



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KÜLTÜR BALIKLARINDA *Vibrio anguillarum*'UN İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE TEŞHİSİ

Su Ürünleri Mühendisi Buket AYDIN

Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

Hastalıklar Programı

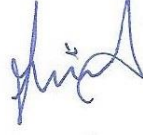
Danışman

Doç. Dr. Tülay AKAYLI

HAZİRAN, 2013

İSTANBUL

Bu çalışma 14.06.2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı Hastalıklar programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.



Üye
Danışman
Doç. Dr. Tülay AKAYLI
İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi



Üye
Prof. Dr. Süheyla KARATAŞ STEINUM
İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi



Üye
Prof. Dr. Nuray ERKAN ÖZDEN
İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi



Üye
Doç. Dr. Füsun ÖZTAY
İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi



Üye
Yard. Doç. Dr. Sibel ÖZESEN ÇOLAK
İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi



Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 19534 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim süresince her konuda hoşgörüsünü, yardımını ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleriyle eğitimimde büyük katkısı olan danışman hocam sayın Doç. Dr. Tülay AKAYLI'ya; immunohistokimyasal boyama metodu konusunda yardımlarını esirgemeyen İ.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Füsun ÖZTAY'a, İ.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrencisi olan Öznur YILMAZ'a; tez çalışmamda yaptığım örneklemelerle ilgili konularda bana yardımcı olan Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi öğretim üyesi Sayın Yard. Doç. Dr. Tülin ARSLAN'a, Su Ürünleri Mühendisi Tuna TUZKAYA'ya; Yetiştiricilik Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma ve çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Remziye Eda YARDIMCI, Araş. Gör. Özgür ÇANAK ve Araş. Gör. Çiğdem ÜRKÜ'ye, tezimin gerçekleşmesinde her zaman yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen değerli babam Ahmet BAŞARAN'a, eşim Engin AYDIN'a ve arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Haziran, 2013

Buket AYDIN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ.....	viii
SEMBOL LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
SUMMARY.....	xii
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL KISIMLAR.....	4
2.1. GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (<i>Oncorhynchus mykiss</i> , Walbaum, 1792) VE KÜLTÜRÜ.....	4
2.2. LEVREK BALIĞI (<i>Dicentrarchus labrax</i> , Linneaus 1758) VE KÜLTÜRÜ.....	5
2.3. ÇİPURA BALIĞI (<i>Sparus aurata</i> , Linneaus 1758) VE KÜLTÜRÜ.....	7
2.4. VİBRİOSİS.....	8
2.5. <i>Vibrio anguillarum</i>	9
2.6. <i>Vibrio anguillarum</i> 'un TEŞHİSİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER.....	14
2.6.1.İmmunohistokimyasal Yöntem.....	16

3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1. MATERYAL.....	18
3.1.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer.....	18
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Balık Materyali.....	18
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Referans Suş.....	19
3.1.4. <i>V. anguillarum</i> ’ un Kültüründe Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasal Maddeler.....	19
3.1.5. İmmunohistokimyasal Boyamada Kullanılan Kit, Antikor ve Diğer Malzemeler.....	20
3.1.6. İmmunohistokimyasal Boyamada Kullanılan Tampon ve Solüsyonlar.....	20
3.2. YÖNTEM.....	21
3.2.1. Hasta Balıkların Klinik ve Otopsi Muayenesi.....	21
3.2.2. Hasta Balıklardan <i>V.anguillarum</i> ’ un İzolasyonu ve Tanımlanması.....	21
3.2.3. Histopatolojik İnceleme.....	22
3.2.4. İmmunohistokimyasal Boyama (Streptavidin-Biotin Yöntemi).....	23
4. BULGULAR.....	25
4.1. HASTA BALIKLARIN KLİNİK VE OTOPSİ BULGULARI.....	25
4.2. BAKTERİYOLOJİK BULGULAR.....	32
4.3. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	39
4.4. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR.....	49

5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....61

KAYNAKLAR.....66

ÖZGEÇMİŞ.....75



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 4.1	: A işletmesinden temin edilen hasta gökkuşağı alabalığının vücut yüzeyinde ve yüzgeç diplerinde hemorajik odaklar (okla gösterilmiştir).....	25
Şekil 4.2	: Enfekte gökkuşağı alabalığının pelvik ve anal yüzgeç etrafında geniş hemorajik (okla gösterilmiştir) odaklar ve lezyonlar.....	26
Şekil 4.3	: Hasta gökkuşağı alabalığının solungaçlarında anemi ve solungaç filamentlerinin uçlarında dökülme (açık okla gösterilmiştir), splenomegali (okla gösterilmiştir) ve viseral yağ dokuda hemoraji.....	26
Şekil 4.4	: G işletmesinden temin edilen 2 numaralı enfekte levrek balığının dorsal yüzgecinde kanama (okla gösterilmiştir).....	27
Şekil 4.5	: 2011 yılı yapılan 1.örneklemede gidilen levrek balığı işletmesinde temin edilen 2 numaralı enfekte balığın kuyruk yüzgeci yakınında hiperemik lezyon (okla gösterilmiştir).....	28
Şekil 4.6	: Bodrum’ da bulunan işletmeye (G) ait 1 numaralı hasta levrek balığının vücut yüzeyinde, operkulumunda, preoperkulumunda, yüzgeçlerinde ve ağız etrafında hemorajiler (okla gösterilmiştir).....	28
Şekil 4.7	: G işletmesinden temin edilen 2 numaralı hasta levrek balığının abdominal bölgesinde, anüs etrafında (okla gösterilmiştir), anal yüzgeç tabanında ve ağız çevresinde yaygın hemorajiler.....	29
Şekil 4.8	: 1 numaralı hasta levrek balığında solgun karaciğerde hemorajik odak (okla gösterilmiştir), genişlemiş dalak ve sarı renkli sıvı içeren bağırsak.....	29
Şekil 4.9	: Bodrum’ da bulunan G işletmesinden temin edilen 2 numaralı hasta levrek balığında solgun karaciğerde hemoraji odaklar (okla gösterilmiştir) ve iç organlarda yağlanma.....	30
Şekil 4.10	: 2012 yılında yapılan 2. örneklemede gidilen F işletmesinde bulunan 1 numaralı hasta çipura balığında pektoral ve pelvik yüzgeçlerinde hemorajik odaklar (okla gösterilmiştir).....	31
Şekil 4.11	: F işletmesine ait 2 numaralı hasta çipura balığının solungaç filamentlerinin uç kısımlarında dökülme ve karaciğerde solgunluk (okla gösterilmiştir).....	31
Şekil 4.12	: T-TSA’da <i>Vibrio anguillarum</i> kolonilerinin görünümü.....	32
Şekil 4.13	: TCBS’de sarı renkli koloni oluşumu.....	33
Şekil 4.14	: VAM’da sarı renkli koloni oluşumu.....	33
Şekil 4.15	: Gram negatif, kıvrık-düz çomaklar Gram boyama x 100.....	34
Şekil 4.16	: Oksidasyon-Fermantasyon glukoz testinde fermantatif özellik (a: fermantasyon test tüpü pozitif, b: oksidasyon test tüpü pozitif).....	35
Şekil 4.17	: O/129 vibriostat (10µg ve 150 µg) testinde zon oluşumu.....	35
Şekil 4.18	: Kovaks ayırıcı damlatılmış indol testinde negatif sonuç (a) ve pozitif reaksiyon (b).....	36
Şekil 4.19	: ONPG (β-galaktosidaz) testinde pozitif reaksiyon (okla gösterilmiştir) ve negatif sonuç.....	36

Şekil 4.20	: Voges Proskauer ayırıcı damlatılmış VP testinde pozitif reaksiyon (a) ve negatif sonuç (b).....	37
Şekil 4.21	: Simmon's citrate besiyerinde sitrat kullanımında pozitif reaksiyon.....	37
Şekil 4.22	: Gökkuşuğu alabalığının karaciğerinde küçük hemorajik odaklar (okla gösterilmiş) H&E.....	39
Şekil 4.23	: Hasta gökkuşuğu alabalığının böbrek dokusunda interstisiyel alanda hücre ve matriks kaybı (okla gösterilmiştir) H&E.....	40
Şekil 4.24	: <i>V. anguillarum</i> ile enfekte gökkuşuğu alabalığının böbrek tübüllerinin epitel dokusunda bozulma (okla gösterilmiştir) H&E.....	40
Şekil 4.25	: Hasta gökkuşuğu alabalığın dalağında doku kaybı (okla gösterilmiştir) H&E.....	41
Şekil 4.26	: Kalp kasında fibril arası bağ dokuda boşalma (okla gösterilmiştir) H&E.....	41
Şekil 4.27	: <i>V. anguillarum</i> ile enfekte gökkuşuğu alabalığının sekonder solungaç lamellaların epitel hücrelerinin bütünlüğünde bozulma (okla gösterilmiştir) H&E.....	42
Şekil 4.28	: Bodrum'da bulunan işletmeye ait 1nolu hasta levrek balığının karaciğerinde küçük hemorajik odaklar (okla gösterilmiştir) H&E.....	43
Şekil 4.29	: 1 numaralı hasta levrek balığının böbrek dokusunda interstisiyel alanda hücre ve matriks kaybı (açık okla gösterilmiştir), böbrek tübüllerinde dejenerasyon (okla gösterilmiştir), melanomakrofaj merkezlerinde hemosiderin depozitleri H&E.....	43
Şekil 4.30	: 1 numaralı hasta levrek balığının dalağında doku kaybı (okla gösterilmiştir) H&E.....	44
Şekil 4.31	: 1 numaralı hasta levrek balığının kalp kasında fibril arası bağ dokuda boşalma (okla gösterilmiştir) H&E.....	44
Şekil 4.32	: 1 numaralı hasta levrek balığının solungaç filamentlerinde hiperplazi (okla gösterilmiştir) ve ödem (açık okla gösterilmiştir) H&E.....	45
Şekil 4.33	: 2 numaralı enfekte levrek balığında solungaç lamellalarının yapısal düzeninde bozulma (okla gösterilmiştir) H&E.....	45
Şekil 4.34	: Hasta çipura balığının karaciğer hücrelerinde vakuoler dejenerasyon (okla gösterilmiştir), hücrelerin yapısal düzeninde bozulma H&E.....	46
Şekil 4.35	: Hasta çipura balığının böbrek dokusunda interstisiyel alanda hücre ve matriks kaybı (okla gösterilmiştir), böbrek tübüllerinde dejenerasyon H&E.....	47
Şekil 4.36	: Dalakta doku kaybı (okla gösterilmiştir) H&E.....	47
Şekil 4.37	: Kalp kasında fibril arası bağ dokuda boşalma (okla gösterilmiştir) H&E.....	48
Şekil 4.38	: Solungaç lamellalarının yapısal düzeninde bozulma (okla gösterilmiştir) H&E.....	48
Şekil 4.39	: Kontrol grubu olarak kullanılan gökkuşuğu alabalığının solungaç kesitinin immun boyama yönteminde negatif reaksiyon.....	49
Şekil 4.40	: IHC yöntem sonucu kontrol grubuna ait gökkuşuğu alabalığında karaciğerin genel görünümü.....	50
Şekil 4.41	: Kontrol grubu alabalıkta IHC yöntem sonucu dalağın genel Görünümü.....	50
Şekil 4.42	: IHC yöntem sonucu kontrol grubu balıkların böbreklerinde melanomakrofaj odakları (okla gösterilmiştir).....	51
Şekil 4.43	: İmmun boyama sonucu sağlıklı gökkuşuğu alabalığının kalp kesitinin genel görünümü.....	51
Şekil 4.44	: IHC metot sonucunda hasta gökkuşuğu alabalığının solungaçlarında hiperplazik alanlarda immun pozitif reaksiyonlar (okla gösterilmiştir).....	52

Şekil 4.45	: Enfekte gökkuşağı alabalığının karaciğerinde IHC metot sonucunda immun pozitif reaksiyonlar (okla gösterilmiştir).....	53
Şekil 4.46	: Fethiye’de bulunan bir işletmeye ait hasta gökkuşağı alabalığının dalak dokusunda IHC metot sonucunda yoğun immun pozitif reaksiyonlar (okla gösterilmiştir).....	53
Şekil 4.47	: IHC metot sonucunda aynı balığın böbrek dokusunda melanomakrafajlar (açık okla gösterilmiştir) ve tübüllerde yoğun immun pozitif reaksiyonlar (okla gösterilmiştir).....	54
Şekil 4.48	: IHC boyama sonucunda kalpte ventrikül kas liflerinde immun pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).....	54
Şekil 4.49	: Bodrum’da bulunan G işletmesine ait 1 numaralı hasta levrek balığının solungaç filamentlerinde immun pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).....	55
Şekil 4.50	: 1 numaralı balığın karaciğer dokusunun nekrotik alanlarında, sinuzoidlerinde ve damar etrafında kırmızı renge boyanmış immun pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).....	56
Şekil 4.51	: G işletmesine ait hasta levrek balığının dalak dokusunun sinuslarında ve damar kenarında immun pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).....	56
Şekil 4.52	: IHC metot sonucunda 1 numaralı hasta levrek balığının böbrek dokusunda tübüllerde yoğun immun pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).....	57
Şekil 4.53	: İmmun boyama sonucunda kalbin kas liflerinde immun pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).....	57
Şekil 4.54	: H işletmesine ait hasta çipura balığının solungaç kesitinde kırmızı renge boyanmış immun pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).....	58
Şekil 4.55	: 2.örneklemenin yapıldığı H işletmesine ait enfekte çipura balığının karaciğerinde arterin etrafındaki karaciğer hücrelerinde yaygın immun pozitif odaklar (okla gösterilmiştir).....	59
Şekil 4.56	: G işletmesine ait 1 nolu balığın dalak dokusunda IHC metot sonucu immun pozitif odaklar (okla gösterilmiştir).....	59
Şekil 4.57	: 1nolu hasta çipura balığının böbrek tübüllerinde yoğun immun pozitif odaklar (okla gösterilmiştir).....	60
Şekil 4.58	: G işletmesinden temin edilen 1 nolu enfekte çipura balığının kalp dokusunun epikardiyum tabakasında immun pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).....	60

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 2.1 : <i>Vibrio</i> türlerinin biyokimyasal özellikleri	12
Tablo 3.1 :Çalışmada kullanılan balık materyalleri ile ilgili bilgiler.....	19
Tablo 3.2 :Balık dokularının histopatolojik işleme yöntemi	22
Tablo 4.1 :Örnekleme sonucu izole edilen bakteri izolatlarının biyokimyasal özellikleri.....	38

SEMBOL LİSTESİ

ABC	:Avidin-Biotin Kompleks Metodu
AEC	:Three-amino-9-ethylcarbazole
BHIA	:Beyin Kalp İnfüzyon Agar
ELISA	:Enzim bağlı Immunosorbent Deney
IFAT	:İndirekt Floresan Antikor Tekniği
IHC	:İmmunohistokimya
NaCl	:Sodyum Klorür
ONPG	:β-galaktosidaz
PAP	:Peroksidaz anti-peroksidaz Tekniği
PCR	:Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Strep ABC	:Streptavidin-Biotin Metodu
TCBS	:Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose Agar
TSA	:Trypticase (Tryptone) Soy Agar
VAM	: <i>Vibrio anguillarum</i> Medium
µm	:Mikrometre

ÖZET

KÜLTÜR BALIKLARINDAKİ *Vibrio anguillarum*'UN İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE TEŞHİSİ

Bu tez çalışmasında; yurdumuzda kültürü yapılan gökkuşağı alabalığı, levrek ve çipura balıklarında görülen *Vibrio anguillarum* kaynaklı enfeksiyonların bakteriyolojik, histopatolojik ve immunohistokimyasal yöntemler kullanılarak teşhisinin yapılması amaçlanmıştır.

2011 ve 2012 yıllarında toplam 8 farklı işletmeden 2 kez örnekleme yapılmıştır. Hastalık belirtisi gösteren ağırlıkları 150-200gr arasında değişen toplam 15 adet gökkuşağı alabalığı, ağırlıkları 150-220gr arasında değişen toplam 10 adet levrek balığı ve ağırlıkları 150-200gr arasında değişen toplam 8 adet çipura balığı örneği bakteriyolojik ve histopatolojik yöntemler kullanılarak incelenmiştir. Etkenin dokulardaki varlığı ve lokalizasyonu ise immunohistokimyasal yöntem kullanılarak tespit edilmiştir.

Hasta balıklarda klinik bulgu olarak iştahsızlık, yavaş yüzme hareketi, renkte koyulaşma, solungaçlarda solgunluk, yüzgeç diplerinde kanamalar, iç organlar üzerinde peteşi ve hemoraji, karaciğerde solgunluk yanısıra hiperemi ve hemoraji, dalakta büyüme ve bağırsakta sarı renkli sıvı birikimi gözlenmiştir. Hasta balık örneklerinin karaciğer, dalak ve böbrek gibi iç organlarından %1,5 NaCl içeren TSA besiyerine yapılan bakteriyolojik ekimler sonucunda besiyeri üzerinde 3-4 mm çapında yuvarlak kenarlı, parlak, krem renkli koloniler gözlenmiş ve bu bakterilerin Gram-negatif karakterli, hafif kıvrık basil şekilli, aktif hareketli, fermentatif, sitokrom oksidaz ve katalaz testlerinde pozitif, TCBS ve VAM besiyerinde sarı renkli koloniler oluşturduğu, O/129 vibriostat ajanına karşı hassas olması ve diğer fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri nedeniyle *Vibrio anguillarum* olarak izole ve identifiye edilmiştir.

Bu tez çalışmasında materyal olarak kullanılan hasta gökkuşağı alabalığı, levrek ve çipura balığına ait dokuların histopatolojik incelenmesi sonucunda solungaç filament ve lamellalarının yapısal düzeninde bozulma, karaciğerde küçük hemorajik odaklar, dalakta doku kaybı, böbrek tübüllerinde ve kalp kasının fibrilleri arasındaki bağ dokuda bozulma gibi genel patolojik değişiklikler gözlenmiştir. Ayrıca dokuların immunohistokimyasal boyama yöntemi ile incelenmesi sonucunda da hastalığın gelişim evresine bağlı olarak etkenin karaciğer, dalak, böbrek ve kalp yanı sıra solungaçlarda, özellikle kan damarlarına yakın bölgelerde yoğunlaştığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu tez çalışması ile Muğla ilinde bulunan ve kültürü yapılan gökkuşağı alabalığı, levrek ve çipura balıklarından vibriosisin klinik belirtilerini gösteren hasta

balık örneklerinden yapılan bakteriyolojik, histolojik ve immunohistokimyasal incelemeler sonucu *Vibrio anguillarum*'un teşhisi ve dokulardaki varlığı tespiti yapılmıştır. Ayrıca bu tez çalışmasında bu bakterinin enfekte balık dokularındaki varlığının tespiti amacıyla kullanılan ve indirekt immunoenzimatik yöntemlerden olan streptavidin-biotin boyama yöntemi adı geçen bakterinin teşhisinde ilk kez kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir.



SUMMARY

DIAGNOSIS OF *Vibrio anguillarum* BY USING IMMUNOHISTOCHEMICAL METHODS IN CULTURED FISH

In this thesis study, diagnosis of infections caused by *Vibrio anguillarum* in cultured rainbow trout, European sea bass and gilt-head sea bream in Turkey by using bacteriological, histopathological and immunohistochemical methods was aimed.

2 sampling studies were made in a total of 8 different fish farms in 2011 and 2012 years. In total, 15 rainbow trout samples weighing between 150-200 g, 10 European sea bass samples weighing between 150-220 g and 8 gilt-head sea bream samples weighing between 150-200 g showing disease signs were investigated by using bacteriological and histopathological methods. The presence and the location of the agent in the tissues were detected by using immunohistochemical method.

Lethargy, slow swimming behavior, darkening of the skin, sloughing of the gills, hemorrhages at the fin bases, petechia and hemorrhages over the internal organs, sloughing, hyperemia and hemorrhage on the liver, splenomegaly and accumulation of a yellow colored fluid in the intestine were observed as clinical findings in the diseased fish. After the inoculations from the internal organs of the diseased fish samples such as liver, spleen and kidney onto the TSA containing 1,5 % NaCl, shiny creamy round colonies with a diameter of 3-4 mm were observed. These slightly curved bacilli that are Gram-negative, motile, fermentative, cytochrome oxidase and catalase positive, forming yellow colonies on TCBS and VAM media and sensitive to O/129 vibriostatic agent were identified as *Vibrio anguillarum* depending on these and other physiologic and biochemical properties.

As a result of the histopathologic examination of the tissues of diseased rainbow trout, European sea bass and gilt-head sea bream which were used as fish material in this study, general pathologic changes such as structural deformations in gill filaments and lamellae, small hemorrhagic centers in liver, tissue loss in spleen, deformations in the kidney tubules and in the connective tissue between the heart muscle fibrils were observed. It was also detected in the immunohistochemical examination that the causative agent densifies in the liver, spleen, kidney, heart and also in the gills especially in the areas near around the blood vessels depending on the development stage of the disease.

As a result, with this thesis study, after the bacteriological inoculations, histological and immunohistochemical investigations, the diagnosis of *V. anguillarum* was made and the presence of this organism was detected in the tissues of rainbow trout, European sea

bass and gilt-head sea bream samples showing clinical symptoms of vibriosis cultured in Muğla province. Also an immunoenzymatic method, streptavidin-biotin staining method was used for the first time in this thesis study for the detection of the presence of this bacterium in the infected fish tissues and successful results were achieved.



1. GİRİŞ

Su ürünleri dünyada ve ülkemizde insan beslenmesi açısından önemli bir protein kaynağını oluşturmaktadır. Önceleri sadece avcılıkla sağlanan su ürünleri, av miktarının düşmesi ile balık kültürünü giderek zorunlu bir ihtiyaç haline getirmiştir. Dünya nüfusuna paralel olarak artan besin ihtiyacı nedeni ile kültür balıkçılığında büyük gelişmeler yaşanmıştır (Giorgetti, 1999; Alpbaz, 2005).

FAO (Gıda ve Tarım Örgütü) tarafından belirlenen verilere göre su ürünleri yetiştiriciliği, dünyada en hızlı büyüyen sektör olarak yer almaktadır. Ülkemizde de iç su ve denizlerde balık yetiştiriciliği hızla gelişen bir sektör haline gelmiş olup en çok gökkuşağı alabalığı (*Onchorynchus mykiss*, Walbaum 1792), çipura (*Sparus aurata*, Linneaus 1758) ve levrek balığı (*Dicentrarchus labrax*, Linneaus 1758) gibi balıkların yetiştiriciliği yapılmaktadır (Aydın ve diğ., 2009).

Yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan alabalık türleri içerisinde Kuzey Amerika kökenli gökkuşağı alabalığı yer almaktadır. Kültür balıkçılığında oldukça önemli bir tür olan bu balığın üretimi doğal göller ve büyük baraj göllerinde özellikle kafesler içerisinde yapılmaktadır (Hartavi, 1998). Avrupa, Kuzey Amerika, Şili, Japonya ve Avustralya gibi ülkelerde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılmakta olan bu balığın üretimi ile ilgili olarak ülkemizde de büyük aşamalar kaydedilmiştir (Çelikkale ve diğ., 1999; Alpbaz, 2005). Gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği dünyada 300 bin ton iken Türkiye’de 45 bin tona yaklaşan üretimiyle yetiştiriciliği yapılan soğuk su balıkları arasında en önemli tür haline gelmiştir (Alpbaz, 2005).

Çipura balığı dünya üzerinde Batı Avrupa sahillerinden başlayarak Akdeniz’in tüm bölgelerine ve Kuzey Batı Afrika kıyılarına kadar uzanan alanda yayılım gösteren bir balık türüdür. Yunanistan, İtalya ve Fransa gibi Avrupa ülkelerinde çok yaygın olarak yetiştiriciliği yapılmakta olan bu balığın ülkemizde üretimi ile ilgili ilk bilimsel çalışmalar 1986 yılında başlamış olup günümüzde 188.790 ton üretimle yetiştiriciliği

yapılan su ürünleri arasında 3. sırada yer almaktadır (Alpbaz, 1996; Çelikkale ve diğ., 1999; TÜİK, 2012).

Kuzey Atlantik'ten tüm Akdeniz'e kadar yayılım gösteren levrek balıklarının üretimi ile ilgili çalışmalar özellikle İtalya, Fransa, İspanya, Yunanistan ve Türkiye gibi Akdeniz ülkelerinde yapılmaktadır. Ülkemizde su ürünleri üretim teknolojisinin gelişimi ile beraber levrek kültürü ile ilgili çalışmalar 1980'den sonra artmış ve günümüzde çok başarılı uygulama sonuçlarına ulaşılmıştır. Ülkemizde Avrupa'da bile erişilemeyecek larva üretim başarılarına ulaşan firmalar bulunmaktadır (Alpbaz, 2005; Baki ve Dalgıç, 2009).

Kültür ve akvaryum balık yetiştiriciliğinde, hasta balıkların sağlıklı balıklarla temasta bulunmaları, su kalitesinin (fiziksel, kimyasal, biyolojik ve diğer fizyolojik parametrelerin) optimal değerlerin dışına çıkması, yanlış yetiştiricilik uygulamaları, hastalıklara karşı koruyucu önlemlere dikkat edilmemesi gibi nedenlerle balıklar arasında infeksiyöz hastalıklar kolayca ortaya çıkmakta ve balık işletmelerinde bu hastalıklar yayılarak ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Timur ve Timur, 2003; Arda ve diğ., 2005; Çavdar, 2011).

Vibriosis genel olarak *Vibrio anguillarum*, *V.alginolyticus*, *V.cholerae*, *V.fischeri*, *V.furnissii*, *V.harveyi*, *V.ichthyoenteri*, *V.logei*, *V.ordalii*, *V.pelagius*, *V.salmonicida*, *V.splendidus*, *V.tapetis*, *V.vulnificus* ve *V.wodanis* gibi *Vibrio* genusuna ait türlerin neden olduğu ve kültür balıklarında ağır ekonomik kayıplara neden olan bakteriyel bir hastalıktır. *V. anguillarum* Pasifik ve Atlantik salmonları, gökkuşağı alabalıkları (*Onchorynchus mykiss*), kalkan (*Psetta maxima*), levrek (*Dicentrarchus labrax*), çipura (*Sparus aurata*), çizgili levrek (*Morone saxatilis*), morina (*Gadus morhua*), japon balığı (*Carassius auratus*), Avrupa yılan balığı (*Anguilla anguilla*) ve ayu balığı gibi hem ılık su hem de soğuk su balık türlerinde hemorajik sepsisemi ile karakterize edilen vibriosise neden olan etkindir (Candan, 1991; Toranzo ve diğ., 2005). Ülkemizde *V. anguillarum* kaynaklı enfeksiyonların levrek (Çağırğan, 1993; Tanrıkul ve diğ., 2004; Ekici ve diğ., 2005; Balta, 2007; Korun ve Timur, 2008), çipura (Candan, 1991; Çağırğan, 1993; Korun, 2006; Akaylı ve diğ., 2008) ve son yıllarda gökkuşağı alabalığı

yetiştiriciliği (Ekici ve diğ., 2005; Tanrıkul, 2007) yapan işletmelerde ciddi kayıplara neden olduğu bildirilmektedir.

Bu alışma ile Muğla ilinde kültürü yapılan levrek, ipura ve gökkuşağı alabalıklarında görülen ve ağır ekonomik kayıplara neden olan *V.anguillarum* kaynaklı enfeksiyonların rutin bakteriyolojik ve histopatolojik metotlar yanı sıra immunohistokimyasal yöntem kullanılarak patojen bakterinin dokulardaki varlığı ve lokalizasyonuna bağlı olarak teşhisi amaçlanmıştır.



2.GENEL KISIMLAR

2.1. GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) VE KÜLTÜRÜ

Dünyada ve ülkemizde yetiştiriciliği yaygın olarak yapılan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) *Salmonidae* familyasının *Oncorhynchus* genusuna mensup olup, Amerika orijinli bir balık türüdür. Bu balık türü 1880 yılında Amerika'dan Avrupa'ya getirilmiştir (Muus ve Dahlstrom, 1971; Alpbaz, 2005; Çağıltay, 2007; Bat ve diğ., 2008) ve 1950'lerden günümüze kadar Avrupa'da ve son yıllarda Şili'de katlanarak büyümüştür (FAO, 2006). Şili, Norveç, İran, Danimarka, Fransa, İtalya, ABD, İspanya, Avustralya ve Almanya gibi birçok ülkede gökkuşağı alabalığı üretiminin yapıldığı bildirilmiştir (FAO, 2006). Bu balığın Türkiye'de yetiştiriciliği 1970'li yıllarda kamu ve özel girişimciler tarafından başlatılmış olup günümüzde büyük aşamalar kat edilmiştir (Çelikkale, 1988; Çelikkale ve diğ., 1999; Alpbaz, 2005; Çağıltay, 2007). Ülkemizde 2002 yılında 33.707 ton olan gökkuşağı alabalığı üretimi 2011 yılı verilerine göre 100.239 tona ulaşmıştır (TÜİK, 2012).

Gökkuşağı alabalığının vücudunun tıknaz yapıda olması, çok sayıda beneklere sahip oluşu, yaz yüzgecine varlığı ve yan çizgisinin gökkuşağı rengine sahip oluşu ile diğer alabalık türlerinden kolayca ayırt edilir. Karın altı gümüşü beyaz ve parlaktır. Sırt rengi ise koyu yeşilden kahverengimsi yeşile kadar değişir. Kuyruk yüzgeci çatallı, kuyruk ve yağ yüzgecinde çok sayıda siyah noktalar vardır (Muus ve Dahlstrom, 1971; Stevenson, 1987; Çağıltay, 2007; Bat ve diğ., 2008). Fizostom bir balık olan bu türün pulları küçük, sikloit yapıdadır ve kolay dökülmez (Bat ve diğ., 2008).

Gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğinde kaynak, akarsu, göl ve yer altı suları kullanılabilmesine rağmen en uygun olanı berrak kaynak sularıdır. Bol su ortamında 23-24°C su sıcaklıklarında bile yaşayabilen gökkuşağı alabalığı için en ideal yetiştirme

sıcaklığı 14-17 °C' dir. Bu balıkların yumurtlama ve yumurta kuluçkalanması 10-12°C, yavru dönemi için 12-14°C, besi için 15-17°C sıcaklık değerleri en iyi verimi sağlamak için en uygun değerler olarak verilmektedir (Alpbaz, 2005).

Karnivor bir balık türü olan gökkuşağı alabalığı doğal sularda solucan, sinek, zooplankton ve diğer balıklar gibi hayvansal canlılarla beslenirken (Muus ve Dahlstrom, 1971; Bostan ve Yıldız, 2008) yetiştiricilikte ise protein bakımından zengin hayvansal orjinli yem maddeleri kullanılmaktadır (Aras ve diğ., 2000).

2.2. LEVREK BALIĞI (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus 1758) VE KÜLTÜRÜ

Akdeniz, Karadeniz, Büyük Britanya'dan Senegal'e ve Doğu Atlantik kıyıları boyunca Kuzey Atlantik'ten tüm Akdeniz'e kadar dağılım gösteren levrek balıkları ülkemiz denizlerinde bulunan, yüksek kalitede et verimine sahip bir balık türüdür (Uçal ve Benli, 1993; Alpbaz, 2005).

Su ürünleri yetiştirme teknolojisinin gelişimi ile beraber levrek kültürü üzerindeki çalışmalar 1980'den sonra artmış ve günümüzde çok başarılı uygulama sonuçlarına ulaşılmıştır. Öyle ki ülkemizde Avrupa'da bile erişilemeyecek seviyede larva üretim başarılarına ulaşan firmalar bulunmaktadır. Ülkemizde levrek larvası yetiştiricilik çalışmalarına ilk kez 1984 yılında başlanmıştır (Alpbaz, 2005). Ülkemizde 2002 yılında 14.339 ton olan levrek üretimi 2011 yılı verilerine göre 47.013 tona ulaşmıştır (TÜİK, 2012).

Levrek balığı *Moronidae* familyasının *Morene* genusuna mensuptur. İnce, uzun, yan taraflardan yassılaştırmış bir vücut şekline sahip olan levrek balığının vücudu iri ktenoid pullarla; ense ve yanaklar sikloid pullar örtülmüştür. Vücut rengi dorsalde koyu gri, ventralde beyaz olmasına rağmen denizden alınan bireyler lagün ve nehir ağzından alınanlara göre daha açık renktedirler. Ergin bireylerin sırt kısmı lekesiz koyu renkte iken gençlerde bazen siyah lekeler olabildiği gibi dişi bireylere göre vücut daha ince ve uzundur. Dişi balıklarda burun yapısı erkek bireylere göre daha sivridir (Alpbaz, 1996; Barnabe, 1990; Uçal ve Benli, 1993). Operkulumun üst kısmında siyahımsı bir benek vardır. Solungaç kapaklarının kenarı çok keskin ve serttir (Alpbaz, 2005).

Levrek balıklarında iki dorsal yüzgeç bulunmaktadır ve dorsal yüzgeçler birbirinden ayrılmıştır. İlk dorsal yüzgeç 8-10 dikenden, ikinci dorsal 1 diken ve 11-14 yumuşak ışıdan oluşur. Anal yüzgeçte üç diken ve 10-12 yumuşak ışıdan ibarettir. Pelvik yüzgecin tabanı pulsuzdur. Kaudal pedünkül geniştir. Lateral çizgi koyu renk bir hat şeklinde olup, üzerinde 62-80 sikloid pul bulunur. Lateral çizgi kesintisiz bir hatta sahip olup, kaudal yüzgece kadar devam etmez (Uçal ve Benli, 1993; Moretti ve diğ., 1999). 5-28°C arasındaki sıcaklıklarda yaşamını devam ettirebilen levrek balıkları 7°C' nin altındaki su sıcaklığında yem alımını keser. Yumurtlama döneminde 12-14 °C su sıcaklığı ideal olsa da 10-25°C' deki sularda da yumurta bırakmaktadırlar. Tuzluluk değişmelerine karşı oldukça dayanıklı olan levrek balığı göllere ve aşırı tuzlu dalyanlara bile girerek yaşamlarını sürdürürler. Gelişimlerinin en iyi olduğu tuzluluk değerlerinin ‰ 15-35, oksijen seviyesinin ise 7-8 mg/lit olması gerektiği bildirilmiştir (Barnabe, 1990; Atay, 1994; Alpbaz, 1996; Alpbaz, 2005).

Akdeniz'de yaşayan levrekler Atlantik kıyılarındaki levreklerle oranla daha genç yaşta ve küçük boyda cinsel erginliğe ulaşırlar. Akdeniz' de erkekler 2-3 yaş, 25-30 cm boyda, dişiler 3-5 yaş, 30-40 cm boyda, Atlantik'te ise erkekler 4-7 yaş ve 37 cm boyda, dişiler ise 5-8 yaş ve 38-42 cm boyda cinsel olgunluğa erişirler (Barnabe, 1990). Levrek türleri hermafrodit gruba dahil olmalarına rağmen eşeyli üreme özelliğine sahiptirler. Gençken erkek ve dişi olan bireyler ilerde de aynı cinsiyet özelliğini taşırlar. Gonadlarda gelişme Akdeniz Bölgesi' nde Eylül aylarında başlar, Aralık-Ocak aylarına kadar devam eder. Yumurtlama ise su sıcaklığına bağlı olarak Mart ayı başlarına kadar devam etmektedir. Atlantik kıyılarındaki ise levrek balığının yumurtlama mevsimi; 2-3 ay sonra su sıcaklığının 11-14 °C olduğu en soğuk aylarda gerçekleşmektedir (Brusle ve Roblin, 1984; Alpbaz, 1996).

Levrek balığı; suda bulunan omurgasız canlıları ve küçük balıkları tüketen predatördür bir balık türüdür. Bununla birlikte beslenme alışkanlığı bireylerin büyüklüklerine göre değişmekte olup yavru balıklar için en iyi gıdalar zooplankton; 20 cm'den büyük olan levrek balıkları teke ve küçük karidesleri tercih ederken daha büyük olanlar ise sardalye, hamsi, kaya balığı gibi balıkları, yengeç ve iri karidesleri gıda olarak alırlar (Moretti ve diğ., 1999; Alpbaz, 2005).

2.3. ÇİPURA BALIĞI (*Sparus aurata*, Linneaus 1758) VE KÜLTÜRÜ

Çipura balıkları Doğu Atlantik kıyıları boyunca ve Akdeniz’de yaygın olarak bulunmasına rağmen doğu ve güneydoğu Akdeniz’de daha az Karadeniz’de ise nadir bulunan bir balık türüdür (Çelikkale ve diğ., 1999; FAO, 2006). Çipura balığı özellikle Ege Bölgesi’nde çok aranan ve sevilen bir balık türüdür. Bu nedenle yetiştiriciliğine karşı devamlı bir ilgi duyulmuş ve ülkemizde 1980’lerden sonra başlayan yetiştiricilik çalışmaları sonucunda oldukça başarılı olunmuştur (Alpbaz, 2005). 2002 yılında 11.681 ton olan çipura üretiminin 2011 yılında 32.187 tona ulaşması bu başarının bir göstergesidir (TUİK, 2012).

2002 yılında tüm ülkelerdeki toplam çipura balığı üretim miktarlarının % 49’unun Yunanistan’a ait olması dolayısı ile Akdeniz Bölgesi en yoğun üretimin yapıldığı yerdir. Türkiye (% 15), İspanya (% 14) ve İtalya (% 6)’da önemli bir Akdeniz üreticileridir. Buna ek olarak Hırvatistan, Kıbrıs, Mısır, Fransa, Malta, Fas, Portekiz ve Tunus’ta üretimin yapıldığı önemli ülkelerdir (FAO, 2006).

Sparidae familyasının *Sparus* genusuna mensup olan çipura balığı vücudu yüksek ve yanlara doğru basıktır. Pelvik yüzgeçte 5’ten fazla ışın vardır. Sırt yüzgeci önde ve sert ışınlıdır. Vücut baş kısma kadar pul ile örtülü olup, pulları serttir. Yan çizgi belirgin şekilde oluşmuştur. Gözler arasında V şeklinde yıldızsı bir bant vardır. Sırtı gri ve koyu mavi renklidir. Renk dorsalde gri-esmer, ventralde gümüşidir. Pektoral yüzgecin dorsalinde ve operkulum üzerinde kırmızı-menekşe renkli bir leke karakteristiktir. Ağız ve diş yapısı sert olup, kabuklu canlıları bile kırabilecek niteliktedir (Akşiray, 1954; Benli ve diğ., 1990; Alpbaz, 2005).

Çipura balığı 6-32 °C su sıcaklığında yaşamını sürdürebilmesine rağmen optimum gelişim 22-25°C arasındaki su sıcaklığında gerçekleşir. Çok soğuk sulardan hoşlanmaz ve sudaki ani sıcaklık değişimlerinde ölürler. Bu nedenle dalyanları sonbaharda terk ederler. %10-40 tuzluluğa dayanabilmelerine rağmen tuzluluğun %10’dan aşağı düşmesi bu türün hayatta kalmasını olumsuz yönde etkilemektedir (Alpbaz, 1996).

Cinsel olgunluğa erişme yaşı 2 olan bu balıkların erkek oldukları gözlenir. 3 ve 4. yaştan itibaren balıklarda dişiliğe dönüşüm olduğu gözlenir. İlk üreme mevsiminde 500.000 ile 1.000.000 adet arası yumurta verebilirler. Yumurtlama 14-19 °C su sıcaklığında gerçekleştiği için İngiltere ve dolaylarında yumurtlama yaz aylarında iken güneyde ve Akdeniz Bölgesi'nde ise Aralık ayı yumurtlama mevsimi için uygun dönemdir (Allessio ve Bronzi, 1974; Mater, 1981; Alpbaz, 2005).

Çipura balıkları bentik bir tür olup, deniz dibinde yemlenir ve kırmalık denilen alanlardan hoşlanırlar. Genel olarak dip balıkları grubuna girerler. Günün belirli saatlerinde kıyılara kadar gelir ve yem ararlar. Bu nedenle sabah ve akşamları sığ sularda daha bol avlanabilirler. Çipura balıkları sağlam dişleri ile küçük midye ve yengeçleri kolayca kırarak yiyebilirler (Benli ve diğ., 1990; Alpbaz, 2005).

2.4. VİBRİOSİS

Vibrio türlerinin neden olduğu vibriosis, tüm dünyada kültür balıkçılığı yapan tatlı su ve deniz işletmelerinde ağır ekonomik kayıplara neden olan bakteriyel bulaşıcı bir hastalıktır (Toranzo ve diğ., 2005; Austin ve Austin, 2007). Vibriosis doğada ve kültürü yapılan deniz balıklarında en çok görülen hastalık olmakla beraber, genellikle deniz balığı artıklarıyla beslenen tatlı su balıklarında da görülen bir hastalıktır. Günümüze kadar balıklarda vibriosis'e neden olan çeşitli bakteriler bildirilmiştir (Vera ve diğ., 1991; Noga, 2000; Buller, 2004; Austin ve Austin, 2007).

Vibriosis, ilk defa 1500'lü yıllarda İtalya sahillerinde yetiştiriciliği yapılan yılan balıklarında (*Anguilla anguilla*) görülmesine rağmen hastalıkla ilgili ilk rapor 1718 yılında Bonaveri tarafından bildirilmiştir (Bullock ve Snieszko, 1971; Austin ve Austin, 1999). Vibriosis'e geçmişte kızıl veba, kızıl çıban, kızıl plak ve tuzlu su furunkulozisi gibi isimler verilmiştir. Ancak *Vibrio* türü bakterilerin neden olduğu enfeksiyonları tanımlamak ve ortak bir isim vermek için hastalığın standart ismi 'vibriosis' olarak kabul edilmiştir (Bullock, 1987; Reed ve Francis-Floyd, 1996; Woo ve Bruno, 1999; Austin ve Austin, 2007).

Vibrio anguillarum Akdeniz’ de yılan balıklarından ilk izole edilen *Vibrio* türü olup uzun yıllar bütün patojenik *Vibrio*’lar bu isimle tarif edilmiştir (Actis ve diğ., 1999). Bergman 1909’ da ilk olarak ‘yılan balıklarının kızıl veba’ hastalığı ile alakalı olarak *V. anguillarum*’u tanımlamıştır (Hjeltnes ve Roberts,1993; Actis ve diğ., 1999; Güven ve diğ., 2001).

Fırsatçı patojen olan *Vibrio* türleri stres, direnç düşüklüğü ve ortam şartlarının kötüleşmesine bağlı olarak kültür balıklarında sepsis ile seyrederek balıklarda mortaliteye neden olmaktadır. Hastalığın bulaşmasında kontamine su ve canlı yemler rol oynamaktadır. Enfeksiyon genç balıklarda, ergin bireylere nazaran daha fazla mortalite ile sonuçlanmaktadır. Genç balıklarda mortalite oranı %70-90 iken ergin balıklarda ise %30-50’ye ulaşabilmektedir (Plumb, 1999; Noga, 2000; Austin ve Austin, 2007).

Vibrionaceae familyası çeşitli balıklarda hastalıklara neden olan *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* ve *Photobacterium* gibi genusları içermektedir (Austin ve Lee, 1992). *Vibrio* genusunun üyeleri, Gram-negatif, hareketli, düz veya kıvrık çomaklar olup, genellikle kapsülsüz, sporsuz, fakültatif anaerob ve polar flagellalar aracılığı ile hareket eden bakterilerden oluşmaktadır (Twedt, 1989; Baumann ve Schubert, 1984; Holt ve diğ., 1994). Bu bakteriler katalaz, sitrat ve indol testlerinde pozitif sonuç verirler, jelatini eritirler, lizin ve ornitrini dekarboksile ederler, glukoz, maltoz, mannoz, mannitol ve sukrozdan asit oluştururlar, H₂S testinde negatif sonuç verirler ve üreaz üretemezler (Koneman ve diğ., 1997).

Vibriosis'e neden olan başlıca patojen bakteriler; *V. anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. fischeri*, *V. furnissii*, *V. harveyi*, *V. ichthyenteri*, *V. logei*, *V. ordalii*, *V. pelagius*, *V. salmonicida*, *V. splendidus*, *V. tapetis*, *V. vulnificus* ve *V. wodanis* olarak tanımlanmıştır (Vera ve diğ., 1991; Noga, 2000; Buller, 2004; Austin ve Austin, 2007).

2.5. *Vibrio anguillarum*

Vibriosis'e neden olan *Vibrio* türü bakteriler *Vibrionaceae* familyasına ait olup, kültür balıklarında hastalığa neden olan en önemli türü *Vibrio anguillarum*’dur (Muroga,

1975; Noga, 2000; Toranzo ve diğ., 2005; Austin ve Austin, 2007). *V. anguillarum* başlıca kültür levrek, çipura ve alabalıkları olmak üzere 48'den fazla balık türünde hastalığa neden olur. Ancak bu bakteri hastalığın dominant türü olmasına rağmen balık kültürünün uluslararası yayılmasına bağlı olarak farklı coğrafik alanlardaki farklı balık türlerinden izole edilen *Vibrio* türlerinde de farklılıklar bildirilmiştir (Noga, 2000; Timur ve Timur, 2003; Austin ve Austin, 2007).

Tatlı su ve deniz balıklarında hemorajik sepsisemi ile karakterize edilen bir hastalık olan vibriosise neden olan *Vibrio anguillarum*, Vibrionaceae familyasının *Vibrio* genusu içinde yer alan Gram-negatif bakteridir (Holt ve diğ., 1994). Mikroorganizma; 0.8-1.0 x 1.2-2.0 µm büyüklüğünde, düz veya virgül biçiminde, hareketli, sporsuz, kapsülsüz ve fakültatif anaerobiktir (Austin ve Austin, 2007). En önemli ayırt edici özelliği pteridine phosphate (vibriostat, O/129) testine hassas olmasıdır ki bu madde üremelerini engeller (Holt ve diğ., 1994; Buller, 2004; Austin ve Austin, 2007).

V. anguillarum denizde yetiştiriciliği yapılan somon balıklarından (Winton ve diğ., 1983; Trust, 1986), levrek ve çipuranın da dahil olduğu birçok deniz balığı türlerinden (Toranzo ve Barja, 1990; Çağırğan, 1993), istiridye gibi kabuklulardan (Bollinches ve diğ., 1986) ve tatlı su alabalıklarında görülen epizootiklerden izole edilmiştir (Muroga, 1975; Giorgetti ve diğ., 1981). *V. anguillarum* yurdumuzda yetiştiriciliği yapılan çipura (Candan, 1991; Çağırğan, 1993; Korun, 2006; Akaylı ve diğ., 2008), levrek (Çağırğan, 1993; Ekici ve diğ., 2005; Demircan ve Candan, 2006; Korun ve Timur, 2008) ve gökkuşağı alabalıklarından (Timur ve Korun, 2004; Ekici ve diğ., 2005; Tanrıkul, 2007) da izole ve identifiye edilmiştir.

V. anguillarum'un adı yapılan genotipik ve fenotipik araştırmalar sonucunda *Listonella anguillarum* olarak değiştirilmişse de (McDonell ve Colwell, 1985), günümüzde çoğu araştırmacı *V. anguillarum*'u kullanmayı tercih etmektedirler (Noga, 2000; Austin ve Austin, 2007). Pedersen ve diğ., (1999)'nin hasta balıklardan ve deniz suyundan izole ettikleri *V. anguillarum*'un serotiplendirmesiyle ilgili yapmış oldukları çalışmalar sonucunda, 23 adet serotipinin bulunduğu ve bunlardan özellikle 4 serotipinin çipura, levrek ve salmonid balık türlerinde patojen olduğunu bildirmişlerdir. Levrek

balıklarında genellikle serotip O1'in, alabalıklarda ise serotip O1 ve O2 yanı sıra *V.ordalii*' nin enfeksiyonlara yol açtığı rapor edilmiştir (Santos ve diğ., 1995).

V. anguillarum Beyin Kalp İnfüzyon Agar (BHIA) ya da Trypticase (Tryptone) Soy Agar (TSA) gibi katı besiyerlerinde küçük, yuvarlak ve krem renkte kabarık koloniler meydana getirir. Ayrıca insan veya tavşan kanı içeren kanlı agar besiyerinde oluşturduğu kolonilerin etrafında dar bir β -hemoliz alanı oluşturur (Winton, 1979; Arda ve diğ., 2005) *V. anguillarum* kolonileri kültürlerin tazeliğine ve besiyerinin bileşimine bağlı olarak S (düzgün), R (pürüzlü) ve M (sümüksü) formlarına sahip olabilir (Arda ve diğ., 2005). Selektif bir besiyeri olan TCBS (Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose Agar) *Vibrio*'ların üremelerini hızlandırırken diğer bakterilerin üremelerini engeller (Austin ve Austin, 2007). Bu besiyerinde *V. anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi* ve *V. ordalii* türleri sarı renkli koloni oluştururken *V. damsela* ile *V. vulnificus* türleri ise yeşil renkli koloni oluştururlar (Baumann ve diğ., 1984). VAM (*Vibrio anguillarum* Medium) selektif vasatında ise bu bakterinin sarı renkli koloniler oluşturduğu bildirilmiştir (Alsina ve diğ., 1994).

Vibrio türleri gelişmeleri ya da gelişmelerinin uyarılması için sodyuma ihtiyaç duyarlar (Noga, 2000). 5°C ve nadiren 37°C'de gelişim gösteren bu bakterinin *in vitro* koşullarda optimum büyüme sıcaklığı 18-20°C'dir *V. anguillarum*' un % 0.5-3.5 NaCl ilave edilmiş TSA, Nutrient Agar, BHIA ve Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose Agar (TCBS) besiyerlerinde 15-25°C 'de 7 gün içinde üreyebildiği bildirilmiştir (Austin ve Austin, 2007).

V. anguillarum; Metil red negatif, Voges-Proskauer pozitif, arjinin dihidrolaz pozitif olup, lizin ve ornitrin testleri negatiftir. Vibriosis' e neden olan *V. anguillarum* ve diğer bazı *Vibrio* türlerine ait bazı biyokimyasal özellikler Tablo 2.1' de verilmiştir.

Tablo 2.1: *Vibrio* türlerinin biyokimyasal özellikleri (Baumann ve diğ., 1984; Bolinches ve diğ., 1986; Noga, 2000; Buller, 2004; Austin ve Austin, 2007).

Özellikler	1	2	3	4	5	6	7	8
Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+
Gram Boyama	-	-	-	-	-	-	-	-
O/F	F	F	F	F	F	F	F	F
Sitokrom Oksidaz	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+
TCBS'de üreme	S	S	S/Y	S	Y	Y	S	Y
Sitrat kullanımı	+	+	-	-	-	+	+	+
β -galaktosidaz	+	-	-	-	-	-	+	-
Voges-Proskauer	+	+	-	-	+	-	+	+
Metil –Red	-	+	+	-	+	+	+	+
İndol	+	+	+	-	-	-	+	-
Arjinin dihidrolaz	+	-	-	-	+	-	-	+
Lizin dekarboksilaz	-	+	+	-	-	+	+	-
Ornitin dekarboksilaz	-	+	+	-	-	-	-	-
Nitrat indirgeme	+	+	+	V	+	+	+	+
Üreaz üretimi	-	+	D	-	+	-	-	-
Jelatinaz üretimi	+	+	+	+	-	+	+	-
Nişasta	+	+	+	-	+	+	+	+
H ₂ S	-	+	-	-	-	+	-	-
Glukoz	-	-	-	-	+	-	-	-
Glukoz	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinoz	D	-	-	-	-	-	-	-
Laktoz	-	-	-	-	-	+	-	-
Mannitol	+	+	+	+	-	+	+	+
Mannoz	+	+	+	+	+	+	-	+
Maltoz	+	+	-	+	+	+	.	+
Sukroz	+	+	+	+	-	-	+	-
İnositol	-	-	-	-	-	-	-	-
Salisin	-	+	-	-	-	.	+	-
%0 NaCl' de üreme	-	-	-	-	-	-	+	-
%3 NaCl' de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+
%6 NaCl' de üreme	D	+	+	.	-	D	-	.
%8 NaCl' de üreme	-	+	D	.	-	-	-	.
% 10NaCl' de üreme	-	+	D	.	-	-	-	.
37°C'de büyüme	+	+	+	-	+	+	+	+
O/129'a duyarlılık	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Vibrio anguillarum</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Vibrio harveyi</i>	<i>Vibrio ordalii</i>	<i>Vibrio damsela</i>	<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Vibrio splendidus</i>

(+): Pozitif reaksiyon, (-): Negatif reaksiyon, (D): Değişken reaksiyon, (.): Belirtilmemiş özellik, S/Y: Sarı/Yeşil

Vibriosis dünya çapında bir dağılıma sahip olup genellikle su sıcaklıklarında artışın olduğu yazın geç dönemlerine kadar, deniz ve acı sularda, özellikle de sığ sularda kültür ve doğal deniz balıklarında meydana gelir. Vibriosis levrek ve çipura gibi deniz

balıklarında da yaz mevsiminde su sıcaklığının 10 °C'yi geçtiği, sudaki oksijen seviyesinin düştüğü durumlarda, balıkların aşırı yoğunlukta tutulmasında ve kötü hijyen şartlarında ortaya çıkar. Bununla birlikte hastalığın 1-4°C sıcaklıktaki sularda yetiştirilen balıklarda da ortaya çıktığı belirtilmiştir. Elle muamele, nakil, aşırı kalabalık ve sudaki çözünmüş oksijen seviyesinin düşmesi gibi faktörler kültür balıklarının vibriosise karşı hassasiyetini arttırdığı bildirilmiştir (Plumb, 1999; Noga, 2000; Arda ve diğ., 2005; Austin ve Austin, 2007).

Vibriosis neden olan etkenlerin deri, solungaçlar ve anüs yoluyla vücuda girmesi sonucunda etkenin konakçıda kolonize olduktan sonra vücuda penetre olduğu, gastro-intestinal sistemin posterior kısmında ve rektuma kolonizasyonu sonucunda hastalığın başladığı bildirilmiştir (Olafsen ve diğ., 1981; Ransom ve diğ., 1984). Balıklarda inkübasyon periyodundaki değişiklik patojenin virulensi, suyun sıcaklığı ve stresin derecesiyle değişmektedir. Hastalığın çıkışı salmonid ve kalkan balıklarında su sıcaklığı 10-11°C olduğunda görülürken pleuronectidlerde ve yılan balıklarında ise su sıcaklığı 15-16°C olduğunda görüldüğü bildirilmiştir (Timur ve Timur, 2003; Buller, 2004).

Deniz ortamının doğal mikrobiyal florasında bulunan *V. anguillarum*' un su sıcaklığının artmasıyla yazın arttığı, kışın ise su sıcaklığına bağlı olarak azaldığı bildirilmiştir. Etken; stres ve su parametrelerinin yetersiz olduğu ortamlarda bulunan yabani ve kültür balıklarını etkileyerek septisemiye neden olur seyrederek mortaliteye neden olduğu bildirilmiştir (West ve Lee, 1982; Austin ve Austin, 2007).

Kültür balıklarında ekonomik kayıplara neden olan vibriosis, vücudun ventral bölgelerinde ve yan taraflarında kızarıklıklar, hemorajiler, kabarcıklar, ülserler ve lezyonların oluşması ile karakterize edilen bulaşıcı ve öldürücü bakteriyel bir enfeksiyondur (Woo ve Bruno, 1999; Noga, 2000; Austin ve Austin, 2007). Hastalığın perakut formunda genç balıklarda iştahsızlık, deri renginde koyulaşma ve ani ölümler görülürken, akut formunda ise anüs etrafında ve yüzgeç diplerinde kırmızı kanlı lezyonlar, bazen deride - kaslarda şişkinlikler ve ülserleşmeler görülür. İç organlarda hiperemi, hemoraji ve ödem görülür. Hastalığın kronik formunda ise klinik belirtiler daha belirgindir. Pektoral ve pelvik yüzgeçlerde kanamalar, operkulumda, ventralde, anüs çevresinde, ağzın içinde ve etrafında kızarıklıklar görülmektedir. Kronik olarak

enfekte balıkların iç organlarında yaygın hiperemi, lezyonlar, böbrek, dalak ve karaciğerde şişkinlik, hemorajiler, karın boşluğunda kanlı sıvı birikimi, kaslarda nekrotik odaklar ve hava kesesinde kızarıklıklar gözlenmektedir (Hjeltnes ve Roberts, 1993; Noga, 2000; Timur ve Timur, 2003; Arda ve diğ., 2005).

Klinik olarak hasta balıklarda; iştahsızlık, durgunluk, pul kaybı, deri renginde kararma, ekzoftalmus, ascites, vücut üzerinde nekrotik lezyonlar ve karın altında, yüzgeç kaidelerinde ve ağız etrafında eritemlerin görüldüğü birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Post, 1987; Candan, 1991; Woo ve Bruno, 1999; Timur ve Timur, 2003; Austin ve Austin, 2007). Çipura balıklarında ise ağız kenarında krem renkli mukusun görüldüğü bildirilmiştir (Candan, 1991). İnternal olarak hasta balıklarda, splenomegali, karaciğer, dalak ve böbreğin renginde solgunluk, karaciğerde hemoraji, ascites, bağırsakta sarımsı renkli kanlı sıvı ve pilorik sekalarda hiperemi gözlemlendiği bildirilmiştir (Post, 1987; Woo ve Bruno, 1999; Noga, 2000; Timur ve Timur, 2003; Arda ve diğ., 2005; Korun, 2006).

2.6. *Vibrio anguillarum* 'UN TEŞHİSİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER

Etkenin teşhisinde günümüzde mikrobiyolojik, serolojik, moleküler, histopatolojik ve immunohistokimyasal teknikler kullanılmaktadır (Frerichs ve Roberts, 1989; Knasskop ve diğ., 1993; Hirono ve diğ., 1996; Gildberg ve Mikkelsen, 1998; Austin ve Austin, 2007; Engelsen ve diğ., 2008; Avcı ve diğ., 2012).

Vibriosis'in teşhisinde kullanılan serolojik testlerden biri ELISA (Enzim Bağlayıcı İmmunosorbent Deney) testidir. ELISA testi balık hastalıklarında antijenin varlığını göstermek, serumdaki spesifik antikorların varlığını araştırmak ve hastalık etkenlerinin serotiplendirme çalışmalarında yaygın olarak kullanılan serolojik bir tekniktir (Austin ve Austin, 2007; Knasskop ve diğ., 1993). *V.anguillarum*'un serotiplendirilmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda çeşitli araştırmacılar ELISA testi yanı sıra lam aglütinasyon testini de kullanarak bu bakterinin serotipleri arasındaki serolojik farklılığı tespit etmişlerdir (Myhr ve diğ., 1991; Boesen ve diğ., 1997). Aglütinasyon testi tek başına çeşitli araştırmacılar tarafından *V. anguillarum*'un teşhisi ve serotiplendirilmesi ile ilgili yapılan

Çalışmalarda da kullanılmıştır (Pacha ve Kiehn, 1969; Sorensen ve Larsen, 1986; Myhr ve diğ., 1991; Knasskop ve diğ., 1993).

Ayrıca bu bakteri ile ilgili yapılan çalışmalarda İndirekt Floresan Antikor Tekniği (IFAT), Jel elektroforez (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis), Western-blotting (immunoblotting) ve Dot Blot gibi farklı serolojik teknikler de kullanılmıştır (Cipriano ve diğ., 1985; Grisez ve Ollevier, 1995; Lund ve diğ., 2006).

Günümüzde PCR (Polimeraz Zincir Tepkimesi) ve in situ hibridizasyon gibi teknikler *V.anguillarum* gibi patojenik mikroorganizmaların tanısında kullanılmaktadır (Hirono ve diğ., 1996; Cunningham, 2002). Ayrıca son zamanlarda enfekte balık dokularında bu patojenin doğru bir şekilde tanımlanması için de PCR tekniği kullanılmaktadır (Osorio ve Toranzo, 2002). Hirono ve diğ. (1996) bu bakteride bulunan hemoliz geninin varlığını PCR yöntemi kullanılarak tanımlamışlardır (Gonzalez ve diğ., 2003). Enfekte balık dokularında *V.anguillarum*'un tespiti amacıyla PCR bazlı çeşitli metotlar geliştirilmiştir. Bu teknikler moleküler olarak 16sRNA problemleri ile hibridizasyon ve spesifik genlerin çoğaltımı (PCR, RT-PCR, insitu hibridizasyon) ile yapılmaktadır (Li ve diğ., 2008). Son zamanlarda da hedef gen *rpoN* geninin çalışıldığı yeni bir moleküler yöntem ile doğru tespitler saptanmıştır (Actis ve diğ., 1999; Gonzalez ve diğ., 2003; Austin ve Austin, 2007). Demircan ve Candan (2006) ülkemizde deniz balıklarında vibriosize neden olan *V.anguillarum*'un PCR (*rpoN* geni) ile tanısını yapmışlar ve sonuç olarak Türkiye'de izole edilen *V.anguillarum* suşlarının tanısında bu genin kullanılabileceğini göstermiştir.

V. anguillarum ile enfekte balıklarda karaciğerde hemoraji, dalakta melano-makrofaj merkezlerinde yoğun hemosiderin birikimi, dalak ve böbrekte boşalma, haemopoietik dokuda nekroz, kaslarda büyük geniş fokal nekrotik lezyonlar, bağırsak mukoza epitelinde dökölme gibi histopatolojik değişikliklerin görüldüğü bildirilmiştir (Frerichs ve Roberts, 1989).

Son yıllarda çeşitli araştırıcılar balık sağlığı ile ilgili yapılan çalışmalarda immunohistokimyasal yöntemleri hastalıkların teşhisi ve etkenin dokulardaki

lokalizasyonu tespit etmek amacıyla kullanmışlardır (Gildberg ve Mikkelsen, 1998; Bergh, 1999).

2.6.1. İmmunohistokimyasal (IHC) Yöntem

Belirli bir dokuda bulunan antijenlerin gösterilmesi için işaretli antikorlar kullanılarak antijen-antikor aracılığı ile gösterilmesini sağlayan boyama yöntemi olan immunohistokimyasal yöntemler kesin bir tanı koymasız özelliğı ile önemli bir yere sahiptir (Hayat, 2002).

İmmunohistokimyasal yöntemlerden olan indirekt immünoenzimatik boyama yöntemleri indirekt immünperoksidaz yöntemi, enzim anti-enzim kompleksi yöntemleri (PAP, APAAP), avidin-biotin yöntemleri (ABC, StrepABC)'den oluşmaktadır. Streptavidin-biotin metodu ve avidin-biotin kompleks (ABC) metodu immünohistokimyasal teknikler için peroksidaz anti peroksidaz (PAP) metotundan daha duyarlıdır (Hayat, 2002).

Farklı araştırmacılar tarafından *V. anguillarum* ile ilgili yapılan çalışmalarda immunohistokimyasal yöntemler bu bakterinin enfekte balık ve su canlılarının dokularındaki varlığının teyit edilmesi, bakterinin dokulardaki lokalizasyonunun belirlenmesi, antijenin dokulardaki yoğunluğunun tespit edilmesi, patojenin sağlıklı balığı nasıl enfekte ettiğini anlaşılabilmesi, portal giriş yollarından giren bakterinin balık doku ve organlarına nasıl yayıldığına araştırılması gibi çeşitli amaçlarla kullanılmıştır (Gildberg ve Mikkelsen, 1998; Bergh, 1999; Bergh ve diğ., 2001; Irie ve diğ., 2004; Anfonso ve diğ., 2005). Ayrıca bu bakteriye karşı probiyotik etkisi olan bakterilerin tespit edilmesinde ve aşz ile ilgili çalışmalarda da immunohistokimyasal yöntemlerden yararlanılmıştır (Anfonso ve diğ., 2005; Planas ve diğ., 2006).

Chaves-Pozo ve diğ. (2005) yaptıkları çalışmada *V. anguillarum* ile enfekte çipura balıklarının asidofilik granülositlerinin tipik özelliklerini immunohistokimyasal yöntemlerden peroksidaz antiperoksidaz tekniğini (PAP) kullanarak doğrulamışlardır. Engelsen ve diğ. 2008 yılında *V. anguillarum* ile enfekte ettikleri Atlantik morina balığı (*Gadus morhua*) larvaları ile ilgili yapmış oldukları çalışmada bu yöntemlerden

Avidine-biotin-alkaline phosphatase metodunu kullanarak *V. anguillarum* serotip O2a enfeksiyonlarının larvaya olası giriş yollarını tespit etmişlerdir. Avcı ve diğ. (2012) yaptıkları araştırmada intraperitoneal yolla ve immersiyon yöntemi ile deneysel olarak *V. anguillarum* serotip O1 ile enfekte ettikleri gökkuşağı alabalıklarının doku ve organlarındaki bakteriyel antijenlerin varlığını ve dokudaki dağılımını immunohistokimyasal yöntem kullanarak belirlemişlerdir.



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERİYAL

3.1.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer

Bu çalışmada; materyal olarak kullanılan hasta balıklar Muğla iline bağlı Milas ilçesindeki 3 adet çipura ve levrek işletmesinden, Bodrum ilçesindeki levrek işletmesinden ve Fethiye ilçesindeki 4 adet alabalık işletmesinden temin edilmiş ve balıkların iç organlarından yapılan bakteriyolojik ekimler sahada gerçekleştirilmiştir. Mikrobiyolojik, histolojik ve immunohistokimyasal incelemelerde kontrol örneği olarak kullanılan sağlıklı gökkuşağı alabalığı ise İstanbul Üniversitesi Sapanca İçsu Ürünleri Üretimi Araştırma ve Uygulama Birimi'nden temin edilmiştir.

Örnekleme sonucu hasta balıklardan temin edilen etkenin teşhisi, doku örneklerinin histolojik ve immunohistokimyasal incelemeleri ile ilgili çalışmalar İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü, Balık Hastalıkları Anabilim Dalı'na ait mikrobiyoloji ve histoloji laboratuvarında yürütülmüştür.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Balık Materyali

Bu çalışmada Muğla ilinde bulunan gökkuşağı alabalığı, levrek ve çipura balığı işletmelerinde ki hastalık belirtisi gösteren balıklardan örnekleme yapılmıştır. Örnekleme zamanı olarak su sıcaklığının değişmeye başladığı Nisan-Ağustos ayları seçilmiştir. Yapılan örnekleme sonucunda toplam 33 adet hasta balık kullanılmıştır. Temin edilen balıklara ilişkin bilgiler Tablo 3.1'de verilmiştir.

Çalışmanın yapıldığı dönemlerde kontrol olarak kullanılacak sağlıklı levrek ve çipura balığı temin edilemediği için sadece 1 adet sağlıklı gökkuşağı alabalığı kontrol olarak kullanılmıştır.

Tablo 3.1: Çalışmada Kullanılan Balık Materyalleri ile İlgili Bilgiler

Örneklemenin Yapıldığı Yer							
	Fethiye				Milas		Bodrum
Balık Türü	1.İşletme (A)	2.İşletme (B)	3.İşletme (C)	4.İşletme (D)	1.İşletme (E)	2.İşletme (F)	(G) İşletmesi
Gökkuşaağı alabalığı	4 adet (150-200gr)	4 adet (150-200gr)	4 adet (170-250gr)	3 adet (100-150gr)	-	-	-
Levrek	-	-	-	-	5 adet (200-220 gr)	-	5 adet (150-200 gr)
Çipura	-	-	-	-	-	8 adet (150-200 gr)	-

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Referans Suş

Hasta balıklardan izole edilen *V. anguillarum* izolatlarının biyokimyasal olarak kontrollerini yapmak için İspanya’da bulunan Santiago de Compostela Üniversitesi Biyoloji Fakültesi Mikrobiyoloji ve Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Alicia Estevez Toranzo tarafından söz konusu üniversitenin ihtiyopatoloji grubunun kültür koleksiyondan hediye edilen çipura balığından izole edilmiş olan *V. anguillarum* O2 serotipine ait RV22 numaralı suşu kullanılmıştır.

3.1.4. *V. anguillarum*’ un Kültüründe Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasal Maddeler

Çalışmada besiyeri olarak Trypticase Soy Agar (TSA) (Merck, 1.05458), Thiosulfate-Citrate-Bile salts-Sucrose agar (TCBS) (Merck), *Vibrio anguillarum* Medium (VAM), Deniz tuzu, O/F Basal Medium (Merck), Methyl Red-Voges Proskauer Medium/Broth (MR/VP) (Himedia, M 070), Nutrient Broth (Merck, 1.05443), Simmons’ Citrate Agar (Merck 1.02501), Müller-Hinton Medium (Difco, 0252-17-6) ve kanlı agar gibi besiyerleri; L-arginine monohydrochloride (Merck, 1.01544), L-lysine monohydrochloride (Merck, 1.05700), L-ornithine monohydrochloride (Merck, 1.06906), D-glucose anhydrous (Merck, 1.08337), D-galactose (Merck, 1.04058), D-mannose (Merck, 1.05984), maltose monohydrate (Merck, 1.05910), mannitol (Merck, 5980), Lactose monohydrate (Merck, 1.07637), L-arabinose (Merck, 1.01492), myo-inositol (Merck, 1.04728), D-fructose (Merck, 1.05323), sucrose (Merck, 1.07651), gelatin (Merck K25138478), starch (Merck, 1.01253), urea (Merck, 1.08486), formaldehit, ksilen (Pancreac 141769.1612), etil alkol (Pancreac 131086.1612), hematoksilen (Merck 1596470), eosin (Merck 060909), asit alkol, pul parafin, hidrojen peroksit (Ak

kimya A.Ş.), sitrik asit monohidrat (Merck K42275944), hidroklorik asit (HCl) (Merck 1.00317.2500), NaOH (Sodyum hidroksit), metanol (Merck I598008 130) ve Phosphate Buffered Saline (PBS) hazır tablet (Medicago, 09-2051) kullanılmıştır.

3.1.5. İmmunohistokimyasal Boyamada Kullanılan Kit, Antikor ve Diğer Malzemeler

İmmunohistokimyasal çalışmalar için ticari olarak satılan mouse Anti-*Vibrio anguillarum* monoklonal antikor (İbt FM-040AX-5), Histostain-Plus Kit (HRP, Broad spectrum) (İnvitrogen 859043), AEC (Three-amino-9-ethylcarbazole) Kit (İnvitrogen 002007) ve Clearmount Mounting Solution (İnvitrogen 008010) kullanılmıştır.

3.1.6. İmmunohistokimyasal Boyamada Kullanılan Tampon ve Solüsyonlar

Yıkama Solüsyonu: PBS hazır tablet (Medicago, 09-2051)

Saf su: 1 lt

pH: 7,4, M: 0,01

Sitrat Tamponu: Sitrik asit monohidrat: 2.1 gram

Saf su: 1 lt

pH: 6

H₂O₂ Solüsyonu: H₂O₂: 1 ml

Metanol: 4.5 ml

PBS: 4.5 ml

Serum Sulandırma Solüsyonu: PBS hazır tablet

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Hasta Balıkların Klinik ve Otopsi Muayenesi

Materyal olarak kullanılan hasta balıkların yetiştiriciliği yapıldığı kafes ve havuzlarda sergilediği davranışlar tespit edilerek hazırlanan anestezi solüsyon (1,5 ml phenoxyethanol /1 lt) içerisinde bayıltılmıştır (Ferguson, 1988). Hareketleri duran hasta balıkların eksternal bulguları kaydedilmiştir. Daha sonra kesim tahtası üzerine alınan balık örneklerinin vücut yüzeyi kağıt havlu ile silinerek, balığın dış yüzeyi %70'lik alkol ile dezenfekte edilmiştir. Dış yüzeyi dezenfekte edilen hasta balık örneklerine ventral, lateral ve operkular insizyonlar uygulanarak internal bulgular tespit edilmiştir (Plumb ve Bowser,1983; Whitman, 2004).

3.2.2. Hasta Balıklardan *V. anguillarum*' un İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Hastalık belirtisi gösteren balıkların iç organlarından (dalak, böbrek ve karaciğer) ve kanından %1,5 NaCl içeren TSA, TCBS ve VAM besiyerlerine ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan besiyerleri 22-23°C' de 48-72 saat boyunca inkübe edilmiş ve izole edilen bakterilerin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin tespiti için rutin bakteriyolojik metotlar kullanılmıştır (Noga, 2000; Timur ve Timur, 2003; Austin ve Austin, 2007).

Öncelikle TSA, TCBS ve VAM besiyerlerinden izolen edilen bakterilerin koloni morfolojisi ve koloni rengi tespit edilmiştir. İzole edilen bakterilerin hareketli olup olmadıklarının tespiti için asılı damla yöntemi uygulanmış, bakterilerin hücre morfolojisinin tespiti için ise bakteri kolonilerinden frotiler hazırlanarak Gram boyama yöntemi ile boyanmıştır. Bakterilerin fenotipik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla sitokrom oksidaz reaksiyonu, katalaz (%3 H₂O₂) üretimi, oksidasyon fermantasyon glukoz (O/F) testi, O/129 (vibriostat) testi, ONPG (beta-galaktosidase), Metil Red (MR) ve Voges-Proskauer (VP) testleri, indol üretimi, arjinin dihidrolaz testi, lizin ve ornitridin dekarboksilaz testleri, glukoz, mannitol, maltoz, mannoz, galaktoz, sukroz, arabinoz ve fruktoz gibi şeker testleri, nitrat redüksiyon testi, Simmon's Citrate agarda sitratı kullanma özelliği, üreaz testi, jelatin kullanımı, tuzluluk ve sıcaklık ile ilgili testler yapılmıştır (Baumann ve diğ., 1984; Bolinches ve diğ., 1986; Alsina ve diğ., 1994; Noga, 2000; Buller, 2004; Austin ve Austin, 2007).

3.2.3. Histopatolojik Muayene

Histopatolojik inceleme için hasta balık örneklerine ventral, lateral ve operkular insizyon teknikleri uygulanarak iç organları ortaya çıkartılmıştır. Daha sonra balıkların dalak, karaciğer ve böbrek gibi iç organları yanısıra solungaç ve kas dokularından da makas yardımı ile 5-6 mm³ büyüklüğünde örnekler alınarak %10'luk formaldehit içerisinde 72 saat fikse edilmiştir (Culling, 1963; Hinton, 1990).

Formaldehit solusyonu içerisinde yeterli süre tespit edilen doku örneklerine Tablo 3.1' de verilen rutin doku işleme prosedürü uygulanarak 5 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Bu kesitler Hematoksilen-Eosin boyama yöntemi ile boyanarak histolojik olarak incelenmiştir (Culling, 1963; Hinton, 1990; Timur ve Timur, 2003).

Tablo 3.2: Balık Dokularının Histopatolojik İşleme Yöntemi (Culling, 1963)

1. Doku fiksatif içinde yeterli süre tespit edilmeli (en az 24 saat).
2. Doku fiksatiftten arınana kadar suda yıkanmalı (en az 1 saat).
3. %70 alkolde, 4-8 saat bekletilmeli.
4. %90 alkolde, 4 saat veya bütün gece bekletilmeli.
5. Absolute alkol I, 2 saat bekletilmeli.
6. Absolute alkol II, 2 saat bekletilmeli.
7. Absolute alkol III, 2 saat bekletilmeli.
8. Doku kloroform içinde bütün gece bekletilmeli.
9. Parafin I, 2 saat bekletilmeli.
10. Parafin II, 2 saat bekletilmeli.
11. Parafin III, 2 saat bekletilmeli.

3.2.4. İmmunohistokimyasal Boyama (Streptavidin-Biotin Yöntemi)

Bu çalışmada immunohistokimyasal metot olarak immunoenzimatik yöntemlerden streptavidin-biotin boyama yöntemi kullanılmıştır (Hayat, 2002; Planas ve diğ., 2006; Bancroft, 2008; Öztay, 2006; Öztay, 2008).

Dokulardaki antijenin varlığını tespit etmek amacıyla uygulanan immün boyama için hasta olan balıkların ve kontrol olarak kullanılacak sağlıklı gökkuşağı alabalığının karaciğer, dalak ve böbrek gibi iç organları yanı sıra solungaçlarından alınan doku örnekleri % 10'luk formaldehit solüsyonunda histolojik incelemeden farklı olarak en fazla 20-24 saat süre ile tespit edilmiştir Doku örnekleri rutin doku işleme basamağının ardından parafine gömülmüş ve bu parafin bloklardan 4 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Her bir poly-L-lysin kaplı lam üzerine biri kontrol olmak üzere 3 kesit alınmıştır Kesitler dokuların lam üzerine iyice yapışmasını sağlamak amacıyla 37°C'de bir gece kurutulmuştur (Öztay, 2006; Öztay, 2008).

Kesitler immün boyama yöntemleri içerisinde indirekt immunoenzimatik boyama yöntemi olan streptavidin-biotin metodu kullanılarak boyanmıştır. Kesitler deparafinizasyon işlemi için ksilen I ve ksilen II basamaklarından, rehidratasyon işlemi için de %100, %90, %80 ve %70'lik alkol basamaklarından geçirildikten sonra distile su ile 10 dakika süre ile yıkanmıştır. Daha sonra kesitler sitrat tamponu (pH: 6) içerisine konularak mikro dalgada 15 dakika süre ile işleme tabi tutulmuştur. Sitrat tamponu ile muamele edilen kesitler soğuduktan sonra PBS (Ph: 7,4, M: 0,01) ile yıkanmıştır (Öztay, 2006; Öztay, 2008).

Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra dokudaki endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek amacıyla kesitler %3'lük hidrojen peroksitte 30 dakika bekletilerek endojen peroksidaz blokajının ardından PBS ile yıkanmıştır. Yıkanan kesitler üzerine spesifik olmayan boyamaları engellemek amacıyla bloking serum damlatılarak 15 dakika inkübe edilmiş ve bloking serum yıkamadan uzaklaştırılmıştır. Daha sonra primer antikor olarak 1/1000 oranında sulandırılmış anti-*Vibrio anguillarum* monoklonal antikorundan 30µl ilave edilirken negatif kontrol olarak kullanılan doku kesiti üzerine aynı oranda PBS ilave edilmiş ve nemli ortamda oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilmiştir. PBS ile

yıkanan preparatlardaki dokulara primer antikor ile uyumlu 1'er damla biotinlenmiş sekonder antikor damlatılarak 15 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında PBS ile yıkanan kesitlere 1'er damla streptavidin peroksidaz damlatılarak 15 dakika beklendikten sonra PBS ile 10 dakika süre ile yıkama yapılmıştır. Doku kesitleri üzerine 30µl AEC (Three-amino-9-ethylcarbazole) solüsyonu (kromojen+substrat karışımı) damlatılarak 15-20 dakika nemli ortamda bekletildikten sonra PBS ile 5 dakika yıkamanın ardından distile su ile de 5 dakika yıkanmıştır. Mayer'in hematoksileni ile çekirdek boyanması kontrol edilerek 1-2 dakika boyama yapılmış ve distile su ile yıkanmıştır. Su bazlı kapatıcı kullanılarak lamel ile kesitler kapatılmıştır ve hazırlanan preparatlar Olympus CX 41 tipi ışık mikroskobunda incelenmiştir (Öztay, 2006; Öztay, 2008).

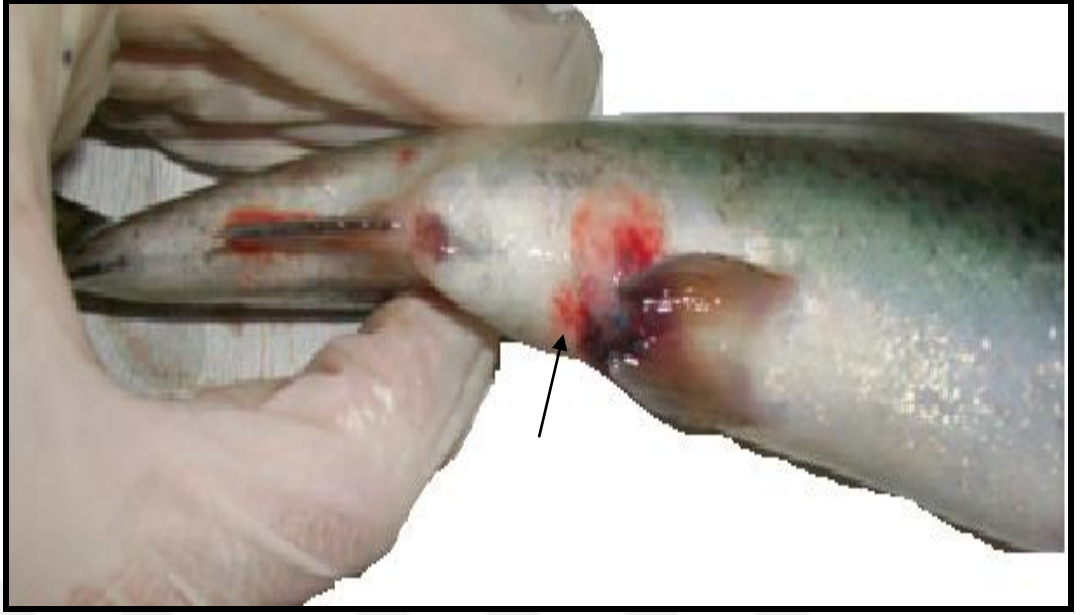
4. BULGULAR

4.1. HASTA BALIKLARIN KLİNİK VE OTOPSİ BULGULARI

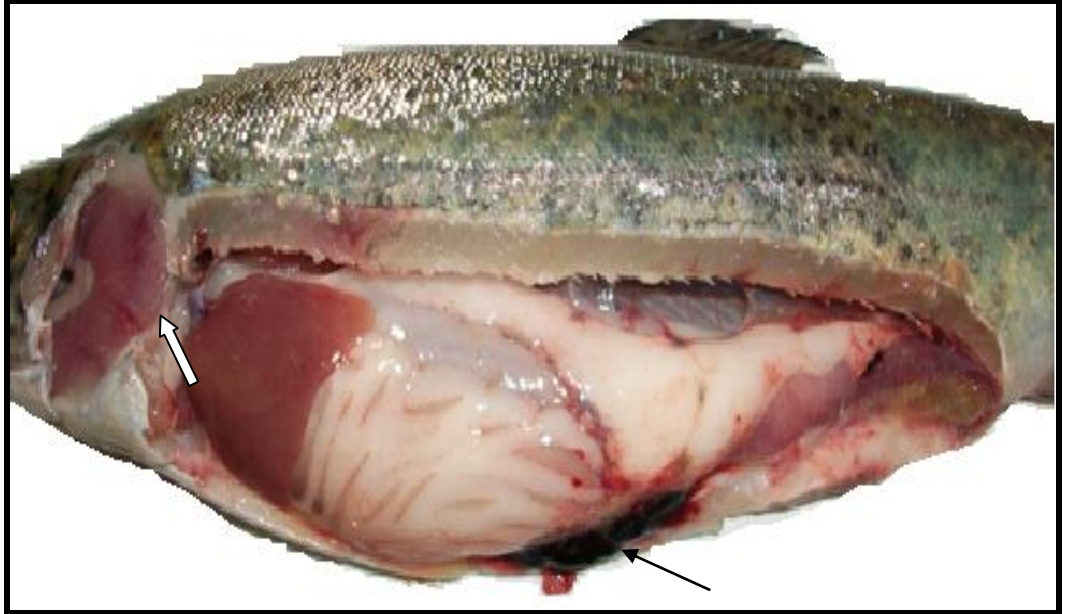
2011 yılının Ağustos ayında Muğla ili Fethiye ilçesinde bulunan 4 işletmeye ait 15 adet hasta gökkuşağı alabalıklarında (150-200 g) genel olarak iç bakıda renkte koyulaşma, vücut yüzeyinde yer yer hemorajiler (Şekil 4.1), pektoral, pelvik ve anal yüzgeç diplerinde kanamalar (Şekil 4.2) görülürken internal olarak solungaçlarda anemi, solungaç filamentlerinin uç kısımlarında dökülme, iç organlar üzerinde ve viseral yağ dokuda peteşiyal hemoraji, karaciğerin renginde solgunluk ve splenomegali gözlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.1: A işletmesinden temin edilen hasta gökkuşağı alabalığının vücut yüzeyinde ve yüzgeç diplerinde hemorajik odaklar(okla gösterilmiştir).

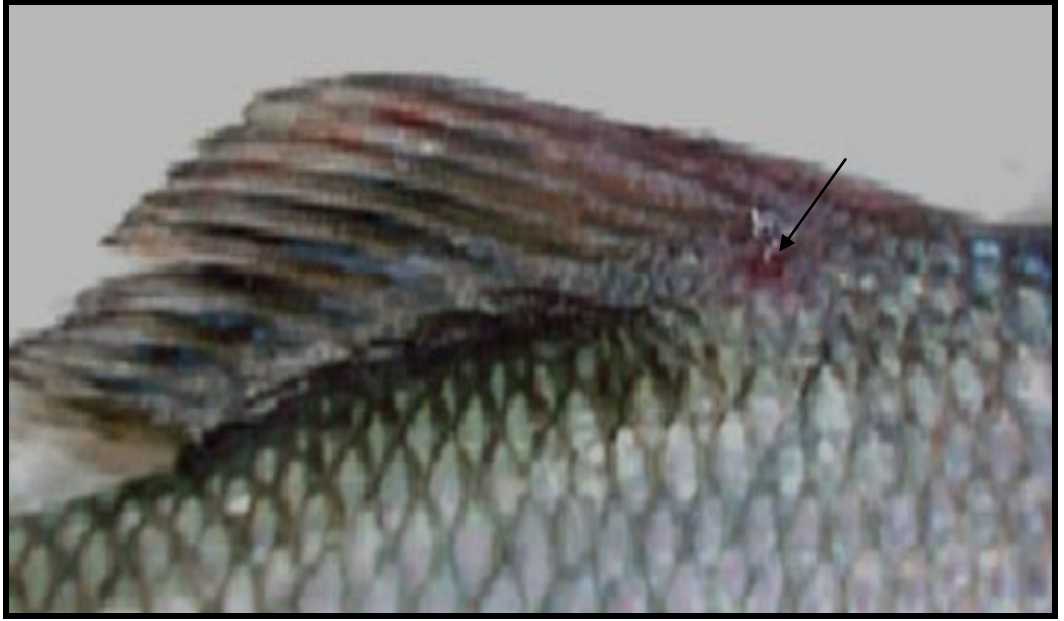


Şekil 4.2: Enfekte gökkuşağı alabalığının pelvik ve anal yüzgeç etrafında geniş hemorajik odaklar (okla gösterilmiştir) ve lezyonlar.

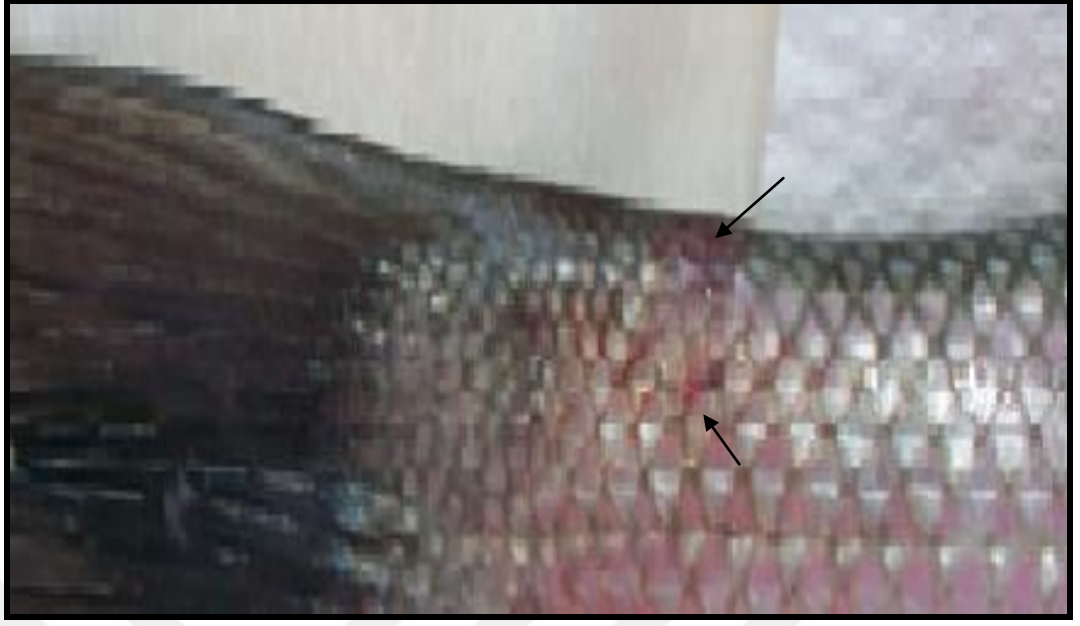


Şekil 4.3: Hasta gökkuşağı alabalığının solungaçlarında anemi ve solungaç filamentlerinin uçlarında dökülme (açık okla gösterilmiştir), splenomegali (okla gösterilmiştir) ve visceral yağ dokuda hemoraji.

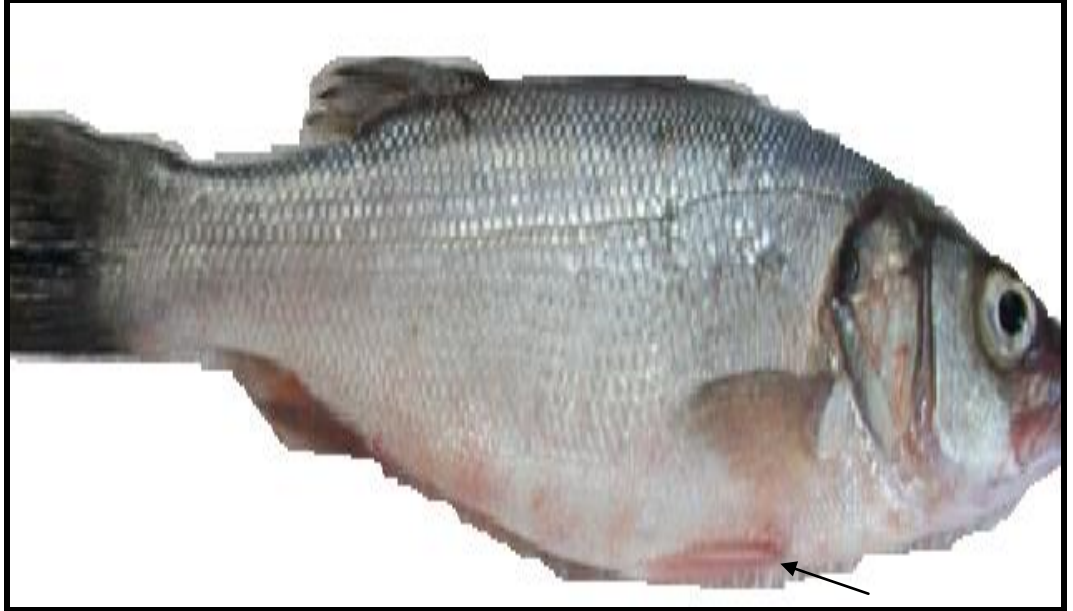
2011 yılı Ağustos ayında Muğla ili Bodrum ilçesindeki işletmeden temin edilen 10 adet hasta levrek balıklarında (200-250 g) eksternal olarak vücut yüzeyinde az miktarda pul kaybı, solungaçlarda solgunluk, ascites, vücut yüzeyinde kanama (Şekil. 4.4; Şekil. 4.5), operkulumda, deride, pelvik yüzgeç, anal yüzgeç ve diğer yüzgeç diplerinde hemoraji tespit edildi (Şekil 4.6; Şekil 4.7). Ayrıca işletmeden temin edilen 2 numaralı balıkta ağız tavanında ve içerisinde, damakta, dilde yaygın hemoraji tespit edilirken diğer hasta balıklarda sadece ağız çevresinde hemorajiler olduğu görüldü. Otopsi sonrasında yapılan incelemede solgun karaciğerde hemorajik odaklar, dalakta büyüme, bağırsakta sarı renkli sıvı birikimi, iç organlarda yağlanma gözlemlendi (Şekil 4.8; Şekil 4.9).



Şekil 4.4: G işletmesinden temin edilen 2 numaralı enfekte levrek balığının dorsal yüzgecinde kanama (okla gösterilmiştir).



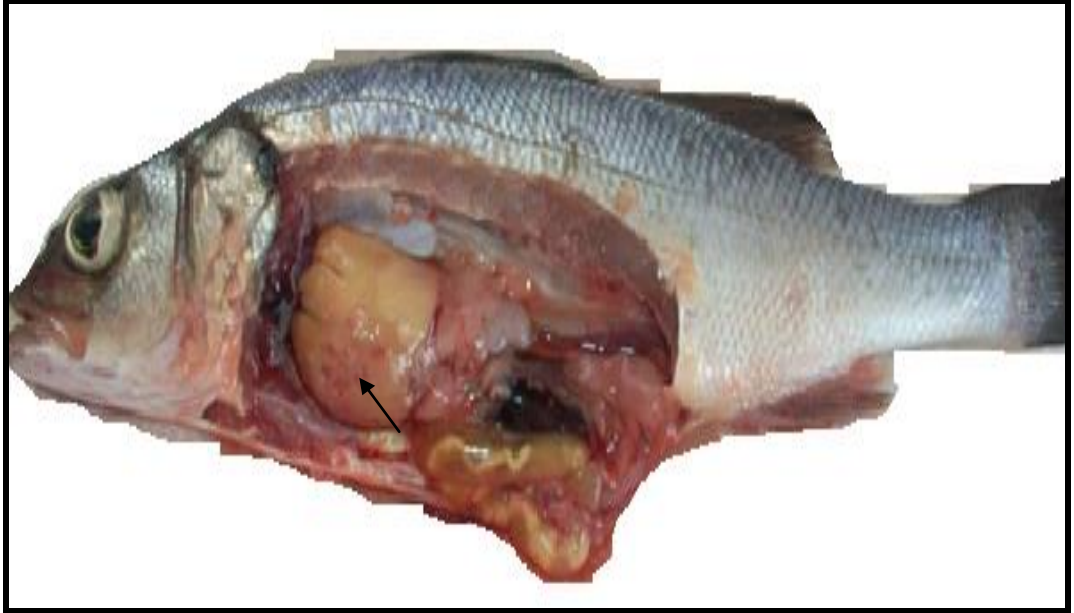
Şekil 4.5: 2011 yılı yapılan 1.örneklemede gidilen levrek balığı işletmesinde temin edilen 2 numaralı enfekte balığın kuyruk yüzgeci yakınında hiperemik lezyon (okla gösterilmiştir).



Şekil 4.6: Bodrum' da bulunan işletmeye (G) ait 1 numaralı hasta levrek balığının vücut yüzeyinde, operkulumunda, preoperkulumunda, yüzgeçlerinde ve ağız etrafında hemorajiler (okla gösterilmiştir).



Şekil 4.7: G işletmesinden temin edilen 2 numaralı hasta levrek balığının abdominal bölgesinde, anüs etrafında (okla gösterilmiştir), anal yüzgeç tabanında ve ağız çevresinde yaygın hemorajiler.



Şekil 4.8: 1 numaralı hasta levrek balığında solgun karaciğerde hemorajik odak (okla gösterilmiştir), genişlemiş dalak ve sarı renkli sıvı içeren bağırsak.



Şekil 4.9: Bodrum’ da bulunan G işletmesinden temin edilen 2 numaralı hasta levrek balığında solgun karaciğerde hemoraji odaklar (okla gösterilmiştir)ve iç organlarda yağlanma.

2012 yılının nisan ayında yapılan örnekleme çalışmasında Muğla ili Milas ilçesinde bulunan bir çipura balığı işletmesinden temin edilen 8 adet hasta çipura balıklarının dış muayenesinde; hareketlerde durgunluk, iştahsızlık, solungaçlarda solgunluk, pektoral yüzgecin dip kısmında ve vücudun ventral kısmında kızarıklık gözlemlendi (Şekil 4.10). İç bakıda ise karaciğer, dalak ve böbrekte solgunluk ve dalakta büyüme gözlemlendi (Şekil 4.11).



Şekil 4.10: 2012 yılında yapılan 2. örneklemede gidilen F işletmesinde bulunan 1 numaralı hasta çipura balığında pektoral ve pelvik yüzgeçlerinde hemorajik odaklar (okla gösterilmiştir).



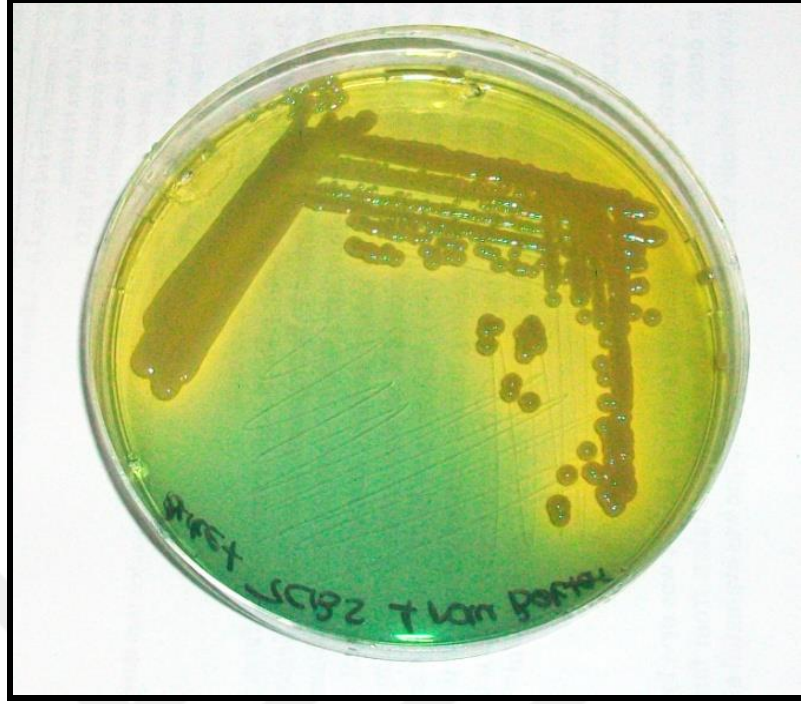
Şekil 4.11: F işletmesine ait 2 numaralı hasta çipura balığının solungaç filamentlerinin uç kısımlarında dökülme ve karaciğerde solgunluk (okla gösterilmiştir).

4.2. BAKTERİYOLOJİK BULGULAR

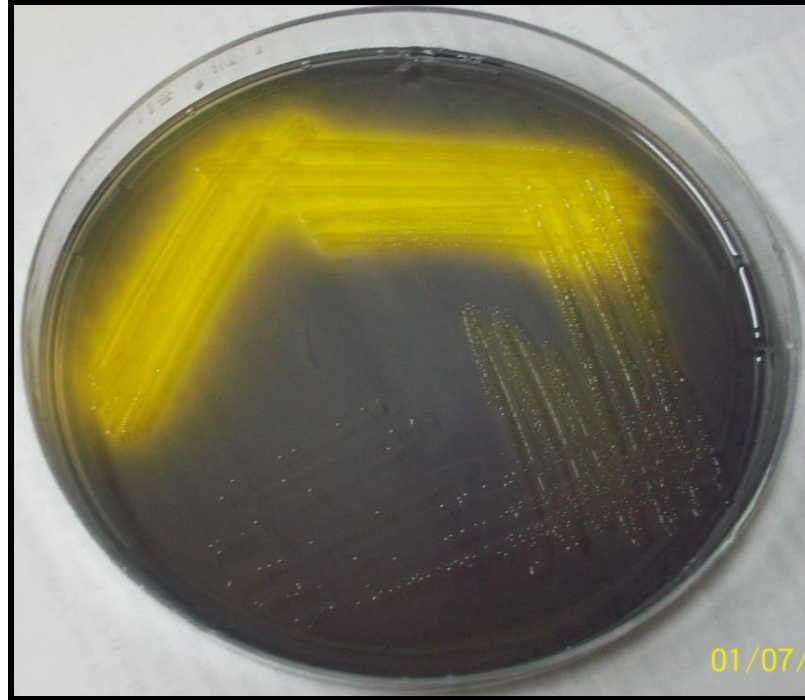
Bu tez çalışmasında 2011-2012 yılları arasında yurdumuzun Fethiye, Bodrum ve Milas ilçelerinde bulunan ve farklı işletmelerden temin edilen toplam 33 adet hasta gökkuşağı alabalığı, levrek ve çipura balıklarının iç organlarından (karaciğer, dalak ve böbreklerinden) % 1,5 NaCl içeren TSA, TCBS ve VAM besiyerlerine ekimler yapılmıştır. Petriler 22°C’de 24-48 saat süre inkübe edilmiş ve inkübasyon sonucu yuvarlak, konveks, hafif kabarık, parlak ve krem renkli 10 adet bakteri izolat elde edilmiştir (Şekil 4.12). Ayrıca TCBS (Şekil 4.13) ve VAM besiyerlerine (Şekil 4.14) yapılan ekimler sonucu sarı renkli koloniler meydana getirdikleri görülmüştür.



Şekil 4.12: T-TSA’da *Vibrio anguillarum* kolonilerinin görünümü.



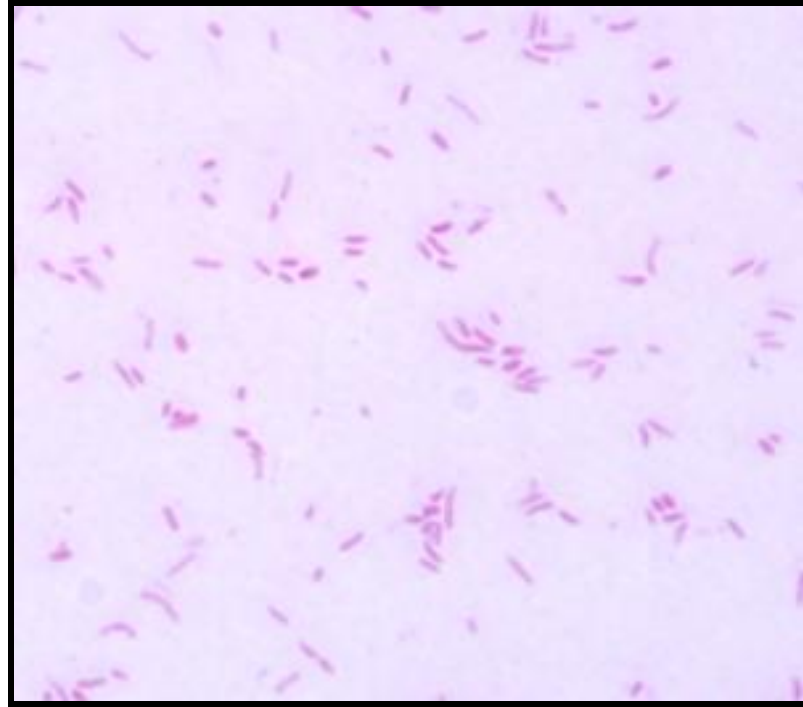
Şekil 4.13: TCBS’de sarı renkli koloni oluşumu.



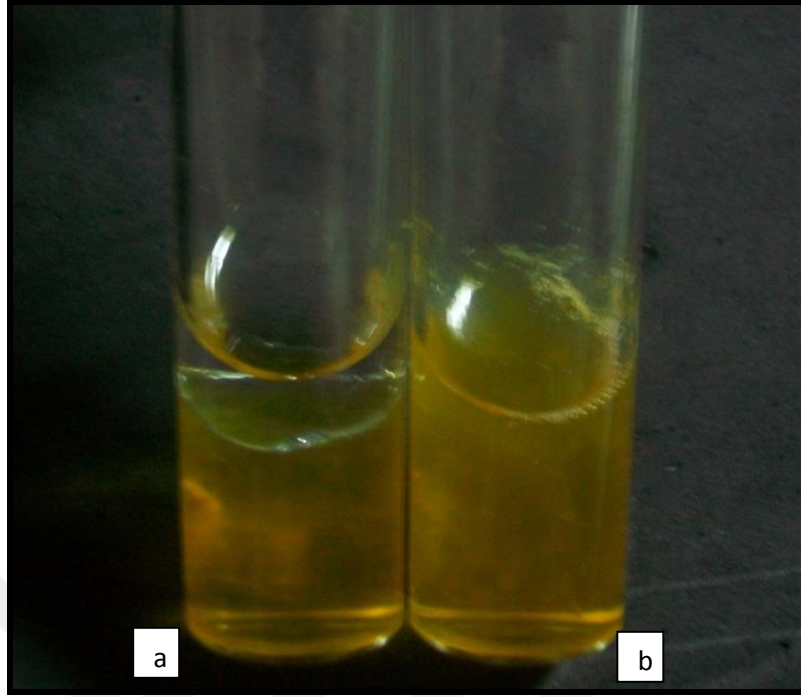
Şekil 4.14: VAM’da sarı renkli koloni oluşumu.

Bu izolatlarının Gram negatif, hafif kıvrık ve çomak şekilli oldukları tespit edilmiştir (Şekil 4.15). İzole edilen bakteri izolatlarına asılı damla yöntemi kullanılarak çukur lamda hazırlanan preparatları incelenmiş ve bu bakterilerin aktif flagella hareketi yaptıkları gözlenmiştir.

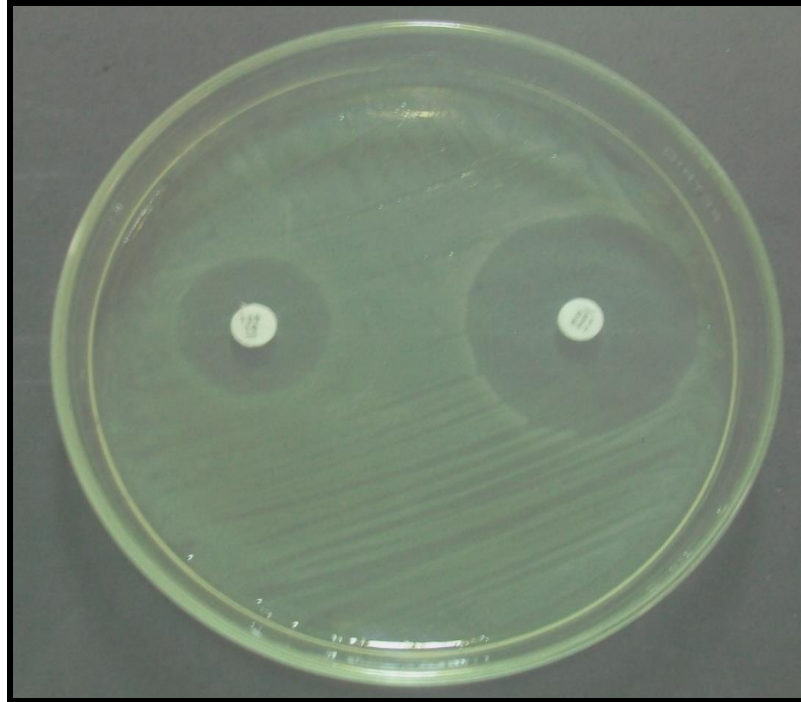
İncelenen bakterilerin O/F glukoz testinde fermantatif özellik gösterdiği (Şekil 4.16), O/129 vibriostat testine hassas oldukları (Şekil 4.17), sitokrom oksidaz, katalaz, indol (Şekil 4.18), beta-galaktosidaz (ONPG) (Şekil 4.19), Voges-Proskauer (VP) (Şekil 4.20), arjinin dihidrolaz testlerinin pozitif reaksiyon verdiği ve H₂S, Metil Red, lizin, ornitrin dihidrolaz testlerinin negatif olduğu, glukozdan gaz oluşturmadıkları, sitrat besiyerinde sitratı kullandıkları (Şekil 4.21), üreaz enzim üretiminin negatif, jelatinaz ve amilaz üretimlerinin pozitif olduğu tespit edilen bu izolatların Tablo 4.1’de belirtildiği gibi morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri (Buller, 2004; Austin ve Austin, 2007) yanı sıra referans bakteriye de (RV22) benzerlik gösterdiği için *V. anguillarum* olarak tanımlanmıştır.



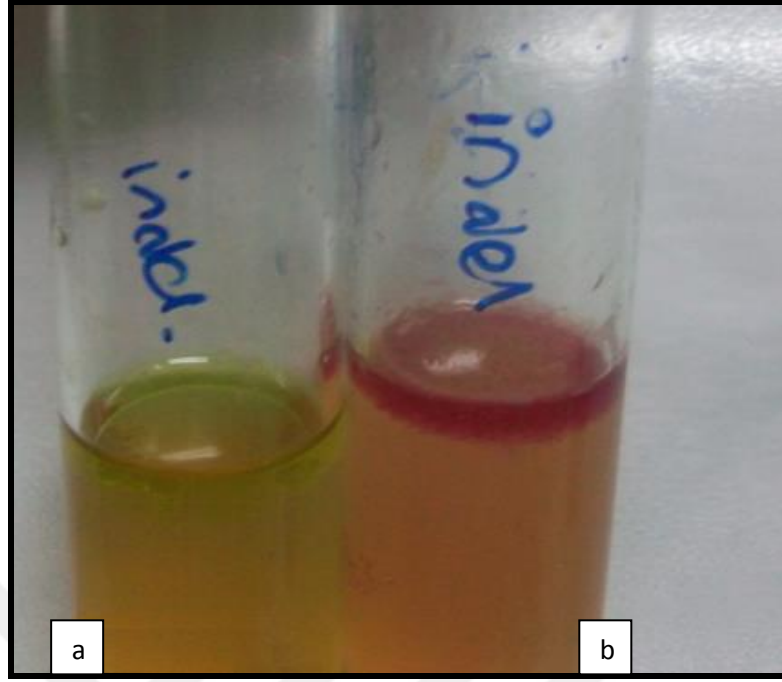
Şekil 4.15: Gram negatif, kıvrık-düz çomaklar Gram boyama x 100.



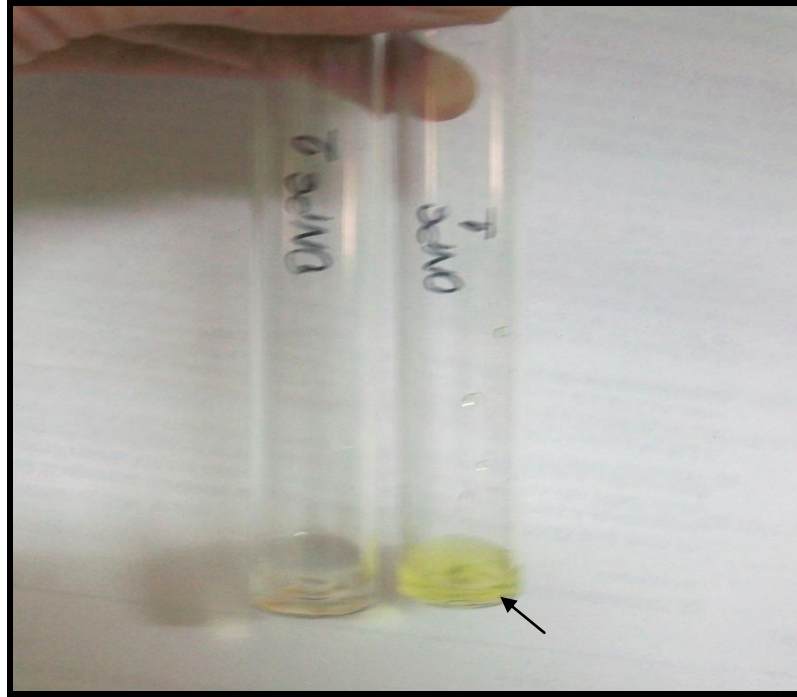
Şekil 4.16: Oksidasyon-Fermantasyon glukoz testinde fermantatif özellik (a: fermantasyon test tüpü pozitif, b: oksidasyon test tüpü pozitif).



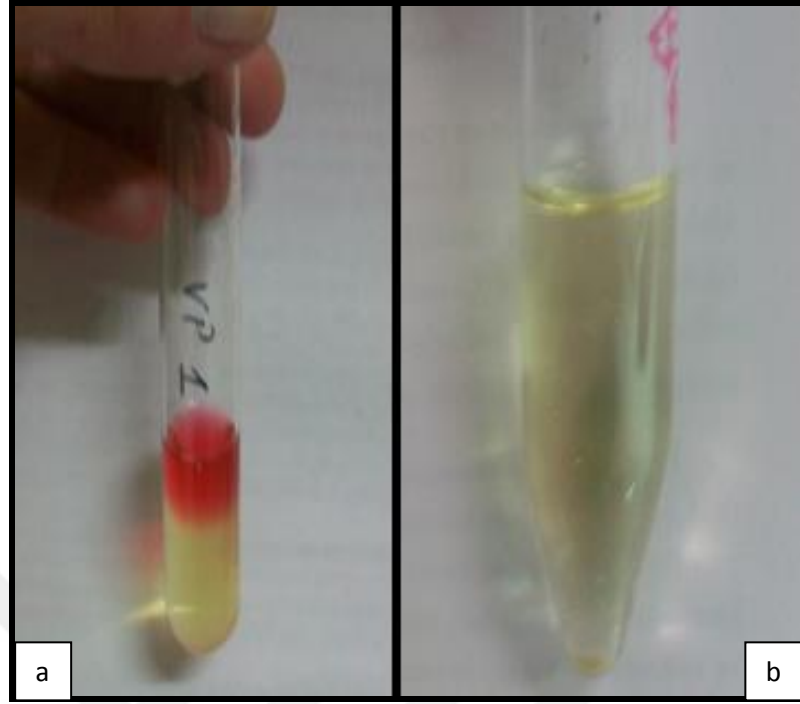
Şekil 4.17: O/129 vibriostat (10µg ve 150 µg) testinde zon oluşumu.



Şekil 4.18: Kovaks ayracı damlatılmış indol testinde negatif sonuç (a) ve pozitif reaksiyon (b).



Şekil 4.19: ONPG (β -galaktosidaz) testinde pozitif reaksiyon (okla gösterilmiştir) ve negatif sonuç.



Şekil 4.20: Voges Proskauer ayırıcı damlatılmış VP testinde pozitif reaksiyon (a) ve negatif sonuç (b).



Şekil 4.21: Simmon's citrate besiyerinde sitrat kullanımında pozitif reaksiyon.

Tablo 4.1: Örnekleme sonucu izole edilen bakteri izolatlarının biyokimyasal özellikleri

Özellikler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	RV22
Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gram Boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O/F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
Sitokrom Oksidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TCBS'de üreme	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
VAM'da üreme	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Sitrat kullanımı	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B-galaktosidaz (ONPG)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Metil Red	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İndol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arjinin dihidrolaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lizin dekarboksilaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ornitin dekarboksilaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrat indirgeme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Üreaz üretimi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jelatinaz üretimi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nişasta	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Glukoz, gaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Glukoz, asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Arabinoz, asit	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
myo-İnositol, asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktoz, asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Mannitol, asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Mannoz, asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Maltoz, asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sukroz, asit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
İnositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salisin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
%0 NaCl'de üreme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
%3 NaCl'de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
%8 NaCl'de üreme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
% 10NaCl'de üreme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37°C'de büyüme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O/129'a duyarlılık	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

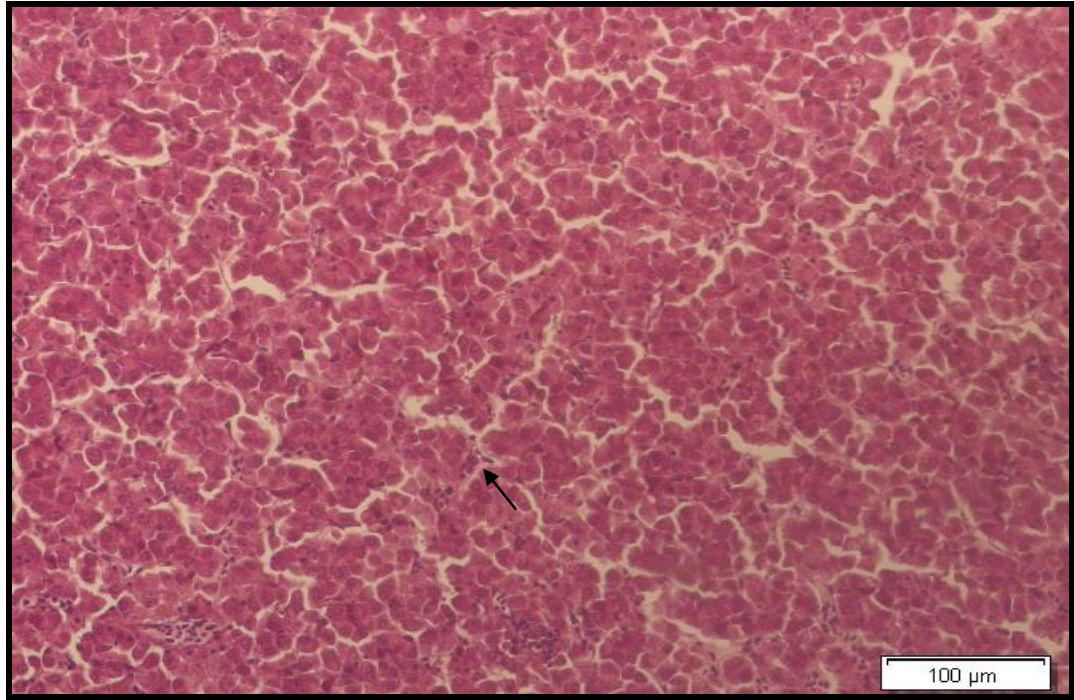
(+): Pozitif reaksiyon, (-): Negatif reaksiyon, S /Y: Sarı/Yeşil, F: Fermantatif

Bu çalışmada izole edilen 10 adet suştan Tablo 4.1'de belirtilen 1, 9 ve 10 nolu izolatların arabinozdan asit üretmediği görülürken diğer izolatların ise arabinozdan asit üretebildikleri gözlenmiştir.

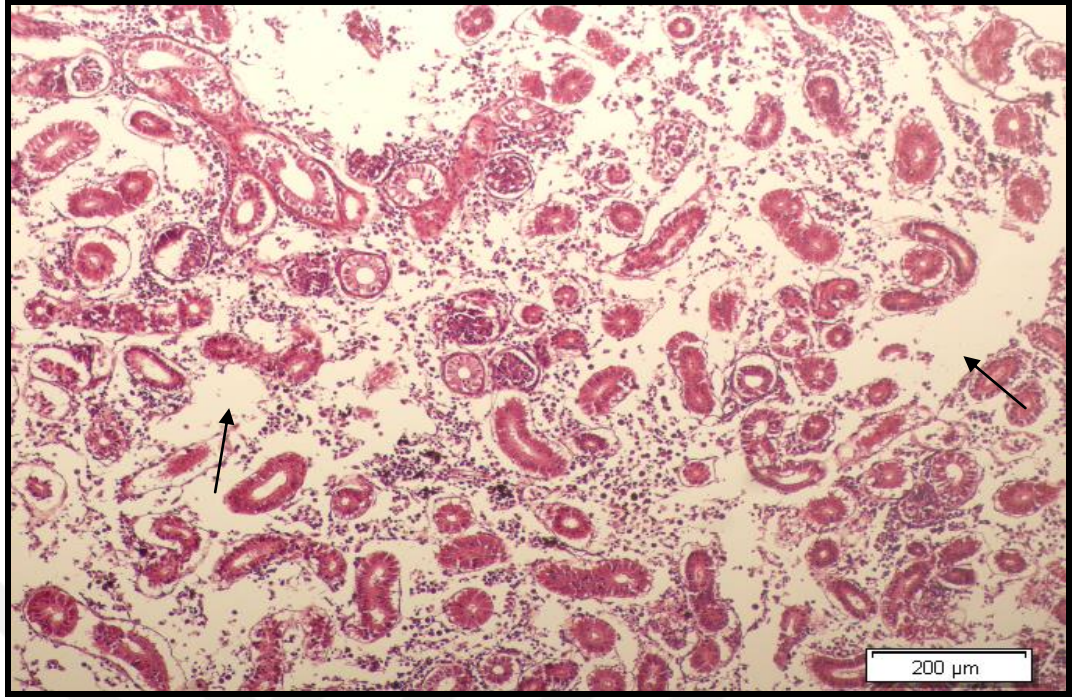
4.3. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

2011 yılı ağustos ayı ve 2012 yılının nisan aylarında 8 farklı işletmeden yapılan örnekleme çalışmaları sonucunda 6 farklı işletmede gerçekleştirilen örneklemelerde hasta gökkuşağı alabalığı, levrek ve çipura balıklarında mortalite ile seyreden epizootiklerde hasta balıkların iç organlarından *Vibrio anguillarum* izole ve identifiye edilmiştir.

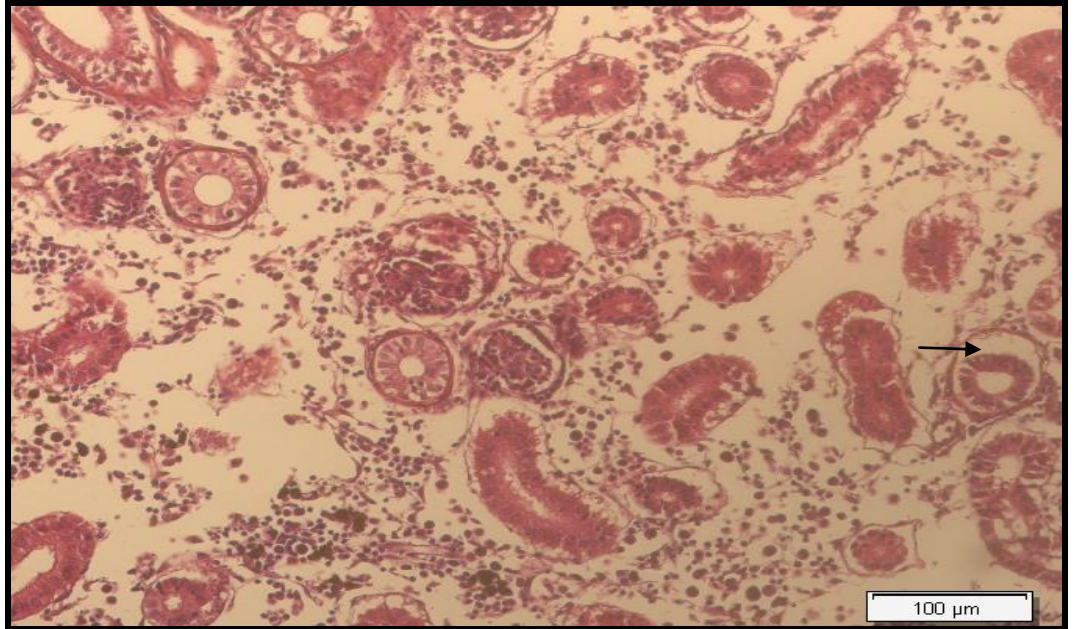
Bu patojenle enfekte hasta gökkuşağı alabalıklarının visceral organlarının ve solungaçlarının histopatolojik incelemesinde karaciğerde küçük hemorajik odaklar (Şekil 4.22), böbrek dokusunda interstisiyel alanda hücre ve matriks kaybı (Şekil 4.23), böbrek tübüllerinin epitel dokusunda bozulma (Şekil 4.24), dalakta doku kaybı (Şekil 4.25), kalp kasında fibril arası bağ dokuda boşalma (Şekil 4.26), solungaç filamentlerinde sekonder solungaç lamellaların epitel hücrelerinin bütünlüğünde bozulma (Şekil 4.27) tespit edilmiştir.



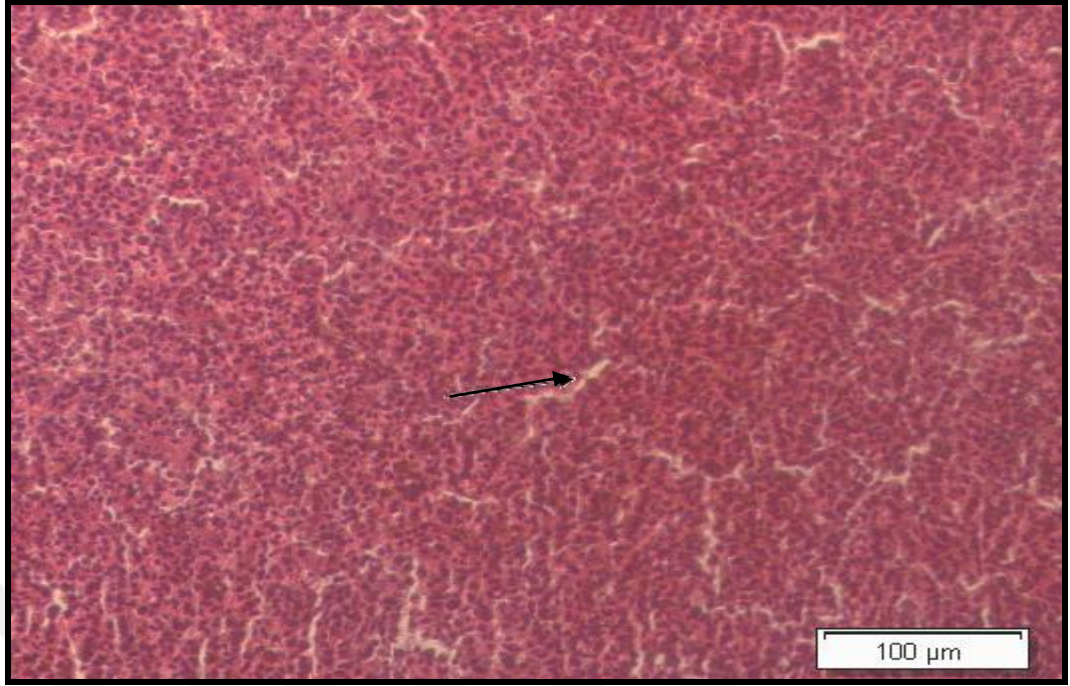
Şekil 4.22: Gökkuşağı alabalığının karaciğerinde küçük hemorajik odaklar (okla gösterilmiş) H&E.



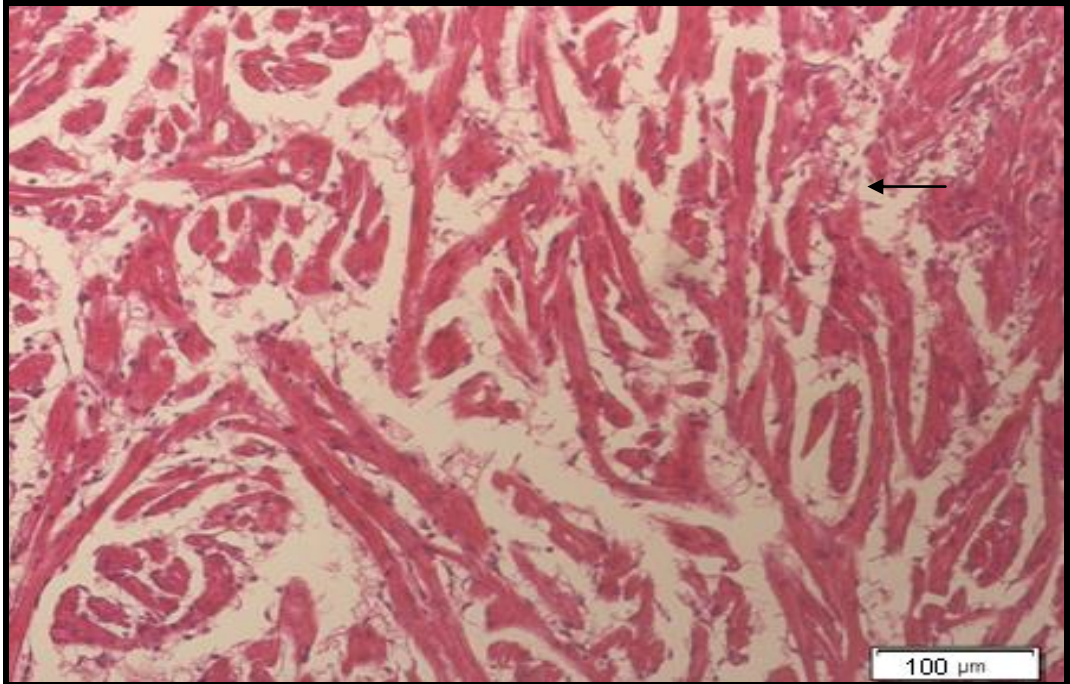
Şekil 4.23: Hasta gökkuşağı alabalığının böbrek dokusunda interstisiyel alanda hücre ve matriks kaybı (okla gösterilmiştir) H&E.



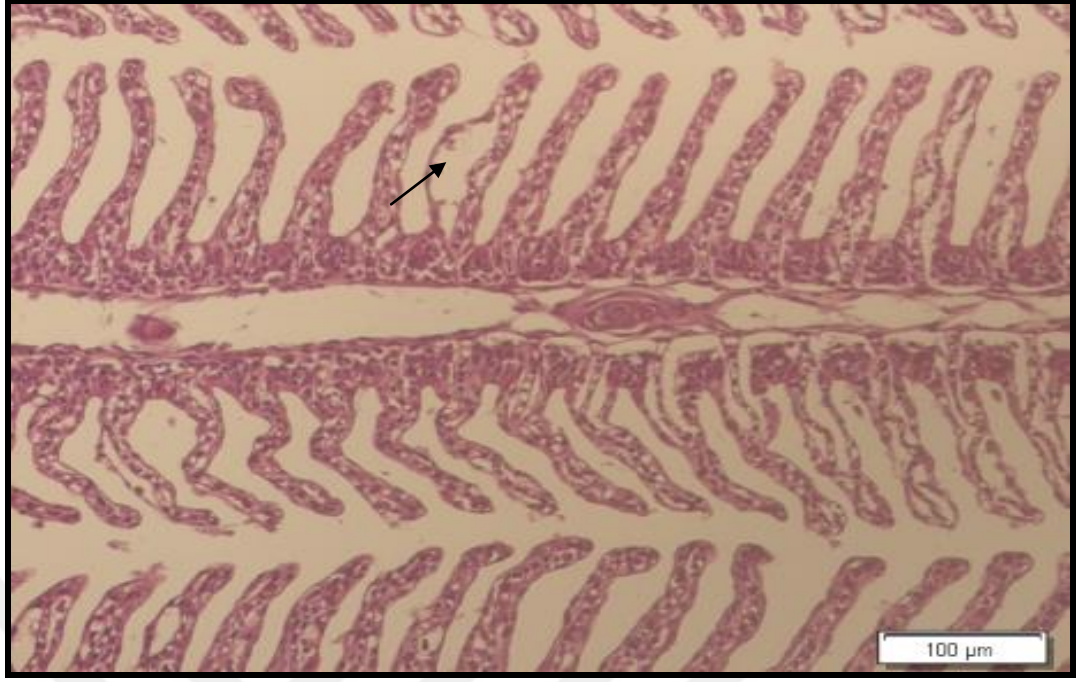
Şekil 4.24: *V.anguillarum* ile enfekte gökkuşağı alabalığının böbrek tübüllerinin epitel dokusunda bozulma (okla gösterilmiştir) H&E.



Şekil 4.25: Hasta gökkuşağı alabalığının dalağında doku kaybı (okla gösterilmiştir) H&E.

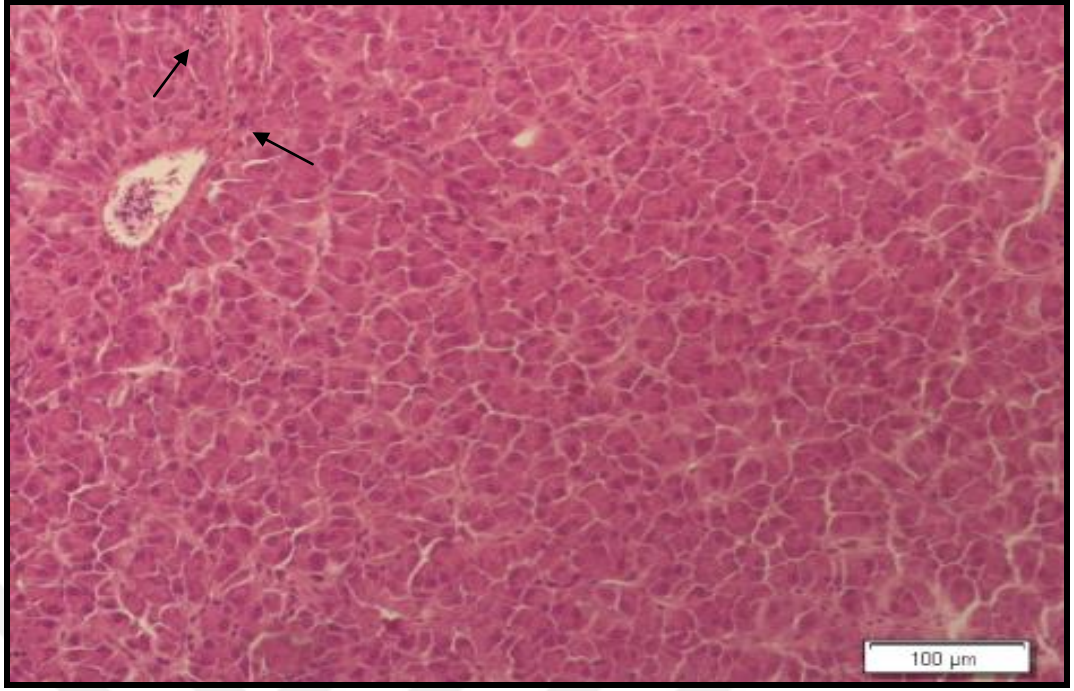


Şekil 4.26: Kalp kasında fibril arası bağ dokuda boşalma (okla gösterilmiştir) H&E.

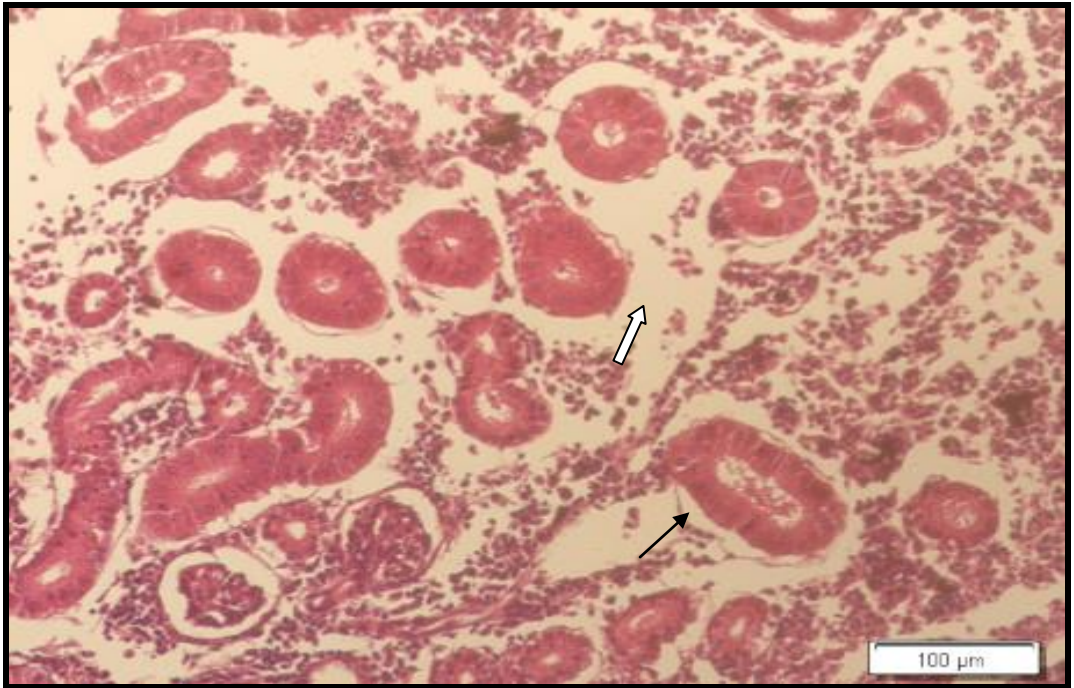


Şekil 4.27: *V. anguillarum* ile enfekte gökkuşağı alabalığının sekonder solungaç lamellaların epitel hücrelerinin bütünlüğünde bozulma (okla gösterilmiştir) H&E.

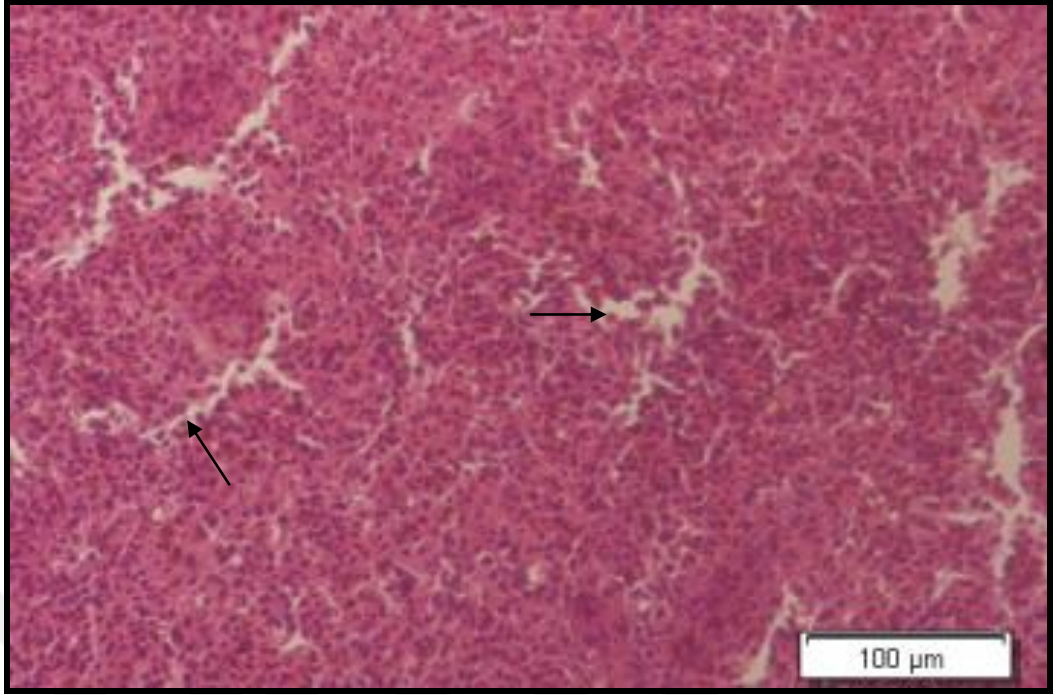
Bu patojenle enfekte hasta levrek balıklarının visceral organlarının ve solungaçlarının histopatolojik incelemesinde karaciğerde küçük hemorajik odaklar (Şekil 4.28), böbrek dokusunda interstisiyel alanda hücre ve matriks kaybı, böbrek tübüllerinde dejenerasyon, melanomakrofaj merkezlerinde hemosiderin depozitleri (Şekil 4.29), dalakta doku kaybı (Şekil 4.30), kalp kasında fibril arası bağ dokuda boşalma (Şekil 4.31), solungaç filamentlerinde yanı sıra solungaç lamellalarının yapısal düzeninde bozulma (Şekil 4.32; Şekil 4.33) tespit edilmiştir.



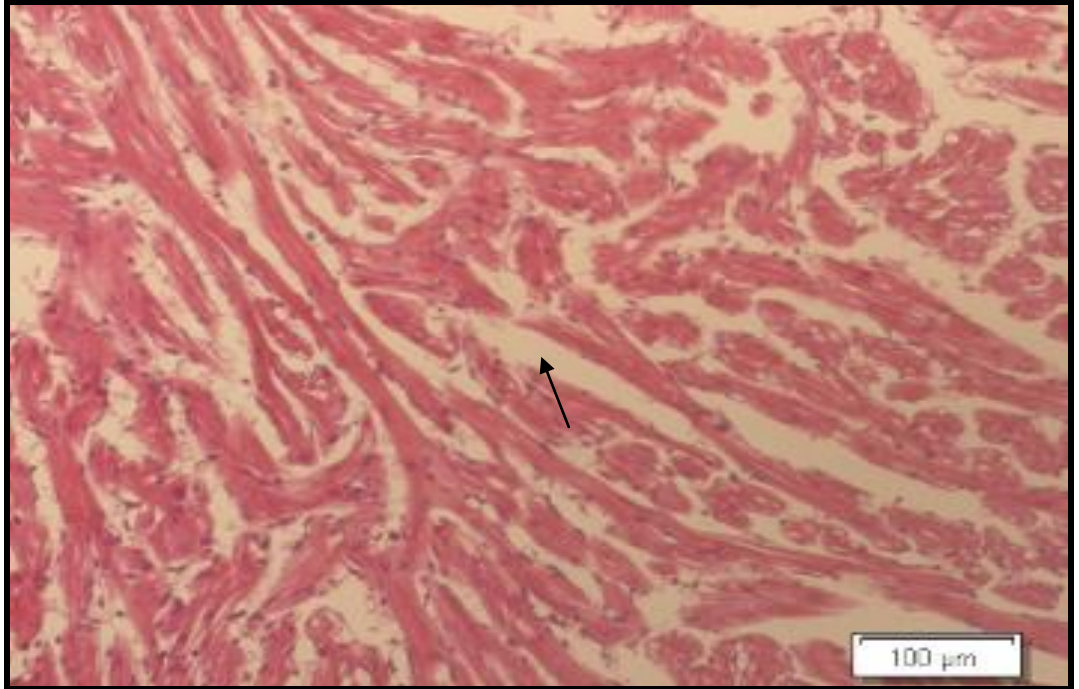
Şekil 4.28: Bodrum’da bulunan işletmeye ait 1nolu hasta levrek balığının karaciğerinde küçük hemorajik odaklar (okla gösterilmiştir) H&E.



Şekil 4.29: 1 numaralı hasta levrek balığının böbrek dokusunda interstisiyel alanda hücre ve matriks kaybı (açık okla gösterilmiştir), böbrek tübüllerinde dejenerasyon (okla gösterilmiştir), melanomakrofaj merkezlerinde hemosiderin depozitleri H&E.



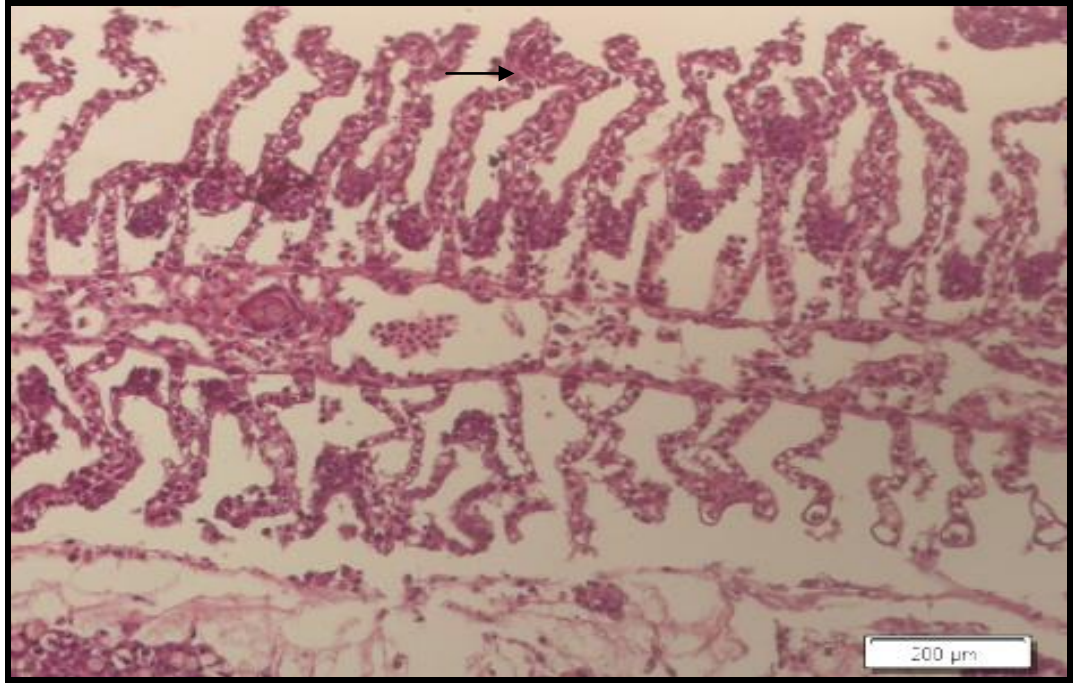
Şekil 4.30: 1 numaralı hasta levrek balığının dalağında doku kaybı (okla gösterilmiştir) H&E.



Şekil 4.31: 1 numaralı hasta levrek balığının kalp kasında fibril arası bağ dokuda boşalma (okla gösterilmiştir) H&E.



Şekil 4.32: 1 numaralı hasta levrek balığının solungaç filamentlerinde hiperplazi (okla gösterilmiştir) ve ödem (açık okla gösterilmiştir) H&E.

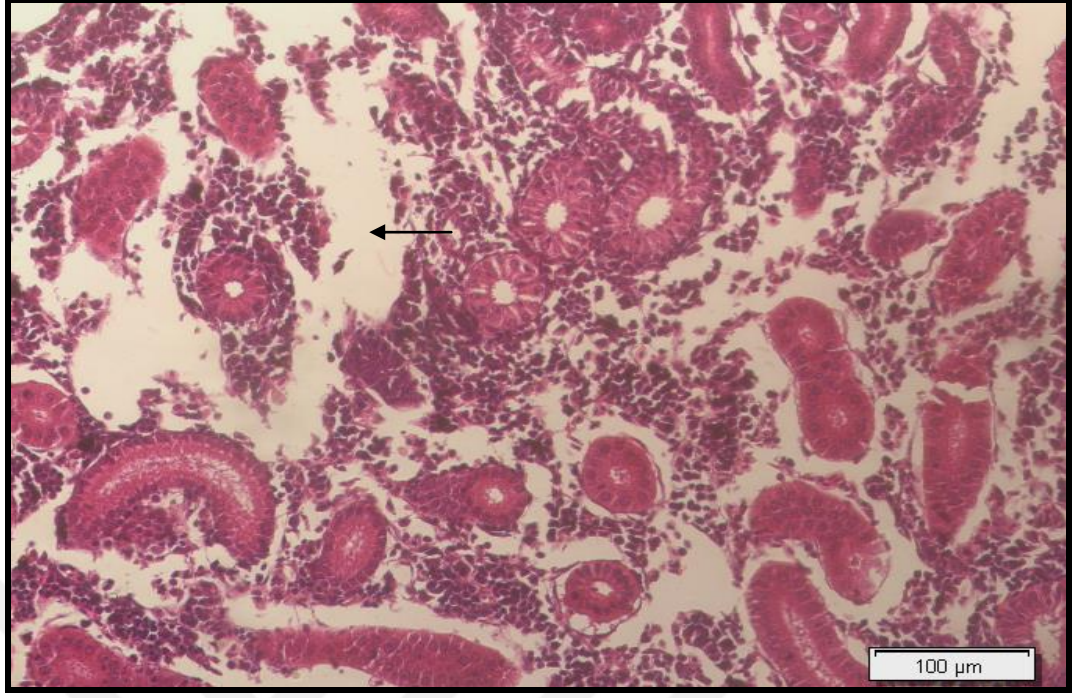


Şekil 4.33: 2 numaralı enfekte levrek balığında solungaç lamellalarının yapısal düzeninde bozulma (okla gösterilmiştir) H&E.

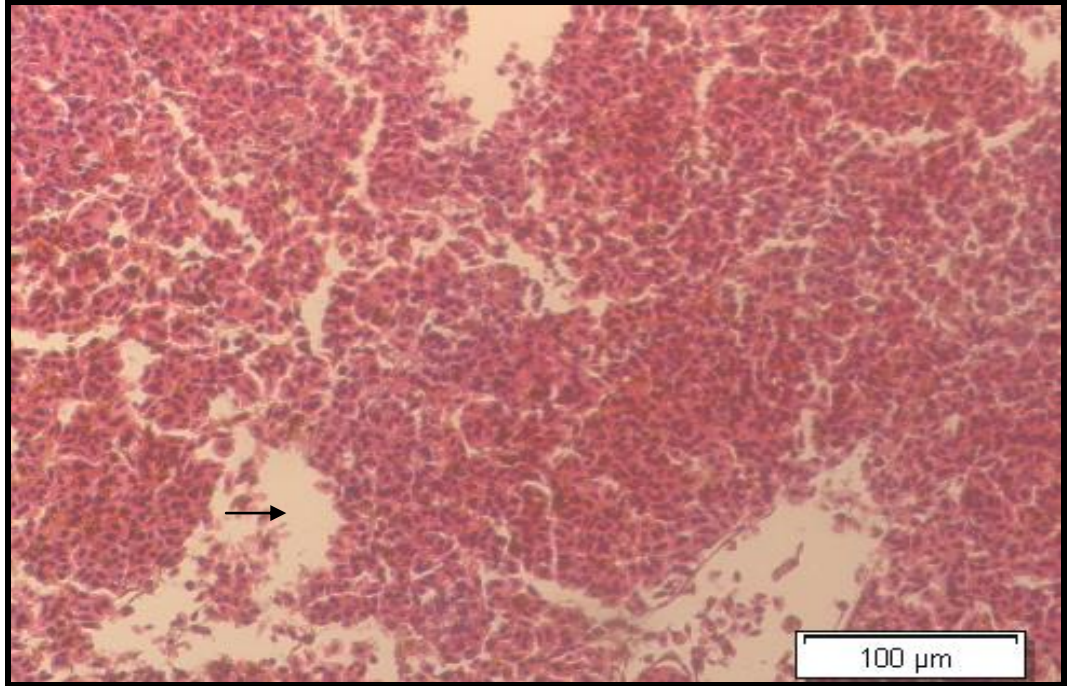
2012 yılı nisan ayında Muğla ili Milas ilçesinde yapılan ikinci örnekleme çalışmasında *V.anguillarum* ile enfekte olduğu tespit edilen hasta çipura balıklarının solungaç ve viseral organlarının histopatolojik incelenmesi sonucunda karaciğer hücrelerinde vakuoler dejenerasyon, hücrelerin yapısal düzeninde bozulma (Şekil 4.34), böbrek dokusunda interstisiyel alanda hücre ve matriks kaybı, böbrek tübüllerinde dejenerasyon (Şekil 4.35), dalakta doku kaybı (Şekil 4.36), kalp kasında fibril arası bağ dokuda boşalma (Şekil 4.37), solungaç lamellalarının yapısal düzeninde bozulma (Şekil 4.38) tespit edilmiştir.



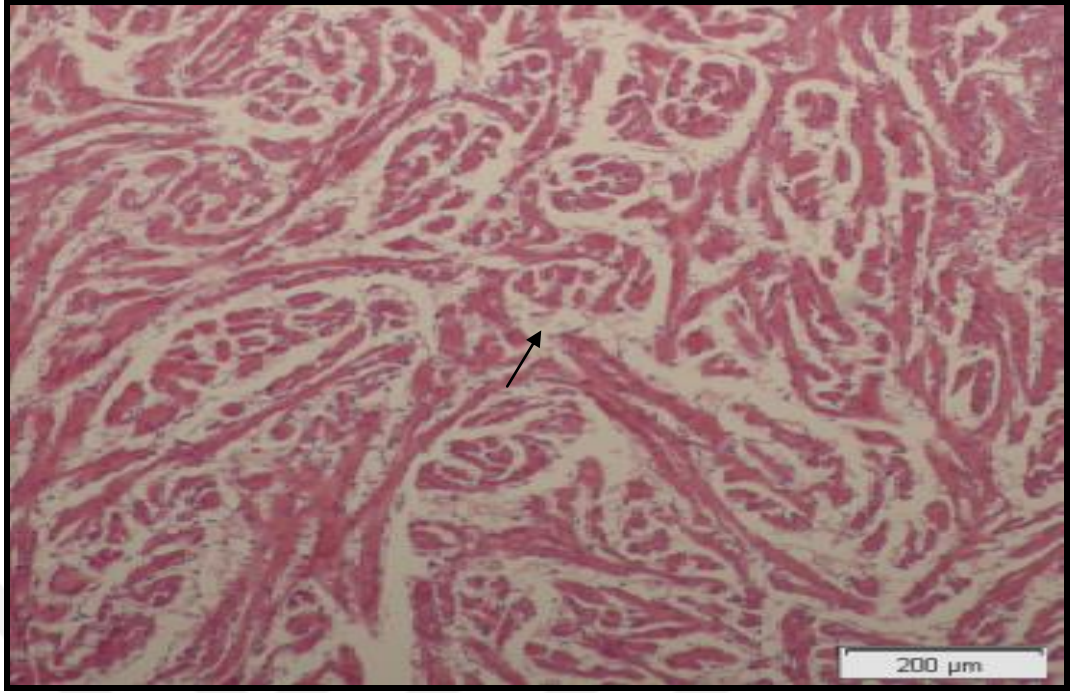
Şekil 4.34: Hasta çipura balığının karaciğer hücrelerinde vakuoler dejenerasyon (okla gösterilmiştir), hücrelerin yapısal düzeninde bozulma H&E.



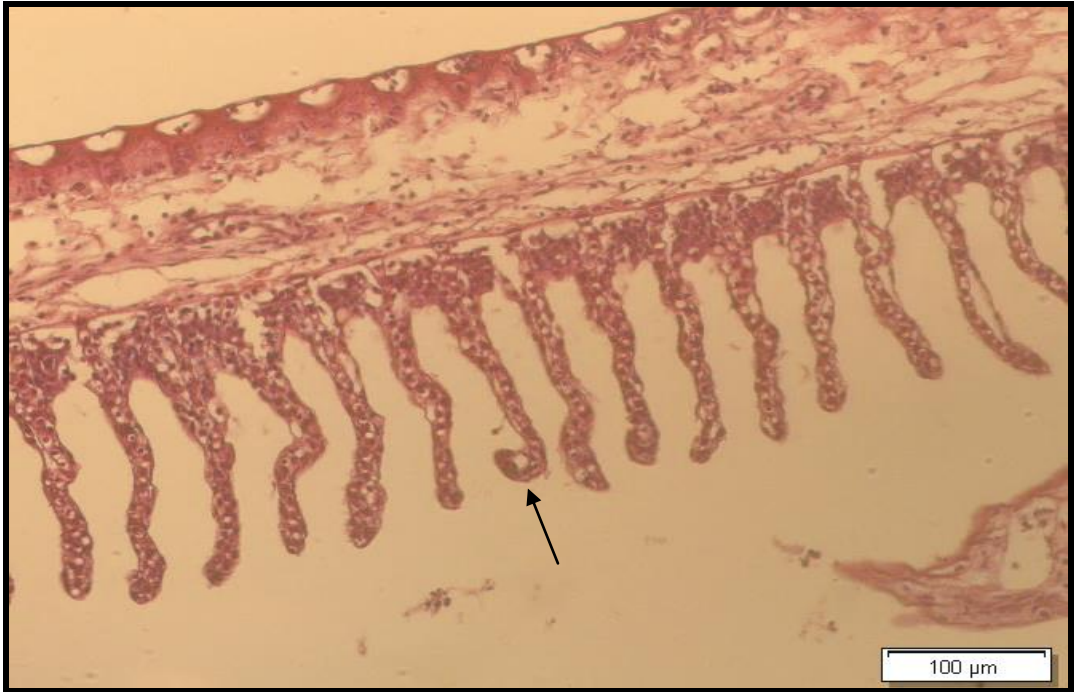
Şekil 4.35: Hasta ipura balığının böbrek dokusunda interstisiyel alanda hücre ve matriks kaybı (okla gösterilmiştir), böbrek tübüllerinde dejenerasyon H&E.



Şekil 4.36: Dalakta doku kaybı (okla gösterilmiştir) H&E.



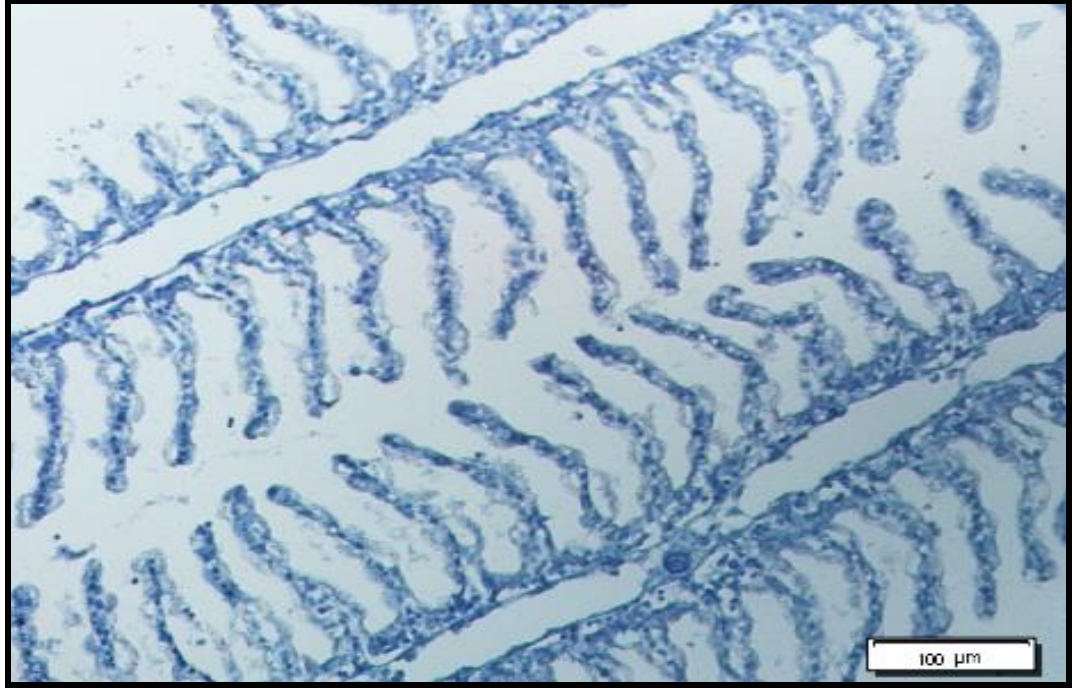
Şekil 4.37: Kalp kasında fibril arası bağ dokuda boşalma (okla gösterilmiştir) H&E.



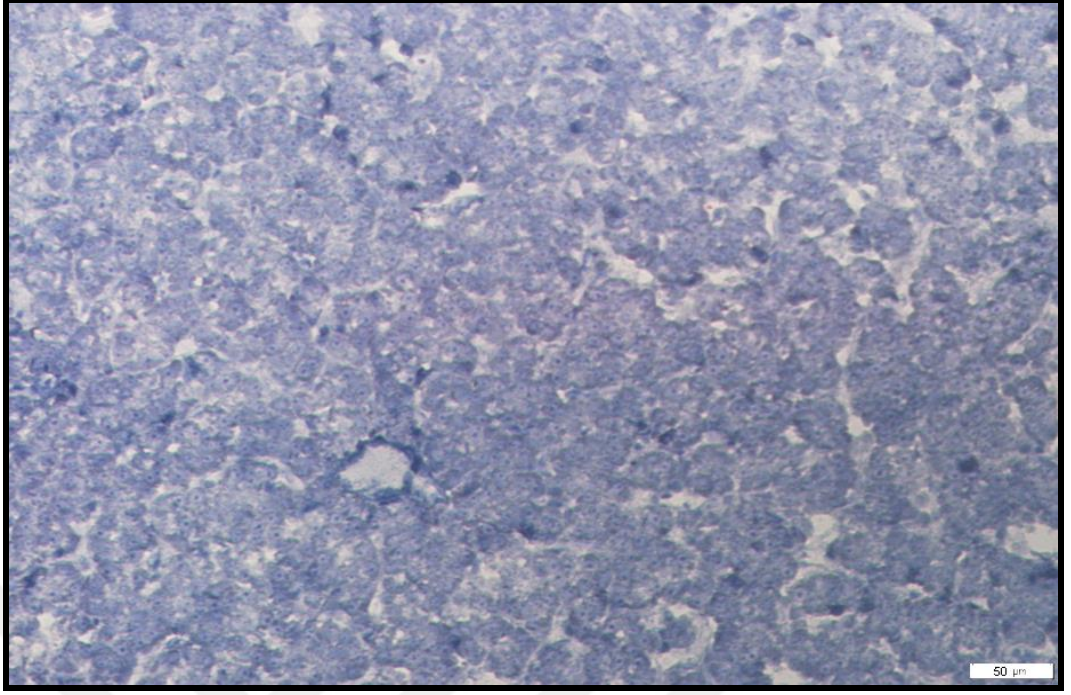
Şekil 4.38: Solungaç lamellalarının yapısal düzeninde bozulma (okla gösterilmiştir) H&E.

4.4. İMMUNOHİSTOKİMYASAL(IHC) BULGULAR

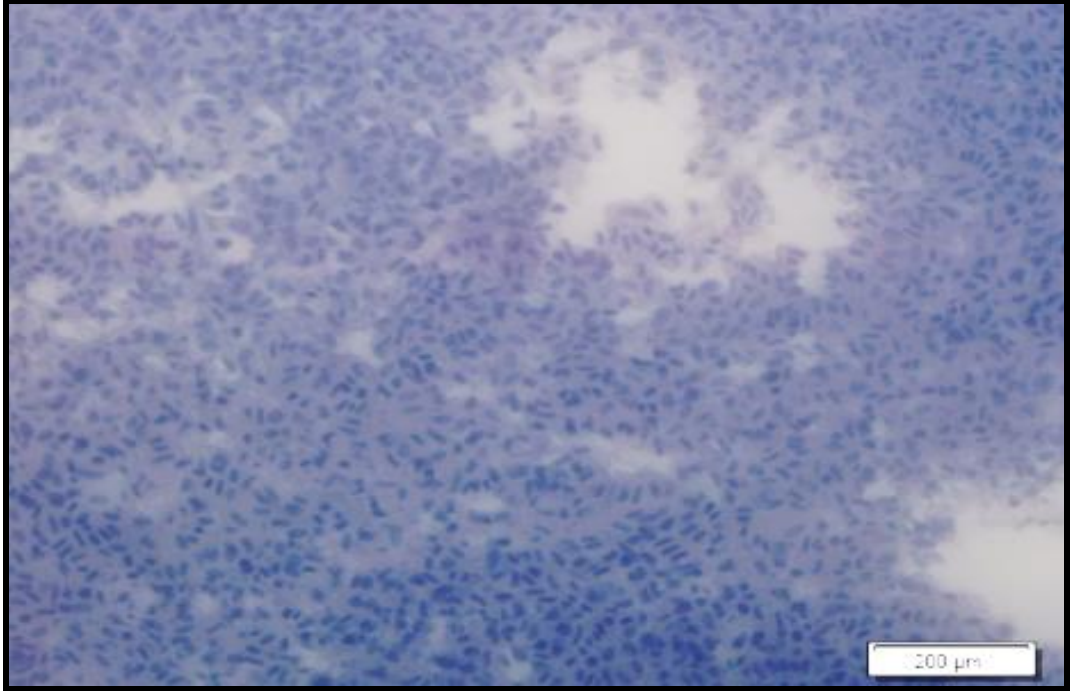
Kontrol grubu olarak kullanılan sağlıklı gökkuşuğu alabalıklarının solungaç ve karaciğer, dalak, böbrek ve kalp gibi viseral organlarının streptavidin-biotin immunohistokimyasal boyama sonucunda hiçbir immun pozitif reaksiyona rastlanılmamıştır (Şekil 4.39; Şekil 4.40; Şekil 4.41; Şekil 4.42; Şekil 4.43). Ayrıca böbrek kesitlerinde melanomakrofaj odakları tespit edilmiştir.



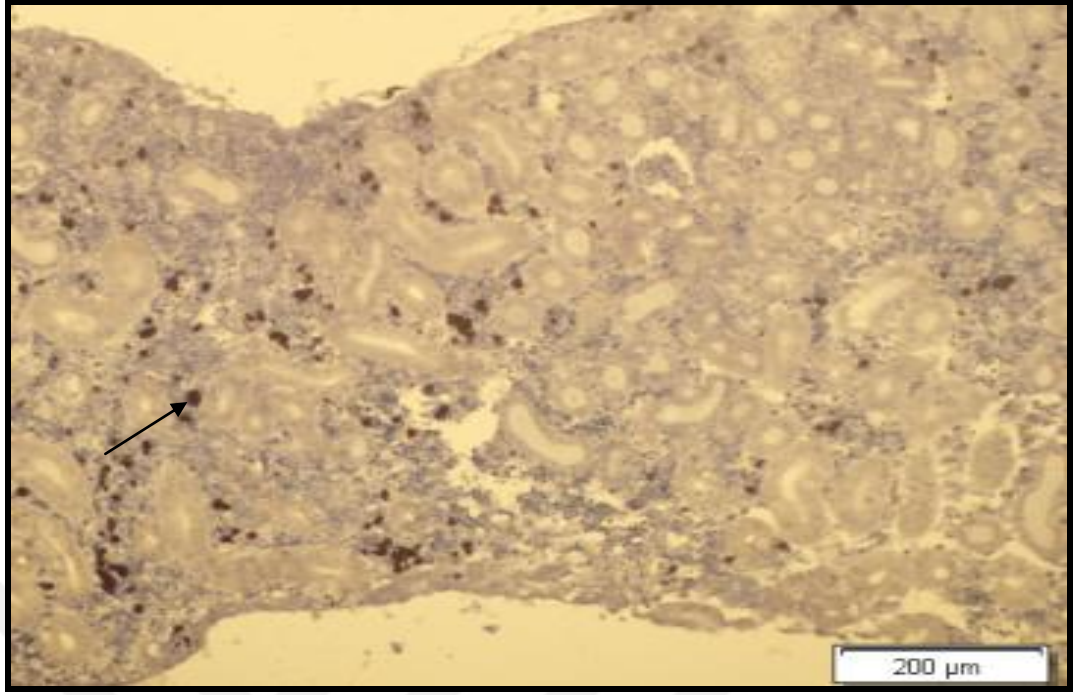
Şekil 4.39: Kontrol grubu olarak kullanılan gökkuşuğu alabalığının solungaç kesitinin immun boyama yönteminde negatif reaksiyon.



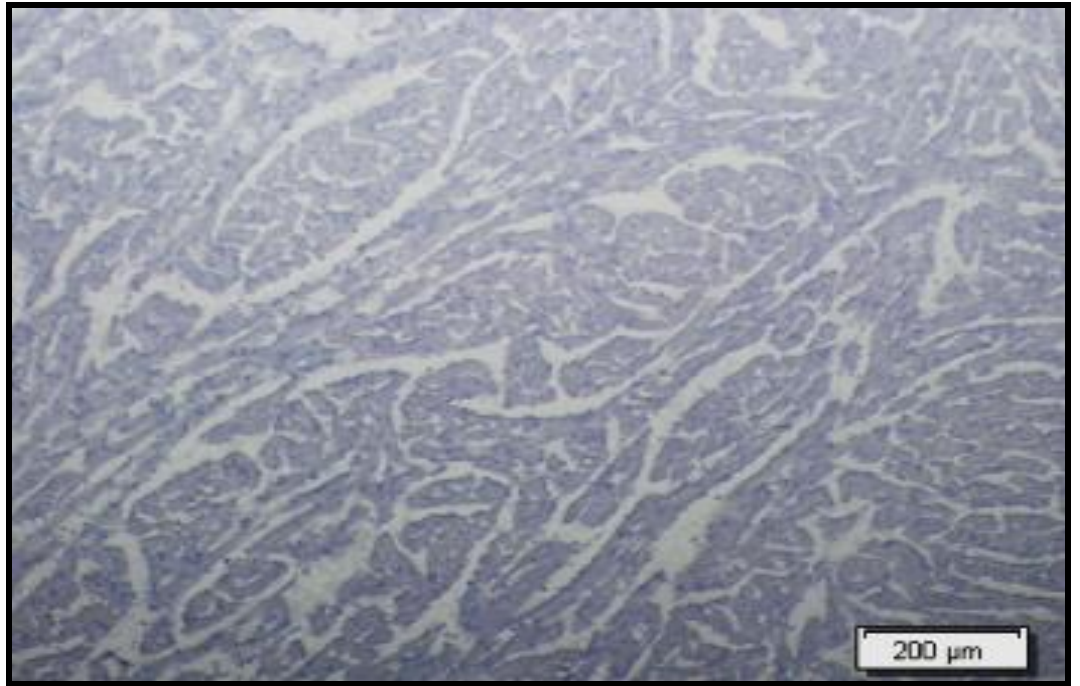
Şekil 4.40: IHC yöntem sonucu kontrol grubuna ait gökkuşuğı alabalığında karaciğerin genel görünümü.



Şekil 4.41: Kontrol grubu alabalıkta IHC yöntem sonucu dalağın genel görünümü.

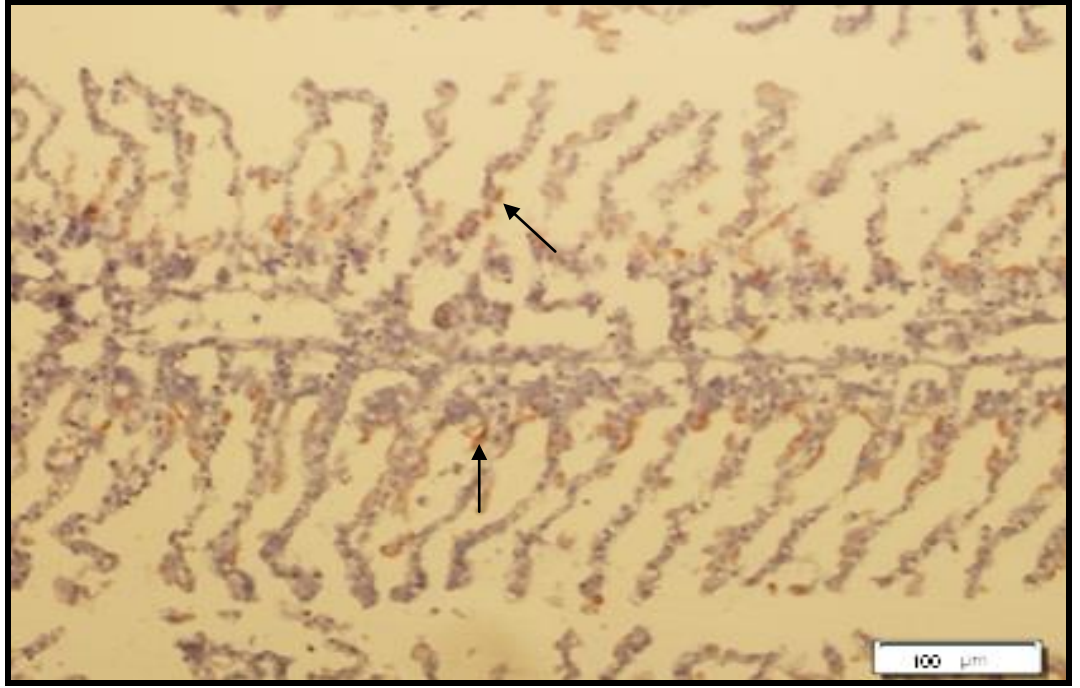


Şekil 4.42: IHC yöntem sonucu kontrol grubu balıkların böbreklerinde melanomakrofaj odakları (okla gösterilmiştir).

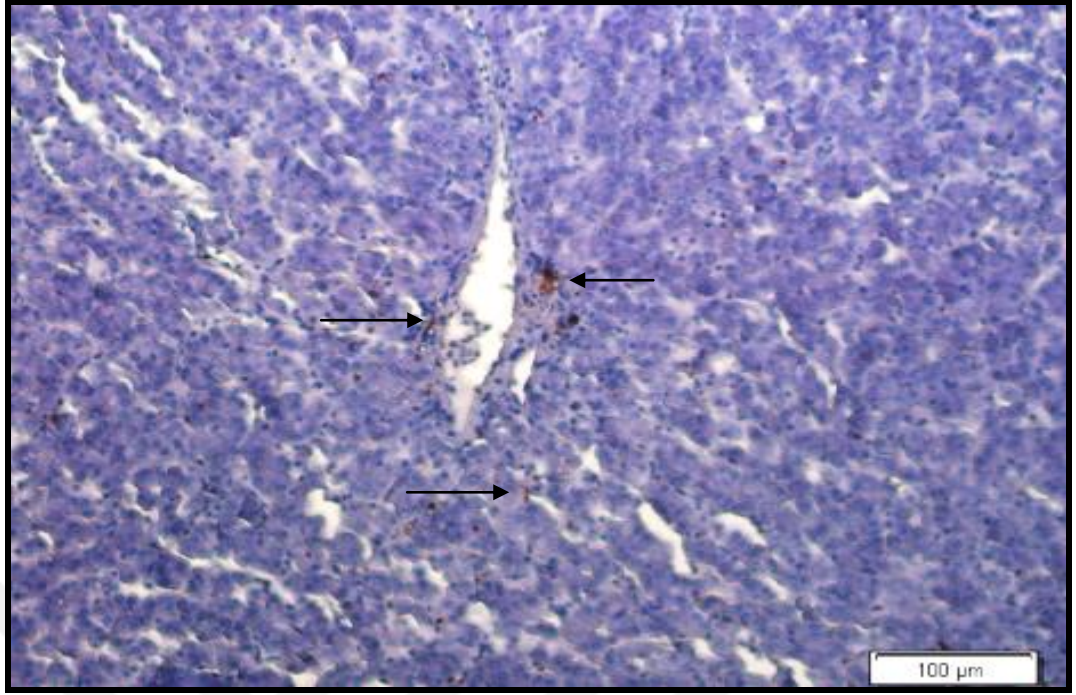


Şekil 4.43: İmmun boyama sonucu sağlıklı gökkuşağı alabalığının kalp kesitinin genel görünümü.

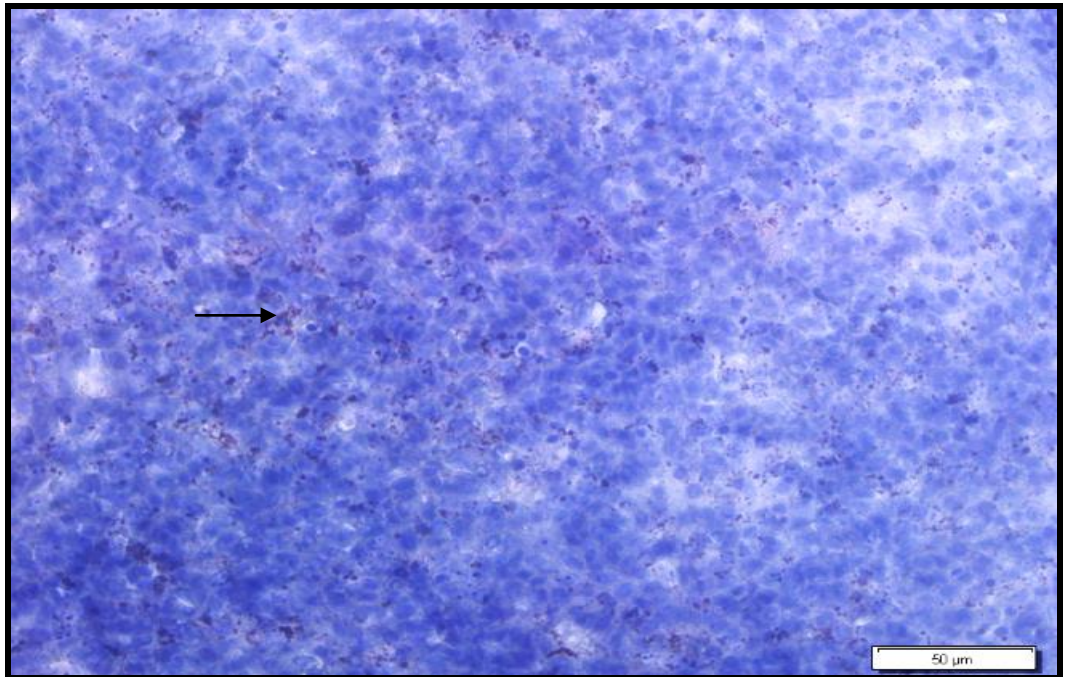
V.anguillarum ile enfekte hasta gökkuşağı alabalıklarının solungaçları ve viseral organlarının immunohistokimyasal boyama yöntemi ile incelenmesi sonucunda; solungaç filamentlerinde ve hiperplazik alanlarda (Şekil 4.44), karaciğer sinüzoidlerinde, nekrotik alanlar içinde ve toplardamar merkezinde (Şekil 4.45), dalakta ki nekrotik alanlarda, damar lümenlerinde ve sinuslarda (Şekil 4.46), böbrek tübüllerinde (Şekil 4.47), kalpte ise ventrikül kas liflerinde (Şekil 4.48) immun pozitif alanlar gözlenmiştir. Enfekte balıklardan elde edilen doku örnekleri immun boyama sonucuna göre değerlendirildiğinde pozitif boyanmanın en yoğun olduğu yerlerin solungaçlar ve böbrek tübülleri olduğu tespit edilmiştir.



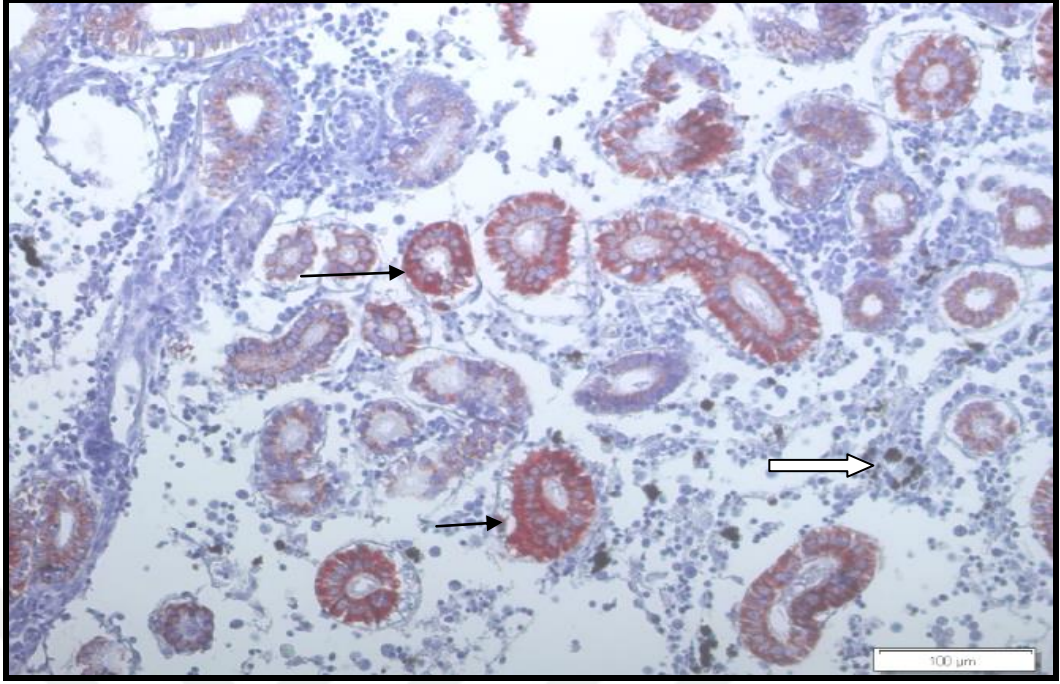
Şekil 4.44: IHC metot sonucunda hasta gökkuşağı alabalığının solungaçlarında hiperplazik alanlarda immun pozitif reaksiyonlar (okla gösterilmiştir).



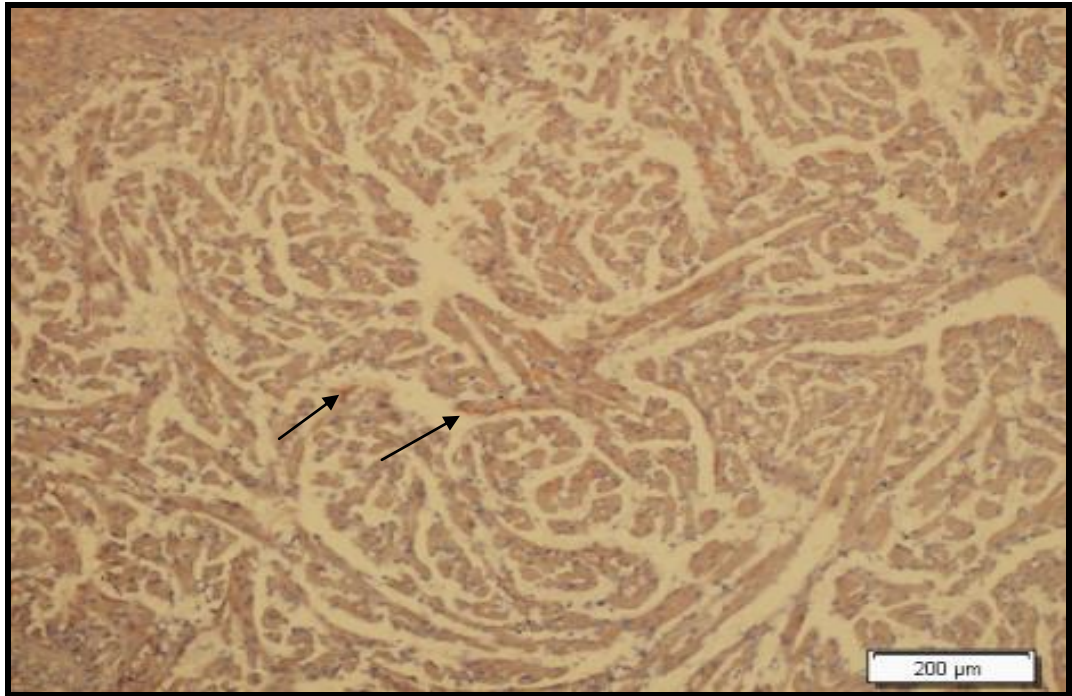
Şekil 4.45: Enfekte gökkuşağı alabalığının karaciğerinde IHC metot sonucunda immun pozitif reaksiyonlar (okla gösterilmiştir).



Şekil 4.46: Fethiye’de bulunan bir işletmeye ait hasta gökkuşağı alabalığının dalak dokusunda IHC metot sonucunda yoğun immun pozitif reaksiyonlar (okla gösterilmiştir).



Şekil 4.47: IHC metot sonucunda aynı balığın böbrek dokusunda melanomakrofajlar (açık okla gösterilmiştir) ve tübüllerde yoğun immün pozitif reaksiyonlar (okla gösterilmiştir).

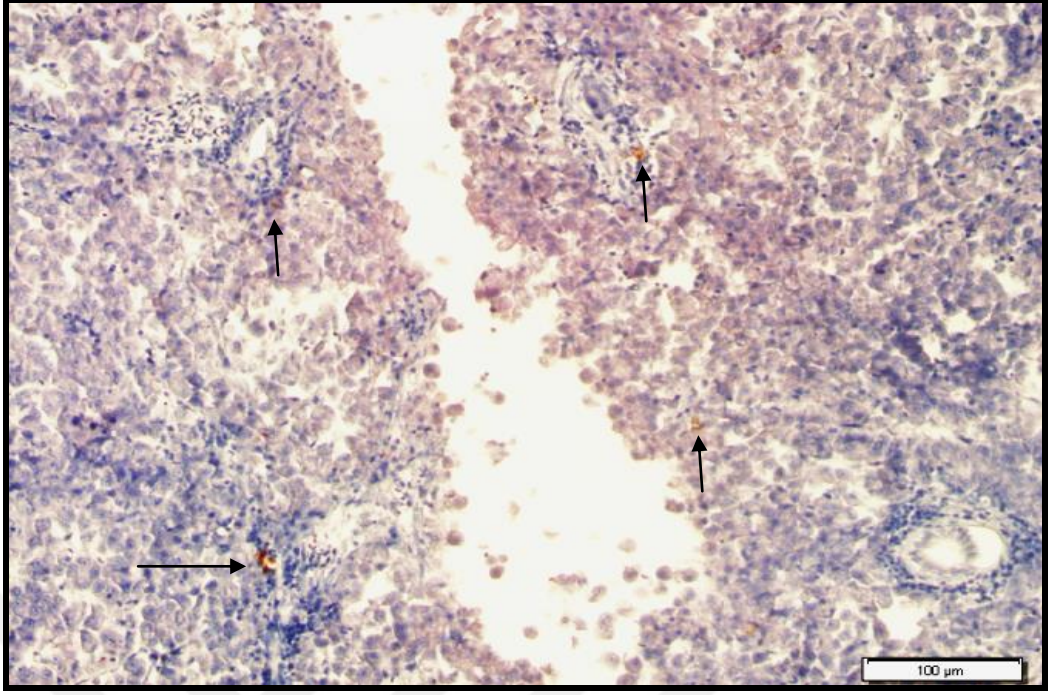


Şekil 4.48: IHC boyama sonucunda kalpte ventrikül kas liflerinde immün pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).

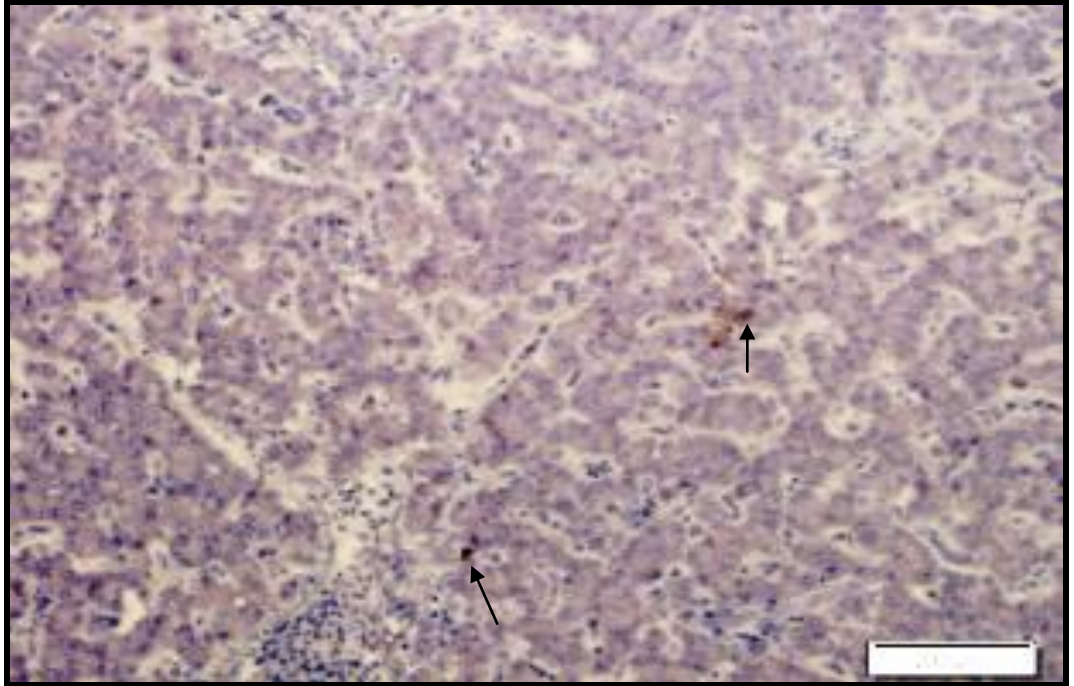
Hasta levrek balıklarının solungaç ve iç organlarının immunohistokimyasal incelemesi sonucunda; solungaç filamentlerinde (Şekil 4.49), karaciğerde sinuzoidlerde, nekrotik alanlar içinde ve damar etrafında (Şekil 4.50), dalakta sinuslarda, damar kenarlarında ve nekrotik alanlarda (Şekil 4.51), böbrekte tübüllerde (Şekil 4.52), kalp ventrikül kas liflerinde (Şekil 4.53) immun pozitif alanlar görülmüştür.



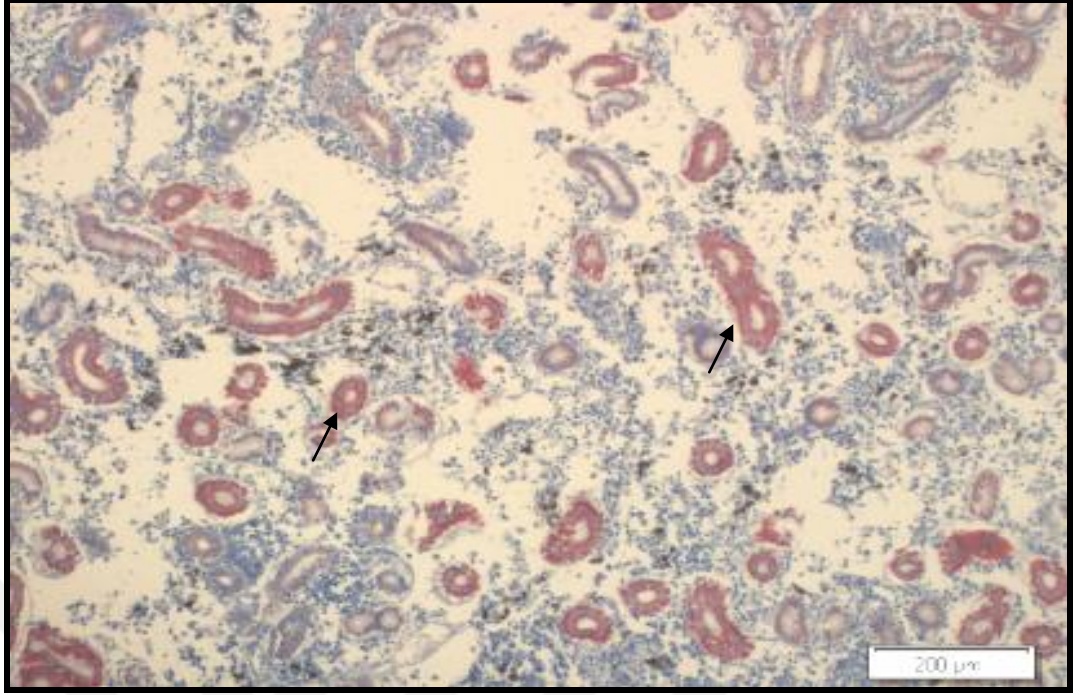
Şekil 4.49: Bodrum’da bulunan G işletmesine ait 1 numaralı hasta levrek balığının solungaç filamentlerinde immun pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).



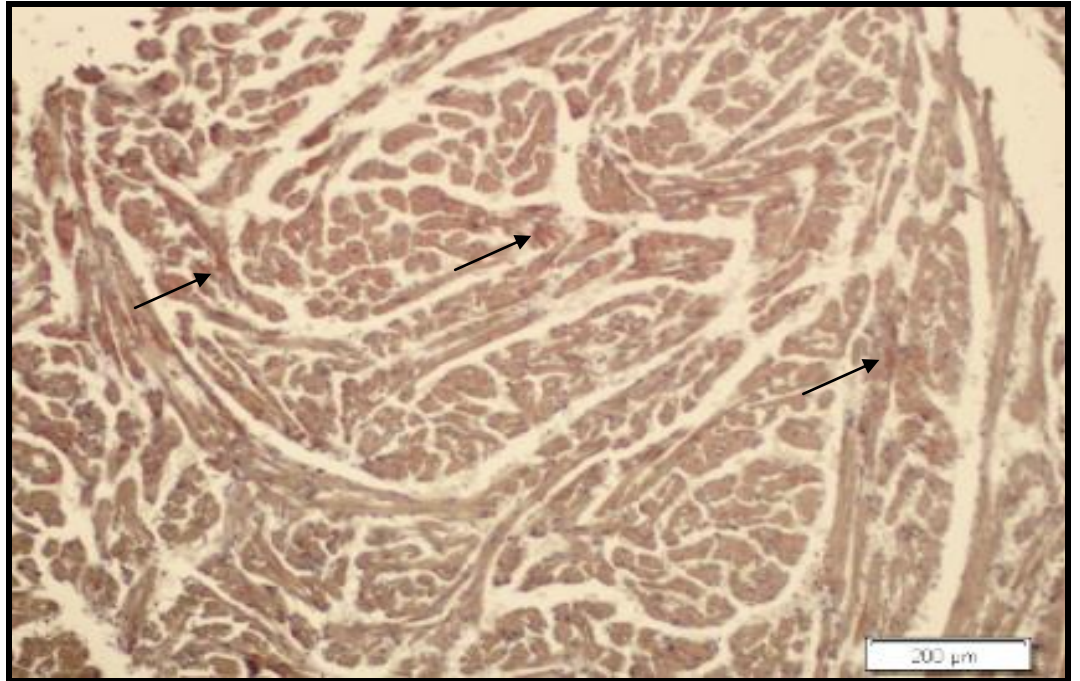
Şekil 4.50: 1 numaralı balığın karaciğer dokusunun nekrotik alanlarında, sinuzoidlerinde ve damar etrafında kırmızı renge boyanmış immun pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).



Şekil 4.51: G işletmesine ait hasta levrek balığının dalak dokusunun sinuslarında ve damar kenarında immun pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).

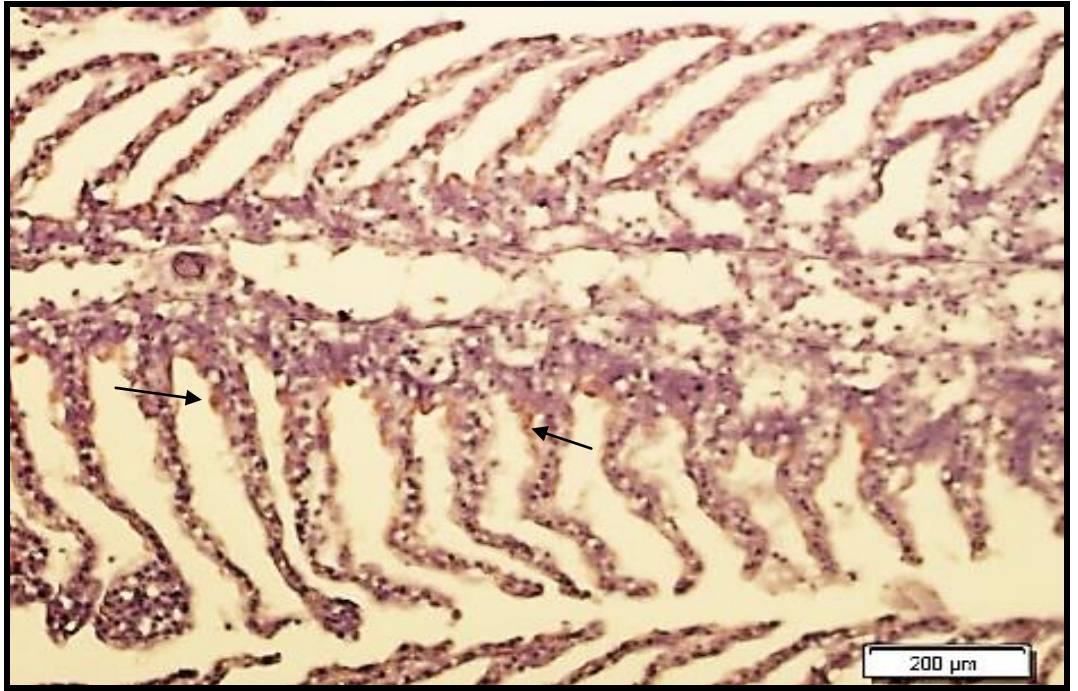


Şekil 4.52: IHC metot sonucunda 1 numaralı hasta levrek balığının böbrek dokusunda tübüllerde yoğun immün pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).

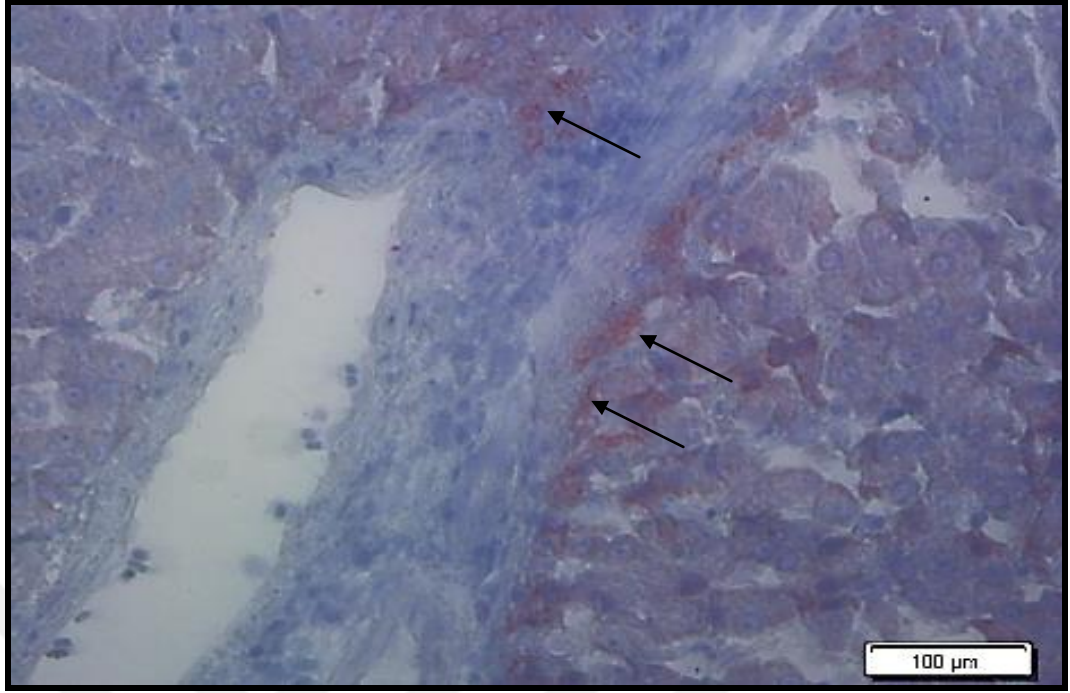


Şekil 4.53: İmmün boyama sonucunda kalbin kas liflerinde immün pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).

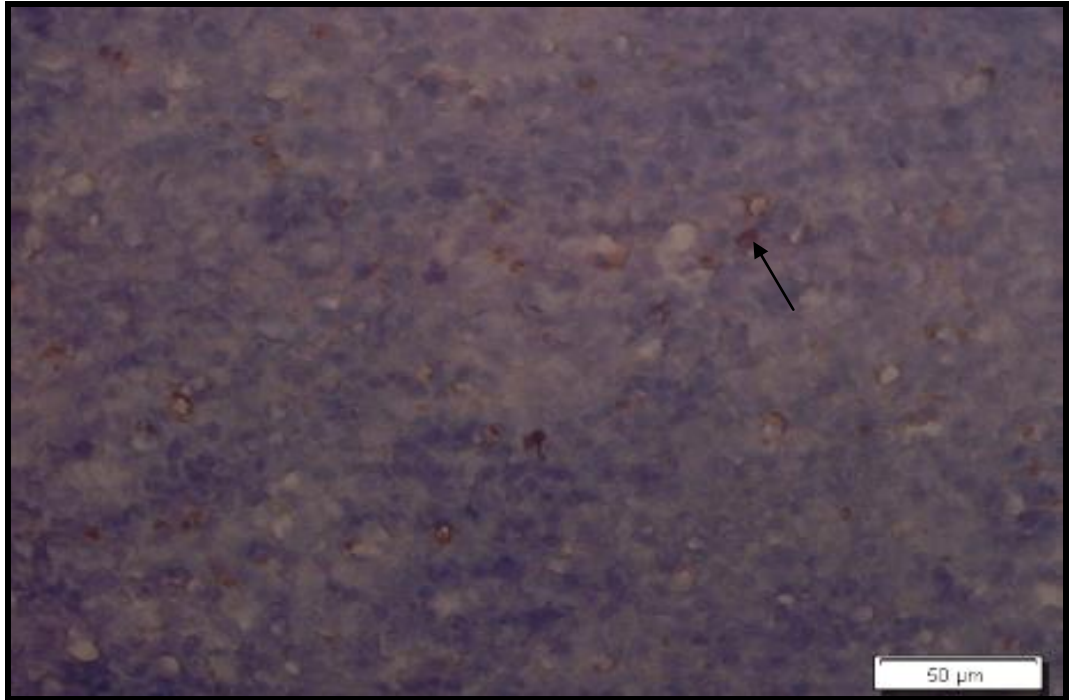
Çalışmada incelenen *V. anguillarum* ile enfekte çipura balıklarının solungaç ve iç organlarının immunohistokimyasal incelemesi sonucunda; solungaç filamentlerinde ve özellikle filament diplerinde (Şekil 4.54), karaciğerde arterin etrafındaki karaciğer hücrelerinde yaygın immun pozitif odaklar (Şekil 4.55), dalak dokusunda sinuslarda (Şekil 4.56), böbrek tübüllerinde (Şekil 4.57), kalbin epikardiyum tabakasında (Şekil 4.58) immun pozitif alanlar görülmüştür.



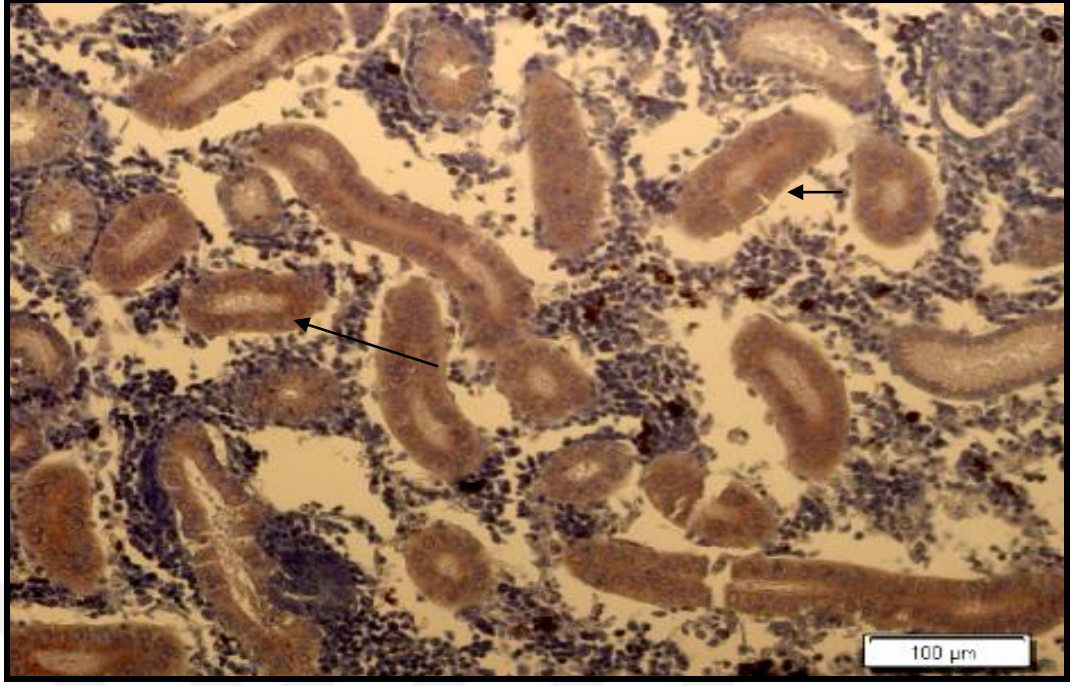
Şekil 4.54: H işletmesine ait hasta çipura balığının solungaç kesitinde kırmızı renge boyanmış immun pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).



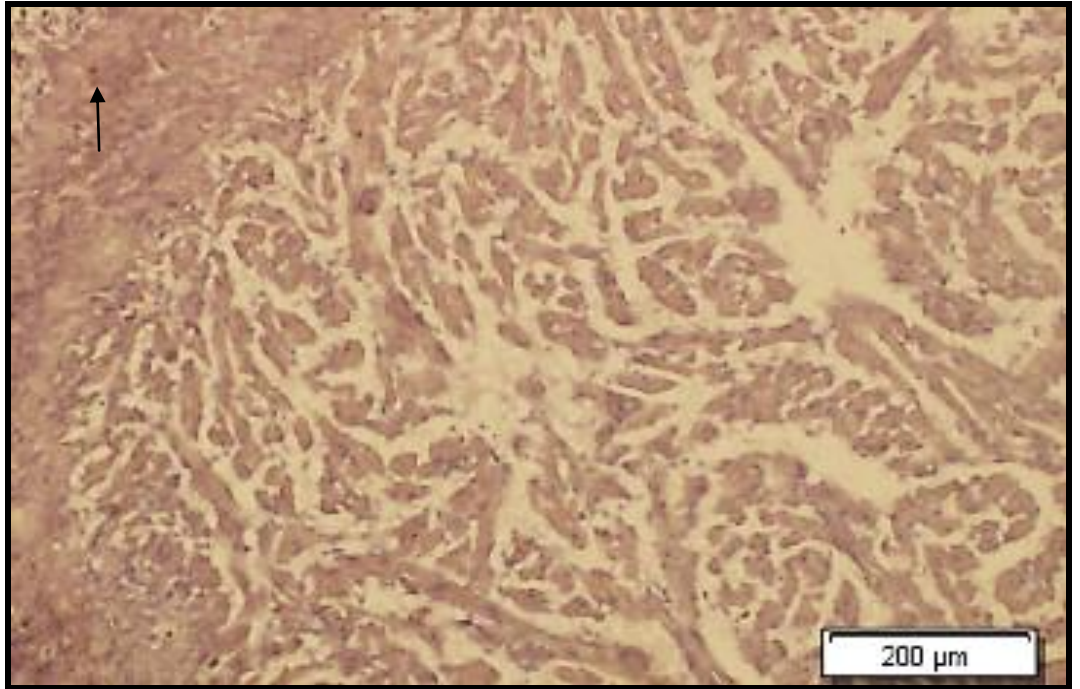
Şekil 4.55: 2.örneklemenin yapıldığı H işletmesine ait enfekte çipura balığının karaciğerinde arterin etrafındaki karaciğer hücrelerinde yaygın immun pozitif odaklar (okla gösterilmiştir).



Şekil 4.56: G işletmesine ait 1 nolu balığın dalak dokusunda IHC metot sonucu immun pozitif odaklar (okla gösterilmiştir)



Şekil 4.57: 1nolu hasta çipura balığının böbrek tübüllerinde yoğun immun pozitif odaklar (okla gösterilmiştir).



Şekil 4.58: G işletmesinden temin edilen 1 nolu enfekte çipura balığının kalp dokusunun epikardiyum tabakasında immun pozitif alanlar (okla gösterilmiştir).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Vibrio anguillarum'un neden olduğu vibriosis bir çok deniz balığı türünde ve tatlı su balıklarında görülmekle birlikte tuzlu sularda yetiştiriciliği yapılan balıkların en önemli ve en iyi bilinen hastalıklarından biridir. Genellikle *Vibrio anguillarum*'un neden olduğu klasik vibriosis, deniz ve tatlı sularda yetiştiriciliği yapılan balıklarda ağır kayıplara neden olmaktadır (Noga, 2000; Austin ve Austin, 2007).

V. anguillarum denizde yetiştiriciliği yapılan coho salmon balıklarından (*Oncorhynchus kisutch*) (Winton ve diğ., 1983; Trust, 1986), birçok deniz balığından (Toranzo ve Barja, 1990), tatlı su alabalıklarından (Muroga, 1975; Giorgetti ve diğ., 1981) ve istiridye gibi kabuklulardan izole edilmiştir (Bollinches ve diğ., 1986). Yurdumuzdaki daha önceki çalışmalara bakıldığında *V. anguillarum* yetiştiriciliği yapılan hasta çipura (Candan, 1991), levrek (Demircan ve Candan, 2006; Korun ve Timur, 2008) ve gökkuşağı alabalıklarından (Timur ve Korun, 2004; Tanrıkul, 2007) izole ve identifiye edilmiştir.

Bu çalışma kapsamında 2011 yılının Ağustos ayında ve 2012 yılının Nisan ayında gerçekleştirilen örnekleme çalışmaları sonucu 15 adet hasta gökkuşağı alabalığı, 10 adet levrek ve 8 adet çipura balığı incelenmiştir. Bu balık örneklerinden yapılan ekimler sonucunda toplam 10 izolatin TCBS ve VAM besiyerlerinde gelişme göstererek sarı renkli koloniler meydana getirdiği, O/F glukoz buyyon testinde fermantatif özellik gösterdiği, O/129 vibriostat testine hassas oldukları, indol, beta-galaktosidaz (ONPG), Voges-Proskauer (VP) ve arjinin dihidrolaz testlerine pozitif reaksiyon verdiği ve H₂S, Metil Red (MR), lizin ve ornitrin dihidrolaz testlerinin negatif olduğu tespit edilen bu isolatların morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin diğer araştırmacılar tarafından bildirilen özelliklere benzerlik gösterdiği için bakteriler *V. anguillarum* olarak izole ve identifiye edilmiştir (Muroga, 1975; Bolinches ve diğ., 1986; Buller, 2004; Austin ve Austin, 2007).

V. anguillarum 01 ve 02 serotiplerinin arabinozdan asit üretimi farklı olduğu ve serotip 01 izolatlarının buyyon kültürlerde pelikül oluşturmadığı halde 02 izolatlarının oluşturduğu bildirilmiştir (Larsen ve Olsen, 1991). Toranzo ve Barja (1990) yaptıkları çalışmalarında bütün *V. anguillarum* serotip 01 suşlarının arabinoz pozitif sonuç verirken 02 suşlarının arabinozu fermente etmediklerini bildirmiştir. Bu tez çalışmasındaki örneklemeler sonucunda izole ve identifiye edilen 10 adet *V. anguillarum* izolatlarına ait 1, 9 ve 10 numaralı bakterilerin arabinozdan asit üretemedikleri dikkati çekerken (Santos ve diğ., 1995; Korun, 2006; Austin ve Austin, 2007), diğer izolatların ise arabinozdan asit ürettikleri tespit edilmiştir (Santos ve diğ., 1995; Austin ve Austin, 2007; Tanrıkul, 2007).

Bu çalışmada *V.anguillarum*'un izole edildiği hasta kültür gökkuşağı alabalığı, levrek ve çipura balıklarında görülen iştahsızlık, deri renginde koyulaşma, solungaçlarda solgunluk, ağız etrafında ve tavanında, operkulumda, deride, pelvik yüzgeç ve anal yüzgeç üzerinde, yüzgeç diplerinde hemoraji gibi eksternal klinik bulgular ve iç organlarda solgunluk, splenomegali, karaciğerde hiperemi ve hemoraji, bağırsakta sarı renkli sıvı birikimi gibi internal klinik bulgular diğer araştırmacıların bulguları ile benzerlik gösterirken (Post, 1987; Noga, 2000; Korun, 2006; Austin ve Austin, 2007; Tanrıkul, 2007; Korun ve Timur, 2008) bu tez çalışmasında incelenen levrek balıklarının karaciğerinde hiperemi ve hemoraji yerine dokunun renginde solgunluk ve hemorajik odaklar gözlenmiştir.

V.anguillarum ile enfekte gökkuşağı alabalıklarında çalışan farklı araştırmacıların belirttiği gibi karaciğerde görülen hemorajik odaklar bu çalışmadaki hasta gökkuşağı alabalıklarının dokularında da gözlenmiştir (Richards ve Roberts, 1978; Noga, 2000; Timur ve Korun, 2004). Ancak böbrek dokusunda özellikle tübüllerde bozulma yanı sıra interstisiyel alanda hücre ve matriks kaybı, dalakta doku kaybı, kalp kasının fibrilleri arasındaki bağ dokusunda boşalma gözlenirken solungaçlara ait histolojik kesitlerde ise sekonder solungaç lamellalarının epitel hücrelerinin bütünlüğünde bozulma gibi histopatolojik bulgular da farklılıklar tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasında kullanılan hasta levrek balıklarının viseral organlarının ve solungaçlarının histopatolojik yönden incelenmesi sonucunda diğer bilim insanlarının

(Timur ve diğ., 2004; Korun, 2004; Korun ve Timur, 2008) bildirdiği gibi karaciğerde küçük hemorajik odaklar, böbrek tübüllerinde dejenerasyon, melanomakrofaj merkezlerinde hemosiderin depozitleri gibi bulgular benzerlik gösterirken, kalp kasına ait fibriller arasını dolduran bağ dokuda boşalma, dalakta doku kaybı yanı sıra solungaç filament ve lamellalarının yapısal düzeninde bozulma gibi bulgulardaki farklılıklar dikkati çekmiştir.

Enfekte çipura balık dokularının histopatolojik olarak incelenmesi sonucunda Candan (1991) ve Korun (2006) bildirdiğinden farklı olarak böbrek dokusunda interstisiyel alanda hücre ve matriks kaybı, böbrek tübüllerinde dejenerasyon, dalakta doku kaybı, kalp kasında fibril arası bağ dokuda boşalma yanı sıra solungaç lamellalarının yapısal düzeninde bozulma tespit edilirken sadece karaciğer hücrelerinde vakuoler dejenerasyon oluşumunda benzerlik gözlenmiştir.

Bu çalışmada *V. anguillarum* ile enfekte gökkuşağı alabalığı, levrek ve çipura balıklarına ait dokuların immunohistokimyasal yöntemlerden immunoenzimatik boyama metotlarından biri olan streptavidin-biotin tekniği ile incelenmesi sonucunda bu bakteriye ait antijenlerin Engelsen ve diğ. (2008) ve Avcı ve diğ. (2012) tarafından belirtildiği gibi solungaçlarda yoğun olarak gözlenmiştir. Solungaçlarda bu bakterinin yoğun olarak görülmesi Laurencin ve Germon (1987) tarafından belirtildiği gibi *V.anguillarum*'un solungaçları birincil giriş yolu olarak kullandığının göstergesi olabileceği düşünülmektedir.

Avcı ve diğ. (2012)'nin enfekte gökkuşağı alabalığı ile yaptığı araştırmada bildirdiği gibi bu çalışmada incelenen hasta alabalık ve levrek balığının kalbinde ventrikül kas liflerinde immun pozitif alanlar gözlenmesine rağmen, çipura balığında ise kalbin epikardiyumunda immun pozitif alanlar gözlenmiştir.

Bu çalışmada enfekte üç balık türüne ait karaciğer dokularında immun pozitif alanların sinuzoidlerde, nekrotik alanlarda gözlenmesi diğer araştırmacıların hasta gökkuşağı alabalığı (Avcı ve diğ., 2012) ve kalkan balıklarındaki (Grisez ve diğ., 1996) bulgularına benzerlik göstermesine rağmen bu çalışmada incelenen balıkların karaciğer

dokularında özellikle arter etrafındaki hücrelerde yaygın immun pozitif alanlara rastlanılmıştır.

V. anguillarum ile enfekte her üç tür balığın böbrek dokularında ise immun pozitif alanların daha önce yapılan araştırmaların sonuçlarına benzer şekilde sadece böbrek tübüllerinde yoğun olduğu tespit edilmiştir (Avcı ve diğ., 2012). Ayrıca Mutoloki (2008)'nin belirttiği gibi melanomakrofaj merkezlerinin bu boyayı aldığı dikkati çekmiştir.

Enfekte balık türlerine ait dalak dokularında immunohistokimyasal incelemeler sonucunda alabalık, levrek ve çipura balıklarının dalak kesitlerinde immun pozitif alanlar Avcı ve diğ. (2012)'nin yaptığı çalışmanın sonucuna benzer şekilde sinus ve nekrotik alanlarda tespit edilmiştir. Bu çalışmada daha önce yapılan çalışmalardan farklı olarak alabalık ve levrek balıklarına ait dalak dokularında damara yakın bölgelerde immun pozitif reaksiyonlara rastlanılırken çipura balığına ait balık dokularında bu durum gözlenmemiştir.

Yürütülen bu çalışma sonucunda her üç balık türüne ait dalak ve karaciğer dokularında damara yakın bölgelerde de immun pozitif alanlara rastlanması Grisez ve diğ.(1996)'nin belirttiği gibi bu bakterilerin bağırsağın lamina propriasından kan yolu ile karaciğer ve diğer iç organlara taşındığının bir göstergesidir. Ancak etkenin solungaçlarda yoğun olarak görülmesi Laurencin ve Germon (1987)'nin belirttiği gibi *V.anguillarum*'un sadece bağırsak yolu ile değil aynı zamanda solungaçlar yolu ile de balığı enfekte ettiğini göstermektedir.

Sonuç olarak; bu tez çalışması ile Muğla ilinde bulunan ve kültürü yapılan gökkuşağı alabalığı, levrek ve çipura balığı işletmelerindeki vibriosisin klinik belirtilerini gösteren hasta balık örneklerinde hastalığı teşhis etmek amacıyla bakteriyolojik, histolojik ve immunohistokimyasal metotlar kullanılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda hasta balıklardan hastalık etkeni olarak *Vibrio anguillarum* izole ve identifiye edilmiştir. Histolojik incelemeler sonucunda enfekte balıkların iç organlarına ve solungaçlarına ait doku kesitlerinde hastalıkla ilgili genel patolojik bozukluklar gözlenirken immunohistokimyasal boyama yöntemi sonuçlarına göre hastalığın gelişim evresine

bağlı olarak etkenin karaciğer, dalak, böbrek ve kalp yanı sıra solungaçlarda özellikle kan damarlarına yakın bölgede yoğunlaştığı tespit edilmiştir. Bu alışma ile *V. anguillarum* bakterisinin StrepABC–IHC yöntemi ile teşhisi levrek ve ipura balıklarının dokularında ilk kez yapılmış olup elde edilen verilerin bu yöntemin immun hassasiyetinin yüksek olması nedeniyle bu bakterinin tanısında güvenilirliğinin de yüksek olabileceğini açıkça işaret etmektedir. Dolayısı ile çalışmanın sonuçları *V. anguillarum* nedenli balık hastalıklarının teşhisinde diğer immün yöntemlere göre daha yaygın kullanımının nn aacaktır.



KAYNAKLAR

- ACTIS, L.A., TOLMASKY, M.E., CROSA, J.H., 1999, *Vibriosis, Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infection*, CAB INTERNATIONAL, Wallingford, Oxon, 0 85199 194 7.
- AFONSO, A., GOMES, S., SILVA, J., MARQUES, F., HENRIQUE, M., 2005, Side Effects in Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) Due to Intraperitoneal Vaccination Against Vibriosis and Pasteurellosis, *Fish & Shellfish Immunology*. Vol.19, No.1.
- AKAYLI, T., 2001, Kültür Çipura Balıklarında (*Sparus auratus*, L. 1758) Vibriosis'in ELISA ve Bakteriyolojik Yöntemlerle Teşhisi, Doktora, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- AKAYLI, T., TİMUR, G., YARDIMCI, E., 2008, Çipura Balığında (*Sparus aurata*) *Vibrio* Suşlarının Patojenik Özelliklerinin Tespiti, *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*. Vol.23, No.2.
- AKŞIRAY, F., 1954, "Türkiye Deniz Balıkları Tayin Anahtarı", İ.Ü. Fen Fak. Hidrobiyoloji Araştırma Enstitüsü Yayınları, İstanbul, 277 sf.
- ALESSIO, G., BRONZI, P. 1974, Artificial Reproduction of the Gilt-Head Bream *Sparus Aurata* (L.) (Osteichthys, Sparidae), The Artificial Insemination, Incubation, and Hatching of Eggs Obtained by Hormone Induced Ovulation. *Boll. Pesca Piscic. Idrobiol.* Vol. 29, No. 2, 123-132.
- ALPBAZ, A.G., 1996, *Deniz Balıkları Yetistirciliği*, II. Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova- İzmir, Yayın No: 20.
- ALPBAZ, A., 2005, *Su Ürünleri Yetiştiriciliği*, II. Baskı, Alp Yayınları, Bornova- İzmir, 975-97056-1-3.
- ALSINA, M.J., MARTIEZ-PICADA, J.J., BLANCH, R., 1994, A Medium For Presumptive Identification of *Vibrio anguillarum*, *Applied and Environmental Microbiology*. Vol.60, No.5, 1681-1683.
- ARAS, N.M., KOCAMAN, E.M., ARAS, M.S., 2000, General Fisheries and Fundamental Principals of Aquaculture (in turkish), Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları, Erzurum. No. 216.
- ARDA, M., SEÇER, S., SARIEYYÜPOĞLU, M., 2005, *Balık Hastalıkları*, Medisan Yayınları, Ankara, ISBN 75-7774-53-7.

ATAY, D., 1994, *Marine Fish Culture Techniques*, Ankara University Faculty of Agriculture Publications (in Turkish), 1352, Lecture Notes: 392, Ankara.

AUSTIN, B., LEE, J.V., 1992, *Aeromonadaceae and Vibrionaceae*. In: *Identification in Applied and Environmental Microbiology*. (Board, R.G., Jones, D. And Skinner, F.A. Eds.) Society for Applied Bacteriology Series, Blackwell, London. Vol. 29, No. 29, 163-182.

AUSTIN, B., AUSTIN, A., 1999, *Vibrionaceae Representatives*, in *Austin and Austin*, eds, *Bacterial Fish Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish*, 3rd ed., Praxis Publ., Chichester, 978-1-4020-6068-7.

AUSTIN, B., AUSTIN, D.A., 2007, *Fish Pathogens Disease in Farmed and Wild Fish*, Ellis Horwood Ltd., Chichester, England, 978-1-4020-6068-7.

AVCI, H., BİRİNCİOĞLU, ÇAĞIRGAN, H., 2012, Pathological and Immunohistochemical Investigations in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Experimentally Infected with *Vibrio anguillarum*, *Revue de Medecine Veterinaire*. Vol.1, No. 163, 31-39.

AYDIN, F., KÖKSAL, G., DEMİR, N., BEKCAN, S., KIRKAĞAÇ, M., GÖZGÖZOĞLU, E., ERBAŞ, S., DENİZ, H., MALTAŞ, Ö., ARPA, H., 2009, Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Politikaları, Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, S.791., 3-7 Ocak 2005, Milli Kütüphane-Ankara.

BAKİ, B., DALGIÇ, G., 2009, Ordu İli Perşembe İlçesinde Levrek (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) Yetiştiriciliği Yapan İşletmelerin Üretim ve Teknik Özellikleri, *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*. Vol. 1, No.24, 8-12.

BANCROFT, J. D., 2008, *Theory and Practice of Histological Techniques*, China, 78-0-443-10279-0.

BARNABE, G., 1990, *Fish Rearing*, part 4: Rearing Bass and Gilthead Bream. *Aquaculture*, Ellis Horwood, 0-13-044199-6.

BAT, L., ERDEM, Y., TIRIL, S.U., YARDIM, Ö., 2008, *Balık Sistematiği*. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 978-605-395-127-8.

BAUMANN, P., BANG, S. S., BAUMANN, L. 1978, Phenotypic Characterization of *Beneckea anguillara* biotypes I and II, *Current Microbiology*. Vol. 1, No. 2, 85–88.

BAUMANN, P., SCHUBERT, R.H.W., 1984, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Family II, Vibrionaceae, Veron 1965, Williams and Wilkins, Baltimore, 0-683-04108-8.

BENLİ H. A., UÇAL, O., 1990, *Deniz Balıkları Yetiştirme Tekniği*, TOKB Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın No. 3, Bodrum.

BERGH, O., 1999, Bacterial Pathogens Associated With Early Life Stages of Marine Fish, *Microbial Interactions in Aquaculture Microbial Biosystems*.

- BERGH, O., VIKANES, L., MAKRIDIS, P., SKJERMO, J., KNAPPSKOG, D., RØDSETH, O.M., 2001, Uptake and Processing of a *Vibrio anguillarum* Bacterin in *Artemia franciscana* Measured by ELISA and Immunohistochemistry, *Fish & Shellfish Immunolog.* Vol. 11, No. 1, 15–22.
- BOESEN, H.T., PEDERSEN, K., KOCH, C., LARSEN, J.L., 1997, Immune Response of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) to Antigenic Preparations from *Vibrio anguillarum* Serogroup O1, *Fish and Shellfish Immunology.* Vol. 7, No. 8, 543–553.
- BOLINCHES, J., TORANZO, A.E., SILVA, A., BARJA, J.L., 1986, Vibriosis as the Main Causative Factor of Heavy Mortalities in the Oyster Culture Industry in Northwestern Spain, *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists.* Vol. 6, No. 1-4.
- BOSTAN, H., YILDIZ, A.Ö., 2008, Isparta İlindeki Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*, W.,1792) İşletmelerinde Kullanılan Karma Yemlerin Analizi Üzerine Bir Araştırma, *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi.* Vol. 4, No.1, 1-2.
- BRUSLE, J., ROBLIN, C., 1984, Sexualite du loup *Dicentrarchus labrax* en condition d'élevage controle, L'Aquaculture du bar des Sparides, INRA Publication, Paris, 33-43.
- BUCKMAN, S.Y., KOKI, A. T., EDWARDS, D.A., PENTLAND, A. P., 1999, Immunohistochemical Analysis of Cyclooxygenase Expression in Human Skin. In: *Methods in molecular biology*, Vol. 12, No.4.
- BULLER, N.B., 2004, *Bacteria From Fish And Other Aquatic animals: A Practical Identification Manual*, CABI Publishing, Wallingford, 0851997384.
- BULLOCK, G.L., SNIESZKO, S.F., 1971, *Bacterial Diseases of Fish*, Diseases of Fishes, Book 2 A.T.F.H., UK,0-632-03497-1.
- BULLOCK, G.L., 1987, Vibriosis in Fish, Fish Disease Leaflet 77, U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service.
- CANDAN, A., 1991, Çipura (*Sparus aurata L.*) Yetiştiriciliğinde Mevsimsel Olarak Görülen Hastalık Etkenlerinin Tespit ve TedaviYönteminin Geliştirilmesi, *Doktora tezi*, İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, 1-76.
- CHAVES-POZO, E., MUNOZ, P., LOPEZ-MUNOZ, A., PELEGRIN, P., AYALA, A.G., MULERO, V., MESEGUER, J., 2005, Early Innate Immune Response and Redistribution of Inflammatory Cells in the Bony Fish Gilthead Seabream Experimentally Infected With *Vibrio anguillarum*, *Cell and Tissue Research.* Vol. 320, No. 1, 61–68.
- CHAVES-POZO, E., PELEGRIN, P., GARCIA-AYALA, J., GARCIA-AYALA, A., MULERO, V., MESEGUER, J., 2004, Acidophilic Granulocytes of the Marine Fish Gilthead Seabream (*Sparus aurata L.*) Produce Interleukin-1b Following Infection with *Vibrio anguillarum*, *Cell and Tissue Research.* Vol. 316, No. 2, 189–195.

CIPRIANO, R.C., PYLE, J.B., STARLIPER, C.E., PYLE, S.W., 1985, Detection of *Vibrio anguillarum* Antigen by the Dot Blot Assay, *Journal of Wildlife Diseases*, Vol. 21, No. 3, 211-218.

CUNNINGHAM, C.O., 2002, Molecular Diagnosis of Fish and Shellfish Diseases: Present Status and Potential Use in Disease Control, *Aquaculture*. Vol. 206, No. 1-2, 19-55.

CULLING, C.F.A., 1963, *Handbook of Histopathological Techniques* (Including Museum Tecnique) Second Edition, Butterworth&Co. (Publisher) Ltd., London.

ÇAĞILTAY, F., 2007, *İç Su Balıkları Yetiştiriciliği*, Nobel Yayın No: 1217, Ankara, 978-605-011-0.

ÇAĞIRGAN, H., 1993, A Study on Diagnosis and Treatment of Bacterial Diseases in Cultured Sea Bass (*Sparus aurata* L.) and Sea Bream (*Dicentrarchus labrax* L.), Ph.D Thesis117.

ÇAVDAR, 2011, Türkiye Güncel Mevzuatı Işığında Organik Su Ürünleri Yetiştiriciliği, *Yunus Araştırma Bülteni*. Vol. 1, No. 2-7.

ÇELİKKALE, M.S., 1988, *İç su Balıkları ve Yetiştiriciliği*, Cilt 1, K.T.Ü. Yayın, No:124, Trabzon.

ÇELİKKALE, M.S., DÜZGÜNEŞ, R., OKUMUŞ, İ., 1999, Türkiye Su Ürünleri Sektörü Potansiyeli, Mevcut Durumu, Sorunları ve Çözüm Önerileri, İstanbul Ticaret Odası. Yayın No: 1999-2, 975-512-321-0.

DEMİRCAN, D., CANDAN, A., 2006, Identification of *Vibrio anguillarum* by PCR (rpoN Gene) Associated with Vibriosis in Marine Fish in Turkey, *Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences*. Vol. 30, No.3, 305-310

EKİCİ, S., DİLER, Ö., ALTUN, S., 2005, Kültürü Yapılan Balıklarda Görülen Vibriosis Enfeksiyonları. XIII Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. 01-04 Eylül 2005, Çanakkale.

ENGELSEN, A.R., SANDLUND, N., FİKSDAL, I.U., BERGH, O., 2008, Immunohistochemistry of Atlantic Cod Larvae *Gadus morhua* Experimentally Challenged with *Vibrio anguillarum*, *Diseases of Aquatic Organisms*. Vol. 80, No. 10.3354, 13-20.

FAO, 2006, <http://www.fao.org>.

FERGUSON, H., 1988, Anaesthesia and Treatment, *Fish Diseases Refresher Course for Veterinarians*, Post Graduate Committe in Veterinary Science, University of Sydney, Sydney, 08146829.

FRERICHS, G. N., ROBERTS, R. J., 1989, *The Bacteriology of Teleost*, R. J. Roberts [ed.], Fish Pathology, London, Baillière Tindall, 978-1-4443-3282-7.

- GILDBERG, A., MIKKELSEN, H., 1998, Effects of Supplementing The Feed to Atlantic Cod (*Gadus morhua*) Fry with Lactic Acid Bacteria and Immuno-Stimulating Peptides During a Challenge Trial With *Vibrio anguillarum*, *Aquaculture*, Vol. 167, No.1-2, 103–113.
- GIORGETTI, G., TOMASIN, A.B., CESCHIA, G., 1981, First Italian Anti-Vaccination Experiments of Freshwater Farmed Rainbow Trout, *Developments in Biological Standardization*, Vol. 49, 455-459.
- GIORGETTI, G., 1999, The cost of disease Eurofish, *The Fish Vet's Page*.
- GONZALEZ, S.F., OSORIO, C.R., SANTOS, Y., 2003, Development of a PCR Based Method for the Detection of *Listonella anguillarum* in Fish Tissues and Blood Samples, *Diseases of Aquatic Organisms*. Vol. 55, No. 2.
- GRISEZ, L., OLLEVIER, F., 1995, Comparative Serology of The Marine Fish Pathogen *Vibrio anguillarum*, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 61, No. 12.
- GRISEZ, L., CHAIR, M., SORGELOOS, P., OLLEVIER, F., 1996, Mode of Infection and Spread of *Vibrio anguillarum* in Turbot *Scophthalmus maximus* Larvae After Oral Challenge Through Live Feed, *Diseases of Aquatic Organisms*. Vol. 26, No.3, 181-187.
- HARTAVI, T., 1998, Atatürk Baraj Gölünde Mevsimsel Alabalık Yetiştiriciliği, Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Zootehni Anabilim Dalı, Şanlıurfa.
- HAYAT, M.A., 2002, *Microscopy, Immunohistochemistry and Antigen Retrieval Methods*, Kluwer academic/plenum Publishers, New York, 0-306-46770-4.
- HIRONO, I., MASUDA, T., AOKI, T., 1996, Cloning and Detection of The Hemolysin Gene of *Vibrio anguillarum*, *Microbial Pathogenesis*. Vol. 21, No. 3, 173-182.
- HINTON, D.E., 1990, *Histological Techniques, Methods for Fish Biology*, American Fisheries Society, Maryland, USA, 0-913235-38-X.
- HJELTNES, B., ROBERTS, R.J., 1993, Vibriosis, *Bacterial Diseases of Fish*, First ed., Blackwell, Oxford, 0-632-0-3497-1.
- HOLT, J.D., KRIEG, N.R., SNEATH, P.H.A., STALEY, J.T., WILLIAMS, S.T. (ed.), 1994, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th edn, Baltimore: Williams & Wilkins, 978-0-683-00603-2.
- IRIE T., WATARAI S., IWASAKI T., KODAMA H., 2004, Binding of *Vibrio anguillarum* to Neutral Glycosphingolipids from Intestinal Mucosa of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), *The Journal of Veterinary Medical Science*, Vol. 66, 205-208.
- JOOSTEN, P.H.M., TRIGUEROS, M.A., SORGELOOS, P., ROMBOUT, J.H.W.M., 1995, Oral Vaccination of Juvenil Carp (*Cyprinus carpio*) and Gilthead Seabream (*Sparus aurata*) with Bioencapsulated *Vibrio anguillarum* Bacterin, *Fish and Shellfish Immunology*. Vol. 5, 289 – 299.

KIEHN, E.D., PACHA, R.E., 1969, Characterization and Relatedness of Marine Vibrios Pathogenic for Fish: Physiology, Serology and Epidemiology, *Journal of Bacteriology*. Vol. 100, No. 3, 1242-1247.

KNAPPSKOG, D.H., RØDSETH, O.M., SLINDE, E., ENDERSEN, C., 1993, Immunochemical Analyses of *Vibrio anguillarum* Strains Isolated from Cod, *Gadus morhua* L., Suffering from Vibriosis, *Journal of Fish Diseases*. Vol.16, No. 4, 327-338.

KONEMAN, E. W., ALLEN, S. D., JANDA, W. M., SCHRECKENBERGER, P. C., WINN, W. C., 1997, Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th edn., Lippincott, Philadelphia, PA.

KORUN, J., 2004, Kültür Levrek Balıklarında (*Dicentrarchus labrax* L.) Vibriosis ve Pasteurellosis' in Bazı Diagnostik Kitler ve Laboratuar Yöntemleri İle Teşhisi Üzerinde Bir Çalışma. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Hastalıklar Programı.

KORUN, J., 2006, Kültürü Yapılan Çipuralarda (*Sparus aurata* L.) Görülen *Listonella anguillarum* Enfeksiyonu Üzerine Bir Çalışma, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*. Vol. 23, No.1/2, 259-263.

KORUN, J., TİMUR, G., 2008, Marine Vibrios Associated with Diseases Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) in Turkey, *Journal of Fisheries Sciences*. Vol. 2, No.1, 66-76.

LARSEN, J.L., OLSEN, J.E., 1991, Occurrence of Plasmids in Danish Isolates of *Vibrio anguillarum* Serovars 01 and 02 and Association of Plasmids with Phenotypic Characteristics, *Appl. Environ. Microbiol*, Vol. 57, No.8, 2158-2163.

LAURENCIN, F.B., GERMON E., 1987, Experimental Infection of Rainbow Trout, *Salmo Gairdneri* R., By Dipping in Suspension of *Vibrio anguillarum*: Ways of Bacterial Penetration; Influence of Temperature and Salinity, *Aquaculture*, Vol.67, 203-272.

LI, L., ROCK, L.J., NELSON, D.R., 2008, Identification and Characterization of a Repeat-in-Toxin Gene Cluster in *Vibrio anguillarum*, *Infection and Immunity*, Vol. 76, No. 6, 2620-2632.

LOPEZ-CASTEJ, G., SEPULCRE, M.P., ROCA, F.J., CASTELLA, B., PLANAS, J.V., MESEGUER, J., MULERO, V., 2007, The Type II Interleukin-1 Receptor (IL-1RII) of The Bony Fish Gilthead Seabream *Sparus aurata* is Strongly Induced After Infection and Tightly Regulated at Transcriptional and Post-transcriptional Levels, *Molecular Immunology*. Vol. 44, No. 10, 2772-2780.

LUND, V., BORDAL, S., KJELLEN, O., MIKKELSEN, H., SCHRODER, M. B., 2006, Comparison of Antibody Responses in Atlantic Cod (*Gadus morhua* L.) to *Aeromonas salmonicida* and *Vibrio anguillarum*, *Developmental & Comparative Immunology*, Vol. 30, No. 12, 1145-1155.

MATER, S., 1981, İzmir Körfezi'ndeki Bazı Teleost Balıkların Pelajik Yumurta ve Larvaları Üzerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi Fen Fak. Biyolojik Oseanografi Bölümü ve Hidrobiyoloji Enstitüsü, Bornova, İzmir, 118 s.

McDOWELL, M.T., COLWELL, R.R., 1985, Phylogeny of The Vibrionaceae and Recommendation for Two New Genera Listonella and Shewanella, *Systematic and Applied Microbiology*. Vol. 6.

MUUS, B.J., DAHLSTROM, P. 1971, Collins Guide to the Freshwater Fishes of Britain and Europe. Collins, London.

MUTOLOKI, S., ALEXANDERSEN, S., GRAVNINGEN, K., EVENSEN, Q., 2008, Time-Course Study of Injection Site Inflammatory Reactions Following Intraperitoneal Injection of Atlantic Cod (*Gadus Morhua* L.) with Oil-Adjuvanted Vaccines, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 24, No.4.

MYHR, E., LARSEN, J. L., LILLEHAUG, A., GUDDING, R., HEUM, M., HASTEIN, T., 1991, Characterization of *Vibrio Anguillarum* and Closely Related Species Isolated from Farmed Fish in Norway, *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 57, No. 9, 2750-2757.

MORETTI, A., FERNANDEZ-CRIADO, M.P., CTTIOLIN, G., GUIDASTRI, R., 1999, Manuel on Hatchery Production of Seabass and Gilthead Seabream, Vol. 1, Italy, 92-5-104380-9.

MUROGA, K., 1975, Studies on *Vibrio anguillarum* and *Vibrio anguillicida* Infections. Journal of the Faculty of Fisheries and Animal Husbandry, Hiroshima University. Vol. 14, 101-105.

MULERO, I., SEPULCRE, M.P., ROCA, J.F., MESEGUER, J., GARCIA-AYALA, A., MULERO, V., 2008, Characterization of Macrophages From the Bony Fish Gilthead Seabream Using an Antibody Against the Macrophage Colony-Stimulating Factor Receptor, *Developmental and Comparative Immunology*. Vol. 32, No. 10, 1151–1159.

NOGA, E.J., 2000, *Fish Diseases: Diagnosis and Treatment*, Iowa State University Press, Ames, 081382558X.

OLAFSEN, J.A., CHRISTIE, M., RAA, J., 1981, Biochemical Ecology of Psychrotrophic Strains of *Vibrio anguillarum* Isolated From Outbreaks of Vibriosis at Low Temperature. *Syst. Appl. Microbiol.*, Vol. 2, 339–348.

OSORIO, C., TORANZO, A.E., 2002, DNA-Based Diagnostics in Sea Farming. In: Fingerman, M., Nagabhushanam, R. (Eds.), Recent Advances in Marine Biotechnology Series, Seafood Safety and Human Health, vol. 7. Science Publishers, Inc., Plymouth, UK, 230:1338-43.

ÖZTAY, F., 2006, The Responses of Some Pulmonary Neuroendocrine Cells to The Different Experimental Condition in The Lung of *Rana ridibunda*, *Animal Biol*, Vol. 56, No.3, 373-382.

- ÖZTAY, F., 2008, The Functional Morphology of The Pulmonary Neuroendocrine Cells in the Lung of Larval and Adult *Rana ridibunda* (Amphibia-Anura), *IUFS J Biol*, Vol. 67, No.2, 145-151.
- PLANAS, M., PEREZ-LORENZO, M., HJELM, M., GRAM, L., FIKSDAL, I.U., BERGH, O., PINTADO, J., 2006, Probiotic Effect in Vivo of *Roseobacter* Strain 27-4 Against *Vibrio (Listonella) anguillarum* Infections in Turbot (*Scophthalmus maximus* L.) Larvae, *Aquaculture*. Vol. 255, No. 1-4, 323–333.
- PEDERSEN, K., GRISEZ, L., HOUDT, R., TIAINEN, T., OLLEVIER, F., LARSEN, J.L., 1999, Extended Serotyping Scheme for *Vibrio anguillarum* with the Definition and Characterization of Seven 0-Serogroups, *Current Microbiology*. Vol. 38, No. 3, 183-189.
- PLUMB, J.A., 1999, Health Maintenance and Principal Microbial Diseases of Cultured Fishes, Iowa State University Press, Florida, Iowa, 978-0-8138-1693-7.
- PLUMB, A.J., BOWSER, P.R., 1983, *Microbial Fish Diseases Laboratory Manual*, Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University.
- POST, G., 1987, *Bacterial Diseases of Fishes*, Textbook of Fish Health, T.F.H. Publications, New Jersey, 00753..
- RANSOM, D. P., LANNAN, C. N., ROHOVEC, J. S., FRYER, J. L., 1984, Comparison of Histopathology Caused by *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii* in Three Species of Pacific Salmon, *Journal of Fish Diseases*. Vol. 7, No. 2, 107-1115.
- REED, A.P., FRANCIS-FLOYD, R., 1996, *Vibrio Infections of Fish*, (Online), Edis, University of Florida, [http: www//edis.ifas.ufl.edu](http://edis.ifas.ufl.edu).
- RICHARDS, R.H., ROBERTS, R.J., 1978, The Bacteriology of Teleost, *Fish Pathology*, Baillere Tindall, London, England, 0702006742.
- SANDLUND, N., RODSETH, O.M., KNASSKOG, D.H., FIKSDAL, I.U., BERGH, O., 2010, Comparative Susceptibility of Turbot, Halibut, and Cod Yolk-Sac Larvae to Challenge with *Vibrio* spp., *Diseases of Aquatic Organisms*. Vol. 89, No. 1, 29–37.
- SANTOS, Y., PAZOS, F., BANDIN, I., TORANZO, A. E., 1995, Analysis of Antigens Present in the Extracellular Products and Cell Surface of *Vibrio anguillarum* Serotypes 01, 02, and 03, *Applied and Enviromental Microbiology*. Vol. 61, No. 7, 2493-2498.
- SØRENSEN, U.B.S., LARSEN, J.L., 1986, Serotyping of *Vibrio anguillarum*, *Applied. Enviromental Microbiology*. Vol. 51, No. 3, 593-597.
- STEVENSON, J.P., 1987, *Trout Farming Manual*, 2 nd ed, Fishing News Boks Ltd., England, 0-85238-149-2.
- TANRIKUL, T. T., ÇAĞIRGAN, H., TOKSEN, E., 2004, Identification of Isolated *Vibrio* sp. From Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) Using API 20 E System, *Ege University Faculty of Fisheries Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. Vol. 21, No. 3-4, 243-247.

TANRIKUL, T.T., 2007, Vibriosis as an Epizootic Disease of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey, *Pakistan Journal of Biological Sciences*. Vol. 10, No. 10, 1733-1737.

TİMUR, G., TİMUR, M., 2003, *Balık Hastalıkları*, İstanbul Üniversitesi Rektörlük Yayın No: 4426, İstanbul, 975-404-699-9.

TİMUR, G., TİMUR, M., AKAYLI, T., ÇAMLİBEL, U.R., 2004, Kültür Çipura (*Sparus Aurata*) Balıklarında Oodiniasis ve Vibrio Ko-enfeksiyonu, *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*. Vol. 18, No. 9-18.

TİMUR, G., KORUN, J., 2004, First Outbreak of Vibriosis in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey, Istanbul University, *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. Vol. 18, No.1-11.

TORANZO, A.E., BARJA, J.L., 1990, A Review of the Taxonomy and Seroepizootiology of *Vibrio Anguillarum*, with Special Reference to Aquaculture in the Northwest of Spain, *Diseases of Aquatic Organisms*. Vol. 9, No. 1.

TORANZO, A.E., MAGARİNO, B., ROMALDE, J.L., 2005, A Review of the Main Bacterial Fish Diseases in Mariculture Systems, *Aquaculture*. Vol. 246, No. 1-4, 31-67.

TRUST, T., 1986, Pathogenesis of The Infectious Diseases of Fish, *Annual Review of Microbiology*. Vol. 40, No. 10.1146.

TUİK, 2012, <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=10863> , 3eylül 2012.

TWEDT, R. M., 1989, *Vibrio Parahaemolyticus*, In Foodborne Bacterial Pathogens, New York, Marcel Dekker, 0-8247-7866-9.

UÇAL, O., BENLİ, H.A., 1993, Levrek Balığı ve Yetiştiriciliği, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bodrum, Seri A, Yayın No:9.

VERA, P., NAVOS, J.I., FOUZ, B., 1991, First Isolation of *Vibrio damsela* From Seabream (*Sparus Aurata*), *Bulletin European Association Fish Pathologists*. Vol. 11, No.3, 112-113.

WEST, P.A., LEE, J.V. 1982, Ecology of Vibrio Species, Including *Vibrio Cholera*, in Naturel Waters of Kent, England. *Journal of Applied Bacteriology*, 52, 435-448.

WINTON, J.R., 1979, The Diagnosis and Identification of Bacterial Fish Pathogens. Proceeding From A Conference on Disease Inspection and Certification of Fish and Fish Eggs, Oregon State Universty Publication. Vol. 79, No. 1, 25-38.

WINTON, J., ROHOVEE, J., FRYER, J., 1983, *Bacterial and Viral Diseases of Cultured Salmonids in The Pasific Northwest*, In: Bacterial and Viral of Fish, Crosa, J.H. (Ed.), Washington Sea Grant. Seattle.

WOO, P.T.K., BRUNO, D.W., 1999, *Fish Diseases and Disorders: Volume 3; Viral, Bacterial and Fungal Infections*, CABI publishing, Newyork.

ÖZGEÇMİŞ

10.12.1986 yılında İstanbul’da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi İstanbul’da tamamladım. 2005 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi’nde lisans eğitime başladım ve 2009 yılında fakülte ikincisi olarak mezun oldum. Şubat 2010’da İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü’ne bağlı olarak Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı Hastalıklar Programında yüksek lisans öğrenimime başladım. Yabancı dilim İngilizcedir.