

56/30

T. C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Salmo salar (L. 1758) LARDA BAĞIRSAK
FLORASINDAN *Aeromonas* CİNSİ
BAKTERİLERİN İZOLASYONU

Yüksek Lisans Tezi

Süheyla KARATAŞ

Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı
(Hastalıklar Programı)

Danışman: Doç. Dr. Akın CANDAN

Haziran 1996



Bu çalışma T / 9 sayılı İstanbul Üniversitesi
Rektörlüğü Araştırma Fonu Projesidir.

ÖNSÖZ

Bu konuyu bana öneren ve çalışma boyunca bana yol gösteren Sayın Hocam Doç. Dr. Akın CANDAN' a , deneylerimin yürütülmesinde yardımcı olan Prof. Dr. Mine ANĞ - KÜÇÜKER' e ve Mikrobiyoloji Bölümü çalışanlarına, Yrd. Dç. Dr. Ayşegül TOPAL'a, Çalışmanın çeşitli safhalarında yardımlarını esirgemeyen Kıyıköy Istranca ve Alarko / Alfarm balık üretim çiftliği çalışanlarına, Araş. Gör. Bülent TOPALOĞLU ve Uzman Ahmet DEMİRRAK' a, teşekkür ederim.



II İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZ VE ABSTRACT	III
I. GİRİŞ	1
I.1. Atlantik Salmonunun Biyolojisi	3
I.2. Atlantik Salmonunun Bakteriyel Hastalıkları	6
I.3. <i>Aeromonas</i> ' ların Genel Özellikleri ve Oluşturdukları Hastalıklar	9
I.4. Hareketsiz <i>Aeromonas</i> ' lar ve Oluşturdukları Hastalıklar	11
I.5. Hareketli <i>Aeromonas</i> ' ların Özellikleri ve Oluşturdukları Hastalıklar	12
I.6. Balıklarda Bağırsak Florası	16
II. MATERYAL VE METOD	24
II.1. Materyal	24
II.2. Metod	24
II.2.1. Bakteriyolojik Örnekleme	24
II.2.2. API 20 E Metodu	33

III. BULGULAR	34
III.1.2. Standart Tüp Metodu Bulguları	34
III.1.3. API 20 E Metodu Bulguları	36
IV. TARTIŞMA VE SONUÇ	38
V. ÖZET	42
SUMMARY	44
VI. KAYNAKLAR	46
VII. EKLER	55
VIII. ÖZGEÇMİŞ	68

III ÖZ

***Salmo salar* (L. 1758)' LARDA BAĞIRSAK FLORASINDAN *Aeromonas* CİNSİ BAKTERİLERİN İZOLASYONU.**

Bu çalışmanın amacı, tatlısu ve Karadeniz ortamında sağlıklı salmon balıklarının (*Salmo salar* L. 1758) bağırsak florasındaki hareketli *Aeromonas* cinsine ait suşları izole ederek tanımlamaktır. Çalışma sonunda sekiz hareketli *Aeromonas* suşu izole edilmiştir. Tatlısu örneklerinden altı, deniz örneklerinden iki *Aeromonas* suşu izole edilmiştir. Bunlardan altısı *A. caviae*, ikisi *A. sobria* olarak tanımlanmıştır.

ABSTRACT

ISOLATION OF *Aeromonas* STRAINS FROM THE INTESTINAL MICROFLORA OF ATLANTIC SALMON (*Salmo salar* L. 1758).

The aim of this study was to isolate and identify motile *Aeromonas* strains from the intestinal microflora of healthy Atlantic salmon (*Salmo salar* L. 1758) from freshwater and from Blacksea. As a result of the study eight motile *Aeromonas* strains were isolated. Six motile *Aeromonas* strains from freshwater and two motile *Aeromonas* strains from the Blacksea were isolated. And six of them were identified as *Aeromonas caviae*, two of them as *Aeromonas sobria*.

I. GİRİŞ :

Poikiloterm bir canlı olan balık doğası gereği su ortamına bağımlıdır. Doğada mevcut olan hastalık etkenleri ile birlikte yaşayabilen balıklar, ortam koşullarının çok çabuk değişebildiği ve stres faktörlerinin sürekli olduğu kültür koşullarında hastalıklara karşı çok hassastırlar.

Balıkların bağırsak florasında bulunabilen ve infeksiyonlara neden olmayan bazı bakteriler, kültür koşullarının zorlanması ve stres ile bağışıklık sisteminin yetersizliği sonucu yüksek mortaliteli epidemik infeksiyonlara neden olabilmektedir. Bu nedenle entansif kültür balıkçılığında özellikle bakteriyel ve viral hastalıklara karşı periyodik olarak profilaktif önlemlerin alınması ve gerekli olduğu durumlarda sağaltım yöntemlerinin bilinçli bir şekilde uygulanması son derece önemlidir (Candan, 1991) .

Homotermik canlıların gastrointestinal sistemlerinde bulunan bakteriyel popülasyonu pekçok çalışmaya konu olmuştur. Buna karşın poikiloterm canlıların gastrointestinal sistemlerindeki kalitatif ve kantitatif bakteri popülasyonu ile ilgili bilgiler azdır (Trust , 1974 , Sarıyüpeoğlu, 1984) .

Denizde ve tatlısuda kültürü yapılan pekçok balık türünde hastalıklara neden olan bakterilerin identifikasyonu için çeşitli yöntemler geliştirilmeye çalışılmaktadır. (Santos ve ark., 1993).

Bu çalışma ile Türkiye' ye son yıllarda yurtdışından yumurtaları getirilerek yetiştirilmekte olan Atlantik salmonu (*Salmo salar*) ' nun bağırsak mikroflorasındaki hareketli *Aeromonas* cinsi bakterilerin izolasyonu ve identifikasyonu amaçlanmıştır.

Aeromonas cinsi bakteriler taksonomileri tam olarak hala belirlenememiş bir cinstir. Biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri aynı tür içinde bile, izole edildiği kaynak, kullanılan yöntem gibi faktörlere bağlı olarak farklılıklar gösterir (Sımdı ve ark.,1968, Austin ve ark., 1987, Inglis ve ark.,1993). Bu çalışma kapsamında balık kaynaklı *Aeromonas* suşlarının incelenmesinde uygulanacak biyokimyasal yöntemlerle bu bakterilerin tür düzeyinde tanısında saptanacak optimum kriterlere yer verilmiştir.

Karadeniz de suyun sıcaklığı yaz aylarında 24 - 26 °C gibi salmonidler için aşırı derecede ısınması ile 1991 yılından itibaren her yıl yaz aylarında ortaya çıkan vibriosis ve hareketli *Aeromonas* septisemisi gibi epidemik bakteriyel infeksiyonlar yüksek mortalitelere neden olmuştur (Candan,1994, Candan ve ark., 1995).

Bu çalışma fırsatçı patojen olarak tanımlanan hareketli *Aeromonas* cinsi bakterilerin patojenik yapılarının araştırılması, balığın bağırsak florasının doğal üyeleri ile ilişkisinin belirlenmesi, balık, çevre, patojen ilişkisinin daha net anlaşılmasına yardımcı olacaktır. Daha önce hastalıklı salmonlardan hastalık etkeni olarak izole edilip tanımlanan suşlarla, sağlıklı balıkların bağırsak florasındaki aynı genusa ait suşların tanımlanarak karşılaştırılabilmesi mümkün olacaktır. Böylece bu konuda daha kapsamlı immünolojik çalışmaların yapılabilmesi ve Türkiye de salmon kültürünün Karadeniz koşullarında daha başarılı bir üretim potansiyeline ulaşabilmesi mümkün olacaktır.

I.1. Atlantik Salmonunun Biyolojisi

Salmonlar ; *Oncorhynchus* (Pasifik salmonu) ve *Salmo* (Atlantik salmonu) olarak iki türdür . *Salmo* cinsine dahil olan Atlantik salmonunun tür ve cins ismi ; *Salmo salar* Linnaeus, 1758 ' dir (Muus ve ark. 1978, Sedwick, 1988 , Hart, 1973) .

Salmonidler dünyanın her yerine dağılmışlardır. Ancak esas habitatları kuzey yarımküredeki soğuk sulardır (Stoskopf, 1992).

Atlantik salmonu tatlısuda yumurtlayan gerçek bir anadrom balıktır. Yaşamlarının ilk evrelerini tatlısularda geçirdikten sonra tekrar denizlere göç ederler. Denizlerde beslenen ve cinsi olgunluğa erişen salmon balıkları üremek üzere tekrar tatlısulara dönerler. Salmonların hayat evreleri tablo I' de verilmiştir (Laird ve ark 1988 , Sedwick, 1988 , Stoskopf, 1992 , Hart, 1973).

Yumurtadan yeni çıkmış salmon larvasına "alevin" adı verilir . Alevin dönemini takip eden yavru ve parr dönemi de tatlısularda geçer. Denizde yaşayabilmesi için smoltifikasyon geçiren salmon yavrusuna "smolt " adı verilir. Bu dönemde balık gümüşümsü bir renk alır ve denizlere göç eder (Sedwick, 1988).

Salmon balıkları, çoğu tatlısuda yaşayan balıkların yüzgeç düzenine sahiptir. Vücudun alt bölgesine doğru pektoral yüzgeçler bulunur. Balığın ventral bölgesinde iki çift pelvik yüzgeç ve bir tane de anal yüzgeç bulunur. Sırtta, dorsal ve adipöz yüzgeç olmak üzere iki yüzgeç vardır. Vücut, kaudal (kuyruk) yüzgeciyle son bulur. Baş ve yüzgeçler dışında vücut, pullarla kaplıdır. Larval balıklar ilk zamanlar pulsuzdur. Pullar, balık 3 cm uzunluğa ulaşınca kadar görülmez. Pullar, cycloid tiptedir. Vücut yüzeyindeki pigmentasyon renk hücreleri veya kromotoforlar tarafından oluşturulur (Sedwick, 1988).

Atlantik salmonu (*Salmo salar* L., 1758) Salmonidae familyası üyeleri arasında ekonomik değeri en yüksek olan türlerden biridir. Bu yüzden yetiştiriciliği son yıllarda artış göstermiştir. Örneğin Atlantik salmonunun en büyük üreticisi olan Norveç' te Atlantik salmonu endüstrisi 1971 de 100 tonluk üretimden 1993 de 169000 tonluk bir üretime ulaşmıştır (Myrseth, 1989 , Norv.Fish.Farm.Ass., 1994) .

Salmon ve diğer anadrom salmonidler özel bir metamorfozis geçirirler. Tatlısudan tuzlu suya geçerken, stressiz adaptasyonlarına "smoltifikasyon " adı verilir. Denizde seksüel olgunluğa ulaşan salmon, nehirlere girer. Atlantik salmonu, Norveç kıyılarında genellikle kış ve sonbahar mevsiminde (Ekim, Ocak) yumurtalarını bırakır. Yumurtlama zamanı, coğrafik dağılıma göre değişir. Dişi balık, ilk olarak uygun büyüklükte ve derinlikte çakıl ile kaplı olan ve yeterli akıntının bulunduğu bir yumurtlama alanı seçer. Dişi, yan dönerek vücudunun aşağı - yukarı hareketi ile uygun derinlikte çukurlar açarak yumurtalarını bırakır. Bu arada erkek balık da spermelerini bırakarak yumurtaları döller. Dişi Atlantik salmonu, vücut ağırlığının kg başına 1200 - 2000 arasında yumurta bırakır. Büyük balıklar, küçüklerden daha çok yumurta bırakır. Salmon yumurtalarının inkübasyon süresi, su sıcaklığına bağlı olarak değişir. İnkübasyon süresi, ortalama 440 gün / derecedir (Sedwick, 1988).

Parr tatlısu yaşamının büyük kısmını nehirlerin sığ , akıntının azaldığı ve oksijence zengin kısımlarında geçirir. Smolt dönemine ulaşma süresi, yaz beslenme periyodunun uzunluğuna bağlıdır. Atlantik salmonunun smolt döneme ulaşma yaşı, doğada genel olarak ortalama 3 yıldır.

Denize göç ettikten sonra smolt belirli bir süre kıyı kesiminde beslenmeye devam eder. Daha sonra ise açık denize geçer.

Smolt döneminden sonra denizde 1 yıl geçirip cinsi olgunluğa eriştiğinde " Grilse", denizde 2 - 5 yıl geçirdiğinde " Salmon" adını alır. Yumurtalarını tatlısuda bırakıp denizlere döndüğünde ise " Kelt " adını alırlar (Laird ve ark., 1988).

1.2. Atlantik Salmonunun Bakteriyel Hastalıkları :

Salmonlarda diğer balık türlerinde olduğu gibi doğada ve özellikle yetiştiricilik koşullarında bakteriyel infeksiyonlara maruz kalırlar .

Aeromonas' ların hareketsiz türü *Aeromonas salmonicida* , Salmonlar da frunkulozis' e neden olmaktadır. Çıbanlar (frunkul), patolojik terminolojide fokal infeksiyon ve deri inflamasyonu olarak bilinir. Balık furunkulozisinde açık olarak lökosit

infiltrasyonu görülmez. Ölüm halindeki balıklar, koyu renkte ve letarjiktir. Yüzgeç tabanları ve ventral bölge hemorajiktir, furunküller ve ülserler meydana gelir. Karında sıvı toplanması görülür. Dalak büyümüş ve vişne rengindedir. Karaciğer solgun, böbrek şişkin ve yumuşaktır. Hematokrit değerleri normalden % 50 daha azdır. Mide ve bağırsaklar boştur; ancak kan ve mukus olabilir (Munro, 1988 ; McCarthy, 1975; Austin ve ark., 1987 ; Inglis ve ark., 1993 ; Roberts, 1987 ; Huet, 1972 , Sedwick, 1988) .

Denizde yaşayan balıklar ve kabuklularda görülen önemli bir diğer bakteriyel hastalık, vibriosistir. Bu hastalık, salmon işletmelerinde önemli kayıplara neden olmaktadır. Hastalık etkeni *Vibrio* cinsi üyeleridir. *Vibrio* cinsi bakteriler denizde, acı sularda ve balıkların normal bağırsak floralarında bulunurlar. Bu bakteriler stres altındaki balıklarda hastalık oluşturabilirler. Bu *Vibrio* türleri ; *V. anguillarum*, *V. ordali*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* ve *V. salmonicida* dır. Bu bakteriler Gram negatif, polar flagella ile hareket eden, kıvrık çomak şekilli bakterilerdir. Hastalığın özelliği deride ülserler ve hemorajilerdir. Dalak şişkin ve nekrotiktir; karın boşluğunda sıvı toplanması, iç organlarda kanama görülür (Ellis, 1989 , Sedwick, 1988, Austin ve ark., 1987, Candan , 1994) .

Vibrio cinsi bakterilerden olan *Vibrio salmonicida* Atlantik salmonunda soğuksu vibriosisine veya başka bir deyişle "Hitra" hastalığına neden olmaktadır. Hitra

hastalığının ilk klinik belirtisi yüzme bozukluğudur. Balık, klinik belirtiler görülmezsizin perakut fazda ölebilir. Dış bakıda solungaçlar solgun , yüzgeç tabanlarında hemoraji, ventral bölgede peteşiyal hemorajiler görülür.İç bakıda ise yüzme kesesinde hemorajiler, dalak açık gri renkte, karaciğer gri kahveden sarıya değişik renklerde olabilir (Inglis ve ark., 1993).

Salmon kültürünü etkileyen hastalıklardan birisi de bakteriyel böbrek hastalığıdır (BKD). İlk kez İskoçyadaki nehirlerden yakalanan Atlantik Salmonlarında 1980' de bildirilmiştir. Etken *Renibacterium salmoninarum'* dur. Gram pozitif, çomak şekilli bir bakteridir. Hem tatlısu hem de anadrom salmonidleri etkiler (Bruno, 1988, Sedwick, 1988).

Yersiniozis (Enteric Red Mouth - ERM) her ne kadar Gökkuşuğu alabahıklarının hastalığı ise de hem tatlısuda, hem de denizde bulunan Atlantik Salmonlarında da bildirilmiştir (Bruno, 1990).Etken *Yersinia ruckeri'* dir. Bakteri Gram negatif , kısa, 18 - 27 °C de hareketli, çomak şeklinde bir bakteridir (Bruno , 1990 , Austin, 1982, Austin ve ark., 1987) .

Bu hastalıklardan bugün sadece üçüne karşı ticari aşılar bulunmaktadır. Bu hastalıklar yersiniozis (Enteric Red Mouth - ERM) , vibriosis ve furunkulozistir (Ellis,

1989).Bu aşlar son yıllarda Türkiye' deki işletmelerde de zaman zaman kullanılmaktadır (Candan ve ark.,1995).

1.3. *Aeromonas*ların Genel Özellikleri ve Oluşturdukları

Hastalıklar :

Toprakta, sularda, besinlerde bulunan *Aeromonas*' lar, Gram negatif, çomak şekilli(0,3 - 1,0 µm çapında, 1,0 - 3,5 µm), oksidaz pozitif, fermentatif bakterilerdir. Genellikle hareketlidirler , yalnızca bir tür hareketsizdir (*A. salmonicida*). Glukoz ve maltozdan asit oluştururlar, ksiloz, dulcitol, inositol, adonitol, malonata etkisizdirler, katalaz etkinlikleri vardır, nitrati nitrite indirgerler. Optimum üreme sıcaklıkları 22 - 28 °C. *Aeromonas* cinsi bakteriler vibriostatik bir ajan olan O / 129' a (2,4 - diamino - 6,7 - disopropylpteridine) dirençlidirler (Popoff, 1984).

Aeromonas' lar hareket yetenekleri, karbonhidrat metabolizmaları ve diğer biyokimyasal özellikleri göz önünde bulundurularak Popoff ve ark. tarafından iki grup içinde sınıflandırılmıştır. İlk grup içinde psikrofilik hareketsiz *Aeromonas*' lar (*A. salmonicida*) ikinci grup içinde ise hareketli ve mezofilik *Aeromonas*' lar (*A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*) yer alır (Popoff, 1984).

Aeromonas cinsi bakterilerin insanda da bağırsak dışı infeksiyonlara ve diyareye neden olduğu bilinmektedir (Baron ve ark., 1990). Bu bakterilerle oluşan infeksiyonların kaynaklarının sular olabildiği bilinmektedir. Ayrıca, gerek gastroenteritlerde, gerekse barsak dışı infeksiyonlarda, *A. hydrophila* ve *A. sobria*'nın, *A. caviae*'den daha sık izole edilebildiği bildirilmiştir (Singh, 1993).

Burke ve ark., 1984' te yaptıkları bir çalışmada su ve dışkı örneklerinden *Aeromonas* suşlarının hemagglütinasyon, toksin üretimi, biyokimyasal özelliklerin farklı olduğunu saptamışlar ve bazı türlerin potansiyel patojen olabildiklerini ileri sürmüşlerdir (Burke ve ark., 1984).

Aeromonas cinsi bakteriler, doğadan, özellikle sulardan hatta klorlama yapılmış sulardan da izole edilmişlerdir (Burke ve ark., 1984, Annapurna ve ark., 1977, Newman, 1983).

1.4. Hareketsiz *Aeromonas*'lar ve Oluşturdukları Hastalıklar:

Hareketsiz *Aeromonas*, *A. salmonicida*, kompleks besiyerlerinde kokobasil olarak görülürler. Boy enin iki katından daha kısadır. Optimum üreme sıcaklıkları 22 - 25 °C dir. Nutrient agarda 22 °C de 24 - 48 saat inkübe edildiğinde yuvarlak, şeffaf ve krem rengi koloniler oluşur. *A. salmonicida* türlerinin çoğu % 1 tirozin veya fenilalalin içeren besiyerinde suda eriyebilen kahverengi pigment üretirler. Pigment üretimi anaerobik olarak görülmez. Pigment üreten türlerin, pasajlarla bu yeteneklerini yitirdikleri görülür (McCarthy, 1975). *A. salmonicida* 'nın kahverengi pigment üreten bir alt türü (*A. salmonicida salmonicida*), ayrıca kahverengi pigment üretmeyen iki alttürü (*A. salmonicida achromogenes* ve *A. salmonicida masoucida*) belirlenmiştir (Popoff, 1984).

A. salmonicida salmonicida % 0,1 tirozin veya fenilalalin içeren besiyerinde kahverengi pigment üretir, eskülin ve mannitolü fermente edebilir. İndol oluşturmaz.

A. salmonicida achromogenes suda çözünür kahverengi pigment üretmez, eskülini hidrolize ve mannitolü fermente edemez. İndol üretir.

A. salmonicida masoicida kahverengi pigment üretmez , indol oluşturur, eskülünü hidrolize eder ve mannitolü fermente eder (Popff, 1984).

A. salmonicida tatlısu ve deniz balıklarında furunkulozis etkeni olarak üretim işletmelerinde ekonomik kayıplara neden olduğu pekçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (McCarthy, 1975, Munro, 1973, Austin ve ark., 1987, Inglis ve ark., 1993 , Huet , 1972)

A. salmonicida 'nın *Salmo salar* (Munro, 1988 , Cox ve ark. 1986) ' da , *Salmo trutta* (Tharpe ve ark. 1972) ' da , *Carassius auratus* (Brenden, 1986) ' da, *Salmo gairdneri* (Lallier, 1980) de , *Abramis brama* ve *Rutilus rutilus* (McCarthy, 1975) ' da furunkulozise neden olduğu bildirilmiştir.

1.5. Hareketli *Aeromonas*' ların Özellikleri ve Oluşturdukları

Hastalıklar:

Hareketli *Aeromonas*' ların şekil ve boylarında önemli farklılıklar görülür. Optimum üreme sıcaklıkları 28 °C dir. Bazı türler 5 °C de de yaşayabilirler.

Maksimum üreme sıcaklıkları 38 - 41 °C dir. Nütrient agarda yuvarlak, kabarık, kenarları düzgün koloniler oluştururlar. Şeffaf veya deve tüyü rengi olabilirler (Popoff, 1984, Inglis ve ark.,1993) . Hareketli ve mezofilik *Aeromonas*' lar ; *A. caviae*, *A. sobria* ve *A. hydrophila* dır.

Özellikler	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. caviae</i>	<i>A. sobria</i>
Hareket	+	+	+
Eskülin hidrolizi	+	+	-
KCN brothta üreme	+	+	-
Histidin-Arjinin	+	+	-
Arabinoz	+	+	-
Salisin	+	+	-
VP	+	-	+
Glukozda gaz üret.	+	-	+
H ₂ S	+	-	+

Hareketli *Aeromonas*' lar ve Ayırt Edici Özellikleri (Inglis ve ark.,1993)

Hareketli *Aeromonas*' lar için : katalaz, lesitinaz, fosfataz, arjinin dihidrolaz, betagalaktosidaz, NaCl içeren Nütrient broth da üreme, mannitol fermentasyonu, trehaloz, fruktoz, galaktoz ve dekstrin kullanma yeteneği gibi özellikler daima pozitiftir (Popoff, 1984) .

Şu özelliklerde negatiftir : Pektinaz, ornitin dekarboksilaz etkinliği, triptofan deaminaz ve fenilalanin deaminaz, setrimidin agarda üreme, % 5 NaCl içeren buyyon besiyerinde üreme, sorboz, eritritol ve raffinazdan asit üretimi (Popoff, 1984).

Aeromonas ve *Pseudomonas* cinsi bakteriler uygun olmayan çevre koşullarında poikiloterm, homoterm ve hatta insanda çeşitli septisemik infeksiyonlara neden olmaktadır. Bu bakteriler genellikle toprakta, besinde ve suda bulunurlar (Inglis ve ark., 1993, Newman, 1983, Austin ve ark., 1987, Çolak, 1973, Palumbo, 1993).

Ayrıca hareketli *Aeromonas*' lar sağlıklı ve hasta balıklardan izole edilerek, aquatik hayvanların mikrobial florasının doğal üyeleri oldukları gösterilmiştir (Newman, 1983, Sarıyüpeoğlu, 1984, Lallier, 1980). -

Hareketli *Aeromonas*' lar dan *A. hydrophila* ve *A. caviae*' nin *Carassius auratus* (Brenden, 1986), *Micropterus salmoides* (Huizinga, 1979), *Ictalurus punctatus* (Ventura, 1987) *Anguilla anguilla* (Timur, 1984), *Salmo salar* (Candan ve ark. 1995) da infeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir.

Hareketli *Aeromonas*'lardan olan *A. hydrophila* 'nın neden olduğu hastalıklara balıklarda, amphibianlarda, invertebratlarda ve insanın da dahil edildiği memelilerde rastlanmıştır (Çolak, 1973, Palumbo, 1993, Newman, 1983) . Bu hastalıklar ; " hemorajik sepsisemi (Red sore hastalığı), infeksiyöz dropsi, rubella, red mouth, redpest veya freshwater eel hastalığı" gibi değişik isimler almıştır (Newman, 1983).

A. hydrophila jelatinaz, kazeinaz, elastaz, lipaz, lesitinaz ve deoksiribonükleaz ile hemolizinler sitotoksinler ve enterotoksinler üretir. Bunların *Aeromonas* infeksiyonunun patogenezinine ilişkin rolleri henüz tam olarak açıklanamamıştır (Newman , 1993, Kanaı ve ark. 1983 , Baron ve ark., 1990, Newman, 1983) .

A. hydrophila 'nın elastaz ve staphylolytic enzimleri ile balıklarda hastalık oluşumu arasında bir ilişki bulunmuştur . Bu enzimlerin *A. hydrophila* 'nın identifikasyonu için önemli olduğu bildirilmiştir (Santos ve ark., 1988) .

A. hydrophila, balıklar ve diğer poikilothermler için fırsatçı bir patojendir (Popoff, 1984) . Hastalık oluşturmaları, sudaki *Aeromonas* sayısı ve sıcaklıkla ilişkilidir (Groberg ve ark. 1987) .

Aeromonas' larla ilgili çalışmaların çoğu onların gastrointestinal sistemdeki patojeniteleri ile ilgilidir (Wakabango ve ark., 1992) .

I.6. Balıklarda Bağırsak Florası :

Sindirim sisteminde bulunan bakteri florasının konak fizyolojisinde önemli bir rol oynadığı iyi bilinir. Bu yüzden balıkların sindirim sistemi üzerinde pek çok çalışma yapılmıştır (Sarıeyyüpoğlu, 1984, Trust , 1974 , 1975 , Sugita ve ark., 1990) .

Deniz balıklarının bağırsak mikroflorası üzerine çalışmalar 1960 ' lı yıllarda başlamıştır. Salmon balıklarının bağırsak florasına dair pekçok çalışma yapılmıştır. Ayrıca tatlısu ve deniz balıklarının bağırsak floraları karşılaştırılmıştır. Araştırmacılar, değişik sonuçlar bulmuşlardır. Bunun sebebiyse, farklı metodların kullanılması, suyun ve besinin mikroorganizma içeriğinin farklı olması ve taksonomide sürekli değişiklik olmasıdır (Sımdı ve ark., 1968 , Sarıeyyüpoğlu , 1984) .

Ancak pekçok araştırmacı, balığın normal bağırsak florasında hareketli *Aeromonas*' ların bulunduğunu rapor etmişlerdir . Balıkların gastrointestinal sistemlerindeki kalitatif ve kantitatif bakteriyel populasyon pek çok araştırmacı tarafından incelenmiştir (Trust, 1974 , 1975, Sugita ve ark., 1982, 1985, Yoshimizu ve ark., 1976) .

Sugita ve ark. (1982) sadece gastrointestinal bölgedeki florayı değil, sudaki, sedimentteki, aquatik bitkilerdeki bakteriyel florayı da incelemişler ve *Vibrio* - *Aeromonas* grubu, *Bacteroides* cinsi bakterileri balıkların gastrointestinal sistemlerinde, suda, sedimentte, akuatik bitkilerde bulunduklarını göstermişlerdir.

Sugita ve ark. (1985) *Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella* ve *Sarotherodon niloticus* 'un bağırsak florasını 7 farklı besiyeri kullanarak incelemişler ve sazan (*Cyprinus carpio*) 'ın bağırsağında , *A. hydrophila*, *Bacteroides* , *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas* ve *Micrococcus* ; Ot sazanının (*Ctenopharyngodon idella*) bağırsağında, *A. hydrophila*, *Bacteroides* ; Tilapia (*Sarotherodon niloticus*) 'nın bağırsağında , *Bacteroides* ve *A. hydrophila* 'nın dominant olduğunu bulmuşlardır. *Aeromonas*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Bacteroides* 'lerin balık bağırsağının daimi üyeleri olduklarını göstermişlerdir .

Trust ve ark. (1974) salmonid balıklarının bağırsak florası üzerine çalışma yapmışlar ve salmonların bağırsağında *A. hydrophila* 'nın dominant olduğunu rapor etmişlerdir. *A. hydrophila* 'yı tanımlamak için , eskülini hidrolize edebilme yetenekleri , 37 °C 'de üreme , sorboz ve sorbitolu fermente edebilme , sellobiozu fermente edememe , negatif metil kırmızısı özelliklerinden yararlanmışlardır.

Trust (1975), tatlısuda kültürü yapılan Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*)' unun sindirim sistemini bakteriyolojik yönden inceleyerek , sindirim sisteminde hareketli *Aeromonas*' ların baskın olduğunu bulmuştur. Bu cinsi doğada yaşayan salmonlarda da bularak, balıkların yerleşik bağırsak florasında olduklarını belirtmiştir .

Yine Trust (1978), tatlısu salmonid balıklarının sindirim sistemini incelemiş ve mikrofloranın *Enterobacter* , *Aeromonas* ve *Acinobacter*' lerden ibaret olduğunu göstermiştir.

Bazı araştırmacılar, tatlısudan denize taşınan salmonid balıkların bağırsak florasını incelemişlerdir. Tatlısuda bulunan balıkların bağırsak florasında hareketli *Aeromonas*' ların dominant olduğunu bulmuşlardır. Denize taşınan balıklarda, *Aeromonas* ' ın *Pseudomonas* ile yer değiştirdiğine dikkati çekmişlerdir (Yoshimizu ve ark., 1976). Diğer taraftan Okuzumi ve ark. (1969) çeşitli deniz balıklarının bağırsak floralarını çalışmışlar (*Auxis thazard*, *Coryphaena hippurus*, *Katsuwonus pelamis*, *Parapristipoma trilineatum*, *Caranx helvolus*, *Katsuvonus pelamis*, *Seriola aureovittata*, *scomber tapeinocephalus*, *Trachurus japonicus*, *Nemipterus bathybius*) ve bu balıklardan izole ettikleri bakterilerinin hepsini *Vibrio* cinsi bakteriler olarak tanımladıklarını bildirmişlerdir.

Açık denizde yaşayan salmon balıklarının ve çalışılan diğer deniz balıklarının bağırsağında *Vibrio* cinsi bakteriler dominant olarak bulunmuştur (Yoshimizu ve ark.1976) .

Yapılan bazı çalışmalarda tatlısu salmonid balıklarının bağırsak florası ve içinde yaşadıkları suyun mikroflorası karşılaştırılmış ve bağırsak mikroflorasının suyun mikroflorasına benzer olduğu gösterilmiştir. Salmonların bağırsağında *Aeromonas* cinsi ile Enterobacteriaceae ailesi üyesi bakteriler dominant olarak bulunmuştur (Yoshimizu ve ark., 1976) .

Tatlısuda kültürü yapılan olgun Masu salmon (*Oncorhynchus masou*) 'un bağırsak florasında *Aeromonas*' ların dominant olduğunu ve çeşitli tatlısu balıklarının (*Salvelinus leucomaenis*, *Oncorhynchus nerka*) bağırsağında *Aeromonas*, *Pseudomonas* cinsleri ve *Enterobacteriaceae* ailesi üyesi bakterilerin bulunduğunu bildirmişlerdir. (Yoshimizu ve ark., 1976) .

Yine başka bir çalışmada , anadrom Pink (*Oncorhynchus gorbuscha*), Chum (*Oncorhynchus keta*) ve Masu (*Oncorhynchus masou*) salmonlarının bağırsağında *Aeromonas* , *Vibrio* , *Pseudomonas* cinslerine ait bakteriler dominant olarak bulunmuştur.

Vibrio' lar denizde yaşayan salmonlarda, *Pseudomonas* ve *Aeromonas*' lar ise denizde ve tatlısuda yaşayan salmonlarda bulunduğu saptanmıştır (Yoshimizu ve ark., 1976) .

Doğada bulunan balıkların sindirim sistemleri mikrofloralarının , kültürü yapılan balıklarinkinden farklı olduğu bilinmektedir (Trust , 1974 , 1975, Sugita ve ark., 1985 , Sarıeyyüpoğlu , 1984) .

Sugita ve ark. (1985) Sazan (*Cyprinus carpio*) ' ın, Ot sazanı (*Ctenopharyngodon idella*) ' nın ve tilapya (*Sarotherodon niloticus*) ' nın bağırsak florasını incelerken O / 129 ' a duyarlı , 37 °C de üreyebilen, indol üreten, H₂S üretmeyen bakterileri, Shewan ' ın metoduna göre *A. hydrophila* olarak identifiye etmişlerdir.

Ayrıca *A. hydrophila* ' yı *A. sobria* ' dan ayırt etmede eskülin hidrolizi, arabinoz ve salisin fermentasyonu özelliklerinden yararlanılmıştır. *A. hydrophila* ' da bu üç test pozitif ve *A. sobria* ' da bu üç test negatiftir (Lallier ve ark. 1980, Toranzo ve ark. 1986) .

Austin ve ark.(1988) , Inglis ve ark. (1993), *A. sobria* ' yı *A. caviae* ve *A. hydrophila* ' dan ayırt edebilmek için eskülin hidrolizi, salisin fermentasyonu, histidin, arabinoz ve arjinin üretimi özelliklerini, *A. sobria* ve *A. hydrophila* ' yı, *A. caviae* ' den

ayrıt etmede ise H₂S üretimi, glukozdan asit ve gaz oluşumu özelliklerini önemli kriterler olarak kullanılmışlardır .

Wakabongo ve ark 1992 yılında hareketli *Aeromonas*' ların şu özelliklerinin 30 ve 37 °C de incelendiğinde hızlı identifikasyonlarının yapılabildiğini bildirmişlerdir : eskülin hidrolizi, glikozda gaz üretimi, aseton üretimi, mannitol ve arabinozdan asit üretimi, lizin ve ornitin dekarboksilasyonu, arjinin dihidrolasyonu, yarı katı besiyerinde pirazinamid hidrolizi.

Candan ve ark. (1995), 1991 senesinden itibaren dört yıl dört farklı üretim işletmesindeki hasta Atlantik salmonlarının böbrek, karaciğer ve dalaklarından ekimler yapmışlardır. İzole ettikleri Gram negatif, Oksidaz pozitif, fermentatif, düzgün çomak şekilli suşları eskülin hidrolizi, salisin fermentasyonu, histidin kullanımı, arabinoz ve arjinin dihidrolasyonuna göre *A. sobria*' yı *A. hydrophila* ve *A. caviae*' den ayırmışlardır. *A. hydrophila* ve *A. sobria*' dan *A. caviae*' yi ayrıt etmede ise H₂S üretimi, glukozdan asit ve gaz oluşumu özelliklerini kullanarak izole 46 suşu *A. caviae* olarak identifiye etmişlerdir.

Yayın balıkları (*Ictalurus punctatus*)' nın karaciğerlerinden izole edilen bir *Aeromonas hydrophila* suşunun glukozdan gaz oluşturmadığı ve arjinin dihidrolaz etkinliğinin olumsuz olduğu saptanmıştır. (Ventura ve ark. 1987) .

Balık hastalıklarına neden olan bakterilerin identifikasyonu için yeni yeni metodlar geliştirilmeye çalışılmaktadır . Bu sistemlerden biri "API 20 E" multitest sistemidir. Bu sistem arjinin dihidrolasyonu (ADH) , betagalaktosidaz (ONPG) , lizin dekarboksilaz (LDC) , ornitin dekarboksilaz (ODC) , sitrat kullanımı (CIT) , H₂S üretimi (H₂S) , üreaz etkinliği (URE) , triptofan deaminaz (TDA) , indol üretimi (IND) , aseton üretimi (VP) , jelatinaz (GEL) , glikoz fermentasyonu (GLU) , mannitol fermentasyonu (MAN) , inositol fermentasyonu (INO) , sorbitol fermentasyonu (SOR) , ramnoz fermentasyonu (RHA) , sukroz fermentasyonu (SAC) , melibioz fermentasyonu (MEL) , amidalin fermentasyonu (AMY) , arabinoz fermentasyonu (ARA) gibi biyokimyasal özellikleri içerir (Santos ve ark., 1993 , Toranzo ve ark. , 1986).

Araştırmacılar klinik yüzeylerden ve çevreden izole ettikleri hareketli *Aeromonas*' ın üç türünü API 20 E kullanarak identifiye etmişlerdir (Santos ve ark., 1988, 1993, Toranzo ve ark.,1986, Wakabonga ve ark., 1992 , Burke ve ark., 1984).

Santos ve ark. (1993) *V. anguillarum*, *P. piscicida*, *A. sobria*, *A. caviae* türlerini içine alan yeni API 20E profilleri oluşturulduğu taktirde bakteriyel balık hastalıklarının tanısında kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Genellikle deniz balıklarından ve kabuklulardan izole edilen bakterilerde (*Yersinia*, *Pasteurella*, *Vibrio*, *Aeromonas* gibi) minyatürize sistemlerin başarısız olduğu gösterilmiştir. Ancak Toranzo ve ark. (1983) , Santos ve ark. (1993) , Burke ve ark (1984) API 20 E sistemini kullanarak, bu sistemin bazı kurallara uymak şartıyla *Aeromonas* genusu bakterilerin identifikasyonunda kullanılabileceğini göstermişlerdir. Bu kuralları ise şu şekilde sıralamışlardır:

1. API 20 E profil indeksi kullanılmamalı ;
2. Voges - Proskauer, sitrat, arabinoz fermentasyonu, jelatinaz gibi önemli biyokimyasal özellikler standart tüp metoduyla desteklenmeli ;
3. Eskülin hidrolizi ve salisin fermentasyonu API 20 E sistemiyle aynı zamanda tüp metoduyla yürütülmeli.

II . MATERYAL VE METOD :

II.1. MATERYAL :

Çalışma sırasında kullanılan salmon balıkları Alarko/ Alfarm salmon üretim işletmesinden ve Kıyıköy, Istranca alabalık ve salmon üretim işletmesinden elde edilmişlerdir. Çalışma için 20. 7.1995 - 22.11.1995 tarihleri arasında örnekleme yapılmıştır. Balıkların boy, yaş, cinsiyetine bakılmadan rastgele toplam 51 balık örneklenmiştir. Bunlardan 16 örnek denizde, 35 örnekte tatlısuda kültürü yapılan salmonlardan alınmıştır. Tatlısuda kültürü yapılan salmonlar smolt boydayken (ortalama 50 - 100 g. arası), denizde kültürü yapılanlarda bir grup 800 - 900 g. diğer bir grupta 2,5 - 3 kg ağırlıktayken örnekleme yapılmıştır.

II.2. METOD :

II.2.1. Bakteriyolojik inceleme :

Tüm örnekleme işlemi üretim işletmelerinde yapılmıştır. Havuzdan kepçeyle çıkartılan balıklar bir küvete alınarak, başlarına sert bir cisimle vurulmak suretiyle öldürülmüşlerdir. Standart aseptik yöntemler uygulanarak karın boşluğu açılmıştır. Bağırsaktan 2 - 3 cm uzunluğunda bir parça kesilerek steril bir petriye alınmıştır. Petrideki parçadan bir öze dolusu dışkı 1 / 10 oranında alkali peptonlu suya alınarak, çalkalamak suretiyle homojenize olması sağlanmıştır. Daha sonra örnekler laboratuvara getirilerek 25 - 26 °C de 24 saat inkübasyondan sonra denizden alınan örneklere ait tüplerden % 1 NaCl içeren Triptik Soy Agar besiyerine, tatlısudaki örneklere ait tüplerden ise normal Triptik Soy Agar besiyerine azaltma yöntemiyle ekimleri yapılmıştır.

Ekim yapılan besiyerleri 25 - 26 °C de 24 saat inkübe edilmiştir . İnkübasyon sonunda oluşan koloniler morfolojik yapıları açısından incelenmiştir. Yuvarlak , düzgün , krem rengi kolonilerden Triptik Soy agar besiyerlerine saf kültürleri alınmıştır. Saf kültürler eğri Triptik Soy Agar besiyerlerinde ve + 4 °C de ayda bir kez pasajları yapılarak saklanmıştır (Sarıyyüpoğlu, 1984, Trust, 1974, 1975 , Sugita ve ark., 1985 , Roberts , 1978).

Uzun süre saklamak için de % 15 gliserol içeren Nutrient Broth besiyerine ekimleri yapılarak - 70 °C de dondurulmuştur (Toranzo ve ark., 1986, Austin ve ark., 1988, Wakabango ve ark., 1992 , Santos ve ark., 1988 , Ventura ve ark., 1987 , santos ve ark ., 1993) .

İzole edilen suşların ilk olarak hareket yetenekleri , fermentasyon özellikleri, sitokrom oksidaz etkinlikleri, Gram boyanma özellikleri ve 0 / 129' a duyarlılıkları incelenmiştir. Sitokrom oksidaz pozitif olarak saptanan , Gram negatif, 0 / 129' a dirençli, hareketli, düzgün çomaklar Aeromonas kuşku olarak belirlenip cins ve tür düzeyinde tanıları amacıyla , indol , voges - prouskauer, metil red, glukozdan asit ve gaz oluşumu , laktoz , mannitol , sukroz , eskulin hidrolizi, lizin , arjinin , ornitin dekarboksilaz etkinliği, %1-7 NaCl' de üreme gibi fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri açısından incelenmiştir (Popoff, 1984 , Sugita ve ark., 1985 , Bain ve ark., 1968 , Sally ve ark., 1986 , Roberts , 1978).

Çalışmamız kapsamında bakterilerin izolasyonları, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin incelenmeleri amacıyla kullanılan besiyerlerinin formülleri ile gerçekleştirilen deneylerin prensipleri aşağıda belirtilmiştir (Çotuk ve Küçükler , 1992, Baron ve ark., 1990, Çetin ve ark., 1973) .

INDOL ÜRETİMİ

Tripton	10 g.
NaCl	5 g.
Pepton (Oxoid)	20 g.
D.su	1000 ml.

pH=7,5

120 °C de 15 dak. steril edilmiştir. (Otoklav ' da)

24 saatlik saf kültürlerden alınarak ekim yapılmıştır . İnkübasyon sonunda 1 cm³ eter damlatılıp çalkalanarak üzerine 15 damla Ehrlich ayıracı damlatılmıştır. Hemen sonuçlar okunmuştur, üstte kırmızı halka pozitif olarak kabul edilmiştir .

Ehrlich Ayıracı

Paradimetilaminobenzaldehit	2 g.
Alkol	190 cm ³
HCl (Kesif)	40 cm ³

METİL KIRMIZISI / VOGES PROSKAUER TESTİ

Polipepton (Bio Merieux)	7 g.
Glukoz (Merck)	5 g.
Dipotasyumfosfat	5 g.
D.su	1000 ml.

pH=6,9

Saf kültürden buyyona ekim yapılarak, 25-26 °C de 24 saat inkübe edilmiştir.Üzerine 5 damla indikatör damlatılarak sonuçlar hemen okunmuştur.

Yüzeyde stabil kırmızı pozitif olarak kabul edilmiştir .

Metil Kırmızısı Ayıracı :

Metil kırmızısı (Carlo Erba 476853)	0,1 g
Etil alkol (% 95)	300 ml
Distile su	200 ml

Voges Proskauer Ayıracı :

1. Alfa - naftol (% 5)	5 g
Absolü etil alkol	100 ml
2. Potasyumhidroksit (Merck)	40 g
Distile su	100 ml

0,6 ml Alfa - naftol

0,2 ml KOH damlatılır.

15 dak. beklenir Kırmızı renk oluşumu pozitif olarak kabul edilmiştir .

DEKARBOKSİLASYON BESİYERİ

K ₂ HPO ₄ (Merck)	0,5 g
MgSO ₄ (Merck)	0,5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄ (Merck)	1 g
Dextrose (Merck)	1,5 g
Maya özeti (Difco)	0,5 g
Bromkrozolmoru (Merck)	4 ml
Distile su	1000 ml

pH = 6,8

Otoklavda 120 °C 15 dak.

100 cc Dekarboksilaz besiyeri için 2 g (Lizin veya Arjinin) . 100 °C de 20 dak.

Kontrol besiyeri kullanılmıştır, 24 saatlik saf kültürden hem aminoasit içermeyen, hemde aminoasit içeren tüplere ekim yapılarak 24 saat 25 - 26 °C de inkübe edilmiştir. Amino asit içeren besiyerinde

Mor renk oluşumu pozitif

Sarı renk oluşumu negatif olarak kabul edilmiştir .

KARBONHİDRATLARDAN ASİT ÜRETİMİ

Pepton (Oxoid)	5 g
NaCl	2,5 g
Bromtimol (Sigma)	5 cc
Distile su	500 cc

pH = 7,4

Otoklavda 120 °C de 15 dak.

Peptonlu sulara laktoz (Merck), sukroz (Riedel - de Haen), mannit (Merck) gibi şekerlerden % 1 oranında ilave edilerek 100 °C de 20 dak. steril edilmiştir. Gaz oluşumunu incelemek için durham tüplerinden yararlanılmıştır. Şekerli peptonlu sulara 24 saatlik kültürlerden ekim yapılarak 25 - 26 °C de 24 saat inkübe edilmiştir. Besiyerinin yeşil olan renginin sarıya dönüşmesi, şekerlerin üreyen bakteriler tarafından kullanılarak asit oluşturduğunu göstermiştir . Gaz oluşumuysa Durham tüpleri içinde, gazın toplanması ile anlaşılmıştır .

ESKÜLİN HİDROLİZİ

Şekerler için kullanılan peptonlu su kullanılmıştır. 1000 ml için 1g eskülin ilave edilmiştir. Ekim yapıp 25 - 26 °C de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 1-2 damla Ferriksitrat dökülerek sonuçlar okunmuştur.

Siyah renk pozitif olarak kabul edilmiştir.

ALKALİ PEPTONLU SU :

Pepton (Oxoid)	1 g
NaCl	0,5 g
Distile su	100 cc

pH = 8,4

Otoklavda 120 °C de 15 dak.

% 1 ve % 7 NaCl Peptonda Üreme :

Pepton (Oxoid)	1 g
NaCl	1 g veya % 7 için 7 g
Distile su	100 cc

pH = 7,4

Otoklavda 120 °C de 15 dak.

HAREKETLİLİK MUAYENESİ

LLB (Lab Lemco Bouillon) :

Beef extract (Difco)	7 g
Pepton (Oxoid)	10 g
NaCl	3 g
Na ₂ HPO ₄ (Merck)	2 g
Agar (Difco)	% 0,45
Distile su	1000 ml

pH = 7,5 - 7,6

Otoklavda 120 °C de 20 dak.

Sterilizasyondan sonra son konsantrasyon % 0,1 olacak şekilde besiyerine, filtrasyon yöntemiyle steril edilmiştir. Glukoz ilave edilmiş ve 5cm çapındaki petri kutularına dökülerek dondurulmuştur. Taze kullanılmasına özen gösterilen besiyerine 24 saatlik kültürlerden ekim yapılmıştır. Ekimler petri kutusunun kenarına yakın tek bir noktadan yapılarak, 24 saat uygun sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Üreme tüm besiyeri yüzeyini kaplayacak şekilde ise hareket yeteneğinin pozitif olduğu, ekim yapılan bölgede üreme sınırlanmış ise negatif olduğu kabul edilmiştir.

OKSİDATİF-FERMENTATİF TEST

OF Basal Medium (Difco 0688 -02) kullanıldı.

Distile su 1000 ml

OF besiyeri 9,4 g

Otoklavda 120 °C de 15 dak.

pH =7,1

100 ml besiyeri için 1 g Glukoz ilave edilerek, 100 °C de 20 dak. steril edilerek tüplere dökülmüştür.

1. İki tüp hazırlanarak

2. Öze ile 24 saatlik kültürlerden OF besiyerine dibe kadar batırılarak ekim yapılmıştır. Tüplerden biri parafinlenmiştir.

25 - 26 °C de 24 saat inkübe edilmiştir.

Açık tüp	Sarı	Sarı	Yeşil
	Oksidatif	Fermentatif	Non saccoralitik
Kapalı tüp	Yeşil	Sarı	Yeşil

renk oluşumuna göre tanımlanmıştır .

II.2.2. API 20E Metodu (Bio Merieux):

İzole edilen Gram negatif , oksidaz pozitif , fermentatif ve O / 129 ' a dirençli suşların triptik soy agar besiyerinde (Deniz örnekleri için % 1 NaCl içeren) 24 saatlik kültürleri elde edilmiştir. Denizden alınan örnekler steril serum fizyolojik tuzlusuda , tatlısu örnekleri ise API 20 E normal süspansiyon sıvısında sulandırılarak kullanılmıştır . 24 saatlik saf kültürlerden bir öze dolusu alınarak 5 ml sulandırma sıvılarına konmuş ve çalkalamak suretiyle homojenize olması sağlanmıştır. Bakteri süspansiyonundan steril bir enjektör yardımıyla alınarak API 20 E kitlerindeki mikro tüplere ekimleri yapılmıştır. sitrat, Voges - Proskauer ve jelatinaz tüp ve havuzcuklarının tamamı doldurulmuştur. Diğer testlerde sadece tüpler doldurulmuştur. Arjinin dehidrolasyonu, lizin dekarboksilaz, ornitin dekarboksilaz , üreaz , H₂S tüpleri mineral yağ ile kapatılarak, 25 - 26 °C de 24 saat inkübe edilmiştir (Onarheim ve ark., 1990 , Santos ve ark., 1993) .

İnkübasyon sonunda tüpler kontrol edilmiş ve ayıraçlar damlatılarak sonuçlar okunmuştur.

III. BULGULAR :

III.1. Standart Tüp Metodu :

Çalışmanın amacına uygun olarak , üreyen koloniler saflaştırılarak pasajları alınmıştır. Sitokrom oksidaz pozitif olarak belirlenen Gram negatif düzgün çomaklar *Aeromonas* kuşkulu olarak belirlenip, cins ve tür düzeyinde tanıları amacıyla çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri açısından incelenmiştir.

API - 20 E ve standart tüp metodları kullanılarak gerçekleştirilen test sonuçlarına göre izole edilen sekiz suşda *Aeromonas* cinsi olarak tanımlanmıştır. İdentifiye edilen suşların biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri Tablo II de gösterilmiştir.

Sekiz Gram negatif, hareketli, oksidaz pozitif, düzgün çomak şeklindeki suşun O / 129' a duyarlılıkları belirlenmiştir. Sekizinde O / 129' a dirençli olduğu görülmüştür (Şekil 1, 2, 3, 4, 5)

Aeromonas cinsi olarak tanımlanan sekiz sitokrom oksidaz pozitif, fermentatif, Gram negatif, hareketli, O/ 129 'a dirençli çomak şeklindeki suşun yedisi standart tüp metodunda indol oluştururken bir suşun indol oluşturmadığı görülmüştür (Şekil 6).

Tatlısuda kültürü yapılan salmonların bağırsağından alınan örneklerden izole edilen altı *Aeromonas* suşunun dördünde standart tüp metodunda Voges Proskauer deneyi negatif sonuçlar verirken, iki suшта pozitif sonuçlar vermiştir (Şekil 7, 8) .

Metil kırmızısı deneyi tatlısu örneklerinin sadece birinde pozitif sonuç vermiştir . Sukroz, % 1 NaCl ve % 7 NaCl de üreme bütün suşlarda pozitif sonuç vermiştir .

Arjinin dehidrolaz, sekiz suşun altısında pozitif sonuçlar (Şekil 9), diğer iki suшта negatif sonuçlar vermiştir. Ornitin yalnız bir suшта pozitif (Şekil 10), diğer suşlarda negatif sonuçlar vermiştir (Şekil 11).

Mannitol, glukozdan asit oluşumu ve eskülin hidrolizi altı suшта pozitif sonuçlar, iki suшта ise negatif sonuçlar vermiştir (Şekil 12). Laktoz, lizin dekarboksilaz sekiz suşun sekizinde de negatif sonuçlar vermiştir.

Gram negatif, oksidaz pozitif, düzgün çomak şeklindeki sekiz suş fermentatif olarak bulunmuştur (Şekil 13, 14) .Bunların dışında ornitin dekarboksilaz, glukozdan gaz oluşumunda farklılıklar bulunmuştur. Glukozdan gaz oluşumu üç suшта pozitif (Şekil 15), beş suшта negatif sonuçlar vermiştir (Şekil 16) .

Denizde kültürü yapılan salmonların bağırsaklarından izole edilen *Aeromonas* sp. lerin her ikisinde de laktoz, ornitin, lizin, metil kırmızısı negatif , % 1 NaCl de üreme, % 7 NaCl de üreme pozitif sonuç verirken tablo II de görüldüğü gibi diğer özellikler birbirinde farklı sonuçlar vermiştir.

Denizden alınan 16 *Salmo salar* 'ın bağırsak floralarının incelenmesi sonucu iki, tatlısuda bulunan 35 *Salmo salar* 'ın bağırsak floralarından ise altı *Aeromonas* suşu izole edilmiştir (Şekil 17).

İzole edilen bütün türler 37 °C de üremiştir .

III.2. API -20 E

Balıkların bağırsaklarından izole edilen *Aeromonas* türleri API -20E multitest sistemi' de kullanılarak identifiye edilmeye çalışılmıştır . API -20E, kullanımının kolay olması ve çabuk sonuç vermesi nedeniyle tercih edilen bir yöntemdir (Şekil 17).

Tatlısu örnekleri normal süspansiyon sıvısında,denizdeki balıklardan alınan örneklerde steril serum fizyolojikte sulandırılarak kullanılmıştır. 25 - 26 °C de 24 saat inkübe edildikten sonra ayraçlar damlatılarak, sonuçlar hemen okunmuştur .

Tatlısuda kültürü yapılan salmonlardan alınan örneklerden *Aeromonas* olarak izole edilen suşlardan hepsinin indol oluşturduğu görülmüştür . Suşlardan birinde indol pozitif sonuç vermesine rağmen betagalaktosidaz (ONPG) , sitrat (CIT) , voges proskauer (VP) , jelatinaz (GEL) , arabinoz (ARA) , inositol (INO) , mannitol (MAN) , sorbitol (SOR) , glukoz fermentasyonu (GLU) , triptofan deaminaz (TDA) , ramnoz (RHA), melibioz fermentasyonu (MEL) , amidalin fermentasyonu (AMY) için negatif sonuçlar vermiştir.

VP iki suшта pozitif, dört suştada negatif sonuçlar vermiştir. –TDA bütün suşlar için negatif sonuçlar vermiştir . Tablo III de görüldüğü bütün suşlarda benzer olarak bulunmuştur.

Denizde kültürü yapılan salmonlardan izole edilen iki *Aeromonas* suşundan biri Gel, Ara, Ino, Man, Sor, Glu, Rha, Mel, Amy, NO₂ negatif sonuç verirken diğ r suşta bu  zellikler pozitif olarak bulunmuştur.

Voges Proskauer denizden izole edilen suşlardan birinde pozitif sonuç verirken diğ rinde negatif sonuç vermişt r.



V. TARTIŞMA VE SONUÇ :

Taksonomileri kesin olarak tamamlanmamış olan ve özellikle tür düzeyinde tanılarında güçlüklerle karşılaşıl原因 *Aeromonas*' lar ile çalışan araştırmacılar onların değişik biyokimyasal özelliklerini göz önünde bulundurarak tanımlamaya çalışmışlardır (Janda, 1991, Trust ve ark., 1974, Wakabongo ve ark., 1992, Lallier ve ark., 1980, Toranzo ve ark., 1986, Austin ve ark., 1988, Inglis ve ark., 1993).

Tatlısuda ve denizde kültürü yapılan Atlantik salmonu (*Salmo salar* L. 1758)' nun bağırsak florasından API 20E sistemi ve standart tüp metodu kullanılarak hareketli *Aeromonas*' lar tanımlanmıştır.

Bu çalışmada hareketli *Aeromonas*' ların tanımlanması; H₂S üretimi, glukozdan asit üretimi, arabinoz, arjinin dehidrolaz ve eskülin hidrolizi gibi önemli ayırıcı kriterleri kullanan Austin ve ark. (1987), Inglis ve ark. (1993)' na göre yapılmıştır. Ayrıca bu sonuçlar Toranzo ve ark. (1986), Lallier ve ark. (1990), Candan ve ark. (1995) ile de benzerlik göstermiştir.

Çalışmada incelenen 51 *Salmo salar*' ın bağırsak florasının incelenmesi sonucu sekiz *Aeromonas* suşu izole edilmiştir. İzole edilen suşlardan ikisi Austin ve ark. (1987), Inglis ve ark. (1993)' e göre negatif eskülin hidrolizi, arjinin dehidrolaz, glukozdan asit üretimi ve arabinoz özelliklerine bakılarak *A. sobria* olarak tanımlanmıştır. Geri kalan altı suşta bu özellikler pozitif bulunarak *A. caviae* olarak tespit edilmiştir.

Denizde kültürü yapılan Atlantik salmonunun bağırsağından izole ettiğimiz iki *Aeromonas*' tan biri *A. sobria* diğeri *A. caviae* olarak identifiye edilmiştir.

Çeşitli deniz balıklarının bağırsak florası ve suyun mikroflorası üzerine çalışmalar yapmış araştırmacılar, *Aeromonas* cinsi bakterilerin su ortamının ve bağırsak florasının doğal yerleşeni olduklarını, düşük madde konsantrasyonlarında da üreyebildiklerini belirtmişlerdir (Yoshimizu ve ark., 1976, Trust , 1974, 1975, 1978, Sugita ve ark., 1982, 1985, 1990, Sarıyüpeoğlu, 1984 , Newman, 1983).

Pek çok araştırmacının bildirdiği gibi bu çalışmada da *Aeromonas*' lar sağlıklı balıkların bağırsak florasından izole edilmiştir. Buda *Aeromonas*' ların normal bağırsak florasının daimi üyeleri olduklarını göstermiştir.

Çeşitli deniz balıklarının bağırsak florasında *Vibrio* suşları dominant olarak bulunmuştur (Okuzumi ve ark., 1969). Ayrıca tatlısuda ve denizde yaşayan salmonların bağırsak florasında farklılıklar bulmuşlar ve balık denize taşındığında bağırsak florasında bulunan *Aeromonas*' ların *Pseudomonas*' lar ile yer değiştirdiğine dikkati çekmişlerdir (Yoshimizu ve ark.,1976).

Hem tatlısuda hemde denizde kültürü yapılan balıkların bağırsak florasından hareketli *Aeromonas*' lar identifiye eden pekçok araştırmacı gibi (Sugita ve ark., 1985, Trust, 1975,1978, Yoshimizu ve ark., 1976, Ventura ve ark.,1987,Yoshimizu ve ark.,1976) bu çalışma sırasında hem tatlısuda hemde denizde kültürü yapılan salmonların bağırsak florasından hareketli *Aeromonas*' lar identifiye edilmiştir. Bunun nedeniye Karadeniz' in kendine özgü ‰ 18 - 21 (White ve ark., 1988) gibi düşük bir tuzluluk değerine sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Bazı araştırmacılar halen kullanılmakta olan API multitest sistemlerin hareketli *Aeromonas*' ların üç türünü (*A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*) ayırt edemeyeceğini, çünkü bunların gerekli spesifik biyokimyasal testleri içermediğini ileri sürmüşlerdir (Santos ve ark., 1993).

Bu çalışmada identifikasyon sırasında Toranzo ve ark. (1983), Santos ve ark. (1993), Burke ve ark. (1984)' nın bildirdikleri gibi, glukozdan asit üretimi, voges - proskauer, eskülin, arjinin gibi *Aeromonas*' ların identifikasyonunda önemli özellikleri standart tüp metoduyla yapılarak API 20 E sonuçları desteklenmiştir. Ayrıca *Aeromonas*' ları *Vibrio*' dan ayırt edebilmek için Millership ve ark.(1983), Sally ve ark. (1986), Bain ve ark. (1968), Baron ve ark. (1990)' nın bildirdikleri gibi O / 129' a dirençlilik özelliklerinin incelenmesinden yararlanılmıştır.

Bu çalışmada izole edilen suşların hepsi Toranzo ve ark. (1986)' nın bildirdikleri gibi API 20 E indeksine bakılmadan değerlendirilmiştir.

Pek çok araştırmanın (Sugita ve ark. 1982, 1985, Trust, 1974, 1975, 1978, Yoshimizu ve ark. 1976, Newman, 1983, Saneyyüpoğlu, 1984) bildirdiği gibi bu çalışmada da *Aeromonas*' lar sağlıklı balıkların bağırsak floralarından izole edilmiştir. Buda *Aeromonas*' ların normal bağırsak florasının daimi üyeleri olduklarını göstermiştir.

Wakabongo ve ark. (1992) biyokimyasal özelliklerin 30 °C den çok 37 °C de iyi sonuç verdiğini bulmuşlardır. Ancak bu çalışmada bunun tam tersi, 25 °C de inkübe edildiğinde reaksiyonların iyi incelendiği saptanmıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada izole edilen *A. caviae* suşları ile Candan ve ark. (1995)' nın hastalıklı salmonlardan izole ettiği suşlar aynı biyokimyasal özellikleri göstermişlerdir. Bu da Karadeniz koşullarında üretilen salmonlarda hemorajik septisemilere neden olan hareketli *Aeromonas* ' ların sağlıklı balığın bağırsak florasında bulunabildiği ve Popoff (1984), Groberg ve ark. (1987)' nın bildirdikleri gibi oportunistik bir patojen olarak su sıcaklığının aşırı yükselmesi ile oluşan stres koşullarında infeksiyonlara neden olabildiğini ortaya koymuştur. Dolayısıyla balık, çevre, patojen ilişkisinde balık için, çevresel faktörlerin olumsuz koşullarda ne kadar önemli olduğu ve obligatif bir patojene gerek kalmadan infeksiyon oluşturabildiğini göstermiştir.



V. ÖZET :

Salmo salar (L. 1758)' LARDA BAĞIRSAK FLORASINDAN *Aeromonas* CİNSİ BAKTERİLERİN İZOLASYONU

Bu çalışmanın amacı, tatlısu ve Karadeniz ortamında sağlıklı salmon balıklarının (*Salmo salar* L. 1758) bağırsak florasındaki hareketli *Aeromonas* cinsine ait suşları izole ederek tanımlamaktır. Böylece Karadeniz koşullarında yaz aylarında deniz suyu sıcaklığının artışı ile paralel olarak ortaya çıkan hareketli *Aeromonas* septicemisin olası oportunistik etkeninin varlığını saptamaktır.

Çalışmada 51 adet balık kullanılmıştır . Denizden ve tatlısudan alınan sağlıklı balıkların bağırsaklarından aseptik koşullarda Triptik Soy Agar besiyerine ekimleri yapılmıştır. Laboratuvarıda üreyen kolonilerin pasajları alınarak saflaştırılmıştır.

Oksidaz pozitif, Gram negatif, çomak şekilli bakteriler ayrılarak karbonhidrat metabolizmalarının saptanması amacı ile oksidasyon fermentasyon besiyerine ekilmiştir. Vibriostatik ajan O / 129' a duyarlılıkları saptanmıştır.

Tür düzeyinde tanımları amacıyla; indol oluşumu, voges - prokauer, metil kırmızısı, glukozdan asit ve gaz oluşumu, laktoz, mannitol, sukroz, eskülin hidrolizi, lizin arjinin, ornitin dekarboksilaz, hareket yeteneği ve % 1 - 7 NaCl de üreme standart tüp metodu ile yapılmıştır. Ayrıca hızlı ve paralel identifikasyon amacıyla API 20 E multitest sistemi kullanılmıştır.

Çalışma sonunda sağlıklı 51 adet tatlısu ve denizde kültürü yapılan salmon balığından sekiz hareketli *Aeromonas* suşu izole edilmiştir. Tatlısu örneklerinden altı,

deniz örneklerinden iki *Aeromonas* suşu izole edilmiştir. Bunlardan altısı *A. caviae*, ikisi *A. sobria* olarak tanımlanmıştır.



V. SUMMARY

ISOLATION OF *Aeromonas* STRAINS FROM INTESTINAL MICROFLORA OF ATLANTIC SALMON (*Salmo salar* L. 1758).

The aim of this study was to isolate and identify motile *Aeromonas* strains from the intestinal microflora of healthy Atlantic salmon (*Salmo salar* L.1758) from freshwater and from Blacksea. To determine the presence of the opportunistic pathogen of motile Aeromonad septicaemia in Bleacksea when the water temperatures rise during the summer months.

In the study 51 salmon were used. Samples from the intestinal tract of the healthy salmon were taken in the aseptical condition and were cultivated by using TSA (Tryptic Soy Agar) medium. In the laboratory, passages of the reproduced colonies were taken and pured.

Oxidase positive, gram negative, rod shaped bacteria were cultuired in OF medium for the purpose of identifying their carbonhydrate metabolism. And were examined for their sensitivity to Vibriostatic agent (O / 129) for the species level identification indol, VP, metil red, glucose fermentation, ornithin decarboxilase, motility and growth at 1 - 7 % NaCl were checked by the standart tube method. For the purpose of rapid and confirmatory identification API 20 E Multitest system was used.

As a result of the study, six motile *Aeromonas* strains from freshwater and two motile *Aeromonas* strains from the Blacksea were isolated. And six of them were identified as *Aeromonas caviae*, two of them as *Aeromonas sobria*

VI. KAYNAKLAR

ANNAPURNA, E. and SANYAL, S. C. (1977) : Enterotoxicity of *Aeromonas hydrophila*, J. Med. Microbiol. Vol. 10.

AOKI, T., TAKAHASHI, A. (1987) : Class D Tetracycline Resistance Determinants of R Plasmids from the Fish Pathogens *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda*, and *Pasteurella piscicida*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Aug. p. 1278 - 1280 , Vol. 31, NO: 8.

AOKI, T. (1988) : Drug - Resistant Plasmids From Fish Pathogens . Microbiological Sciences Vol. 5, No: 7 , P. 219 - 223.

AUSTIN, B., AUSTIN, D. A. (1987) : Motile *Aeromonads* , Bacterial Fish Pathogens Disease in Farmed and Wild Fish, 171-177.

BAIN , N., SHEWAN, J. M. (1968) : Part B, Soc. Appl. Bacteriol. Tech. Ser. No : 2, Academic pres, Newyork, 79 - 84 .

BARON, E. J., FINEGOLD, S. M. (1990) : Bailey and Scott' s Diagnostic Microbiology 8. edth.

BRENDEN , R. A., HUIZINGA , H. W. (1986) : Pathophysiology of Experimental *Aeromonas hydrophila* Infection in Goldfish, *Carassius auratus* (L.) Journal of Fish Diseases , 9, 163 - 167 Diseases, 9, 163 - 167.

BURKE, V., ROBINSON, J., COOPER, M., BEAMAN, J., PATRIDGE, K., PETERSON, D., GRACEY, M. (1984) : Biotyping and Virulence Factors in Clinical and Environmental Isolates of *Aeromonas* Species. Appl. and Env. Microbiol. May. 1146 - 1149.

BURUNO, D . W. (1988) : Bacterial Kidney Disease . Aquaculture Information Series. No . 3.

BURUNO, D. W. (1990) : Enteric Redmouth Disease. Aquaculture Information Series . No : 10 .

CANDAN, A. (1991) : Çipura (*Sparus aurata* L. 1758) yetiştiriciliğinde mevsimsel olarak görülen hastalık etkenlerinin tespit ve tedavi yönteminin geliştirilmesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri mühendisliği Anabilim Dalı, Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Programı, Doktora tezi.

CANDAN, A. (1994) : Türkiye' de Üretilen Atlantik Salmonu (*Salmo salar* L.) ' nda Saptanan İlk Vibriosis Olgusu . Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, Cilt : 24 , Sayı : 1 .

CANDAN, A., KÜÇÜKER, M. AND KARATAŞ, S. (1995) : Motile Aeromonads septicaemia in *Salmo salar* Cultured in Blacksea in Turkey, Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 15 (6), 1.

ÇETİN, E. T. (1973) : Genel ve Pratik Mikrobiyoloji. 3. baskı.

ÇOLAK, A. (1973) : Balık Hastalıkları El Kitabı , Cumhuriyet Üniversitesi Fen - Edebiyat Fak. Yayınları. 1 : 18 - 51.

ÇOTUK, A., ANĞ - KÜÇÜKER, M. (1992) : Biyologlar İçin Mikrobiyoloji Laboratuvar Klavuzu. İ. Ü. Fen Fak. Biyoloji Bölümü. Nobel Tıp Kitabevleri.

COX, D. I., MORRISON, D. J. , RAE, G. H. (1986) : Report on a New *Aeromonas* species Infecting Skin Lesions of Atlantik Salmon (*Salmo salar* L.) in Sea Water , Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 6 (4), 100.

ELLIS, A. E. (1989) : Fish Vaccination. Aquaculture Information Series . No : 4 .

ELLIS , A. E. (1989) : Vibriosis of Salmonids in Scotland . Aquaculture Information Series . No : 7 .

GROBERG, W. J., Mc COY, R. H., PLICHER, K. S., FRYER, J. L.(1978) : Relation of water Temperature to Infections of Coho Salmon (*O. kisutch*), Chinook Salmon (*O. tshawytscha*) and Steelhead Trout (*Salmo gairdneri*), with *Aeromonas salmonicida* and *A. hydrophila*. Journal of Fish Resech. Board Canada 35.

HART, J. L.(1973) : Pasific Fishes of Canada. Fisheries Research Board of Canada, Bulletin No : 180 .

HEDGES, By R. W., BRAZIL, G. (1985) : Resistance Plasmids of *Aeromonads*. Journal of General Microbiology . 131, 2091 - 2095 .

- HUET, M. (1972) : Textbook of Fish Culture. Breeding and Cultivation of Fish.
- HUIZING H. W. (1979) : Histopathology of Red-sore Disease(*Aeromonas hydrophila*) in Naturally and Experimentally Infected Largemouth Bass *Micropterus salmoides* (Lacepede), Journal of Fish Diseases 2, 263 - 277.
- INGLIS, V. , ROBERT, R. J. , BROMAGE , N.R.(Ed.) (1993) : Bacterial Disease of Fish, Chapter 8 : 143 - 152 .
- KADO, C. I., LIU, S. T. (1981) : Rapid Procedure for Detection and Isolation of Large and Small Plasmids. Journal of Bacteriology, Mar. p. 1365 - 1373 . Vol . 145, No: 3
- LAIRD, L. M., NEEDHAM, T. (1988) : Salmon and Trout Farming. 0 -7458 - 0025 - 4 . Ellis Limited, Harwood, West Sussex, London.
- LALLIER, R., BOULANGER, Y., OLIVER, C. (1980) : Difference in Virulence of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* in Rainbow Trout. The Progressive Fish - Culturist. Vol : 42, No : 4 .
- MCCARTHY, D.H. (1975) : Fish Furunculosis Caused by *Aeromonas salmonicida* var. *achromogenes*, Journal of Wild life Diseases Vol.11, October.
- MUNRO, A. (1988) : Furunculosis in Farmed Atlantic Salmon in Scotland. Aquaculture Information Series. Marine Laboratory Aberdeen.
- MUUS, B. J., DAHLSTRÖM, P. (1978) : Süßwasserfische. BLV Bestimmungsbuch.

MYRSETH, B. (1989) : Atlantic Salmon Farming in Norway . İ. Ü. Su Ürünleri Fakültesi, Jernal of Aquatic Products.

NEWMAN, J. T., COSLNZA, B. J., BUCK, J. D. (1972) : Aerobic Microflora of the Bluefish (*Pomatomus saltatrix*) İntestine. J. Fish. Res. Bd. Canada 29 : 333 - 336 .

NEWMAN, S. G. (1983) : *Aeromonas hydrophila*: A Review With Emphasis on its Role in Fish Disease . " Antigens of Fish Pathogens " .

NFF(Norwegian Fish Farmers Association) (1994) : Fish Farming International Vol. 21, No. 1, Jan.

OKUZUMI, M. and HORIE, S. (1969) : Studies on the Bacterial Flora in the Intestines of Various Marine Fish. Bull. Japanese. Soc. Sci. Fish Vol. 35, No:1.

PALUMBO , A. S. (1993) : The Occurence and Significance of Organisms of the *Aeromonas hydrophila* Group in Food and Water. Med. Microbiol. Lett, 2 : 339 - 346.

POPOFF, M. (1984) : Genus 3 *Aeromonas* in Bergey' s Manual of Sistematic Bacteriology. Vol : 1 Krieg NR and Hold J. G. at Williams and Wilkins Baltimor.

ROBERTS, R. J. (1978) : Fish Pathology. Baillere Tindall London.

SANTOS, Y. , TORANZO, A. E. , BARJA, J. L., NIENTO, T. R. and VILLA, T. G. (1988) : Virulence Properties and Enterotoxin Production of *Aeromonas* strains Isolated from Fish . Infection and Immunity, Dec. Vol. 56, No: 22.

SANTOS, Y., ROMALDE, J. L., BANDIN, I., MAGARINOS, B. , NUNEZ , S., BARJA, J. L. AND TORANZO, A. E. (1993) : Usefulness of the API 20 E sistem for the identification of bacterial fish pathogens. Aquaqukture , 116, 111- 120.

SARIEYYÜBOĞLU , M . (1984) : Gökkuşığı Alabalıklarında (*S. gairdneri*) Mide Bağırsak Bakteriyel Florasının Aerobik Yönden İncelenmesi. Doğa Bilim Dergisi, D1 , 8, 3 .

SEDWICK , S. D. (1988) : Salmon Farming Handbook. Fishing News Book Ltd. 1 Long Garden Walk Farnham, Surrey, England .

SIMIDU, K. A. , HASUO, K. (1968) : Microflora in the Digestive Tract of Inshore Fish in Japan.

SINGH, D. V. and SANYAL, S. C. (1992) : Enterotoxicity of Clinical and Environmental Isolates of *Aeromonas* spp. J. Med. Microbiol. Vol. 36, 269 -272 .

SINGH, D. A., SANYAL, S. C. (1993) : Haemagglutinating Activity, Serum, Sensitivity and Enterotoxigenicity of *Aeromonas* spp. J. Med. Microbiol. - Vol , 38 , 49 - 53 .

STOSKOPF, M. K. (1992) : Fish Medicine, Taxonomy and Naturel History of Salmonids 320 - 327. Library of Congress Cataloging-Publication Data ISBN 0 - 7216 - 2629 - 7.

SUGITA, H., OSHIMA, K., TAMURA, M., DEGUCHI, Y. (1983) : Bacterial Flora in the Gastrointestine of Fresh Water Fishes in the River. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 49 (9), 1387 - 1395 .

SUGITA, H., TOKUYAMA, K., DEGUCHI, Y. (1985) : The Intestinal Microflora of Carp *Cyprinus carpio*, Grass Carp *Ctenopharyngodon idella* and Tilapia *Sarotherodon niloticus*. Bull. Japanese. Soc. Sci. Fish. 51 (8), 1325 - 1329.

SUGITA, H., MIYAJIMA, C., KOBIKI, Y. and DEGUCHI, Y. (1990) : The daily Fluctuation and Inter - Individual Variation of the Faecal Flora of Carp, *Cyprinus carpio* L. J. Fish Biol. 36, 103 - 105 .

SUGITA, H., MIYAJIMA, C., KOBAYASHI, H. and DEGUCHI, Y. (1990) : Distribution of Microflora in The Intestinal Tract of Carp *Cyprinus carpio*. Nippon Suisan Gakkaishi 56 (7) 1133 - 1138 .

THORPE, J. E., ROBERTS, R. J. (1972) : An Aeromonad Epidemic in the Brown Trout (*Salmo trutta* L.) . J. Fish biol. 4, 441 - 451 .

TİMUR, M. (1984) : An Outbreak of a Disease of Farmed eel (*Anguilla anguilla*) Due to *Aeromonas hydrophila* in Turkey : Histopathological and Bacteriological Studies. A. Ü. Vet. Fak. dergisi 30 (3) .

TORANZO, A. E., COMBARRO, P., LEMOS, M. L., BARJA, J. L. (1984) : Plasmid Coding for Transferable Drug Resistance in Bacteria Isolated from Cultured Rainbow Trout. *Applied and Environmental Microbiology*, Oct. p. 872 - 877 , Vol. 48, No:4

TORANZO, A. E., SANTOS, Y., NIETO, T. P., BARJA, J. L. (1986) : Evaluation of Different Assay System for Identification of Environmental *Aeromonas* Strains. *Applied and Environmental Microbiol.* Mar. 652 - 656 , Vol. 51, No : 3.

TRUST, T. J. and SPARROW, R. A. H. (1974) : The Bacterial Flora in The Alimentary Tract of Freshwater Salmonid Fishes. Department of Bakteriology and Biochemistry, University of Victoria, British Colombia. *Can. J. Microbiol.*, 20, 1219 - 1228.

TRUST, T. J. (1975) : Facultative Anaerobic Bacteria in the Digestive Tract of Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) Maintained in Fresh Water Under Defined Culture Conditions. *Applied Microbiology*, May , Vol. 29, 663 - 668.

TRUST, T. J. , MACINNES, J. I. and BARTLETT, K. H. (1978) : Variation in The Intestinal Microflora of Salmonid Fishes. 250 - 254.

VENTURA, M. T. and GRIZZLE, J. M. (1987) : Evaluation of Portals of *Aeromonas hydrophila* in Channel Catfish.

WAKABONGO, M., BORTEY, E., MEIER, F. A., DALTON, H. P.(1992): Rapid Identification of Motile *Aeromonas*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 15 : 511 - 515 .

YOSHIMIZU, M., KIMURA, T., SAKAI, M. (1976) : Studies on the Intestinal Microflora of Salmonids - 5. The Intestinal Microflora of the Anadromus Salmon. Bull. Japan. Scien. Fish. 42 (11) 1291 - 1298 .

- (1976) : Studies on the Intestinal Microflora of Salmonids - 2. Effect of Artificial Transplanting from Fresh of Feeding and Non - Feeding Fish. Bull. Jpan. Soc. Sci. Fish. Vol. 42 (8) 863 - 873 .

- (1976) : Studies on the Intestinal Microflora of Salmonids - 3. The INtestinal Microflora of Salmon Living in the Open Sea. Bull. Japan. Soc. Sci. FishVol. 42 (8) , 875 - 884 .

- KAMIYAMA, K. (1976) : Studies on the Intestinal Microflora of Salmonids - 4 . The INtestinal Microflora of Fresh Water Salmon. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. Vol. 42 (11) 1281 - 1290 .

VII. EKLER :

Tablo I . Atlantik salmonunun yaşam evreleri (Laird ve ark., 1988).

Tablo II . Standart tüp metodu sonuçları .

Tablo III. API 20E metodu sonuçları.

Şekil 1. O / 129' a hassas bir suş.

Şekil 2. O / 129' a hassas bir suş (150 µl)

Şekil 3. O / 129' a dirençli bir suş (*Aeromonas*).

Şekil 4. O / 129' a dirençli bir suş (150 µl).

Şekil 5. O / 129' a hassas ve dirençli suşlar.

Şekil 6. İndol oluşumu, pozitif ve negatif sonuçlar.

Şekil 7. Voges - Proskauer negatif ve pozitif sonuç.

Şekil 8. Voges - Proskauer pozitif sonuç.

Şekil 9. Arjinin dihidrolaz, pozitif sonuç.

Şekil 10. Ornitin pozitif sonuç.

Şekil 11. Ornitin negatif sonuç.

Şekil 12. Glukozdan asit oluşumu, pozitif sonuç.

Şekil 13. Oksidasyon fermentasyon besiyeri.

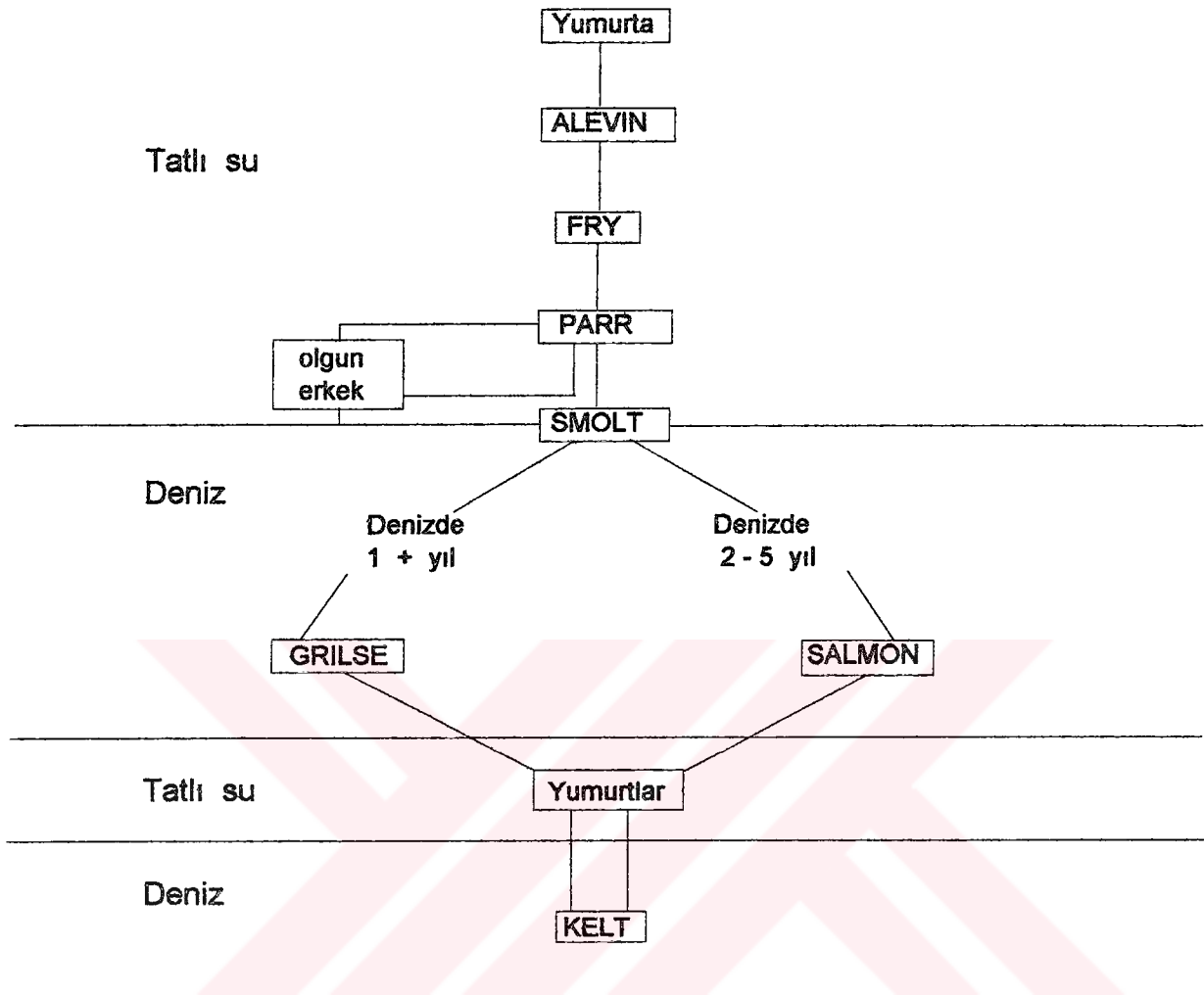
Şekil 14. Fermentatif bir suş.

Şekil 15. Glukozdan gaz oluşumu pozitif sonuç.

Şekil 16. Glukozdan gaz oluşumu negatif sonuç.

Şekil 17. API 20E metodu

Şekil 18. TSA besiyerinde *Aeromonas*' ların koloni yapısı.



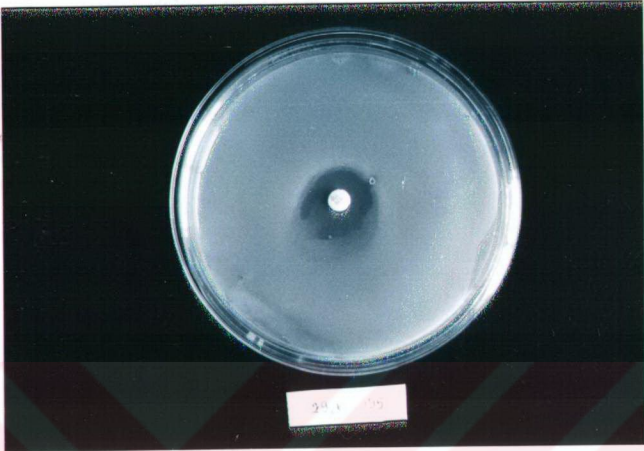
Tablo-I. Atlantik salmonunun yaşam evreleri (Laird ve ark. 1988)

	A.caviae	A.caviae	A.caviae	A.caviae	A.caviae	A.sobria	A.sobria	A.caviae
	1	2	3	4	5	6	7	8
Gram	-	-	-	-	-	-	-	-
Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	+	+	+	+	+	+	+	+
OF	F	F	F	F	F	F	F	F
O/129	R	R	R	R	R	R	R	R
37oC de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+
İndol	+	+	+	+	+	+	-	+
Voges Proscauer	+	-	-	+	-	-	-	+
Metil Red	-	+	-	-	-	-	-	-
Mannitol	+	+	+	+	+	-	-	+
Sukroz	+	+	+	+	+	+	-	+
Glukoz gaz	+	-	-	+	-	-	-	+
Glukoz asit	+	+	+	+	+	-	-	+
% 1 NaCl de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+
% 7 NaCl de üreme	+	+	+	+	+	+	+	+
Lizin	-	-	-	-	-	-	-	-
Arjinin	+	+	+	+	+	-	-	+
Omitin	-	-	+	-	-	-	-	-
Eskülin	+	+	+	+	+	-	-	+
Laktoz	-	-	-	-	-	-	-	-

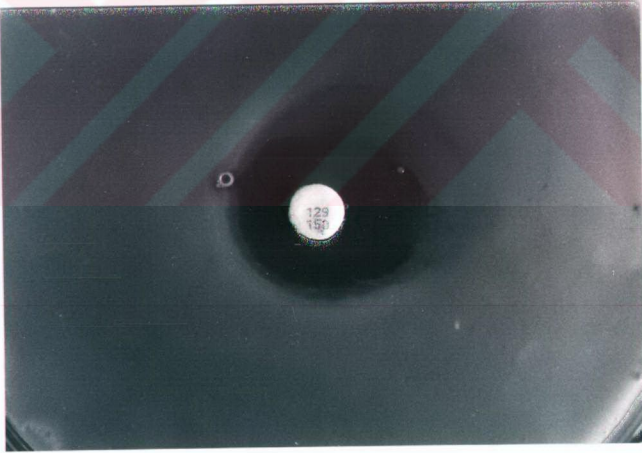
Tabl. II STANDART Tüp METODU SONUÇLARI
7ve 8 denizden alınan örnekler.

	A.caviae	A.caviae	A.caviae	A.caviae	A.caviae	A.sobria	A.sobria	A.caviae
	1	2	3	4	5	6	7	8
Gram	-	-	-	-	-	-	-	-
Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	+	+	+	+	+	+	+	+
OF	F	F	F	F	F	F	F	F
O/129	R	R	R	R	R	R	R	R
ONPG	+	+	+	+	+	-	+	+
ADH	+	+	+	+	+	+	+	+
LDC	+	+	+	+	+	+	+	+
ODC	-	-	+	-	-	-	-	-
CIT	+	+	+	-	-	-	+	+
H2S	-	-	-	-	-	-	-	-
URE	-	-	+	-	-	-	-	-
INDOL	+	+	+	+	+	+	-	+
Voges Proscauer	+	-	-	+	-	-	-	+
GEL	+	+	+	+	+	-	-	+
ARA	+	+	+	+	+	-	-	+
INO	+	+	+	+	+	-	-	+
MAN	+	+	+	+	+	-	-	+
SOR	+	+	+	+	+	-	-	+
SUC	+	+	+	+	+	-	-	+
GLU	+	+	+	+	+	-	-	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	-
RHA	+	+	+	+	+	-	-	+
MEL	+	+	+	+	+	-	-	+
AMY	+	+	+	+	+	-	-	+
NO2	+	+	+	+	-	-	-	+

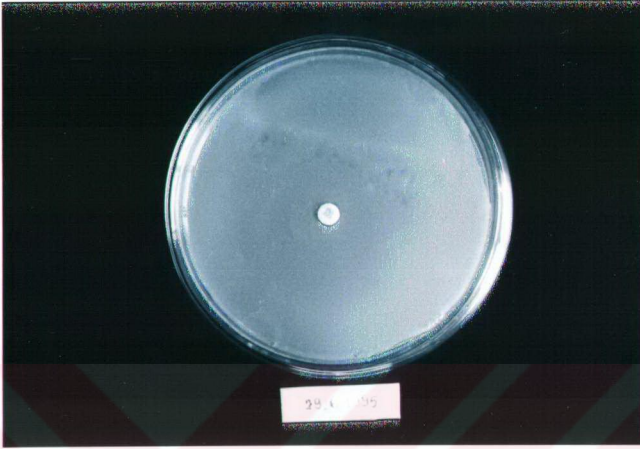
Tablo III. API 20 E SONUÇLARI



Şekil 1. O / 129' a hassas bir suş.



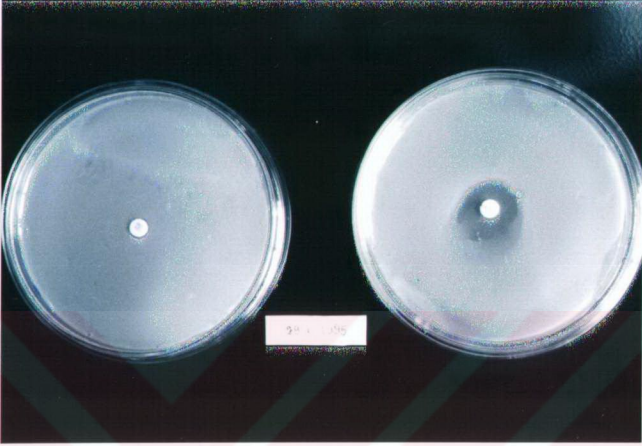
Şekil 2. O / 129' a hassas bir suş (150 µl)



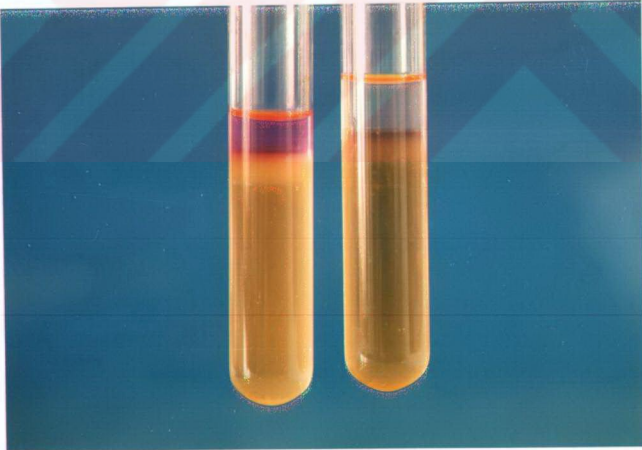
Şekil 3. O / 129' a dirençli bir suş (*Aeromonas*)



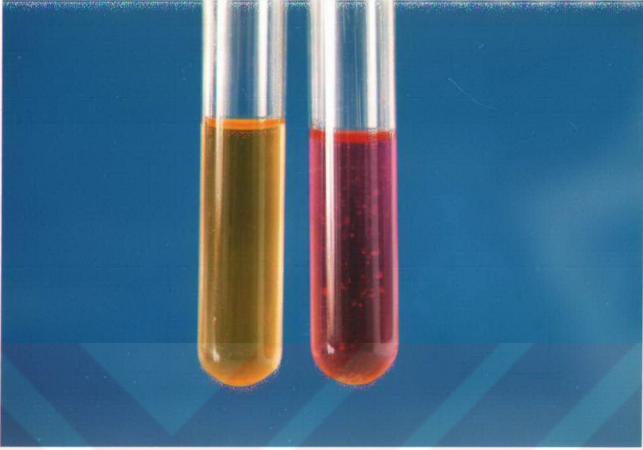
Şekil 4. O / 129' a dirençli bir suş (150µl)



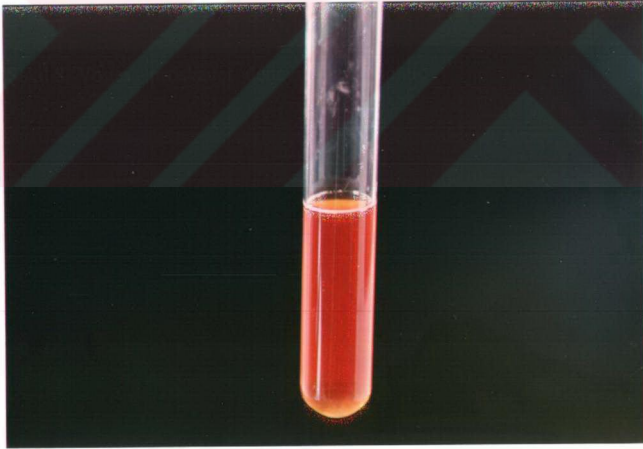
Şekil 5. O / 129' a dirençli ve hassas iki suş



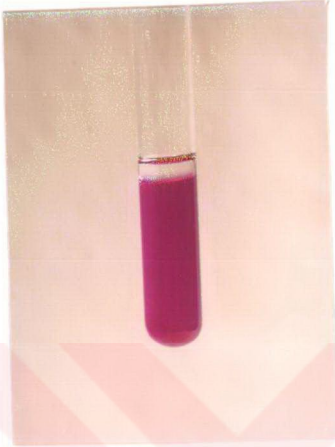
Şekil 6. İndol oluşumu, pozitif ve negatif sonuçlar



Şekil 7. Voges - proskauer, negatif ve pozitif sonuçlar



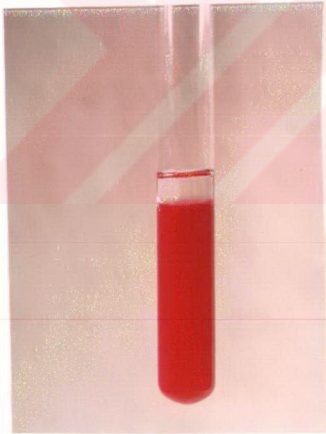
Şekil 8. Voges - proskauer deneyi, pozitif sonuç



a) Amino asit içeren



b) Amino asit içermeyen besiyeri



a) Amino asit içeren



b) Amino asit içermeyen

Şekil 10. Ornitin dekarboksilaz, pozitif sonuç.



a) Amino asit içeren



b) Amino asit içermeyen

Şekil 11. Ornitin dekarboksilaz, negatif sonuç.

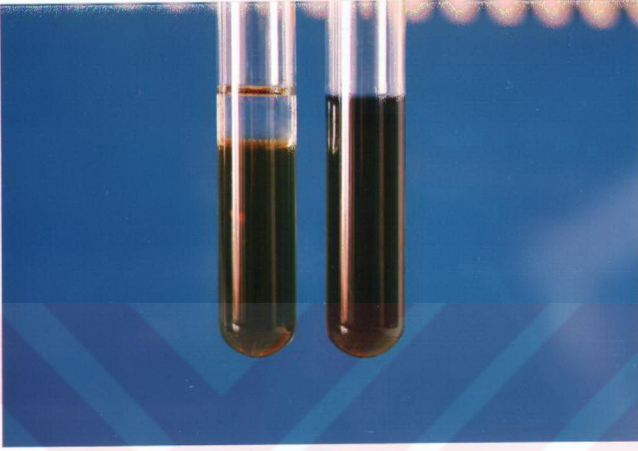


a) Pozitif



b) Negatif

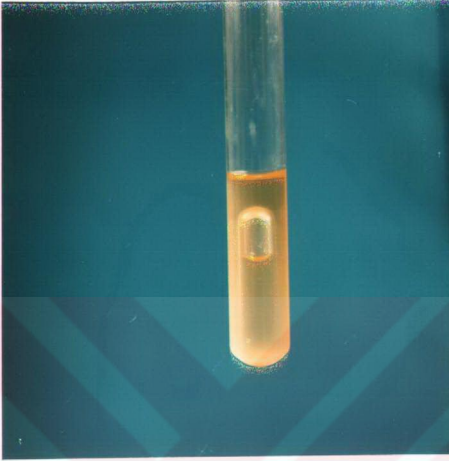
Şekil 12. Glukoz'dan asit oluşumu, pozitif ve negatif sonuçlar.



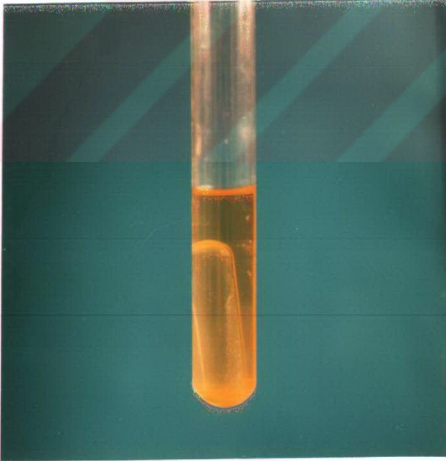
Şekil 13. Oksidasyon fermentasyon deneyi, non saccoralitik



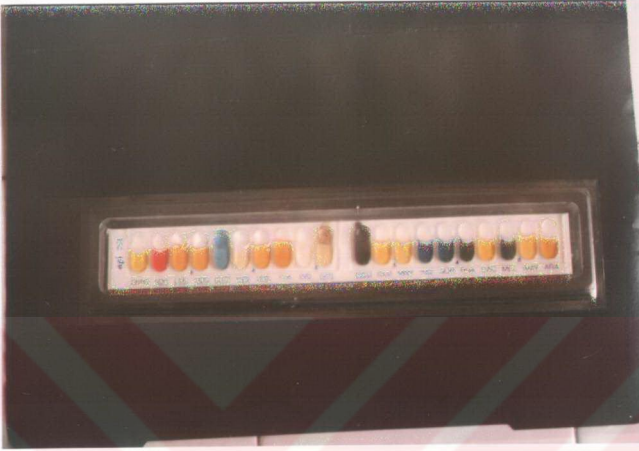
Şekil 14. Oksidasyon fermentasyon deneyi, fermentatif bir suş.



Şekil 15. Glukozdan gaz oluşumu, pozitif bir sonuç.



Şekil 16. Glukozdan gaz oluşumu, negatif sonuç.



Şekil 17. API 20E Metodu



Şekil 18. TSA besiyerinde *Aeromonas*' ların koloni yapısı

VIII. ÖZGEÇMİŞ :

1970 Yılında İzmir' de doğdum. İlkokulu Muğla Sabri Acarsoy İlkokulun' da bitirerek, Orta öğrenimime Muğla Turgut Reis Lisesin' de devam ettim. 1989 yılında İ. Ü. Su ürünleri Fakültesine girerek, 1993 yılında mezun oldum. Aynı yıl İ. Ü. Su Ürünleri Fakültesi Su ürünleri Yetiştiriciliği - Hastalıklar Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladım. Halen aynı görevi sürdürmekteyim. İngilizce biliyorum.