

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ELAZIĞ ŞEHİR KANALİZASYONUNUN KEBAN
BARAJ GÖLÜ'NE DÖKÜLDÜĞÜ BÖLGEDEN YAKALANAN
BALIKLARDA STREPTOKOKUS' LARIN ARAŞTIRILMASI**

Necdet İlker KAN

Tez Yöneticisi
Prof.Dr.Mustafa SARIEYYÜPOĞLU

SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ELAZIĞ, 2006

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ELAZIĞ ŞEHİR KANALİZASYONUNUN KEBAN
BARAJ GÖLÜ'NE DÖKÜLDÜĞÜ BÖLGEDEN YAKALANAN
BALIKLARDA STREPTOKOKUS' LARIN ARAŞTIRILMASI**

Necdet İlker KAN

SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez tarihinde aşağıda belirtilen jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile başarılı/başarısız olarak değerlendirilmiştir.

Danışman: Prof.Dr.Mustafa SARIEYYÜPOĞLU

ÜYE:
ÜYE:
ÜYE:

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/..... tarih vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada bana yol gösteren bilgi ve tecrübesi ile aydınlatan, yardım ve ilgisini esirgemeyen kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Mustafa SARIEYYÜPOĞLU'na, çalışma süresince hiçbir desteğini esirgemeyen Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürü Mahmut AKYÜREK'e, çalışmamın her safhasında yardımcı olan Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı hocalarıma ve özellikle Dr.Murat KARAHAN'a, tecrübesinden yararlandığım değerli hocam Yrd.Doç.Dr.Engin ŞEKER'e, her türlü laboratuvar imkanını sağlayan Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden Veteriner Hekimler Ayşe KILIÇ ve Eray ATIL'a, ve çalışmada gereken olanakları sağlayan Su Ürünleri Fakültesi Akademik ve İdari personeline en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamı 1066 nolu proje olarak destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) koordinatörlüğüne maddi imkanlar sağladığı için çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

ŞEKİLLER LİSTESİ.....	I
TABLolar LİSTESİ.....	II
ÖZET.....	III
ABSTRACT	IV
1. GİRİŞ.....	1
2.LİTERATÜR BİLGİSİ.....	3
2.1.Streptokokus'ların Sınıflandırılması	6
2.1.1.Günümüzde Kullanılan Sınıflandırma	6
2.1.1.1. Zincir ya da Çiftler Halinde Hücre Yapısında ve Katalaz	
Negatif olanlar.....	6
2.1.1.1.1. Enterokokus'lar	7
2.1.1.1.2. Globicatella	7
2.1.1.1.3. Lactokokus'lar.....	7
2.1.1.1.4. Lökonostok'lar	7
2.1.1.1.5. Streptokokus'lar	7
2.1.1.1.6. Vagokokus'lar	8
2.1.1.2. Zincir ya da Dörtlü Hücre Yapısında ve Katalaz Negatif Olanlar.....	8
2.1.1.2.1. Gemella	8
2.1.1.2.2. Helkokokus'lar	8
2.1.1.2.3. Pediokokus'lar.....	8
2.1.1.2.4. Tetragenokokus'lar.....	8
2.1.1.3. Çift ya da Dörtlü Hücre Yapısında ve Zayıf Katalaz Aktivitesinde	
Olanlar.....	8
2.1.1.3.1. Aerokokus'lar	8
2.1.1.3.2. Alloiokokus'lar.....	9
2.1.2. Hemolitik ve Koloni Morfolojisi Özelliklerine Göre Yapılan Sınıflandırma...	9
2.1.2.1. Beta veya Hemolitik Grup Streptokokus'lar	9
2.1.2.2. Alfa veya Viridans Grup Streptokokus'lar	9
2.1.2.3. Gama ve Hemolitik Olmayan Streptokokus'lar.....	10
2.1.3. Lancefield Grupları.....	10
2.1.3.1. A Grubu Streptokokus'lar	10
2.1.3.2. B Grubu Streptokokus'lar.....	10
2.1.3.3. C Grubu Streptokokus'lar.....	10
2.1.3.4. D Grubu Streptokokus'lar	11
2.1.3.5. E Grubu Streptokokus'lar	11
2.2. Balıklarda Streptokokoz.....	12
2.2.1. Etiyoloji	12
2.2.2. Epizootiyoloji.....	13
2.2.3. Patojenite	13
2.2.4. Semptomlar.....	13
2.2.5. Koruma-Kontrol ve Sağaltım.....	14
2.3. Streptokokus'ların Virülansını Etkileyen Maddeler	14
2.3.1. Kapsül	14
2.3.2. Fimbriya.....	14
2.3.3. M protein.....	15
2.3.4. Lipoteikoik asitler	15
2.3.5. Peptidoglikan	15
2.3.6. Streptolizin O.....	15
2.3.7. Streptolizin S.....	15
2.3.8. Hiyaluronidaz.....	15
2.3.9. Streptokinaz (fibrinolizin).....	16

3. MATERYAL VE METOT	17
3.1. Materyal	17
3.1.1.Çalışma Alanı ve Balıkların Taşınması	17
3.1.2.Çalışmada Kullanılan Malzemeler.....	17
3.1.3.Streptokokus'ların İzole ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri	18
3.1.4.Referans kültür.....	18
3.2. Metot	18
3.2.1.Balıkların Otopsisı	18
3.2.2.Besiyerlerine Ekimlerin Yapılması.....	18
3.2.3. <i>Streptococcus</i> 'ların Kültür Yöntemi ile İzolasyon ve İdentifikasyonu.....	19
3.2.3.1. Gram Boyama.....	19
3.2.3.2. Katalaz Deneyi	19
3.2.3.3. Hemoliz Deneyi.....	19
3.2.3.4. Safralı – Eskülinli Agar Deneyi.....	20
3.2.3.5. % 6,5 NaCl' lü Besiyerinde Üreme	20
3.2.3.6. Karbonhidrat Fermantasyon Testleri	20
4. BULGULAR	21
4.1. Balıkların Solungaç, Karaciğer, Bağırsaklarından Besiyerlerine Yapılan Ekimler	21
4.2. Streptokokus'ların İzolasyon ve İdentifikasyonları	22
4.2.1. Gram Boyama.....	23
4.2.2. Katalaz Deneyi.....	23
4.2.3. Hemoliz Deneyi	24
4.2.4. Safralı – Eskülinli Agar Deneyi.....	25
4.2.5. % 6,5 NaCl' lü Besiyerinde Üreme	25
4.2.6. Karbonhidrat Fermantasyon Testleri	26
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	28
KAYNAKLAR.....	31
ÖZGEÇMİŞ	40

ŞEKİLLER LİSTESİ

SAYFA NO

Şekil 4.1. İnkübasyon sonrasında besiyerleri	22
Şekil 4.2. Gram yöntemi ile boyanmış <i>Streptococcus faecalis</i>	23
Şekil 4.3. Kanlı agar besiyerinde Alfa, Beta ve Gama hemoliz	24
Şekil 4.4. İnkübasyon sonrasında Safrahlı-Eskülinli besiyerinde rengin siyahlaşması	25
Şekil 4.5. İnkübasyondan sonra % 6,5 tuzlu besiyerinde üremeye bağlı bulanıklık	25
Şekil 4.6. Karbonhidrat fermantasyon testleri	26

TABLÖLAR LİSTESİ

SAYFA NO

Tablo 4.1. Çalışmada kullanılan balıkların türleri ve sayıları 21

Tablo 4.2. Balıklardan izole edilen 5 adet *Streptococcus faecalis*'in biyokimyasal özellikleri ... 27

Tablo 4.3. *Streptococcus faecalis*'in tespit edildiği balık türleri, organlar ve sayıları 27

ÖZET

ELAZIĞ ŞEHİR KANALİZASYONUNUN KEBAN BARAJ GÖLÜ'NE DÖKÜLDÜĞÜ BÖLGEDEN YAKALANAN BALIKLARDA STREPTOKOKUS' LARIN ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tez

Necdet İlker KAN

Fırat Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

2006, Sayfa: 44

Bu çalışmada; Elazığ şehir kanalizasyonunun Haringet çayına karıştıktan sonra Keban baraj gölüne döküldüğü bölgeden yakalanan 127 adet farklı balık mikrobiyolojik olarak incelenerek Streptokokus'lar araştırıldı. Bu balıkların karaciğer, bağırsak ve solungaçlarından Todd-Hewitt broth ve Columbia agar besiyerlerine ekimler yapıldı. Toplam 83 izolatin 30 (% 36,1) adetinin gram pozitif kok olduğu belirlendi. Elde edilen gram pozitif koklara katalaz, hemoliz, safrada üreme, % 6,5 NaCl'lu besiyerinde üreme ve karbonhidrat fermentasyon testleri uygulandı.

Buna göre Keban Baraj Gölü Koçkale bölgesinden avlanan 127 adet balıktan 83 mikroorganizma izolasyonu yapıldı. Bunlardan 5 (% 3.9)' inin *Streptococcus faecalis* olarak identifikasyonu gerçekleştirildi.

İzole edilen bu bakterinin balıklarda hastalık oluşturmalarının yanı sıra; insanlarda da endokardit, idrar yolları enfeksiyonları, intra abdominal apseler, yara ve dekübitus enfeksiyonları, nadiren menenjit, pnömoni ve sepsis gibi hastalıklara neden olduğu dikkate alındığında bu etkenin Koçkale bölgesindeki diğer balıklar, su canlıları ile çevre ve insan sağlığı açısından önemli olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: *Streptococcus faecalis*, balık, kültür yöntemi

ABSTRACT

INVESTIGATION OF STREPTOCOCCI IN FISH CAUGHT FROM REGION OF ELAZIĞ CITY SEWAGE DISCHARGED INTO KEBAN DAM LAKE

Master Thesis

Necdet İlker KAN

Fırat University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Aquaculture

2006, Page: 42

In this study, Streptococci were isolated and identified by culture method in 127 fish caught from Koçkale Region of Keban Dam Lake where Elazığ City sewage is discharged. For this; livers, gills and guts specimens of 127 different fish were taken and to growth bacterial colonies, Todd-Hewitt broth and Columbia agar were used. After that every 30 (%36,1) of 83 isolates were determined as gram positive cocci. Obtained Gram positive 30 cocci were applied a series of tests as Catalase, Haemolysis, growth in % 6,5 NaCl, growth in Bile-Aesculine agar and acid from carbonhidrates.

As a result, 83 microorganisms were isolated from 127 fish caught from Koçkale Region of Keban Dam Lake and 5 (% 3,9) of 83 microorganisms were *Streptococcus faecalis*.

Because Streptococci causes important diseases both humans such as endocarditis, intra abdominal abscess, urethral problems, wounds, decubitus infections, meningitis, pneumonia, septicemia and fish should be taken into consideration. In the light of data from this study, these bacterial agents can be hazardous for fish, other living organisms in water and human health

Key words: *Streptococcus faecalis*, fish, culture method

1. GİRİŞ

Organik maddeleri bolca bulunduran atık sular, hastalık etkenlerini taşıması ve mikroorganizmalar için elverişli bir besiyeri oluşturmasıyla su ürünleri açısından büyük tehlike oluşturur. Evlerden ve sanayi tesislerinden deşarj edilen atık suların dere, ırmak ve göl sularına karışmasıyla bu sular kontamine olmaktadır. İnsan ve hayvanların enfeksiyonlara yakalanmalarında suyun enfeksiyon kaynağı olarak rolü büyüktür. Prensip olarak temiz sularda bakteriler çoğalmazlar. Fakat kirli ve bu bağlamda bakteri için besin kaynağı içeren, uygun pH ve sıcaklığa sahip sularda bakteriler rahatlıkla çoğalabilir (Arda ve diğ., 1999).

Balıklar içerisinde bulundukları ortam nedeniyle sürekli olarak mikroorganizmalarla temas halindendirler. Balıklar üzerindeki bakteriyel flora; içinde yaşadıkları su ve aldıkları gıdalarla yakından ilişkilidir. Bu nedenle kirli sularda yaşayan balıklarda birçok bakteri türü bulunabilmektedir (Austin ve Austin, 1987). Streptokokus'lar; balıklarda normalde bulunabilen (Sarıeyyüpoğlu, 1984; Austin ve Austin, 1987), hem insan hem de hayvan sağlığı açısından önemli yeri olan bakterilerdir (Bilgehan, 1992; Arda ve diğ., 1999). Streptokokus'lar insan ve hayvanların mukoz zarlarında, sindirim sistemlerinde normal olarak yaşayabilen ve enfeksiyon oluşturabilen mikroorganizmalardır (Arda ve diğ., 1999).

Bazı Streptokokus'lar insan ve hayvanların barsak mikroflorasında bulunurlar ve dışkı ile suları kontamine edebilirler. Streptokokus ile bulaşma durumlarında en çok rastlanılan tür *Streptococcus faecalis*'tir (Bilgehan, 1992; Arda ve diğ., 1999). *S.faecalis*'in varlığı sularda kirliliğin de göstergesidir (Austin ve Austin, 1987).

Streptokokus'ların pekçoğu; balıklar, diğer hayvanlar ve de insanlar için patojen olup çeşitli hastalıklara ve sağlık problemlerine sebep olurlar (Chanter, 1997; Fuller ve diğ., 2001). Streptokokus'ların insanlar için patojen olan bazı türleri ise *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. faecalis*, *S. sanguis*, *S. iniae*'dir. İnsan ve hayvanlara çeşitli yollar ile bulaşırlar. Bulaşmada en önemli enfeksiyon kaynakları, hasta veya portör canlılar, hayvanlar için yemler, insan ve hayvan gaitası ile kirlenmiş sulardır (Bilgehan, 1992; Arda ve diğ., 1999).

Streptokokus türleri insanlarda; ödem, kızarıklık, ateş, sepsisemi, endokardit ve menenjitte sebep olabilmektedir (Bilgehan, 1992; Arda ve diğ., 1999; Bayındır ve diğ., 1999; Lau ve diğ., 2003; Miller ve Neely, 2004; Arda ve diğ., 2005; Kayser ve diğ., 2005). İnsan ve balıklar dışında, sığır, at, koyun, keçi, domuz, kedi ve köpek gibi hayvanlarda da çeşitli

hastalıklara neden olabilir. Bu hayvanların pek çoğu için belirli Streptokokus türleri patojendir (Bilgehan, 1992; Arda ve diğ., 1999).

Dünyada yıllık 150 milyon Amerikan Doları ekonomik zarara yol açan Streptokokoz, tilapya, gökkuşağı alabalığı, sarıkuyruk, kalkan ve yılan balığı olmak üzere kültürü yapılan ve doğal ortamda yaşayan çok sayıda balık türünde önemli problemlere neden olmaktadır (Evans ve diğ., 2000; Glibert ve diğ., 2002; Lim ve diğ., 2003; Buller, 2004). Pekçok Akdeniz ve Avrupa ülkesinde gökkuşağı alabalığında bu enfeksiyonu oluşturan ve büyük ekonomik kayıplara neden olan başlıca etkenlerin *Streptococcus iniae* ve *Lactococcus garvieae* olduğu bildirilmiştir. Türkiye’de ise Streptokokoz özellikle 2000 yılından beri alabalık yetiştiriciliğinde problem olmaya başlamıştır. Özellikle sıcak mevsimlerde tedavi yöntemlerinin çok etkili olmaması ve aşıların da uzun süreli korunma sağlayamaması nedeniyle ölüm oranı % 50’ ye kadar yükselebilmektedir (Dodson ve diğ., 1999; MAF, 1999). Tedavide kullanılan antibiyotikler genellikle pahalı ve istenilen düzeyde etkili olamadığı gibi çevre için de olumsuz etkilere neden olmaktadır. Etkenlerin insanlardan izole edilmiş olması nedeniyle işletmelerde çalışan personel ve halk sağlığı açısından da önem arz etmektedir (Weinstein ve diğ., 1997; Hardie ve Whiley, 1997; Ampofo ve Clerk, 2002).

Bu çalışma ile balıklar ve insanlarda da hastalık oluşturabilen Streptokokuslar’ın bölgedeki balıklarda varlığı ortaya konulmaya çalışılmış ve birçok balık türünde hastalık yapan ve doğal ortamdaki balıklardan yetiştirme ortamındaki balıklara da bulaşabilen bu bakterilerin izolasyon ve identifikasyonunun yapılması amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR BİLGİSİ

Günümüzde yetiştiricilik sektörü tür ve miktar bakımından sürekli gelişirken kültüre alınan balıkların çok çeşitli bakteriyel, viral, paraziter ve mantar enfeksiyonları ile sürekli karşı karşıya kalması yetiştiriciliğin önünde çok büyük bir sorun oluşturmaktadır. Bu hastalıklara bağlı kayıplar da çok büyük olmaktadır. Bu nedenle balık yetiştiriciliğinin ekonomik olması için balık hastalıklarının kontrolünün başarılı biçimde yapılması gereklidir (Austin ve Austin 1993; Adams ve diğ., 1997).

Streptokok türlerine bağlı oluşan enfeksiyonlar dünya üzerinde deniz suyu, acı su ve tatlı sularda kültüre alınan ve yaban hayattaki birçok balık türünü etkilemesi bakımından bir hastalık olarak önem arz etmektedir (Frerichs ve Millar, 1993; Perera ve diğ., 1997; Weinstein ve diğ., 1997; Kahn ve diğ., 1999; Curras ve diğ., 2002; Nguyen ve diğ., 2002; McNulty ve diğ., 2003; Mata ve diğ., 2004; Miller ve Neely, 2004; Arda ve diğ., 2005). Hastalık etkenleri tüm yıl boyunca ortamda varolduğu halde, sıcaklıkların yükseldiği yaz aylarında hastalık etkin hale geçer. *Lactococcus garvieae* aynı zamanda deniz suyu, çamur ve yaban balıklarının bağırsaklarında da gözlenmiştir. Bu Gram-Pozitif kokların genetik klasifikasyonu ile, en azından altı farklı türünün balıklarda hastalık yapıcı etkiye sahip olduğunu göstermiştir. *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus iniae*, *Streptococcus agalactiae* ve *Streptococcus parauberis*, 15 °C'nin üzerindeki sıcak su Streptokokoz'unu oluştururken; *Lactococcus piscium* ve *Vagococcus salmoninarum* 15 °C'nin altındaki soğuk su Streptokokoz'una neden olurlar. Bu altı Streptokokus arasında, *L. garvieae*, *S. iniae* ve *S. parauberis* su ürünleri yetiştiriciliğinde hastalığa neden olan başlıca etkenler olarak tanımlanmaktadır (Kusuda ve Salati 1995; Curras ve diğ., 2002; Diggles 2002; Mata ve diğ., 2004).

Balıklarda Streptokokus'lar ilk olarak 1957 yılında Japonya'da yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalıklarından izole edilmiş, daha sonraları pek çok araştırmacı (Saricyyüpoğlu, 1984; Frerichs ve Millar, 1993; Eldar ve diğ., 1994; Eldar ve diğ., 1995; Perera ve diğ., 1997; Zlotkin ve diğ., 1998a; Zlotkin ve diğ., 1998b; MAF,1999; Shoemaker ve diğ., 2001; Glibert ve diğ., 2002; Colorn ve diğ., 2003; Huchzermeyer, 2003; Lau ve diğ., 2003; Evans ve diğ., 2004a; Mata ve diğ., 2004) balıklarda değişik Streptokokus türlerini izole etmişlerdir.

Streptokokus'ların donmuş balıklarda 6 ay canlı kaldığı tespit edilmiştir; bu nedenle pastörize edilmeden verilen ıskarta balıklar enfeksiyonun ortaya çıkmasında büyük rol oynamaktadır. Hastalığın tedavisinde antibiyogram testi sonuçları doğrultusunda

kemoterapötikler kullanılabilir ancak kullanılan ilaç etkili olsa bile, bu bakteri çok kısa sürede direnç kazanabilmektedir (Tanrıkul ve diğ., 1996; Evans ve diğ., 2004a).

L. garvieae özellikle Güney Avrupa’da kültürü yapılan tatlı su balıklarında sıklıkla hastalık oluşturan ve antibiyotiklere karşı kısa sürede direnç geliştirebilen bir Streptokokoz etkenidir. Önümüzdeki yıllarda bu etkenden kaynaklanan problemlerde artış olacağı tahmin edilmektedir (Ariel ve Olesen, 2002).

L. garvieae’nın neden olduğu enfeksiyon 2000 yılından beri alabalık işletmeleri için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Bu hastalık Türkiye’de ilk kez 1993’de gözlenmiş ve hastalık etkeni Enterokokus benzeri bakteriler olarak isimlendirilmiştir (Çağırhan ve Tanrıkul, 1995).

Streptokokoz’a karşı yapılan aşı denemelerinde korunmanın balıkların türüne ve uygulanma noktasına bağlı olarak değişiklikler gösterdiği saptanmıştır (Akhlaghi ve diğ., 1996; Eldar ve diğ., 1997; Shelby ve diğ., 2002; Evans ve diğ., 2004b). Uygulama noktaları içerisinde en etkilisinin intraperitoneal yolla yapılması olduğu görülmüştür. Sarıkuyruk ve kalkan balıklarında *L. garvieae* ve *S. parauberis*’e karşı yapılan denemelerde uzun süreli ve etkili bir korunma sağlanmış olmasına rağmen, gökkuşağı alabalıklarında *L. garvieae* ve *S. iniae* aşılı ile yapılan denemelerde korunmanın etkili olmasına rağmen 3-6 ay gibi kısa süreli olduğu gözlenmiştir (Romalde, 2004).

Elazığ Keban baraj gölünün Koçkale bölgesinde yapılan bir çalışmada (Şeker ve Sarıeyyüpoğlu, 1998), bölgeden toplanan tatlısu midyeleri fekal koliformlar yönünden incelenmiş ve bu bölge midyelerinde fekal bir kirlenmenin bulunduğu belirlenmiştir. Yine aynı çalışma ile midyelerde, fekal bulaşmaya bağlı olarak birçok patojen bakterinin de bulunabileceği kanıtlanmıştır. Keban Baraj Gölünde yapılan başka bir çalışmada (Muz ve diğ., 1995) ise farklı türlerden balık örnekleri aerobik ve mikroaerofilik bakteriler yönünden incelenmiş ve insanlar için patojen olan bazı bakterilere de rastlanmıştır.

Keban Baraj Gölü balıkları ile ilgili ilk çalışma Ekingen ve Sarıeyyüpoğlu (1981) tarafından yapılmış ve baraj gölündeki balıkların 6 familyaya ait 13 tür ve 9 alt tür olduğu belirlenmiştir. Bunlar; *Salmonidae* (*Salmo trutta macrostigma*), *Cyprinidae* (*Acanthobrama marmid*, *Alburnoides bipunctatus fasciatus*, *Barbus capito pectoralis*, *Barbus plebejus escherichi*, *Barbus plebejus lacerta*, *Barbus rajanorum mystaceus*, *Barbus xanthopterus*, *Bertinius subquincuncinatus*, *Capoeta capoeta umbla*, *Capoeta trutta*, *Chalcalburnus mossulensis*, *Chondrostoma regium*, *Syprinion macrostomus*, *Gara rufa obtusa*, *Leuciscus cephalus orientalis*, *Tor grypus*), *Cobitidae* (*Nozmachelus angorae*), *Sisoridae* (*Glyptothorax*

armeniacus, *Glyptothorax kurdistanicus*), *Mastacembelidae* (*Mastacembelus simack*) ve *Bagridae* (*Mystus pelusius*)' dir.

DPT (2000)' ye göre Haringet ayı arıtma tesisi deşarj sonrasında yapılan 1997 yılına ait kalite gözlemlerinde ortalama fekal streptokok sayısı $7,25.10^4$ olarak bildirilmiştir.

Streptokokus'lar, gram pozitif, yuvarlak biçimli, zincir şeklinde diziler yapan, hareketsiz, sporsuz, kapsüllü, insan ve hayvanlarda lokal ve genel birçok hastalığın nedeni olan ve onların mukoz membranlarında da normal olarak yaşayabilen bakterilerdir. Süt ve süt ürünlerinde de bazı saprofitik türlerine rastlanılır. Gram pozitif koklar içerisinde katalaz olumsuz olanlar arasında en geniş grubu Streptokok'lar oluşturur. Tek yön boyunca bölünerek zincir yapar ya da çiftler çiftler gruplaşan, yuvarlak, oval ve bazen uçları sivri görünüm veren bakterilerdir. Streptokokus'lar içerisinde üreme, kimyasal ve biyokimyasal yönden çeşitli ayrımlar gösteren 21'den çok tür (Tablo 2.1.) bulunmaktadır (Arda ve diğ., 1999).

Streptokokus' lar anilin boylarıyla iyi boyanırlar, yeni kültürlerde Gram pozitif özellik gösterirler, kültürler eskidikçe gram negatife dönüşebilirler. Türe ya da yaşadıkları ortama bağlı olarak 5-6'dan 40-50'ye kadar değişebilen zincir şekilleri gösterebilirler. Genellikle sıvı besi yerlerinde uzun zincir, katı besi yerlerinde kısa zincir veya diplokok olarak görünürler. Şekiller tam yuvarlak olmakla beraber, ortası basık ya da hafif oval veya kısa çomak şeklinde de olabilirler. Patojen türleri genellikle kapsüllüdür. Özellikle konakçı dokusunda veya süt, kan serumu ile zenginleştirilmiş besi yerlerinde kapsül daha belirgin olarak gelişir. Zenginleştirilmiş besi yerlerinde daha iyi ürerler ve 1 mm büyüklüğünde şeffaf ve parlak koloniler oluştururlar. Optimum çoğalma derecesi 37°C'dir. Kanlı agarda hemoliz yapar, sıvı besi yerlerinde gelişen zincirler dipte çöküntü oluşturur. Besi yeri berrak veya hafif bulanık görünümde olur. Hem aerobik hem de anaerobik koşullarda üreyebilirler. Katalaz negatiftirler. Çeşitli şekerleri fermente ederler, ancak gaz yapmazlar (Bilgehan, 1992).

Tablo 2.1. Streptokokus'ların identifikasyon şeması (Holt ve diğ., 1994)

ÖZELLİKLER	<i>S. acidominus</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. avium</i>	<i>S. bovis</i>	<i>S. casseliflavus</i>	<i>S. cricetus</i>	<i>S. durans</i>	<i>S. dysgalactiae</i>	<i>S. equi</i>	<i>S. equinus</i>	<i>S. equisimilis</i>	<i>S. faecalis</i>	<i>S. faecium</i>	<i>S. ferus</i>	<i>S. gallinarum</i>	<i>S. infantiae</i>	<i>S. malodoratus</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. mutans</i>	<i>S. oralis</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. porcinus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. rattus</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. sanguis</i>	<i>S. sobrinus</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>S. uberis</i>	<i>S. zooepidemicus</i>
45 °C'de	-	-	+	d	+	d	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	d	d	d	-	-	-	d	(+)	d	d	+	-	-
50 °C'de			-		-		-					(-)	(+)		-	-	-													
pH 9,6'da	-	-	+	d	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	nd	-	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-
% 6,5 NaCl'de	nd	d	+	-	+	d	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	d	-	-	-	-	d	-	-	-
Alfa Hemoliz	d	(-)	(+)	dw	nd	-	d	+	-	dw	-	-	d	-	d	+	nd	(+)	-	+	+	-	-	-	d	+	-	d	d	-
Beta Hemoliz	-	d	-	-	nd	-	d	-	+	-	+	d	-	-	d	+	nd	-	-	-	(-)	(+)	+	-	-	(-)	-	-	-	+
Gama Hemoliz	(+)	+	(-)	d	nd	(+)		-	-	d	-	(+)	(-)	+		-	nd		(+)		-		-	+	+	(+)	+	d	d	-
Arjinin Hidroliz	(-)	+	-	-	(+)	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	nd	-	d	(-)	(-)	(+)	+	+	+	-	+	-	d	+	+
Eskülin Hidroliz	-	-	+	+	+	d	+	-	(-)	+	-	+	+	+	+	+	+	d	+	(-)	d	(+)	(-)	+	+	d	d	-	+	(-)
Jelatin Hidroliz	-	-	-	-				-	-	-	-	v	-			-		-	-		-		d		-	-	-	-	-	-
Hipurat Hidroliz	dw	+	d	-	-	-	d	-	-	-	-	(+)	+	-	+	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Niştasta Hidroliz	-	-	-	+						+	d	-	-		+			-				d	-	-	d	d	-	+	d	+
Adonitol			+		-		-					-	-		-	+														
Arabinöz	-	-	+	v				-	-	-	-	(-)	V		+			-			s		-		-	d		(-)	-	-
Gliserol	-	a	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+		+		d	-	-		s	d	-	-	-	(-)		-	+	-
İnulin	-	-	+	d		d		-	-	(-)	-	(-)	-	+		-		d	+	-	d	-	-	+	+	(+)	d	-	+	-
Laktoz	+	d	+	+	+	+	+	+	-	-	d	+	+	nd	+	-	+	+	+	+	+	d	+	+	(+)	+	+	+	+	+
Maltoz	(+)	+	+	+				+	+	+	+	+	+					+			+		+		+	+		-	+	v
Mannitol	+	-	+	d	+	+	(-)	-	-	-	-	+	(+)	+	+	+	+	-	+	-	(-)	+	-	+	-	(-)	+	-	+	-
Rafinoz	-	-	-	nd	+	+	-	-	-	(-)	-	-	-	-	+	-	+	d	+	d	+	-	-	+	+	d	d	nd	(-)	-
Ramnoz			+		(+)		-					d	-		-	+														
Salisin	+	d		+		+		d	+	(+)	nd			+		+		d	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	nd
Sorbitol	+	-	+	d	-	+	-	d	-	-	-	(+)	-	+	-	-	+	(-)	+	-	-	+	-	+	-	(-)	d	-	+	+
Sakkaroz	+	+	+	+	+		-	+	+	(+)	+	+	D		+		+	+			+		+		+	+		+	+	+
Trehaloz	(+)	+	+	d		+		+	-	nd	+	+	+	nd		+		d	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	d	nd	+	-
Ksiloz	-	-	-	v	+		-			-		-	-		+		d	-			s				-	(-)		(-)	-	-
Lancefield Grup	nd	B	D	D	D	-	D	C	C	D	C	D	D	-	D	?	D	-	-	-	-	?	a	-	K	H	-	?	E	c

+ = % 90 yada daha fazla pozitif

- = % 10 yada daha az pozitif

(+)= % 80-89 pozitif

(-)= %11-20 pozitif

d = % 21-79 pozitif

s = yavaş fermentasyon

a= yalnızca aerobik fermentasyon

v= değişken üreme / reaksiyon

w= zayıf üreme / reaksiyon

ND= Belirlenemedi

Streptokokus' lar insan ve hayvanların mukoz zarlarında, hatta sindirim sisteminde normal olarak yaşayabilirler. Ancak, patojen olanlar genellikle konakçı ve doku tercihi gösterirler. Bir başka deyişle, her tür veya grup Streptokokus insan ve hayvan türlerinde belirli hastalıkların etkeni olurlar. Örneğin *S.pyogenes* insanlarda çeşitli hastalıkların etkenidir. Bu etken hayvanlarda ise çok az rastlanılan sığır mastitisi dışında herhangi bir hastalık meydana getirmez. *S. equi* sadece atlarda; *S.canis* köpek ve kedilerde hastalık etkenidir. Bunlar konakçı tercihinin belli başlı örnekleridir. Diğer taraftan *S.zooepidemicus* at, sığır, domuz, ve yabani hayvan hastalıklarından izole edilmiştir ki, görüldüğü gibi birçok türde hastalık yapmaktadır (Bilgehan, 1992).

S.pyogenes insanlarda, *S.equi* atlarda, *S.suis* domuzlarda tonsillere; *S.zooepidemicus* kısıraklarda, *S.canis* köpeklerde genital organlara; *S.agalactiae* sığırlarda memelere karşı özel afiniteye sahiptirler. *S.dysgalactiae* ve *S.uberis* ise sığır memelerinde olduğu kadar deri ve intestinal bölgede de yaşamaktadırlar. Fekal *Streptococcus*' ları teşkil eden *S.bovis*, *S.faecalis*, *S.faecium* ve *S.equinus* normal olarak ince barsakların sakinleridirler. Fekal orijinliler dışındaki patojen Streptokokus' lar duyarlı konakçı dışında uzun süre yaşayamazlar ve bunlar genellikle direkt temas ile geçerler (Bilgehan, 1992).

2.1. Streptokokus' ların Sınıflandırılması

Gram pozitif koklar içerisindeki iki aileden biri olan *Streptococcaceae* ailesi (diğeri *Micrococcaeae*) günümüzde kullanılan sınıflandırmada 12 cins (*Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, *Gemella*, *Helcococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Aerococcus*, *Alloiococcus*) içermekle beraber henüz kesin bir sınıflandırması yapılabilmiş değildir (Bascomb, 1994).

2.1.1. Günümüzde Kullanılan Sınıflandırma

2.1.1.1. Zincir ya da Çiftler Halinde Hücre Yapısında ve Katalaz Negatif olanlar

2.1.1.1.1 Enterokokus'lar

Bu grubun üyeleri yüksek pH, yüksek sıcaklık ve yüksek tuzluluk gibi ortam şartlarına dayanıklı olmaları ve bu tür ortamlarda üreyebilmeleri nedeniyle doğada her zaman mevcuttur. İnsanların ve pek çok hayvanın normal barsak florasında bulunan bu bakteriler aynı zamanda bitkiler üzerinde ve toprakta da serbest olarak yaşayabilir ve insanlar için potansiyel tehlike oluşturmurlar (Gerardi ve Zimmerman 2005). Bu grubun üyeleri *Enterococcus*

faecalis, *E. faecium*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. malodoratus*, *E. dispar*, *E. hirae*, *E. flavescens*, *E. mundtii*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. saccharolyticus*, *E. columbae*, *E. cecorum*, *E. sulfureus*, *E. solitarius* ve sarıkuyruk balıklarından izole edilen *E. seriolicida* (Bascomb, 1994) 'dır.

2.1.1.1.2. Globicatella

Bu cins içerisindeki tek tür *Globicatella sanguis* % 6,5 NaCl' lü ortamda yaşayabilen bir tür olup insanlardaki bazı hastalık olgularından izole edilmiştir (Bascomb, 1994).

2.1.1.1.3. Laktokokus'lar

Bu genus içerisinde laktik asit üreten üyeler mevcuttur. Genellikle Enterokokus'larla karıştırılır fakat yüksek sıcaklıkta (45 °C) üreyememeleri sebebiyle ayırt edilirler. Billinen 7 tür ve alt türü (*Lactococcus lactis* subsp *lactis*, *cremoris*, *hordinae*, *L. garvieae*, *L. plantarum*, *L. raffinolactis* ve *L. xylois*) vardır. İzolatlar yaygın olarak doğada, gıdalarda ve bitkilerde bulunur. Bunlardan iki tür *Lactococcus lactis* subsp *lactis* ve *L. garvieae* insanlarda idrar yollarında ve kanda enfeksiyonlara sebep olmakla birlikte *L. garvieae* aynı zamanda balıklarda Streptokokoz etkenlerinden birisidir (Bascomb, 1994, MAF, 1999).

2.1.1.1.4. Lökonostok'lar

İnsanlarda hastalık oluşturan türleri bulunmasına rağmen bazı fermente gıdaların yapımında ve saklanmasıyla önemli role sahip fermentatif kokobasillerdir. Bitkiler üzerinde, süt ürünlerinde ve şarap ve sucuk gibi fermente gıdalarda yaygın olarak bulunurlar. Bu genustaki türler; *Leuconostoc gelidium*, *L. carnosum*, *L. argentinum* ve şarap fermentasyonunda anahtar role sahip *L. oenos*'tur (Bascomb, 1994).

2.1.1.1.5. Streptokokus'lar

Bu genusun sınıflandırılması için yoğun olarak çalışılmıştır. Kendi içerisinde enteric, lactic, viridans ve pyogenic olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Bu grubun üyeleri arasındaki ayırım koloni büyüklüğü, hemoliz tipi, serolojik ve moleküler özellikler gözönüne alınarak yapılır. Daha önceleri bu genus içerisinde yer alan Enterokokus ve Laktokokus' lar günümüzde yeni genuslar olarak sınıflandırılmıştır.

Genus içerisinde insan, hayvan ve balıklarda ciddi problemlere sebep olan pek çok tür bulunmaktadır (Bascomb, 1994).

2.1.1.1.6. Vagokokus'lar

İçerisinde *Vagococcus fluvialis* ve *V. salmoninarum* olmak üzere 2 tür bulunur. *V. salmoninarum* alabalıklardan izole edilmiş bir türdür (Bascomb, 1994).

2.1.1.2. Zincir ya da Dörtlü Hücre Yapısında ve Katalaz Negatif Olanlar

2.1.1.2.1. Gemella

Genus; *Gemella haemolysans* ve *G. morbillorum* isimli iki tür mevcuttur (Bascomb, 1994).

2.1.1.2.2. Helkokokus'lar

Tanımlanmış yalnızca bir türü vardır. *Helcococcus kunzii* ayak ve bacaklardaki ülser ve yaralardan sıklıkla izole edilir (Bascomb, 1994).

2.1.1.2.3. Pediokokus'lar

Fermantasyon yeteneğine sahip *Pediococcus acidilactici*, *P. damnosus*, *P. dextrinicus*, *P. parvulus* ve *P. pentosaceus* türlerini kapsar. Gıdaların bozulmasında (*P. damnosus*), fermantasyonunda rol oynayabilmekle beraber insanlardan da izole (*P. acidilactici* ve *P. pentosaceus*) edilebilirler (Bascomb, 1994).

2.1.1.2.4. Tetragenokokus'lar

Tetracoccus halophilus isimli tür genustaki tek türdür (Bascomb, 1994).

2.1.1.3. Çift ya da Dörtlü Hücre Yapısında ve Zayıf Katalaz Aktivitesinde Olanlar

2.1.1.3.1. Aerokokus'lar

Tanımlanmış iki türü *Aerococcus viridans* ve *A. urinae* (Bascomb, 1994) 'dir.

2.1.1.3.2. *Alloiokokus*'lar

Genus içerisinde önceki ismi *Alloiococcus otitis* olan, günümüzde ise *A. otitidis* olarak değiştirilen yalnızca bir tür vardır (Bascomb 1994).

Streptokokus'lar "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology"'e göre de *Deinococcaceae* familyası kapsamına alınmışlardır. Bu familyada *Streptococcus*, *Deinococcus*, *Aerococcus*, *Sarcina*, *Leuconostoc*, *Peptococcus*, *Ruminococcus*, *Gemella*, ve *Peptostreptococcus* gibi cinsler yer almaktadır (Arda ve diğ., 1999).

2.1.2. Hemolitik ve Koloni Morfolojisi Özelliklerine Göre Yapılan Sınıflandırma

Streptokokus'ların gruplandırılmaları ilk olarak 1919 yılında hemolitik ve koloni morfolojisi özellikleri göz önünde tutularak yapılmıştır. Bu esasa göre hemolitik, viridans ve hemolitik olmayan gruplar olarak sınıflandırılmışlardır. Bu ayırım için besi yeri, adi agar ortamına % 5-10 oranında defibrine kan ilave edilerek hazırlanır (Arda ve diğ., 1999).

2.1.2.1. Beta veya Hemolitik Grup *Streptokokus*'lar

Kanlı agarda 37°C de 10-24 saat inkubasyondan sonra oluşan küçük koloniler etrafında dar, şeffaf ve tam olan bir hemoliz meydana getirirler. Mikroskop altında incelendiği takdirde bu alanda eritrositler görülmez. *S.pyogenes*, *S.equi*, ve *S.agalactiae* bu grupta yer almaktadır. Beta hemoliz olayı, beta-hemolitik *Streptokokların* sahip olduğu suda eriyen streptolizin enziminden dolayıdır. Bu olay, yıkanmış eritrosit süspansiyonuna taze hazırlanmış hemolitik *Streptokokus* kültüründen bir miktar ilave etmekle kolayca kanıtlanabilir. Birkaç dakika içerisinde eritrositlerin erimesi ile açığa çıkan hemoglobin ortamın rengini değiştirerek kendisini gösterir. Alfa ve viridans grup streptokoklar ilk 24 saatlik inkubasyonda bu özelliği göstermezler (Arda ve diğ., 1999).

2.1.2.2. Alfa veya Viridans Grup *Streptokokus*'lar

Kanlı agarda 18-24 saatlik kültürlerinde, koloniler etrafında yeşilimsi renkli, kolayca fark edilebilen bir hemoliz oluştururlar. Mikroskopla incelendiğinde, bu çeşit hemolizde, eritrositlerin bozulmadığı görülür. Bu kültürlerin inkubasyonuna, oda derecesinde, bir süre daha devam edilirse, yeşil renkte olan ilk hemolizin etrafında, yeniden tam hemoliz oluşur. Bu grupta bazı *S.agalactiae* suşları, *S.dysgalactiae*, *S.uberis*, *S.salivarius*, *S.bovis* ve *S.equinum* bulunur (Arda ve diğ., 1999).

2.1.2.3. Gama ve Hemolitik Olmayan Streptokokus'lar

Kanlı agarda eritrositler üzerine herhangi bir etki göstermezler. *S.faecalis* ve *S.faecium* bu gruba mensuptur. Bu çeşit gruplandırmalar, günümüzde klinik laboratuvarlarında, geniş ölçüde kullanılmakta ve bunlara göre raporlar düzenlenmektedir (Arda ve diğ., 1999).

2.1.3. Lancefield Grupları

Streptokokus' ların değişik bir gruplandırılması, 1930 yılında Lancefield tarafından, yapılmıştır. A, B, C, D ve E harfleriyle gösterilen bu gruplara "Lancefield Grupları" denilmiştir. Zamanla ayrıntılı çalışmalar yapılmış ve yeni gruplar ilave edilmiştir (Bilgehan, 1992; Arda ve diğ., 1999).

2.1.3.1. A Grubu Streptokokus'lar

Özellikle sıvı ortamlarda uzun zincirler oluştururlar. Kanlı agarda küçük, grimsi, hafif bulanık görünümde kabarık ve etraflarında geniş bir tam hemoliz oluşan koloniler yaparlar. İçerisinde 0.04 ünite bacitracin bulunan disklerle yapılan deneylerde bu antibiyotiğe duyarlılık göstermeleri onları ilk planda diğer Streptokokus' lardan ayırt eden özellikleridir. Bakteri; kapsül, fimbriya, M proteini ve streptolizin gibi maddelere sahiptir. Bu grubun başlıca üyesi *Streptococcus pyogenes*'tir (Arda ve diğ., 1999).

2.1.3.2. B Grubu Streptokokus'lar

Kanlı agarda A grubu Streptokokus'lardan daha büyük, morumsu ve etraflarında dar bir beta hemoliz alanı oluşturan koloniler yaparlar. Bu grubun başlıca üyesi olan *S. agalactiae* diğer grup üyelerinden sodyum hipurati hidrolize etmesi ve CAMP faktörü oluşturması ile ayrılır. B grubu Streptokokus' lar % 6,5 sodyum klorürlü ortamda üreyebilir. (Bilgehan, 1992)

İnsan ve sığır patojeni olan bu grup streptokokların 24 farklı bakteriyofaj ile testleri yapılmış ve 90 farklı serotipi bulunmuştur (Arda ve diğ., 1999).

2.1.3.3. C Grubu Streptokokus'lar

Hayvanlar için patojen olup özellikle konakçı ve doku tercihi yapan türleri kapsar. Bunlar *S.equi*, *S.equisimilis*, *S.dysgalactiae* ve *S.zooepidemicus* gibi türlerdir. Bunlardan *S.zooepidemicus* birçok hayvan türünde, çeşitli hastalıkların etkenidir. Atlarda yara enfeksiyonları, lenfatik apseler, pnömoni, servisitisi, endokarditis, ve yavru düşüklüğü

yapabilmektedir. Sığır ve keçilerde şiddetli mastitis, kuzularda solunum sistemi enfeksiyonu, kanatlılarda da poliartritis ve sepsisemi etkeni olabilmektedir. *S.equisimilis*, daha çok domuzların suppuratif ve atların servikal lenf nodül enfeksiyonlarından izole edilmekle beraber insan ve sığırlarda da bulunmuştur. *S.dysgalactiae* sığırlarda akut mastitis etkenidir. *S.equi* ise, özellikle genç tayların yüksek ateş, laringitis ve çene altı lenf bezleri apseleriyle karakterize bulaşıcı su sakağısı hastalığının etkenidir (Arda ve diğ., 1999).

2.1.3.4. D Grubu Streptokokus'lar

Görünümleri daha çok ikişerli diplokoklar ya da kısa zincirler halinde olup bu görünümleri ile *Streptococcus pneumonia*'yi andırırlar. D grubu Streptokokus'lar iki gruba ayrılırlar. Birinci grup Enterokokus'lar olup hepsi penisiline dirençlidir. Normal olarak ince bağırsaklarda ve dışkıda yaşayan *S.faecalis* (*Enterococcus faecalis*) *S.faecium* (*E. faecium*), *S.durans* (*E. durans*) bu gruptandır. Bunlar arasında alfa ve beta hemolitik olanlar bulunduğu gibi non hemolitik olanlar da vardır. % 6,5 sodyum klorürlü, % 40 safralı ortamlarda ve 45 °C sıcaklıkta üreyebilirler. Eskülini hidrolize ederler. İkinci grupta Enterokokus olmayan (non-enterokokus) türler bulunur. *Streptococcus bovis*, *S. equinus* bunlardandır. Bu grup Streptokokus' lar da 45 °C' de ve % 40 safralı besiyerlerinde ürerler ancak % 6,5 NaCl'li ortamda üreyemezler. Alfa hemolitik ya da non hemolitiklerdir. Penisiline dirençsizdirler (Bilgehan 1992; ve Arda ve diğ., 1999).

2.1.3.5. E Grubu Streptokokus'lar

Bu grubun tek üyesi *S.lentis* olup Amerika'da, domuzların kontagiyöz lenfadenitislerinin etkenidir. Daha çok 8-10 haftalık yavruarda görülmektedir.

Lancefield antijenik gruplarına girmeyen Streptokokus' lar da vardır. Bunlardan *S.pneumonia* insanlarda lobar pnömoni etkeni olup, taşıyıcı insanlar ile hayvanlara da geçmekte; ineklerde mastitis, buzağılarda sepsisemiye neden olduğu bildirilmektedir. Etkenin, virulans bakımından önemli, antijenik özelliğe sahip, polisakkarit yapısında bir kapsülü vardır. Bundan başka Lancefield gruplarına girmeyen ve insanların ağızında; tükürük, dil ve dişler üzerinde yaşayan *S.salivaris*, *S.sanguis*, *S.mitis* ve *S.mutans* gibi normalde patojen olmayan türler de mevcuttur. Bu kısımda sözü edilmesi gereken ayrı bir bakteri de sığırlarda; deri, tonsiller, rektum ve dışkıda normal olarak bulunan ve ineklerde kronik ve hafif seyreden mastitis etkeni olan *S.uberis*'tir.

Streptokokus' ların gruplandırılma ve türlerinin tanımında, bakteriyofaj duyarlılıkları, bakteriyosin üretmeleri ve veya immunofloresans boyalar ile boyanmaları yöntemlerinden de yararlanılır (Arda ve diğ., 1999).

2.2. Balıklarda Streptokokoz

Streptokokoz (Streptococcosis) çeşitli balık türlerinde (alabalık, sazan, tilapia ve diğer türler) rengin koyulaşması, bilateral (iki taraflı) veya ünilateral (tek taraflı) ekzoftalmus, korneal opasite, operkulumlarda ve yüzgeçlerin tabanında hemorajiler, vücut yüzeyinde değişik büyüklükte lezyonlar ve ülserasyonlarla karakterize olan sporadik, bakteriyel bir enfeksiyondur (Austin ve Austin, 1987; Arda ve diğ., 2005).

Enfeksiyona bugüne kadar pekçok ülkede (Japonya, Güney Afrika, ABD, Norveç, Büyük Britanya, Avustralya) deniz ve tatlı su balıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, *Seriola sp.*, *Anguilla japonica*, *Plecoglossus altivelis*, *Tilapia sp.*, *Micropogon undulatus*, *Ictalurus punctatus*, *Notemigonus crysoleucas*, *Arius felis*, *Brevoortia patronus*, *Lagodon rhomboides*, *Cynoscion nothus*, *Leiostomus xanthurus*, *Dasyatis sp.*, *Mugil cephalus*) hem balık işletmelerinde ve hem de doğal balık stoklarında rastlanmıştır (Austin ve Austin, 1987; Baya ve diğ., 1990; Domonech ve diğ., 1996; MAF 1999; Plumb, 2002; Arda ve diğ., 2005).

2.2.1. Etiyoloji

Hastalığın etiyolojik ajanları arasında hemolitik (alfa ve beta) veya nonhemolitik (hemoliz oluşturmayan) bir özelliğe sahip Streptokokus türleri (Lancefield B ve D grubunda) olduğu açıklanmıştır. Bu etkenler içinde, *Streptococcus faecalis* ve *S.faecium*, hastalık olgularından sıkça izole edilmişlerdir (Nieto ve diğ., 1995; Arda ve diğ., 2005). Balıklardaki hastalık olgularından izole edilenler özellikle *S. iniae*, *S. agalactiae* (eski ismiyle *S. difficile*), *S. equinus*, *S. lactis*, *S. casseliflavus*, *S. disgalactiae*, *S. equi*, *S. equisimilis*, *S. pyogenes*, *S. zooepidemicus*, *Lactococcus garviae* (eski ismiyle *E. seriolicida*), *Lactobacillus piscicola*, *Vagococcus salmoninarum*'dur. (Austin ve Austin, 1987; Eldar ve diğ., 1996; MAF 1999; Evans ve diğ., 2002; Chen ve diğ., 2002; Ravelo, 2003; Duremdez ve diğ., 2004; Nomoto ve diğ., 2004).

2.2.2. Epizootiyoloji

Patojenler yıl boyunca suda çamur içerisinde ve de balık ağlarında bulunabilirler. İnfeksiyona, çeşitli balık türlerinde sporadik olgular halinde rastlanmaktadır. Hastalığın çıkışında, balıkların duyarlılıkları yanı sıra, mikroorganizmaların patojenitesi ve olumsuz çevresel koşulların etkisi oldukça büyüktür. Özellikle yaz aylarında ve su sıcaklığının 20 °C'nin üstünde olduğu durumlarda enfeksiyon daha fazla görülmektedir. Etkene ise en fazla miktarlarda sonbahar ve kış ayarında çamur içerisinde rastlanır (Austin ve Austin 1987). Bulaşma, mikropla kontamine su ve yemlerle olduğu kadar, vücut yüzeyindeki ve solungaçlardaki lezyonlardan da mikroorganizma girebilir ve enfeksiyon oluşturabilir (Arda ve diğ., 2005). Yetiştiricilikte yem olarak kullanılan taze ve dondurulmuş balıkların üzerinde etkenin bulunması hastalığın ortaya çıkmasında rol oynar ve bu etkenler donmuş halde 6 aydan daha fazla canlı kalabilirler. Enfekte balıklardan sağlıklı balıklara hastalığın direk temas ile taşınması da mümkündür. Ayrıca gökkuşağı alabalıkları da dahil olmak üzere farklı balık türleri için önemli bir hastalık etkeni olan *S. iniae*'nin doğadan kültür balıklarına geçebileceği bildirilmiştir. Gıda kaynaklı enfeksiyonlara sebep olmasıyla da insan sağlığı için de önemli etkenlerdir (Zlotkin ve diğ., 1998a; Austin, 1999; Marth ve Steele, 2001).

2.2.3. Patojenite

Pek çok balık türünde, enjeksiyon ve suya etkenlerin (10^4 den 10^6 ya kadar değişen hücre sayılarında) karıştırılması şeklindeki deneysel enfeksiyonlarda alabalıklarda görülen yüksek mortalite diğer türlerde aynı şiddette gerçekleşmemiştir.

2.2.4. Semptomlar

Klinik belirtiler, balıkların tür ve yaşına göre değişiklikler göstermektedir. Genel semptomların yanı sıra, rengin koyulaşması, bir veya iki taraflı ekzoftalmus, korneada opasite, vücudun çeşitli yerlerinde lezyonlar ve ülserler, operkulum ve yüzgeçlerin tabanında hemorajiler rastlanılabilen başlıca klinik belirtiler arasındadır. Birçok olguda da, gözde ödem, hemoraji, lentiküler nekrozlar, corpus vitreum'da kanamalar, korneada lezyonlar ve ülserlere tesadüf edilebilir. Ancak, bu bozuklukların hepsini bir balıkta gözlemlemek olası değildir.

Otopside dalak, karaciğer ve böbreklerde büyüme, fokal nekrotik odaklar perikarditis ve karın boşluğunda bulanık veya kanlı sıvı birikmesi gözlenebilir (Arda ve diğ., 2005).

2.2.5. Koruma-Kontrol ve Sağaltım

Balıkları hastalıktan korumak için her türlü genel ve özel önlemler alınır, olumsuz koşullar ve stres faktörleri minimal düzeye indirilir, balıklara iyi bir bakım ve besleme uygulanır. İmmunizasyonla koruma tam geliştirilememiştir.

Antibiyogram testine göre seçilen antibiyotikler balıkların yemlerine katılarak verilir. Bu amaçla, eritromisin 25-30 mg/kg balık/günlük doz/4-7 gün süre ile verilir. Doxycycline, kitasamycin, lincomycin ve diğerleri hem koruma hem de sağaltım amacı ile kullanılabilir. Aynı antibiyotikler ve diğer antibakteriyel ilaçlar akvaryum balıkları için de yararlı olabilirler (Arda ve diğ., 2005).

2.3. Streptokokus' ların Virülansını Etkileyen Maddeler

Streptokokus'larda protein ve karbonhidrat yapısında antijenik özellik gösteren ve virülansı etkileyen Kapsül, Fimbria, M proteini, Lipoteikoik asitler, Peptidoglikan, Streptolizin O, Streptolizin S, Hiyaluronidaz ve Streptokinaz gibi maddeler bulunmaktadır (Arda ve diğ., 1999).

2.3.1. Kapsül

A ve C gruplarına ait Streptokokus'lar hiyaluronik asit yapısında bir kapsüle sahiptirler. Kapsül, etkenin kültürde gelişmesinin 4-6. saatlerinde meydana gelir ve mukoid yapıda koloni oluşturur. Hücre üzerindeki genişliği oranında virülansı etkiler. Örneğin *S.equi* geniş bir kapsüle sahip olduğundan fagositozdan etkilenmez. Ancak organizmada bu kapsüle karşı hiyaluronidaz enziminin oluşması ile fagositoz başlar.

2.3.2. Fimbriya

Bazı Streptokokus' lar, ancak elektron mikroskopla görülebilecek kadar küçük olan, hücre yüzeyini kısa iplikler halinde saran ve hücrelerin birbirlerine veya epitelyum hücrelerine tutunmasını sağlayan fimbriyaya sahiptirler.

2.3.3. M protein

Özellikle A ve C grubu Streptokokus' ların sahip olduğu bu protein fimbria'nın yapısında bulunup, hücre çeperinin önemli antijenlerindendir. Tripsin ve diğer proteolitik enzimler ile hidrolize olur. Bakteriyi, polimorf nükleer lökositlerin fagositozuna karşı koruduğundan direkt olarak virulans ile ilgilidir. *S.dysgalactiae*, *S.equisimilis*, *S.zooepidemicus* ve *S.equi* bu proteine sahiptir.

2.3.4. Lipoteikoik Asitler

Grup D (Enterokokus' lar) ve Grup N (*S.lactis*) bu asitlere sahiptir. Bu bakterilerde kuru ağırlığın yaklaşık % 1'ini oluşturan bu asitler Streptokokus' ların mukoza üzerine tutunmasına ve orada kolonileşmesine yardımcı olur.

2.3.5. Peptidoglikan

Hücre duvarının esasını oluşturur. N-asetilglukozamin ve N-asetilmuramik asitin bir peptide kovalentli olarak bağlanması ile oluşan bir polimerdir. Konakçıda oluşan ateş, dermal ve kardial nekrozlar ve eritrositlerin erimesi gibi olayların sorumlusudur .

2.3.6. Streptolizin O

A grubu Streptokokus' lar, B, C, G, ve F grubu streptokokların bir kısmı bu hemolizine sahiptirler. Eritrositlerin hücre membranları ile lökositlerin sitoplazmik granüllerini parçalayarak patojeniteyi artırır ve oksijene dayanıklı değildir.

2.3.7. Streptolizin S

Streptolizin O'dan daha az aktif olmakla beraber, kan hücreleri üzerine onun gibi etki eder. Streptolizin O'nun aksine oksijene dayanıklıdır.

2.3.8. Hiyaluronidaz

Bu enzimi A, B ve C grubu Streptokokus' lar ile *S. pneumonia* ve *S.suis* üretebilmektedir. Bağ dokunun parçalanmasına ve enfeksiyonun dokular arasına yayılmasına neden olur. Bundan ötürü, “yayılma faktörü” de denilir. Hiyaluronidaz üreten Streptokokus' lar

kapsülden mahrumdurlar. Bu enzimi taşıyan hasta kanında enzime karşı antikorlar oluşur. Bu antikorlar serolojik testlerle saptanarak hastalığın tanımında yararlı olurlar.

2.3.9. Streptokinaz (fibrinolizin)

Plazminogeni plazmine çeviren enzimdir. A grubu Streptokokus' lar ile C ve G grubu Streptokokus' ların bir kısmı bu enzimi üretebilmektedir.

Bu bahsedilenlerden başka nukleaz, proteinaz, nöraminidaz gibi enzimler, A grubu Streptokokus' lar ve nadiren diğer bazı gruplar tarafından üretilmektedir. Bunlar konakçı kanında kendilerine karşı antikorlar oluşturdıklarından enfeksiyonun tanımında yararlanılmaktadır.

Streptokokus' lar dış etkenlere, kimyasal maddelere ve antibiyotiklere karşı fazla dirençli değildirler. Pastörizasyonla inaktive olurlar ancak, sütte bulunan saprofitik Streptokokus' lar pastörizasyon işlemine direnç gösterirler.

Streptokokus enfeksiyonlarına karşı etkin aşılardan hazırlanması konusunda çok sayıda çalışmalar yapılmasına rağmen, genel kanı olarak, Streptokokus enfeksiyonlarına karşı aşılardan yeterli düzeye ulaşmamıştır. Ancak su sakağı gibi bazı Streptokokus enfeksiyonlarında aşılardan olumlu sonuçlar verebilmektedir (Arda ve diğ., 1999).

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışma Alanı ve Balıkların Taşınması

Keban Barajı; Elazığ İli'nin 45 km kuzey batısında Keban ilçesi yakınında, Fırat nehri üzerinde inşa edilmiştir. Göl sahası; Elazığ, Tunceli, Erzincan, Sivas ve Malatya sınırları içerisinde olup, 67.500 hektarlık rezervuar alanına sahiptir. Elektrik üretimi, sulama ve balıkçılık amaçlarıyla kullanılan bir göldür (Anonim 1994).

Koçkale; Elazığ İli'nin güneydoğusunda olup merkeze 22 km uzaklıktadır, Şehir atık sularının Keban Baraj Gölü'ne dökülmeden önce arıtmaya tabii tutulduğu arıtma istasyonu Koçkale bölgesinde bulunmaktadır. Çalışmada kullanılan balıklar arıtma istasyonundan çıkan atık suların karıştığı Haringet Çayı'nın Keban baraj gölü'ne döküldüğü bölgede yerel olarak avlanan balıkçılardan Temmuz – Aralık ayları arasında ortalama 20 günlük aralıklarla temin edildi (Şekil 3.1.). çalışma alanında avlanan 11 farklı türden 127 adet balık canlı olarak temiz kovalar içerisinde Elazığ Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü laboratuvarına getirildi ve mikrobiyolojik incelemeleri yapıldı.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Malzeme

Yakalanan balıkların laboratuvara taşınması için plastik bidon ve kova, makroskopik incelemeler ve otopsi için ise steril pens, bistüri, makas, operasyon eldiveni, pamuk, balığın yüzeyinin dezenfeksiyonu için % 70'lik alkol ve Canon marka fotoğraf makinesi kullanıldı.

Laboratuvarda; çeşitli hacimlerde beher glass, erlenmayer, balon, tüp, mezür, pipetler ile petri kutusu, lam ve lamel gibi cam malzemeden yararlanıldı. Ayrıca derin dondurucu, buzdolabı, otoklav, etüv, soğutmalı etüv, kuru hava sterilizatörü, manyetik karıştırıcı, benmari, pH metre, pH kağıtları, spor, hassas terazi, binoküler mikroskop, bek alevi ve öze çalışmada kullanılan diğer araç ve gereçlerdir.



Şekil 3.1. Keban Baraj Gölü'nde balıkların yakalandığı bölge (Şeker, E., 2001).

3.1.3. Streptokokkus'ların İzole ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri

Balıklardan Streptokokus'ların izolasyonunda zenginleştirme amaçlı olarak Todd-Hewitt Broth, ayırt edici besiyerleri olarak ise Columbia agar ve yine Todd-Hewitt Broth kullanıldı. İzole edilen Streptokokus suşlarının saf kültürlerinin elde edilmesi için de Tryptic Soy Agar, Columbia Agar, Brain Heart Infusion Agar, % 6,5 NaCl'lu besiyerinde üreme testi için Brain Heart Broth, Eskülin hidrolizi deneyi için Bile-Aesculin Agar, izolatların hemoliz özelliklerinin belirlenmesi için ise % 5 koyun kanlı Tryptic Soy Agar ve karbonhidrat testleri için Andrade Pepton Water besiyerleri kullanıldı (Bilgehan 1992).

3.1.4 Referans Kültür

Çalışma boyunca yapılan testlerin karşılaştırılarak güvenilirliğinin kontrol edilmesi amacıyla Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından temin edilen *Streptococcus agalactiae* suşu kullanıldı.

3.2. Metot

3.2.1. Balıkların Otopsis

Balıkların otopsileri Frerichs ve Millar (1993) ile Arda ve diğ., (2005)' e göre yapıldı. Balıkların yüzeyi önce % 70'lik alkolle ıslatılmış havlu ile silinerek dezenfekte edildi. Aseptik koşullarda bek alevi önünde sola doğru yan yatırılan balıklarda önce ventral sonra da lateral kesitler yapılarak iç organların ortaya çıkarılması sağlandı. Son olarak da solungaçların açığa çıkarılması amacıyla solungaç kapağı veya operkular kesit yapıldı.

3.2.2. Besiyerlerine Ekimlerin Yapılması

Otopsileri yapılan balıkların solungaç, karaciğer, bağırsaklarından steril biçimde hem küçük parçalar alınarak hem de öze ile direkt olarak Todd-Hewitt buyyona ekimler yapıldı. Ayrıca Columbia Agar katı besi yerine de öze ile direkt ekimler yapıldı. Barsak içeriğinden de her iki besiyerine direk ekimler yapıldı. Besiyerleri 20-25 °C' de 24-48 saat süreyle inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrasında içerisinde üreme olan tüplerden ve katı besiyerleri üzerindeki her bir farklı koloniden tek tek gram boyama yapılarak gram (+) koklar arandı. Elde edilen saf kültürlerden tekrar katı besiyerlerine (Colimbia Agar ve Tryptic Soy Agar, Brain Heart Infusion Agar) ekimler yapılarak inkube edildi. Karışık üreme görülen kolonilerden gram (+) koklar saf olarak elde edilinceye kadar ekimlere devam edildi ve bunlar da aynı şekilde katı besiyerlerine

saf olarak aktarıldı. Elde edilen saf kültürlerden; 45 °C ve 50 °C’de üreme, pH 9,6 da üreme, % 6,5 NaCl’lu besiyerinde üreme, Hemoliz, Safralı Eskülinli Agar ve karbonhidrat fermantasyon deneylerine (Adonitol, Arabinose, Glycerol, İnulin, Lactose, Maltose, Mannitol, Raffinose, Rhamnose, Salicin, Sorbitol, Sucrose, Trehalose, Xylose) geçildi (Bilgehan 1992, Holt ve diğ., 1994).

3.2.3 Streptokokus’ ların Kültür Yöntemi ile İzolasyon ve İdentifikasyonu

Streptokokus’ ların kültür yöntemi ile izolasyonu için genel amaçlı besiyerleri (Tryptic Soy Agar, Brain Heart Infusion Agar, Brain Heart Infusion Broth) yanı sıra daha iyi sonuçlar alınması açısından spesifik (Todd-Hewitt Broth, Columbia Agar) besiyerleri de kullanıldı. Ayrıca hemoliz aktivitesinin belirlenmesi için % 5 koyun kanı ilave edilmiş TSA kullanıldı (Arda ve diğ., 1999; Arda ve diğ., 2005).

Organlardan katı besiyerlerine yapılan ekimlerde beyaz ve yarısaydam kolonilerin 20-22 °C’ de 48 saat içerisinde oluşup oluşmadığına bakıldı (Frerichs ve Millar, 1993).

3.2.3.1 Gram Boyama

Ekimlerin inkübe edilmesinin ardından Columbia Agar üzerinde oluşan farklı renk ve şekildeki her bir koloniden ve Todd-Hewitt Broth besiyerinden preparatlar hazırlanarak gram yöntemi ile boyama yapıldı. Boyama işlemi saflaştırma işlemi sonrasında tekrar yapıldı. Mikroskop altında gram pozitif (mavi renkte) koklar arandı (Bilgehan, 1992).

3.2.3.2. Katalaz Deneyi

Tryptic Soy Agarda üretilmiş bakteri kolonilerinden öze ile alınıp bir lamın üzerine bırakıldı. Üzerine bir-iki damla H₂O₂ damlatılıp bir kürdan ile karıştırıldı. Gaz kabarcıkları oluşumuna göre katalaz pozitif ve negatif olarak adlandırıldı (Bilgehan, 1992).

3.2.3.3. Hemoliz Deneyi

% 5 koyun kanlı Tryptic Soy agar üzerine, elde edilen saf kolonilerden ekim yapıldı. Ekimler 35°C’ de aerop koşullarda 24 saat inkube edildi. Kolonilerin etrafında oluşan hemoliz alanına göre alfa, beta ve gama hemoliz olarak değerlendirildi (Bilgehan, 1992).

3.2.3.4. Safralı – Eskülinli Agar Deneyi

İçerisinde sıgır safrası, eskülin ve demir sitrat ayıracı bulunan besiyerine ekim yapıldı ve 35 °C’ de inkübasyona bırakıldı. Eskülinin hidrolizasyonu ile elde edilen siyah renge göre değerlendirme yapıldı (Bilgehan, 1992).

3.2.3.5. % 6,5 NaCl’ lu Besiyerinde Üreme

İçerisinde % 6,5 NaCl bulunan sıvı (Brain Heart Broth) besiyerine ekimler yapıldı ve 35 °C’ de 24-72 saat inkube edildi. Sonrasında üremenin olup olmadığına bakıldı (Bilgehan, 1992).

3.2.3.6. Karbonhidrat Fermantasyon Testleri

İçerisinde farklı karbonhidratlar (arabinoz, mannitol, rafinoz, ramnoz, salisin, sorbitol, sakkaroz, trehaloz, ksiloz) ve asitlik indikatörü bulunan sıvı besiyerlerine bakterinin saf sıvı kültüründen eklendi ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında pembe rengin kırmızıya dönüştüğü tüpler pozitif olarak değerlendirildi (Austin ve Austin 1987; Bilgehan 1992) .

4. BULGULAR

Çalışmada kullanılmak amacıyla Keban Baraj Gölü'nün Koçkale bölgesinden avlanan balıkların türleri Ekingen, (1988)' e göre *Cyprinus carpio* (46 adet), *Carassius auratus* (13 adet), *Carassius carassius* (3 adet), *Chondrostomata regium* (4 adet), *Capoeta capoeta umbla* (22 adet), *Barbus esocinus* (3 adet), *Barbus xanthopterus* (1 adet), *Capoeta trutta* (27 adet), *Chalcalburnus mossulensis* (1 adet), *Leuciscus cephalus* (4 adet) ve *Acanthobrama marmid* (3 adet) olarak tespit edildi (Tablo 4.1.). Morfolojik olarak ve yapılan otopside de balıklarda herhangi bir hastalık belirtisine rastlanmadı

Tablo 4.1. Çalışmada kullanılan balıkların türleri ve sayıları.

TÜR	Adet
<i>Cyprinus carpio</i>	46
<i>Carassius auratus</i>	13
<i>Carassius carassius</i>	3
<i>Chondrostoma regium</i>	4
<i>Leuciscus cephalus</i>	4
<i>Capoeta capoeta umbla</i>	22
<i>Capoeta trutta</i>	27
<i>Barbus xanthopterus</i>	1
<i>Barbus esocinus</i>	3
<i>Chalcalburnus mossulensis</i>	1
<i>Acanthobrama marmid</i>	3

4.1. Balıkların Solungaç, Karaciğer ve Bağırsaklarından Besiyerlerine Yapılan Ekimler

Çalışmada kullanılan 11 farklı türden 127 adet balıktan 74'ünde 83 adet bakteri üremesi görüldü. Bunların da 13 adeti karaciğerden 28 adeti solungaçlardan ve 42 adeti de bağırsaklardan izole edildi.

4.2. Streptokokus'ların İzolasyon ve İdentifikasyonları

Kültürlerin 20-22 °C' de 48 saat inkübasyonu sonrasında besiyerlerinde üremenin olduğu görüldü. Bu üreme; sıvı besiyerinde bulanıklık ve açık sarı rengin koyulaşması şeklinde gözlenirken katı besiyerlerinde farklı renk, şekil ve büyüklüklerde kolonilerin oluşumuna rastlandı. Özellikle sıvı besiyelerinde koku oluştuğu belirlendi.

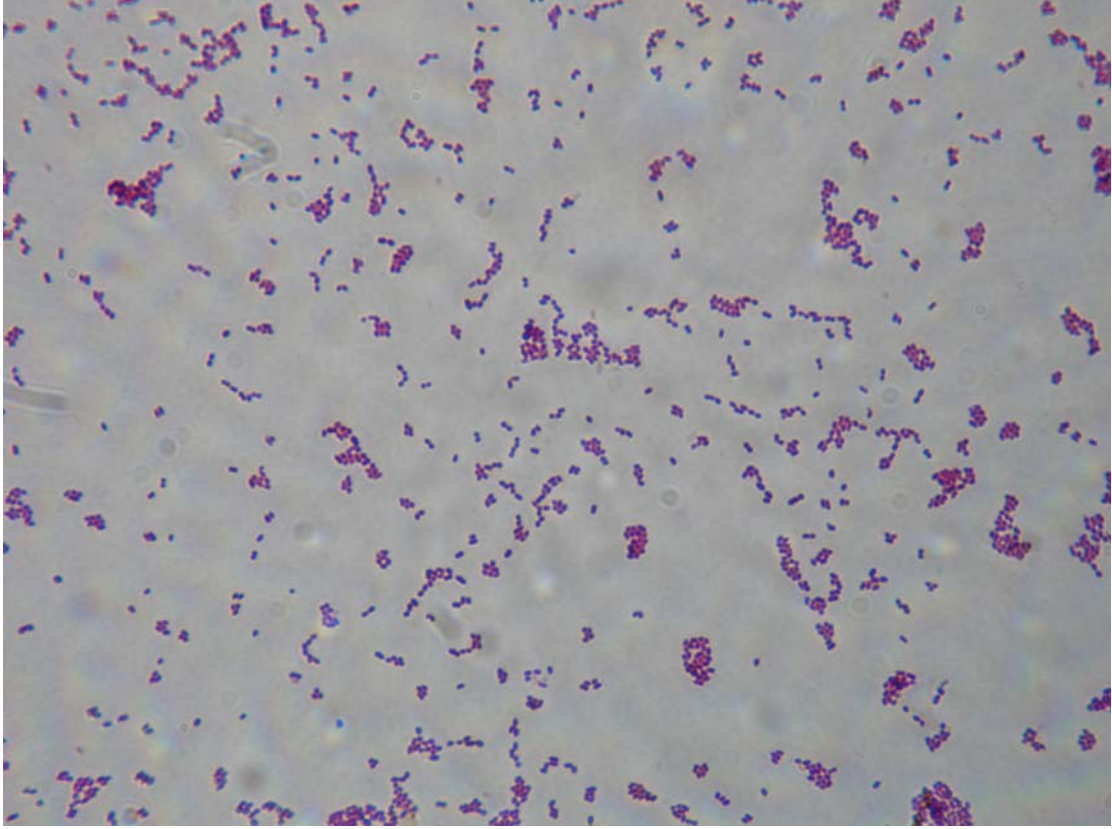
İnkübasyon sonrasında kültürlerde farklı kolonilerin oluşması (Şekil 4.1.) ve sıvı besiyerlerinden yapılan boyamalarda da farklı bakterilerin bir arada görülmesi nedeniyle saf kolonilerin elde edilmesi için Tryptic Soy Agar ve Columbia Agar katı besiyerlerine tek tip koloniler sağlanana kadar ekimler yapıldı. Elde edilen saf suşların büyük ve küçük olmak üzere iki koloni özelliği gösterdiği büyük olanların yuvarlak, sarı renkli; küçük olanların ise yine yuvarlak, yarı saydam ve beyaz renkte olduğu tespit edildi. Mikrobiyolojik işlemler sonrasında toplam 83 adet mikroorganizma izolasyonu yapıldı.



Şekil 4.1. İnkübasyon sonrasında besiyerleri

4.2.1. Gram Boyama

Elde edilen her bir saf kültür gram yöntemi ile tek tek boyandı, mikroskop altında incelendiğinde toplam 83 adet izolatın 30 (% 36,1)' unun gram pozitif kok olduğu görüldü (Şekil 4.2.).



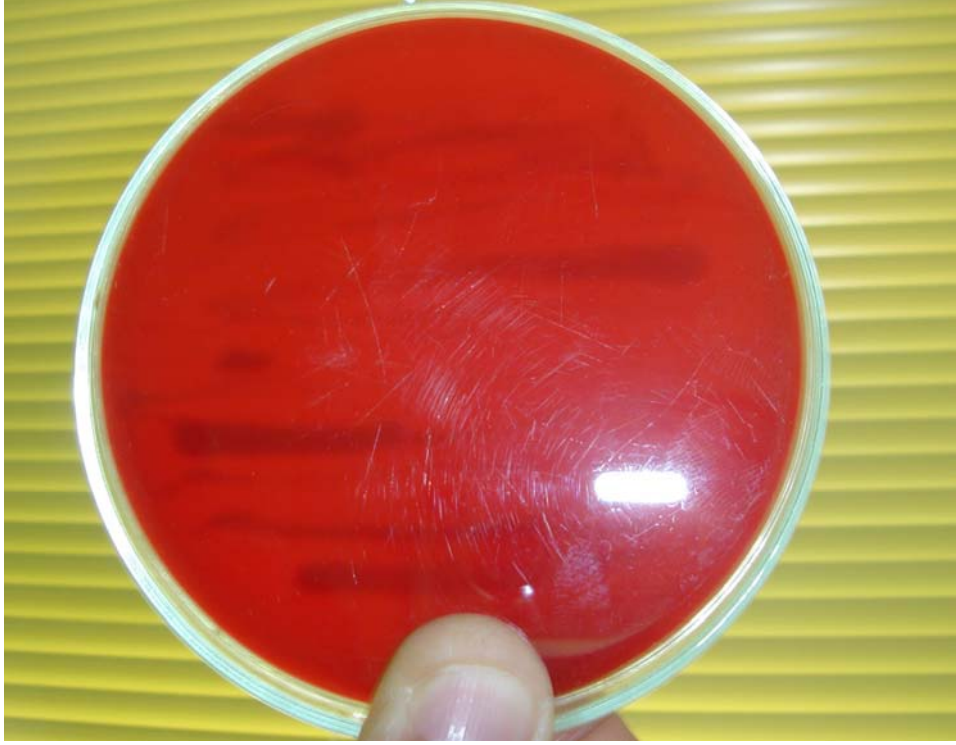
Şekil 4.2. Gram yöntemi ile boyanmış *Streptococcus faecalis*

4.2.2. Katalaz Deneyi

Katalaz deneyinin Columbia Agar ve Tryptic Soya Agar üzerinde üretilen saf kültürlere uygulanması sonrasında daha önceden elde edilen 30 adet gram pozitif bakterinin 25 (% 30,13) adetinin katalaz pozitif, 5 (% 6,02) adetinin ise katalaz negatif olduğu belirlendi. Katalazın negatif çıkması nedeniyle bu suşların Streptokokus cinsine ait olduğu belirlendi.

4.2.3. Hemoliz Deneyi

Tryptic Soya Agar (% 5 koyun kanlı) ile yapılan hemoliz testi sonrasında 5 adet suştan hiçbirinin besiyerinde herhangi bir hemoliz alanı oluşturmadığı (gama hemoliz) gözlemlendi (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Kanlı agar besiyerinde Gama (hemoliz yok) hemoliz

4.2.4. Safralı – Eskülinli Agar Deneyi

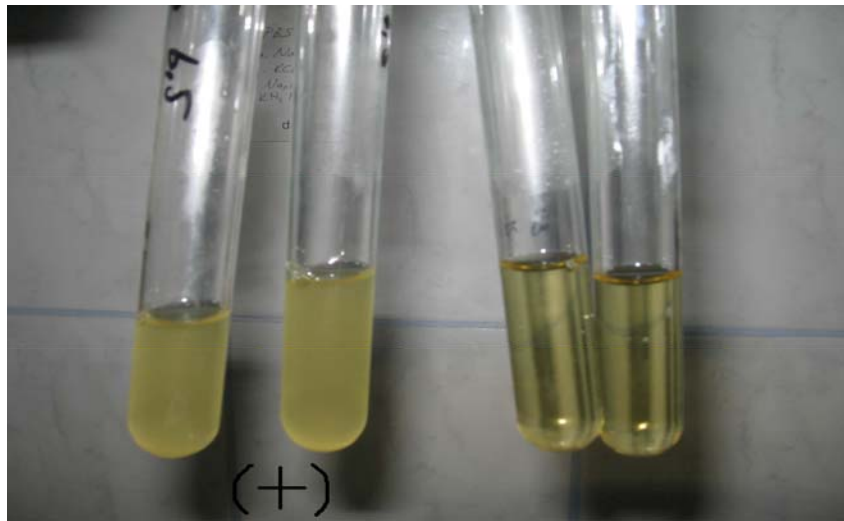
Bile-Esculin Agar ile yapılan test sonrasında tüm suşların besiyerini neredeyse tamamen siyah renge dönüştürdüğü gözlemlendi (Şekil 4.4.). Bu durum pozitif olarak değerlendirildi.



Şekil 4.4. İnkübasyon sonrasında Safralı-Eskülinli besiyerinde rengin siyahlaşması

4.2.5. % 6,5 NaCl' lü Besiyerinde Üreme

Besiyerlerinde inkübasyon sonrasında 5 suşun da üreyebildiği görüldü (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. İnkübasyondan sonra % 6,5 tuzlu besiyerinde üremeye bağlı bulanıklık.

4.2.6. Karbonhidrat Fermantasyon Testleri

Suşların fermantasyon özelliklerinin; arabinoz (-), mannitol (+), rafinoz (-), ramnoz(-), salisin (+), sorbitol (+), sakkaroz (+), trehaloz (+), ksiloz (-) şeklinde olduğu gözlemlendi (şekil 4.6.).



şekil 4.6. Karbonhidrat fermantasyon testleri.

Yapılan gram boyama, kùltür ve biyokimyasal testler sonucunda incelenen 11 farklı türden 127 adet balıkta 2 farklı türde (*Chondrostoma regium* ve *Capoeta capoeta umbla*) toplam 5 balıkta (% 3.93) *Streptococcus faecalis*' in izole ve identifikasyonu gerçekleştirildi. *Streptococcus faecalis*'in biyokimyasal özellikleri Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Yapılan morfolojik ve biyokimyasal testlerde izole edilen 5 adet suşun tamamının benzer özellikler gösterdiği saptandı (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. Balıklardan izole edilen 5 adet *Streptococcus faecalis*'in biyokimyasal özellikleri.

	İZOLE EDİLEN STREPTOCOCCUS FAECALIS SUŞLARI				
	1	2	3	4	5
Gram Boyama	+	+	+	+	+
Katalaz	-	-	-	-	-
45 °C' de üreme	+	+	+	+	+
50 °C' de üreme	-	-	-	-	-
pH 9,6' da üreme	+	+	+	+	+
% 6,5 NaCl' de üreme	+	+	+	+	+
Alfa Hemoliz	-	-	-	-	-
Beta Hemoliz	-	-	-	-	-
Gama Hemoliz	+	+	+	+	+
Eskülin Hidroliz	+	+	+	+	+
Arabinoz	-	-	-	-	-
Mannitol	+	+	+	+	+
Rafinoz	-	-	-	-	-
Ramnoz	-	-	-	-	-
Salisin	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	+
Sakkaroz	+	+	+	+	+
Trehaloz	+	+	+	+	+
Ksiloz	-	-	-	-	-

Bulunan 5 adet *Streptococcus faecalis*' den 2' si *Chondrostoma regium*' un bağırsağında ve karaciğerinde, 3'ü de *Capoeta capoeta umbla*' nın karaciğer ile solungaçlarında tespit edildi (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. *Streptococcus faecalis*'in tespit edildiği balık türleri, organlar ve sayıları.

Balık türü	<i>Streptococcus faecalis</i>'in tespit edildiği organ	Adet
<i>Chondrostoma regium</i>	Bağırsak	1
<i>Chondrostoma regium</i>	Karaciğer	1
<i>Capoeta capoeta umbla</i>	Karaciğer	1
<i>Capoeta capoeta umbla</i>	Karaciğer	1
<i>Capoeta capoeta umbla</i>	Solungaç	1

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Elazığ şehir kanalizasyonunun aktığı Haringet Çayı'nın Keban Baraj Gölü'ne döküldüğü bölgeden avlanan farklı balık türlerinden kültür yöntemi ile *Streptococcus faecalis*'in izolasyon ve identifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

Evsel ve sanayi atıklarının özellikle de kanalizasyon deşarj edilen doğal ortamların kirlendiği ve bol miktarda mikroorganizma taşıdığı, bu etkenler arasında hastalık yapıcı olması bakımından Streptokokus' ların da önemli mikrop kaynakları arasında yer aldığı pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Elazığ Şehir kanalizasyonunun döküldüğü Keban Baraj Gölü'nün Koçkale yöresinde daha önce yapılan bir araştırmada Şeker ve Sarıeyyüpoğlu, (1998) hem suda hem de midyelerde koliform bakterilerinin özellikle de *Escherichia coli*'nin bol miktarda olduğuna ve dolayısıyla bu bölgede kirlenmenin olduğuna işaret edilmiştir. Yine Özcan (2005) aynı bölgedeki su analizlerinde *Escherichia coli* izolasyonu yapmıştır. Ayrıca, DPT (2000)' ye göre çalışma alanında Haringet Çayı arıtma tesisi deşarj noktasında yapılan mikrobiyolojik kalite gözlemlerinde fekal Streptokokus sayısı $7,25.10^4$ olarak bildirilmiştir. Arıtma tesisinin halen aynı şekilde faaliyet göstermesi ve sadece fiziksel arıtım yapması bölgedeki fekal kirliliğin benzer şekilde sürdüğünün göstergesi olmuştur. Bu çalışmada da balıklardan fekal orijinli Streptokokus izolasyonunun yapılması, bölgenin şehir kanalizasyon atıklarıyla kirliliğinin devam ettiğini göstermiştir.

Keban Baraj Gölü'nün Koçkale bölgesinde önceki yıllarda balıklar üzerinde yapılan çalışmalarda (Muz ve diğ., 1995; Ertaş ve diğ., 1999) bağırsakta *Salmonella* izole edilmiştir. Ayrıca yine bu yörede Şeker ve diğ. (2003), tatlı su midyesi (*Unio elongatulus eucirrus*)'nden *Salmonella* spp., Çetinkaya ve diğ., (2001) ise midyelerden *Aeromonas* türlerini izole etmişlerdir. Yine aynı bölgede yapılan bir diğer çalışmada (Özcan, 2005) da tatlı su kaplumbağası *Mauremys caspica caspica*'da *Salmonella* spp. tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise aynı bölgeden Streptokokus' ların izole edilmesi bu bölgede yaşayan su ürünlerinin farklı patojen etkenlerle kontaminasyonunun devam ettiğini kanıtlamıştır.

Austin (1987) ve Arda ve diğ., (2005) Streptokokus enfeksiyonları sırasında balıklarda genel klinik semptomların yanı sıra dalak, karaciğer ve böbreklerde büyüme, fokal nekrotik odaklar, perikarditis ve karın boşluğunda bulanık veya kanlı sıvı birikimi gibi otopsi bulgularının görülebileceğini bildirmişlerdir. Ancak yapılan bu çalışmada incelenen 127 adet balıktan ne *Streptococcus faecalis* tespit edilenlerde ne de tespit edilemeyenlerde herhangi bir

klinik ve otopsi bulgusuna rastlanmaması balıkların taşıyıcı olabileceğini ve enfeksiyon oluşmamasının; Enterokokus cinsine ait bakterilerin konakçı seçimine (Romalde, 2000) ya da etkenlerin virülensinin zayıf olmasına bağlı olabileceğini göstermiştir.

Ringø (1998), içerisinde Enterokokus ve Streptokokus cinslerinin de bulunduğu laktik asit bakterilerinin balıkların özellikle bağırsaklarından izole edilebileceğini, fakat bu bakterilerin diğer iç organlardan da izolasyonunun yapılabileceğini bildirmiştir. Bu çalışmada da farklı balıklardan izole edilen 5 adet Streptokokus'un balıkların bağırsak, solungaç ve karaciğeri gibi farklı organlardan izole edilmiş olması bu araştırmacının bulgularını kanıtlar nitelikte bulunmuştur.

Patır ve diğ. (2002), Keban Baraj Gölü'nün Ağın yöresinden avlanan tatlı su ıstakozlarının (*Astacus leptodactylus*) mikrobiyal florasını inceledikleri çalışmada *Enterococcus* spp.'yi izole etmişlerdir. Bu sonuç Keban Baraj Gölü'nün farklı bölgelerindeki farklı canlı türlerinde de Streptokokus'ların bulunabileceğini göstermiştir.

Arda ve diğ. (2005), balıklarda Streptokokus enfeksiyonlarının alabalık, sazan, tilapia ve diğer balık türlerinde görülebileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da *Chondrostoma regium* ve *Capoeta capoeata umbla*'da *Streptococcus faecalis*'in bulunması yukarıdaki araştırmacılarla benzer bulunmuştur. *Enterococcus* spp. nin bir balık türünden diğerine direk temasla bulaşabileceği bildirilmiştir (Romalde ve diğ., 1996a). Ayrıca Streptokokus'ların donmuş balıklarda 6 ay canlı kaldığı ve bu nedenle pastörize edilmeden verilen ıskarta balıkların enfeksiyonun ortaya çıkmasında büyük rol oynadığı belirtilmiştir (Evans ve diğ., 2004a). Bu nedenle Keban baraj gölündeki balıklardan Streptokokus'ların izole edilmiş olmasının, bölgede kafes balıkçılığı yapan işletmeler açısından gelecekte sorun oluşturabileceğine dikkat çekilmiştir.

Elazığ şehir kanalizasyonunun fiziksel yöntemlerle arıtılarak verildiği Haringet Çayı'nın Keban Baraj Gölü'ne döküldüğü bölgeden yakalanan balıklarda, bir kirlilik indikatörü olan *Streptococcus faecalis*'in (Bitton, 2005) az sayıda da olsa izole edilmiş olması dikkat çekmektedir. Costa ve diğ. (2006) 'ne göre Portekiz'de 14 adet kanalizasyon arıtma tesisinde Enterokokus'lar üzerine yapılan bir çalışmada bu bakterilere yüksek miktarlarda rastlanmış ve bir çok antibiyotiğe farklı düzeylerde dirençli (Lewis ve diğ., 2001; Narins 2003; Petersen ve Dalsgaard, 2003) olan bu bakterilerin ortamdan uzaklaştırılmasında ultraviyole ışığın çok etkili olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle arıtma tesisinde fiziksel arıtmanın yanında mikrobiyolojik arıtmanın da yapılması gerekmektedir. Aksi takdirde Streptokokus türleri ile beraber insan sağlığını olumsuz etkileyen birçok bakterinin de ortamda çoğalabileceği sonucuna varılmıştır.

Balıklarda Streptokokoza karşı yapılan aşı denemelerinde balık ve bakteri türüne bağlı olarak aşının koruma süresi farklılık göstermiştir. Fakat birkaç balık türü dışında 3-6 aydan fazla korunma sağlanamamıştır (Leirove diğ., 1996; Romalde ve diğ., 1996b; Eldar ve diğ., 1997; Romalde ve diğ., 1999; Gudding ve diğ., 1999; Nakanishi ve diğ., 2002; Li ve diğ., 2004; Romalde ve diğ., 2004;). Bu nedenle Streptokokoz ile mücadelede gerçekleştirilmesi gereken çalışmaların; aşı geliştirilmesi, geliştirilen aşılardan koruma süresinin uzatılması ile ilgili olması gerektiği belirtilmiştir (Kusuda ve Salati, 1995)

Dünyada Streptokokus enfeksiyonları bir çok balık türünde yaygın olarak görülmekte ve yüksek mortalitelere neden olmaktadır (Mata ve diğ., 2004). Streptokokoz' un dünyadaki durumuna bakıldığında, Türkiye'de Streptokokus enfeksiyonlarına çok az rastlanılmış olması (Diler ve diğ., 2002) ülkemiz için bir avantaj olup, hastalığın yayılmasını engellemek için gerekli önlemlerin alınmasının sektör için elzem olduğu görülmüştür.

Çalışma sonucunda Haringet çayı ve bu çayın döküldüğü Keban Baraj Gölü'nden avlanan farklı balık türlerinin insan ve diğer canlılar için patojen olan çevresel kontaminasyonlarla ciddi enfeksiyonlara yol açan Streptokokus' ları taşıdığı kanıtlanmıştır. Bu nedenle bu bölgeden avlanan balıkçıların ve balıkları tüketen insanların oldukça dikkatli olması gerekmektedir. Bu çalışmada, balıklar için patojen olmasının yanında insanlar için de tehlikeli türler olan *Streptococcus iniae*, *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae* ve *S. sanguis* gibi Streptokokus türlerinin herhangi bir balıktan izole edilmemiş olması da sevindirici bir durum olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada incelenen 127 adet balığın 5 adetinden yalnızca bir Streptokokus türü izole edilmiş olmasına ve balıklarda herhangi bir hastalık semptomu görülmemesine rağmen; yüksek tuzluluk, yüksek pH ve yüksek sıcaklık gibi çevre şartlarına dayanıklı olan, doğadaki balıklardan işletmelerdeki balıklara bulaşp çok önemli hastalık problemleri oluşturabilen, yine insanlara pek çok yolla (ağız veya ellerdeki yaralar gibi) geçip enfeksiyonlara neden olabilen bu bakterilerin dikkat edilmesi gerekli patojenler olduğunun göz önünde bulundurulması, bölgedeki balıkçıların, bu balıklarla beslenen insanların ve balık yetiştiriciliği yapan kişilerin dikkatli davranması gerektiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Adams. A., Thompson,K.D., Roberts, R.J., 1997. Fish Vaccine Development. FAO Manual for the production and quality control of veterinary vaccines for use in developing countries (Edited by Noel Mowat and Mark Rweyemamu) FAO Animal Production and Health series No. 35.
- Akhlaghi, M., Munday, B.L., Whittington, R.J., 1996, Comparison of passive and active immunization of fish against Streptococcosis (Enterococcosis), Journal of Fish Diseases, 19, 251-258.
- Ampofo, J.A., Clerk, G.C., 2002, Infestation of fish-culturing communities with fish-borne bacteria: The Ghanaian Case. Int. J. Environmental Health Research. 12(3):277-82.
- Anonim 1994, Keban Baraj Gölü Limnolojik Raporu. Bayındırlık ve İskan Bakanlığı Devlet Su Ürünleri Genel Müdürlüğü. IX. Bölge Müdürlüğü. Su Ürünleri Baş Mühendisliği. Elazığ,
- Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N., Karaman, M., Akay, Ö., Ilgaz, A., İzgür, M., Diker, K.S., 1999, Özel Mikrobiyoloji. Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik İnfeksiyonlar. Medisan Yayın Serisi, No: 26. 4. Baskı, Ankara, 362s.
- Arda, M., Seçer, S., Sarıyyüpoğlu, M., 2005, Balık Hastalıkları. Medisan Yayınları Serisi, No: 61, Ankara, 230s.
- Ariel, E., Olesen, N.J., 2002, Finfish in aquaculture and their diseases-A retrospective view on the European Community. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 22(2), 72
- Austin, B., Austin, D.A., 1987, Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish.Ellis Horwood Limited. Chichester, England, 363p.
- Austin, B., Austin, D.A., 1993, Bacterial Fish Pathogens, Disease of Farmed and Wild Fish- Second Edition. Ellis Horwood Series in Aquaculture and Fisheries Support, UK, 412p.
- Austin, B., 1999, Emerging Bacteriel Fish Pathogens. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 19(6),231.
- Bascomb, S., Manafi, M., 1998, Use of enzyme tests in cahracterization and identification of aerobic and facultatively anaerobic gram-positive cocci. Clinical Microbiology Reviews, 11(2):318-340

- Baya, A.M., Lupiani, B., Hetrick, F.M., Roberson, B.S., Lukacovic, R., May, E., Poukish, C., 1990, Association of *Streptococcus* sp. with fish mortalities in the Chesapeake Bay and its tributaries, Journal of Fish Diseases, 13,251-253.
- Bayındır, Y., Tekerekoğlu, S., Otlu, B., Sönmez, E., Durmaz, B., 1999, Bir G Grubu Streptokok Menenjitisi Olgusu. Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi. 6(4), 357-359.
- Bilgehan, H., 1992, Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları, Fakülteler Kitapevi, Şafak Matbaacılık, I. Baskı, İzmir, 680s.
- Bitton, G., 2005, Wastewater Microbiology, Third Edition, a John Wiley & Sons, Inc., Publication, New Jersey, 746p.
- Buller N.B., 2004, Bacteria from Fish and Other Aquathic Animals, A Practical Identification Manual, CABI Publishing, Wallingford, 384p.
- Chanter, N., 1997, *Streptococci* and *Enterococci* as Animal Pathogens, Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement, 83,100-109.
- Chen, S.C., Liaw, L.L., Su, H.Y., Ko, S.C., Wu, C.Y., Chaung, H.C., Tsai, Y.H., Yang, K.L., Chen, Y.C., Chen, T.H., Lin, G.R., Cheng, S.Y., Lin, Y.D., Lee, J.L., Lai, C.C., Weng, Y.J., Chu, S.Y., 2002, *Lactococcus garvieae*, a Cause of disease in grey mullet, *Mugil cephalus* L., in Taiwan, Journal of Fish Diseases, 25,727-732.
- Colorn, A., Diamant, A., Eldar, A., Kvitt, H., Zlotkin, A., 2003, *Streptococcus iniae* Infections in red sea cage-cultured and wild fishes. Dis.Aquat Organ. 3;49(3):165-70.
- Costa, P.M., Vaz-Pires, P., Bernardo, F., 2006, Antimicrobial resistance in *Enterococcus spp.* isolated in inflow, effluent and sludge from municipal sewage water treatment plants, Water Research, 40, 1735-1740.
- Curras, M., Magarinos, B., Toranzo, A.E., Romalde, J.L., 2002, Dormancy as a survival strategy of the fish pathogen *Streptococcus parauberis* in the marine environment. Dis. Aquat.Organ.22;52(2):129-36.
- Çağırğan, H., Tanrıku, T., 1995, Türkiye’de alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliklerinde yeni bir sorun: *Enterococcus* benzeri bir bakteri enfeksiyonu. Vet. Kontr. Ve Araştır. Enst. Md. Derg. C:19, Sayı:33, Sayfa:9-19.

- Çetinkaya, B., Şeker, E., Karahan, M., 2001, Midyelerden mezofilik *Aeromonas* türlerinin izolasyonu ve sitotonik enterotoksin geninin polimeraz zincirleme reaksiyonu ile saptanması. Mikrobiyol. Bült. 35:53-61
- Diler, Ö., Altun, S., Adiloğlu, A.K., Kubilay, A., Işıklı, B., 2002, First occurrence of *Streptococcosis* affecting farmed rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Turkey. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol 22(1)21-26
- Diggles, B.K., 2002, Import Risk Assessment: Juvenile yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) from Spencer Gulf Aquaculture, South Australia. NIWA Client Report, Wellington, 54p.
- Dodson S.V., Maurer, J.J., Shotts, E.B., 1999, Biochemical and molecular typing of *Streptococcus iniae* isolated from fish and human cases, Journal of Fish Diseases, 22,331-336.
- Domenech, A., Fernandez-Garayzabal, J.F., Pascual, C., Garcia, J.A., Cutuli, M.T., Moreno, M.A., Collins, M.D., Dominguez, L., 1996, *Streptococcosis* in cultured turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), associated with *Streptococcus parauberis*, Journal of Fish Diseases, 19, 33-38.
- DPT, 2000, Mevcut Durum ve Analizi, Yerel Özellikler, Yerleşmeler, Genel Değerlendirme, Cilt:IV, T.C.Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı Müsteşarlığı, 396s.
- Duremdez, R., Marzouk, A.A., Qasem, J.A., Harbi, A.A., Gharabally, H., 2004, Isolation of *Streptococcus agalactiae* from cultured silver pomfret, *Pampus argenteus* (Euphrasen), in Kuwait, Journal of Fish Diseases, 27, 307-310.
- Ekingen, G., Sarıeyyüpoğlu, M., 1981, Keban Baraj Gölü Balıkları, F.Ü. Vet. Fak. Dergisi, 6,1-2, 6-22, Elazığ.
- Ekingen, G., 1988, Balık Sistematiği. Tolga Ofset. I. Baskı. Elazığ, 95 s.
- Eldar, A., Bejerano, Y., Bercovier, H., 1994, *Streptococcus shiloi* and *Streptococcus difficile*: Two new streptococcal species causing a meningoencephalitis in fish, Current Microbiology, 28, 139-143.
- Eldar, A., Bejerano, Y., Livoff, A., Horovitz, A., Bercovier, H., 1995, Experimental streptococcal meningo-encephalitis in cultured fish. Vet.Microbiology. 43(1):33-40.

- Eldar, A., Ghittino, C., Asanta, L., Bozzetta, E., Gorla, M., Prearo, M., Bercovier, H., 1996, *Enterococcus seriolicida* is a junior synonym of *Lactococcus garvieae*, a causative agent of septicemia and meningoencephalitis in fish, *Current Microbiology*, 32,85-88.
- Eldar, A., Horovitz, A., Bercovier, H., 1997, Development and efficacy of a vaccine against *Streptococcus iniae* infection in farmed rainbow trout, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 56,175-183.
- Ertaş, H.B., Çetinkaya, B., Şeker, E., Muz, A., Sarıeyyüpoğlu, M., 1999, Elazığ ve çevresindeki çeşitli su kaynaklarından temin edilen balıklardan *Salmonella* izolasyonu ve PZR ile teyit edilmesi, *F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13, 15-20.
- Evans, J.J., Shoemaker, C.A., Klesius, P.H., 2000, Experimental *Streptococcus iniae* infection of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*) by nares inoculation, *Aquaculture*, 189,197-210.
- Evans, J.J., Klesius, P.H., Gilbert, P.M., Shoemaker, C.A., Sarawi, M.A.A., Landsberg, J., Duremde, R., Marzouk, A.A., Zenki, S.A., 2002, Characterization of b-haemolytic Group B *Streptococcus agalactiae* in cultured seabream, *Sparus auratus* L., and wild mullet, *Liza klunzingeri* (Day), in Kuwait, *Journal of Fish Diseases*, 25,505-513.
- Evans, J.J., Wiedenmayer, A.A., Klesius, P.H., Shoemaker, C.A., 2004a, Survival of *Streptococcus agalactiae* from frozen fish following natural and experimental infections. *Aquaculture*. 233:15-21.
- Evans, J.J., Klesius, P.H., Shoemaker, C.A., 2004b, Efficacy of *Streptococcus agalactiae* (Group B) vaccine in tilapia (*Oreochromis niloticus*) by intraperitoneal and bath immersion administration, *Vaccine*, 22, 3769-3773.
- Frerichs, G.N., Millar, S.D., 1993, *Manual for The Isolation and Identification of Fish bacterial Pathogens*. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Pisces Pres, Stirling. 60p.
- Fuller, J.D., Bast, D.J., Nizet, V., Low, D.E., de Azavedo, J.C., 2001, *Streptococcus iniae* virulence is associated with a distinct genetic profile, *Infect. Immun.*, 69(4), 1994-2000.
- Gerardi, M.H., Zimmerman, M.C., 2005, *Wastewater Pathogens*, John Wiley & Sons Inc. Publication, New Jersey, 179p.

- Glibert, P.M., Landsberg, J.H., Evans, J.J., Al-Sarawi, M.A., Faraj, M., Al-Jarallah, M.A., Haywood, A., Ibrahim, S., Klesius, P., Powell, C., Shoemaker, C., 2002, A fish kill of massive proportion in Kuwait Bay, Arabian Gulf, 2001: The Roles of Bacterial Disease, Harmful Algae, and Eutrophication. *Harmful Algae*, 1:215-231.
- Gudding, R., Lillehaug, A., Evensen, Ø., 1999, Recent development in fish vaccinology, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 72, 203-212.
- Hardie, J.M., Whiley, R.A., 1997, Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*, *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*, 83,1-11.
- Holt J.G., N.R. Krieg, P.H.A Sneath, J.T. Stally and S.T. Williams. 1994, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland.787p.
- Huchzermeyer, K.D., 2003, Clinical and pathological observation an *Streptococcus sp.* infection on South African trout farms with gas supersaturated water supplies. *Onderstepoort J Vet. Res.* 70(2):95-105.
- Kahn, S.A., Wilson, D.W., Perera, R.P., Hayder, H., Gerrity, S.E., 1999. AQIS (Australian Quarantine and Inspection Service), Import Risk Analysis on Live ornamental Finfish. Canberra. 172p.
- Kayser, F.H., Bienz, K.A., Eckert, J., Zinkernagel, R.M., 2005, *Medical Microbiology*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 698p.
- Kusuda, R., Salati, F., 1995, *Enterococcus seriolicida* and *Streptococcus iniae*. Part 8. Fish Diseases and Disorders. Volume 3, Viral, Bacterial and Fungal Infections. Edited by P.T.K. Wood & D.W. Bruno. 303-317.
- Lewis, K., Salyers, A.A., Taber, H.W., Wax, R.G., 2001, *Bacterial Resistance to Antimicrobials*, Marcel Dekker Inc., New York, 528p.
- Lau, S.K., Woo, P.C., Tse, H., Leung, K.W., Wong, S.S., Yuen, K.Y., 2003, Invasive *Streptococcus iniae* infections outside North America, *Clinic Microbiology*, 41(3) 1004-1009.

- Leiro, J., Toranzo, A.E., Estevez, J., Lamas, J., Barja, J.L., Uberia, F.M., 1996, The humoral response of turbot to recently isolated pathogenic *Enterococcus* strains. Cross-reactivity with other gram-positive bacteria, *Veterinary Microbiology*, 48, 29-39.
- Li, P., Lewis, D.H., Gatlin, D.M., 2004, Dietary oligonucleotides from yeast RNA influence immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection, *Fish & Shellfish Immunology*. 16,561-569.
- Lim, J.H., Hwang, Y.H., Park, B.K., Yun, H., 2003, Combination effects of cephalexin and gentamicin on *Edwardsiella tarda* and *Streptococcus iniae*, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 22, 67-69.
- MAF (Ministry of Agriculture and Forestry), 1999, Supplementary Import Risk Analysis: Head-on, Gill-in Australian Salmonids for Human Consumption. New Zeland, Wellington, 24p.
- Marth, E.H., Steele, J.L., 2001, *Dairy Microbiology*, Marcel Decker Inc.New York, 744s.
- Mata, A.I., Blanco, M.M., Dominguez, L., Fernandez-Garayzabal, J.F., Gibello, A., 2004, Development of a PCR assay for *Streptococcus iniae* based on the lactate oxidase (IctO) gene with potential diagnostic value. *Veterinary microbiology*. 101:109-116.
- McNulty, S.T., Klesius, P.H., Shoemaker, C.A., Evans, J.J., 2003, *Streptococcus iniae* infection and tissue distribution in hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) Following Inoculation of The Gills. *Aquaculture*.220:165-173.
- Miller, J.D., Neely, M.N., 2004, Zebrafish as a model host for streptococcal pathogenesis. *Acta Tropica*, 91:53-68.
- Muz, A., Sarıeyyüpoğlu, M., Ertaş, H.B., Şimşek, A.. 1995, Keban Baraj Gölünde yakalanan bazı balıkların çeşitli organlarının aerobik ve mikraerofilik bakteriler yönünde incelenmesi. *F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 9(2) 212-220.
- Nakanishi, T., Kiryu, I., Ototake, M., 2002, Development of a new vaccine delivery method for fish: percutaneous administration by immersion with application of a multiple puncture instrument, *Vaccine*, 20, 3764-3769.
- Narins, B., 2003, *World of Microbiology and Immunology*, Thomson and Gale, 699s.

- Nieto, J.M., Devesa, S., Quiroga, I., Toranzo, A.E., 1995, Pathology of *Enterococcus* sp. infection in farmed turbot, *Scophthalmus maximus* L., Journal of Fish Diseases, 18, 21-30.
- Nguyen, H.T., Kanai, K., Yoshikoshi, K., 2002, Ecological investigation of *Streptococcus iniae* in cultured japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) using selective isolation procedures. Aquaculture. 205:7-17.
- Nomoto, R., Munasinghe, L.I., Jin, D.H., Shimahara, Y., Yasuda, H., Nakamura, A., Misawa, N., Itami, T., Yoshida, T., 2004, Lancefield group C *Streptococcus dysgalactiae* infection responsible for fish mortalities in Japan, Journal of Fish Diseases, 27, 679-686.
- Özcan, M., 2005, Elazığ şehir kanalizasyonunun Keban Baraj Gölüne döküldüğü bölgeden yakalanan tatlı su kaplumbağası (*Mauremys caspica caspica*, Gmelin, 1774)'nda *Salmonella*'ların Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi.F.Ü.Fen Bilimleri Enstitüsü, 52s.
- Patır, B., Dinçoğlu, A.H., İnanlı A.G., 2002, Keban Baraj Gölü tatlı su ıstakozlarının (*Astacus leptodactylus* Escholtz, 1823) mikrobiyolojik kalitesi ile mikrobiyal florası üzerine araştırmalar, E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, Cilt:19, Sayı:1-2, 19-28.
- Perera, R.P., Johnson, S.K., Lewis, D.H., 1997, Epizootiological aspects of *Streptococcus iniae* affecting tilapia in texas. Aquaculture. 152:25-33.
- Petersen, A., Dalsgaard, A., 2003, Antimicrobial resistance of intestinal *Aeromonas* spp. and *Enterococcus* spp. in fish cultured in integrated broiler-fish farms in Thailand, Aquaculture, 219,71-82.
- Plumb, J.A., 2002, A Guide to the Integrated Management of Warm-Water and Coolwater Fish Diseases in the Great Lakes Basin, Great Lakes Fishery Commission, 2002 Project Completion Report, Alabama, 159p.
- Ringø, E., 1998, Lactic acid bacteria in fish: a riview, Aquaculture, 160,177-203.
- Ravelo, C., Magarinos, B., Romalde, S.L., Toranzo, A.E., Romelda, J.L., 2003, Molecular fingerprinting of fish-pathogenic *Lactococcus garvieae* strains by random amplified polymorphic DNA Analysis. Journal of Clinical Microbiyoloji. Vol, 41, No:2. p. 751-756.

- Romalde, J.L., Magarinos, B., Nunez, S., Barja, J.L., Toranzo, A.E., 1996a, Host range susceptibility of *Enterococcus* sp. strains isolated from diseased turbot: possible routes of infection, *Applied and Environmental Microbiology*, 62(2), 607-611.
- Romalde, J.L., Silva, R., Rianza, A., Toranzo, A.E., 1996b, Long-lasting protection against turbot Streptococcosis obtained with A toxoid-enriched bacterin, *Bull.Eur.Ass.Fish.Pathol*, 16(5), 169.
- Romalde, J.L., Magarinos, B., Toranzo, A.E., 1999, Prevention of Streptococcosis in turbot by intraperitoneal vaccination: A Review, *J. Appl. Ichthyol.* 15, 153-158.
- Romalde, J.L., Lores, F., Magarinos, B., Barja, J.L., Toranzo, A.E., 2000, Study of cell surface associated virulence factors of *Streptococcus parauberis* strains pathogenic for turbot, *Bull.Eur.Ass.Fish.Pathol*, 20(6), 244.
- Romalde, J.L., Alvarez, A.L., Ravelo, C., Toranzo, A.E., Mendez, J.B., 2004, Oral immunization using alginate microparticles as a useful strategy for booster vaccination against fish Lactococcosis, *Aquaculture*, 236, 119-129.
- Sarıeyyüpoğlu, M., 1984, Gökkuşığı Alabalıklarında (*S.gairdneri*) Mide-barsak bakteriyel florasının aerobik yönden incelenmesi. *Doğa Bilim Dergisi. Seri: D1, Cilt:8, Sayı:3.* 281-287s.
- Shelby, R.A., Klesius, P.H., Shoemaker, C.A., Evans, J.J., 2002, Passive immunization of tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), with anti-*Streptococcus iniae* whole sera, *Journal of Fish Diseases*, 25,1-6.
- Shoemaker, C.A., Klesius, P.H., Evans, J.J., 2001, Prevalance of *Streptococcus iniae* in tilapia, hybrid striped bass, and channel catfish on commercial fish farms in The United States. *Am. J. Vet.Res.* 62(2):174-7.
- Şeker, E., 2001, Tatlı Su Midyesinde (*Unio elongatulus eucirrus*) *Salmonella*'ların Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Saptanması. Doktora Tezi.
- Şeker, E., Sarıeyyüpoğlu, M., 1998, Keban Baraj Gölünün Koçkale Bölgesinden toplanan tatlı su midyesinde (*Unio elongatulus eucirrus*) mide ve bağırsakların fekal koliformlar yönünden incelenmesi. *Fırat Üniversitesi Fen ve Müh. Bilimleri Dergisi*, 10(1),45-53.

- Şeker, E., Sarıeyyüpoğlu, M., Çetinkaya, B., 2003, Tatlı su midyesinden (*Unio elongatulus eucirrus*) izole edilen *Salmonella*'ların Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile identifikasyonu, Turk. J. Vet. Sci. 27, 201-206.
- Tanrıkul, T.T., Çağırğan, H., Tokşen, E., 1996, Bakteriyel Balık Hastalıkları. Vet. Kont. ve Araşt. Enst. Md. Derg. C.20., S.34. 105-127.
- Weinstein, M.R., Litt, M., Kertesz, D.A., Wyper, P., Rose, D., Coulter, M., McGeer, A., Facklam, R., Ostach, C., Willey, B.M., Borczyk, A., Low, D.E., 1997, Invasive infections due to A fish pathogen, *Streptococcus iniae*. *S.iniae* Study Group. N. Engl. J. Med. 28;337(9):589-94.
- Zlotkin, A., Hersko, H., Eldar, A., 1998a, Possible transmission of *Streptococcus iniae* from wild fish to cultured marine fish. Appl.Environ.Microbiology.64(10):4065-7.
- Zlotkin, A., Eldar, A., Ghittino, C., Bercovier, H., 1998b, Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR. J. Clin.Microbiology. 36(4):983-5.

ÖZGEÇMİŞ

Burdur ili Gölhisar ilçesinde 25.04.1978 tarihinde doğdum. İlköğrenimimi burada orta öğrenimimi ise Ankara’da tamamladım. Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi’ne 1998 yılında başladım ve 2002 yılında mezun oldum. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı’nda 2003 yılında Yüksek Lisans yapmaya başladım. Aynı zamanda T.C. Tarım Bakanlığı Elazığ Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü’nde Su Ürünleri Mühendisi olarak çalışmaktayım.

Yüksek Lisans Öğrencisi
Necdet İlker KAN