı ve Hidroelektrik Santrali (HES), Fırat Nehri üzerinde, Suriye sınırına 4,5 km mesafede konumlanmaktadır. 1985-2000 yılları arasında inşa edilen Türkiye'de "nehir tipi santral"

modelinin ilk örneği olması bakımından özgündür. Barajın gövde hacmi 2.100.000 m³, rezervuar hacmi 157,00 hm³, göl alanı ise 28,40 km² olarak belirlenmiştir (T.C. Çevre, Şehircilik ve İklim Değişikliği Bakanlığı, 2022). Karkamış Baraj Gölü'nün limnolojik yapısı, mikrobiyolojik üretkenliği doğrudan etkileyen birincil parametrelerle ifade edilmektedir. Gölün trofik durumu ile ilgili araştırmalar, sistemin oligotrofik seviyeden mezotrofik seviyeye geçiş eğilimini göstermektedir. Toplam Azot ve Toplam Fosfor oranları analizinde, göldeki biyolojik üretkenliği fosforun sınırladığı saptanmıştır (Tepe vd., 2018). Yerüstü Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliğine göre, Karkamış Baraj Gölü'nün suyu "I. Sınıf Yüksek Kaliteli Su" kategorisinde yer almaktadır. Bu sınıflandırma, suyun içme suyu potansiyeli, rekreasyonel kullanım ve alabalık yetiştiriciliğine uygun fizikokimyasal koşullar taşıdığını ifade eder. Göl suyu genel olarak alkali bir karakter sergilemekte ve bölgedeki diğer göllere kıyasla yüksek çözünmüş iyon içeriğine bağlı olarak belirgin bir elektriksel iletkenlik değerine sahiptir. İstasyonlar arasındaki parametrik benzerlikler de göl içerisinde yüksek bir alansal homojenitenin varlığını kanıtlamaktadır (Tepe ve Kutlu, 2019).

1.5.1. Karkamış Baraj Gölü'nde Alabalık Yetiştiriciliği

Aşağı Fırat Havzası'ndaki su ürünleri yetiştiricilik faaliyetleri temel olarak ağ kafes sistemlerinde Gökkuşuğu alabalığı (*O. mykiss*) üretimine dayanmaktadır (Kuzucu ve Büyükçapar, 2018). Havzanın stratejik bir alt birimi olan Karkamış Baraj Gölü, sahip olduğu su kalitesi ve termal rejimi sayesinde Gökkuşuğu alabalığı (*O. mykiss*) yetiştiriciliği için elverişli bir ortam sunmaktadır. Güncel verilere göre, Karkamış Baraj Gölü rezervuarında aktif olarak faaliyet gösteren 28 adet işletme ve bu işletmelerin yavru ihtiyacını destekleyen 2 adet kuluçkahane bulunmaktadır (Şanlıurfa İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, 2025).

Bu araştırmanın materyali, Karkamış baraj gölünde faaliyet gösteren ve bölgedeki su ürünleri üretim kapasitesinin temelini oluşturan ağ kafes işletmeleri oluşturmaktadır. Mikrobiyolojik örneklemeler bu işletmelerin mevcut kapasiteleri ve yetiştiricilik pratikleri göz önünde bulundurularak gerçekleştirilmiştir.

1.6. Gökkuşuğu Alabalıklarında *Aeromonas* ve *Lactococcus* Enfeksiyonları

Gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliğinde ekonomik sürdürülebilirliği tehdit eden en kritik faktörlerin başında, yüksek mortalite oranlarına sebep olan bakteriyel patojenlerin (*Aero-*

monas salmonicida, *Vibrio anguillarum*, *L. garvieae* ve *Yersinia ruckeri*) neden olduğu enfeksiyonların sektörel bazda önemli ekonomik kayıplara yol açtığı vurgulanmaktadır (Akinbowale vd., 2006).

Özellikle *L. garvieae* kaynaklı laktokokkozis hastalığında ekzoftalmus, korneal opasite, deride kararma ile operkulum ve yüzgeç tabanlarındaki hemorajik odaklar ile tanınmaktadır (Eldar ve Ghittino, 1999). *A. salmonicida* suşlarının neden olduğu Frunkulozis hastalığı, akut formda %90'a varan mortalite oranlarına ulaşırken, kronik vakalarda kas dokusunda karakteristik frunküler oluşumu ve ülseratif lezyonlar gözlenmektedir (Kırcan vd., 2003).

1.6.1. *Aeromonas* Enfeksiyonları

Etiyoloji

Sucul ekosistemlerde yaygın bulunan *Aeromonas* cinsi, mikrobiyolojik açıdan iki temel grupta kategorize edilir:

- **Hareketli (Motil) *Aeromonaslar*:** Hareketli *Aeromonas* Septisemisi (MAS) tablosunun birincil etkenidirler (Austin ve Austin, 2007). Gram negatif, 0,8-1,0 x 1,0-3,5 µm boyutlarında, polar kamçıya sahip basillerdir (Li vd., 2022). Geniş bir termal adaptasyon kapasitesine (5-37 °C) sahip olmaları hem soğuk hem de ılık su balıklarında virülans göstermelerine olanak tanır (Austin ve Austin, 2012; Cipriano ve Austin, 2011).
- **Hareketsiz (Non-motil) *Aeromonaslar* (*A. salmonicida*):** Furunkulozis hastalığının etkenidir. Psikrofilik karakterde olup, hareketli olanların aksine 37 °C'de üreyemezler (Roberts, 2012). Fenotipik özelliklerine göre dört alt türe ayrılırlar: *subsp. salmonicida*, *subsp. masoucida*, *subsp. achromogenes* ve *subsp. smithia* (Bergey, 1994; Martin-Carnahan ve Joseph, 2005).

Epidemiyoloji

Aeromonas türleri sucul ekosistemlerin sediment ve su kolonunda yaygın olarak bulunduklarından, sağlıklı bireylerin intestinal mikroflorasının doğal bir bileşeni ve tipik "fırsatçı patojenler" olarak kabul edilirler (Trust vd., 1974; Allen vd., 1983). *A. salmonicida* günümüzde 50'den fazla tatlı su ve deniz balığı türünde rapor edilmiştir (Cipriano ve Austin,

2011). Atlantik somonu (*Salmo salar*) en hassas türken, gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) daha dirençli kabul edilir (Li vd., 2022).

Ülkemizde *A. hydrophila* ilk kez 1980’de (Eskişehir); *A. salmonicida* ise 1999’da (Marmara Bölgesi, gökkuşağı alabalığı yavruları) rapor edilmiştir (Öztürk ve Altınok, 2014; Timur vd., 1999).–Kışın inaktif kalan balıklarda kolonize olan bakteriler, su sıcaklığının yükseldiği bahar aylarında sepsisemik salgınlara yol açar (Hazen, 1979).

Patogenezis

Hastalığın klinik seyri büyük ölçüde konakçı üzerindeki stres faktörlerine ve immünoşüpresyon sürecine bağlıdır.

Entansif yetiştiricilikteki yüksek stok yoğunluğu, düşük çözünmüş oksijen, yüksek amonyak ve CO₂ konsantrasyonları balığın bağışıklığını baskılayarak bakteriyel virülansı tetikler (Walters ve Plumb, 1980; Roberts, 2012).

Deneyisel veriler, enfeksiyonun 9,4 °C ve üzerindeki sıcaklıklarda geliştiğini, bu sınırın altında patojenitenin kısıtlandığını göstermektedir (Groberg vd., 1978).

Klinik Semptomlar

- **MAS (Hareketli Aeromonad Sepsisemi):** Renkte kararma, iştahsızlık, tek veya çift taraflı ekzoftalmus, yüzgeçlerde erime ve yüzgeç kaidelerinde noktasal kanamalar tipiktir (Austin ve Austin, 2016). Akut formda belirti görülmeden ani mortalite, kronik formda ise ilerleyici deri lezyonları gözlenir (Huizinga vd., 1979).
- **Furunkulozis:** Letarji ve iştahsızlık eşlik eder. Erişkin balıklarda kas dokusunda lokalize ”frunkul” (apse benzeri şişlikler) hastalığın patognomonik işaretidir (Roberts, 2012).

Nekropsi Bulguları

- **Dış Muayene:** Abdominal ödem (asites), deride nekrotik lezyonlar, kas dokusunda ülserasyonlar ve yüzgeçlerde hemorajik odaklar gözlenir (Austin ve Austin, 1985; Rattanachaikunsopon ve Phumkhachorn, 2012).
- **İç Muayene:** Karın boşluğunda sero-hemorajik sıvı, iç organlarda ve kas duvarında peteşiyel kanamalar görülür (Austin ve Austin, 2007).
- **Histopatoloji:** Böbrek, karaciğer ve dalak gibi hematopoetik organlarda yaygın nekroz,

hemoraji ve hiperemi; dermal tabakada ödem ve doku bütünlüğünün bozulması gözlenir (Roberts, 2012).

Laboratuvar Tanıları

Tanı, klinik bulguların bakteriyolojik izolasyon ve kültürel karakterizasyonla teyit edilmesine dayanır.

Sistemik enfeksiyonlarda primer organ olarak **böbrek** tercih edilmelidir.

A. hydrophila, TSA veya NA (genel), Rimler-Shotts (selektif) besiyerlerinde 20-25 °C’de 24-48 saatte krem renkli, konveks koloniler oluşturur (Jr ve Rimler, 1973).

A. salmonicida, TSA üzerinde 20-25 °C’de 3-4 günlük inkübasyon gerektirir. Tirozin oksidasyonu sonucu oluşan **koyu kahverengi pigment** karakteristiktir (Austin ve Austin, 2007).

Akromojenik suşların varlığı unutulmamalıdır.

Koruma, Kontrol ve Tedavi

Daha önce belirtilen etiyolojik verilere dayanarak; kontrol stratejileri çevresel parametrelerin optimizasyonuna odaklanmalıdır.

Su kalitesinin korunması (oksijenin artırılması, amonyak ve CO₂ seviyelerinin düşürülmesi) ve stok yoğunluğunun azaltılması birincil önlemdir (Walters ve Plumb, 1980).

Patojenin sucul bitkilerde ve yumurtalarda persiste olabildiği göz önüne alınarak (Allen vd., 1983), kuluçkahane hijyenine ve yumurta dezenfeksiyonuna önem verilmelidir.

Tedavide enfeksiyon durumları dikkatlice değerlendirilerek mutlaka antibiyogram sonucuna göre uygun kemoterapötikler seçilmelidir. Özellikle düşük sıcaklıklarda patojenitenin sınırlandığı bilgisi (Groberg vd., 1978), termal yönetimin önemini açığa çıkartmaktadır.

1.6.2. *Lactococcus* Enfeksiyonları

Etiyoloji

Laktokokkozis’in birincil etkeni olan *L. garvieae*, mikrobiyolojik açıdan şu özelliklerle karakterize edilir:

- **Morfoloji ve Boyanma:** Gram-pozitif, sporsuz, hareketsiz ve oval yapılı bir kok bakterisidir (0,7-1,4 µm çapında). Sıvı besiyerlerinde karakteristik kısa zincirler oluşturma eğilimindedir (Timur vd., 2011).
- **Kültürel Özellikler:** Fakültatif anaerobdur. Kanlı agarda alfa-hemoliz özelliği göstererek yaklaşık 1 mm çapında, gri-beyaz koloniler oluşturur (Timur vd., 2011).
- **Termal Adaptasyon:** 10-45 °C gibi geniş bir sıcaklık yelpazesinde üreyebilmekle birlikte, optimum gelişim sıcaklığı 37 °C'dir (Austin ve Austin, 2007). Bu durum patojenin hem balıklarda hem de memelilerde (zoonotik) aktivite göstermesine olanak tanır.

Epidemiyoloji

Hastalık, küresel su ürünleri yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara yol açan en yaygın septisemik enfeksiyonlardan biridir.

İlk kez 1950'de Japonya'da gökkuşağı alabalıklarında, 1974'te ise sarıkuşuk balıklarında tanımlanmıştır (Nakai vd., 1999).

Ülkemizde ilk kez 1995 yılında "Enterococcus benzeri bakteri" olarak rapor edilmiş (Dinçtürk, 2019), kesin teşhis ise 2001 yılında Ege Bölgesi'nde yapılmıştır (Dinçtürk, 2019).

Yoğun yetiştiricilik koşullarında mortalite oranı %50-80 seviyelerine çıkabilmektedir (Cai vd., 2011).

L. garvieae, insanlarda endokardit, karaciğer apsesi ve spondilit gibi klinik tablolara yol açabilen fırsatçı bir patojendir (Chan vd., 2011).

Enfeksiyon horizontal (yatay) yolla bulaşır. Temas, fekal kontaminasyon, ekipmanlar ve su kuşlarının taşıyıcılığı birincil bulaşma mekanizmalarıdır. Gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) en duyarlı türken, 50 gramın altındaki genç bireylerde mortalite daha yüksektir (Muzquiz vd., 1999).

"Sıcak Su Kok Enfeksiyonu" olarak da bilinir; su sıcaklığının 15 °C üstünde seyrettiği dönemlerde patojenite artar. Organik madde birikimi yüksek sular ve bentik sediment bakteri için uygun rezervuarlardır (Vendrell vd., 2006).

Patogenezis

Hastalığın ortaya çıkışı ve yayılımı çevresel faktörler ve konakçı duyarlılığı ile doğrudan ilişkilidir.

Klinik Semptomlar

Enfekte balıklarda gözlenen temel dış belirtiler şunlardır:

- Letarji (halsizlik) ve iştahsızlık.
- Vücut renginde belirgin kararma.
- Bilateral veya unilateral ekzoftalmus (pörtlek göz) ve göz içi hemorajiler (Austin ve Austin, 2007).

Nekropsi Bulguları

Hastalığın septisemik karakteri iç organlarda ve dokularda yaygın hasara yol açar.

Makroskobik (Otopsi) Bulgular: Abdominal bölgede asitese bağlı şişkinlik, iç organlarda peteşiyel kanamalar ve karaciğerde solgunluk (Austin ve Austin, 2007).

Histopatolojik Bulgular: Retrobulbar ödem (göz arkası ödem), solungaçlarda hiperemi; kalp, karaciğer ve dalak dokularında multifokal nekrotik odaklar (Roberts, 2012).

Laboratuvar Tanıları

Tanı süreci, bakteriyolojik izolasyonun moleküler yöntemlerle desteklenmesi esasına dayanır.

Bakteri böbrek, dalak, göz ve kan dokularından izole edilir.

TSA, BHIA veya %5 koyun kanlı Columbia Agar kullanılarak 22-30 °C’de 48 saatlik inkübasyon yeterlidir (Cheng ve Chen, 1998).

Kültür yöntemlerinin yanı sıra PCR teknikleri, aynı gün içinde kesin identifikasyon sağlayarak teşhis hızını artırmaktadır (Durmaz ve Kılıçoğlu, 2015).

Koruma, Kontrol ve Tedavi

Su sıcaklığının 15 °C’yi geçtiği riskli dönemlerde yemleme rejimi ve stok yoğunluğu kontrol edilmelidir.

Havuz aletlerinin dezenfeksiyonu ve su kuşlarının işletmeye girişinin engellenmesi

horizontal bulaşmayı minimize eder (Vendrell vd., 2006).

Organik madde birikiminin önlenmesi, bakterinin bentik sedimentte kolonize olmasını engeller.

İşletme çalışanlarının zoonotik risklere karşı bilgilendirilmesi ve hijyen protokollerine uyması önem arz eder (Elliot vd., 1991).

Tedavide enfeksiyon durumları dikkatlice değerlendirilerek mutlaka antibiyogram sonucuna göre uygun kemoterapötikler seçilmelidir. Özellikle düşük sıcaklıklarda patojenitenin sınırlandığı bilgisi (Groberg vd., 1978), termal yönetimin önemini açığa çıkartmaktadır.

1.7. Bakteriyel Balık Patojenlerinin Teşhisinde Kullanılan Konvansiyonel ve Modern Yöntemler

Balık hastalıklarının teşhisi, konvansiyonel olan mikrobiyolojik teknikler, immünolojik protokoller ve moleküler yöntemlerin entegrasyonu ile gerçekleştirilebilmektedir (Assefa ve Abunna, 2018). Teşhis süreci, balıktan numune alımından itibaren fenotipik ve genotipik karakterizasyon basamaklarını kapsayan hiyerarşik bir yapı izlemektedir.

1.7.1. Konvansiyonel Tanı Yöntemleri

Klinik vakalardan izole edilen etkenlerin cins düzeyinde belirlenmesinde, koloni morfolojisi, pigmentasyonu ve hücre morfolojisi birincil kriterlerdir. Bu aşamada oksidaz ve katalaz aktivitesi gibi hızlı biyokimyasal testlerin kombinasyonu, etkenin taksonomik sınıflandırmasına rehberlik eder. Bakteriyel identifikasyonun temelini oluşturan klasik yöntemler, mikroorganizmaların genel veya seçici besiyerlerinde kültüre edilmesi esasına dayanır. Ancak, izolasyondan kesin biyokimyasal sonuçların alınmasına kadar geçen sürenin 5 günü bulması, salgın yönetimi açısından çok önemli bir dezavantajdır (Buller, 2004). Ayrıca, fenotipik testlerin tek başına kesin teşhis koymada yetersizliği, bu yöntemlerin yorucu ve bazen de yanıltıcı sonuçlar vermesine neden olabilmektedir (Li, 2022).

Patojenik mikroorganizmaların izolasyonunda geleneksel olarak Tryptic Soy Agar (TSA) ve Brain Heart Infusion Agar (BHIA) gibi genel besiyerleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler, geniş bir bakteri yelpazesinin üremesine olanak tanıyarak koloni morfolojisine dayanan şüpheli patojenlerin belirlenmesini olanak sağlar (Austin ve Austin, 2007). Ancak,

genel besiyerlerinin kullanımı ortamdaki kommensal mikrofloranın gelişimine de zemin hazırlamakta olduğundan patojenlerin serolojik ve biyokimyasal testlerle ayırt edilmesini zorunlu kılıp süreci karmaşıklştırabilmektedir (Perry ve Freydiere, 2007). Saf kültür elde ederken standardizasyonu sağlamak adına, tek bir metot yerine farklı besiyeri ve inkübasyon kombinasyonlarının geliştirilmesi elzemdir (Austin ve Austin, 2007).

1.7.2. Modern Tanı Yöntemleri

1.7.2.1. Moleküler ve Genomik Teşhis Yöntemleri

Moleküler biyolojideki teknolojik ilerlemeler, patojenik balık hastalıklarının teşhisi, epidemiyolojisi ve kontrol stratejilerinde çok önemli değişimlere yol açmıştır (Altinok ve Kurt, 2003; Prichard ve Tait, 2001). Moleküler yöntemler, geleneksel yöntemlerin aksine patojenlerin genetik materyalleri üzerinden yüksek spesifite ve duyarlılıkla tanımlanmasına olanak tanımaktadırlar.

Tür seviyesindeki identifikasyonlarda, serolojik testlerin yanında nükleik asit tabanlı genomik verilerin incelenmesi en sağlıklı sonucu vermektedir (Popović vd., 2017). Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) temelli metotlar, yüksek spesifite ve duyarlılık sunmalarına rağmen, yüksek maliyet ve laboratuvar ortamında çapraz kontaminasyon riski nedeniyle rutin kullanımda sınırlamalar vardır (Varadi vd., 2017).

1.7.2.1.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Bakteriyel patojenlerin tanımlanmasında günümüzde en çok kullanılan yöntem Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) teknolojisidir. Bununla beraber yüksek maliyet, zaman alan prosedürler ve çok basamaklı deney adımları, klinik ve saha çalışmalarında daha pratik ve hızlı sistemlere olan ihtiyacı sürdürmektedir (Popović vd., 2017; Braga vd., 2013). DNA tabanlı diyagnostik protokoller, hedef patojene özgü nükleik asit dizilerinin saptanması esasına dayanır. Çevresel veya klinik örneklerde hedef gen miktarı genellikle tespit sınırının altında olduğundan, bu gen parçalarının *in vitro* koşullarda çoğaltılması gerekmektedir. Bu noktada PCR, en etkin moleküler araç olarak görülmektedir (Mullis ve Faloona, 1987).

PCR mekanizması, izole edilen hedef DNA'nın, spesifik oligonükleotid primerler ve termotabil Taq polimeraz enzimi yardımıyla sayısal olarak artırılmasını kapsar. Su ürünleri

yetiştiriciliğinde karşılaşılan birçok bakteriyel ve viral patojenin teşhisinde ve tür ayrımında günümüzde çeşitli PCR modifikasyonları başarıyla uygulanmaktadır (Altınok vd., 2001; Aoki vd, 1997; Cunningham, 2002).

1.7.2.1.2. Restriksiyon Parçacığı Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)

RFLP, organizmaların genetik parmak izlerini kullanarak tür ayrımı yapılmasını sağlayan bir yöntemdir. Bu teknikle taze, dondurulmuş veya işlenmiş su ürünlerinin orijin tespiti ve morfolojik olarak benzerlik gösteren türlerin taksonomik ayrımında yüksek güvenilirlikli bilgi sağlanır (Smith vd., 1989). Yöntem, izole edilen toplam DNA'nın spesifik dizilerini tanıyan restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesilmesiyle oluşan parçaların elektroforezde ayrılması prensibine dayanır. Basit, hızlı ve maliyet etkin bir yöntem olmasından dolayı mutasyon analizi ve taksonomik problemlerin çözümünde de yaygın olarak tercih edilmektedir (Altınok ve Kurt, 2003; Messmer vd., 1993).

1.7.2.1.3. Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (AFLP)

AFLP teknolojisi, restriksiyon enzim analizi ile PCR yöntemini birleştiren hibrit bir uygulamadır. DNA'nın kesici enzimlerle parçalanmasından sonra seçici bir amplifikasyon süreci işletilerek poliakrilamid jel analizinde oluşan bant yoğunlukları, bireyler arası genetik varyasyonun yüksek çözünürlükle tespit edilmesini sağlar. AFLP, çok sayıda moleküler marker üretmesi bakımından avantajlı olmasına rağmen otomasyon gereksinimi ve yüksek maliyeti kısıtlı kullanım alanına neden olmaktadır (Altınok ve Kurt, 2003; Vos vd., 1995).

1.7.2.1.4. Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD)

Williams vd., (1990) ortaya çıkarılan bu teknik, kısa oligonükleotid primerler kullanarak genomun rastgele bölgelerinin çoğaltılması esasıyla çalışır. Genetik haritalama ve polimorfizm araştırmalarında, ucuz, düşük miktarda ve kalitede DNA ile çalışabilmesi nedeniyle popüler olmuştur. Ancak, sonuçların tekrarlanabilirliği düşük olduğu ve güvenilirlik sınırları tekniğin en önemli kısıtlamalarıdır (Altınok ve Kurt, 2003).

1.7.2.1.5. Çoklu (Multipleks) PCR (mPCR)

Multipleks PCR, tek bir reaksiyon tüpünde iki veya daha fazla hedef bölgenin

aynı anda amplifiye edilmesini sağlayan bir modifikasyondur (Chamberlain vd., 1988). mPCR protokolleri; zaman, maliyet ve iş gücü açısından ciddi bir avantaj sağlasa da primer setlerinin bağlanma sıcaklıklarının (T_m) uyumu ve dimerizasyon riskinin önlenmesi gibi kritik optimizasyon basamakları gerektirmektedir. Bu şartların sağlanmasıyla, karma enfeksiyonların teşhisinde son derece etkili bir diagnostik araçtır (Chamberlain vd., 1990).

Bu çalışma, "Kültür Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Bakteriyel Patojenlerin Konvansiyonel ve Moleküler Yöntemlerle Tanısı" başlıklı doktora tezi kapsamında kurgulanmış olup temel hedefi, Şanlıurfa Birecik ilçesi sınırlarında bulunan Karkamış Baraj Gölü'ndeki alabalık işletmelerinde mortaliteye neden olan bakteriyel patojenlerin, daha hızlı ve kesin teşhisine yönelik konvansiyonel ve modern moleküler yöntemlerin optimizasyonu ve karşılaştırmalı analizini sağlamaktır. Çalışma alanı olarak seçilen bu bölgedeki ağ kafes işletmeleri, havzanın mikrobiyolojik yükünün belirlenmesi ve hastalık yönetim stratejilerinin geliştirilmesi açısından birincil araştırma materyalini oluşturmaktadır.

1.7.2.2. Alternatif Ticari İdentifikasyon Sistemleri

Geleneksel ve moleküler yöntem kısıtlamaları, daha hızlı, hassas ve maliyet etkin tanımlama yöntemlerine olan ihtiyacı artırmıştır. Bakterilerin "protein parmak izi" olarak tanımlanan protein ekspresyon profillerindeki farklılıkların tespitine yönelik yöntemler gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Bu modern yaklaşımlar, karmaşık biyokimyasal süreçlere ihtiyaç duymadan, daha yüksek doğruluk payıyla ve dakikalar içerisinde daha hızlı identifikasyon olanağı sunmaktadır (Varadi vd., 2017).

Klinik ve endüstriyel mikrobiyolojide, patojenlerin hızlı ve güvenilir bir şekilde tespiti, klasik metotların iş gücü ve zaman maliyeti nedeniyle yerini modern tekniklere bırakmaktadır. Bu kapsamda; API 20E, API ZYM, Biolog Micro Plates ve BBL Crystal gibi ticari olan diagnostik kitler, bakterilerin biyokimyasal profillerin hızlıca belirlenmesinde yaygın olarak tercih edilmektedir (Popović vd., 2007). Özellikle *Enterobacteriaceae* ailesinin tanımlanması için API 20E sistemi altın standart olarak görülse de bu sistemlerin kesin teşhis sağlamada yetersizlikleri ve ek analizlere de ihtiyaç duymaları, tek başına kullanılmalarını belli düzeyde kısıtlamaktadır.

Anaerobik patojenlerin tanımlanmasına yönelik geleneksel yöntemler, klinik bak-

teriyoloji laboratuvarlarında her zaman mevcut değildir ve genellikle zahmetli ve zaman alıcıdır. Bu nedenle, uygun tedavi için anaerobik patojenlerin hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanmasına yönelik bir yönteme duyulan ihtiyaç oldukça önemlidir. Son on yıllarda, klinik olarak ilgili anaerobik izolatların tanımlanması için farklı ticari enzim kitleri geliştirilmiş ve değerlendirilmiştir. Örneğin, RapID-ANA II paneli, Minitek sistemleri, Vitek ANI kartı, BBL Crystal ANR ID kiti, API rapid ID 32 A sistemi ve API 20 A sistemi (Cavallaro vd., 1997; Celig ve Schreckenberger. 1991; Downes vd., 1999; Hanson vd., 1979; Schreckenberger vd.,1988; Lee vd., 2011).

Vitek 2 ANC kartı (bioMe´rieux, Marcy l’Etoile, Fransa), klinik laboratuvarlara klinik açıdan önemli anaerobik bakterilerin ve *Corynebacterium* türlerinin hızlı ve doğru tanımlanması olanağı sağlamak üzere tasarlanmıştır. Kart, 36 kolorimetrik enzimatik test içeren 64 mikro kuyu içerir. ANC veri tabanı, 63 takson anaerobik bakteri ve *Corynebacterium* türünü kapsar. Vitek 2 ANC otomatize sisteminin tanımlama spektrumunda toplamda yirmi farklı bakteri cinsi yer almaktadır. Bu kapsamda; *Actinomyces*, *Arcanobacterium*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Collinsella*, *Corynebacterium*, *Eggerthella*, *Eubacterium*, *Finegoldia*, *Lactobacillus*, *Microbacterium*, *Peptoniphilus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Staphylococcus* gibi Gram-pozitif taksonların yanı sıra *Bacteroides* (*Parabacteroides*), *Fusobacterium*, *Parvimonas* (eski literatür adlandırmasıyla *Micromonas*), *Prevotella* ve *Veillonella* gibi Gram-negatif cinsler veri tabanında tanımlıdır. Ancak sistemin mikroorganizma teşhis kapasitesi homojen olmayıp; *Bifidobacterium* sp. ve *Veillonella* sp. izolatları için suş veya tür düzeyinde ayırım yapamamakta, yalnızca cins düzeyinde identifikasyon gerçekleştirebilmektedir. 36 biyokimyasal profilden 13’ü fermantasyon testi, 17’si glikozidaz ve arilamidaz testi, 2’si alkali reaksiyon ve 4’ü diğer biyokimyasal testlerdir. Tanımlamaları tamamlamak için hücre morfolojisi, Gram boyama özelliği ve aerotolerans testi de dahil olmak üzere ek basit çevrimdışı testler gereklidir. ANC kartının ”gerçek yaşam” ortamındaki doğruluğunu değerlendirmek için, türlerin Vitek veri tabanında bulunup bulunmadığına bakılmaksızın, bilinmeyen klinik anaerobik bakteri izolatları kullanılmıştır. Bu, daha önce bildirilen iki çalışmada (Mory vd., 2009; Rennie vd., 2008) kullanılan yöntemlerin aksine bir durumdur. Vitek 2 ANC sistemi kullanılarak elde edilen tanımlama, 16S rRNA gen dizilemesi kullanılarak elde edilen tanımlama ile karşılaştırılmıştır (Lee vd, 2011).

MALDI-TOF MS (Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry) sisteminde, 'target slayt' denilen metal plakalara yayılan numuneler, matriks solüsyonuyla birleşip lazer atışlarına maruz bırakılır. Lazer enerjisiyle iyonize olan bu moleküller, kütle/yük (m/z) oranlarına göre detektöre ulaşır ve oluşan spektrumlar veri tabanında bulunan referans suşlarla karşılaştırılır (Tanır, 2017). Sistemin temel avantajları, izolasyondan sonra dakikalar içerisinde sonuç alınabilmesi (Seng vd., 2009), çok düşük miktarda örnek (10^4 - 10^6 CFU) ile analiz imkânı (Wieser vd., 2012) ve tanımlanması zor olan anaeroblar, mayalar ve yavaş gelişen bakterilerde yüksek doğruluk (Martiny vd., 2012) şeklinde sıralanmaktadır.

Raman spektroskopisi, monokromatik lazer ışınlarının örnekle etkileşime girmesiyle oluşan esnek olmayan saçılmanın ölçülmesi prensibine dayanır (Schmitt ve Popp, 2006). Bu yöntem, biyolojik örneklerin kimyasal karakterizasyonu ve patojenlerin optik identifikasyonuna imkân tanımaktadır (Taylor vd., 2010).

Özellikle *Mycobacterium tuberculosis* gibi tehlikeli patojenlerin tanımlanması için, 16S rRNA sekanslamasına alternatif olarak güvenli bir teşhis yöntemidir (Buijts vd., 2008). Ancak, biyolojik örneklerin kompleks yapısından dolayı spektrumlardaki spesifik bantların yorumlanması için ileri düzey biyokimyasal bilgi gerekmektedir (Hamasha, 2011).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yetiştiriciliğinde karşılaşılan bakteriyel patojenlerin tespiti ve epidemiyolojik takibi, su ürünleri sektöründeki ekonomik kayıpların minimize edilmesi ve yerel mikrobiyal haritanın çıkarılması açısından hayati önem taşımaktadır.

Bu alandaki çalışmalar; teşhis teknolojilerindeki gelişim, spesifik patojenlerin (özellikle *L. garvieae*) yayılımı ve çevresel faktörlerin hastalık insidansı üzerindeki etkileri çerçevesinde yoğunlaşmaktadır.

2.1. Tanı Teknolojilerindeki Dönüşüm ve Moleküler Yaklaşımlar

Modern su ürünleri yetiştiriciliğinde mikrobiyolojik teşhis, klasik kültür yöntemlerinden proteomik ve genetik tabanlı sistemlere evrilmiştir.

Çağatay (2024) tarafından yapılan kapsamlı incelemede, 2010-2023 yılları arasındaki veriler ışığında MALDI-TOF MS teknolojisinin akuakültürdeki stratejik rolü vurgulanmıştır. Bu yöntemin, bakteriyel ribozomal proteinlerin "parmak izi" üzerinden 50'den fazla Gram pozitif ve negatif sucül patojeni tür düzeyinde, hızlı ve güvenilir bir şekilde tanımlayabildiği bildirilmiştir. Özellikle yerel veri tabanlarının zenginleştirilmesinin, bu teknolojinin rutin teşhis süreçlerindeki yerini sağlamlaştıracağı ifade edilmektedir.

Moleküler düzeydeki hızlı tanı arayışları, eş zamanlı tespit imkânı sunan çoklu PCR (multiplex PCR) protokollerini de beraberinde getirmiştir. Patil vd. (2025) Hindistan'da gerçekleştirdikleri güncel çalışmada, yüksek mortalite izlenen bir işletmede tekil etken olarak *A. hydrophila*'yı izole etmişlerdir.

Teşhis protokollerinin tarihsel gelişimi incelendiğinde; Gonzalez vd. (2004) beş farklı denizel patojeni, Cerro vd. (2002) ise tatlı su patojenleri olan *A. salmonicida*, *F. psychrophilum* ve *Y. ruckeri*'yi aynı anda saptayabilen protokoller geliştirmişlerdir.

1990'lı yıllardan itibaren ise Brauns vd. (1991) ile başlayan süreçte; *R. salmoninarum*, *V. anguillarum* ve *L. garvieae* gibi kritik türlerin PCR yardımıyla kültür bağımsız teşhisi mümkün hale gelmiştir. Türkiye'de bu teknolojinin kullanımı, başlangıçta memeli

patojenlerine odaklansa da günümüzde su ürünleri sağlığı için stratejik bir araç niteliğindedir.

2.2. *Lactococcus garvieae* ve Gram Pozitif Patojenlerin Epidemiyolojisi

Son yıllarda yapılan çalışmalar, özellikle su sıcaklığının artışına bağlı olarak *L. garvieae* enfeksiyonlarının küresel bir tehdit haline geldiğini göstermektedir.

Balta vd. (2024), kok enfeksiyonu şüphesiyle laboratuvara iletilen örneklerden elde edilen *Lactococcus* spp. izolatlarının biyokimyasal karakterizasyonu üzerine yoğunlaşmıştır.

Benzer şekilde, Altan ve Korun (2021) Antalya bölgesinde gerçekleştirdikleri araştırmada, klinik semptom gösteren tüm balıklardan izole edilen 75 suşun tamamını *L. garvieae* olarak tanımlamışlardır.

Bu patojenin baskınlığı Meksika (Ortega vd., 2020), İran (Adel vd., 2015), Isparta (Didinen vd., 2014) ve Sinop (Öztürk vd., 2013) gibi farklı coğrafyalarda da teyit edilmiştir.

Karami vd. (2019), şiddetli sistemik enfeksiyonların yaşandığı bölgelerde tekil etkenin *L. garvieae* olduğunu bildirirken, Altun vd. (2010) bu patojenin özellikle termal stres dönemlerinde yüksek mortalite ile seyrettiğine, gökkuşağı alabalıklarında laktokokkozise bağlı ölüm oranının %50'nin üzerine çıkarak direnç gelişmesi ve tekrarlayan enfeksiyonlar nedeniyle kemoterapi ile tedavinin başarılı olmadığına dikkat çekmişlerdir.

2.3. Bölgesel Sürveyans ve Patojen Çeşitliliği

Türkiye'nin ve dünyanın farklı bölgelerinde yürütülen mikrobiyolojik taramalar, işletmelerdeki baskın flora ve patojen dağılımını ortaya koymaktadır.

Küresel Ölçekte: Peru'da yürütülen bir çalışmada (Moya-Salazar vd., 2022), asemptomatik balıklarda *E. coli* gibi enterik bakterilerin baskın olduğu, *A. hydrophila* prevalansının ise düşük kaldığı saptanmıştır. Danimarka'da ise Dalsgaard ve Madsen (2000), tatlı su işletmelerinde en yaygın etkenin *F. psychrophilum* olduğunu bildirmişlerdir.

Ulusal Ölçekte: Karadeniz havzasındaki 35 işletmeyi kapsayan araştırmada Kayış vd. (2009), *Y. ruckeri*, *Aeromonas* türleri ve *F. psychrophilum*'u en sık rastlanan etkenler olarak kaydetmiştir. Benzer şekilde Erzurum (Sağlam vd., 2006) ve Isparta (Timur, 1999) bölgelerinde *Y. ruckeri* ve *A. hydrophila* prevalansı öne çıkmaktadır. Malatya bölgesinde

yapılan geniş kapsamlı bir sürveyansta ise Şeker vd. (2006), *Acinetobacter sp.* ve *Y. ruckeri*'nin bölge işletmelerindeki temel patojenler olduğunu rapor etmişlerdir.

2.4. Çevresel Parametreler ve Direnç Mekanizmaları

Patojenlerin varlığı ve yayılımı, su kalitesi ve çevresel dinamiklerle doğrudan ilişkilidir.

Akşit ve Kum, (2008), balık dokularındaki mikrobiyal yükün suyun kalitatif yapısıyla paralellik gösterdiğini tespit etmiştir.

Akşit ve Kum (2008) ile Kubilay vd. (2009), özellikle su sıcaklığındaki değişimlerin *Aeromonas* ve *Vibrio* türlerinin insidansını doğrudan etkilediğini vurgulamışlardır.

Mersin bölgesinde yapılan bir araştırmada (Özer vd., 2008), patojenlerin sadece balıkta değil, döllenmiş yumurta, sperma ve ovaryum sıvısı gibi üreme materyallerinde de bulunduğu, bu durumun dikey bulaşma riski taşıdığı belirtilmiştir.

Diğer taraftan, patojenlerle mücadelede en büyük engel olan antibiyotik direnci üzerine yapılan çalışmalarda, Duman vd. (2017) *Y. ruckeri* suşlarının geliştirdiği direnç profillerini moleküler düzeyde analiz ederek, dirençten sorumlu genetik mekanizmaları aydınlatmışlardır.

Son dönemde ise Özcan ve Kuzucu (2019), fenotipik yöntemlerle *L. garvieae* ve *Acinetobacter schindleri* gibi türlerin varlığını bildirerek, patojen spektrumunun genişlediğine işaret etmişlerdir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Tez konumuz, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 05.12.2022 tarihli, 41 nolu oturum ve 08 sayılı kararı ile kabul edilmiştir. Çalışmamız için Harran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HRÜ-HADYEK) tarafından, 21 Aralık 2023 tarihli, 2023/008 nolu oturum ve 01-14 sayılı karar ile “Etik Kurul Çalışma İzni” verilmiştir.

3.1.1. Çalışma sahası

Şanlıurfa ili Birecik ilçesi sınırları içerisinde bulunan, Karkamış Baraj Gölü’nde faaliyet gösteren dört adet balık çiftliği, çalışma sahası olarak belirlendi. Çiftlik isimleri A, B, C ve D olmak üzere harflerle kodlandı.

3.1.2. Örnekler

A, B, C ve D çiftliklerinde, hastalık belirtileri göstererek ölen toplam 80 balık, inceleme örneği olarak kullanıldı. Beş farklı tarihte toplanan balık örnekleri, soğuk zincir şartları altında Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarına getirildi (Çizelge 3.1.). Ziyaretler sırasında çiftlik sahipleriyle görüşmeler yapılarak, balık hastalıklarıyla ilgili bilgiler (anamnez) toplandı.

Çizelge 3.1. İşletmeler, ziyaret tarihleri ve alınan balık sayıları

Ziyaret tarihleri ve alınan balık sayıları (N)						
Balık Çiftlikleri	26.07.2023	11.03.2024	15.06.2024	17.10.2024	10.12.2024	Toplam
A	3	6	3	4	5	21
B	5	7	2	3	3	20
C	3	6	4	3	4	20
D	4	6	3	3	3	19
Toplam	15	25	12	13	15	80

3.1.3. Besiyerleri

Tryptic Soy Agar (TSA) (Oxoid, İngiltere), Tryptic Soy Broth (TSB) (Oxoid, İngiltere),

MacConkey agar (Merck, Almanya), Kanlı agar (Biolife, İtalya), O/F besiyeri (Sigma, USA), %15 gliserinli TSB (Oxoid, İngiltere) çalışmalarda izolasyon, identifikasyon ve izolatların muhafazası için hazırlanarak kullanıldı.

3.1.3.1. Tryptic Soy Agar (TSA)

TSA besiyeri, bakteriyel izolasyon ve pasajlama işlemlerinde genel besiyeri olarak kullanıldı. Ticari olarak satın alınan TSA besiyeri, belirtilen oranlara (40 g/lt) uygun distile su ile karıştırılarak çözünmesi sağlandı. Karışım 121 °C'de 15 dakika boyunca otoklavda (Biobase BKQ-B50 II) steril edildikten sonra biyogüvenlik kabininde 45-50 °C'ye soğutularak 90 mm çaplı steril petri kaplarına yaklaşık 25 ml olacak şekilde eşit dağıtıldı ve agarın katılaşması beklendi. Besiyerlerinden iki örnek, mikrobiyal kontaminasyon açısından test edilmek üzere etüvde 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübe edildi. Diğerleri kullanıma kadar 4 °C'de muhafaza edildi.

3.1.3.2. Tryptic Soy Broth (TSB)

TSB besiyeri, bakteriyel izolasyon ve pasajlama işlemlerinde kullanıldı. Bu çalışmada, hazır alınan TSB besiyeri, kullanım talimatlarına uygun olarak 40 g/lt oranında distile suda çözündürüldükten sonra 121 °C'de 15 dakika süreyle otoklavda steril edildi. Sterilizasyon işlemi sonrası, besiyeri biyogüvenlik kabininde 45-50 °C'ye soğutuldu ve ardından 50 ml'lik steril falkon tüplerine (İsolab, Almanya) yaklaşık 40 ml hacimde taksim edildi. Son olarak, besiyerlerinden iki örnek, mikrobiyal kontaminasyon açısından test edilmek üzere etüvde 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübe edildi. Diğerleri kullanıma kadar 4 °C'de muhafaza edildi.

3.1.3.3. MacConkey Agar

Bu besiyeri, Gram pozitif ve negatif izolatları birbirinden ayırmak ve izolatların laktoz fermentasyonlarını tespit edebilmek amacıyla kullanıldı. MacConkey agar base medium (Merck, Almanya), kullanım talimatına uygun şekilde 50 g/lt distile su ile hazırlandı. Su içinde dehidre besiyeri ısıtılarak eritildikten ve homojenize hale getirildikten sonra otoklavda 121 °C'de 15 dakika süreyle 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. Besiyerlerinden iki örnek, mikrobiyal kontaminasyon açısından test edilmek üzere etüvde 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübe edildi.

Diğerleri kullanıma kadar 4 °C’de muhafaza edildi.

3.1.3.4. Kanlı Agar

İzolatların hemoliz yeteneğini belirlemek amacıyla kullanıldı. Kanlı agar base besiyerinden 40 g/lt distile su içinde homojen oluncaya kadar karıştırıldı. Homojen olan karışım pH 7,4’te ayarlanarak otoklavda steril edildi. 45-50°C’ye soğutulan karışıma son hacim %5 olacak şekilde defibrine koyun kanı eklendi. Elde edilen agar, steril petri kaplarına yaklaşık 25 ml olacak şekilde eşit olarak dağıtıldı. Son olarak, besiyerlerinden iki örnek, mikrobiyal kontaminasyon açısından test edilmek üzere etüvde 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübe edildi. Diğerleri kullanıma kadar 4 °C’de muhafaza edildi.

3.1.3.5. Oksidasyon-Fermantasyon (O/F) Test 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. Sıcaklık yardımıyla toz besiyeri tamamen çözdürüldükten sonra, steril tüplere 10 ml olarak taksim edildi. Tüpler Otoklavda 121 °C’de 15 dakika steril edildikten sonra besiyerleri dik bir şekilde soğutuldu ve kullanıma kadar 4 °C sıcaklıkta saklandı.

3.1.3.6. %15 Gliserinli Tryptic Soy Broth

İzolatların saklanması için kullanıldı. Tryptic soy broth, 40 g/lt olacak şekilde hazırlandı ve 150 ml gliserin (Merck, Almanya) ilave edildi ve 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. Besiyerlerinden iki örnek, mikrobiyal kontaminasyon açısından test edilmek üzere etüvde 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübe edildi. Diğerleri kullanıma kadar 4 °C’de muhafaza edildi.

3.1.4. Tür Seviyesinde Bakteriyolojik Tanı İçin Gereçler

Tür seviyesinde tanı amacıyla tek koloni düşürme yöntemiyle hazırlanan bakteri kültürleri, hizmet alımı yapılarak MALDI - TOF MS analizine gönderildi.

3.1.5. Moleküler Analizler İçin Gereçler

3.1.5.1. Kültürden DNA Ekstraksiyonu Gereçleri

DNaz / RNaz'dan arındırılmış ve kapaklı 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpleri (Isolab), kriyovial tüpleri (Isolab), vorteks (WiseMix), mikrosantrifüj (Hettich) ve Ticari DNA Ekstraksiyon Kiti (Invitrogen Purelink genomik DNA Ekstraksiyon kiti)

3.1.5.2. DNA Amplifikasyonu Gereçleri

Amplifikasyon reaksiyonunun optimizasyonu için Thermoscientific firmasına ait 10 x PCR Buffer, 25 mM MgCl₂ ve 5 IU/μl'lik FastStart Taq DNA Polimeraz enzimi koordineli olarak kullanılmıştır. Reaksiyon ortamının diğer temel bileşenlerini ise Jena Bioscience menşeli 20 mM dNTP karışımı ile nükleaz aktivitesinden arındırılmış steril PCR grade su (DEPC-Treated Water, Ambion) oluşturmuştur.

L. garvieae etkeninin tür spesifik tanısında, bu etkeninin 16S-rRNA gen bölümünden büyüklüğü 1100 bp olan parçayı çoğaltan pLG-1 (Forward): 5' - CAT AAC AAT GAG AAT CGC - 3' ve pLG-2 (Reverse): 5' - GCA CCC TCG CGG GTT G - 3' primerleri kullanıldı (Mata vd., 2004).

Aeromonas türlerinin cins spesifik tanısı için *A. hydrophila* ATCC 7966 etkeninin 16S-rRNA gen bölümünden büyüklüğü 356 bp olan parçayı çoğaltan A16SF (Forward): 5'- GGG AGT GCC TTC GGG AAT CAG A - 3' ve A16SR (Reverse): 5' - TCA CCG CAA CAT TCT GAT TTG - 3' primerleri kullanıldı (Wang vd., 2003).

Spesifik primerler, liyofilize pelet olarak sentezletirildi (Sentebiolab, Türkiye). Stok çözeltilerin eldesi amacıyla, ilgili bileşenler nükleaz (DNaz/RNaz) aktivitesi barındırmayan steril PCR kalitesindeki su kullanılarak 100 μM (100 pmol/μl) konsantrasyonda çözündürülmüştür. Bunu takiben, doğrudan amplifikasyon reaksiyonlarında kullanılmak üzere her bir primer çiftine özgü, nihai konsantrasyonu 10 μM (10 pmol/μl) olacak şekilde ayarlanan çalışma miksleri ana stoklardan seyreltilerek elde edilmiştir.

A. hydrophila ATCC 7966 ve *L. garvieae* ATCC 49156 suşlarına ait referans DNA lar, testlerde pozitif kontrol olarak, PCR grade su ise negatif kontrol olarak kullanıldı.

3.1.5.3. Elektroforez ve Görüntüleme Gereçleri

Elektroforez aşamasında, ticari olarak temin edilen 10X TAE tampon çözeltisi (Lonza) distile su vasıtasıyla 1X çalışma konsantrasyonuna getirilmiştir. %1,5'lik agaroz jel matrisinin hazırlanması amacıyla 1,5 g agaroz (Sigma), 1X TAE solüsyonu ile 100 ml hacme tamamlanarak homojen bir faz elde edilene dek ısıtılma işlemine tabi tutulmuştur. Termal dengelenmeyi takiben karışıma 2 µl hacminde %1'lik etidyum bromür (Applichem) ilave edilmiştir. Jel kalıbına uygun kuyucuk tarakları yerleştirildikten sonra polimerizasyon işlemi için döküm yapılmış ve oda sıcaklığında katılaştıran jellerden taraklar uzaklaştırılmıştır. Elektroforez tankına konumlandırılan jel sisteminde, yürütme aşaması için 6X DNA yükleme boyası (NewEngland Biolabs) ve moleküler ağırlık referansı olarak *Thermoscientific-Fastruler Mid Range ladder* kullanılmıştır.

3.1.5.4. Moleküler Analizler İçin Diğer Gereçler

Deneyisel uygulamaların sıvı transfer aşamalarında Eppendorf marka farklı hacimsel aralıklara sahip (0,5-10 µl, 10-100 µl ve 100-1000 µl) otomatik pipetler ile bunlara uyumlu Isolab menşeli, nükleaz aktivitesinden arındırılmış (DNaz/RNaz'dan arı) steril, filtreli pipet uçlarından yararlanılmıştır. Reaksiyon karışımları Isolab firmasına ait 0,2 ml'lik ince çeperli ve düz kapaklı PCR tüplerinde hazırlanarak Thermoscientific ısı döngü cihazında (termosiklör) amplifikasyona tabi tutulmuştur. Elde edilen amplikonların analizi amacıyla Bio-Rad agaroz jel elektroforez sistemi ve güç kaynağı (elektroforez cihazı) kullanılırken, moleküler çıktılarının kalitatif değerlendirilmesi Wise UV jel görüntüleme sistemi vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir.

3.1.6. Çalışmada Kullanılan Solüsyon, Kimyasal ve Diğer Gereçler

Oksidaz test çubukları (Oxoid, İngiltere)

Hidrojen Peroksit

Parafin oil (Merck, Almanya)

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)

Santrifüj cihazı(Hettich)

Derin Dondurucu (Nüve, Türkiye)

Steril Plastik Bag

Petri Kabı (Isolab, Almanya)

Vorteks (Heidolph Reax)

Su Banyosu (Thermomac)

Otomatik pipet (Isolab, Almanya)

Steril Filtreli Pipet Uçları (Isolab, Almanya)

Hassas Terazi (Radwag WTC 2000)

Dereceli Tek Kullanımlık steril plastik Pipet 25ml (BOROX)

Gram Boyama Seti (Merck, Almanya)

Eppendorf tüpler (Isolab, Almanya)

Steril Eküvyon çubuğu (Firatmed, Türkiye)

Kriyoviyal (Cryovial) tüp(Isolab, Almanya)

3.2. Yöntem

3.2.1. Anamnez ve Nekropsi

Her ziyarette, işletmelerden şikayetleri dinlendi. Örnek olarak alınarak laboratuvara getirilen balıklara anemnez bilgileri ışığında nekropsi işlemi uygulandı (TMB, 2018).

3.2.2. Bakteriyel İzolasyon

Laboratuvara getirilen balıklardan nekropsi sonrası tespit edilen lezyonlu organlardan, dokulardan ve patolojik sıvılardan aseptik şartlarda alınan örnekler 1/10 oranında TSB besiyerine aktarılarak karıştırıldı ve homojenize edildi. Daha sonra TSA, Kanlı agar ve MacConkey agar besiyerlerine 100 µl miktarında ekimleri tek koloni düşürme yöntemiyle gerçekleştirildi. Petriler aerobik ortamda 25 ve 37°C’de ayrı ayrı 1-2 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 görüntüleri belirlendi. Kolonilere, oksidaz, katalaz, O/F ve hareket testleri yapıldı. (Quinn vd., 1994; TMB, 2024; Arda., 2011).

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 tespit edildi. 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. Pembe-kırmızı renk tonlarında görüntülenen bakteriler Gram (-), Mavi-mor tonlarda görüntülenen bakteriler Gram (+) olarak değerlendirildi (Arda, 2011).

3.2.2.2. Kanlı Agarda Hemoliz Testi

Kanlı agar besiyerine tek koloni olacak şekilde ekimler yapıldı. Daha sonra petriler aerobik şartlarda 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Üreyen bakterilerin etrafında hemoliz alanları görsel olarak araştırıldı. Koloni etrafında tam şeffaf alanlar beta hemoliz, yeşilimsi açık alanlar ise alfa hemoliz olarak değerlendirildi (Arda, 2011; Quinn vd., 1994).

3.2.2.3. Oksidaz Testi

Kültürler oksidaz testi şeridine sürüldü. 10-30 saniyedeki renk değişiminin olup olmamasına göre test sırasıyla pozitif ve negatif 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 lamın üzerine konuldu. Üzerine hidrojen peroksit kimyasalından bir damla damlatıldı. Kabarcıkların görülmesiyle reaksiyon pozitif 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 ekimler yapıldı. Tüpler, aerobik şartlarda 37 °C’ de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Besiyerine daldırılan noktadan agar içerisine doğru yayılmalar olursa bakteri hareketli (+), daldırma hattı boyunca olan üremelerde ise bakteri hareketsiz (-) olarak değerlendirildi (Arda, 2011; Quinn vd., 1994).

3.2.3. Bakteriyel İzolatların Tür Seviyesinde Tanımlanmaları

Genel ve zenginleştirilmiş besiyerlerinde üreyen bakteri kolonileri pasajlanarak tekrar saflaştırıldı. Tüm izolatlar cins veya tür seviyesinde tanımlanmaları için MALDI-TOF MS analizine gönderildi.

Çalışmada identifiye edilen suşlar, uzun süreli saklama amacıyla %15 gliserin içeren TSB ortamında eppendorf tüplerde -80°C derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.2.4. Moleküler Tanı

Moleküler yöntem olarak PCR testi kullanıldı. Bu çalışmada klasik bakteriyel izolasyon yöntemleri ile izole edilerek tanımlanan türler arasından *Aeromonas* türleri ile *L. garvieae* türüne ait izolatlar PCR testine tabi tutuldu.

3.2.4.1. Kültürlerden DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu için ticari kit kullanıldı. Ekstraksiyon işlemleri, kit maneline uygun olarak gerçekleştirildi. *Aeromonas* türlerine ait izolatlardan DNA ekstraksiyonu için Gram (-) kültürlerden ekstraksiyon basamakları, *L. garvieae* izolatlarından DNA ekstraksiyonu için ise Gram (+) kültürlerden ekstraksiyon basamakları takip edilerek uygulandı.

Aeromonas izolatları için 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne 180 µl Genomik digestion buffer ilave edildi. Çeyrek öze dolusu taze bakteri kültürü bu sıvı içinde süspanse edildi. Üzerine 20 µl proteinaz K ilave edildi ve kısa vortekslendi. 55 °C'de süspansiyon homojen olana kadar (Yaklaşık 1 saat) inkübe edildi. Üzerine 20 µl RNase A ilave edilerek kısa vortekslendi ve oda ısısında 2 dakika bekletildi. Bu lizatın üzerine 200 µl genomik lizis / binding buffer ilave edilerek homojen bir görünüm alana kadar tüp vortekslendi. Bu karışımın üzerine 200 µl etanol (%96) (Merck) ilave edildi ve tekrar vorteks ile 5 saniye karıştırıldı. Daha sonra Binding DNA aşamasına geçildi. Karışım, 2 ml'lik toplama tüpünün içindeki PureLink Spin Kolona aktarıldı (Yaklaşık 640 µl). Santrifügasyon işlemi oda sıcaklığında, 10.000 x g yerçekimi ivmesinde 1 dakika süreyle gerçekleştirilmiştir. Sürecin devamında spin kolon, mevcut tüpten ayrıştırılarak 2 ml hacmindeki yeni bir toplama tüpüne aktarılmış ve ardından DNA yıkama (Washing DNA) fazına geçiş yapılmıştır. Bu aşamada karışımın üzerine 500 µl wash buffer 1 solüsyonu ilave edildi (Bu solüsyon daha önce ethanol ilave edilerek hazırlanmıştı) ve 1 dakika 10.000 x g'de santrifüj edildi. Spin kolon tekrar yeni bir 2 ml'lik toplama tüpüne konuldu ve üzerine 500 µl wash buffer 2 solüsyonu ilave edildi. Daha sonra maksimum hızda 3 dakika santrifüj edildi. Daha sonra eluting DNA aşamasına geçildi ve spin kolon, 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi ve üzerine 200 µl PureLink genomik elution buffer ilave edildi. Oda ısısı koşullarında bir dakikalık bir inkübasyon periyodunun ardından örnekler, yine oda sıcaklığında ve maksimum hız parametresinde bir dakika süreyle santrifügasyon işlemine tabi tutulmuştur. İşlem sonrası açığa çıkan süpernatant steril bir boruya aktarılarak, bu son basamak bir kez daha yinelenmiştir. Elde edilen nihai süpernatant hacmi, ilerleyen aşamalarındaki amplifikasyon reaksiyonlarında kaynak olarak kullanılmak üzere -20 °C'de muhafaza altına alınmıştır.

L. garvieae izolatları için de, *Aeromonas* türlerine ait izolatlardan DNA ekstraksiyonu için uygulananlar yapıldı. Ancak farklı olarak bu izolatlara bir ön işlem yapıldı. Bu amaçla öncelikle 20 mg/ml konsantrasyonda lizozim digestion buffer hazırlandı. Çeyrek öze toplanan bakteri kültürü 180 µl hazırlanan bu buffer içerisinde süspanse edildi ve kısa süre vortekslendi. 37 °C de 30 dk su banyosunda inkübe edildi. Daha sonra bu süspansiyonun üzerine 20 µl proteinaz K ilave edilerek bu basamaktan sonra *Aeromonas* türleri için uygulanan yöntem takip edildi.

3.2.4.2. *Aeromonas* Türlerinin Cins Seviyesinde Moleküler Tanısı

Bu amaçla Wang vd., 2003' nın uyguladığı yöntem çok az modifiye edilerek uygulandı. 25 µl toplam reaksiyon hacmi içerisinde 10x PCR buffer dan 2,5 µl, 25 mM MgCl₂süspansiyonundan 4 µl, 10 mM dNTP karışımından 0,5 µl, Taq DNA polimeraz (5 IU/ µl) enziminden 0,25 µl, primer karışımından 4 µl ve kalıp DNA'dan 5 µl ve son olarak 8,75 µl su ilave edilerek PCR karışımı hazırlandı. Termal ısı döngü cihazında 95 °C'de 5 dakika ön denatürasyon işleminden sonra toplam 40 döngü olacak şekilde 95 °C'de 30 saniye denatürasyon, 59 °C'de 30 saniye annealing ve 72 °C'de 30 saniye ön uzama safhaları ve son olarak 72 °C'de 7 dakika son uzama safhası uygulandı. Çoğaltılmış ürünler, %1,5 luk agaroz jelde 90 V akım ve 50 dakika boyunca yürütüldü. Agaroz jel, elektroforez işleminden sonra UV illuminatörde görüntülendi. 356 bp büyüklüğündeki band oluşumunun görülmesiyle reaksiyon pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.4.3. *L. garvieae* Türünün Moleküler Tanısı

Bu amaçla Mata vd., 2004' nın uyguladığı yöntem çok az modifiye edilerek uygulandı. 25 µl toplam reaksiyon hacmi içerisinde 10x PCR buffer dan 2,5 µl, 25 mM MgCl₂süspansiyonundan 4 µl, 10 mM dNTP karışımından 0,5 µl, Taq DNA polimeraz (5 IU/ µl) enziminden 0,25 µl, primer karışımından 4 µl ve kalıp DNA'dan 5 µl ve son olarak 8,75 µl su ilave edilerek PCR karışımı hazırlandı. Termal ısı döngü cihazında, 94 °C'de 2 dakika ön denatürasyon işleminden sonra, toplam 30 döngü olacak şekilde 92 °C'de 1 dakika denatürasyon, 55 °C'de 1 dakika annealing ve 72 °C'de 1,5 dakika ön uzama safhaları ve son olarak 72 °C'de 5 dakika son uzama safhası uygulandı.

3.2.4.4. Multipleks PCR Uygulaması

Hem *Aeromonas* türlerinin hem de *Lactococcus garvieae* türünün tek seferde tanımlanabilmesi amacıyla uygulandı. Bu amaçla 50 µl toplam reaksiyon hacmi içerisinde 10x PCR buffer dan 5 µl, 25 mM MgCl₂ süspansiyonundan 6 µl, 10 mM dNTP karışımından 1 µl, Taq DNA polimeraz (5 IU/ µl) enziminden 0,5 µl, *Aeromonas* sp. ve *Lactococcus garvieae* için daha önce hazırlanan primer karışımlarının her birinden 4'er µl (toplamda 8 µl), dimetilsülfoksit (DMSO) kimyasalından 2,5 µl, PCR grade sudan 17 µl, ve son olarak kalıp DNA'dan 10 µl ilave edilerek PCR karışımı hazırlandı. Termal ısı döngü cihazında, 94 °C'de 3 dakika ön denatürasyon işleminden sonra, toplam 35 döngü olacak şekilde 94 °C'de 1 dakika denatürasyon, 55 °C'de 1 dakika annealing ve 72 °C'de 1,5 dakika ön uzama safhaları ve son olarak 72 °C'de 10 dakika son uzama safhası uygulandı.

Agaroz jel, elektroforez işleminden sonra UV illuminatörde görüntülendi. 356 ve 1100 bp büyüklüğündeki band oluşumlarının görülmesiyle test pozitif olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Anamnez ve Nekropsi Bulguları

Alınan anamnez 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 deformasyonlar olduğu bildirildi. Alınan anamnez bilgileri ışığında yapılan nekropsi sonucunda dış bakıda vücudun çeşitli yerlerinde deri lezyonları (Şekil 4.1.), solungaçlarda lezyon (Şekil 4.2.), karaciğerlerde solgunluk ve büyüme (Şekil 4.3.), böbreklerde kanama ve deformasyon, karın içinde kanamalar (Şekil 4.4.) ve asites (Şekil 4.5) gözlemlendi. Sonuç olarak bu çalışmada, 80 ölü balıktan lezyon tespit edilen yerlere göre, ağız, göz, anüs, yüzgeç, deri, solungaç, kaslar ve iç organlar olmak üzere toplam 8 çeşit inceleme örneği çalışıldı (Çizelge 4.1., 4.2., 4.3., 4.4., 4.5.).



Şekil 4.1. Deride lezyon



Şekil 4.2. Solungaçlarda lezyon



Şekil 4.3. Karaciğerlerde solgunluk



Şekil 4.4. Karın içinde kanamalar



Şekil 4.5. Karında asites

Çizelge 4.1. Ziyaret-1 sonrası alınan numuneler ve izolasyon sayıları

İşletme	Örnek	Çalışılan lezyonlu alanlar								İzolasyon (Adet)
		Ağız	Göz	Anüs	Yüzgeç	Deri	Solungaç	Kaslar	İç organlar	
A	A1			+	+					1
	A2	+								
	A3	+							+	
B	B1				+	+				1
	B2					+			+	1
	B3					+				1
	B4					+			+	1
	B5		+							1
C	C1	+								1
	C2					+				1
	C3		+							1
D	D1			+			+			1
	D2				+					
	D3				+					
	D4					+	+			1

Çizelge 4.2. Ziyaret-2 sonrası alınan numuneler ve izolasyon sayıları

İşletme	Örnek	Lezyonlu alanlar								İzolasyon (Adet)
		Ağız	Göz	Anüs	Yüzgeç	Deri	Solungaç	Kaslar	İç organlar	
A	A4					+	+		+	1
	A5					+	+			2
	A6				+	+				1
	A7		+	+		+			+	2
	A8	+								1
	A9							+		1
B	B6			+		+				1
	B7		+		+					2
	B8		+						+	1
	B9					+				1
	B10					+				1
	B11					+				1
C	C4				+				+	1
	C5			+						2
	C6					+				1
	C7					+				2
	C8						+			1
	C9	+								1
D	D5			+					+	1
	D6		+							1
	D7			+						2
	D8				+		+			1
	D9								+	1
	D10					+				2

Çizelge 4.3. Ziyaret-3 sonrası alınan numuneler ve izolasyon sayıları

İşletme	Örnek	Lezyonlu alanlar								İzolasyon (Adet)
		Ağız	Göz	Anüs	Yüzgeç	Deri	Solungaç	Kaslar	İç organlar	
A	A10				+	+	+		+	1
	A11					+				1
	A12									1
B	B13				+		+			
	B14				+	+				1
C	C10	+								
	C11			+						
	C12					+				1
	C13							+		1
D	D11								+	1
	D12					+				1
	D13					+				

Çizelge 4.4. Ziyaret-4 sonrası alınan numuneler ve izolasyon sayıları

İşletme	Örnek	Lezyonlu alanlar								İzolasyon (Adet)
		Ağız	Göz	Anüs	Yüzgeç	Deri	Solungaç	Kaslar	İç organlar	
A	A13		+				+			1
	A14				+	+			+	1
	A15	+								
	A16					+				
B	B15								+	1
	B16		+							1
	B17					+				
C	C14	+						+		1
	C15									
	C16		+							
D	D14					+	+			1
	D15						+			
	D16						+			

Çizelge 4.5. Ziyaret-5 sonrası alınan numuneler ve izolasyon sayıları

İşletme	Örnek	Lezyonlu alanlar								İzolasyon (Adet)
		Ağız	Göz	Anüs	Yüzgeç	Deri	Solungaç	Kaslar	İç organlar	
A	A17						+	+		1
	A18				+					
	A19					+				1
	A20				+					1
	A21				+	+			+	1
B	B18								+	
	B19					+	+			1
	B20	+								
C	C17		+							
	C18	+	+						+	
	C19					+				
	C20		+			+				1
D	D17			+				+		
	D18					+	+			1
	D19	+					+		+	

4.2. Bakteriyel İzolasyon Bulguları

Bakteriyel izolasyon ve identifikasyon sonuçlarına göre toplam 64 adet izolat identifiye edilmiştir. Bu izolatlar, *A. caviae* 1 adet, *A. hydrophila* 4 adet, *A. ichthiosmia* 2 adet, *A. sobria* 6 adet, *A. veronii* 8 adet, *Bacillus* sp 1 adet, *Chryseobacterium joostei* 1 adet, *Citrobacter gillenii* 2 adet, *Hafnia alvei* 1 adet, *Klebsiella pneumoniae* 1 adet, *Kluyvera intermedia* 2 adet, *Kocuria rhizophila* 3 adet, *Kocuria salsicia* 1 adet, *Kocuria varians* 1 adet, *L. garvieae* 15 adet, *Lactococcus lactis* 3 adet, *Moraxella osloensis* 2 adet, *Morganella morganii* 1 adet, *Plesiomonas shigelloides* 1 adet, *Rahnella aquatilis* 1 adet, *Raoultella ornithinolytica* 2 adet, *Rhodotorula mucilaginosa* 1 adet, *Shewanella baltica* 1 adet ve *Staphylococcus epidermidis* 2 olarak tanımlanmıştır. Detaylı sonuçlar çizelgede verilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.6. Bakteriyel izolasyon ve identifikasyon sonuçları

İzolat No	İzolasyon yeri	Gram Boya	Coc / Bas	Katalaz	Oksidaz	O/F	Hareket	Hemoliz	MacCon-key agarda üreme	25 ve 37 °C de üreme	MALDI-TOF MS Analiz sonucu
1	A1	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas hydrophila
2	B1	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas veronii
3	B2	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas veronii
4	B3	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas veronii
5	B4	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas veronii
6	B5	+	Kok	-	-	F	-	Alfa/Gama	-	+	Lactococcus garvieae
7	C1	+	Kok	-	-	F	-	Alfa/Gama	-	+	Lactococcus garvieae
8	C2	+	Kok	-	-	F	-	Alfa/Gama	-	+	Lactococcus garvieae
9	C3	+	Kok	-	-	F	-	Alfa/Gama	-	+	Lactococcus garvieae
10	D1	+	Kok	-	-	F	-	Alfa/Gama	-	+	Lactococcus garvieae
11	D4	+	Kok	-	-	F	-	Gama (-)	-	+	Lactococcus lactis
12	A4	-	Basil	+	-	F	-	Gama (-)	+	+	Raoultella ornithinolytica
13	A5	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas sobria
14	A5	+	Maya	+	-	O	-	-	-	+	Rhodotorula mucilaginosa
15	A6	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas sobria

Çizelge 4.6. Bakteriyel izolasyon ve identifikasyon sonuçları (devam)

İzolat No	İzolasyon yeri	Gram Boya	Coc / Bas	Katalaz	Oksidaz	O/F	Hareket	Hemoliz	MacCon-key agarda üreme	25 ve 37 °C de üreme	MALDI-TOF MS Analiz sonucu
16	A7	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas hydrophila
17	A7	-	Basil	+	+	O	+	Gama (-)	+	+	Shewanella baltica
18	A8	-	Basil	+	+	F	+	Gama (-)	+	+	Aeromonas caviae
19	A9	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas sobria
20	B6	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas veronii
21	B7	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas veronii
22	B7	-	Basil	+	-	F	+	Gama (-)	+	+	Citrobacter gillenii
23	B8	+	Kok	-	-	F	-	Alfa/Gama	-	+	Lactococcus garvieae
24	B9	+	Kok	-	-	F	-	Alfa/Gama	-	+	Lactococcus garvieae
25	B10	+	Kok	-	-	F	-	Alfa/Gama	-	+	Lactococcus garvieae
26	B11	-	Basil	+	-	F	+	Gama (-)	+	+	Hafnia alvei
27	B12	-	Basil	+	-	F	+	Gama (-)	+	+	Kluyvera intermedia
28	C4	+	Kok	-	-	F	-	Alfa/Gama	-	+	Lactococcus garvieae
29	C5	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas sobria
30	C5	-	Basil	+	-	F	+	Gama (-)	+	+	Kluyvera intermedia
31	C6	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas hydrophila
32	C7	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas hydrophila
33	C7	-	Basil	+	-	F	+	Gama (-)	+	+	Citrobacter gillenii
34	C8	+	Kok	-	-	F	-	Alfa/Gama	-	+	Lactococcus garvieae
35	C9	+	Kok	-	-	F	-	Alfa/Gama	-	+	Lactococcus garvieae
36	D5	-	Basil	+	-	F	+	Gama (-)	+	+	Rahnella aquatilis
37	D6	+	Kok	-	-	F	-	Gama (-)	-	+	Lactococcus lactis
38	D7	+	Kok	-	-	F	-	Gama (-)	-	+	Lactococcus lactis
39	D7	-	Basil	+	-	F	+	Gama (-)	+	+	Morganella morganii
40	D8	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas bestiarum

Çizelge 4.6. Bakteriyel izolasyon ve identifikasyon sonuçları (devam)

İzolot No	İzolasyon yeri	Gram Boya	Coc / Bas	Katalaz	Oksidaz	O/F	Hareket	Hemoliz	MacCon-key agarda üreme	25 ve 37 °C de üreme	MALDI-TOF MS Analiz sonucu
41	D9	-	Basil	+	-	F	-	Gama (-)	+	+	Raoultella ornithinolytica
42	D10	-	Basil	+	-	F	-	Gama (-)	+	+	Klebsiella pneumoniae
43	D10	-	Basil	+	+	O	-	Gama (-)	-	+	Chryseobacterium joostei
44	A10	+	Kok	-	-	F	-	Alfa/Gama	-	+	Lactococcus garvieae
45	A11	+	Kok	+	-	F	-	Gama (-)	-	+	Staphylococcus epidermidis
46	A12	-	Kokobasil	+	+	O	-	Gama (-)	-	+	Moraxella osloensis
47	B14	+	Kok	-	-	F	-	Alfa/Gama	-	+	Lactococcus garvieae
48	C12	+	Kok	-	+	O	-	Gama (-)	-	+	Kocuria salsicia
49	C13	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas ichthiosmia
50	D11	+	Kok	-	+	O	-	Gama (-)	-	+	Kocuria rhizophila
51	D12	+	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	-	+	Bacillus sp
52	A13	-	Basil	+	+	F	+	Gama (-)	+	+	Plesiomonas shigelloides
53	A14	+	Kok	-	-	F	-	Alfa/Gama	-	+	Lactococcus garvieae
54	B15	+	Kok	-	+	O	-	Gama (-)	-	+	Kocuria rhizophila
55	B16	+	Kok	-	+	O	-	Gama (-)	-	+	Kocuria varians
56	C14	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas ichthiosmia
57	D14	+	Kok	+	-	F	-	Gama (-)	-	+	Staphylococcus epidermidis
58	A17	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas veronii
59	A19	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas veronii
60	A20	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas sobria
61	A21	-	Basil	+	+	F	+	Beta (+)	+	+	Aeromonas sobria
62	B19	+	Kok	-	-	F	-	Alfa/Gama	-	+	Lactococcus garvieae
63	C20	-	Kokobasil	+	+	O	-	Gama (-)	-	+	Moraxella osloensis
64	D18	+	Kok	-	+	O	-	Gama (-)	-	+	Kocuria rhizophila

O: Oksidatif F: Fermentatif

4.3. MALDI-TOF MS Analiz Sonuçları

Çalışmada elde edilen izolatların tanımlanması için gerçekleştirilen MALDI-TOF MS (Bruker Biotyper) analizleri sonucunda, örneklerin önemli bir kısmında tür düzeyinde yüksek güvenilirlikli tanımlamalar yapılmıştır.

Analiz sonuçlarına göre, 2.000 ve üzeri skor değerine sahip olan izolatlar tür düzeyinde kesin tanımlama (high-confidence identification) kategorisinde değerlendirilmiş; özellikle *Aeromonas spp.*, *Citrobacter gillenii*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii* ve *Staphylococcus epidermidis* gibi suşlarda 2.100 ile 2.500 arasında değişen çok yüksek skorlar elde edilmiştir. Bu durum, kullanılan kütle spektrometrisi veri tabanının ilgili izolatlar için oldukça spesifik ve yeterli olduğunu göstermektedir.

İzolatlar arasında Gram-negatif floranın baskın olduğu gözlenmiş; özellikle *A. veronii*, *A. hydrophila*, *A. sobria* ve *A. ichthiosmia* gibi türlerin varlığı dikkat çekmiştir. Bunun yanı sıra, *Enterobacteriaceae* familyasına ait *Raoultella ornithinolytica*, *Kluyvera intermedia* ve *Rahnella aquatilis* gibi fırsatçı patojenlerin de yüksek güvenilirlikle tanımlandığı belirlenmiştir. Gram-pozitif mikroflora içerisinde ise *L. lactis*, *Kocuria rhizophila* ve *Staphylococcus capitis* gibi türler öne çıkmaktadır. Özellikle *L. garvieae* izolatlarında elde edilen skor değerlerinin 1.700 ile 2.000 (cins düzeyinde güvenilir, tür düzeyinde olası tanımlama) aralığında yoğunlaştığı görülmüştür. Skor değeri 1.700'ün altında kalan sınırlı sayıdaki izolat ise "güvenilir olmayan tanımlama" (not reliable identification) olarak sınıflandırılmış olup, bu durumun izolatların veri tabanındaki referans spektrumları ile düşük benzerlik göstermesinden veya örnek hazırlama aşamasındaki protein ekstraksiyonu varyasyonlarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, MALDI-TOF MS analizleri, çalışmadaki mikrobiyal çeşitliliğin hızlı ve doğru bir şekilde taksonomik olarak sınıflandırılmasına olanak sağlamıştır (Çizelge 4.7; Çizelge 4;8).

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results

Project Name: **Kurul Laboratuvar Bakteri Analizi**

Project Owner: Admin@FLEX-PC

Project Creation Date/Time: 16:42:41.835

Project Analyte Count:: 18

Çizelge 4.7. MALDİTOF - MS Sonuçları 1

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
E2(+) (B)	47-1	Lactococcus garvieae	1,933	Lactococcus garvieae	1,853
E3(++) (B)	48-2	Aeromonas ichthiosmia	2,171	Aeromonas veronii	2,145
E4(+) (B)	49-3	Lactococcus garvieae	1,755	not reliable identification	1,562
E5(++) (A)	50-4	Kocuria rhizophila	2,071	Kocuria rhizophila	1,966
E6(+) (B)	52-6	Lactococcus garvieae	1,962	Lactococcus garvieae	1,96
E7(++) (A)	61-5	Plesiomonas shigelloides	2,003	Plesiomonas shigelloides	1,97
E8(++) (A)	53-7	Kocuria rhizophila	2,214	Kocuria rhizophila	2
E9(++) (A)	54-8	Bacillus sp	2,038	Bacillus simplex	1,985
E10(+) (B)	55-9	Kocuria salsicia	1,721	not reliable identification	1,667
E11(+) (B)	58-12	Kocuria varians	1,768	Kocuria salsicia	1,761
E12(++) (B)	60-14	Aeromonas ichthiosmia	2,13	Aeromonas veronii	2,105
F1(-) (C)	62-16	not reliable identification	1,685	not reliable identification	1,536
F2(-) (C)	72-27	not reliable identification	1,646	not reliable identification	1,501
F3(++) (A)	71-25	Staphylococcus epidermidis	2,175	Staphylococcus epidermidis	2,168
F4(-) (C)	70-24	not reliable identification	1,261	not reliable identification	1,239
F5(++) (A)	67-21	Moraxella osloensis	2,086	Moraxella osloensis	1,909
F6(++) (A)	66-20	Staphylococcus epidermidis	2,063	Staphylococcus epidermidis	2,017
F7(-) (C)	B	not reliable identification	1,419	not reliable identification	1,311

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results

Project Name: **Kurul Laboratuvar Bakteri Analizi**

Project Owner: Admin@FLEX-PC

Project Creation Date/Time: 08:24:53.595

Project Analyte Count: 49

Çizelge 4.8. MALDI-TOF MS Sonuçları - 2

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
C4 (++) (C)	1	Raoultella ornithinolytica	2,277	Raoultella ornithinolytica	2,221
C5 (++) (A)	2	Aeromonas sobria	2,035	Aeromonas media	1,899
C6 (++) (B)	3	Shewanella baltica	2,26	Shewanella profunda	2,058
C7 (++) (B)	4	Aeromonas caviae	2,2	Aeromonas hydrophila	2,187
C8 (++) (B)	5	Citrobacter gillenii	2,279	Citrobacter gillenii	2,223
C9 (+++) (B)	6	Citrobacter gillenii	2,455	Citrobacter gillenii	2,404
C10 (++) (B)	7	Raoultella ornithinolytica	2,273	Raoultella ornithinolytica	2,231
C11 (+++) (A)	8	Hafnia alvei	2,543	Hafnia alvei	2,4
C12(+++) (A)	9	Rahnella aquatilis	2,362	Rahnella aquatilis	1,926
D 1 (++) (C)	10	Kluyvera intermedia	2,287	Kluyvera intermedia	2,099
D 2 (++) (C)	11	Kluyvera intermedia	2,287	Kluyvera intermedia	1,9

Çizelge 4.8. MALDI-TOF MS Sonuçları - 2 (devam)

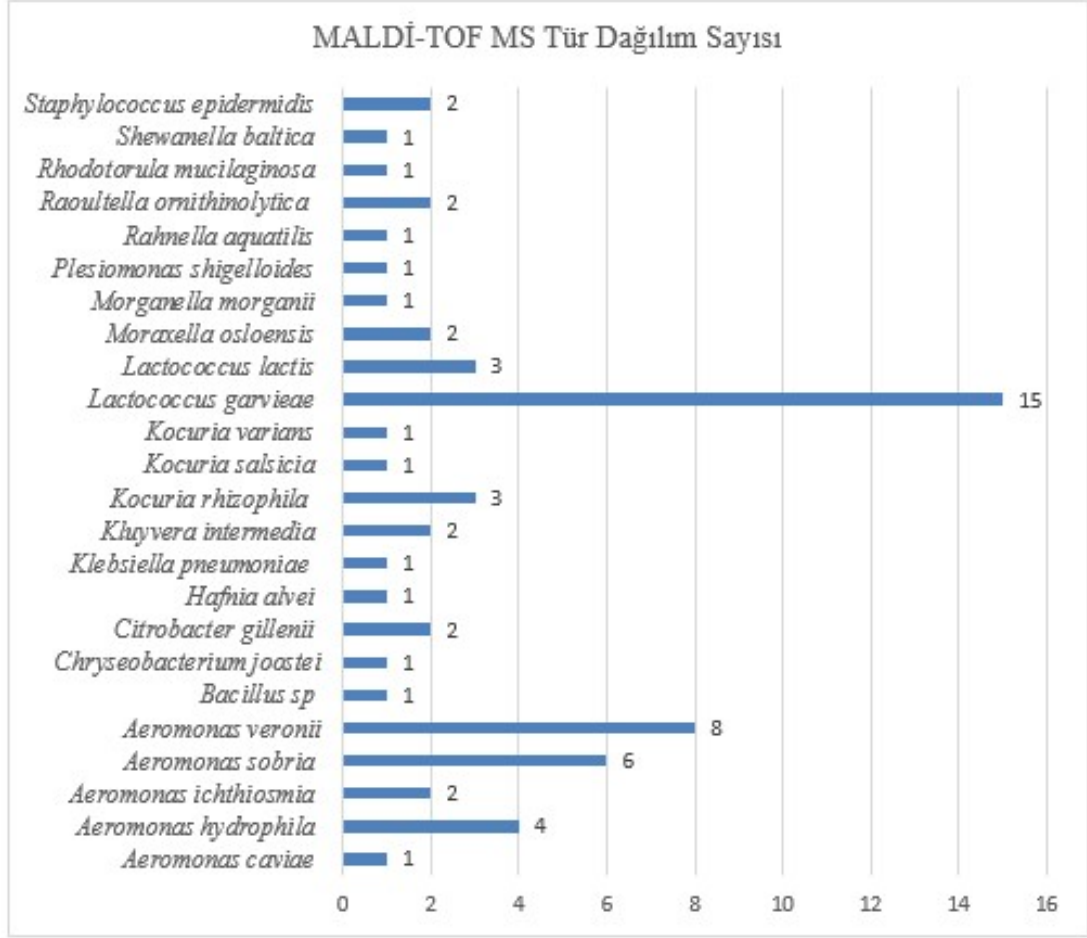
Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
D 3 (+++) (B)	12	Aeromonas hydrophila	2,452	Aeromonas hydrophila	2,387
D 4 (+++) (B)	13	Aeromonas veronii	2,325	Aeromonas veronii	2,281
D 5 (+++) (B)	14	Aeromonas veronii	2,3	Aeromonas veronii	2,287
D 6 (+++) (A)	15	Lactococcus lactis	2,323	Lactococcus lactis	2,313
D 7 (+) (B)	16	Lactococcus garvieae	1,95	not reliable identification	1,645
D 8 (++) (A)	17	Lactococcus lactis	2,285	Lactococcus lactis	2,248
D 9 (+) (B)	18	Lactococcus garvieae	1,883	not reliable identification	1,526
D 10 (+) (B)	19	Lactococcus garvieae	1,904	Lactococcus garvieae	1,702
D 11 (++) (B)	20	Aeromonas veronii	2,255	Aeromonas veronii	2,248
D 12 (+++) (B)	21	Klebsiella pneumoniae	2,481	Klebsiella pneumoniae	2,448
E1 (+++) (A)	22	Morganella morganii	2,369	Morganella morganii	2,309
E2 (++) (A)	23	Lactococcus garvieae	2,012	Lactococcus garvieae	1,775
E3 (++) (B)	24	Aeromonas veronii	2,214	Aeromonas veronii	2,212
E4 (++) (B)	25	Aeromonas bestiarum	2,238	Aeromonas salmonicida	2,172
E 5 (++) (B)	26	Citrobacter gillenii	2,276	C itrobacter gillenii	2,255

Çizelge 4.8. MALDI-TOF MS Sonuçları - 2 (devam)

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
E 6 (+ + +) (A)	27	Chryseobacterium joostei	2,368	Chryseobacterium joostei	2,208
E 7 (+ +) (B)	28	Aeromonas veronii	2,253	Aeromonas veronii	2,236
E 8 (+ +) (A)	29	Pseudomonas oleovorans	2,226	Pseudomonas oleovorans	2,129
E 9 (+ +) (B)	30	Aeromonas veronii	2,148	Aeromonas media	2,145
E 10 (+ +) (C)	31	Pseudomonas oleovorans	2,214	Pseudomonas composti	2,181
E 11 (+ +) (B)	32	Pseudomonas oleovorans	2,127	Pseudomonas mendocina	2,093
E 12 (+ +) (B)	33	Pseudomonas oleovorans	2,124	Pseudomonas composti	2,106
F 1 (+ + +) (B)	34	Aeromonas hydrophila	2,344	Aeromonas hydrophila	2,309
F 2 (+) (B)	35	Lactococcus garvieae	1,733	not reliable identification	1,621
F 3 (+) (B)	36	Lactococcus garvieae	1,922	Lactococcus garvieae	1,72
F 4 (+ +) (A)	37	Lactococcus lactis	2,299	Lactococcus lactis	2,253
F 5 (+ +) (A)	38	Lactococcus garvieae	2,025	Lactococcus garvieae	1,754
F 6 (+) (B)	39	Lactococcus garvieae	1,955	Lactococcus garvieae	1,922
F 7 (+) (B)	40	Lactococcus garvieae	1,919	not reliable identification	1,683
F 8 (+ +) (A)	41	Aeromonas sobria	2,232	Aeromonas hydrophila	1,955

Çizelge 4.8. MALDI-TOF MS Sonuçları - 2 (devam)

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
F 9 (++) (A)	42	Aeromonas sobria	2,161	Aeromonas media	1,905
F 10 (+) (B)	43	Lactococcus garvieae	1,954	not reliable identification	1,681
F 11 (+) (B)	44	Lactococcus garvieae	1,942	Lactococcus garvieae	1,735
F 12 (++) (A)	45	Aeromonas sobria	2,153	Aeromonas media	1,932
G 1 (++) (C)	46	Staphylococcus capitis	2,203	Staphylococcus capitis	2,157
G 2 (++) (B)	47	Aeromonas hydrophila	2,273	Aeromonas hydrophila	2,265
G 3 (+) (B)	48	Aeromonas hydrophila	1,874	Aeromonas hydrophila	1,734
G 4 (+) (B)	49	Rhodotorula mucilaginosa	1,702	not reliable identification	1,662



Şekil 4.6. MALDI-TOF MS Tür Dağılım Sayısı

4.4. Moleküler Tanı Bulguları

Aeromonas türlerinin cins seviyesinde PCR bulguları

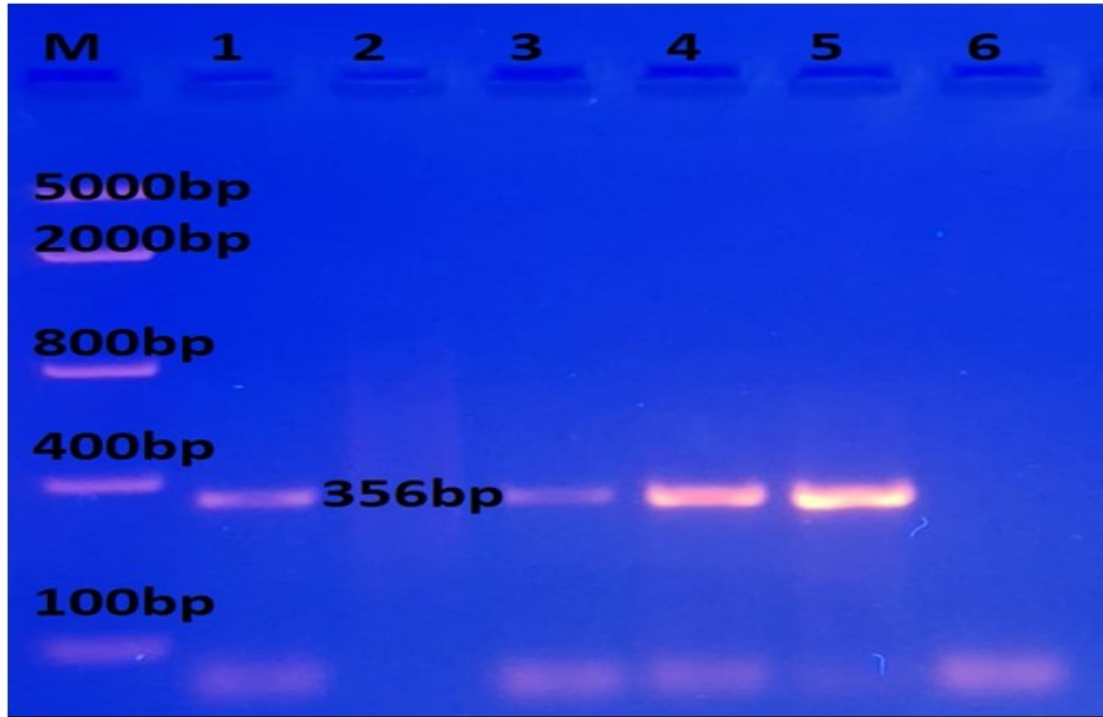
Tüm *Aeromonas* izolatları hatasız şekilde tanılandı.

L. garvieae 'nin tür seviyesinde PCR bulguları

Tüm *L. garvieae* izolatları hatasız şekilde tanılandı.

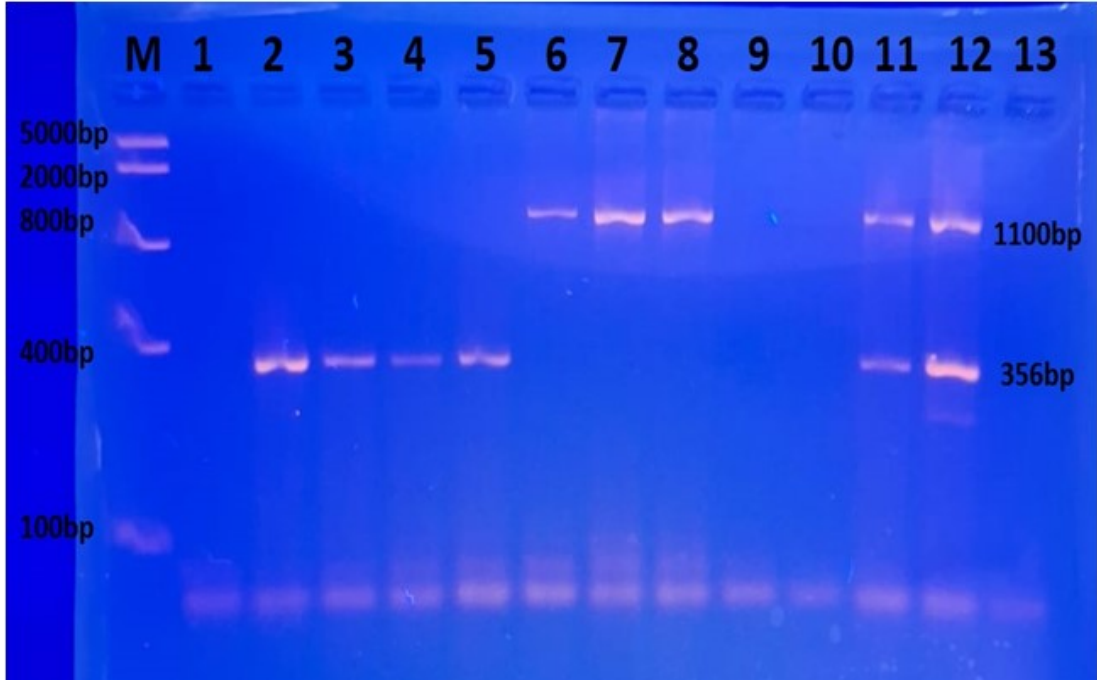
Her iki grup bakterinin de tanılandığı multipleks PCR bulguları

Hem *Aeromonas* izolatları hem de *L. garvieae* izolatlarının tamamı hatasız şekilde tanılandı.



Şekil 4.7. *Aeromonas* türlerinin cins seviyesinde tanımlanmasına ait bir görüntü

M: Ladder, **line1:** A1-*A. hydrophila*, **line2:** *L. garvieae* pozitif kontrol, **line3:** B1-*A. veronii*, **line4:** A5-*A. sobria*, **line5:** *Aeromonas* sp. pozitif kontrol, **line6:** Negatif kontrol



Şekil 4.8. *Aeromonas* türleri ve *Lactococcus garvieae* tanısında kullanılan multipleks PCR sonrası jel elektroforez görüntüsü

M: Ladder, **line1:** Negatif kontrol, **line2:** A6-*A. sobria*, **line3:** A7-*A. hydrophila*, **line4:** A8-*A. caviae*, **line5:** *Aeromonas sp.* pozitif kontrol, **line6:** B5-*L. garvieae*, **line7:** C1-*L. garvieae*, **line8:** *L. garvieae* pozitif kontrol, **line9:** D4-*L. lactis*, **line10:** D6-*L. lactis*, **line11:** B8-*L. garvieae* + A20-*A. sobria*, **line12:** B9-*L. garvieae* + C13-*A. ichthiosmia*, **line13:** B15-*K. rhizophila* + A13-*P. shigelloides*

5. TARTIŞMA

Dünyanın farklı bölgelerinden araştırmacılar, hasta çiftlik balıklarında gerçekleştirdikleri etyolojik çalışmalarında, *Lactococcus* ve *Aeromonas* enfeksiyonları başta olmak üzere hasta balıklar için tespit ettikleri anamnez, klinik semptom ve nekropsi bulgularını birbirlerine benzer olarak bildirmişlerdir.

Dalsgaard ve Madsen (2000) tarafından Danimarka’da faaliyet gösteren çiftliklerde gerçekleştirdikleri çalışmada, hareketsiz *Aeromonas* enfeksiyonlarında iştah kaybı, uyuşukluk, vücut yüzeyinde eritem, karında şişkinlik ve asites gibi sepsisemi belirtilerini rapor etmişlerdir.

Harikrishnan ve Balasundaram (2005) tarafından Motil *Aeromonad* Sepsisemisi için yaygın iç organ kanamalarına ve sepsisemiye dikkat çekilerek ”ülseröz dermatit” varlığını bildirmişlerdir.

Vendrell vd., (2006), enfekte balıklarda ekzoftalmus ve deri renginde koyulaşma gibi belirtilerin karakteristik olduğunu, iç bakıda ise karaciğer ve dalakta büyüme ile yaygın kanamaların görüldüğünü bildirmektedir.

Balcázar vd., (2007) furunkülozu, solungaçlarda, bağırsaklarda ve kaslarda hemorajik ve nekrotik lezyonlarla karakterize etmektedir.

Janda ve Abbott (2010) tarafından ”Motil *Aeromonad* Sepsisemisi (MAS)” veya ”Hemorajik Sepsisemi” hastalığının uyuşukluk, yüzgeç diplerinde kanamalar, iştahsızlık ve iç organlarda yaygın hemoraji ile karakterize olduğunu, özellikle salmonidlerde ve sazanlarda ciddi ekonomik kayıplara yol açtığını bildirmektedir.

Austin ve Austin (2012), *Aeromonas* enfeksiyonları için yaygın deri ülserleri ve yüzgeç çürümeleri, karaciğerde solgunluk, böbreklerde büyüme ve kanamalar, Igbinsola vd., (2012) *Aeromonas* enfeksiyonları için patojenlerin balıklarda doku nekrozu ve iç organlarda yaygın kanamalara yol açtığını, özellikle deri üzerindeki lezyonların bakteriyel virülans faktörlerinin (sitotoksinler, enterotoksinler vb.) bir sonucu olduğunu belirtmişlerdir.

Beaz-Hidalgo ve Figueras (2013), *Aeromonas* enfeksiyonlarında vücut yüzeyinde

eritem, yüzeysel ülseratif lezyonlar, karında şişkinlik, asites, iç organlarda yaygın kanamalar bildirmiştir. Öztürk vd., (2013), iç organlarda peteşiyel kanamalar ve karaciğerde solgunluk, Adel vd., (2015), inceledikleri balıklarda anoreksi (iştah kaybı), deri renginde koyulaşma, tek veya çift taraflı ekzoftalmus, karın şişkinliği ve iç organlarda kanama bildirmişlerdir.

Didinen vd., (2014) laktokokkozisin neden olduğu bir salgın sırasında ilk kez bulbus arteriosus duvarları tanımlanmış, iç organlarda peteşiyel ve fokal kanamalar, karaciğer ve dalak büyümesi gözlemlenmiştir.

Fattahi vd., (2015) *Aeromonas* enfeksiyonları için uyuşukluk, vücut yüzeyinde eritem, ülseratif lezyonlar, karında şişkinlik ve asites bildirmişlerdir.

Karami vd., (2019) tarafından laktokokkozis için tanımlanan ”şiddetli sistemik enfeksiyon” iç organlarda yaygın kanamaların (hemoraji) patojenin virülansının bir göstergesi olarak bildirilmiştir.

Ortega vd., 2020 diğer araştırmacılar farklı olarak melanozis (vücut renginde kararma) ve anal prolapsus (anüs dışarı çıkması) bulgularını laktokokkozis için karakteristik olarak rapor etmişlerdir. Altan ve Korun (2021), laktokokkozis için hasta balıklarda uyuşukluk, iştah kaybı, deri renginde koyulaşma, ekzoftalmus, iç organlarda hemoraji ve splenomegali, Hasaninia vd., (2022) *A. hydrophila* ile enfekte edilen balıklarda denge kaybı, letarjik yüzme, karaciğer ve yüzme kesesinde hemoraji ve böbrek hiperemisi (kanlanması) bulguları rapor etmişlerdir.

Balta vd., (2024) tarafından ”tipik hastalık semptomları” olarak genel hatlarıyla mevsimsel su sıcaklığı değişimlerinin balıklarda stres yaratarak bu semptomları tetiklediği vurgulanmıştır.

Patil vd., (2025) çalışmalarında histopatolojik olarak karaciğer ve böbrek nekrozuna odaklanmışlardır.

Bu çalışmada, tıpkı daha önceki çalışmalara benzer anamnez, klinik semptom ve nekropsisi bulguları elde edilmiştir.

Bu çalışmada bildirilen gözlerde sarılık ve böbrek ve yüzgeç deformasyonları, karaciğerde büyüme, literatüre göre nispeten daha seyrek bildirilen bulgular arasındadır. Bu

durum enfeksiyon sebebi *Aeromonas* türlerinin virülans özelliklerinden veya enfeksiyonun şiddetini belirleyebilecek konakçı ve çevre faktörlerinin farklılığından veya enfeksiyonların akut ya da kronik olması veya miks olmasından kaynaklanmış olabilir.

Bu çalışmada gerçekleştirilen bakteriyel izolasyonlar sonunda, 64 adet izolat tanımlanmış ve bu izolatların çoğunun *Lactococcus* ve *Aeromonas* cinslerine ait olduğu, kalanının ise çeşitli taksonomik gruplara ait bakteriler olduğu belirlenmiştir. Benzer çalışmaları yürüten araştırmacıların çalışmaları incelendiğinde, izolatların tamamının *L. garvieae* olarak tanımlandığı Türkiye’den (Didinen vd., 2014, Öztürk vd., 2013, Altan ve Korun, 2021) ve diğer ülkelerden (Karami vd., 2019, Ortega vd., 2020) çalışmalar bildirilmiştir. Bu durum *L. garvieae*’nin yaygın bir patojen olduğu ve çiftliklerde yaygın üretim sorunlarına sebep olabileceğini düşündürmektedir.

Bazı çalışmalarda bu çalışmada da olduğu gibi, bu bakteriyle beraber çeşitli farklı bakterilerin de izole edildiği belirtilmektedir. Adel vd., (2015), İran’ın Mazandaran eyaletindeki 10 farklı işletmeden topladıkları 200 hasta balığın %19’undan *L. garvieae*, %9’undan *Streptococcus* spp. ve %17’sinden *Yersinia* spp. izole etmişlerdir. Vendrell vd., (2006), *Lactococcus* cinsinin özellikle 15°C’nin üzerindeki su sıcaklıklarında hem tatlı su hem de deniz balıkçılığında yıkıcı etkiler yaratan birincil etken olduğunu vurgulamaktadır. Bu şekilde *L. garvieae*’nin varlığı, bu patojenin bölge ayırt etmeksizin alabalık yetiştiriciliğinde majör bir risk faktörü olabileceğini ve miks enfeksiyonların da yaygın olarak görülebileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada elde edilen *Aeromonas* türlerinin çeşitliliği ve yüksek prevalansı, Türkiye’deki işletmelerde laktokokkozise sıklıkla motil aeromonadların eşlik edebileceğini ve polimikrobiyal bir enfeksiyon tablosunun ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir.

Araştırmacılar *L. lactis* bakterisini de hasta balıklarda yaptıkları çalışmalarında izole etmişlerdir. Balcázar vd., (2007) tarafından ölü balıklardan izole edilen *L. lactis*, sağlıklı balıkların bağırsak mikrobiyotasından da izole edilmiş ve koruyucu bir probiyotik olarak kullanılabileceği belirtilmiştir. Ancak *L. lactis*’in ölü vakalardan izole edilmesi, bu türün sucul ortamdaki değişken rolünü ve belirli koşullar altında fırsatçı bir patojen olarak da karşımıza çıkabileceğini düşündürmektedir. Hasaninia vd., (2022) ise çalışmalarında iki

bakteriyi zıt rollerde ele almışlar, *L. lactis* bakterisini bir hastalık etkeni olarak değil, enfeksiyona karşı koruma sağlayan bir probiyotik olarak kullanılırken, *A. hydrophila* bakterisini deneysel enfeksiyon (challenge) ajanı olarak tercih etmişlerdir. WonSeok vd., (2013) çalışmalarında, sağlıklı zeytin dil balıklarının (*Paralichthys olivaceus*) bağırsağından izole ettikleri *L. lactis* subsp. *lactis* I2 suşunu bir probiyotik olarak kullanmışlardır. Bu çalışmada da hastalık belirtileriyle ölen balıklardan 3 adet *L. lactis* izole edilmiştir. *Lactococcus* isolatları içerisinde çok az sayıda olmaları, hastalık etkenleri arasındaki olağan şüpheliyi azaltmakla birlikte, nadiren de olsa uygun şartlarda bakterinin fırsatçı patojen olma ihtimalini düşündürmektedir. Türkiye’de yapılan bir çalışmada Balta vd., (2024), 2019-2021 yılları arasında kok enfeksiyonu şüphesiyle laboratuvara getirilen balıklardan 25 adet *Lactococcus* spp. izolatu elde ettiklerini bildirmişlerdir. Maalesef tür seviyesinde bir bildirim yapmamışlardır.

*Aeromonas*ların balıklardaki hastalık olgularından izole edildiğini bildiren çok sayıda çalışma mevcuttur. Austin ve Austin (2012), *Aeromonas* cinsinin taksonomik olarak en karmaşık gruplardan biri olduğunu ve motil aeromonadların (*A. hydrophila*, *A. sobria* gibi) sucul ekosistemlerde her yerde bulunabilen bir karakterde olup, fırsatçı patojenler olarak ciddi ekonomik kayıplara yol açtığını bildirmektedir. Beaz-Hidalgo ve Figueras (2013), *Aeromonas* cinsinin su ürünleri yetiştiriciliğinde en yaygın karşılaşılan patojen gruplarından biri olduğunu ve özellikle *A. hydrophila*, *A. veronii* ve *A. caviae* türlerinin balık hastalıklarında birincil derecede rol oynadığını vurgulamışlardır. Bu çalışmada izole edilen *A. veronii* ve *A. sobria* türlerinin sayıca üstünlüğü, literatürde belirtilen bu türlerin sucul ekosistemlerdeki yaygınlığı ve patojenik potansiyeli ile örtüşmektedir. Ayrıca, literatürlerde belirtilen *Aeromonas* türlerinin çeşitliliği, bu çalışmada saptanan geniş tür yelpazesini taksonomik açıdan desteklemektedir. Fattahi vd., (2015) ise çalışmalarında *A. hydrophila* ve bir çevre kirliliği indikatörü olan *Escherichia coli*’nin eş zamanlı tespitine odaklanmışlardır. Bu araştırmacılar, *A. hydrophila*’nın sucul ortamlarda doğal olarak bulunduğunu ancak stres faktörleriyle birlikte motil aeromonad septisemisinin (MAS) tetiklendiğini vurgulamaktadır. Harikrishnan ve Balasundaram (2005), özellikle *A. hydrophila*, *A. caviae* ve *A. sobria*’yı ”mezofilik fenotürler” olarak gruplandırmış ve bu türlerin dünya genelinde sucul ekosistemlerde yaygın olduğunu, balıklarda hemorajik

septisemi ve epizootik ülseratif sendromun (EUS) birincil etkenleri olduğunu bildirmiştir. Igbinosa vd., (2012), *Aeromonas* cinsinin taksonomik olarak sürekli genişlediğini ve özellikle *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria* ve *A. veronii* türlerinin sucul ortamlarda en sık karşılaşılan "emerging" (yeni önem kazanan) patojenler olduğunu vurgulamışlardır. Janda ve Abbott (2010), *Aeromonas* cinsinin taksonomik tarihçesini ele alırken, 1980'li yıllarda sadece 4 türün (*A. hydrophila*, *A. punctata*, *A. salmonicida*, *A. sobria*) tanımlı olduğunu, ancak 2010 yılı itibarıyla bu sayının 24'e yükseldiğini vurgulamaktadır. Patil vd., (2025) Hindistan'ın Mandi bölgesindeki bir işletmede meydana gelen ve %30 mortalite ile seyreden salgında sadece *A. hydrophila* izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada izole edilen *Aeromonas* türlerinin çeşitliliği ve çokluğu literatürdeki bilgilere paralel olarak Türkiye'deki balık çiftliklerinde de *Aeromonas* türlerinin fırsatçı patojenler olarak bulunduğunu ve hastalık olgularıyla direkt ilişkili olduklarını düşündürmektedir.

Araştırmacılar, balıklar üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında yukarıda söz konusu edilenlerin dışında, çeşitli farklı patojenlerin de tanımlandığını bildirmişlerdir. Dalsgaard ve Madsen (2000) Danimarka'daki 5 farklı tatlı su çiftliğinde yürüttükleri 2 yıllık izleme çalışmasında, 1206 balıktan 361 izolat elde etmişlerdir. Söz konusu çalışmada en sık izole edilen patojen *F. psychrophilum* iken, *Y. ruckeri* ve *A. salmonicida* izolasyonları daha düşük oranlarda rapor edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen etken çeşitliliğinin Danimarka çiftliklerinden elde edilenlerden farklı olması, bu çiftliklerde soğuk su hastalıklarının (RTFS/Coldwater disease) birincil sorun olduğu, bölgesel ve iklimsel faktörlerin patojen profili üzerinde belirleyici olduğunu düşündürmektedir. Benzer olarak Moya-Salazar vd., (2022), Peru'nun Lima bölgesindeki iki işletmede yaptıkları çalışmada, toplam 123 izolat elde etmişler ancak en sık izole edilen türlerin *E. coli* (%56.8), *Proteus* sp. (%4.2) ve *Klebsiella pneumoniae* (%2.6) olduğunu bildirmişlerdir. *A. hydrophila*'ya ise sadece bir örnekte (iç organ numunesi) rastlamışlardır.

Hastalıkların zararlarını azaltmak ve erken tedbir almak açısından balık hastalıklarının erken ve doğru tanınması oldukça önemlidir. Çok sayıda araştırmacı, balık hastalıklarının tanısında klasik izolasyon ve identifikasyon yöntemlerini kullanmışlar ancak bu amaçla kullanılan biyokimyasal testlerin bazı mikroorganizmaların ayırımında sınırlı bir kapasiteye

sahip olabileceğini vurgulamışlardır. Austin ve Austin (2012), fenotipik testlerin ve biyokimyasal identifikasyonun özellikle *Aeromonas* türleri arasındaki yakın benzerlikler nedeniyle yanıltıcı olabileceğini vurgulamaktadır.

Harikrishnan ve Balasundaram (2005), geleneksel antibiyotik ve kemoterapi uygulamalarındaki başarısızlıkların temel nedenlerinden birinin patojenlerin hızlı ve doğru teşhis edilememesi olduğunu vurgulamaktadır. Igbinsa vd., (2012), *Aeromonas* türlerinin fenotipik yöntemlerle (biyokimyasal testler) ayrımının son derece zor ve yanıltıcı olduğunu, bu durumun taksonomik bir karmaşaya yol açabileceğini belirtmişlerdir. Janda ve Abbott (2010), geleneksel fenotipik yöntemlerin *Aeromonas* türlerini ayırt etmede sıklıkla yetersiz kaldığını ve modern tanı sürecinde moleküler tekniklerin vazgeçilmez olduğunu belirtmektedir. Balta vd., (2024), *Lactococcus* türlerinin tanımlanmasında klasik biyokimyasal testlerin ve API 20 Strep kitlerinin kullanımında inkübasyon sıcaklığına bağlı hatalar oluşabildiğini, bu durumun yanlış identifikasyona yol açabileceğini belirtmişlerdir. Patil vd., (2025), izolatların identifikasyonunda biyokimyasal testler ve *A. hydrophila*'ya özgü moleküler teyit yöntemlerini kullanmışlardır. Vendrell vd., (2006), geleneksel biyokimyasal testlerin *L. garvieae*'yi yakın türlerden ayırt etmede bazen yetersiz kalabileceğini, bu nedenle genotipik tekniklerin (PCR, 16S rRNA dizilemesi vb.) altın standart olduğunu belirtmektedir. Otomatize biyokimyasal tanı gereçlerini çalışmalarında kullanan bazı araştırmacılar da mevcuttur. Moya-Salazar vd., (2022), izolatların tanımlanmasında fenotipik tabanlı Vitek 2 Compact otomatize sistemini kullanmışlardır. Ancak bu çalışmada da görüldüğü gibi, özellikle *Aeromonas*ların tür seviyesindeki tanılamalarında, biyokimyasal testlere ilave doğrulama testlerinin uygulanarak daha sağlıklı sonuçlar alınabileceği düşünülmüştür. Özellikle moleküler yöntemler ve MALDI-TOF MS sistemleri doğrulayıcı testler olarak çalışmalara mutlaka ilave edilmelidir. Çağatay (2024), MALDI-TOF MS teknolojisinin akuakültürde oldukça majör bir rol üstlendiğini vurgulanmıştır.

Araştırmacıların biyokimyasal testlere bakış açısı değiştikçe, tanıyı doğrulamak açısından balık hastalıklarının tanısında moleküler yöntemlerin kullanımı artmıştır. Altan ve Korun (2021), *L. garvieae* tanısında PLG ve SA1B10 primer çiftlerini karşılaştırmış ve her iki yöntemin de identifikasyonda kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Adel vd., (2015)

L. garvieae izolatlarını 16S rRNA genine spesifik iki çift primer kullanarak ve 1107 bp büyüklüğünde spesifik bantlar elde ederek doğrulamışlardır. Fattahi vd., (2015), 16S rRNA genini hedef alan bir Duplex PCR protokolü geliştirerek *A. hydrophila* ve *E. coli*'yi 8 saatten kısa bir sürede tanımlayabildiklerini bildirmişlerdir. Karami vd., (2019), 16S rDNA genini hedef alan spesifik bir PCR yöntemi ile 1107 bp büyüklüğünde tek bir bant elde ederek *L. garvieae* tanısını doğrulamışlardır. Didinen vd., (2014), tür spesifik primerler kullanarak *L. garvieae* varlığını doğrulamış ve 16S rRNA gen dizilemesi ile %100 benzerlik saptamışlardır. Ortega vd., (2020), izolatlarını 16S rRNA gen dizilemesi ile doğrulamış ve genetik heterojenliği belirlemek için REP-PCR ve ERIC-PCR yöntemlerini kullanmışlardır. Balcázar vd., (2007), balıkların deneme öncesinde patojenden ari olduğunu doğrulamak amacıyla *A. salmonicida*, *F. psychrophilum* ve *Y. ruckeri*'yi eş zamanlı olarak tespit edebilen bir Multiplex PCR protokolünden yararlanmışlardır. Panigrahi vd., (2007), izolatların tanımlanmasında API strips (API 50 CH ve 20 E) ve 16S rRNA gen dizilemesini kullanmış, ayrıca dalak ve böbrekte sitokin gen ifadelerini (*IL-1b1*, *TNF1*, *TNF2*, *TGF-b*) ölçmek için RT-PCR yöntemine başvurmuşlardır. Bu çalışmada da izolasyon sonuçlarımıza uygun olarak *L. garvieae* ve *Aeromonas* türlerini aynı anda tanımlayabilen bir Multiplex PCR yöntemi dizayn edilmiş ve kullanılmıştır. Sonuçta *Aeromonas* türleri ve *L. garvieae* aynı reaksiyon içerisinde başarılı bir şekilde ayırt edilmiştir. Ayrıca bu Multiplex PCR sonuçları ile MALDI-TOF MS sonuçlarının tam olarak uyumlu olması, bu karmaşıklığı gidermede moleküler tekniklerin üstünlüğünü, Multipleks PCR'ın başarı ile kullanılabilirliğini perçinlemiştir. Özellikle *Aeromonas* türleri ve *L. garvieae*'nin eş zamanlı tespit edilebildiği Multiplex PCR bulgularımız, literatürde (Austin ve Austin, 2012) belirtilen "karışık enfeksiyonların teşhisinde yaşanan zorluklar" problemine pratik bir çözüm sunmaktadır. Bu multipleks PCR yönteminin daha da geliştirilerek direkt dokulardan çalışılması durumunda tanı için büyük bir emek ve zaman kazanımı olacağı kanaati oluşmuştur.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmanın sonucunda, *L. garvieae* ve Hareketli bazı *Aeromonas* türlerinin Karkamış Baraj Gölü'nde sürdürülen verimli çiftlik balıkçılığı faaliyetlerine zarar veren baskın türler olduğu tespit edilmiştir. Özellikle *Aeromonas* enfeksiyonlarının fırsatçı patojenler olan *Aeromonas* türleri tarafından gerçekleştirildiği düşünüldüğünde, balıklar üzerinde stres oluşturan çok sayıda faktörün elimine edilmesi, yetiştirme şartlarının iyileştirilmesi çok sayıda hastalık vakasını engelleyecektir. Hastalıkların hızlı etiyolojik tanısının önemi ve gerekliliği özellikle antibiyotik seçimi ve koruma kontrol tedbirlerinin ivedilikle alınması açısından önemli olduğu görülmektedir. Tanı yöntemlerinin çeşitliliği, özellikle biyokimyasal testler dışında bazı moleküler testler ve modern MALDI-TOF MS yöntemlerinin kullanımı doğru tanı açısından önem taşımaktadır. Tanıda multipleks PCR kullanmak tek basamakta birden fazla tanımlama yapabilmek adına oldukça önemli bir kriter olarak kabul edilebilir. Bu çalışmada da böyle bir PCR'ın temelleri atılmıştır. Daha ileri çalışmalar ile bu multipleks PCR'ın geliştirilebileceği düşünülmektedir.

7. ÖNERİLER

Çiftlik balıkçılığında verimli ve kârlı bir işletme için modern yetiştiricilik yöntemleri eksiksiz uygulanmalı ve gerekli altyapı yatırımları mutlaka yapılmalıdır. Bilindiği gibi hastalık nedenleri arasında sadece bakteriler yoktur. Bakterilerden başka virüsler, parazitler ve mantarlar olabildiği gibi, non-enfeksiyöz etkenler de olabilir. İşte işletme alt yapısının doğru kurulması ve işletmenin sağlıklı işletilmesi, hastalıkların engellenmesinde öncü olmakta ve özellikle fırsatçı patojenlerin etkisizleştirilmesi adına en büyük rolü oynamaktadır. Hastalık vakalarının süratle tanınması ve hatta etken izolasyonu, hem tedavi için doğru antibiyotiklerin tercih edilmesini sağlayacak ve hem de otovaksinlerin hazırlanarak ivedilikle aşı uygulamalarına olanak sağlayarak sürdürülebilir verimli hayvancılığımızı pozitif yönde etkileyecektir.

KAYNAKLAR

- Adel, M., Dehkordi, A. E., Yaghoubzadeh, Z., Sadrabad, E. K., & Babaalian, A. (2015). Isolation and Characterization of *Lactococcus garvieae* from Diseased Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Cultured in Northern Iran Based on the Nucleotide Sequences of the 16s rRNA Gene. *Walailak Journal of Science & Technology*, 12(6), 533–538.
- Akinbowale, O. L., Peng, H., & Barton, M. D. (2006). Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. *Journal of Applied Microbiology*, 100(5), 1103–1113.
- 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.
- Allen, D. A., Austin, B., & Colwell, R. R. (1983). Numerical taxonomy of bacterial isolates associated with a freshwater fishery. *Journal of General Microbiology*, 129(7), 2043–2062.
- Altan, E., & Korun, J. (2021). *Lactococcus garvieae* isolates from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.) compared by PLG and SA1B10 PCR primer pairs. *J. Ilm. Platax*, 9, 18–28.
- Altay, K., Aydın, M. F. F., Uluisik, U., Aktas, M., & Dumanli, N. (2008). *Theileria annulata* ve *Theileria buffeli*'nin Teşhisinde Multiplex PCR'ın Kullanılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 32, 1–3.
- Altinok, I., Grizzle, J. M., & Liu, Z. (2001). Detection of *Yersinia ruckeri* in rainbow trout blood by use of the polymerase chain reaction. *Diseases of Aquatic Organisms*, 44, 29–34.
- Altinok, I., & Kurt, I. (2003). Molecular Diagnosis of Fish Diseases: a Review. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 3, 131–138.
- Altun, S., Kubilay, A., Ekici, S., Dıdinen, B. I., & Diler, O. (2010). Oral vaccination against lactococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using sodium alginate and poly (lactide-co-glycolide) carrier. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(1).
- Aoki, T., Ikeda, D., Katagiri, T., & Hirono, I. (1997). Rapid Detection of the Fish-Pathogenic Bacterium *Pasteurella piscicida* by Polymerase Chain Reaction Targeting Nucleotide Sequences of the Species-Specific Plasmid pZP1. *Fish Pathology*, 32(3), 143–151.
- Arda, M. (2011). Genel. İçinde M. Arda (Ed.), *Temel mikrobiyoloji* (s. 558). Medisan Yayınevi.
- Assefa, A., & Abunna, F. (2018). Maintenance of fish health in aquaculture: Reviews of major diseases of fish and controls. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 6(2), 175–183. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.03.002>

- Austin, B., & Allen-Austin, D. (1985). A review: bacterial pathogens of fish. *Journal of Applied Bacteriology*, 58(5), 483–506.
- Austin, B., & Austin, D. A. (2007). *Bacterial fish pathogens: diseases of farmed and wild fish*. Springer Netherlands.
- Austin, B., & Austin, D. A. (2016). *Bacterial fish pathogens: Disease of farmed and wild fish* (6th). Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-32674-0>
- Aydın, F. (2009). *Alabalık biyolojisi ve yetiştirme teknikleri* (tek. rap.). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü. Ankara, Turkey.
- Aydın, H. (2017). Türkiye’de Kültür Balıkçılığı Potansiyeli ve Akuakültür Sektörünün Ekonomiye Katkısı. *Balkan Sosyal Bilimler Dergisi*, 6(11), 62–67.
- Balcázar, J. L., Blas, I. D., Ruiz-Zarzuela, I., Vendrell, D., Gironés, O., & Muzquiz, J. L. (2007). Enhancement of the immune response and protection induced by probiotic lactic acid bacteria against furunculosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 51(1), 185–193. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00294.x>
- Balta, F., Balta, Z. D., & Yağmur, M. (2024). Hastalıklı Gökkuşáğı Alabalığından İzole Edilen *Lactococcus* spp. Suşlarının Tanımlanması ve Antimikrobiyal Duyarlılığının Belirlenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 9(3), 472–484. <https://doi.org/10.35229/jaes.1513751>
- Beaz-Hidalgo, R., & Figueras, M. J. (2013). *Aeromonas* spp. whole genomes and virulence factors implicated in fish disease. *Journal of Fish Diseases*, 36(4), 371–388. <https://doi.org/10.1111/jfd.12025>
- Bergey, D. H. (1994). *Bergey’s manual of determinative bacteriology*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Braga, P. A. C., Tata, A., Santos, V. G. d., Barreiro, J. R., Schwab, N. V., Santos, M. V. d., & Ferreira, C. R. (2013). Bacterial identification: from the agar plate to the mass spectrometer. *RSC advances*, 3(4), 994–1008.
- Brauns, L. A., Hudson, M. C., & Oliver, J. D. (1991). Use of The Polymerase Chain Reaction in Detection of Culturable and Nonculturable *Vibrio vulnificus* Cells. *Applied Environmental Microbiology*, 57, 2651–2655.
- Brown, L. L., Iwama, G. K., Evelyn, P. T. P., Nelson, W. S., & Levine, R. P. (1994). Use of the Polymerase Chain Reaction (PCR) to Detect DNA from *Renibacterium salmoninarum* within Individual Salmonid Eggs. *Dis. Aquat. Org.*, 65, 171–199.
- Buijtsels, P. C. A. M., Willemsse-Erix, H. F. M., Petit, P. L. C., Endtz, H. P., Puppels, G. J., Verbrugh, H., Belkum, A. v., Soolingen, D. v., & Maquelin, K. (2008). Rapid identification of mycobacteria by Raman spectroscopy. *Journal of clinical microbiology*, 46(3), 961–965.

- Buller, N. B. (2004). Aquatic animal species and organism relationship. İçinde *Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual* (ss. 1–82). CABI Publishing.
- Cai, Y., Yang, J., Pang, H., & Kitahara, M. (2011). *Lactococcus fujiensis* sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from vegetable matter. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(7), 1590–1594.
- Cascon, A., Anguita, J., Hernandez, C., Sanchez, M., Fernandez, M., & Naharro, G. (1996). Identification of *Aeromonas hydrophila* Hybridisation Group 1 by PCR Assays. *Applied Environmental Microbiology*, 62, 1167–1170.
- Cavallaro, J. J., Wiggs, L. S., & Miller, J. M. (1997). Evaluation of the BBL Crystal Anaerobe identification system. *Journal of clinical microbiology*, 35(12), 3186–3191.
- Celig, D. M., & Schreckenberger, P. C. (1991). Clinical evaluation of the RapID-ANA II panel for identification of anaerobic bacteria. *Journal of clinical microbiology*, 29(3), 457–462.
- Cerro, A. D., Marquez, I., & Guijarro, J. A. (2002). Simultaneous Detection of *Aeromonas salmonicida*, *Flavobacterium psychrophilum* and *Yersinia ruckeri*, Three Major Fish Pathogens, by Multiplex PCR. *App. Environ. Microbiol.*, 68, 5177–5180.
- Chamberlain, J. S., Gibbs, R. A., Rainer, J. E., Nguyen, P. N., & Thomas, C. (1988). Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. *Nucleic acids research*, 16(23), 11141–11156.
- Chamberlain, J. S., Gibbs, R. A., Ranier, J. E., & Caskey, C. T. (1990). Multiplex PCR for the diagnosis of Duchenne muscular dystrophy. İçinde *PCR protocols: a guide to methods and applications* (s. 281, C. 272).
- Chan, J. F. W., Woo, P. C. Y., Teng, J. L. L., Lau, S. K. P., Leung, S. S. M., Tam, F. C. C., & Yuen, K. Y. (2011). Primary infective spondylodiscitis caused by *Lactococcus garvieae* and a review of human *L. garvieae* infections. *Infection*, 39(3), 259–264.
- Chen, S. C., Liaw, L. L., Su, H. Y., Ko, S. C., Wu, C. Y., Chaung, H. C., & Chu, S. Y. (2002). *Lactococcus garvieae*, a cause of disease in grey mullet, *Mugil cephalus* L., in Taiwan. *Journal of Fish Diseases*, 25(12), 727–732.
- Cheng, W., & Chen, J. C. (1998). Isolation and characterization of an *Enterococcus*-like bacterium causing muscle necrosis and mortality in *Macrobrachium rosenbergii* in Taiwan. *Diseases of Aquatic Organisms*, 34, 93–101.
- Chowdhury, S., & Al-Zahrani, M. (2014). Water quality change in dam reservoir and shallow aquifer: analysis on trend, seasonal variability and data reduction. *Environmental monitoring and assessment*, 186(10), 6127–6143.
- Cunningham, C. O. (2002). Molecular diagnosis of fish and shellfish diseases: present status and potential use in disease control. *Aquaculture*, 206(1-2), 19–55.

- Çağatay, İ. T. (2024). Use of proteomic-based MALDI-TOF mass spectra for identification of bacterial pathogens in aquaculture: a review. *Aquaculture International*, 32(6), 7835–7871.
- Dalsgaard, I., & Madsen, L. (2000). Bacterial pathogens in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), reared at Danish freshwater farms. *Journal of Fish Diseases*, 23(3), 199–209. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2000.00242.x>
- Demir, O., & Sönmez, A. Y. (2012). Türkiye Su Ürünleri Üretiminin Ekonomik ve Yapısal Analizi. *Alinteri Journal of Agriculture Science*, 14(1), 39–45.
- Demirev, P. A., Ho, Y. P., & Fenselau, C. (1999). Microorganism identification by mass spectrometry and protein databases. *Analytical Chemistry*, 71(14), 2732–2738.
- Didinen, B. I., Yardimci, B., Onuk, E. E., Metin, S. E. Ç. İ. L., & Yildirim, P. (2014). Naturally *Lactococcus garvieae* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792): new histopathological observations, phenotypic and molecular identification. *Rev Med Vet-Toulouse*, 165, 12–19.
- Dinçtürk, E. (2019). *Alabalıklarda bakteriyel balık patojenlerinin teşhisinde yeni izolasyon ve identifikasyon yöntemlerinin uygulanması* [Doctoral dissertation]. Izmir Katip Celebi University.
- Downes, J., King, A., Hardie, J., & Philips, I. (1999). Evaluation of the Rapid ID 32A system for identification of anaerobic Gram-negative bacilli, excluding the *Bacteroides fragilis* group. *Clin. Microbiol. Infect.*, 5, 319–326.
- Duman, M., Altun, S., Cengiz, M., Saticioglu, I. B., Buyukekiz, A. G., & Sahinturk, P. (2017). Genotyping and antimicrobial resistance genes of *Yersinia ruckeri* isolates from rainbow trout farms. *Diseases of aquatic organisms*, 125(1), 31–44.
- Durmaz, Y., & Kılıçoğlu, Y. (2015). Bir alabalık çiftliğinde doğal enfekte gökkuşağı alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) *Lactococcus garvieae*'nin kültür ve PCR ile saptanması ve etkenin antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 10(2).
- Eldar, A., Frelie, P. F., Asanta, L., Varner, P. W., Lawhon, S., & Bercovier, H. (1995). *Streptococcus shiloi*, the name for an agent causing septicemic infection in fish, is a junior synonym of *Streptococcus iniae*. *Int J Syst Bacteriol*, 45, 840–842.
- Eldar, A., & Ghittino, C. (1999). *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae* infections in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: Similar, but different diseases. *Diseases of Aquatic Organisms*, 36(3), 227–231.
- Elliot, J. A., Collins, M. D., Pigott, N. E., & Facklam, R. R. (1991). Differentiation of *Lactococcus lactis* and *Lactococcus garvieae* from humans by comparison of whole-cell protein patterns. *J. Clin. Microbiol.*, 20, 2731–2734.
- Ergün, H. (2009). Su ürünleri tüketimi ve tanıtımı. *Aquaculture Studies*, 2.

- FAO. (2018). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2018: Meeting the sustainable development goals* (tek. rap.). Food ve Agriculture Organization of the United Nations.
- FAO. (2024). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2024: Blue Transformation in action* (tek. rap.). Food ve Agriculture Organization of the United Nations. <https://doi.org/10.4060/cd0661en>
- Fattahi, F., Mirvaghefi, A., Farahmand, H., Rafiee, G., & Abdollahi, A. (2015). Simultaneous detection of *Aeromonas hydrophila*, and *Escherichia coli* in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by Duplex PCR. *International Journal of Aquatic Biology*, 3(1), 52–59.
- Gatesoupe, F. J. (2008). Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: Natural occurrence and probiotic treatments. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 14(1-3), 107–114. <https://doi.org/10.1159/000106089>
- González, S. F., Krug, M. J., Nielsen, M. E., Santos, Y., & Call, D. R. (2004). Simultaneous Detection of Marine Fish Pathogens by Using Multiplex PCR and a DNA Microarray. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 1414–1419.
- Groberg, W. J., McCoy, R. H., Pilcher, K. S., & Fryer, J. L. (1978). Relation of water temperature to bacterial diseases of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), chinook salmon (*O. tshawytscha*), and steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 35(1), 1–7.
- Hamasha, K. M. (2011). *Raman spectroscopy for the microbiological characterization and identification of medically relevant bacteria* [dok. tezi, Wayne State University] [Dissertations, Paper 311].
- Hansen, G. H., & Olafsen, J. A. (1989). Bacterial colonization of cod (*Gadus morhua* L.) and halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs in marine aquaculture. *Applied and environmental microbiology*, 55(6), 1435–1446.
- Hanson, C. W., Cassorla, R., & Martin, W. J. (1979). API and Minitex systems in identification of clinical isolates of anaerobic gram-negative bacilli and *Clostridium* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 10(1), 14–18.
- Harikrishnan, R., & Balasundaram, C. (2005). Modern trends in *Aeromonas hydrophila* disease management with fish. *Reviews in Fisheries Science*, 13(4), 281–320. <https://doi.org/10.1080/10641260500320845>
- Hasaninia, A., Roudari, H. V., Khara, H., Masouleh, A. S., & Ahmadnezhad, M. (2022). Effect of dietary *Lactococcus lactis* and *Bacillus subtilis* on the innate immunity, intestinal microbiota, histometrical indices, and resistance against *Aeromonas hydrophila* in Oscar, *Astronotus ocellatus* Agassiz, 1831. *International Journal of Aquatic Biology*, 10(6), 438–450. <https://doi.org/10.22034/ijab.v10i6.1753>
- Hasde, M., Oğur, R., Tekbaş, Ö. F., Gata, H. S., & Gata, Ç. S. (2002). Ankara il merkezinde bulunan askeri birliklerdeki kuyu sularının polimeraz zincir reaksiyon sistemi ile

- mikrobiyolojik analizlerinin yapılması. *Gülhane tıp dergisi (gtd) gülhane medical journal (gmj)*, 373.
- Hazen, T. C. (1979). Ecology of *Aeromonas hydrophila* in a South Carolina cooling reservoir. *Microbial Ecology*, 5(3), 179–195.
- Hiney, M., Dawson, M. T., Heery, D. M., Smith, P. R., Gannon, F., & Powell, R. (1992). DNA probe for *Aeromonas salmonicida*. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(3), 1039–1042.
- Hirono, I., Masuda, T., & Aoki, T. (1996). Cloning and detection of the hemolysin gene of *Vibrio anguillarum*. *Microbial pathogenesis*, 21(3), 173–182.
- Huizinga, H. W., Esch, G. W., & Hazen, T. C. (1979). Histopathology of red-sore disease (*Aeromonas hydrophila*) in naturally and experimentally infected large mouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepede). *Journal of fish diseases*, 2(4), 263–277.
- Igbiosa, I. H., Igumbor, E. U., Aghdasi, F., Tom, M., & Okoh, A. I. (2012). Emerging *Aeromonas* species infections and their significance in public health. *The Scientific World Journal*, 2012, 625023. <https://doi.org/10.1100/2012/625023>
- 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>
- Jr, E. B. S., & Rimler, R. (1973). Medium for the isolation of *Aeromonas hydrophila*. *Applied Microbiology*, 26(4), 550–553.
- Karaman, S., & Yeşilayer, N. (2012). Alabalık tesisleri ve havuzlarının planlama ilkeleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5(2), 138–146.
- Karami, E., Alishahi, M., Molayemraftar, T., Ghorbanpour, M., Tabandeh, M. R., & Mohammadian, T. (2019). Study of pathogenicity and severity of *Lactococcus garvieae* isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Kohkilooieh and Boyerahmad province. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 22(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s41240-019-0135-2>
- Kayış, S., Çapkın, E., Balta, F., & Altınok, İ. (2009). Bacteria in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the Southern Black Sea Region of Turkey-A survey. *Israeli Journal of Aquaculture-bamidgeh*, 61(4).
- Kırkan, Ş., Göksoy, E. Ö., & Kaya, O. (2003). Isolation and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas salmonicida* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey hatchery farms. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 50(7), 339–342. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.2003.00671.x>
- Kubilay, A., Altun, S., & Savaş, S. (2009). A study on aerobic bacterial flora during incubation of rainbow trout eggs in hatchery (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) eggs in hatchery. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 3(1), 5–9.

- Kuzucu, O., & Büyükçapar, H. M. (2018). Aşağı Fırat Havzasında Kafes Balıkçılığı Yapan İşletmelerin Yapısal ve Biyoteknik Analizi. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 21(1), 58–65.
- Küçükyılmaz, M., Örnekci, G. N., Uslu, A. A., Özbey, N., Şeker, T., Birici, N., & Koçer, M. A. T. (2014). Işıktepe Baraj Gölü (Maden, Elazığ) kıyı bölgesi fizikokimyasal su kalitesi üzerine ilk bulgular. *Aquaculture Studies*, 14(2).
- Lee, E. H. L., Degener, J. E., Welling, G. W., & Veloo, A. C. M. (2011). Evaluation of the Vitek 2 ANC card for identification of clinical isolates of anaerobic bacteria. *Journal of clinical microbiology*, 49(5), 1745–1749.
- Leitritz, E., & Lewis, R. C. (1976). *Trout and salmon culture (Hatchery methods)* (Fish Bulletin No. 164). California The Resources Agency Department of Fish ve Game.
- Li, D., Li, X., Wang, Q., & Hao, Y. (2022). Advanced techniques for the intelligent diagnosis of fish diseases: A review. *Animals*, 12(21), 2938.
- Lindhorst-Emme, W. (1990). *Forellenzucht: Betriebswirtschaftliche und technische Grundlagen*. Verlag Paul Parey.
- Martin-Carnahan, A., & Joseph, S. W. (2005). Aeromonadales ord. nov. İçinde *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology* (ss. 556–587). Springer.
- Martiny, D., Busson, L., Wybo, I., Haj, R. A. E., Dediste, A., & Vandenberg, O. (2012). Comparison of the Microflex LT and Vitek MS systems for routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry. *Journal of clinical microbiology*, 50(4), 1313–1325.
- Mata, A. I., Gibello, A., Casamayor, A., Blanco, M. M., Domínguez, L., & Fernández-Garayzábal, J. F. (2004). Multiplex PCR assay for detection of bacterial pathogens associated with warm-water streptococcosis in fish. *Applied and environmental microbiology*, 70(5), 3183–3187.
- McFadden, T. W. (1970). Furunculosis in non-salmonids. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 27, 2365–2370. <https://doi.org/10.1139/f70-266>
- Messmer, M. M., Melchinger, A. E., Herrmann, R. G., & Boppenmaier, J. (1993). Relationships among early European maize inbreds: II. Comparison of pedigree and RFLP data. *Crop science*, 33(5), 944–950.
- Mory, F., Alauzet, C., Matuszeswski, C., Riegel, P., & Lozniewski, A. (2009). Evaluation of the new Vitek 2 ANC card for identification of medically relevant anaerobic bacteria. *Journal of clinical microbiology*, 47(6), 1923–1926.
- Moya-Salazar, J., Díaz, C. R., Cañari, B., Badillo, R. X., Verano-Zelada, M., Chicoma-Flores, K., & Contreras-Pulache, H. (2022). Detection of pathogenic *Aeromonas hydrophila* from two rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Peru. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, 44, e000922.

- Mullis, K. B., & Faloona, F. A. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. İçinde *Methods in enzymology* (ss. 335–350, C. 155). Academic Press.
- Muzquiz, J. L., Royo, F. M., Ortega, C., Blas, I. D., Ruiz, I., & Alonso, J. L. (1999). Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Dependence On. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol*, 19(3), 114.
- Nakai, T., Sugimoto, R., Park, K. H., Matsuoka, S., Mori, K. I., Nishioka, T., & Maruyama, K. (1999). Protective effects of bacteriophage on experimental *Lactococcus garvieae* infection in yellowtail. *Diseases of aquatic organisms*, 37(1), 33–41.
- Ortega, C., Irgang, R., Valladares-Carranza, B., Collarte, C., & Avendaño-Herrera, R. (2020). First identification and characterization of *Lactococcus garvieae* isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in Mexico. *Animals*, 10(9), 1609. <https://doi.org/10.3390/ani10091609>
- Özcan, M., & Kuzucu, F. B. (2019). Investigation of Bacterial Diseases in Rainbow Trout Cages in the Down Fırat Basin. *World Journal of Engineering*, 5(6), 473–490.
- Özer, S., Demirel, M., Us, M., & Yıldırım, S. (2008). Mersin İli Çağlarca Köyü’ndeki Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Kuluçkahanelerinin Mikrobiyal Florası. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 2(3), 261–271.
- Özgür, M. E., Bayır, İ., & Gürçay, S. (2015). Türkiye’de Gökkuşığı Alabalığı Yetiştiriciliğinin Mevcut Durumu. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 8(2), 06–08.
- Öztürk, R. Ç., & Altınok, İ. (2014). Bacterial and Viral Fish Diseases in Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14(1). https://doi.org/10.4194/1303-2712-v14_1_30
- Öztürk, T., Didinen, B. I., Doğan, G., Özer, A., & Bircan, R. (2013). Lactococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) in the middle Black Sea Region in Turkey and antimicrobial susceptibility of the aetiological agent, *Lactococcus garvieae*. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 24, 7–12.
- Panigrahi, A., Kiron, V., Satoh, S., Hirono, I., Kobayashi, T., Sugita, H., & Aoki, T. (2007). Immune modulation and expression of cytokine genes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* upon probiotic feeding. *Developmental & Comparative Immunology*, 31(4), 372–382. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2006.07.004>
- Patil, R. D., Bisht, E., Verma, A., Sharma, R., & Asrani, R. K. (2025). Pathology of *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) of Himachal Pradesh. *Indian J. Vet. Pathol.*, 49(1), 85–89. <https://doi.org/10.5958/ehyqc013>
- Perry, J. D., & Freydière, A. M. (2007). The application of chromogenic media in clinical microbiology. *Journal of applied microbiology*, 103(6), 2046–2055.
- Polat, N., Uğurlu, S., & Kandemir, Ş. (2011). Türkiye’nin endemik ve egzotik alabalıkları. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4(1), 1–9.

- Popović, N. T., Kazazić, S. P., Strunjak-Perović, I., & Čož-Rakovac, R. (2017). Differentiation of environmental aquatic bacterial isolates by MALDI-TOF MS. *Environmental Research*, 152, 7–16.
- Popović, N. T., Čož-Rakovac, R., & Strunjak-Perović, I. (2007). Commercial phenotypic tests (API 20E) in diagnosis of fish bacteria: a review. *Vet. Med. -Czech*, 52, 49–53.
- Prichard, R., & Tait, A. (2001). The role of molecular biology in veterinary parasitology. *Veterinary Parasitology*, 98(1-3), 169–194.
- Quinn, P. J., Carter, M. E., Markey, B. K., & Carter, G. R. (1994). *Clinical Veterinary Microbiology*. Mosby Year Book.
- Raissy, M., & Ansari, M. (2011). Antibiotic susceptibility of *Lactococcus garvieae* isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran fish farms. *African Journal of Biotechnology*, 10(8), 1473–1476.
- Rattanachaikunsopon, P., & Phumkhachorn, P. (2012). Detection of *Aeromonas salmonicida* by reverse transcription-multiplex polymerase chain reaction. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 76(4), 665–670.
- Rennie, R. P., Brosnikoff, C., Turnbull, L., Reller, L. B., Mirrett, S., Janda, W., & Krilcich, A. (2008). Multicenter evaluation of the Vitek 2 anaerobe and *Corynebacterium* identification card. *Journal of clinical microbiology*, 46(8), 2646–2651.
- Roberts, R. J. (2012). *Fish pathology*. John Wiley & Sons.
- Ruhdel, H. J. (1977). Preisentwicklung bei Geflügelfutter. *Deutsche Geflügelwirtschaft und Schweineproduktion*, 29.
- Sağlam, Y. S., Işık, N., Arslan, A., & Erer, H. (2006). Erzurum Bölgesindeki Gökkuşluğu Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) *Aeromonas hydrophila* ve *Yersinia ruckeri* İzolasyonu ve Patolojik İncelemeler. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 1(1-2), 6–10.
- Sarma, D., Chandra, S., & Mallik, S. K. (2024). *Aquaculture and conservation of inland coldwater fishes* (D. Sarma, S. Chandra & S. K. Mallik, Ed.). Springer.
- Savvidis, G. K., Anatoliotis, C., Kanaki, Z., & Vafeas, G. (2007). Epizootic outbreaks of *Lactococcosis* disease in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), culture in Greece. *Bulletin-European Association of Fish Pathologists*, 27(6), 223.
- Saygı, H. E. (2024). Türkiye’de balıkçılık ve su ürünleri yetiştiriciliği sektörünün mavi ekonomi bağlamında büyüme beklentileri. *Memba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 10(3), 187–200.
- Schmitt, M., & Popp, J. (2006). Raman spectroscopy at the beginning of the twenty-first century. *Journal of Raman Spectroscopy*, 37(1-3), 20–28.
- Schreckenberger, P. C., Celig, D. M., & Janda, W. M. (1988). Clinical evaluation of the Vitek ANI card for identification of anaerobic bacteria. *Journal of clinical microbiology*, 26(2), 225–230.

- Seng, P., Drancourt, M., Gouriet, F., Scola, B. L., Fournier, P. E., Rolain, J. M., & Raoult, D. (2009). Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical infectious diseases*, 49(4), 543–551.
- Smith, P. J., Birley, A. J., Jamieson, A., & Bishop, C. A. (1989). Mitochondrial DNA in the Atlantic cod, *Gadus morhua*: lack of genetic divergence between eastern and western populations. *Journal of Fish Biology*, 34(3), 369–373.
- Steffens, W. (1981). *Moderne Fisch wirtschaft*. Verlag J. Neumann-Neudamm.
- Şeker, E., Kılıç, A., Özcan, M., & İspir, Ü. (2006). Malatya'daki Bazı Gökkuşığı Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) İşletmelerinin Bakteriyel Florası. *Fırat Üniversitesi Doğu Araştırmaları Dergisi*, 5(1), 15–18.
- Tanır, T. (2017). *Sığır mastitislerine neden olan stafilocok türlerinin maldı-tof ms ile identifikasyonlarının yapılması* [dok. tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü].
- Tarım and Hayvancılık Bakanlığı T.C. Gıda. (2018). Su hayvanı enfeksiyonları. İçinde *Teşhiste metot birliği: Bakteriyoloji* (ss. 195–237). T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı.
- Tarım and Orman Bakanlığı. (2024). *Su ürünleri yetiştiriciliğinde su kalitesi yönetimi rehberi* (tek. rap.). Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü.
- Taylor, P. D., Vinn, O., Kudryavtsev, A., & Schopf, J. W. (2010). Raman spectroscopic study of the mineral composition of cirratulid tubes (Annelida, Polychaeta). *Journal of structural biology*, 171(3), 402–405.
- Tepe, R., Karakaya, G., Şahin, A. G., Sesli, A., Küçükyılmaz, M., & Aksağan, A. (2018). Karkamış baraj gölü trofik durumu. *International Journal of Innovative Engineering Applications*, 2(1), 1–3.
- Tepe, R., & Kutlu, B. (2019). Karkamış Baraj Gölü (Gaziantep) Su Kalitesinin İncelenmesi. *Turkish Journal of Agriculture- Food Science and Technology*, 7(3), 458–466.
- Timur, G., Karataş, S., Çolak, S., & Akaylı, T. (1999). Gökkuşığı alabalık yavrularında görülen furunkulozis hastalığı üzerine bir çalışma. *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 461–467.
- Timur, G., Yardımcı, R., Ürkü, Ç., & Çanak, Ö. (2011). Marmara Bölgesi Kültür Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, L.) Lactococcosis'in bakteriyolojik ve histopatolojik metodlarla teşhisi. *Aquatic Sciences and Engineering*, 26(2), 63–81.
- Toranzo, A. E., Romalde, J. L., Magariños, B., & Barja, J. L. (2009). Present and future of aquaculture vaccines against fish bacterial diseases. *Options Mediterraneennes*, 86, 155–176.
- Trust, T. J., Bull, L. M., Currie, B. R., & Buckley, J. T. (1979). Obligate anaerobic bacteria in the gastrointestinal microflora of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), goldfish

- (*Carassius auratus*), and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 36(10), 1174–1179.
- TÜİK. (2018). *Su ürünleri istatistikleri 2017* (tek. rap.). Türkiye İstatistik Kurumu Haber Bülteni.
- TÜİK. (2025). *Su ürünleri istatistikleri, 2024* (tek. rap. No. 54193). Türkiye İstatistik Kurumu Haber Bülteni.
- UNESCO/IHA. (2008). *Scoping paper: Assessment of the GHG status of freshwater reservoirs* (tek. rap.). International Hydropower Association.
- Váradı, L., Luo, J. L., Hibbs, D. E., Perry, J. D., Anderson, R. J., Orenga, S., & Groundwater, P. W. (2017). Methods for the detection and identification of pathogenic bacteria: past, present, and future. *Chemical Society Reviews*, 46(16), 4818–4832. <https://doi.org/10.1039/c6cs00693k>
- Vendrell, D., Balcázar, J. L., Ruiz-Zarzuela, I., Blas, I. D., Gironés, O., & Múzquiz, J. L. (2006). *Lactococcus garvieae* in fish: a review. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 29(4), 177–198. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2006.06.003>
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T. V. D., Hornes, M., & Zabeau, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acids research*, 23(21), 4407–4414.
- 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.
- Wang, G., Clark, C. G., Liu, C., Pucknell, C., Munro, C. K., Kruk, T. M., & Rodgers, F. G. (2003). Detection and characterization of the hemolysin genes in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* by multiplex PCR. *Journal of clinical microbiology*, 41(3), 1048–1054. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.3.1048-1054.2003>
- Wieser, A., Schneider, L., Jung, J., & Schubert, S. (2012). MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics—identification of microorganisms and beyond (mini review). *Applied microbiology and biotechnology*, 93(3), 965–974.
- Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., & Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*, 18(22), 6531–6535.
- WonSeok, H., YuRi, K., EunYoung, K., Sungchul, B., & InSoo, K. (2013). Effects of dietary probiotic, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* I2, supplementation on the growth and immune response of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 376-379, 20–24. <https://doi.org/10.1016/j>
- Yanong, R. P., & Francis-Floyd, R. (2024). *Streptococcal infections of fish* (tek. rap.). Department of Fisheries, Aquatic Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food ve Agricultural Sciences, University of Florida.

- Yıldırım, S., & Özer, S. (2010). Mersin İli Çağlarca Köyündeki Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) Kuluçkahanelerinde *Flavobacterium* spp. Varlığı. *Journal of Fisheries Sciences. com*, 4(1), 112–122.
- Zlotkin, A., Eldar, A., Ghittino, C., & Bercovier, H. (1998). Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR. *Journal of clinical microbiology*, 36(4), 983–985.

ÖZ GEÇMİŞ
KİŞİSEL BİLGİLER

Ad Soyadı : MUHAMMED YAŞAR DÖRTBUDAK
Öğrenci No : 205320001
E-posta : mydortbudak@harran.edu.tr
Telefon : 5053735701
Doğum Yeri : Urfa
Doğum Tarihi : 1975-08-26
ORCID : 0000-0001-7966-5678
ABD (TR) : VETERİNER MİKROBİYOLOJİ
ABD (EN) : VETERINARY MICROBIOLOGY
:

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Adı, Bölüm	Yıl
1.	Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü - Doktora / Veteriner Mikrobiyoloji	2020-Devam
2.	Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü - Doktora / Zootekni	2003-2010
3.	Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü - Y. Lisans / Tıp Fizyoloji	1999-2001
4.	Harran Üniversitesi Fen Edb Fakültesi / Biyoloji	1994-1998

DİĞER BİLGİLER

2024 yılında Su Ürünleri Bilim Alanında Doçent unvanını aldı.2025 yılında Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Hidrobiyoloji Anabilim Dalına Doçent Doktor olarak atandı ve halen görev yapmaktadır.