

**OVA KURBAĞASI (*PELOPHYLAX RIDIBUNDUS*, PALLAS 1771)
YETİŞTİRİCİLİĞİNDE BAZI BAKTERİYEL ETKENLERİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÜLŞAH DÖKENEL

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ FEN
BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SU ÜRÜNLERİ
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
OCAK – 2018**

**OVA KURBAĞASI (*PELOPHYLAX RİDİBUNDUS*, PALLAS 1771)
YETİŞTİRİCİLİĞİNDE BAZI BAKTERİYEL ETKENLERİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÜLŞAH DÖKENEL

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

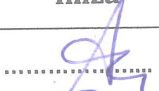
**SU ÜRÜNLERİ
ANABİLİM DALI**

**Danışman
Doç. Dr. Selmin ÖZER**

**MERSİN
OCAK - 2018**

ONAY

Gülşah DÖKENEL tarafından Doç.Dr. Selmin ÖZER danışmanlığında hazırlanan "Ova Kurbağası (*Pelophylax ridibundus*, Pallas 1771) Yetiştiriciliğinde Bazı Bakteriyel Etkenlerin Araştırılması" başlıklı çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından 19 Ocak 2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavı sonucunda oy birliği/çokluğu ile Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Görevi	Ünvanı, Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	Doç.Dr. Selmin ÖZER	
Üye	Prof.Dr. İbrahim CENGİZLER	
Üye	Prof.Dr. Ferit RAD	

Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 26.01.2018 tarih ve 2018.05/161 sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof. Dr. Ayla ÇELİK
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, tablo ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisanüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
- Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'ne devrettiğimi

beyan ederim.

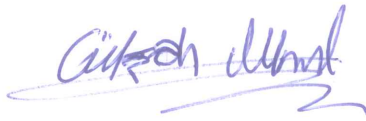
ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written information and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific works about the case of exploitation of others' works.
- I used all of the referred works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

19 Ocak 2018/19 January 2018

İmza / Signature



Gülşah DÖKENEL

ÖZET

OVA KURBAĞASI (*PELOPHYLAX RIDIBUNDUS*, PALLAS 1771) YETİŞTİRİCİLİĞİNDE BAZI BAKTERİYEL ETKENLERİN ARAŞTIRILMASI

Kurbağa eti birçok dünya mutfağında yerini almış gıda değeri yüksek bir besin kaynağıdır. Kurbağa gereksiniminin karşılanabilmesi için 1900'lü yıllardan beri yetiştiriciliği yapılmaktadır. Son yıllarda, ülkemiz doğal habitatında mevcut olan tüketilebilir kurbağa türleri ekstansif ve yarı entansif olarak yetiştirilmekte, ancak entansif yetiştiricilik deneme aşamasındadır. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Mersin ili Aydınçık Tarım İlçe Müdürlüğünce üç yıldır yürütülen entansif kurbağa yetiştiricilik projesinde birçok teknik ve sağlık sorunuyla karşılaşmıştır. Bu sorunlara çözüm üretebilmek amacıyla tesiste kullanılan su, kurbağa yemi ve kurbağaların başkalaşım evrelerinden örnekler alınarak bazı fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik analizler ve antibakteriyel ilaç duyarlılık testleri yapılmıştır. Bu amaçlarla tesisten 30.03.-12.10.2017 tarihleri arasında toplam 30 adet su, 8 adet yem ve 381 adet kurbağa örneği alınmıştır.

İşletmeye gelen kaynak suyu çok sert su, diğer fiziksel ve kimyasal kriterler yönünden kaliteli su niteliğinde olduğu anlaşılmıştır. Su örnekleri toplam mezofilik aerobik bakteri ve koliform bakteri sayıları yönünden genel olarak 2. sınıf kıta içi yüzeysel su niteliğindedir.

Tez süresince kurbağalarda ölüm oranı % 80'i geçmiş, ölümler daha çok 14-21 günlük larvalarda, havuzlarda yosunlaşma ve fitoplankton artışından dolayı hava kabarcığı hastalığı nedeniyle meydana gelmiştir.

Tez çalışması kapsamındaki tüm örneklerde 32'si Gram negatif basil, 9'u Gram pozitif basil, 9'u Gram pozitif kok ve ikisi mantar olmak üzere toplam 52 türe ait 243 adet izolat saptanmıştır. Bu izolatların 61'i (% 25,1) toplam 30 adet suyun 25'inde (% 83,3); 173'ü (% 71,2) toplam 76 adet kurbağa örneğinin 66'sında (% 86,8) ve 9'u (% 3,7) 8 adet yemin 5'inde (% 65) ayırt edilmiştir. İzole edilen 2 adet mantar küflü bir yem örneğinde saptanmıştır.

Yapılmış olan literatür taramalarına göre, kurbağa tesisi suyu ve/veya kurbağa örneklerinde ilk defa bildirilen izolatlar bulunmaktadır:

Gram negatif basiller *Bordetella hinzii*, *Brevundimonas diminuta/vesicularis*, *Burkholderia mallei*, *Delftia acidovorans*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Pseudomonas mendocina*, *Rhizobium radiobacter*, *Serratia fonticola*, *Serratia odorifera*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Sphingobacterium thalpophilum*, *Stenotrophomonas maltophilia*;

Gram pozitif basiller *Bacillus clausii*, *B. fortis*, *B. pumilus*, *B. smithii*, *B. subtilis/amyloliquefaciens/atropa*, *Lysinibacillus sphaericus/fuciformis*;

Gram pozitif koklar *Aerococcus viridans*, *Enterococcus gallinarum*, *Granulicatella adiacens*, *Kocuria kristinae*, *K. rhizophila*, *K. rosea*, *Micrococcus luteus/lylae* ve *Staphylococcus equorum*.

Sonuç olarak, su, yem ve kurbağa örneklerinde kurbağa ve insan sağlığı için risk oluşturabilecek fırsatçı patojen bakterilerin varlığı ortaya konulmuştur. Tezde elde edilen veriler ışığında, sürdürülebilir entansif kurbağa yetiştiriciliğinin ülkemizde geliştirilebilmesi için daha ileri araştırmalara gereksinim bulunduğu anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ova kurbağası (*Pelophylax ridibundus*), kurbağa hastalıkları, kurbağa yetiştiriciliği, bakteri, indikatör mikroorganizma sayısı.

Danışman: Doç.Dr. Selmin ÖZER, Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF SOME BACTERIAL AGENTS IN THE MARSH FROG (*PELOPHYLAX RIDIBUNDUS*, PALLAS 1771) RANICULTURE

Frog meat is a high nutrient source of food that has taken its place in many world cuisines. In order to meet the need for frogs, breeding has been carried out since 1900's. In recent years, the consumable frogs that are present in our country's natural habitat are reared extensively and semi-intensively, but intensive cultivation is in the experimental phase. Many technical and health problems have been encountered during the intensive frog farming project carried out for three years by the Ministry of Food Agriculture and Livestock, Agricultural District Directorate of Aydıncık, Mersin Province. In order to provide solutions to these problems, some physical, chemical, microbiological analyzes and antibacterial drug susceptibility tests have been carried out on samples from water, feed and metamorphosis phases of frogs. For this purpose, a total of 30 water, 8 feed and 381 frog samples were collected between 30.03 and 12.10.2017.

It has been understood that the spring water coming to the frog farm is of very hard water and of good quality in terms of other physical and chemical criteria. According to total mesophilic aerobic bacteria and coliform bacteria counts, quality of water samples are in general of second grade continental surface water.

During the study mortality rate of the frogs was more than 80%. Mortalities mostly occurred in 14-21 days old larvae, because of air bubble disease due to excessively growth of algae and phytoplankton in the pools.

In all the samples included in the thesis, 243 isolates belonging to 52 different species were detected, 32 of which were Gram negative bacilli, 9 were Gram positive bacilli, 9 were Gram positive cocci and two were fungi. Of these isolates, 61 (25.1%) were in 25 (83.3%) of the total 30 water, 173 (71.2%) were identified in 66 (86.8%) of 76 frog samples, and 9 (3.7%) from 5 feeds of total 8 (65%). Two isolated molds were found in one moldy feed sample.

According to published literature, there are first reported bacterial isolates in frog farm water and / or frog specimens:

Gram negative bacilli: *Bordetella hinzii*, *Brevundimonas diminuta/vesicularis*, *Burkholderia mallei*, *Delftia acidovorans*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Pseudomonas mendocina*, *Rhizobium radiobacter*, *Serratia fonticola*, *Serratia odorifera*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Sphingobacterium thalpophilum*, *Stenotrophomonas maltophilia*;

Gram positive bacilli: *Bacillus clausii*, *B. fortis*, *B. pumilus*, *B. smithii*, *B. subtilis/amyloliquefaciens/atropa*, *Lysinibacillus sphaericus/fuciformis*;

Gram positive cocci: *Aerococcus viridans*, *Enterococcus gallinarum*, *Granulicatella adiacens*, *Kocuria kristinae*, *K. rhizophila*, *K. rosea*, *Micrococcus luteus/lylae* ve *Staphylococcus equorum*.

As a result, the presence of opportunistic pathogenic bacteria in the water, feed and frog specimens, which could pose a risk for frogs and human health, has been documented. In the light of the data obtained in this study, it has been understood that further researches are needed to develop sustainable intensive frog farming in our country.

Keywords: Marsh frog (*Pelophylax ridibundus*), frog disease, raniculture, bacteria, indicator microorganism count.

Advisor: Assoc. Prof. Selmin ÖZER, Department of Fisheries, University of Mersin, Mersin.

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında büyük fedakârlık ve özveriyle yanımda olan, tüm bilgi ve deneyimini yararına sunan, gerek iş gerekse özel hayatımda benimle sabır ve sevgiyle ilgilenen kıymetli danışman hocam Doç. Dr. Selmin ÖZER'e;

Çalışmamızın kurgu aşamasında çalışmanın doğum sancısını bizlerle paylaşan, ihtiyaç duyduğumuz her an değerli bilgilerine başvurabildiğimiz, çalışmanın en başından en sonuna kadar ilgi ve desteklerini esirgemeyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ferit RAD'a;

Örneklerimi tedarik etmemde yardımcı olan GTHB Aydınçık Tarım İlçe Müdürlüğü personeli, özellikle Veteriner Hekim Mehmet Ağâh CANPOLAT'a;

Tez çalışmasında gerekli kurbağa sayılarının belirlenmesinde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Arzu KANIK'a (Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı);

Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim Araştırma ve Uygulama Merkezi (MEİTAM) personellerinden, iyon analizlerinde yardımcı olan Cihan GEÇGEL'e; stereo mikroskopi görüntülerini alan Seher KURU ve Derya YETKİN'e;

Mantar tanımlanmasını gerçekleştiren Prof. Dr. Zehra Feza OTAĞ'a (Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı);

Fito ve zooplankton tanımlanmasını yapan Yrd. Doç. Dr. Hilal Kargın YILMAZ'a (Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Ana Bilim Dalı);

Laboratuvar çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarımla Necla GÖÇMEN ve Sümeyra BERK'e;

Geç saatlere kadar uzayan, yorucu laboratuvar çalışmalarım boyunca, şikâyet etmeksizin bana refakat eden, çalışmamın görünmeyen kahramanı, en büyük destekçim ve hayatın bana en güzel armağanı canım annem Gülter DÖKENEL'e teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	ii
ONAY	iii
ETİK BEYAN	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	3
2.1. Kurbağaların Genel Özellikleri	3
2.1.1. Kurbağaların Biyolojisi	3
2.1.2. Kurbağaların Yaşam Döngüleri	3
2.2. Kurbağaların Ekonomik Önemi	4
2.3. Kurbağa Yetiştiriciliği	5
2.3.1. Yetiştiricilikte Su Kalitesinin Önemi	7
2.4. Kurbağa Hastalıkları	9
2.4.1. Genel Bilgiler	9
2.4.2. Kurbağaların Bakteriyel Hastalıkları	10
2.4.2.1. Kızılacak hastalığı	12
2.4.2.2. Streptokokkozis/Staphylokokkozis	14
2.4.3. Hastalıkların Kurbağa Yetiştiriciliği ile İlişkisi	15
2.4.4. Antibakteriyel İlaç Duyarlılık Testi ve MAR Endeksi Değeri	16
3. MATERYAL ve YÖNTEM	18
3.1. Materyal	18
3.1.1. Kurbağa Çiftliğinin Yeri ve Özellikleri	18
3.1.2. Örneklerin Laboratuvara Nakli	23
3.1.2.1. Su örnekleri	23
3.1.2.2. Yem örnekleri	24
3.1.2.3. Kurbağa örnekleri	24
3.1.3. Laboratuvar Araç ve Gereçleri	41
3.1.3.1. Cihazlar	41
3.1.3.2. Laboratuvar malzemeleri	41
3.1.3.3. Kimyasallar	41
3.1.3.4. İzolasyon ve identifikasyon amacıyla kullanılan besiyerleri ve ayraçlar	41
3.1.3.5. Antibakteriyel diskler	45
3.1.4. Referans Suşlar	45
3.2. Yöntem	46
3.2.1. Su Örneklerinin Fiziksel ve Kimyasal Değerlerinin Belirlenmesi	46
3.2.1.1. Su örneklerinin fiziksel değerlerinin belirlenmesi	46
3.2.1.2. Su örneklerinin kimyasal analizleri	46
3.2.2. Kurbağa Örneklerinin Boy ve Ağırlık Ölçümleri	46
3.2.3. Kurbağa Örneklerinin Hastalık Bulguları Yönünden İncelenmesi	46
3.2.4. Kurbağalarda Ötenazi Uygulamaları	47
3.2.5. Kurbağa Örneklerinin Dezenfeksiyonu	47
3.2.6. Kurbağalara Otopsi Uygulanması	47
3.2.7. Su ve Yem Örnekleri Dilüsyonlarının Hazırlanması	49
3.2.8. Su ve Yem Örneklerinde Mezofilik Aerobik Bakteri ve Toplam Koliform Bakteri Sayımları	49
3.2.9. Örneklerden Bakteri İzolasyonu	50
	viii

	Sayfa
3.2.9.1. Su örnekleri	51
3.2.9.2. Yem örnekleri	51
3.2.9.3. Kurbağa örnekleri	51
3.2.10. İzolatların Klasik Yöntemle İdentifikasyonu	51
3.2.10.1. Gram karakteri	52
3.2.10.2. Katalaz testi	52
3.2.10.3. Oksidaz testi	53
3.2.10.4. Fleksirubin testi	53
3.2.10.5. Eskülin hidrolizi	53
3.2.10.6. İndol testi	53
3.2.10.7. Jelatin hidrolizasyon testi	54
3.2.10.8 MR testi	54
3.2.10.9. VP (Asetilmetilkarbinol oluşumu) testi	55
3.2.10.10. Oksidasyon/Fermentasyon (O/F) testi	55
3.2.10.11. Glikoz parçalanması	55
3.2.10.12. Gaz varlığı	55
3.2.10.13. Hareket muayenesi	56
3.2.10.14. Hidrojen sülfür (H ₂ S) oluşumu	56
3.2.10.15. Glikoz ve laktoz parçalanması	56
3.2.10.16 Gaz varlığı	56
3.2.10.17. Simmon's citrat kullanımı	57
3.2.10.18. LDC	58
3.2.10.19. H ₂ S oluşumu	58
3.2.11. İzolatların VITEK Sistemi ile İdentifikasyonu	58
3.2.12. Antibakteriyel İlaç Duyarlılık Testi	59
3.2.13. İstatistiksel Analizler	60
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	61
4.1. Su Örneklerinin Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyel Değerleri	61
4.1.1. Çeşme Suyunun Fiziksel Değerleri	61
4.1.2. Kurbağa Örnekleri Havuz Sularının Fiziksel Değerleri	62
4.1.3. Çeşme Suyu Örneklerinin Kimyasal Değerleri	63
4.1.4. Kurbağa Havuz Suyu Örneklerinin Kimyasal Değerleri	64
4.1.5. Su Örneklerinin Mezofilik Aerobik Bakteri Sayıları	65
4.1.6. Su Örneklerinin Toplam Koliform Bakteri Sayıları	66
4.2. Yem Örneklerinin Mezofilik Aerobik Bakteri ve Koliform Bakteri Sayıları	67
4.3. Kurbağa Örneklerinde Eksternal ve İnternal Hastalık Bulguları	68
4.3.1. Yemlenen Larva, Bacaksız İribaş, Dört Bacaklı İribaş	68
4.3.2. Anaç Kurbağa	72
4.4. Su, Yem ve Kurbağa Örneklerinden İzole Edilen Bakteriler	75
4.4.1. Su Örneklerinde Saptanan Bakteriler	77
4.4.1.1. Çeşme suyu izolatları	77
4.4.1.2. Kurbağa örnekleri havuz suyu izolatları	78
4.4.2. Yem Örneklerinde Saptanan Bakteriler	80
4.4.3. Kurbağa Örneklerinde Saptanan Bakteriler	82
4.4.3.1. Anaç izolatları	82
4.4.3.2. Yumurta/embriyo izolatları	83
4.4.3.3. Besin keseli/yemlenen besin keseli larva izolatları	84
4.4.3.4. Yemlenen larva izolatları	84
4.4.3.5. Bacaksız iribaş izolatları	85
4.4.3.6. Bacaksız/arka bacaklı/dört bacaklı iribaş izolatları	85
4.4.3.7. Arka bacaklı/dört bacaklı iribaş/genç kurbağa izolatları	85
4.4.3.8. Dört bacaklı/genç kurbağa örnekleri izolatları	86
4.4.3.9. Genç erişkin kurbağa örnekleri izolatları	88

	Sayfa
4.4.3.10. Hasta anaç kurbağa örnekleri izolatları	88
4.5. İzolatların Antibakteriyel İlaç Duyarlılıkları ve MAR Endeks Değerleri	90
4.5.1. İzolatların Antibakteriyel İlaç Duyarlılıkları	90
4.5.2. İzolatların MAR Endeks Değerleri	91
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	95
KAYNAKLAR	98
EKLER	
EK 1. İzolatların örnek sayısı dağılımı	105
Ek 2. Kurbağa ve su örneklerinden bugüne kadar izole edilmiş bazı bakteriler	108
Ek 3. Gram negatif basillerin antibakteriyel ilaç duyarlılıkları	112
Ek 4. Gram pozitif basillerin antibakteriyel ilaç duyarlılıkları	113
Ek 5. Gram pozitif kokların antibakteriyel ilaç duyarlılıkları	113
EK 6. Gram ve morfolojik karakterine göre izolatların antibakteriyel ilaç duyarlılık ve dirençlilik oranları	114
EK 7. Gram negatif izolatlara göre antibakteriyel duyarlılık ve MAR endeksi değerleri	115
EK 8. Gram pozitif basil izolatlarına göre antibakteriyel duyarlılık ve MAR endeksi değerleri	118
EK 9. Gram pozitif kok izolatlarına göre antibakteriyel duyarlılık ve MAR endeksi değerleri	119
ÖZGEÇMİŞ	120

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Su kalitesi kriterleri	8
Tablo 2.2. Kurbağaların ihtiyaç duydukları çevresel gereksinimler	9
Tablo 3.1. Kurbağa işletmesinden alınan su örnekleri	23
Tablo 3.2. Kurbağa işletmesinden alınan yem örnekleri	24
Tablo 3.3. Anaç kurbağa boy ve ağırlıkları	27
Tablo 3.4. Yumurta çap ve embriyo boyları	28
Tablo 3.5. Besin keseli larvaların boyları	32
Tablo 3.6. Yemlenen larva boyları	33
Tablo 3.7. Bacaksız iribaşların ağırlık ve boyları	35
Tablo 3.8. Arka bacaklı iribaş ağırlık ve boyları	36
Tablo 3.9. Dört bacaklı iribaş ağırlık ve boyları	37
Tablo 3.10. Genç kurbağa ağırlık ve boyları	38
Tablo 3.11. Genç erişkin kurbağaların ağırlık ve boyları	40
Tablo 3.12. Hasta iribaş ağırlık ve boyları	40
Tablo 3.13. Hasta anaç kurbağaların ağırlık ve boyları	40
Tablo 3.14. Antibakteriyel ilaç duyarlılık zonları	45
Tablo 4.1. Çeşme sularının fiziksel değerleri	62
Tablo 4.2. Kurbağa havuz sularının fiziksel değerleri-1	62
Tablo 4.3. Kurbağa havuz sularının fiziksel değerleri-2	63
Tablo 4.4. Çeşme suyu örneklerinin iyon miktarları	63
Tablo 4.5. Kurbağa havuz suyu örneklerinin iyon değerleri-1	64
Tablo 4.6. Kurbağa havuz suyu örneklerinin iyon değerleri-2	65
Tablo 4.7. Su örneklerinde mezofilik aerobik bakteri sayısı	66
Tablo 4.8. Su örneklerinde toplam koliform sayısı	67
Tablo 4.9. Yem örneklerinin mezofilik aerobik bakteri ve toplam koliform sayısı	68
Tablo 4.10. Havuz sularında saptanan fito-ve zooplanktonlar	71
Tablo 4.11. Çeşme suyu izolatları	78
Tablo 4.12. Havuz suyu izolatları	79
Tablo 4.13. Yem izolatları	81
Tablo 4.14. Kurbağa anaç izolatları	83
Tablo 4.15. Yumurta/embriyo izolatları	83
Tablo 4.16. Besin keseli/yemlenen besin keseli larva izolatları	83
Tablo 4.17. Yemlenen larva izolatları	84
Tablo 4.18. Bacaksız iribaş izolatları	85
Tablo 4.19. Bacaksız/arka bacaklı/dört bacaklı iribaş izolatları	85
Tablo 4.20. Arka bacaklı/dört bacaklı iribaş/genç kurbağa izolatları	86
Tablo 4.21. Dört bacaklı/genç kurbağa örnekleri izolatları	87
Tablo 4.22. Genç erişkin kurbağa örnekleri izolatları	88
Tablo 4.23. Hasta anaç kurbağa izolatları	89
Tablo 4.24. Antibakteriyel ilaçların izolat gruplarına göre dirençlilik ve duyarlılık oranları	91
Tablo 4.25. Gram negatif basillerin direnç, duyarlılık ve MAR endeks değerleri	92
Tablo 4.26. Gram pozitif basillerin direnç, duyarlılık ve MAR endeks değerleri	92
Tablo 4.27. Gram pozitif kokların direnç, duyarlılık ve MAR endeks değerleri	92

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. Örneklerin alındığı tesisin konumu	18
Şekil 3.2. Kurbağa yetiştiricilik ünitesi	18
Şekil 3.3. Anaç havuzları	19
Şekil 3.4. Anaç kurbağa amplexus pozisyonu, rafya üzerinde döllenmiş yumurtalar	19
Şekil 3.5. Isıtılan yumurta havuzu ve yumurta kapları	20
Şekil 3.6. Yavru havuzları	20
Şekil 3.7. Larvaların yavru havuzuna alınması	21
Şekil 3.8. <i>Pelophylax ridibundus</i> anaçları	22
Şekil 3.9. Yem makinesi ile üretilen 2 mm'lik pelet yem	22
Şekil 3.10. Erkek ova kurbağası	25
Şekil 3.11. Kurbağa örneklerinin naklinde kullanılan kaplar	27
Şekil 3.12. Rafyada ilk gün yumurtası	28
Şekil 3.13. Yumurta kabından alınan ilk gün yumurtası ve etrafındaki jelatinimsi kılıf	29
Şekil 3.14. İlk gün yumurtası	29
Şekil 3.15. Rafyada iki günlük embriyo	29
Şekil 3.16. Üç günlük embriyo ve etrafındaki jelatinimsi kılıf	30
Şekil 3.17. Üç günlük embriyo	30
Şekil 3.18. Dört günlük embriyo	30
Şekil 3.19. Dört günlük embriyo	31
Şekil 3.20. Dört günlük besin keseli larva	31
Şekil 3.21. Dört günlük besin keseli larva, üstten görünüş	31
Şekil 3.22. Yemlenen larvalar, havuzda	33
Şekil 3.23. Yemlenen larvalar, laboratuvarı	33
Şekil 3.24. Yemlenen larva, üstten görünüş	34
Şekil 3.25. Yemlenen larva, alttan görünüş	34
Şekil 3.26. Havuzda bacaksız iribaş	35
Şekil 3.27. Bacaksız iribaş	36
Şekil 3.28. Arka bacaklı iribaş	36
Şekil 3.29. Kuyruğu çekilmeye başlayan dört bacaklı iribaşlar	37
Şekil 3.30. Genç kurbağa havuzu	39
Şekil 3.31. Genç kurbağa	39
Şekil 3.32. Kurbağa otopsisı	48
Şekil 3.33. Dişi kurbağa, anaç	48
Şekil 3.34. Erkek kurbağa, anaç	49
Şekil 3.35. PCA'da üreyen bakteri kolonileri	50
Şekil 3.36. VRBGA'da üreyen koliform bakteriler	50
Şekil 3.37. Katalaz testi	52
Şekil 3.38. Eskülin hidrolizi deneyi	53
Şekil 3.39. İndol testi	54
Şekil 3.40. MR testi	54
Şekil 3.41. VP testi	55
Şekil 3.42. GMDA'da uygulanan testler	56
Şekil 3.43. TSIA'da uygulanan testler	57
Şekil 3.44. Simon citrat kullanımı	57
Şekil 3.45. LIA'da uygulanan	58
Şekil 3.46. VITEK 2 compact sistemi	59
Şekil 3.47. Kullanılmış VITEK kitleri	59
Şekil 3.48. Antibakteriyel duyarlılık testi	60
Şekil 4.1. Havuzlarda fitoplankton ve yosunlaşma nedeniyle yeşillenme	69
Şekil 4.2. Ondört günlük larva, karında hava kabarcığı, su içinde yüzerken	69
Şekil 4.3. Ondört günlük larva, karında hava kabarcıkları ve yeşil bağırsaklar	70

	Sayfa
Şekil 4.4. Bacaksız iribaşta karında kişkinlik	71
Şekil 4.5. Bacaksız iribaş, kuyrukta eğrilik	72
Şekil 4.6. Dört bacaklı iribaş, omurga eğriliği	72
Şekil 4.7. Omurgada eğrilik	72
Şekil 4.8. Sağ bacakta kızarıklık ve omurga eğriliği	73
Şekil 4.9. Sağ kolda ülseratif yara	73
Şekil 4.10. Sol kolda ülseratif yara, şişkinlik, omurga eğriliği ve bacak kaslarında zayıflık	73
Şekil 4.11. Ekstremitelerde ülseratif yaralar, bacaklarda incelme, sağ göğüste kitle	74
Şekil 4.12. Ekstremitelerde ülseratif yaralar, sağ göğüste kitle, deri altı görünümü	74
Şekil 4.13. Ekstremitelerde ülseratif yaralar, sağ göğüste kitle, karaciğer renginde koyulaşma, bağırsaklarda anemi	75
Şekil 4.14. Karaciğer renginde koyulaşma, bağırsaklarda yangı	75
Şekil 4.15. Sabouraud Dextrose Agar'da mantar	81
Şekil 4.16. <i>Cladosporium</i> spp.	81
Şekil 4.17. <i>Penicillium</i> spp.	81

1. GİRİŞ

Avrupa gastronomisine 16. yüzyılda giren kurbağa eti birçok dünya mutfağında yerini almış, gıda değeri yüksek bir besin kaynağıdır. Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO) kurbağa etinin yüksek oranda aminoasit içerdiğini, proteinlerinin emilebilirliğinin yüksek olduğunu, düşük oranda tuz ve yağ içerdiğini bildirmiştir. Besin değeri dışında evcil hayvan, eğitim ve araştırma aracı olarak da önemli olan kurbağaların tüm organ ve dokuları farklı sanayi kollarında değerlendirilmektedir [61].

Kurbağa ihtiyacı 20. yy.'ın başına kadar doğadan yakalama şeklinde yürütülmüştür. 1900'lü yılların başlarında Amerika'da başlayan ilk yetiştiricilik denemeleri [6], günümüzde doğal kaynakların artan kurbağa talebini yeterince karşılayamaması sebebiyle, halen gelişmekte olan büyük bir sektöre dönüşmesine öncülük etmiştir [51]. FAO (2015b) [26] verilerine göre, dünyada avcılık yoluyla kurbağa üretim miktarı 2014 yılında 2.886 ton iken yetiştiricilik yoluyla 102.384 tondur [25]. FAO verileri değerlendirildiğinde, dünyada avcılık yoluyla üretimden çok yetiştiriciliğe yönelindiği bariz bir şekilde görülmektedir. Kurbağa yetiştiriciliğini yoğun olarak sürdüren ülkelerde, hızlı büyümeleri ve diğer ekonomik özellikleri nedeniyle daha çok Amerika boğa kurbağası (*Lithobates catesbeiana*, Shaw 1862; sin. *Rana catesbeiana*) tercih edilmektedir [20, 25].

Ülkemiz mutfağında kurbağa eti yer almamasına karşın, özellikle bazı Avrupa ülkelerinde sevilerek tüketilmesi ve talep edilmesi nedeniyle *Rana* ve *Pelophylax* türleri uzun yıllardır doğadan yakalanmaktadır. Avlanan kurbağalar su ürünleri işleme ve değerlendirme tesislerinde işlenerek kurbağa bacağı ve canlı kurbağa olarak ihraç edilmektedir [15]. Ancak son yıllarda, yaban kurbağa popülasyonunun bazı ekolojik ve sosyolojik sebeplerle sayıca azalması nedeniyle, avcılık yoluyla yeterince ürün elde edilememektedir [74]. Artan talebi karşılayabilmek amacıyla, son yıllarda bazı özel ve resmi kurumlar kurbağa yetiştiriciliği ile ilgilenmeye başlamışlardır. Yapılmış olan incelemeler neticesinde ülkemizde son yıllarda yerli kurbağaların yetiştiriciliği ile ilgili bazı girişimlerin mevcut olduğu, ancak ticari boyutta entansif yetiştiriciliğin bulunmadığı görülmüştür. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Mersin İli Aydınçık Tarım İlçe Müdürlüğü elemanlarınca 2014 yılında başlatılan Çukurova Kalkınma Ajansı destekli entansif kurbağa yetiştiriciliği geliştirme projesi halen devam etmekte, ancak birçok yapısal, teknik ve sağlık sorunlarıyla karşılaşmıştır.

Tüm canlılarda olduğu gibi, gerek yaban ve gerekse de yetiştiriciliği yapılan kurbağaların birçok enfeksiyöz olmayan ve enfeksiyöz hastalığı bulunmaktadır. Özellikle dar bir alanda çok sayıda canlının birarada bulunduğu yetiştiricilik koşullarında ortaya çıkan hastalıklar yoğun canlı ölümlerine, verim kayıplarına ve ekonomik kayıplara yol açabilmektedir.

Bu kayıpların en az seviyede tutulabilmesi optimum yetiştiricilik koşullarının sağlanması, çevredeki potansiyel fiziksel, kimyasal ve biyolojik risklerin bilinmesi ve çevresel koşullar-hastalık etkeni ve canlının biyolojik özellikleri arasındaki dengenin sağlanmasına bağlıdır. Çevresel koşulların optimize edilememesi, diğer hayvanlarda olduğu gibi strese, stres de bağışıklık sistemi baskılanmalarına yol açmaktadır. Dolayısıyla, içinde bulundukları ortamın ve hayvanın kendi normal mikrobiyotasında [33, 34, 48, 60] yer alan hastalık yapıcı fırsatçı patojenlere maruz kalabilmektedirler. Kurbağaların enfeksiyöz hastalıklarını paraziter, fungal, viral ve bakteriyel etkenler oluşturmakta olup, en çok bilinen bakteriyel hastalıkları dermatoseptisemi (kızıl bacak hastalığı), flavobakteriozis, streptokokkozis, mikobakteriozis ve klamidiozis'tir [21, 37]. Bu hastalıklara neden olan birçok bakteriyel etken gerek yaban ve gerekse de yetiştiriciliği yapılan birçok kurbağa türünde bildirilmiştir. Ancak, yapılmış olan literatür taramalarına göre *Pelophylax* spp. hastalıkları ile ilgili herhangi bir yayına rastlanılamamıştır.

Ülkemizde son yıllarda gelişim çabaları içinde olan entansif kurbağa yetiştiriciliğinin sürdürülebilirliğinin sağlanması ve sağlıklı ürün elde edilebilmesine katkı hedefi doğrultusunda bazı bakteriyel etkenlerin belirlenerek potansiyel risklerin ortaya konulması, kurbağaların başkalaşım süreçlerindeki kritik dönemlerinin belirlenmesi, içinde yaşadıkları suyun bazı fiziksel, kimyasal ve bakteriyel kalitelerinin anlaşılması, beslenmelerinde kullanılan yemlerin bakteriyel kalitesinin ortaya konulması, meydana gelebilecek hastalık ve ölümlere karşı korumanın geliştirilmesi ve tedavilerinin sağlanması bu tezin amacını oluşturmaktadır.

Bu amaçlarla, bu tezde yetiştirilen Ova kurbağası (*Pelophylax ridibundus*, Pallas 1771) bireylerinde hastalıklara neden olabilecek bakteriyel etkenlerin tanımlanarak antibakteriyel duyarlılıkları belirlenmiş, birçok pratik ve bilimsel deneyim elde edilmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. Kurbağaların Genel Özellikleri

Kurbağalar amfibik, poikilotermik, başkalaşım (metamorfoz) geçirerek gelişen omurgalı hayvanlar olup, bazı türleri insan gıdası olarak tüketilmektedir. Kurbağaların yeryüzüne dağılmış birçok familyaya mensup yaklaşık 5250 türü bulunurken, ülkemizde 6 familyadan 17 türün bulunduğu bildirilmiştir [86]. İnsanlar tarafından tüketilmesi uygun türlerin bulunduğu Ranidae (Su kurbağasıgiller) familyası, güneybatı Antarktika hariç bütün dünyada yayılım göstermekte ve yaklaşık 260 kurbağa türünü kapsamaktadır [87].

2.1.1. Kurbağaların Biyolojisi

Kurbağalar hem suda, hem de karada yaşayan amfibik (iki yaşamlı) canlılar olup, Amphibia sınıfının birbirinden oldukça farklı görünüme sahip üç takımdan biri olan Anura (Kuyruksuz kurbağalar) takımına mensuptur. Suda yumurta olarak başlayan yaşam döngüleri, karasal hayata uyum sürecinde başkalaşım geçirerek, solungaçlarıyla solunum yapan ve adeta bir balık gibi olan anatomik yapılarında değişiklikler meydana gelerek akciğerleriyle solunum yapan dört bacaklı karasal hayvanlara dönüşmektedirler. Ancak, yaşamlarının tüm dönemlerinde ve türlerinin devamlılığı için suya ihtiyaç duymaktadırlar. Genellikle tatlı sularda yaşayan kurbağalar poikilotermik canlılar olup, yaşam koşulları uygun olmadığında eylemsizleşmektedirler. Bu eylemsiz dönem, sıcak ve kuru hava koşullarında gerçekleştiğinde “yaz uykusu”, soğuk hava koşullarında ise “kış uykusu” olarak adlandırılmaktadır. Erginleri böcek, solucan, küçük yumuşakçalar ve birçok başka küçük hayvan dâhil olmak üzere etçil beslenmektedir. Larvaları ise sudaki alglerle ve ölü hayvan artıklarıyla beslenmektedir [9, 10, 14, 46].

Kuyruksuz kurbağaların erkekleri dişilerinden genellikle daha küçüktür. Dişi-erkek ayırımında bir diğer ayırt edici husus ise, sahip oldukları ses keseleriyle sadece erkeğin ses çıkarma yeteneğinde olmasıdır. Üreme mevsimi geldiğinde veya bir tehlikeyi haber vermek üzere her tür kendine özgü sesler çıkartmaktadır [14, 46].

2.1.2. Kurbağaların Yaşam Döngüleri

Kurbağaların üreme zamanı sıcaklıkla ilişkili olup, genellikle sıcak iklimlerde ilkbahar aylarında başlayan üreme dönemi yaz ayları boyunca devam etmektedir. Kurbağalar yaklaşık üç yıl sonunda cinsel olgunluğa erişmektedir. Çiftleşme, erkek bireyin dişiyle kucaklaşma

(amleksus) pozisyonuna geldikten sonra eşey hücrelerinin suda döllemesi ile gerçekleşmektedir [10].

Embriyolar, su ile temas ettiğinde şişen bir jel şeklindeki şeffaf bir kılıfla korunmaktadır. Kılıf içinde gelişen embriyolar, yaklaşık bir haftalık kuluçka süresinin ardından solungaçlarıyla solunum yapan kuyruklu larvalara dönüşüp kılıfı yırtarak çıkmaktadırlar. Yumurtadan çıktıktan bir süre sonra yüzmeye başlayan larvalar alg ve yosunlarla beslenmektedir. Zamanla kafası büyüyüp kuyruğu uzayan herbivor larvalar iribaş (tadpol) olarak adlandırılmaktadır. Metamorfoz evresinin başlangıcında önce arka bacaklar, sonra ön bacaklar çıkmaya başlamakta, kafa daha da belirginleşmektedir. Başkalaşımın son evresinde kuyruk absorbe olmakta, solungaçların yerini akciğerler almakta, %70'e varan ağırlık kaybına uğrayarak vücudu bilinen klasik kurbağa şeklini almaktadır. Deri ile solunum da mevcuttur. Sucul evrede herbivor olan larvaların uzun olan bağırsakları kısalmakta, karnivor özellik kazanmaktadırlar. Ağızları genişlemekte ve gerçek dişleri çıkmaktadır [12].

2.2. Kurbağaların Ekonomik Önemi

Kurbağalar insanlar tarafından başta gıda olmak üzere evcil hayvan, eğitim aracı, yem yapımı ve kozmetik sanayinde kullanılmaktadır [1, 6, 20, 60, 61]. Bu amaçlarla kurbağalar 1900'lü yılların başına kadar sadece doğadan yakalanırken, günümüzde yetiştiricilik yoluyla üretimin avcılığın önüne geçmiş olduğu görülmektedir [25, 26]. FAO (2015a) verilerine göre Çin, Endonezya, Kamboçya, Laos, Malezya, Singapur, Tayvan (Çin bölgesi), Tayland, Vietnam ve Türkiye gibi Asya ülkelerinde ve Arjantin, Brezilya, Meksika, Uruguay gibi Amerika kıtasındaki ülkelerde kurbağa yetiştiriciliği yapılmaktadır [25]. FAO (2015b) verilerine göre, dünyada avcılık yoluyla kurbağa üretim yapan ülkeler arasında Endonezya (1780 ton), Türkiye (742 ton), Meksika (361 ton) ve ABD (3 ton) yer almaktadır [26]. Buna karşın yetiştiricilik yoluyla kurbağa üretiminden elde edilen işletme çıkış fiyatı toplamda 507.243.000 \$, kilogram fiyatı ise yaklaşık 5 \$ olarak belirlenmiştir [25].

TUİK (2016) verilerine göre, 2014-2016 yıllarında ülkemizden Fransa, İtalya, İsviçre, İspanya, İngiltere, Arnavutluk ve Güney Kore'ye kurbağa ihracatı gerçekleştirilmiş, toplam 29.805.173 TL döviz girdisi sağlanmıştır [80]. Ülkemizde avcılık yoluyla kurbağa üretim miktarları 2001-2014 yılları arasında 622-898 ton iken yukarıda anılan nedenlerle 2015 yılında 535.000 kg'a düşmüştür [79]. Yine TUİK [79] verilerine göre, Balıkesir ve Edirne'de bulunan işletmelerde 2014 yılında toplam 50 ton, 2015 yılında ise 43 ton kurbağa yetiştirildiği bildirilmiştir. 2015 yılında avcılık yoluyla üretilen kurbağaların kilogram satış fiyatı 10,01 TL iken, yetiştirilen kurbağaların kilogram satış fiyatı 11,78 TL olarak belirlenmiştir [79]. Bu

rakamlar yetiştiriciliğın geliştirilmesi ile önemli bir döviz girdisinin sağlanabileceğini göstermektedir.

2.3. Kurbağa Yetiştiriciliği

Doğal kaynakların gittikçe artan insan nüfusuna yetmemesi nedeniyle, beslenme zincirinde önemli bir yeri tutan hayvansal ürünleri elde edilebilmek amacıyla, birçok hayvan türü için uzun yıllardır kontrollü yetiştiricilik yöntemleri uygulanmaktadır. Kurbağa yetiştiriciliği de 1960'lı yıllardan beri, özellikle Güney Amerika ve bazı Uzak Doğu ülkelerinde başarıyla yürütölmektedir [27]. Bu ölkelerde daha çok Amerika boğa kurbağası (*Lithobates catesbeiana*) yetiştiriciliği yapılmaktadır. Ancak, Hint yeşil kurbağası (*Euphlyctis hexadactylus*, sin. *Rana hexadactyla*), Jerdon'un boğa kurbağası (*Hoplobatrachus crassus*, sin. *Rana crassa*) ve Hint boğa kurbağası (*Hoplobatrachus tigerinus*, sin. *Rana tigrina*) türleri de yetiştirilmektedir [20]. Avrupa ölkelerinin daha küçük olan 50-60 g ağırlığındaki *Pelophylax* (*Rana*) *ridibundus* ve *Rana esculanta* türlerini tercih ettiğı [15], *P. ridibundus* gereksinimlerini Türkiye ve Mısır gibi Akdeniz ölkelerinden [57] ve Arnavutluk, Bangladeş, Çin, Malezya, Endonezya ve diğör bazı ölkelerden temin ettikleri bildirilmiştir [15].

Ölkemizde yenilebilir ve ticari değere sahip *Rana* cinsinin dört [Çevik kurbağa (*Rana dalmatina*, Bonaparte, 1840), Uludağ kurbağası (*Rana macrocnemis*, Boulenger, 1885), Toros kurbağası (*Rana holtzi*, Werner, 1898) ve Şeritli kurbağa (*Rana camerani*, Boulenger, 1886)], *Pelophylax*'ın ise Levanten ova kurbağası (*Pelophylax* (*Rana*) *bedriagae*, Camerano, 1882) ve Ova kurbağası (*Pelophylax ridibundus*, Pallas, 1771, sin. *Rana ridibunda*) olmak üzere iki türü bulunmaktadır [74]. Toros kurbağası endemik olup, yakalanması yasak türler arasına alınmıştır [53]. Doğal çevre dengesinin korunmasının gerekliliğı göz önünde bulundurulduğunda, yerli türlerin ölkemizde bilimsel yöntemlere uygun ve ekonomik bir şekilde entansif olarak yetiştirilmesinin önemi ortaya çıkmaktadır.

Avrupa'da kurbağa yetiştiricilik denemeleri 1980'lerde başlamıştır [56, 57]. Ölkemizde ise entansif kurbağa yetiştiriciliğı henüz deneme aşamasında olup, daha çok doğadan yakalanan anaçlardan yumurta eldesi ve bir sezonda büyütölen ürünlerin elden çıkarılması şekilde yürütölmektedir (Kişisel görüşme: Ayten Uzkent). GTH Bakanlığı Aydıncık Tarım İlçe Müdürlüğü kontrolünde yürütölen entansif kurbağa yetiştiricilik projesi ile bazı pratik bilgiler elde edilmiş, ancak halen tam bir başarıya ulaşamamıştır.

FAO (2016) 'yetiştiricilen sucul türlerin bilgilendirme programı' kaynağına göre, kurbağa yetiştiriciliğinde kullanılan yöntemler:

1. Ekstansif yetiştiricilik: Yumurta, emriyo ya da larvaların doğadan toplanarak bir gelişme dönemi içinde doğal beslenerek büyütülmesi;
2. Yarı entansif yetiştiricilik: Üreme mevsiminden önce anaçların doğadan yakalanarak üreme havuzlarına konulup beslenmesi ve oluşan yavruların büyütülmesi;
3. Entansif yetiştiricilik: Tüm yaşam evrelerinin kontrollü bir şekilde işletme içinde sürdürülmesi [27].

Kurbağa yetiştiriciliği yumurtanın kuluçkalandırılması, larval dönem, iribaş kültürü, genç kurbağaların yetiştirilmesi ve anaçların bakım ve yetiştirilmesi gibi çeşitli yaşam aşamalarında özel imkânlar ve kültür uygulamaları gerektirmektedir. Yaşam döngüsünün her aşaması için yeterli akan su kaynağı, uygun çevre koşulları ve uygun yem sağlanmalıdır. Kurbağa yetiştiriciliğinde kanibalizm, hastalıklar, sınırlı gıda kaynakları, su kalitesi / sanitasyon ve dalgalanan sıcaklıklarla ilgili problemlerle karşılaşılabilir [1, 50]. Entansif yetiştiricilikte bu sakıncaların en aza indiği bildirilmiştir [6].

Entansif kurbağa yetiştiriciliğinde karşılaşılan en büyük zorluk ise kurbağaların beslenmelerinde doğal gereği hareketli canlılara ilgi göstermeleridir. Oysa ekonomik olması için yetiştirilen kurbağaların canlı av yerine ticari yemlerle beslenmeleri bir zorunluluktur. Bu sorunun üstesinden gelebilmek ve Avrupa'da kurbağa yetiştiriciliğini geliştirebilmek amacıyla İngiltere'de Miles vd. (2004) Bayağı kurbağa (*Rana temporaria*) [55], Fransa'da Neveu (2004) yeşil kurbağalar [Esculenta kompleksi (iki ebeveyn tür: *Rana lessonae* ve *R. ridibunda* ve ikisinin melezi *R. esculenta*)] [56], İspanya'da Real vd. (2005) *Rana perezi* kurbağa türleri üzerinde araştırmalar yapmışlardır [67].

Miles vd. (2004) yetişkin Bayağı kurbağalarına (*Rana temporaria*) pelet yemleri mekanik bir titreştirici ve ev sineği (*Musca domestica*) larvaları ile karıştırarak tüketimini araştırmışlar, larvalarla karıştırılan yemlerin daha fazla tercih edildiğini saptamışlardır [55]. Real vd. (2005) de *R. perezi* kurbağacıklarının (metamorfozu yeni tamamlamış yavru kurbağalar) yem granülleri ile karıştırılan canlı ev sineği larvaları ile besledikten 2 ay sonra sinek larvalarının diyetten tamamen çıkarılmasının mümkün olduğunu belirlemişlerdir [67]. Neveu (2009) birkaç yıl yetiştirme denemesinden sonra *R. ridibunda*'nın yüzen peletleri (ekstruder yem) kabul etmesini başardıklarını bildirmiştir [57]. Neveu (2004, 2009), *Rana lessonae*, *R. ridibunda* ve *R. esculenta* üzerinde yapmış olduğu yetiştiricilik denemelerinde *R. ridibunda*'nın entansif yetiştiricilik için daha uygun olduğunu belirlemiştir. İribaş gelişimi 2 ila 3 ay sürmüş, kurbağacıklar metamorfoz gerçekleşir gerçekleşmez granül yem ile beslenmeye başlanmıştır. 40 gün sonra hayatta kalma oranları % 92 olarak belirlenmiştir. Yumurta keseli larva aşamasından sonraki gelişim süreleri 10-12 ay olup, 15-25°C arasındaki sıcaklıklarda 20-

30 kg/m²'lik bir üretim sağlanmıştır [56, 57]. Granül yem olarak alabalık yemi tercih edilmiştir [55, 56, 57, 67]. Aydıncık'ta yetiştirilen *P. ridibundus*'lar ise larvalar ilk gelişim basamaklarından itibaren ticari toz yem ile beslenmekte, karaya çıkan genç kurbağalar titreşim sağlayan bir düzenekle pelet yeme alıştırmakta ve yem alımında bir sorun yaşanmamaktadır.

2.3.1. Yetiştiricilikte Su Kalitesinin Önemi

Suyun fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi sucul canlıların sağlığını doğrudan etkileyebileceği gibi, stres yaratarak bağışıklık sistemi zayıflıklarına, dolayısıyla enfeksiyöz hastalıkların daha kolay meydana gelmesine sebep olabileceğinden çok önemlidir. Yüzey ve derin suların kalitesi katyon, anyon, ağır metaller gibi doğal madde içeriğine, yapısına sonradan giren tarımsal mücadele ilaçlarının kalıntılarına, organik ve inorganik gübrelerin karışmasına ve mikroorganizma içeriğine bağlıdır. Su kalitesi lezzet, asitlik, alkalilik, koku, renk, bulanıklık, tuzluluk, elektriksel iletkenlik, pH, biyokimyasal oksijen değeri, sertlik, anyon, katyon, herbisit, pestisit ve bakteri varlığıyla karakterize edilmektedir. Yaşama gücünü destekleyen, ölüm ve hastalıklara neden olmayan içeriğe sahip olan su “yüksek kaliteli su” olarak tanımlanabilmektedir [24]. Su kalitesinin belirlenebilmesi amacıyla standart bazı ölçütler geliştirilmiştir (Tablo 2.1).

Ülkemizde “Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği” (2004)'inde kıta içi yüzeysel sular (akarsu, göl ve baraj suları) kalitelerine göre dört sınıfa ayrılarak hangi amaçlar için kullanılabileceği belirtilmiştir [69]. Buna göre:

A-Sınıf I (Yüksek Kalite Su):

- a. Yalnız dezenfeksiyon ile içme suyu temini
- b. Rekreatiyonel amaç (yüzme gibi vücut teması gerektirenler dahil)
- c. Alabalık üretimi
- d. Hayvan üretimi ve çiftlik ihtiyacı
- e. Diğer amaçlar

B-Sınıf II (Az Kirlenmiş Su):

- a. İleri veya uygun bir arıtma ile içme suyu temini
- b. Rekreatiyonel amaçlar
- c. Alabalık dışında balık üretimi
- d. Teknik Usuller Tebliği'nde verilecek olan sulama suyu kalite kriterlerini sağlamak şartıyla sulama suyu olarak
- e. Sınıf I dışında bütün kullanımlar

C-Sınıf III (Kirlenmiş Su):

Gıda, tekstil gibi kaliteli su gerektiren endüstriler hariç olmak üzere uygun bir arıtmadan sonra endüstriyel su temininde kullanılabilir.

D-Sınıf IV (Çok Kirlenmiş Su):

I, II ve III sınıf için verilen kalite parametreleri bakımından daha düşük kalitedeki yüzey suları ifade eder.

Tablo 2.1. Su kalitesi kriterleri.

SU KALİTE PARAMETRELERİ	Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği [69]	Türk Standartları TS266 [81]	İnsani Tüketim Amaçlı Sular [71]	Avrupa Birliği 98/83/EC [23]
Sıcaklık (°C)	25-30			
pH	6,5-8,5	6,5-9,5	6,5-9,5	6,5-9,5
Bulanıklık (NTU)	-	5	1	1
İletkenlik (µS/cm)	-	650-2500	2500	2500
Amonyum (mg/L)	0,2-2	-	0,5	0,5
Florür (µg/L)	1-2	1,0-1,5	1,5	1,5
Klorür (mg/L)	25-400	30-250	-	250
Nitrat (mg/L)	25-50	25-50	25-50	25-50
Nitrit (mg/L)	0,002-0,05	-	0,5	0,5
Sülfat (mg/L)	200-400	25-250	-	250
Bromür (µg/L)	-	-	10	10
Sodyum	125-250	100-200	200	-
Toplam koliform (sayı/100 mL)	100-100.000	0	0	0
Toplam bakteri 37°C (sayı/mL)	-	20	-	20
Enterokok (sayı/100 mL)	-	-	0	-
P. aeruginosa (sayı/250 mL)	-	-	0	-
Patojen Stafilokok (sayı/100 mL)	-	-	0	-

Dünya Sağlık Örgütü (WHO, 2011), kalsiyum ve magnezyum tuzlarının meydana getirdiği su sertliğini (mg CaCO₃/L) ≤60 yumuşak, 120-180 orta sert, 180'den büyük değerleri çok sert su ve 100 civarındaki suları normal olarak sınıflandırmıştır [85]. Magnezyum'un tolere edilebilir değerleri olarak 14-125 mg/L bildirilmiştir [59].

Tüm diğer canlılarda olduğu gibi, kurbağaların da gelişebilmeleri ve sağlıklarının sürdürülebilmesi için kaliteli suya gereksinimleri vardır (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Kurbağaların ihtiyaç duydukları çevresel gereksinimler¹.

Parametre	Değer
Sıcaklık (°C)	
Alçak arazilerde	22-28
Yüksek arazilerde	18-23
pH	6,5-8,5
Tuzluluk (ppt)	0-5
Sertlik (mg CaCO ₃ /L)	75-150
Alkalinite (mg/L)	15-50
Çözünmüş oksijen (mg/L)*	>3
Çözünmüş oksijen doygunluğu (%)	>%80
CO ₂ (mg/L)	<5
İyonize olmamış amonyum (mg/L)	<0,02
Nitrit (mg/L)	<1

¹Whitaker, 2001 [82] *FAO, 2016 [27]

2.4. KURBAĞA HASTALIKLARI

2.4.1. Genel Bilgiler

Tüm avantajları yanında, dar ve kontrollü bir alanda fazla sayıda hayvanın birarada barındırılması ile yürütülen yetiştiricilik koşulları hayvanların daha kolay hastalanmalarına ve yoğun ölümlere neden olabilmektedir. Bu koşullarda sağlığın korunabilmesi çevresel, bakım ve besleme gereksinimlerinin hayvanların ihtiyaç duydukları optimum düzeyde tutulması ile mümkündür. Yetiştiricilik ortamlarındaki suyun fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi, sıcaklık, nem, popülasyon yoğunluğu, havuz yapısı, kimyasallar, elle muamele, nakiller vb. bakım koşulları ve beslenme yetersizlikleri stres mekanizmasını tetikleyen ya da doğrudan hastalık ve ölümlere neden olan çevresel faktörlerdir [21, 37, 75]. Kurbağaların kış uykusunun da bağışıklık sistemini ve bağırsak mikrobiyotasını etkilediği bildirilmiştir [75].

Gerek yaban ve gerekse de yetiştiriciliği yapılan kurbağaların birçok enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan hastalığı bulunmaktadır. Kurbağaların beslenme hastalıkları arasında metabolik kemik hastalığı, hipervitaminozis D3, tiamin yetersizliği, yağ dokusu iltihabı, böbrek taşı, obesite, skolyoz, zayıf bacak, felç, korneal lipidozis ve kaşeksi bildirilmiştir [83]. Hernekadar yaban hayvanlar da doğal çevrelerinin normal mikrobiyotasındaki etkenlerle temas halinde olmalarından dolayı hastalık tehdidi içinde bulunsalar da, dar alanlarda ve sıkışık olarak yürütülen yetiştiricilik ortamlarında hayvanlar her zaman daha fazla strese maruz kalmaktadırlar. Tüm canlılarda olduğu gibi, kurbağalarda da bağışıklık sistemi baskılanmasına neden olan stres nedeniyle, su ortamında bulunan fırsatçı patojen ve hatta bazen saprofit karakterdeki mikroorganizmaların bağışıklık sistemi bariyerini aşarak enfeksiyöz hastalıklara yol açtıkları bilinmektedir. Kurbağaların enfeksiyöz hastalıklarını da diğer tüm canlılarda

olduğu gibi parazitler, fungal, viral ve bakteriyel etkenler oluşturmaktadır. Parazitler hastalıklarını protozoan parazitler (çeşitli amip, siliat, flagellat ve sporozoanlar), metazoan parazitler (miksozoa, helmintler-kısmen trematod ve nematodlar) ve artropodlar meydana getirirken, kitridiomikozis, zigomikozis, kromomikozis, saprolegniyazis ve ihtyofoniyazis en sık rastlanılan mantar hastalıklarıdır. *Ranavirus* en çok görülen viral hastalık etkenidir. Kurbağaların en çok bilinen bakteriyel hastalıkları ise dermatoseptisemi (kızıl bacak hastalığı), streptokokkozis, flavobakteriozis, mikobakteriozis ve klamidiozis'tir [21, 37].

2.4.2. Kurbağaların Bakteriyel Hastalıkları

Kurbağaların bakteriyel hastalıklarına neden olan birçok bakteri türü bildirilmiştir. Doğal çevrelerinde ve hayvanların normal mikrobiyotasında yeralan birçok etkenin kurbağaların hastalanmalarına da yol açabildiği yapılmış olan araştırmalar ortaya koymuştur. Diğer poikilotermik hayvanlarda olduğu gibi amfibilerde de, Gram pozitif bakteriler önemli hastalıklara yol açsa da, en çok Gram negatif mikroorganizmaların etkili olduğu ortaya konulmuştur [21, 75].

Sağlıklı yaban ve yetiştiriciliği yapılan kurbağaların bağırsak mikrobiyotası incelendiğinde, hastalanmalarına yol açan bakterilerin normal mikrobiyota içinde yer aldığı görülmektedir. Carr vd. (1976), yetiştiriciliği yapılan sağlıklı Amerika boğa kurbağası (*Rana catesbeiana*) bağırsaklarında *Achromobacter* sp., *Acinetobacter* sp., *Aeromonas hydrophila*, *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus sphaericus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* sp., *Escherichia coli*, *Flavobacterium* sp., *Klebsiella* sp., *Micrococcus* sp., *Plesiomonas shigelloides*, *Proteus mirabilis*, *Proteus morgani*, *Proteus rettgeri*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas* sp., *Serratia* sp., *Shigella* sp., *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. ve diğer bazı Gram negatif bakterileri izole ettiklerini bildirmişlerdir [16]. Pasteris vd. (2006) de sağlıklı kurbağaların bağırsaklarında *Aeromonas hydrophila* saptamışlardır [60]. Lee vd. (2009) Malezya'da yetiştiriciliği yapılan *Rana catesbeiana* kurbağalarının iç organlarından *Aeromonas* spp., *Edwardsiella* spp., *Flavobacterium* spp. ve *Vibrio* spp. izole etmişlerdir [48]. Yaban kurbağalarda da benzer bakterileri görmek mümkündür. Hacıoğlu ve Tosunoğlu (2014) Türkiye'de Kavak Deltası'nda yakalanan *Lissotriton vulgaris*, *Pelophylax ridibundus*, *Emys orbicularis*, *Mauremys rivulata* ve *Natrix natrix* türü kurbağaların ağız ve kloaka sürüntüsünden *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus vulgaris* türlerini tespit etmişlerdir [33]. Yine Hacıoğlu vd. (2015) Biga Deresi'nde yakalanan *Pelophylax ridibundus*, *Mauremys rivulata* ve *Natrix natrix* türü kurbağaların ağız ve kloaka sürüntüsünden

Acinetobacter baumannii, *Acinetobacter lwoffii*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* biovar *sobria*, *Aeromonas caviae*, *Burkholderia pseudomallei*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Enterobacter gergoviae*, *Pantoea agglomerans*, *Pasteurella multocida*, *Salmonella* Arizonae, *Serratia liquefaciens* ve *Yersinia enterocolitica* türlerini izole etmişlerdir [34].

Sucul canlılarla su mikrobiyotasının paralelliği bilinen bilimsel bir gerçekliktir. Nitekim, *Pelophylax ridibundus*, *Mauremys rivulata* ve *Natrix natrix* türü kurbağaların yakalandığı alanlardaki su örneklerinde de *Actinobasillus* sp., *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*, *Burkholderia pseudomallei*, *Elisabethkingea meningoseptica*, *Enterobacter gergoviae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Moroxella* sp., *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia rubidaea*, *Serratia liquefaciens*, *Shewanella putrefaciens* ve *Vibrio carchariae* saptandığı bildirilmiştir [34].

Taylor vd. (2001) bildirdiğine göre *Achromobacter* sp., *Acinetobacter lwoffii*, *Alcaligenes faecalis*, *Arizona* sp., *Bacillus cereus*, *B. megaterium*, *Corynebacterium* sp., *Eikenella corrodens*, *Enterobacter* sp., *E. cloacae*, *Escherichia coli*, *Gaffkya* sp., *Klebsiella ozaenae*, *Leptospira* sp., *Micrococcus* sp., *Pasteurella* sp., *Pectobacterium* sp., *Plesiomonas shigelloides*, *Propionibacterium* sp., *Pseudomonas alcaligenes*, *P. maltophilia*, *P. pickerii*, *P. pseudocaligenes*, *Salmonella* sp., *Sarcinia lutea*, *Shigella* sp., *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. ve *Vibrio* sp. amfibiler için genellikle patojenik değildir. Hasta bireylerde izole edilse bile, amfibilerin normal mikrobiyotasında yeralan türlerdir. Ancak, bu bakterilerden herhangi biri kan ya da selömik (karın boşluğu ile ilgili) sıvıdan, ya da çok yüksek oranlarda saptanırsa, hastalığı meydana getiren etkenlerden biri olabileceği düşünülmelidir [75].

Kurbağaların derisindeki mukusta antimikrobiyel faktörler (peptitler, magaininler) bulunduğundan lokal enfeksiyonlar çok nadir olarak bildirilmiştir. Mekanik, kimyasal ve termal yaralanmalar bu birincil savunma sistemini zedeleyerek yüzeysel yara, ülser ve apselere, ardından da septisemilere yol açmaktadır. Yüzeysel enfeksiyonlarda genellikle *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Citrobacter* spp., *Flavobacterium* spp., *Providencia* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus epidermis* ve *Streptococcus* spp. gibi bakteriler bildirilmiştir [75].

Yetiştiriciliği yapılan kurbağalarda sıklıkla görülen rostrum ve çene yaraları, ülser ve nekrozlarında, suda ve çamurda yaygın olarak bulunabilen *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas liquefaciens*, *Acinetobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas* spp. ve D grubu *Streptococcus* saptanmıştır [75].

Bakteriyel menenjit amfibilerde nadiren saptanmıştır. Yetiştiriciliği yapılan Kuzey leopar kurbağasında (*Lithobates (Rana) pipiens*) *Flavobacterium meningosepticum* izole edilmiştir. Klinik belirti olarak dönme, başını eğme ve kendilerini düzeltmede yetersizlik

görülmüştür. Histolojik olarak menenjit, panoftalmi (gözün bütün tabakalarının enfeksiyonu) ve bilateral (çift taraflı) suppuratif (irin oluşturan) otitis (kulak enfeksiyonu) saptanmıştır [75].

Panoftalmitis (gözün bütün tabakalarının enfeksiyonu) ve üveit (gözün içindeki damar tabakası üvea'nın enfeksiyonu) çeşitli Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler tarafından meydana getirilmektedir. Japonya'dan Florida'ya taşınan Ateş karınlı kurbağalarda (*Bombina orientalis*) 3 haftalık nakliyat sonrasında iştahsızlık, şişkinlik ve gözlerde matlık, bazı kurbağalarda dönme, kasılma ve denge bozukluğu görülmüş, histolojik olarak panoftalmi ve üveit saptanmıştır. İç organlardan ve sıvılarından *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii* ve *Providencia alcalifaciens* izole edilmiştir [75].

Huys vd. (2003) Tayland'da septisemi görülen kültür Doğu Asya kurbağası (*Hoplobatrachus rugulosus*, sin. *Rana rugulosa*) kurbağalarının iç organlarında *Aeromonas hydrophila* subsp. *ranae* subsp. nov. tanımlamışlardır [41].

Cunningham vd. (2007) kurbağalarda birçok bakterinin etken olarak saptandığı ölümlerle seyreden bazı sistemik enfeksiyonlar bildirmişlerdir. İngiltere'de 1992 yılında yabancı Avrupa bayağı kurbağa (*Rana temporaria*) kurbağalarında meydana gelen yoğun ölümlerin nedeni olarak iridovirus ve *Aeromonas hydrophila* bildirilmiştir. Ülkenin değişik bölgelerinden getirilen kurbağalarda belirgin olan deride ülser ve sistemik kanamalar görülmüştür [19].

Kore'de bulunan bir Dybowski'nin kurbağası (*Rana dybowskii*) işletmesinde, helmint (Rhabditoidea) enfeksiyonlarını müteakiben bakteriyel septisemi nedeniyle Haziran-Eylül 2012 tarihleri arasında % 50-75 oranında mortalite görülmüştür. Hasta kurbağalarda parçalanmış akciğer, kanlı assites, karaciğerde renk bozuklukları, miyokard zayıflığı, kanamalı böbrek, mikrositik anemi gibi belirtiler saptanmıştır. Kurbağalarda septisemi meydana getiren Enterobacteriaceae, *Citrobacter* sp., *Acinetobacter* sp., *Cupriavidus metallidurans* yanında, kurbağalarda daha önce patojen olarak bildirilmemiş olan *Ewingella americana*, *Shewanella aquimarina* ve *Pseudoalteromonas* sp. bakterileri de izole edilmiştir. Bu olgu helmint enfeksiyonlarının sekonder bakteriyel enfeksiyonlarına yol açtığını gösteren iyi bir örnek olarak betimlenmiştir [45].

2.4.2.1. Kızıl bacak hastalığı

Kızıl bacak hastalığı yaban ve kapalı ortamda tutulan farklı anuran ve kaudatlarda (kuyruklu amfibiler) yaygın bir hastalık olup, ilk defa 1905 yılında Emerson and Norris tarafından bildirilmiştir. Sistemik bakteriyel bir hastalık olup, kurbağa arka bacakları ve karın derisinde meydana gelen kızarıklıklar nedeniyle "kızıl bacak sendromu (red leg syndrome)" olarak anılmaktadır. Bakteriyel dermatoseptisemi olgularında iştahsızlık, uyuşukluk, renkte

açılma, peteşiler, ülserler, şişlik, genellikle bacaklarda ya da lenf yumrularında ödem, döküntüler, nekroz, assites, solgun karaciğer, kaslarda ve iç organlarda kanamalar gibi patolojik belirtiler bildirilmiştir [21, 37, 75]. Pasteris vd. (2006) klinik bulgular arasında duruş bozukluğu, tortikollis, zayıflama, sersemlik ve uyarılara tepkisizlik, bazı olgularda büyük lezyonlar, özellikle bacak derisinde hiperemi ve ülserler, derialtı ödem nedeniyle bacaklarda şişkinlik ve iskelet kaslarında fokal kanamalar bildirmişlerdir. Karaciğer ve dalak büyümüş, renkleri değişmiş ve çoklu açık renkli odaklar belirlenmiştir [60]. Hastalık herhangi bir belirti görülmeden ya da çok az belirti ile ani ölümlere de yol açabilmektedir [21]. Hastalığın her başkalaşım aşamasında görülebileceği, ancak *R. catesbeiana*'nın tadpol (iribaş) aşamasında daha duyarlı olduğu belirtilmiştir [60]. İribaşlarda bu hiperemi ve peteşiyel kanamalar vücudun altında ve yanlarda, göz üstlerinde, kuyruk ve bacak derilerinde; olgunlaşmamış genç bireylerde ise deri altı ödemleri bildirilmiştir [75]. Ancak, bu bulgular bu hastalığa özgü olmayıp, Diğer bazı bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlarda da benzer belirtiler görülebilmektedir [21, 37].

Kızıl bacak hastalığının etyolojik ajanı olarak en çok *Aeromonas hydrophila* sorumlu tutulmuş olsa da, bugüne kadar *Aeromonas hydrophila* subsp. *ranae*, *Aeromonas salmonicida*, *Acinetobacter lwoffii*, *Alcaligenes faecalis*, *Citrobacter freundii*, *Chlamydia psittaci*, *Edwardsiella tarda*, *Flavobacterium* spp., *Chryseobacterium* (*Flavobacterium*) *meningosepticum*, *Chryseobacterium* (*Flavobacterium*) *indolgenes*, *Proteus* spp., *Pr. vulgaris*, *Pr. mirabilis*, *Pseudomonas* spp. ve *P. aeruginosa* gibi Gram negatif ve *Streptococcus iniae* ve *Staphylococcus epidermidis* gibi Gram pozitif bakteriler de bildirilmiştir [34, 37, 41, 51, 60, 62, 75]. Aynı belirtilerin fiziksel ve kimyasal etkilerle de meydana gelebileceği göz önünde bulundurulmalıdır [75].

Hastalık bugüne kadar Afrika pençeli kurbağası (*Xenopus laevis*), Kuzey leopar kurbağası (*Rana pipiens*), Kuzey kriket (cırcır böceği) kurbağası (*Acris crepitans*), dev karakurbağası (*Bufo marinus*) [75], Amerikan boğa kurbağası (*Rana catesbeiana*) [51, 60, 61, 75], Güney kahverengi ağaç kurbağası (*Litoria ewingii*) [72], Hint boğa kurbağası (*Rana tigrina*) [40] türlerinde bildirilmiştir.

Mauel vd. (2002), Amerika'da bulunan bir ticari Boğa kurbağası (*Rana catesbeiana*) işletmesinde meydana gelen sistemik bakteriyel enfeksiyonlar nedeniyle oluşan salgınları 3 yıl boyunca (1998-2000) incelemişlerdir. Değişik dokulardan *Aeromonas hydrophila*, *Chryseobacterium indolgenes*, *Chr. meningosepticum*, *Citrobacter freundii*, *Edwardsiella tarda*, *Pseudomonas* spp. ve *Streptococcus iniae* izole edilmiştir. Kurbağalarda klinik olarak, boyun eğriliği (tortikollis), uyuşukluk ve uyarılara karşı duyarsızlık görülmüştür. Özellikle bacak ve karın lateralinde deride hiperemiler, deri altı ve kaslarda kanamalar ve periferik ödem önemli bulgulardır. Karaciğer, dalak ve böbrek sıklıkla büyümüş, bazı olgularda karaciğerde çoklu açık

renkli noktacıklarla birlikte renk değişiklikleri ve böbrekte kanamalar saptanmıştır. Bulgular birçok bakterinin kızıl bacak hastalığı ile ilişkili olabileceğini, ancak kesin tanı için kültür sonuçlarının gerekliliğini ortaya koymuştur [51].

Pasteris vd. (2006) de Boğa kurbağalarının derisinden ve sudan *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterobacter* spp., *Lactobacillus* spp., *Micrococcus* spp., *Pediococcus* spp. ve *Proteus vulgaris*; karaciğer, dalak ve kandan da *Enterococcus* spp., *Proteus vulgaris* ve *Staphylococcus aureus* tespit etmişlerdir. *Pediococcus* ve *Lactobacillus* sağlıklı bireylerde saptanırken, hastalarda daha çok Enterobacteriaceae belirlenmiştir. Tüm olgularda Enterobacteriaceae üyelerinden KBH etkeni olan *Enterobacter* spp. ve *Pr. vulgaris* tespit edilmiştir. Su örneklerinde *Micrococcus* hariç, kurbağalarda da saptanan bakteriler görülmüştür. Sağlıklı bireylerde her cins benzer oranlarda iken, sağlıklı olmayan bireylerde *Lactobacillus* ve Enterobacteriaceae (*Pr. vulgaris*) daha yüksek oranlarda saptanmıştır [60].

Pasteris vd. (2009), *R. catesbeiana* kuluçkahanelerinde *Enterococcus faecalis*, *Ent. faecium*, *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Lactobacillus* spp., *Pediococcus* spp.; kızıl bacak hastalığı gösteren kurbağalarda da *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus epidermidis* izole etmişlerdir [61].

Yine Pasteris vd. (2011), Amerika boğa kurbağalarında *Citrobacter freundii*'nin kızıl bacak hastalığı oluşturma etkisini kanıtlamışlardır [62].

Schadich vd. (2010) de Yeni Zelanda'da yaban Kahverengi ağaç kurbağalarında (*Litoria ewingii*) görülen ölümcül dermatoseptisemi olgusunda sorumlu olarak *Aeromonas hydrophila*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus mirabilis* saptamışlar, enfektivitelerini banyolama yöntemi ile test etmişlerdir. *Aeromonas hydrophila* ve *Proteus mirabilis* etkisiz kalırken, *Klebsiella pneumoniae* kurbağaların % 40'ında morbidite ve mortalite oluşturmuş, kalp, dalak ve karaciğerden yeniden izole edilmiştir [72].

Huang vd. (2010) kızıl bacak hastalığı ile enfekte *Rana tigrina* türü kurbağanın kalp, karaciğer, assites ve bacak kaslarından *Aeromonas hydrophila* identifiye etmişlerdir [40].

2.4.2.2. Streptokokkozis/Stafilokokkozis

Streptokokkozis Gram pozitif kokların sebep olduğu, son yıllarda özellikle tatlısu balıklarının önemli salgın hastalıklarından biridir [8]. Kurbağalarda da bugüne kadar sadece yetiştiriciliği yapılan Amerika boğa kurbağalarında (*Lithobates catesbeianus*) bildirilmiştir.

Brezilya'da yetiştiriciliği yapılan Amerika boğa kurbağası popülasyonunun % 80'i bir non-hemolitik B-grubu Streptokok nedeniyle ölmüştür. Hastalığın nekrotize splenitis, hepatitis,

karaciğer ve böbrek kanamaları ile seyrettiği bildirilmiştir. Histopatolojik olarak dalakta retikuloendotelial hiperplazi saptanmıştır. Salgının kalabalıklık ve strese bağlı olarak oluştuğu belirtilmiştir [2].

ABD’de Mauel vd. (2002) yetiştiriciliği yapılan Amerika boğa kurbağasında *Streptococcus iniae* izole ettiklerini bildirmişlerdir [51].

FAO (2016) *Streptococcus* ve *Staphylococcus* türlerinin yetiştiriciliği yapılan Boğa kurbağalarında genel ödem ve dönme hastalıklarına yol açtığını bildirmiştir [27].

Pilarski ve Schocken-Iturrino (2010) hastalık görülen iki ticari Amerika boğa kurbağası işletmesinden alınan 12 kurbağada *Streptococcus* spp. izole etmişlerdir. Etken, incelenen 60 örneğin tümünün beyinde (% 100), 7’sinin (% 58,3) böbreğinde, üçünün (% 25) karaciğerinde, ikisinin (% 16,6) dalağında ve birinin (% 8,3) asitik sıvısında saptanmıştır [63].

Xiaoying vd. (2015), Çin’de yetiştiriciliği yapılan Boğa kurbağalarında % 60 ölüm oranıyla seyreden salgında etken olarak *Streptococcus agalactiae* izole etmişlerdir. Kurbağalarda ağızda kanama, assites, karaciğer büyümesi, bağırsaklarda kanama, bağırsak ve midede hidrosel ve mide-bağırsak intussussepsiyonu (birbirinin içine girmesi) gibi belirtiler görülmüştür [88].

2.4.3. Hastalıkların Kurbağa Yetiştiriciliği ile İlişkisi

Kurbağa hastalıkları kurbağaların metamorfik süreçlerine göre farklı durumlar gösterebildiğinden, sağlıklı bireylerin en az kayıpla ve en yüksek verimlilikle üretilebilmeleri için başkalaşım aşamaları göz önünde bulundurulmalıdır. Yumurta ve embriyolar patojenlere karşı bir hücrel yangı geliştiremezler, ancak mantarlardan doğan enfeksiyonlar hem yaban, hem de yetiştiriciliği yapılan kurbağalarda yaygındır. Metamorfoz sürecinde glukokortikoid ve tiroksin seviyelerinde meydana gelen artışlar önemli morfolojik ve fizyolojik değişimlerin meydana gelmesine yol açmaktadır. İmmunolojik sistemde değişimlere yol açan bu süreçlerde geçici bağışıklık yetersizlikleri olduğundan bazı kurbağa türlerinde % 80’lere varan ölüm oranları bildirilmiştir [31]. Oysa D’Silva (2015), kurbağa yetiştiriciliğinde ekonomik olarak tolere edilebilecek ölüm oranlarının yumurta aşamasında % 20, larval dönemde % 10, genç birey aşamasında % 35 ve yağlanma aşamasında % 10 olarak bildirmiştir [20].

Yetiştiricilik ortamında hayvanların gereksinim duydukları optimum koşulların sağlanması sağlıklı bir yetiştiricilik ve sağlıklı ürünlerin elde edilmesi için vazgeçilemez bir kuraldır. Sağlığın korunmasının tedavi edilmesinden daha kolay, daha az stres yaratıcı ve daha ekonomik olduğu gerçeği her zaman göz önünde bulundurulmalıdır. Ancak, hayvan yetiştiricilik

sektöründe yoğun olarak dar bir alanda tutulan canlılarda hastalıkların ortaya çıkması her zaman beklenilebilecek bir durumdur. Enfeksiyöz hastalıkların tedavisinde birçok ilaç, kimyasal ve dezenfektan kullanılmaktadır.

2.4.4. Antibakteriyel İlaç Duyarlılık Testi ve MAR Endeksi Değeri

Viral hastalıklar, ağır seyreden ve ilerlemiş olgular hariç, tüm diğer enfeksiyöz hastalıkların ilaçlarla tedavisi mümkündür. Bakteriyel hastalıklarda başarılı tedavi sonuçlarının elde edilebilmesi, gereksiz ve yanlış ilaç uygulamalarının önüne geçilebilmesi, doğanın ve insan sağlığının ilaç kalıntı sorunlarından korunabilmesi için antibakteriyel ilaç duyarlılık (antibiyoqram) testlerinin yapılması gerekmektedir.

Lee vd. (2009), Malezya'da yetiştiriciliği yapılan *Rana catesbeiana*'nın iç organlarından saptamış oldukları *Aeromonas* spp., *Edwardsiella* spp., *Flavobacterium* spp. ve *Vibrio* spp. izolatlarına uygulanan antibakteriyel duyarlılık testine göre, her izolat 21 antibiyotiğe karşı test edilmiş ve % 57,3'ünde duyarlılık, % 7,3'ünde kısmi duyarlılık ve % 35,4'ünde dirençlilik saptamışlardır. *Aeromonas* spp. oksolinik asit, *Edwardsiella* türleri florfenikol ve *Vibrio* spp. nitrofurantoine, tüm bakteriyel izolatlar flumequine ve izolatların % 70'den fazlası furazolidon ve kloramfenikole karşı duyarlı bulunmuştur [48].

Huang vd. (2010), *Rana tigrina*'dan izole edilmiş olan *Aeromonas hydrophila* suşları cefobid, cefamandole, cefoxitin, cefuroxime, cefotaxime, ceftriaxone, ciprofloxacin, enrofloxacin, florfenicol, kanamycin, levofloxacin, ofloxacin, tobramycin, sarafloxacin, streptomycin, sulperazon, sulfadimethoxine ve sulfamonomethoxin'e duyarlı; albamycin, amoxicillin, ampicillin, azlocillin, cefaclor, cefalotin, cephalixin, clindamycin, cotrimoxazole, oxacillin, penicillin G, piperacillin ve vancomycin'e orta duyarlı ya da dirençli bulunmuştur [40].

Pilarsk ve Schocken-Iturrino (2010), iki ticari Amerika boğa kurbağası (*Lithobates catesbeianus*) işletmesinde 60 örnekte de belirlenen hemolitik streptokokların kloramfenikol (% 100), gentamisin (% 100), vankomisin (% 96), cefotaxime (% 96) ve cefoxitin'e (% 92) duyarlı olduklarını bildirmişlerdir [63].

Tee ve Najiah (2011), yetiştiriciliği yapılan *Lithobates catesbeianus*'lardan izole edilen 17 adet bakteri türünü 21 adet antibakteriyel ilacın duyarlılığı yönünden incelemişlerdir. Sonuçlar bakterilerin linkomisin (% 92), oleandomisin (% 72,7) ve furazolidon (% 71,4)'a karşı dirençli iken, kloramfenikol ve florfenikole % 97,4 oranında duyarlı olduğunu göstermiştir. *E. meningoseptica*, *C. freundii*, *E. coli*, *E. hermannii*, *E. tarda*, *M. morganii*, *P. agglomerans*, *P. shigelloides*, *P. aeruginosa* ve *S. maltophilia* türlerinin çoğunluğu linkomisin ve oleandomisin'e

dirençli bulunurken, kloramfenikol, florfenikol, kanamisin, doksisisiklin, nalidiksik asit, kolistin sülfat ve oksolinik asit en etkili antibiyotikler olarak belirlenmiştir [76].

Xiaoying vd. (2015), Boğa kurbağalarından izole ettikleri *Streptococcus agalactiae*'yı siprofloksasin, neomisin, spektinomisin, furadantin ve enoksasine duyarlı bulmuşlardır [88].

Antibakteriyel ilaçların tedavilerde kullanım durumunun belirlenmesi amacıyla çoklu antibiyotik direnç (Multiple Antibiotic Resistant, MAR) endeksi hesaplanabilmektedir. MAR endeks değeri $\leq 0,2$ tedavilerde nadiren kullanılan veya hiç kullanılmayan ilaçları belirtirken, $\geq 0,2$ 'den daha büyük değerler hayvanların bu antibakteriyellere yüksek oranda maruz kalmış olduklarını göstermektedir [48].

Lee vd. (2009), *Rana catesbeiana*'dan izole edilmiş olan bakterilere karşı uygulamış oldukları antibakteriyel duyarlılık test sonuçlarının MAR endeksini 0,27-0,39 arası tespit etmişlerdir [48].

Tee and Najiah (2011), *Lithobates catesbeianus*'lardan izole edilen bakterilere karşı MAR endeksi değerinin bakteri türlerine göre 0,05-0,71 arasında değiştiğini belirlemişlerdir [76].

Hacioglu ve Tosunoglu (2014), doğadan yakalanan sucul canlılardan (*Lissotriton vulgaris*, *Pelophylax ridibundus*, *Emys orbicularis*, *Mauremys rivulata* ve *Natrix natrix*) saptadıkları bakteri türlerinin çoklu antibiyotik direnç katsayısının 0-0,58 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bu sonuçların, antibiyotiklere karşı yüksek oranda dirençli görünen sürüngen ve amfibilerin iç organlarındaki bakterilerin sucul hayvan ve halk sağlığını tehdit edebileceğini gösterdiğini bildirmişlerdir [33].

Hacioglu vd. (2015), Biga'da doğadan yakalanan amfibilerde (*Pelophylax ridibundus*, *Mauremys rivulata* ve *Natrix natrix*) MAR endeksini *P. ridibundus* için 0,95, *N. Natriks*'te 0,89 ve *M. rivulata* için 0,39 bulmuşlardır. Sonuçların su kaynaklarının antibakteriyel ilaçlarla kontamine olduğunu gösterdiği vurgulanmıştır [34].

Yapılmış olan literatür taramalarına göre, ülkemizde bugüne kadar başarılı bir yerel kurbağa türü entansif yetiştiriciliğinin bulunmadığı, yetiştiriciliğine dair bilimsel tekniklerin ortaya konulmadığı ve hastalıklarının ele alınmadığı anlaşılmıştır. Yürütülmüş olan bu araştırma ile Aydıncık örneği bazında bu sorunsallara katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. MATERYAL

3.1.1. Kurbağa Çiftliğinin Yeri ve Özellikleri

Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Aydınçık İlçe Müdürlüğü'nce (Şekil 3.1) Çukurova Kalkınma Ajansı (Proje No: TR62/14/KIRAP/0002) destekli ve 2014-2017 yılları arasında yürütülen 'Kurbağa Yetiştiriciliği Çiftliği Kurulumu' projesi çerçevesinde geliştirilmiş olan bir entansif kurbağa yetiştiriciliği ünitesi bulunmaktadır. Bu ünite Mersin ili Aydınçık ilçesinde yer almaktadır (Şekil 3.2). Saha çalışmaları ve örnek alımları bu tesisten gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Örneklerin alındığı tesisin konumu
(www.google.com.tr/maps adresinden alınarak uyarlanmıştır).



Şekil 3.2. Kurbağa yetiştiricilik ünitesi (Orijinal).

İşletmedeki anaç havuzları beton olup, 9 adet 2x3x1,5 m boyutlarında ve 15 cm su derinliğine sahiptir (Şekil 3.3).



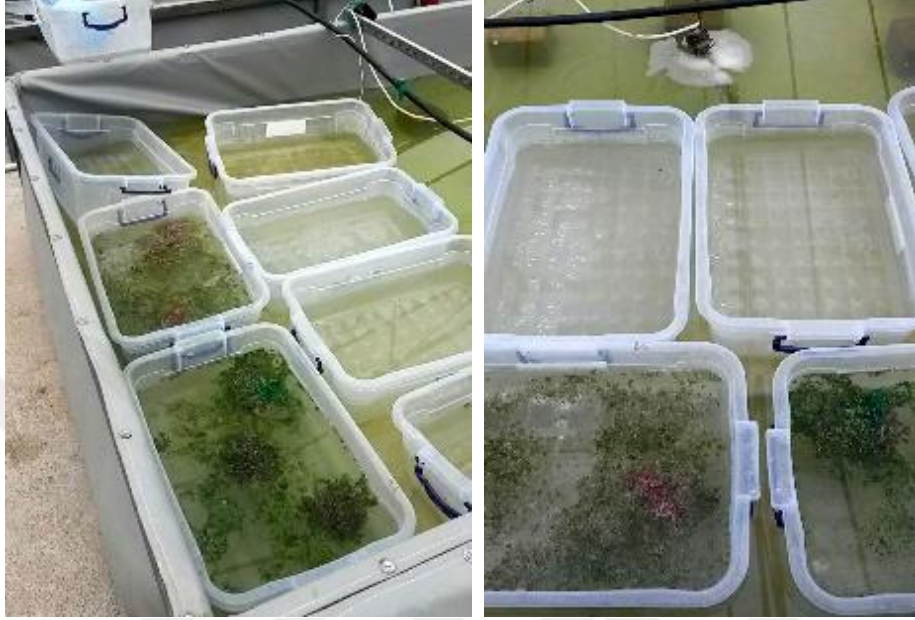
Şekil 3.3. Anaç havuzları (Orijinal).

Yumurta havuzları 3 adet olup, 3x2 m olan beton havuzlar branda ile kaplı, su derinliği 20-40 cm'dir. Kurbağaların üreme faaliyetlerine başladıkları erkek kurbağaların çıkardıkları sesler ve dişilerin sırtına amplexus pozisyonunda tutunmaları (Şekil 3.4) ile anlaşılması ile birlikte havuzlara yumurtaların tutunması için rafyalar atılmaktadır.



Şekil 3.4. Anaç kurbağa amplexus pozisyonu, rafya üzerinde döllenmiş yumurtalar (Orijinal).

Anaç havuzlarından alınan üzeri yumurta dolu rafyalar içi 40 cm yüksekliğinde su ile dolu olan 35x55 cm ebatlarındaki plastik kaplara alınarak 26-28°C'ye ısıtılan yumurta havuzlarına yerleştirilmektedir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Isıtılan yumurta havuzu ve yumurta kapları (Orijinal).

Yavru havuzları 6 adet olup, yumurta havuzları ile aynı özelliklere sahiptir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Yavru havuzları (Orijinal).

Yumurta havuzlarındaki kaplar içinde 3-5 günde kuluçkalama sürecini tamamlayan embriyolar jelatinimsi dış kabuktan çıkıp larvaya dönüşünce larva havuzlarına alınmaktadır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Larvaların yavru havuzuna alınması (Orijinal).

Larvalar genç kurbağaya başkalaşım karaya çıkıncaya kadar aynı havuzlarında tutulmaktadır. Karaya çıkan genç kubağalar 7'si branda ile kaplı, 4'ü beton ve boyutları 3x2 m, su derinliği 15 cm olan havuzlara alınmaktadır. Genç erişkin kurbağalar ise beton havuzlara aktarılmaktadır.

Ana kurbağaların stok yoğunluğu yaklaşık 300/m² adettir (Şekil 3.8). Bu anaçlar, kurbağa yetiştiriciliği projesi başlangıcında 2014 yılında Hatay bölgesinde bulunan *Pelophylax* spp. kurbağaların doğadan yakalanarak entansif koşullarda yetiştirilmesi ile üretilmiştir. Yetiştirilen kurbağaların *Pelophylax ridibundus* olabileceği teyit edilmiştir (Kişisel görüşme: Prof. Dr. Kurtuluş Olgun).

İşletmede kaynak suyu kullanılmaktadır. Çiftliğe gelen su depoda dinlendirilmektedir. Tez çalışması öncesinde havuzlarda durgun su kullanılırken, havuzlara su giriş ve çıkış sistemi kurulmuş ve yavru havuzlarında 500 mL/dakika hızında su akışı sağlanmıştır. Havuzların temizliği haftada bir kez havuz diplerinin temizlenmesi ve her gün eksilen suyun yerine yenisinin eklenmesi ile yerine getirilmiştir.



Şekil 3.8. *Pelophylax ridibundus* anaçları (Orijinal).

Kurbağalar, yetiştiricilik projesinin başlangıcından beri işletme çalışanlarının yem makinesi aracılığıyla kendi hazırladıkları pelet yem ile beslenmişlerdir (Şekil 3.9). Tüm larva aşamasında toz yem verilirken, yetişkin kurbağalar 2 mm'lik pelet yemle beslenmektedir. Halen kullanılan yemin ham protein oranı % 51, yağ oranı % 13'tür (GTH Bakanlığı, Mersin Gıda Kontrol Laboratuvarı). Yem içeriğinde balık unu, tavuk unu, soya küspesi, balık yağı, dekstrin, vitamin, mineral ve bentonite bulunmaktadır. Genç kurbağalar önce titreşimli yem tezgâhlarıyla, sonraları yemin el ile uzaktan atılmasıyla günde bir kez beslenmektedir.



Şekil 3.9. Yem makinesi ile üretilen 2 mm'lik pelet yem (Orijinal).

İşletme sorumluları larvalarda ölümlerin görülmesi üzerine, A ve B havuzu da dâhil tüm tesiste farklı yemler ve havuzların gübrelenmesi (sığır, tavuk ve koyun gübresi) denemişlerdir.

Kendi üretimi olan yem ve alabalık yeminde ve zooplankton artışı sağlayarak fitoplanktonların azalması nedeniyle sığır gübresi uygulamasını sürdürme kararına varmışlardır. Bizim haberimiz ve kontrolümüz dışında gerçekleşen bu tür uygulamalar nedeniyle A ve B havuzlarında yavruların gelişme hızı ve yaşama oranlarında farklılıklar meydana gelmiştir.

Bu tez çalışması çerçevesinde, adı geçen işletme koşullarında, kurbağaların doğal üreme mevsiminde, bir üretim döngüsü içinde yer alan bazı temel başkalaşım evrelerinde kurbağa, su ve yem örneklemeleri yapılarak bazı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik incelemeler gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Örneklerin Laboratuvara Nakli

Tüm örnekler hijyen kurallarına ve örnek niteliklerine uygun koşullarda alınarak Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Hastalık Laboratuvarı'na getirilmiştir. Mikrobiyolojik analizlerin yapıldığı kurbağa, su ve yem örnekleri aynı gün içinde, fiziksel ve kimyasal analizler için +4°C'de buzdolabında tutulan su örnekleri ertesi gün işleme alınmıştır.

3.1.2.1. Su örnekleri

Su örnekleri kurbağaların başkalaşım basamaklarına göre ana su girişinden (çeşme suyu), kap ve havuzlardan usulüne uygun olarak steril şişelere 1 L alınmıştır. Tez süresi içinde 30 adet su örneği incelenmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Kurbağa işletmesinden alınan su örnekleri.

Tarih	Başkalaşım dönemleri	Çeşme	AS	BS	C-HS	D-HS	E-HS
30.03.17	Anaç	✓	✓				
	Yumurta/Emriyo		✓	✓			
06.04.17	Besin keseli larva	✓	✓	✓			
	Yemlenen besin keseli larva		✓	✓	✓	✓	
20.04.17	Yemlenen larva	✓	✓	✓			
12.06.17	Bacaksız iribaş	✓	✓	✓			
30.06.17	1. İribaş	✓	✓	✓			
12.07.17	2. İribaş	✓	✓	✓			✓
10.08.17	Genç kurbağa	✓	✓	✓			
12.10.17	Genç erişkin kurbağa	✓	✓	✓			
AS: A havuzu suyu BS: B havuzu suyu C-HS: 1. Hasta larva havuzu							
D-HS: 2. Hasta larva havuzu E-HS: Hasta bacaksız ve dört bacaklı iribaş havuzu							
1. İribaş: Bacaksız, arka bacaklı, dört bacaklı iribaş 2. İribaş: Bacaksız, arka bacaklı, dört bacaklı iribaş							

3.1.2.2. Yem örnekleri

Kurbağaların beslenmesinde kullanılan yemlerden, yem değişim zamanlarında 100 g örnek alınmış, toplam 8 adet yem örneği çalışılmıştır (Tablo 3.2). Örnekler soğuk zincire uygun olarak laboratuvara getirilerek aynı gün işleme alınmıştır. Pelet kurbağa yeminin protein, yağ ve mikotoksin analizi Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Mersin Gıda Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Tablo 3.2. Kurbağa işletmesinden alınan yem örnekleri.

Tarih	No	Şekil	Tür	Protein oranı (%)
30.03.17	Yem 1 ¹	Pelet	Kurbağa yemi	51
	Yem 2 ¹	Pelet	Kurbağa yemi	37
06.04.17	Yem 3 ²	Toz	Kurbağa yemi	-
	Yem 4 ¹	Pelet	Kurbağa yemi	51
10.08.17	Yem 5 ³	Pelet	Alabalık yemi	-
	Yem 6	Toz	Balık unu	-
12.10.17	Yem 7 ¹	Pelet		51
	Yem 8 ⁴	Toz		51

¹İşletmede bulunan yem makinesi ile üretilen pelet kurbağa yemi

²İşletmede üretilen pelet kurbağa yemlerinin altında kalan toz kısmı

³Ticari

⁴Kurbağa yeminin öğütülmesi ile elde edilmiştir

3.1.2.3. Kurbağa örnekleri

Ova kurbağası (*Pelophylax ridibundus*) sistematigi

Âlem:	Animalia
Şube:	Chordata
Altşube:	Gnathostomata
Üstsinif:	Tetrapoda
Sınıf:	Amphibia (Batrachia)
Takım:	Anura (Salientia, Ecaudata) (Kuyruksuz Kurbağalar)
Alt takım:	Diplasiocoela (Firmisternia)
Aile:	Ranidae (Gerçek Su Kurbağaları)
Cins:	<i>Pelophylax</i>
Tür:	<i>Pelophylax ridibundus</i> Pallas, 1771 [14]

Ova kurbağası'nın özellikleri

Ova kurbağalarının vücut boyu en fazla 15 cm (120-150 mm) kadar olabilen türün erkek bireylerinde ağzın hemen arkasında, timpanal zarın (kulak zarı) hemen altında, gri renkli dış ses keseleri bulunmaktadır. Deri genellikle pürüklüdür. Sırt kısımları yeşilimsi gri, açık veya koyu kahverengi renklerde olmakla birlikte, üzerinde koyu lekeler görülmektedir. Bazen sırt ortasında boyuna uzanan açık renkli bir şerit bulunmaktadır. Genellikle kirli beyaz veya sarımsı renkte olabilen karın üzerinde çoğunlukla küçük lekeler görülmektedir. Karın tarafı kırmızımsı olanlara da rastlanmaktadır [9]. Erkek kurbağaların ön bacakları dişilerinkinden daha kuvvetlidir ve birinci parmakların kaidelerinde şişkinlik bulunmaktadır. Arka ayaklar hemen hemen tam perdelidir [10]. Suyu bağımlı bir türdür. Çoğunlukla bol bitkili ve ağır akan sularda yaşamakta, bazen akıntılı sularda da bulunmaktadır [9]. Besinlerini böcekler teşkil etmektedir. Bir dişi 5000-10000 yumurta bırakmaktadır [7].

Ova kurbağası batı, orta ve doğu Avrupa'da yaygın bir tür olup, doğuda Doğu Kazakistan kadar uzanmaktadır. İngiltere, İsviçre, Belçika, İspanya, Sibirya, Kamboçya ve Çin'de de bulunmaktadır. Tüm Türkiye'de yaygın olup, muhtemelen Suriye, İran, Irak ve Kuzey Afganistan'da da bulunmaktadır. Bahrein ve Suudi Arabistan'da da bildirilmiştir. Deniz seviyesinden 2500 m yüksekliğe kadar yaşayabilmektedir [42]. Ülkemizde başta Marmara, Karadeniz, Ege, İç Anadolu, Doğu Akdeniz bölgeleri olmak uygun yaşam alanı olan tüm tatlı su kaynaklarında yayılış göstermektedir [74]. Çoğunlukla ovalık yerlerde bulunmakla birlikte, daha nadir olarak dağlık yerlerde de görülebilmektedir. Eti yenebilen ve ticari açıdan toplanan önemli bir kurbağa türü olup kaydedilen en yüksek bulunuş yeri 2250 m'dir [14].



Şekil 3.10. Erkek ova kurbağası (*Pelophylax ridibundus*) (Orijinal).

Tesisteki kurbağaların gelişim aşamaları

Başkalaşım geçirerek gelişen kurbağaların tüm aşamaları hava ve su sıcaklıklarına bağlı olarak farklı sürelerde meydana gelmektedir. *Pelophylax* türü anaç kurbağaların yumurtlama dönemleri ülkemizde Şubat-Ağustos ayları arasında olup [43], tez çalışması sürecinde 27 Mart 2017'de yumurtlamaya başladıklarından örnek alımına 30 Mart'ta başlanmıştır. Embriyona dönüşen yumurtanın etrafındaki jelatinimsi kapsülü yırtarak dışarı çıkmasıyla larvanın meydana gelmesi 6-7 gün sürmüştür. Tez başlangıcında tesiste elektrik olmaması nedeniyle yumurta havuzu ısıtılamamış, kuluçkalama su sıcaklığında (17°C) gerçekleşmiştir. Bu nedenle 26-28°C'lik sıcak suda 3-5 gün olan kuluçka süresi uzamıştır. İşletme çalışanları ilk yemlemeyi larvalar yumurtadan çıktıktan 4 gün sonra yapmıştır. Larvalar vantuz gibi kullandıkları ağızlarıyla önce duvar kenarlarında tutunarak hareketsiz durduktan 5-7 gün sonra serbest yüzmeye başlayarak dış beslenmeye başlamaktadır. Kişisel gözlemlerimiz larvaların ilk 5-7 gün yumurta keseleriyle, sonrasında da yaklaşık 3 hafta süreyle zooplanktonlarla beslendikleri şeklindedir. İlk larva oluşumundan itibaren arka ayakların çıkması 80-90 gün; ön ayakların da çıkarak dört ayaklı iribaşa dönüşmesi 85-95 gün; kuyruk atımı ile birlikte başkalaşımın tamamlanarak genç kurbağaya dönüşmesi 100 gün sürmüştür. Tezin başlangıcından itibaren 6 aydan daha fazla bir sürede kurbağalar ortalama 17 g kadar büyüyerek genç erişkin forma ulaşmışlar, çok azı mutfak boyuna erişebilmiştir.

Örnekler kurbağaların başkalaşım basamaklarına göre (anaç, yumurta/embriyo, besin keseli larva, yemlenen larva, bacaksız iribaş, arka bacaklı iribaş, dört bacaklı iribaş, genç kurbağa ve genç yetişkin kurbağa) alınmıştır. Çalışma esnasında cinsiyet göz ardı edilmiştir. Örnekler rastgele örnekleme yöntemine göre seçilmiş, hastalık görüldüğü süreçlerde ayrıca hasta bireyler (larva, bacaksız iribaş, dört bacaklı iribaş ve anaç) alınmıştır. Tüm örneklemeler 2 paralelli yapılmış, ancak anaç kurbağalardan tek bir havuzdan 10 adet kurbağa seçilmiştir. Bu anaçlardan elde edilen yumurtalar iki ayrı kaba (A ve B) alınarak, larval dönemin başlamasıyla da tüm başkalaşım süreçlerinde iki ayrı havuzda tutulmuşlardır. Kurbağa örnekleri uygun kaplar içinde, canlı olarak MEÜ. Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarı'na nakledilmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Kurbağa örneklerinin naklinde kullanılan kaplar (Orijinal).

Tez kapsamında kurbağa yetiştiricilik tesisinden 10 adet anaç kurbağa (Tablo 3.3), 26 adet yumurta, 105 adet embriyo (Tablo 3.4) (Şekil 3.12-3.19), 92 adet besin keseli larva (Tablo 3.5) (Şekil 3.20, 3.21), 20 adet yemlenen larva (Tablo 3.6) (Şekil 3.22-3.25), 20 adet bacaksız iribaş (Tablo 3.7) (Şekil 3.26, 3.27), 13 adet arka bacaklı iribaş (Tablo 3.8) (Şekil 3.28), 19 adet dört bacaklı iribaş (Tablo 3.9) (Şekil 3.29), 32 adet genç kurbağa (Tablo 3.10) (Şekil 3.30, 3.31), 14 adet genç erişkin kurbağa (Tablo 3.11), hastalık durumunda ise 20 adet hasta yemlenen larva (Tablo 3.6), 4 adet dört bacaklı iribaş ve 2 adet genç kurbağa (Tablo 3.12) ve 4 adet anaç kurbağa (Tablo 3.13) olmak üzere toplam 381 adet örnek alınmıştır.

Kurbağa örneklerinin morfometrik ölçüleri örnek alım tarihleri ve başkalaşım dönemleri göz önünde bulundurularak verilmiştir (Tablo 3.3-3.13).

Tablo 3.3. Anaç kurbağa boy ve ağırlıkları (30.03.2017).

No	Ağırlık (g)	Boy (cm)	
		Burun-Sakrum	Burun-Bacak
1	40,14	7,5	17,0
2	43,13	7,5	17,5
3 ¹	44,18	8,0	17,5
4	37,73	7,0	16,0
5	34,61	6,8	16,5
6	18,23	6,0	15,0
7	41,26	7,0	16,0
8 ²	46,37	8,0	18,5
9 ³	34,64	7,0	16,0
10	37,38	7,0	16,7
Ort. ± SD	37,77±7,91	7,18±0,60	16,67±1,00
Min.-Max.	18,23-46,37	6,0-8,8	15,0-18,5

¹Ayak bileklerinde ülser

²Sağ diz, sol bilek ve parmak uçlarında ülser, göğüs sağ üstte 1,5 cm çap büyüklükte kitle ve deride yara

³Sol ön ayakta ülser

Tablo 3.4. Yumurta çap ve embriyo boyları (30.03.2017).

Boy (mm)							
No	A1	No	A1	No	B1	No	B1
1	4,0	14	4,0	1	3,5	14	3,0
2	4,5	15	3,5	2	2,5	15	3,5
3	3,5	16	2,0	3	4,0	16	2,5
4	2,5	17	4,0	4	3,0	17	3,0
5	2,0	18	2,5	5	3,5	18	3,5
6	2,5	19	2,0	6	3,0	19	3,5
7	3,0	20	4,5	7	4,0	20	4,0
8	3,0	21	2,5	8	3,0	21	3,0
9	4,0	22	4,0	9	3,5	22	3,5
10	4,0	23	3,0	10	3,0	23	2,5
11	2,5	24	3,5	11	4,5	24	3,5
12	3,5	25	3,0	12	2,5	25	3,0
13	3,0	26	3,0	13	2,0	26	3,5
Ort. ±SD			3,21±0,76		3,23±0,57		
Min.-Max.			2,0-4,5		2,0-4,5		
Y0 ¹	1,6	E3 ¹	3,0				

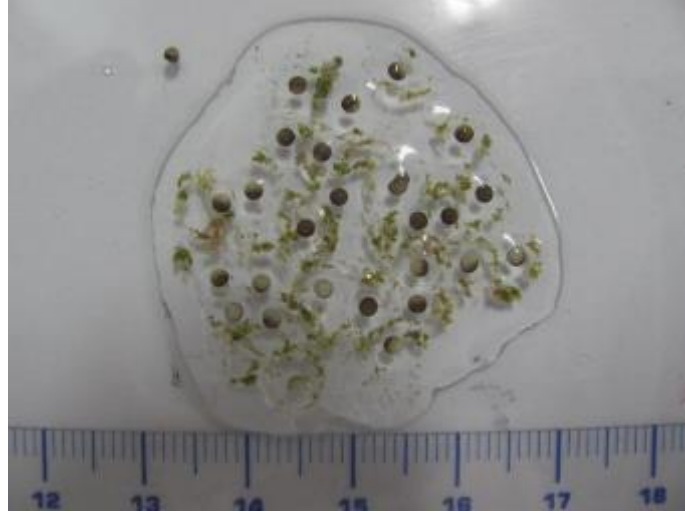
A1: A havuzu, 4 günlük embriyo

B1: B havuzu, 4 günlük embriyo

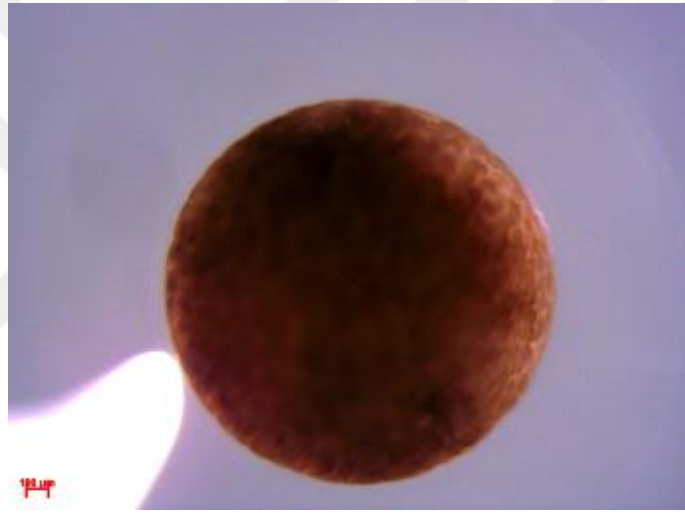
Y0: İlk gün yumurtaları, 26 adet, ortalama çap

E3: 3 günlük embriyo, 53 adet, ortalama boy

¹Teze dâhil edilen grup içinde olmadığından ölçüleri tek tek yazılmamıştır**Şekil 3.12.** Rafyada ilk gün yumurtası (Orijinal).



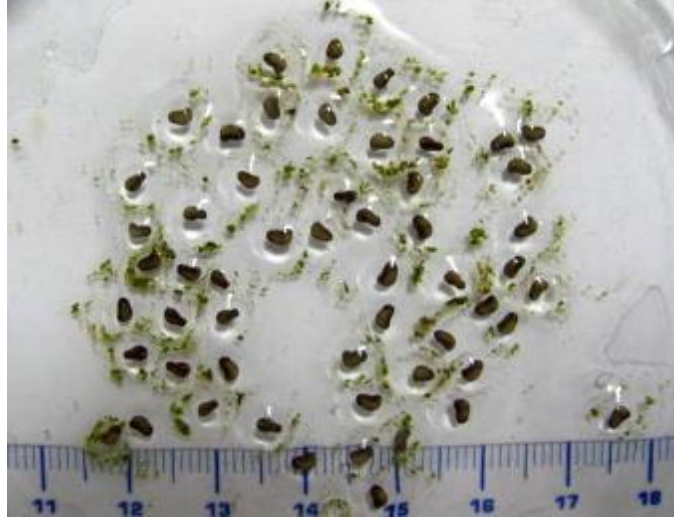
Şekil 3.13. Yumurta kabından alınan ilk gün yumurtası ve etrafındaki jelatinimsi kılıf (Orijinal).



Şekil 3.14. İlk gün yumurtası (Stereo mikroskop, orijinal).



Şekil 3.15. Rafyada iki günlük embriyo (Orijinal).



Şekil 3.16. Üç günlük embriyo ve etrafındaki jelatinimsi kılıf (Orijinal).



Şekil 3.17. Üç günlük embriyo (Stereo mikroskop, orijinal).



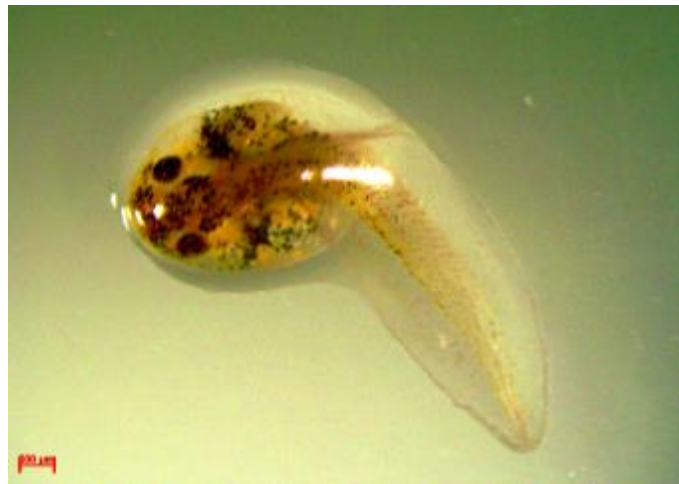
Şekil 3.18. Dört günlük embriyo (Orijinal).



Şekil 3.19. Dört günlük embriyo (Stereo mikroskop, orijinal).



Şekil 3.20. Dört günlük besin keseli larva (Stereo mikroskop, orijinal).



Şekil 3.21. Dört günlük besin keseli larva, üstten görünüş (Stereo mikroskop, orijinal).

Tablo 3.5. Besin keseli larvaların boyları (06.04.2017).

No	Boy (cm)			
	A2	B2	A3	B3
1	1,0	1,0	1,0	1,0
2	1,0	0,7	1,0	0,9
3	0,8	0,9	1,0	1,0
4	0,8	0,8	0,9	1,0
5	0,9	0,8	1,0	1,0
6	1,0	0,8	1,0	1,0
7	0,7	0,7	0,9	0,9
8	0,9	0,9	0,9	1,0
9	0,8	0,9	1,0	0,9
10	1,0	0,8	1,0	1,0
11	0,7	1,0	0,9	1,0
12	0,9	0,8	1,0	0,9
13	0,9	0,8	1,0	1,0
14	0,8	0,7	1,0	1,0
15	0,9	0,8	1,0	1,0
16	1,0	0,8	0,9	1,0
17	0,8	0,7	1,0	0,9
18	0,9	0,8	-	1,0
19	1,0	0,7	-	1,0
20	1,0	0,8	-	0,9
21	0,9	0,8	-	1,0
22	0,8	0,9	-	1,0
23	0,8	-	-	1,0
24	0,9	-	-	0,9
25	0,8	-	-	-
26	0,9	-	-	-
27	0,8	-	-	-
28	0,8	-	-	-
29	0,8	-	-	-
Ort. $\pm$SD	0,87 $\pm$ 0,09	0,81 $\pm$ 0,09	0,97 $\pm$ 0,05	0,97 $\pm$ 0,05
Min.-Max.	0,7-1,0	0,7-1,0	0,9-1,0	0,9-1,0

A2: A havuzu, 4 günlük besin keseli larva, ortalama ağırlık 10 mg

B2: B havuzu, 4 günlük besin keseli larva, ortalama ağırlık 8 mg

A3: A havuzu, 8 günlük besin keseli larva, 4 gündür yemleniyor, ortalama ağırlık 14 mg

B3: B havuzu, 8 günlük besin keseli larva, 4 gündür yemleniyor, ortalama ağırlık 14 mg

Örnek almak üzere 20.04.2017 tarihinde işletmeye gidildiğinde 24 günlük olan larvalara toz yem verildiği, ancak mikroskopik muayene ve kişisel gözlemlerimizle hayvanların zooplankton ile beslendikleri anlaşılmıştır. Araştırmaya tabi A ve B havuzları dışında iki ayrı havuzda (C-HL ve D-HL) görülen ölümler üzerine larvalar alınmış, 14-20 günlük olan larvalarda karında hava kabarcığı tespit edilmiştir. Ölümler nedeniyle larvaların 6 gündür yemlenmediği belirtilmiştir. Bu hava kabarcıklarının, havuzlara atılan yemler nedeniyle fitoplanktonların çok fazla üremesi (havuz suları 2-3 gün içinde yeşil renge bürünmektedir), böylece sudaki çözünmüş oksijen miktarının yükselmesine bağlanmıştır. Nitekim Temmuz ayından itibaren havuzlara değişik hayvan gübrelerinin atılmaya başlanması ile sudaki yeşillenmeler azalmış ve larvalarda ölümler durmuştur.

Tablo 3.6. Yemlenen larva boyları (20.04.2017).

No	Boy (cm)			
	A4	B4	C-HL	D-HL
1	1,6	1,1	1,5	1,0
2	1,5	1,1	1,6	1,0
3	1,3	1,0	1,5	0,8
4	1,3	1,1	1,4	0,6
5	1,3	1,1	1,3	1,0
6	1,5	1,1	1,2	1,0
7	1,1	1,0	1,4	1,5
8	1,3	1,1	1,6	1,3
9	1,5	1,0	1,6	1,0
10	1,7	1,0	1,5	1,0
Ort. $\pm$ SD	1,41 $\pm$ 0,18	1,06 $\pm$ 0,05	1,46 $\pm$ 0,13	1,02 $\pm$ 0,24
Min.-Max.	1,1-1,7	1,0-1,1	1,2-1,6	0,6-1,5

A4: 24 günlük larva B4: 14-24 günlük larva C-HL: 14 günlük hasta larva D-HL: 20 günlük hasta larva



Şekil 3.22. Yemlenen larvalar, havuzda (Orijinal).



Şekil 3.23. Yemlenen larvalar, laboratuvarında (Orijinal).



Şekil 3.24. Yemlenen larva, üstten görünüş (Stereo mikroskop, orijinal).



Şekil 3.25. Yemlenen larva, alttan görünüş (Stereo mikroskop, orijinal).

Tablo 3.7. Bacaksız iribaşların ağırlık ve boyları.

Tarih	No	Ağırlık (g)	Boy (cm)
			Burun-Kuyruk
12.06.17 A5	1	-	3,2
	2	-	3,3
	3	-	2,5
	4	-	4,1
	5	-	3,5
Ort. $\pm$ SD			3,32 $\pm$ 0,58
Min.-Max.			2,5 – 4,1
B5	6	-	2,1
	7	-	2,2
	8	-	1,7
	9	-	2,0
	10	-	1,5
	11	-	2,2
	12	-	3,0
	13	-	2,7
	14	-	2,2
	15	-	2,6
	16	-	2,6
	17	-	2,2
	18	-	3,0
Ort. $\pm$ SD			2,31 $\pm$ 0,45
Min.-Max.			1,5 – 3,0
30.06.17	19	0,51	4,0
B6	20	0,38	3,5
	21	0,63	4,5
	22	0,49	4,0
	23	0,90	4,7
	24	0,60	3,9
	25	0,34	3,6
	26	0,69	4,6
	27	0,47	4,6
	28	0,43	4,0
	29	0,61	4,0
	30	0,42	3,8
	31	0,41	4,0
Ort. $\pm$ SD		0,53 $\pm$ 0,15	4,09 $\pm$ 0,39
Min.-Max.		0,34 – 0,9	3,5 – 4,7

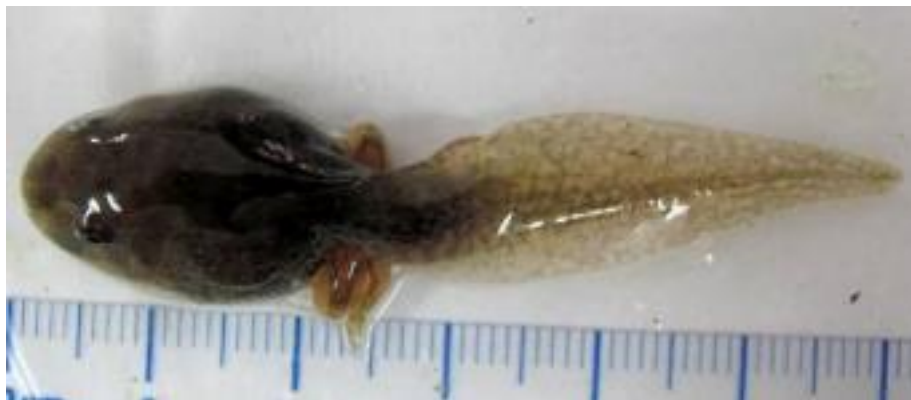
**Şekil 3.26.** Havuzda bacaksız iribaş (Orijinal).



Şekil 3.27. Bacaksız iribaş (Orijinal).

Tablo 3.8. Arka bacaklı iribaş ağırlık ve boyları.

Tarih	No	Ağırlık (g)	Boy (cm)
			Burun-Kuyruk
30.06.17 A6	1	2,21	6,5
	2	1,96	6,5
	3	1,51	5,8
	4	1,61	6,0
	5	1,04	4,8
	6	1,55	5,5
	7	1,78	6,0
	8	2,10	6,0
Ort. $\pm$ SD		1,72 $\pm$ 0,38	5,89 $\pm$ 0,55
Min.-Max.		1,04 – 2,21	4,8 – 6,5
B7	9	1,15	5,0
	10	0,99	5,0
	11	1,16	5,3
	12	1,33	4,9
	13	1,27	5,1
Ort. $\pm$ SD		1,18 $\pm$ 0,13	5,06 $\pm$ 0,15
Min.-Max.		0,99 – 1,33	4,9 – 5,3



Şekil 3.28. Arka bacaklı iribaş (Orijinal).

Tablo 3.9. Dört bacaklı iribaş ağırlık ve boyları.

Tarih	No	Ağırlık (g)	Boy (cm)
			Burun-Kuyruk
30.06.17 A6	1	1,75	6,3
	2	1,90	6,2
	3	1,80	6,5
Ort. $\pm$ SD		1,82 $\pm$ 0,08	6,33 $\pm$ 0,15
Min.-Max.		1,75-1,9	6,2-6,5
12.07.17 A7	4	1,66	5,5
	5	1,11	4,5
	6	1,07	4,7
Ort. $\pm$ SD		1,28 $\pm$ 0,33	4,9 $\pm$ 0,53
Min.-Max.		1,07-1,66	4,5-5,5
B7	7	0,53	3,5
10.08.17 A8	8	1,04	5,0
	9	1,08	4,5
	10	1,20	5,0
	11	1,08	5,0
	12	1,11	4,5
	13	1,68	5,0
Ort. $\pm$ SD		1,20 $\pm$ 0,24	4,83 $\pm$ 0,26
Min.-Max.		1,04-1,68	4,5-5,0
B8	14	0,89	4,0
	15	0,71	4,0
	16	0,57	3,0
	17	1,10	4,3
	18	0,72	3,8
	19	1,04	4,0
Ort. $\pm$ SD		0,84 $\pm$ 0,21	3,85 $\pm$ 0,45
Min.-Max.		0,57 - 1,1	3,0 - 4,3

**Şekil 3.29.** Kuyruğu çekilmeye başlayan dört bacaklı iribaşlar (Orijinal).

Tablo 3.10. Genç kurbağa ağırlık ve boyları.

Tarih	No	Ağırlık (g)	Boy (cm)	
			Burun-Sakrum	Burun-Kuyruk
12.07.17	1	0,92	2,0	5,0
	2	0,81	2,0	5,0
	3	0,83	2,0	4,5
	4	0,71	1,8	4,5
	5	0,80	2,0	4,8
Ort. $\pm$ SD		0,81 $\pm$ 0,08	1,96 $\pm$ 0,09	4,76 $\pm$ 0,25
Ort. $\pm$ SD		0,71 – 0,92	1,8 – 2,0	4,5 – 5,0
B7	6	0,39	1,5	3,5
	7	0,44	1,6	4,0
	8	0,49	1,7	4,0
	9	0,68	2,0	4,0
Ort. $\pm$ SD		0,5 $\pm$ 0,13	1,7 $\pm$ 0,22	3,88 $\pm$ 0,25
Ort. $\pm$ SD		0,39 – 0,68	1,5 – 2,0	3,5 – 4,0
10.08.17	10	1,37	2,0	5,0
	11	1,38	2,0	5,5
	12	1,15	2,0	5,0
	13	1,34	2,0	5,0
	14	1,36	2,0	5,0
	15	0,80	2,0	5,0
	16	2,40	3,0	7,0
	17	0,99	2,0	5,0
	18	1,66	2,5	6,0
	19	1,47	2,5	6,0
	20	2,31	3,0	7,0
Ort. $\pm$ SD		1,48 $\pm$ 0,49	2,27 $\pm$ 0,41	5,59 $\pm$ 0,80
Ort. $\pm$ SD		0,8 – 2,4	2,0 – 3,0	5,0 – 7,0
B8	21	1,86	2,0	4,5
	22	0,63	1,80	4,0
	23	0,68	2,0	4,0
	24	1,02	2,0	5,0
	25	0,89	2,0	4,5
	26	0,72	2,0	4,0
	27	0,73	2,0	4,0
	28	0,63	2,0	3,5
	29	0,73	2,0	4,0
	30	0,73	2,0	4,0
	31	0,80	2,0	4,0
	32	0,56	1,5	3,0
Ort. $\pm$ SD		0,83 $\pm$ 0,35	1,94 $\pm$ 0,15	4,04 $\pm$ 0,50
Min – Max		0,56 – 1,86	1,5 – 2,0	3,0 – 5,0



Şekil 3.30. Genç kurbağa havuzu (yem titreşim düzeneği) (Orijinal).



Şekil 3.31. Genç kurbağa (Orijinal).

Tablo 3.11. Genç erişkin kurbağaların ağırlık ve boyları (12.10.2017).

Havuz	No	Ağırlık (g)	Boy (cm)	
			Burun-Sakrum	Burun-Bacak
A9	1 ¹	19,33	6,5	13,5
	2 ²	40,20	7,5	16,5
	3	19,18	5,3	13,2
	4	15,47	5,0	13,0
	5	7,44	4,3	10,0
	6	17,31	5,5	14,0
	7	10,38	5,0	11,5
	8	7,15	4,5	10,0
	9	14,11	5,5	12,5
	10	16,48	5,5	13,5
Ort.±SD		16,7±9,38	5,46±0,94	12,77±1,93
Min.-Max.		7,15-40,2	4,3-7,5	10,0-16,5
B9	11 ³	20,78	5,5	14,0
	12	28,0	6,0	15,5
	13	14,18	5,0	13,0
	14 ⁴	4,46	3,5	9,0
Ort.±SD		16,86±10,01	5±1,08	12,88±2,78
Min.-Max.		4,46 - 28,0	3,5 - 6,0	9,0 - 15,5

¹Solgun karaciğer ²Solgun ve büyük karaciğer ³Solgun karaciğer ⁴Solgun karaciğer**Tablo 3.12.** Hasta iribaş ağırlık ve boyları (12.07.2017).

No	Ağırlık (g)	Boy (cm)	
		Burun-Bacak/Kuyruk	
E-HDBİ	1	2,50	5,0
	2	2,60	5,0
E-Hİ	3	2,16	6,5
	4	1,23	5,0
	5	0,66	4,0
	6	0,70	4,0
Ort. ± SD		1,64±0,89	4,88±1,18
Min.-Max.		0,66-2,6	4,0-6,5

E-HDBİ: E havuzu dört bacaklı iribaş E-Hİ: E havuzu bacaksız iribaş

Tablo 3.13. Hasta anaç kurbağaların ağırlık ve boyları (12.10.2017).

No	Ağırlık (g)	Boy (cm)	
		Burun-Sakrum	Burun-Bacak
1 ¹	39,0	7,0	18,0
2 ²	24,08	6,2	15,5
3 ³	33,19	7,0	16,5
4	38,38	7,5	18,0
Ort. ± SD		33,66±6,9	6,92±0,53
Min.-Max.		24,08-39	6,2-7,5

¹Sol dirsekte ülser²Sol dizde ülser³Sol kol ve sağ dizde ülser

3.1.3. Laboratuvar Araç ve Gereçleri

Tez kapsamında kullanılan cihazlar, laboratuvar malzemeleri, kimyasal maddeler ve besiyerleri aşağıda verilmiştir.

3.1.3.1. Cihazlar

Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Laboratuvarlarında bulunan otoklav (HMC Hirayama), hassas terazi (Denver Instruments), 0,01 g hassasiyetinde terazi (AND EJ-610), vorteks (Velp-Scientific), su banyosu (Selecta), distile su cihazı (mes mp Minipure), mikropipet seti (Thermo Scientific), derin dondurucu (AEG Electrolux), buzdolabı (Vestel), faz-kontrast mikroskop (Nikon, Eclipse-80i), pastör fırını (Nüve, EN400), soğutmalı etüv (Nüve, ES250 ve ES500), termometre, mikrodalga fırın (Arçelik) gibi cihazlar kullanılmıştır. Ayrıca Üniversitenin diğer birimlerinden MEİTAM'da iyon kromatografi cihazı (ICS 3000 Dionex), stereo mikroskop (Zeiss Discovery V8), ışık mikroskobu (Olympus BX53), özel firmadan "VİTEK 2 Compact otomatik ID/AST instrument" (bioMerieux, Fransa) cihazları kullanımıza sunulmuştur.

3.1.3.2. Laboratuvar malzemeleri

Farklı ebatlarda erlenmayer, beher, cam pipetler, falkon tüpü, deney tüpleri, eppendorf tüpleri, steril plastik petri, özeler, enjektör, pH-indikatör kağıdı, mikropipetler, termometre, makas, pens, bistüri, VİTEK-2 GN, VİTEK-2 GP ve VİTEK-2 BCL identifikasyon kartları (bioMerieux, Fransa), McFarland tubidite cihazı (bioMerieux, Fransa) ve diğer birçok alet ve malzeme kullanılmıştır.

3.1.3.3. Kimyasallar

Araştırma esnasında distile su, askorbik asit, disodyum fosfat, etil alkol, hidrojen peroksit, hidroklorik asit, isoamilalkol, iyodür, kristal viole, metil red, potasyum hidroksit, α -naphthol, p-dimethylaminobenzaldehyt, sulu fuksin, tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride ve tricaine methanesulfonate (MS-222) kullanılmıştır.

3.1.3.4. İzolasyon ve identifikasyon amacıyla kullanılan besiyerleri ve ayraçlar

Kullanılan tüm besiyerleri Merck marka olup, mikroorganizma izolasyonu için Trypticase Soy Agar (TSA), Tryptone Yeast Extract Salts Agar (TYESA) ve Nutrient Broth (NB); yemlerde küf varlığı için Sabouraud Dextrose Agar (SDA); bakteri sayımları için Plate Count

Agar (PCA) ve Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA); klasik identifikasyon için Lisin Iron Agar (LIA), Triple Sugar Iron Agar (TSIA), Glucose Motil Deep Agar (GMDA) [Phenol red broth base 16 g, glikoz 10 g, yeast extract 3 g, agar agar 3 g, distile su 1000 mL], Simmon's Citrat Agar (SCA), Metil Red-Voges Proskauer (MR-VP) Broth, eskülin broth, tamponlanmış peptonlu su (TPS), fizyolojik tuzlu su (FTS); antibakteriyel duyarlılık testi için Müller-Hinton Agar (MHA) ve izolatların saklanması için % 15 G-NB kullanılmıştır. Bakterilerin identifikasyonu amacıyla yapılan bazı biyokimyasal testlerde Gram testi ayracı, oksidaz ayracı, katalaz ayracı, kovaks ayracı, VP ve MR ayraçları tariflerine uygun olarak hazırlanarak kullanılmıştır [5, 8, 54, 66].

Ticari olarak satılan hazır besiyerleri tariflerine uygun olarak, ticari olarak satılmayan besiyerleri ve ayraçlar aşağıdaki formüllere göre hazırlanmıştır:

BESİYERLERİ

Fizyolojik tuzlu su (FTS)

NaCl	8,5 g
Distile Su	1000 mL

Tüplere bölünerek 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır [35].

Tamponlanmış peptonlu su

FTS'ye % 0,1 oranında pepton eklenerek 9 mL tüplere bölünüp 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır [35].

Tryptone yeast extract salts agar (TYESA)

Tryptone	4 g
Yeast extract	0,4 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,5 g
Agar agar	11 g
Distile su	1000 mL
pH 7.2	

Maddeler eriyinceye kadar mikrodalga fırında kaynatılmıştır. 121°C 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilip, 45-50°C'ye soğutulduktan sonra petrilere dökülmüştür [39].

Glucose motil deep agar (GMDA)

Phenol Red Broth Base	16 g
Glucose	10 g
Yeast Extract	3 g
Agar	3 g
Distile Su	1000 mL

Hazırlanan GMDA eriyinceye kadar su banyosunda kaynatılmıştır. Kapaklı deney tüplerine (16x120 mm) 8 mL miktarında paylaştırılmış ve 118°C'de 10 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir [66].

İndol besiyeri

Pepton	10 g
NaCl	5 g
Distile Su	1000 mL

Hazırlanan peptonlu su 2 mL miktarında tüplere paylaştırılmış ve 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir [18].

Eskülin broth

Pepton	10 g
NaCl	5 g
Escülin	1 g
Ferik Sitrat	0,5 g
Distile Su	1000 mL

Hazırlanan eskülin broth eriyinceye kadar su banyosunda kaynatılmıştır. Kapaklı deney tüplerine 3 mL miktarında paylaştırılmış ve 115°C'de 10 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir [54].

Nutrient broth (NB)

Beef extract	10 g
Pepton	10 g
NaCl	5 g
Distile su	1000 cc
	pH: 8-8,4

Tüplere 2 mL taksim edilerek 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır [35].

Jelatin broth (% 10)

Nutrient broth	880 mL
Jelatin	120 g

Hazırlanan nutrient broth içerisine % 10 oranında jelatin ilave edilmiştir. Kapaklı deney tüplerine (16x120 mm) 5 mL miktarında paylaştırılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır [54].

% 15 Gliserin'li NB (% 15 G-NB)

Hazırlanan NB'a % 15 gliserin eklenerek 1,5 mL'lik Eppendorf tüplerine taksim edilmiş ve 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır [54].

AYRAÇLAR

Gram testi ayracı % 4 KOH

KOH	4 g
Distile Su	100 mL

Koyu renkli şişelerde buzdolabında saklanmıştır [Kişisel görüşme: Ronald Thune].

% 20 Potasyum hidroksit ayracı

KOH	20 g
Distile Su	100 mL

Koyu renkli şişelerde buzdolabında saklanmıştır [39].

Oksidaz test ayracı

Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride	1 g
Ascorbik asit	0,1 g
Distile su	100 cc

Kimyasal madde distile su içerisinde eritilmiştir. Işık almayacağı bir şişe içinde ve buzdolabında muhafaza edildi [54].

Katalaz ayracı

% 30'luk Hidrojen peroksit

Koyu renkli steril tüpte buzdolabında saklandı [54].

Kovak's ayracı

İsoamylalkol	15 mL
p-dimethylaminobenzaldehit	1 g
konsantre HCl	5 mL

p-dimethylaminobenzaldehit isoamylalkol içinde 50-55°C'lik su banyosunda eritildi ve soğutuldu. Asit ilave edildi [18].

Metil Red (MR) ayracı

Metil red	0,1 g
Etil alkol (% 95)	300 cc

Metil red alkol içinde eritilerek distile su ile 500 cc'ye tamamlanmıştır. Ayrac koyu renkli şişede muhafaza edilmiştir [54].

Voges-Proskaur (VP) ayraçları:

α -Naphtol ayracı

α -Naphtol	5,0 g
Etil Alkol (% 96)	100 cc

% 40'lık KOH ayracı

KOH	40 g
Distile su	100 cc

Koyu renkli şişelerde buzdolabında saklanmıştır [54].

400 ppm povidin/iodin solüsyonu

%10'luk polivinilpirolidon (Batticon)'dan 400 ppm dozunda hazırlanarak buzdolabında saklanmıştır [13].

3.1.3.5. Antibakteriyel diskler

Antibakteriyel duyarlılık testleri için kullanılacak olan antibakteriyel ilaç diskleri, disklerde bulunan etken madde miktarı ve duyarlılık zonları (mm çap) tablo 3.14'te verilmiştir.

Tablo 3.14. Antibakteriyel ilaç duyarlılık zonları.

Antibakteriyel ilaç adı (kısaltma-µg)	Dirençli (çap, mm)	Orta (çap, mm)	Duyarlı (çap, mm)
Amoksisilin (AMX-10) ^{BD}	≤19	-	≥20
Doksisiklin (D-30) ^{Bio}	≤12	13-15	≥16
Enrofloksasin (ENR-5) ^{Bio}	≤16	17-19	≥20
Eritromisin (E-15) ^{Bio}	≤13	14-22	≥23
Florfenikol (FFC-30) ^{Bio}	≤18	19-21	≥22
Gentamisin (GM-10) ^{Bio}	≤12	13-14	≥15
Klindamisin (CC-2) ^{BD}	≤15	16-18	≥19
Linkomisin (L-2) ^{Bio}	-	-	≥23
Neomisin (N-30) ^{Bio}	≤12	13-16	≥17
Ofloksasin (OFX-30) ^{BD}	≤12	13-15	≥16
Oksitetrasiklin (T-30) ^{Bio}	≤14	15-18	≥19
Penisilin (P-10) ^{BD}	≤19	20-27	≥28
Streptomisin (S-10g) ^{Bio}	≤11	12-14	≥15
Sulfametoksazol-Trimetoprim (SXT-23,75-1,25) ^{Bio}	≤14	15-16	≥17
Vankomisin (Va-30) ^{BD}	≤14	15-16	≥17

^{BD}: BD BBL, ABD

^{Bio}: Bioanalize, Türkiye

3.1.4. Referans Suşlar

Referans suş olarak *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) kullanılmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Su Örneklerinin Fiziksel ve Kimyasal Değerlerinin Belirlenmesi

Fiziksel ve kimyasal testler 28 adet su örneğine yapılmış, 2 adet hasta yem alan larva havuzu suyuna (C-HS ve D-HS) yapılmamıştır.

3.2.1.1. Su örneklerinin fiziksel değerlerinin belirlenmesi

Su sıcaklığı termometre, pH ise pH-indikatör kağıdı (Merck) ile kurbağa tesisinde ölçülmüştür.

3.2.1.2. Su örneklerinin kimyasal analizleri

Su sertliği ve kirlilik göstergesi olan amonyak, nitrat, nitrit, iyon ve katyon kantitatif analizleri Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezi (MEİTAM)'da ICS 3000 Dionex İon Kromatografi cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

Su sertliğinin hesaplanması

Su sertliği, katyon analizlerinde belirlenen CaCO_3 ve MgCO_3 miktarları aşağıdaki formüle göre hesaplanarak hesaplanmıştır [85].

$$\left[\text{mg CaCO}_3/\text{L} = 2,497[\text{Ca}^{+2}, \text{mg/L}] + 4,118 [\text{Mg}^{+2}, \text{mg/L}] \right]$$

3.2.2. Kurbağa Örneklerinin Boy ve Ağırlık Ölçümleri

Laboratuvar getirilen örneklerin morfometrik ölçümleri hayvanlar canlı iken yapılmıştır. Kurbağa örneklerinin boyları dijital kumpas ($\pm 0,01$ mm), ağırlıkları da 0,01 hassasiyetindeki terazi (Scaltec) ile ölçülmüştür. Kurbağa boyları burun-sakrum (BKS) ve burun-bacak (BB) ölçümleri şeklinde yapılmıştır.

3.2.3. Kurbağa Örneklerinin Hastalık Bulguları Yönünden İncelenmesi

Tüm canlı örnekler herhangi bir işleme tabi tutulmadan önce dış bulgular yönünden incelenmiştir.

3.2.4. Kurbağalarda Ötenazi Uygulamaları

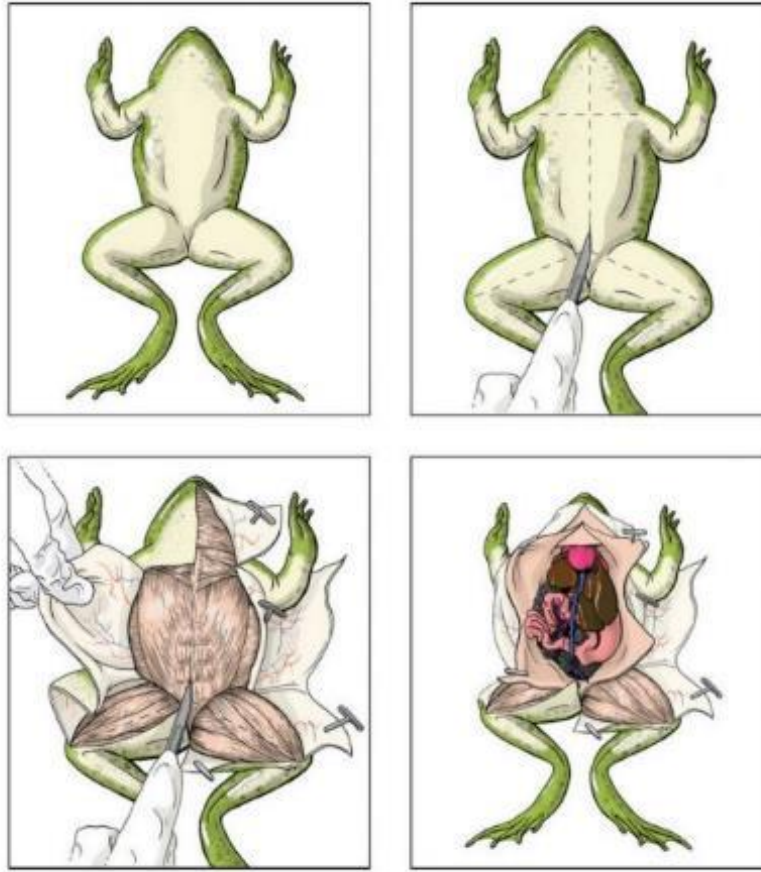
Kurbağalarda ötenazi uygulaması için MS222 stok solüsyonu (%1) ve/veya fenoksietanol kullanılmıştır. MS 222 hazırlanırken pH'nın düşmesine neden olduğundan pH 7,0-7,4 oluncaya kadar Sodyumbikarbonat (NaHCO_3) ilave edilmiştir. MS222 otopsi öncesi intrasölemik olarak 200 mg/kg dozunda enjekte edilmiştir. [83]. Fenoksietanol 5 mL/L dozunda suya eklenmiştir [47]. Kişisel gözlemlerimize göre fenoksietanolün daha etkili olduğu görülmüştür.

3.2.5. Kurbağa Örneklerinin Dezenfeksiyonu

Ötenazi uygulamaları sonrasında besin keseli larva, yemlenen larva, arka bacaklı iribaş, dört bacaklı iribaş ve genç kurbağa örnekleri ve yumurta/embriyo örnekleri 400 ppm povidin/iodin solüsyonunun 15 dakika süreyle uygulanması ile dezenfekte edilmiştir. Dezenfekte edilen örnekler 3 kez steril distile su ile yıkandıktan sonra işleme alınmıştır [13]. Anaç ve genç yetişkin kurbağa örneklerinde ise karın yüzeyi silindikten sonra alevle dağılayarak sterilizasyon yapılmıştır.

3.2.6. Kurbağalara Otopsi Uygulanması

Ötenazi uygulanan kurbağalara usulüne uygun otopsi yapılarak (Şekil 3.32, 3.33, 3.34) önce bulgular yönünden incelenmiş ve normal dışı bulgular kaydedilmiştir. Otopsi ekim bölgesinde, alev yanında gerçekleştirilmiştir. Otopsi amacıyla saf alkol ve alevle sterilize edilen dişli penset ve makaslar kullanılmıştır. Kurbağa sırt üstü yatırılmıştır. Kurbağanın kasık bölgesinden dişli penset ile deri tutularak yukarı kaldırılmış ve makasla bir kesit atılmıştır. Bu açıklıktan çene altına kadar deri kesilerek çene altından iki yana kesit yapılmış ve karın derisi iki yandan kesilerek kaldırılmıştır. Aynı işlem karın kasları için uygulanarak karın boşluğu açılmıştır [83].



Şekil 3.32. Kurbağa otopsisi [58].



Şekil 3.33. Dişi kurbağa, anaç (Orijinal).



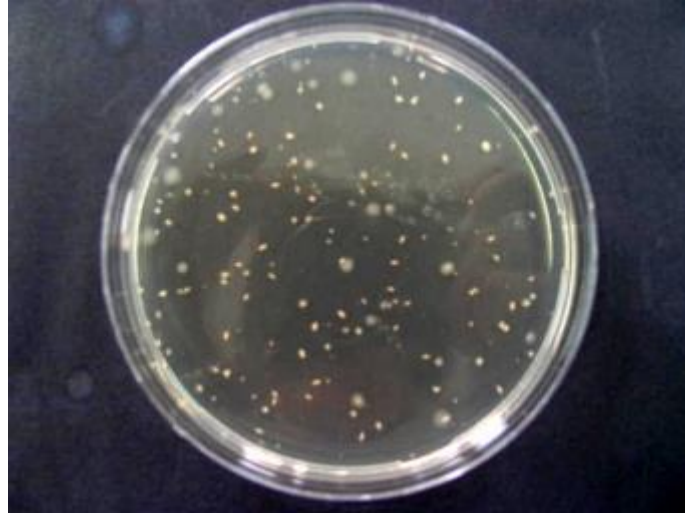
Şekil 3.34. Erkek kurbaga, anaç (Orijinal).

3.2.7. Su ve Yem Örnekleri Dilüsyonlarının Hazırlanması

Çalkalanarak homojenize edilen su örneklerinden 1'er mL alınarak 9'ar mL steril PS ile 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ve/veya 10^{-5} 'lik dilüsyonları hazırlanmıştır. Aynı işlem 1 g yemin 9 mL PS ile steril havan ve havan eliyle homojenize edilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Ekimler uygun 3 ardışık dilüsyondan ve iki paralelli olarak yapılmıştır [32].

3.2.8. Su ve Yem Örneklerinde Mezofilik Aerobik Bakteri ve Toplam Koliform Bakteri Sayımları

Ekimler iki paralelli ve 'çift kat dökme kültürel sayım yöntemine' göre ve çeşme sularında direkt, 10^{-1} ve 10^{-2} ; havuz sularında kirlilik ve bulanıklık göz önünde bulundurularak 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ve/veya 10^{-5} 'lik dilüsyonlar; yem örneklerinde 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} 'lik ardışık üç seyreltiden steril pipetlerle 1'er mL alınarak gerçekleştirilmiştir. Mezofilik aerobik bakteri sayımı için Plate Count Agar (PCA) (Şekil 3.35), toplam koliform bakteri sayımı için de Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) kullanılmıştır (Şekil 3.36). 30°C 'de 48 saatlik inkübasyonun ardından 30-300 arası koloni bulunan petriler esas alınarak sonuçlar 'koloni oluşturan birim (kob)/g ya da mL olarak belirtilmiştir [32].



Şekil 3.35. PCA'da üreyen bakteri kolonileri (Orijinal).



Şekil 3.36. VRBGA'da üreyen koliform bakteriler (Orijinal).

3.2.9. Örneklerden Bakteri İzolasyonu

Tüm mikrobiyolojik analizler hijyenik kurallara uyularak gerçekleştirilmiştir. Su, yem ve kurbağa örneklerinden Gram negatif ve Gram pozitif bazı bakterilerin izolasyonu yapılmıştır.

Bakteri izolasyonu için ekimler Trypticase Soy Agar (TSA) ve Tryptone Yeast Extract Salts (TYES) Agar'a yapılmıştır. İnkübasyon TSA besiyeri için 30°C'de 48-72 saat; TYESA kültürleri için de 15°C'de 5-7 gün gerçekleştirilmiştir. TSA ve TYES Agar'a inoküle edilen örneklerin inkübasyonu sonrasında besiyerleri üzerinde üreyen, renk ve şekil yönünden farklı koloniler tespit edilerek subkültürleri yine aynı süre ve sıcaklıklarda inkübe edilerek yapılmıştır. TYESA'da üreyen sarı koloniler seçilmiştir. İzolatlara Gram testi, oksidaz, katalaz, hareket testleri, bakteri şekli ve saflık kontrolü yapılmıştır. Hareket testi, bakteri şekli ve saflık kontrolü natif muayene ile lam-lamel arasında faz-kontrast mikroskop (Nikon 80i) ile

gerçekleştirilmiştir. İzolatlar identifikasyon işlemleri yapılncaya kadar % 15 G-NB veya % 15 G-TYESA'da -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.9.1. Su Örnekleri

Su örneklerinden hazırlanmış olan ardışık dilüsyonların uygun olanından ekimler besiyerinin yüzeyine 0,5 mL yayılarak gerçekleştirilmiştir. Kirliliği ve bulanıklığı fazla olan su örneklerinden direkt, 10^{-1} ve 10^{-2} 'lik dilüsyonlardan ekimler yapılmıştır. Ekimler iki paralelli yürütülmüştür.

3.2.9.2. Yem örnekleri

Yem örneklerinden mikrobiyolojik ekimler 10^{-1} ve 10^{-2} 'lik dilüsyonlardan besiyerinin yüzeyine 0,5 mL yayılarak gerçekleştirilmiştir. Ekimler iki paralelli yürütülmüştür.

3.2.9.3. Kurbağa örnekleri

Anaç, A ve B havuzları ve hastalık durumunda C, D ve E olarak adlandırılan diğer havuzlardan alınan kurbağa örneklerinden ekimler örnek gruplarına göre yapılmıştır. Yumurta/embriyo (A1-B1, Y0, E3) ve besin keseli larva örneklerinin (A2-B2, A3-B3) tamamı birer numune; yemlenen larva (A4-B4), bacaksız iribaş (A5-B5, B6), arka bacaklı iribaş (A6, B7) ve dört bacaklı iribaşlar (A6, B7, A8, B8) baş ve gövdeye ayrılarak tamamı birer örnek; genç kurbağa (A8-B8), genç erişkin kurbağa (A9-B9) ve anaç (A) örneklerinin hepsi tek tek ele alınarak karaciğer, akciğer, kan, dalak ve/veya lezyonları birer örnek olarak ele alınmıştır. 12.07.17 tarihinde alınan örneklerin arka bacaklı ve dört bacaklı iribaş ve genç kurbağa (A7-B7) içermesi nedeniyle, genç kurbağa örnekleri de iribaşlar gibi işleme alınmıştır. Tüm bedeni tek bir örnek olarak ele alınan yumurta/embriyolar ve besin keseli larvalar ve iç organları aseptik koşullarda çıkarılarak incelenen larva ve iribaşların baş ve gövdeleri, aseptik koşullarda steril petri içinde makasla homojenize edilmiştir. Gerek homojenize edilen örneklerden, gerekse de iç organlar ve lezyonlardan doku parçalarının öze yardımıyla alınarak besiyerlerine inokülasyonları sağlanmıştır. Böylece toplam 76 adet kurbağa örnekleme çalışılmıştır.

3.2.10. İzolatların Klasik Yöntemle İdentifikasyonu

%15 G-NB ya da %15 G-TYESB'de muhafaza edilen izolatlar NB içinde 30°C'de 24-48 saat veya TYESB'da 17°C'de 3-5 gün inkübe edilmiş, bulanıklık olması durumunda TSA ve TYESA'ya ekim yapılmıştır. Kolonilerin yapısı ve rengi incelenerek, saflık kontrolü ve bakteri

şeklini tespit için Faz-kontrast mikroskop ile natif muayene gerçekleştirilmiştir. Saf ve taze bakteri kolonilerine Gram testi, katalaz, sitokrom oksidaz, glikozun oksidasyon-fermentasyonu (O/F), hareket, metil kırmızısı (MR), Voges Proskauer (VP), indol, Simon's citrat kullanımı, glikoz, laktoz ve sakkaroz'dan asit oluşumu, glikozdan gaz oluşumu, hidrojen sülfür varlığı, eskülin hidrolizi, lizin dekarboksilaz varlığı, fleksirubin testleri uygun besiyerleri kullanılarak yapılmıştır. İdentifikasyon besiyerleri 30°C'de 1-15 gün inkübe edilmiştir [8]. TYESA'da üreyen sarı kolonilerin TSA'da 30°C'de üreyip üremedikleri kontrol edilmiştir. Biyokimyasal test sonuçları "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" [38] kitabındaki verilere göre değerlendirilmiştir.

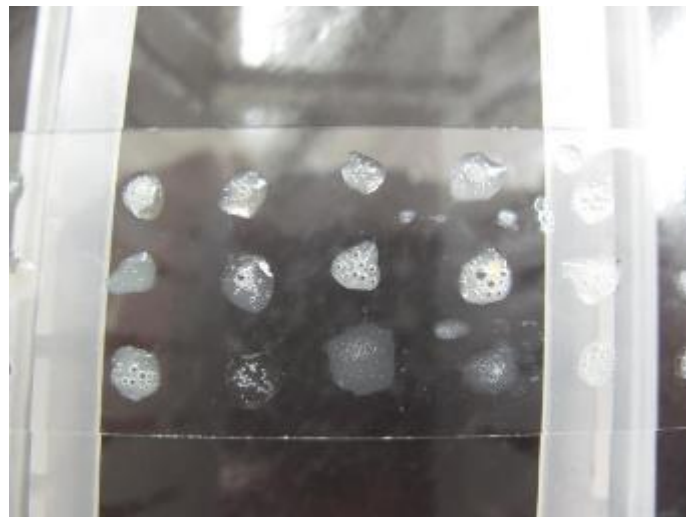
Bu izolatların identifikasyonlarında aşağıdaki testler uygulanmıştır:

3.2.10.1. Gram karakteri

Tüm kolonilere %4'lük KOH ile Gram testi de yapılmıştır. Bakteri kolonisinden alınan bir miktar lama damlatılan bir öze dolusu KOH ile karıştırılmıştır. Sümüksü, ipliğimsi yapının oluşması Gram negatif, homojen bir birikimin oluşması ise Gram pozitif olarak değerlendirilmiştir (Kişisel görüşme: Ronald Thune).

3.2.10.2. Katalaz testi

Temiz bir lamın üzerine %30'luk Hidrojen peroksit damlatılmıştır. Platin öze ile alınan bakteri kültürünün Hidrojen peroksit ile temasında kabarcıklar oluşturması katalaz pozitif, kabarcık oluşturmaması ise katalaz negatif olarak değerlendirilmiştir [18] (Şekil 3.37).



Şekil 3.37. Katalaz testi (Orijinal).

3.2.10.3. Oksidaz testi

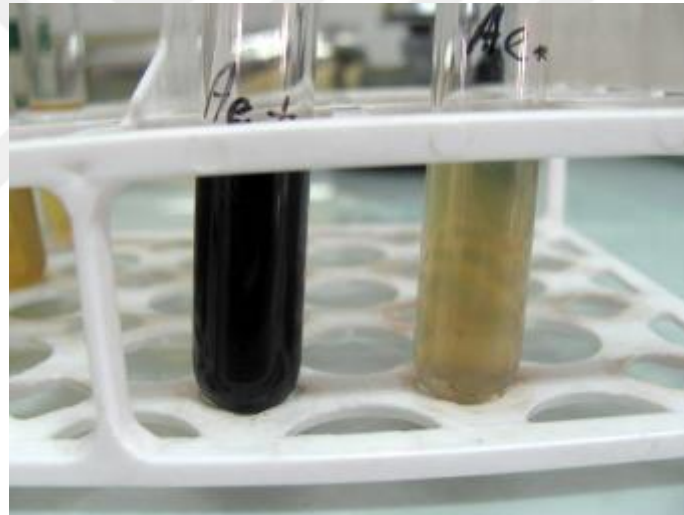
Şeritler halinde kesilmiş steril kurutma kağıdı üzerine oksidaz ayracı damlatılarak emdirilmiştir. Öze ile alınan bakteri ayraçla ıslatılan şerit üzerine sürüldüğünde bir dakika içinde mor renk oluşması oksidaz pozitif olarak değerlendirilmiştir [18].

3.2.10.4. Fleksirubin testi

Şeritler halinde kesilerek hazırlanan steril kurutma kağıdı üzerine %20'lik KOH damlatılmış, taze kültürden öze ile alınan bakteri bu kağıt üzerine sürülmüştür. Portakal veya kahverengine dönüşen renk pozitif olarak değerlendirilmiştir [39].

3.2.10.5. Eskülin hidrolizi

Hazırlanan Eskülin brota ekim yapılarak 30°C'de 1-30 gün inkübe edilmiştir. Besiyerinin rengi siyah veya kahverengine dönüşmüş ise eskülin pozitif, renkte değişme olmamış ise eskülin negatif olarak değerlendirilmiştir [54] (Şekil 3.38).



Şekil 3.38. Eskülin hidrolizi deneyi (sol: eskülin pozitif; sağ: eskülin negatif; orijinal).

3.2.10.6. İndol testi

İçerisinde indol brot bulunan tüplere öze ile ekim yapılmıştır. 30°C'de 48 saat gün inkübe edilmiştir. Kültürlerin üzerine Kovacs' ayracından 0,5 cc ilave edilerek tüpler çalkalanmıştır. Besiyeri üzerinde iki dakika içerisinde oluşan kırmızı halka pozitif, sarımsı halka ise negatif (Şekil 3.39) olarak değerlendirilmiştir [18].



Şekil 3.39. İndol testi (sağ: indol pozitif, sol: indol negatif, orjinal).

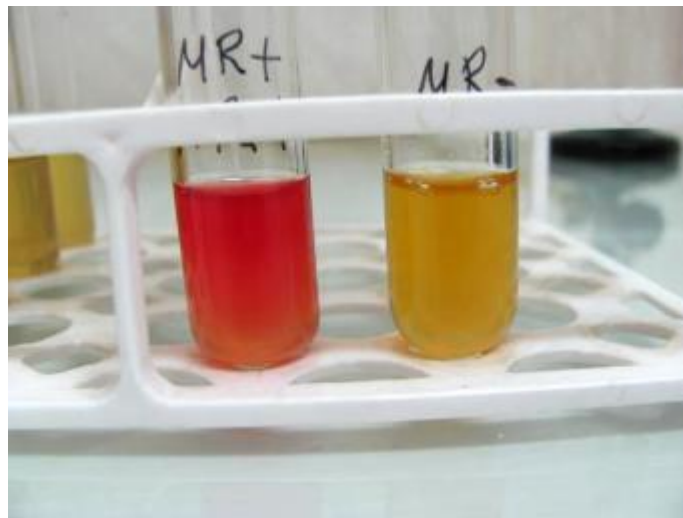
3.2.10.7. Jelatin hidrolizasyon testi

Oda sıcaklığında yarı sıvı haldeki jelatin broth içerisine öze ile alınan bakteri kültürü inoküle edilip, 30°C’de 5-10 gün inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda 1-2 saat buzdolabında tutulan besiyerinde sıvılaşmanın varlığı jelatin pozitif, katılaşmanın olması ise jelatin negatif olarak değerlendirilmiştir [54].

MR-VP Broth’ta uygulanan testler [54]

3.2.10.8 MR testi

MR-VP broth’taki 48-72 saatlik kültüre 5-6 damla MR ayracı damlatılmıştır. Kırmızı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.40).



Şekil 3.40. MR testi (sağ: MR pozitif, sol: MR negatif, orijinal).

3.2.10.9. VP (Asetilmetilkarbinol oluşumu) testi

MR-VP broth'a inoküle edilen bakterilerin 72 saatlik inkübasyondan sonra önce, α -Naphthol ayracından 0,6 mL konularak çalkalanmıştır. Sonra, % 40'lık KOH ayracından 0,2 mL konularak çalkalanmıştır. 10-15 dakika sonra kontrol edilerek 1 saat kadar bekletilmiştir. Kırmızı halka oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.41).



Şekil 3.41. VP testi (sağ: VP pozitif, sol: VP negatif, orijinal).

GMDA'da uygulanan testler [66]

Yarı katı olan GMDA'ya ekim, iğne özenin besiyerinin ortasından tüp dibine kadar dik olarak batırılıp çıkarılmasıyla gerçekleştirilmiştir. 30°C'de 24-48 saat gün inkübe edilmiştir.

3.2.10.10. Oksidasyon/Fermentasyon (O/F) testi

Besiyerinin normal kırmızı renginin tamamının ya da sadece dip kısmının sarıya dönüşmesi fermentatif, besiyerinin sadece üst kısmının sarıya dönüşmesi oksidatif, besiyerinin renginin değişmemesi O/F negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.42).

3.2.10.11. Glikoz parçalanması

Besiyeri rengin sarıya dönüşmesi glikoz pozitif, renginin kırmızı olması negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.10.12. Gaz varlığı

Besiyerinde gaz kabarcıklarının ya da yarılmalara varlığı gaz pozitif, herhangi bir değişimin olmaması negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.10.13. Hareket muayenesi

Batırma hattı boyunca sınırlı bir üreme negatif, besiyerinde homojen bir bulanıklık pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.42. GMDA'da uygulanan testler

(Tüpler soldan sağa: 1. Kontrol GMDA, 2. Glikoz, hareket pozitif, fermentatif; 3. ve 7. Glikoz, hareket negatif; 4. ve 5. Glikoz, hareket negatif, oksidatif; 6. Glikoz pozitif, hareket negatif, fermentatif; orijinal).

TSIA'da uygulanan testler [54]

Besiyerinin dip kısmına özeyi batırma ve yatık yüzeyine sürme şeklinde ekim yapılarak 37°C'de 24-48 saat gün inkübe edilmiştir. Besiyerinin kendine özgü kırmızı rengindeki değişimler değerlendirilerek H₂S oluşumu, gaz, glukoz ve laktoz parçalanmasına bakılmıştır (Şekil 3.43).

3.2.10.14. Hidrojen sülfür (H₂S) oluşumu

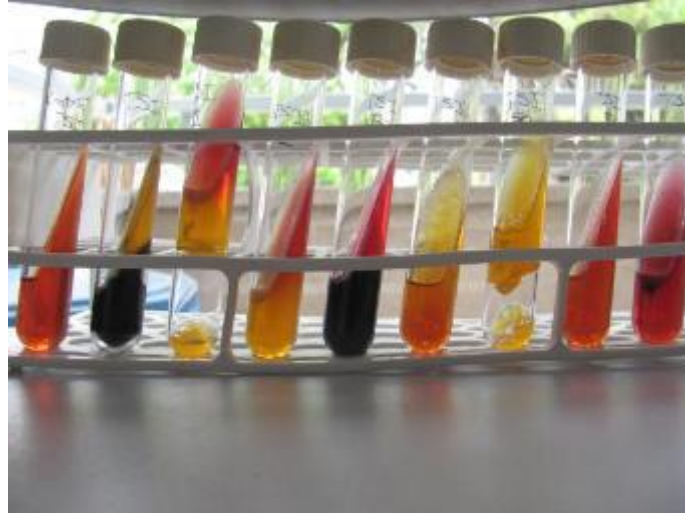
H₂S varlığı için besiyerinin yüzeyinden başlayıp dibe doğru ilerleyen siyah renk pozitif, siyah rengin oluşmaması negatif olarak yorumlanmıştır.

3.2.10.15. Glikoz ve laktoz parçalanması

Besiyerinin dip kısmında rengin sarıya dönüşmesi glikoz pozitif, renginin kırmızı olması negatif; besiyerinin yatık kısmının renginin sarıya dönüşmesi laktoz pozitif, kırmızı rengin varlığı negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.10.16 Gaz Varlığı

Besiyerinde gaz kabarcıklarının ya da yarılmalara varlığı gaz pozitif, herhangi bir değişimin olmaması negatif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.43. TSIA’da uygulanan testler

(Tüpler soldan sağa: 1. Kontrol TSIA; 2. Glikoz, laktoz, H₂S pozitif; 3. Glikoz, gaz pozitif, laktoz negatif; 4. Glikoz pozitif, laktoz negatif; 5. Glikoz, H₂S pozitif, laktoz negatif; 6. ve 7. Tüm testler negatif; 8. H₂S pozitif; orijinal).

3.2.10.17. Simmon’s citrat kullanımı

Bakteri kültürleri besiyerinin yatık yüzeyine ekilerek 30°C’de 1-15 gün inkübe edilmiştir. Mavi renk oluşumu pozitif, yeşil rengin muhafaza edilmesi negatif olarak değerlendirilmiştir [54] (Şekil 3.44).



Şekil 3.44. Simon citrat (SC) kullanımı (sol: SC negatif; sağ: SC pozitif; orijinal).

LIA’da uygulanan testler [54]

Besiyerinin dip kısmına özeyi batırma ve yatık yüzeyine sürme şeklinde ekim yapılarak 37°C’de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Besiyerinin kendine özgü mor rengindeki değişimler

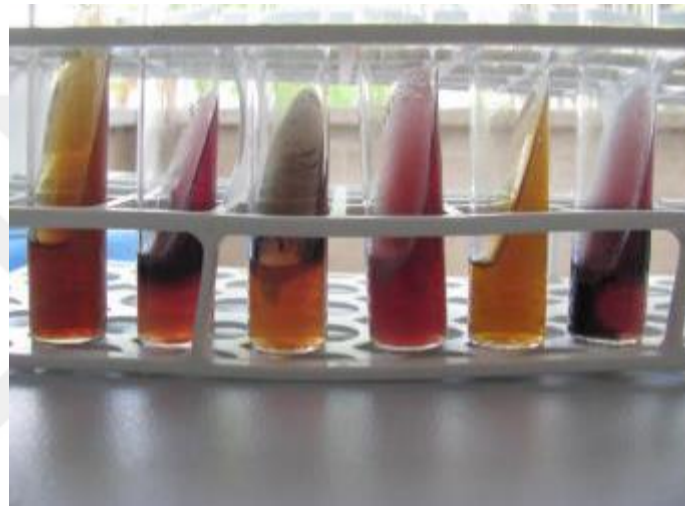
değerlendirilerek hidrojen sülfür (H_2S) ve lizin dekarboksilaz (LDC) oluşumuna bakılmıştır (Şekil 3.45).

3.2.10.18. LDC

30°C'de 18-24 saatlik inkübasyon sonrası dipte mor rengin varlığı LDC pozitif, dip ya da yatık yüzeyde sarı rengin varlığı negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.10.19. H_2S Oluşumu

Besiyerinde siyahlık oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.45. LIA'da uygulanan testler (Tüpler soldan sağa: 1. Kontrol LIA, 2. Ve 6. LDC, H_2S pozitif, 3. LDC negatif, H_2S pozitif; 4. LDC pozitif; 5. Bakteri ürememiştir; orijinal).

3.2.11. İzolatların VITEK Sistemi ile İdentifikasyonu

Klasik yöntemle tanımlanan kültürlerin identifikasyonları VITEK 2 compact sistemi (bioMerieux, Fransa) ile teyit edilmiştir (Şekil 3.46). Gram negatif izolatlar için VITEK 2 GN, Gram pozitifler koklar için VITEK 2 GP ve Gram pozitif basiller için de VITEK 2 BCL ID kartları kullanılmıştır (Şekil 3.47). İşlemler ticari kitlerin tarifine uygun yürütülmüştür.



Şekil 3.46. VITEK 2 compact sistemi.



Şekil 3.47. Kullanılmış VITEK kitleri.

3.2.12. Antibakteriyel İlaç Duyarlılık Testi

Antibakteriyel ilaç duyarlılık testi Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre yapılmıştır. Taze bakteri kültürlerinin FTS içindeki bakteri süspansiyonu 0,5 McFarland bulanıklığına ayarlanıp Müller-Hinton agar üzerine yayarak inoküle edilmiştir. Antibakteriyel ilaç diskleri yerleştirildikten sonra inkübasyon 30°C'de 24-48 saatte gerçekleştirilmiştir. Disklerin etrafındaki inhibisyon zon çapları ölçülerek hassas (H), az duyarlı (O) ve dirençli (D) olarak kaydedilmiştir [17] (Şekil 3.48).



Şekil 3.48. Antibakteriyel duyarlılık testi.

Test edilecek antibakteriyel ilaçlara karşı izolatların çoklu antibiyotik direnci (MAR, multiple antibiotic resistance) endeksi Krumperman'ın 1983'te bildirdiği formüle göre hesaplanmıştır. MAR endeksi, söz konusu izolata dirençli olan antibakteriyel ilaç sayısı kullanılarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmaktadır:

$$[\text{MAR endeksi} = X / (Y \times Z)]$$

X: antibiyotiklere dirençli bakterilerin toplamı; Y: Çalışmada kullanılan antibiyotiklerin toplamı;
Z: izolatların toplamı.

0,2'den daha az veya 0,2'ye eşit MAR endeks değeri, tedavilerde nadiren kullanılan veya hiç kullanılmayan antibiyotikleri belirtirken, 0,2'den daha büyük değerler hayvanların bu antibiyotiklere yüksek oranda maruz kalmış olduklarını göstermektedir [48].

3.2.13. İstatistiksel Analizler

Tez çalışması kapsamında incelenecek olan kurbağa örnekleri sayıları Mead yöntemine göre hesaplanarak her grup için 10 olarak belirlenmiştir [3].

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Su Örneklerinin Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyel Değerleri

Kurbağa tesisine gelen kaynak suyu su deposunda biriktirilerek kullanılmaktadır. Kurbağa tesisinde kullanılan bu suyun kalitesini belirleyebilmek amacıyla bazı fiziksel, kimyasal (anyon-kasyon) ve mikrobiyel (toplam bakteri sayısı ve koliform bakteri sayısı) analizler yapılmıştır. Eleroğlu ve Sarıca (2004)'e göre, su kalitesi diğer birçok kriter yanında bulanıklık, elektriksel iletkenlik, pH, sertlik, anyon, kasyon, herbisit ve bakteri varlığıyla karakterize edilmektedir. Yaşama gücünü destekleyen, ölüm ve hastalıklara neden olmayan içeriğe sahip olan su ise “yüksek kaliteli su” olarak tanımlanmaktadır [24]. İşletmeye gelen kaynak suyunun çok sert su niteliğinde olup, ölçülen fiziksel ve kimyasal kriterler yönünden “kaliteli su” niteliğinde olabileceği anlaşılmıştır. Mikrobiyolojik yönden genel olarak içme suyu standartlarına [23, 71] uygun olmasa da, Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliğine (2004) [69] göre 2. sınıf kıta içi yüzeysel su niteliğinde olup, alabalık dışındaki balıkların üretiminde kullanılabileceği bildirilmiştir.

4.1.1. Çeşme Suyunun Fiziksel Değerleri

30 Mart'ta başlatılan tez çalışması 12 Ekim'de tamamlanıncaya kadar geçen süreçte 8 kez su örneği alınmış, su örneklerinin sıcaklık, pH, iletkenlik ve sertlik değerleri ölçülmüştür. Su sıcaklıkları aylara göre değişmekle birlikte, çeşme suyunda 17-28°C, pH değerleri 7,3-8,0 arasında olup normal değerler arasında seyretmiştir. İletkenlik değerleri de normal sınırlar içindedir. Türk Standartları TS266 “insani tüketim amaçlı sular” ölçütlerine göre pH 6,5-9,5 ve iletkenlik 650-2500 µS/cm kabul edilebilir değerlerdir [81]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO, 2011), kalsiyum ve magnezyum tuzlarının meydana getirdiği su sertliğini (mg CaCO₃/L) ≤60 yumuşak, 120-180 orta sert, 180'den büyük değerleri çok sert su ve 100 civarındaki suları normal olarak sınıflandırmıştır [85]. Bu verilere göre kurbağa işletmesine gelen kaynak suyu 287,7-354,8 arası değerlerle çok sert sular sınıfına girmektedir (Tablo 4.1). Ancak, yapılmış araştırmalar göz önünde bulundurulduğunda, suyun sert niteliğinin kurbağa yetiştiriciliği için bir avantaj olabileceği görülmektedir. Godfrey ve Sanders (2004)'in Afrika pençeli kurbağası (*Xenopus laevis*) yumurta kalitesi ve embriyo gelişimi üzerine su sertliğinin etkisi ile ilgili yaptıkları araştırmada, su sıcaklıkları 17-18°C bile olsa, su sertliği arttıkça yumurta kalitesinin ve embriyoların yaşama ve gelişme oranlarının belirgin bir şekilde arttığını tespit etmişlerdir. Genel sertliği 62 olan suda embriyoların hiçbirisi 10 hafalığa ulaşamazken, 186-241 olan suda iribaşların % 69'unun 16 haftada genç kurbağa aşamasına geldikleri bildirilmiştir [30]. Kurbağa

tesisinde yetiştiriciliği denenen *Pelophylax ridibundus*'un gereksinim duyduğu fiziksel ve kimyasal nitelikler ise araştırılmaya açık konulardır.

Tablo 4.1. Çeşme sularının fiziksel değerleri.

Parametreler	30.03.17	06.04.17	20.04.17	12.06.17	30.06.17	12.07.17	10.08.17	12.10.17
Sıcaklık (°C)	18	17	17	27	27	28	29	21
pH	7,5	7,6	7,3	8,0	7,7	7,5	7,5	6,4
İletkenlik (µS/cm)	606	579	646	670	670	695	641	535
Sertlik (mg CaCO ₃ /L)	333,9	336,8	288,6	354,8	330,1	353,4	316,9	287,7

4.1.2. Kurbağa Örnekleri Havuz Sularının Fiziksel Değerleri

Kurbağa örneklerinin bulunduğu kap ve havuzlardan alınan su örneklerinin fiziksel değerleri TS266'ya uygun olduğu görülmektedir (Tablo 4.2, ve Tablo 4.3). Mercante vd. (2014) Brezilya'da Amerika boğa kurbağası (*Lithobates catesbeianus*) yetiştiriciliğinde su kalitesi ile ilgili yaptıkları araştırmada fiziksel referans değerler olarak pH 6-8, sıcaklık $\pm 26^{\circ}\text{C}$, iletkenlik $\leq 150 \mu\text{S/cm}$ ve sertlik 10-80 mg CaCO₃/L kullanmışlardır [52]. Bu verilere göre, havuzlardaki suyun iletkenlik değerleri kabul edilebilir değerin çok üzerindedir. İletkenlik sulu bir çözeltinin elektriği iletme kabiliyetinin sayısal bir ifadesi olup, sudaki iyonların toplam ve bağlı konsantrasyonlarına, hareketliliğine, değerliklerine ve ölçüm sıcaklığına bağlı olduğu bildirilmiştir [4]. Kurbağa tesisindeki su örneklerinin genel olarak iletkenliğinin yüksek olması, işletmeye gelen kaynak suyunun kalsiyum miktarının (Tablo 4.4, 4.5, 4.6) standartların üzerinde olması ile açıklamak mümkündür.

Tablo 4.2. Kurbağa havuz sularının fiziksel değerleri-1.

Parametreler	30.03.2017			06.04.2017				20.04.2017	
	Anaç A	Embriyo A1	B1	A2	Besin keseli larva B2	A3 ¹	B3 ¹	Yemlenen larva A4	B4
Sıcaklık (°C)	17	17	17	22	22,1	16,1	16,3	17	17
pH	7,3	7,0	6,7	7,5	7,5	7,5	7,5	7,3	7,3
İletkenlik (µS/cm)	572	575	613	526	569	665	689	696	692
Sertlik (mg CO ₃ /L)	261,2	280	294,8	211,3	208,6	335,2	338,5	288,8	290,1

¹Yemlenen besin keseli larva havuzu

İşletmenin su sıcaklıkları Haziran ayına kadar optimum değerlerin altındadır. Kurbağalar poikilotermik canlılar olup, alçak arazilerdeki optimum sıcaklık gereksinimlerinin 22-28°C olduğu [82], gelişim hızlarının su sıcaklıklarına paralel olarak arttığı bildirilmiştir [65].

Nitekim, izlemeye alınan A ve B havuzlarındaki kurbağaların başkalaşım evreleri ve morfolojik gelişimleri, daha sonra alınan yumurtalara göre Haziran ayına kadar yavaş seyretmiş, havaların ısınması ile birlikte kısa sürede metamorfozları tamamlanmıştır.

Tablo 4.3. Kurbağa havuz sularının fiziksel değerleri-2.

Parametreler	12.06.2017 Bacaksız İribaş		30.06.2017 1. İribaş		12.07.2017 2. İribaş		Hasta İribaş	10.08.2017 Genç Kurbağa		12.10.2017 Genç Erişkin Kurbağa	
	A5	B5	A6	B6	A7	B7	E-HS	A8	B8	A9	B9
Sıcaklık (°C)	25	25	26	26	26	26	26	26	26	17,5	17
pH	7,7	8,0	6,8	6,8	7,5	7,3	7,3	7,3	7,5	6,44	6,43
İletkenlik (µS/cm)	549	559	581	583	745	595	780	437	625	683	622
Sertlik (mg CO ₃ /L)	265,3	306,3	263,7	260,1	350,7	266,9	307,1	170,4	318,7	213,7	166,4

1. İribaş: Bacaksız, arka bacaklı, dört bacaklı iribaş

2. İribaş: Bacaksız, arka bacaklı, dört bacaklı iribaş

E-HS: E havuzu, hasta bacaksız ve dört bacaklı iribaş

4.1.3. Çeşme Suyu Örneklerinin Kimyasal Değerleri

Çeşme suyu örneklerinin tümünde potasyum, sodyum, bromür, florür, fosfat, nitrit, amonyum ve nitrat tolere edilebilir değerlerin altında; magnezyum, klorür ve sülfat kabul edilebilir değerler arasında ve kalsiyum normal değerlerin üzerinde bulunmuştur (Tablo 4.4). Bilindiği gibi suda mevcut kalsiyum ve magnezyum iyon miktarları suyun sertliğini belirlemektedir [4].

Tablo 4.4. Çeşme suyu örneklerinin iyon miktarları.

İyon (mg/L)	Referans değerler	30.03.17	06.04.17	20.04.17	12.06.17	30.06.17	12.07.17	10.08.17	12.10.17
Kalsiyum ¹	≤60	106,4	106,6	74,6	112,5	104,9	111,8	101,3	85,3
Magnezyum ¹	14-125	16,6	17,2	24,9	18,0	16,5	18,0	15,5	18,1
Potasyum ⁵	≤10	2,2	2,1	2,1	1,7	1,6	1,7	1,6	2,0
Sodyum ²	≤125	20,6	21,0	21,5	21,6	19,9	26,7	18,5	18,1
Bromür ³	≤0,010	0	0	0	0	0	0	0	0
Florür ^{3,4}	1-1,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0
Klorür ⁴	30-250	62,0	63,7	66,5	58,0	52,2	55,3	46,4	43,1
Fosfat ⁵	≤0,3	0	0	0	0	0	0	0	0
Sülfat ^{3,4}	25-250	73,1	76,2	79,3	65,7	58,8	64,3	54,1	167,4
Amonyum ²	0,2-1	0,1	0,1	0,1	0	0	0	0	0
Nitrat ^{3,4}	25-50	10,9	10,9	10,4	9,1	8,6	9,3	8,2	8,0
Nitrit ^{3,4}	≤0,5	0	0	0	0	0	0	0	0

¹Özdoğan vd. (2016) [59] ²Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği (2004) [69]

³AB içme suyu yönergesi (98/83/EC) [23] ⁴TS266 [81] ⁵Ferreira (2003) [28] ⁵WHO (2009) [84]

4.1.4. Kurbağa Havuz Suyu Örneklerinin Kimyasal Değerleri

Kurbağa örneklerinin alındığı havuz ve kaplardan alınan sularda sodyum, bromür, florür, fosfat, nitrat tüm örneklerde; nitrit anaç ve B8 ve amonyum A3, B3, A4 ve B4 hariç tüm örneklerde normal değerlerin altında bulunmuştur. Magnezyum, potasyum, klorür ve sülfat tüm örneklerde tolere edilebilir değerlerin arasında iken, kalsiyum B2 örnekleme hariç tümünde yüksek değerlerde tespit edilmiştir. Anaç A7 ve A9'da amonyum, B8 örneğinde ise nitrit normal normal değerlerin üzerinde analiz edilmiştir. Tüm kurbağa havuzu sularında fosfat bulunamamışken, hasta kurbağa havuzunda 7,37 mg/L olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.5, 4,6). Shuytema ve Nebeker (1999) *Rana aurora* larvaları üzerinde nitratın etkilerini test ettiklerinde LD50 konsantrasyonunu amonyum nitrat için 71,9 mg/L, sodyum nitrat için de 636,3 mg/L bulmuşlardır [73]. Bizim bulgularımızda ise hem nitrat, hem de amonyum miktarları, araştırma süresince havuzların kirli görünümüne rağmen içme suyu standartlarının bile altında olduğu görülmektedir (Tablo 4.4, 4.5, 4.6).

Tablo 4.5. Kurbağa havuz suyu örneklerinin iyon değerleri-1.

İyonlar (mg/L)	30.03.17			06.04.2017				20.04.17	
	Anaç	Embriyo		Besin keseli larva				Yemlenen larva	
		A1	B1	A2	B2	A3 ¹	B3 ¹	A4	B4
Kalsiyum	74,3	81,1	85,5	51,3	47,4	105,9	107,1	74,4	74,7
Magnezyum	18,4	18,8	19,7	20,2	21,9	17,2	17,3	25,1	25,2
Potasyum	8,6	2,2	3,2	5,7	9,3	2,1	2,2	2,1	2,1
Sodyum	24,7	24,0	24,4	26,5	30,8	20,9	21,3	21,4	21,5
Bromür	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Florür	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1
Klorür	72,7	73,9	75,5	82,1	95,9	64,4	65,4	66,8	66,6
Fosfat	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sülfat	84,6	83,8	88,0	102,2	119,0	76,7	77,4	79,2	79,2
Amonyum	2,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
Nitrat	1,7	0,7	6,1	0,2	0,1	9,6	10,7	9,6	9,6
Nitrit	4,8	0	0	0	0	0	0	0	0

¹ Yemlenen besin keseli larva havuzu

Tablo 4.6. Kurbağa havuz suyu örneklerinin iyon değerleri-2.

İyon (mg/L)	12.06.17 Bacaksız iribaş		30.06.17 1.İribaş		12.07.17 2.İribaş		Hasta iribaş E-HS	10.08.17 Genç kurbağa		12.10.17 Genç erişkin kurbağa	
	A5	B5	A6	B6	A7	B7		A8	B8	A9	B9
Kalsiyum	74,4	90,9	68,5	72,4	91,2	68,9	73,6	41,4	90,5	48,8	31,4
Magnezyum	19,3	19,3	22,5	19,3	29,9	23,0	30,0	16,3	22,5	22,3	21,4
Potasyum	10,2	5,5	7,4	2,9	12,2	3,6	46,8	8,0	3,4	23,0	18,9
Sodyum	23,0	22,6	24,2	22,7	30,7	29,8	36,1	25,4	19,6	40,2	38,3
Bromür	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Florür	0,03	0,04	0,02	0,04	0,04	0,05	0	0,05	0,05	0	0
Klorür	63,0	61,1	69,0	64,1	86,5	83,2	100	63,7	51,7	91,2	87,7
Fosfat	0	0	2,3	1,5	3,3	0	7,37	0	1,0	0	0
Sülfat	65,1	64,9	58,7	61,5	58,7	67,1	56,65	69,3	57,4	337,4	97,7
Amonyum	0	0	0	0	1,4	0	0	0,8	1,0	1,5	0,4
Nitrat	2,4	1,6	0	0,07	0,4	0	0	0,07	19,6	0	0
Nitrit	0	0	0	0	0	0	0	0	3,0	0	0

E-HS: E havuzu hasta iribaş

4.1.5. Su Örneklerinin Mezofilik Aerobik Bakteri Sayıları

Mezofilik aerobik bakteri sayımı (toplam bakteri) her türlü besinin insan ve hayvan kullanımına uygunluğunu ölçmek için uygulanan en genel göstergelerden biridir. Çünkü toplam bakteri sayısının bir gıdanın bir gramında ya da mililitresinde 10^6 'dan fazla bulunması, o ürünün patojen mikroorganizmaları da içerebileceği ihtimalinin göstergesidir. Bu amaçla tüm ülkelerde içme ve kullanma suları için standartlar geliştirilmiştir. Avrupa Birliği (98/83/EC) [23] ve Türk Standartları TS266'ya [81] göre insan tüketimi için uygun olan sularda 20/mL'den fazla toplam bakteri bulunmamalıdır. Kurbağa işletmesinde kullanılan çeşme suyu örneklerinde toplam bakteri yükü 65-6500 kob/mL arasında (ortalama±standart sapma: $2,2 \times 10^3 \pm 2,5 \times 10^3$ kob/mL) bulunmuştur. Bu açıdan değerlendirildiğinde işletmede kullanılan çeşme suyu örneklerinin içme suyu niteliğinde olmadığı görülmektedir. Kurbağa havuzlarında toplam bakteri yükünün en az 600 kob/mL olduğu ve bu sayının $8,6 \times 10^6$ kob/mL seviyelerine kadar çıktığı saptanmıştır (Tablo 4.7). Anaç havuzu suyu ve yemlenen iribaş havuzu suyunda 10^6 'nın üzerine çıkmış olan toplam bakteri yükü, kurbağalar için patojen olabilecek bakterilerin de olabileceğini göstermektedir. Bu, hayvan gaitası, yem artıkları, su sıcaklığı, su akışının olmaması ya da az olması gibi koşullarda sucul canlı yetiştiriciliğinin olduğu işletmelerde beklenebilecek bir durumdur. Ayrıca, iribaş havuzlarına 28 Haziran'dan itibaren atılan sığır gübresinin toplam bakteri yükünü arttırmış olması beklenen bir durum iken, sonuçlar karşılaştırıldığında belirgin bir farklılığın olmadığı görülmektedir. 20 Nisan 2017'de yemlenen larva havuzlarından alınan A ve B su örneklerinin bakteri yükünün diğerlerinden düşük olması, havuzun yeni temizlenmiş olması ile açıklanabilir.

Tablo 4.7. Su örneklerinde mezofilik aerobik bakteri sayısı (kob/mL).

Tarih	Örnek	Çeşme	AS	BS	HS
30.03.17	Anaç	6,0x10 ²	4,1x10 ⁶	-	
	Y/E		3,0x10 ⁵	4,5x10 ³	
06.04.17	BKL	2,6x10 ²	2,0x10 ³	1,7x10 ⁵	
	Y-BKL		4,6x10 ⁴	2,6x10 ³	
20.04.17	Y-L	1,1x10 ²	8,0x10 ²	6,0x10 ²	
	C-HL				1,0x10 ⁴
	D-HL				1,5x10 ⁵
12.06.17	Y-İ	3,7x10 ³	3,0x10 ⁴	8,6x10 ⁶	
30.06.17	1. İribaş	4,8x10 ³	2,1x10 ⁵	1,0x10 ⁵	
12.07.17	2. İribaş	6,5x10	8,5x10 ³	6,0x10 ³	
	E-HI				1,2x10 ⁴
10.08.17	GK	1,5x10 ³	5,2x10 ⁴	4,7x10 ⁴	
12.10.17	GYK	6,5x10 ³	1,1x10 ⁴	1,9x10 ⁴	
	Ort.±SD	2,2x10 ³ ±2,5x10 ³	4,8x10 ⁵ ±1,3x10 ⁶	9,9x10 ⁵ ± 2,9x10 ⁷	5,7x10 ⁴
	Min.-Max.	6,5x10-6,5x10 ³	8,0x10 ² -4,1x10 ⁶	6,0x10 ² -8,6x10 ⁶	

Y/E: Yumurta/Embriyo BKL: Besin keseli larva Y-BKL: Yemlenen besin keseli larva
Y-L: Yemlenen larva C-HL: Diğer havuz hasta larva D-HL: Diğer havuz hasta larva
Y-İ: Yemlenen iribaş E-HL: Diğer havuz hasta iribaş GK: Genç kurbağa
GYK: Genç yetişkin kurbağa

4.1.6. Su Örneklerinin Toplam Koliform Bakteri Sayıları

Koliform bakteri sayımı insan ve hayvan gaitası kaynaklı kirliliğin göstergesi olarak tüm gıda analizlerinde kullanılmaktadır. Avrupa Birliği (98/83/EC) [23] ve Türk Standartları TS266'ya [81] göre içme ve kullanma sularında koliform bakteri hiç olmamalıdır. Buna karşın Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliğine (2004) göre kıta içi yüzeysel sularda 1. sınıf için en fazla 100 kob/100mL, 2. sınıf için de 20.000 kob/mL koliform bakteri bulunabileceği belirtilmiştir [69]. Toplam 8 çeşme suyu örneğinin altısı içme suyu standartlarına uygunken, Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliğine göre 1. sınıf su kalitesine sahiptir. Havuz sularında az sayıda örnekte hiç üreme olmamasına karşın, koliform bakteri üremesi beklenebilecek bir durumdur ve 2. sınıf su kalitesindedir. Özellikle Temmuz ayından sonraki tüm örneklerde yüksek olan koliform bakteri yükü uygulanan gübrelemenin bir sonucudur. Yine de, Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliğine [69] göre, koliform bakteri sayısı 10.000 kob/mL olan anaç havuzu suyu bile 2. sınıf su özelliği taşımaktadır.

Tablo 4.8. Su örneklerinde toplam koliform sayısı (kob/mL).

Tarih	Örnek	Çeşme	AS	BS	HS
30.03.17	Anaç	1,0	2,4x10 ³	-	
	Y/E		2,0x10	5,0	
06.04.17	BKL	1,0x10	1,0x10 ²	1,9x10	
	Y-BKL		1,0	0	
20.04.17	Y-L	0	1,0	1,0	
	C-HL				0
	D-HL				4,8x10 ³
12.06.17	Y-İ	3,4x10	1,0x10 ²	8,0x10 ²	
30.06.17	1. İribaş	0	1,0x10 ³	2,2x10 ³	
12.07.17	2. İribaş	0	1,1x10 ³	1,0x10 ²	
	E-Hİ				0
10.08.17	GK	0	6,2x10 ²	3,8x10 ³	
12.10.17	GYK	0	2,9x10 ³	6,4x10 ²	
	Ort.±SD	1,5x10	8,2x10 ² ±1,1x10 ³	8,4x10 ² ±1,3x10 ³	-
	Min.-Max.	0-3,4x10	1,0-2,9x10 ³	0-3,8x10 ³	-
Y/E: Yumurta/Embriyo		BKL: Besin keseli larva		Y-BKL: Yemlenen besin keseli larva	
Y-L: Yemlenen larva		C-HL: Diğer havuz hasta larva		D-HL: Diğer havuz hasta larva	
Y-İ: Yemlenen iribaş		E-Hİ: Diğer havuz hasta iribaş		GK: Genç kurbağa	
GYK: Genç yetişkin kurbağa					

4.2. Yem Örneklerinin Mezofilik Aerobik Bakteri ve Koliform Bakteri Sayıları

Yemlerin mikrobiyolojik kalitesinin ortaya konulmasında da toplam bakteri ve koliform bakteri yüklerinin belirlenmesi gösterge olarak kullanılmaktadır [22]. Tez çalışmasında muayene edilen yem örneklerinin hiçbirinde koliform bakteri ürememiş, toplam bakteri sayısı (Tablo 4.9) ise sağlık açısından kritik olan 10^6 kob/g'ın çok altındadır. Ülkemizde "Yem Hammaddeleri ve Karma Yemlerde Bulunan Bakteri ve Mantarların Kültürel Sayımları ve Mikroorganizma Sayısına Göre Yem Hammaddelerinin Norm Değerleri Hakkındaki Tebliğ" [70] 2008 yılında yürürlükten kaldırılarak yerine getirilen "Hayvansal Kökenli Yemlerde Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği"nde sadece Salmonella ve Enterobacteriaceae (ENT) sayımına yönelik kriterler bulunmaktadır [70]. Bu tebliğe göre, bir gram hayvansal yemde en fazla 300 kob/g ENT bulunabilmekte, Salmonella hiç bulunmamalı; pelet yemlerle ilgili ölçüt alınabilecek resmi bir kriter bulunmamaktadır. "Yem Hammaddeleri ve Karma Yemlerde Bulunan Bakteri ve Mantarların Kültürel Sayımları ve Mikroorganizma Sayısına Göre Yem Hammaddelerinin Norm Değerleri Hakkındaki Tebliğ"'e [68] göre en yüksek toplam bakteri sayısı 10^6 kob/g ve mantar sayısı 10^4 kob/g olan yem hammaddeleri genel olarak tazeliği bozulmamış veya farkedilir şekilde bozulmamış olarak kabul edilmektedir. Kurbağaların beslenmesinde kullanılan yemler işletme çalışanlarının kendi ürettikleri ürünler olup, depolanma şartları hijyen kurallarına uygun olmamasına rağmen, mikrobiyolojik kalitesinin iyi olduğu görülmektedir.

Tablo 4.9. Yem örneklerinin mezofilik aerobik bakteri ve toplam koliform sayısı (kob/g).

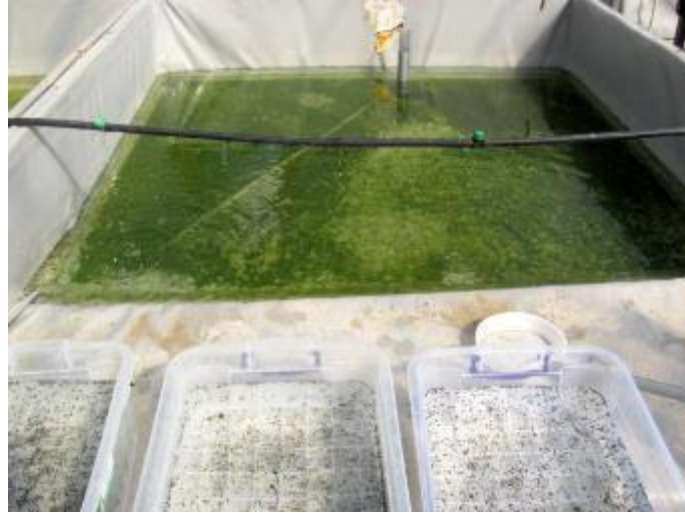
Tarih	No	Toplam Bakteri	Toplam Koliform
30.03.17	1	$3,0 \times 10^3$	0
	2	$3,7 \times 10^3$	0
06.04.17	3	$3,5 \times 10^3$	0
	4	$2,9 \times 10^3$	0
10.08.17	5	$3,3 \times 10^3$	0
	6	$5,3 \times 10^4$	0
12.10.17	7	$8,0 \times 10^2$	0
	8	$9,0 \times 10^3$	0
Ort. $\pm$ SD		$9,9 \times 10^3 \pm 1,8 \times 10^4$	0
Min.-Max		$8,0 \times 10^2 - 5,3 \times 10^4$	0

4.3. Kurbağa Örneklerinde Eksternal ve İnternal Hastalık Bulguları

Green vd. (2000), kurbağa hastalıklarının metamorfik aşamalara göre farklılıklar gösterebildiğini, sağlıklı bireylerin en az kayıpla ve en yüksek verimlilikle üretilibilmeleri için başkalaşım aşamalarının göz önünde bulundurulması gerektiğini vurgulamışlardır. Bu süreçte meydana gelen hormonal, morfolojik ve fizyolojik değişimler immunolojik sistemde de değişikliklere yol açarak geçici bağışıklık yetersizlikleri meydana gelmekte, bazı kurbağa türlerinde %80'lere varan ölümler görülebilmektedir [31]. Oysa D'Silva (2015), kurbağa yetiştiriciliğinde ekonomik olarak tolere edilebilecek ölüm oranlarının yumurta aşamasında % 20, larval dönemde % 10, genç birey aşamasında % 35 ve yağlanma aşamasında % 10 olarak bildirmiştir [20]. Aydıncık'taki kurbağa tesisinde ölüm oranları % 80'i geçmiş, elde edilen yumurtaların çok azı genç erişkin forma ulaşabilmiştir.

4.3.1. Yemlenen Larva, Bacaksız İribaş, Dört Bacaklı İribaş

Kurbağa hastalıkları ile ilgili bu tez çalışmasının başlangıç noktasını 'Aydıncık Tarım İlçe Müdürlüğü'nün kurbağa yetiştiricilik projesi' esnasında 2016 yılında 14-20 günlük yavrularda meydana gelen yoğun ölümler teşkil etmiştir. Nitekim 20.04.2017 örnekleme tarihinden altı gün öncesinde yavru havuzlarında ölümler başlamış ve 2-3 haftalığa ulaşan tüm larvalarda Temmuz ayına kadar devam etmiştir. Ölümlerin yoğun olarak görüldüğü C-havuzundaki larvalar 20 günlük, D-havuzundakiler ise 14 günlük yemlenen larvalardır. Ölümler tez kapsamına alınan A ve B havuzlarında da görülmüş, B havuzundaki larvaların sadece 4 adedi genç yetişkin kurbağa aşamasına gelebilmiştir. Ölümlerin yoğun olduğu havuzlarda yosunlaşma ve fitoplankton nedeniyle suların yeşillendiği (Şekil 4.1) ve özellikle öğleden sonraları su yüzeyinde hava kabarcıklarının olduğu görülmüştür.



Şekil 4.1. Havuzlarda fitoplankton ve yosunlaşma nedeniyle yeşillenme.

İşletme çalışanlarının gözlemlerine göre, yavrularda ölümler daha çok öğleden sonraları meydana gelmiş, ölen yavruların ölmeden önce karınlarında hava kabarcıkları ve şişkinlik tespit edilmiştir (Şekil 4.2, 4.3).



Şekil 4.2. Ondört günlük larva, karında hava kabarcığı, su içinde yüzerken (Orijinal).

Tüm larvaların karınlarının yeşil olması ve otopsi yapıldığında bağırsakların tamamen yeşil bir mayi ile dolu olması (Şekil 4.3), larvaların fitoplankton ile beslendiklerini göstermektedir. Nitekim, Flores-Nava ve Vera-Muñoz (1999) *Rana catesbeina*'nın yemlenme davranışları ile ilgil yaptıkları araştırmada, larvaların ticari yeme ilgi göstermediklerini, ortama fitoplankton ilavesinde ise hareket etmeye başladıklarını belirlemişlerdir [29]. Birincil üretim olan fitoplanktonun kurbağa yavrularının büyümesi için gerekli olduğu ve metamorfozu hızlandığı bildirilmiştir [52]. Yumurtadan çıkan yavruların başlangıçta planktonik alglerle, büyüdükçe zooplanktonlarla beslendikleri anlatılmıştır [1].



Şekil 4.3. Ondört günlük larva, karında hava kabarcıkları ve yeşil bağırsaklar (Orijinal).

Yoğun ölümlerin üstesinden gelebilmek için dezenfeksiyon, antibakteriyel ilaç (enrofloksasin) uygulaması, havuzların temizlenmesi, yem verilmemesi gibi önlemler denenmiş, hiçbirinden olumlu sonuç alınamamıştır. GTH Bakanlığı Kepez Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü teknik personelinin önerisiyle Temmuz ayında havuzlara gübre uygulaması yapılırken sudaki yeşillenmeler ve yavru ölümleri durmuştur. Bu aşamada fakültemiz plankton laboratuvarında su örneklerine yapılan mikroskobik muayenelerle havuzlarda fito-ve zooplankton varlığı saptanmıştır (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Havuz sularında saptanan fito-ve zooplanktonlar¹ (12.07.2017).

Fitoplankton		Zooplankton	
Şube/Sınıf	Tür	Şube/Sınıf	Tür
Chlorophyta (Yeşil Algler)	<i>Anchirodesmus</i> sp.	Ciliophora	<i>Tintinnopsis</i> sp.
	<i>Chlorella</i> sp.	Çift Kabuklu	<i>Sphaerium</i> sp.
	<i>Coelastrum</i> sp.	Yumuşakça	
	<i>Dictyosphaerium</i> sp.	Kabuklular	<i>Daphnia</i> sp.
	<i>Pediastrum</i> sp.	Rotifera	Rotifer
	<i>Oocystis</i> sp.	Euglenozoa	<i>Euglena</i> sp
	<i>Scenedesmus</i> sp.		
	<i>Sphareroecystis</i> sp.		
	<i>Tetrastrum</i> sp.		
Charophyta (Yeşil alg)	<i>Chara</i> sp.		

¹ Işık mikroskobu, Yrd. Doç. Dr. Hilal Kargın, MEÜ. Su Ürünleri Fakültesi, Plankton Laboratuvarı

Ölümlerin ilk görüldüğü tarihten beri gözlemimiz 14-21 günlük larvaların, henüz yem almaya hazır olmadıkları halde havuzlara yem atılması, havuzlarda su akışının olmaması, havuz temizliklerinin yeterli ve uygun şekilde yapılmaması, suda aşırı yeşillenmenin varlığı gibi teknik, bakım ve besleme sorunları ve hava kabarcığı hastalığı nedeniyle öldüğü şeklindedir. Larvalardaki hava kabarcıklarının sebebinin ise sudaki kirlilik ve fazla miktardaki

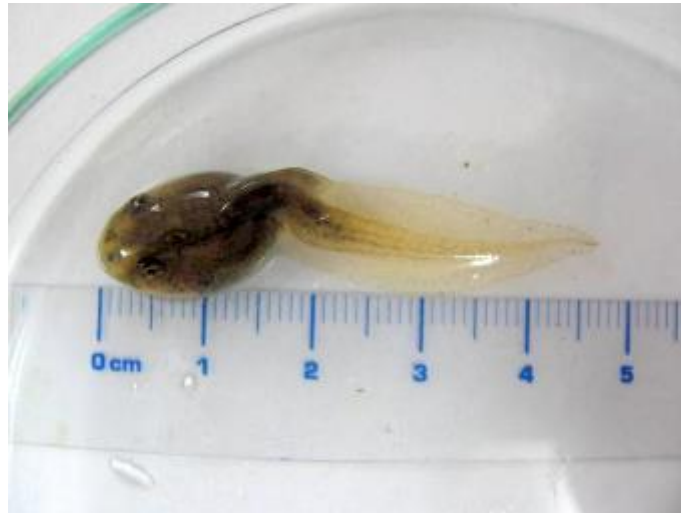
fitoplanktonun, öğleden sonraları güneşin ve sıcaklığın etkisinin de artmasıyla birlikte, çözünmüş oksijen miktarını arttırmasına bağlı olduğu ortadadır. Gübre uygulamasına geçilmesiyle birlikte, ölümlerin durması bu savımızı güçlendirmektedir. Nitekim, Lutz ve Avery (1999) öğleden sonra meydana gelen alg fotosentezi ile ilişkili aşırı oksijen doygunluğunun oluşturduğu gaz kabarcıklarının larvalara zararlı olduğunu bildirmişlerdir [50].

Bacaksız iribaşlarda da karında şişkinlik olguları meydana gelmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Bacaksız iribaşta karında şişkinlik (Orijinal).

Ayrıca omurgada eğrilik gibi belirtilere sahip kurbağa yavruları nadiren de olsa görülmüştür (Şekil 4.5, 4.6).



Şekil 4.5. Bacaksız iribaş, kuyrukta eğrilik (Orijinal).



Şekil 4.6. Dört bacaklı iribaş, omurga eğriliği (Orijinal).

4.3.2. Anaç Kurbağa

Tez süresince anaçlarda nadir olarak hastalık bulgularına rastlanılmıştır. Anaç kurbağalarda eksternal olarak omurga eğriliği (Şekil 4.7, 4.8, 4.10), zayıflık, bacaklarda incelme (Şekil 4.10), özellikle ekstremitelerde irili ufaklı ülseratif yaralar (Şekil 4.9, 4.11), kızarıklık (Şekil 4.8) gibi bulgulara ve bir kurbağanın göğsünün sağ tarafında bir kitleye (Şekil 4.11) rastlanılmıştır.



Şekil 4.7. Omurgada eğrilik (Orijinal).



Şekil 4.8. Sağ bacakta kızarıklık ve omurga eğriliği (Orijinal).



Şekil 4.9. Sağ kolda ülseratif yara (Orijinal).



Şekil 4.10. Sol kolda ülseratif yara, şişkinlik, omurga eğriliği ve bacak kaslarında zayıflık (Orijinal).



Şekil 4.11. Ekstremitelerde ülseratif yaralar, bacaklarda incelme, sağ göğüste kitle (Orijinal).

Otopside az sayıdaki kurbağada kaslarda kanamalar (Şekil 4.12), bir kurbağanın göğsünün sağ tarafında bir kitle (Şekil 4.13), anemi (Şekil 4.13), karaciğerde renk değişiklikleri ve bağırsaklarda yangı (kızarıklık) (Şekil 4.14) tespit edilmiştir.



Şekil 4.12. Ekstremitelerde ülseratif yaralar, sağ göğüste kitle, deri altı görünümü (Orijinal).

Kurbağaların en çok üstünde durulan hastalığı kızılback hastalığıdır. Bakteriyel dermatoseptisemi olarak da bilinen hastalıkta iştahsızlık, uyuşukluk, renkte açılma, peteşiyel kanamalar, ülserler, döküntüler, nekroz, şişlik, özellikle bacak derisinde hiperemi ve ülserler, derialtı ödem nedeniyle bacaklarda şişkinlik, iskelet kaslarında fokal kanamalar; assites, karaciğer ve dalak büyümüş, renkleri değişmiş ve çoklu açık renkli odaklar, iç organlarda kanamalar gibi patolojik belirtiler bildirilmiştir [21, 37, 60, 75]. Araştırmada saptanan bulgular

dermatoseptisemi bulgularını andırsa da, az sayıdaki yetişkin kurbağada görülmesi, bu tür bulguların başka hastalıklara da işaret edebileceği ve salgın şeklinde olmaması spontan gelişen durumlar olduğunu akla getirmektedir.



Şekil 4.13. Ekstremitelerde ülseratif yaralar, sağ göğüste kitle, karaciğer renginde koyulaşma, bağırsaklarda anemi.



Şekil 4.14. Karaciğer renginde koyulaşma, bağırsaklarda yangı.

4.4. Su, Yem ve Kurbağa Örneklerinden İzole Edilen Bakteriler

Tez çalışması kapsamında incelenen tüm örneklerde 32'si Gram negatif basil, 9'u Gram pozitif basil, 9'u Gram pozitif kok ve ikisi mantar olmak üzere toplam 52 türe ait 243 adet izolat saptanmıştır (Ek 1). Bu izolatların 61'i (% 25,1) toplam 30 adet suyun 25'inde (% 83,3) ve 173'ü (% 71,2) toplam 76 adet kurbağa örnekleme sinin 66'sında (% 86,8) ve 9'u (% 3,7) 8 adet yemin

5'inde (% 65) ayırt edilmiştir. İzole edilen 2 adet mantar küflü bir yem örneğinde saptanmıştır. Tezde Gram negatif basillerden *Acinetobacter haemolyticus*, *Aeromonas hydrophila/caviae*, *Ae. sobria*, *Bordetella hinzii*, *Brevundimonas (Pseudomonas) diminuta/vesicularis*, *Burkholderia mallei*, *Chryseobacterium indologenes*, *Citrobacter braakii*, *C. freundii*, *Delftia (Comamonas) acidovorans*, *Edwardsiella tarda*, *Elizabethkingia meningoseptica*, *Enterobacter asburiae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae ozaenae*, *Morganella morganii*, *Pantoea spp.*, *Plesiomonas shigelloides*, *Providencia rettgeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Ps. fluorescens*, *Ps. mendocina*, *Ps. putida*, *Rhizobium (Agrobacterium) radiobacter*, *Salmonella spp.*, *Serratia fonticola*, *S. odorifera*, *Shewanella putrefaciens*, *Sphingomonas (Pseudomonas) paucimobilis*, *Sphingobacterium (Flavobacterium) thalpophilum*, *Stenotrophomonas (Pseudomonas) maltophilia*; Gram pozitif basillerden *Brevibacillus choshinensis*, *Bacillus clausii*, *B. fortis*, *B. cereus/mycoides/thuringiensis*, *B. subtilis/amyloliquefaciens/atrophia*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. smithii* ve *Lysinibacillus sphaericus/fuciformis*; Gram pozitif koklardan *Aerococcus viridans*, *Enterococcus gallinarum*, *Granulicatella adiacens*, *Kocuria kristinae*, *Kocuria rhizophila*, *Kocuria rosea*, *Micrococcus luteus/lylae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus equorum* ve fungal etkenlerden *Penicillium spp.* ve *Cladosporium spp.* tanımlanmıştır (Tablo 4.11-4.23, Ek 1). Bu izolatların birçoğu önceki araştırmalarda gerek yabancı ya da yetiştirilen, gerek sağlıklı ya da hasta kurbağalarda ve su örneklerinde bildirilmiştir (Ek 2). Yapılmış olan literatür taramalarına göre, bu çalışma çerçevesinde su ve/veya kurbağa örneklerinde ilk defa bildirilen izolatlar bulunmaktadır:

Gram negatif basiller (13 adet):

Bordetella hinzii, *Brevundimonas diminuta/vesicularis*, *Burkholderia mallei*, *Delftia acidovorans*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Pseudomonas mendocina*, *Rhizobium radiobacter*, *Serratia fonticola*, *Serratia odorifera*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Sphingobacterium thalpophilum*, *Stenotrophomonas maltophilia*;

Gram pozitif basiller (7 adet):

Bacillus clausii, *B. fortis*, *B. pumilus*, *B. smithii*, *B. subtilis/amyloliquefaciens/atrophia*, *Lysinibacillus sphaericus/fuciformis*;

Gram pozitif koklar (9 adet):

Aerococcus viridans, *Enterococcus gallinarum*, *Granulicatella adiacens*, *Kocuria kristinae*, *K. rhizophila*, *K. rosea*, *Micrococcus luteus/lylae*, *Staphylococcus aureus* ve *Staph. equorum*.

4.4.1. Su Örneklerinde Saptanan Bakteriler

Su örneklerinde saptanmış olan toplam 61 adet izolatın çoğunluğunu *Aeromonas hydrophila/caviae* (7 adet), *Chryseobacterium indologenes* (5 adet), *Sphingomonas paucimobilis*, *Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis*, *Aeromonas sobria* (4 adet) ve *Enterobacter asburiae* (3 adet) teşkil etmektedir (Tablo 4.11, 4.12, Ek 1). Hacıoğlu vd. (2015) *Pelophylax ridibundus*, *Mauremys rivulata* ve *Natrix natrix* türü kurbağaların yakalandığı doğal alanlardaki su örneklerinde bizim bulgularımıza paralel *Aeromonas hydrophila/caviae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Shewanella putrefaciens*; bulgularımızdan farklı olarak *Actinobasillus* sp., *Burkholderia pseudomallei*, *Elizabethkingia meningoseptica*, *Enterobacter gergoviae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Moroxella* sp., *Pasteurella multocida*, *Serratia liqifasciens*, *Serratia rubidaea* ve *Vibrio carchariae* saptamışlardır [34].

4.4.1.1. Çeşme suyu izolatları

Çeşme suyu örneklerinde 14 farklı türden 17 adet izolat saptanmıştır (Tablo 4.11). Çeşme suyunda üreyen bakteriler *Aerococcus viridans*, *Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis*, *Chryseobacterium indologenes*, *Delftia acidovorans*, *Kocuria kristinae*, *Kocuria rhizophila*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *Rhizobium (Agrobacterium) radiobacter*, *Sphingobacterium thalpophilum*, *Sphingomonas paucimobilis* ve *Stenotrophomonas maltophilia* olup, sadece çeşme suyunda saptanmış olan *Rh. radiobacter*, *Sp. thalpophilum*, *St. maltophilia* ve *K. kristinae* hariç tümü diğer havuzların suyunda ve *Ch. indologenes*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. fluorescens*, *Sp. paucimobilis* ve *B. cereus/mycoides/thuringiensis* de kurbağaların farklı başkalaşım dönemlerinde de belirlenmiştir. Avrupa Birliği İçme Suyu Yönergesi (98/83/EC) [23] ve ‘insani tüketim amaçlı sular yönetmeliğine (2013)’ [71] göre, içme sularında *Pseudomonas aeruginosa* bulunmamalıdır. Pseudomonaslar insanlarda göz, kulak, idrar yolu, yanık ve yara enfeksiyonları, menenjit, bronşit, osteomyelit ve septisemi olgularında bildirilmiştir. Hayvanlarda da *P. aeruginosa*’nın mastitis, artiritis, enteritis, pneumonia, peritonitis ve ürogenital sistem enfeksiyonlarına neden olduğu bilinmektedir [54]. Ancak, Hardalo ve Edberg (1997), *P. aeruginosa*’nın doğada yaygın olarak bulunduğunu, insanlarda sadece bazı risk gruplarında hastalık oluşturabildiğini, o nedenle standartlara eklemenin gerekli olmadığını savunmuşlardır [36]. Bu bakterilerin hem kurbağa örneklerinde, hem de havuz sularında bulunması kaynağının çeşme suyu olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.11. Çeşme suyu izolatları.

No	Tarih	İzolat No	İzolat Adı
1	30.03.17	28	<i>Pseudomonas putida</i>
2		29	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
3		1	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
4		T-3	<i>Chryseobacterium indologenes</i>
5	06.04.17	12	<i>Rhizobium (Agrobacterium) radiobacter</i>
6	20.04.17	14	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
7	12.06.17	11	<i>Morganella morganii</i>
8		T-4	<i>Chryseobacterium indologenes</i>
9	30.06.17	2	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
10		4	<i>Kocuria kristinae</i>
11		5	<i>Aerococcus viridans</i>
12		6	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>
13		7	<i>Delftia acidovorans</i>
14	12.07.17	19	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>
15	10.08.17	42	<i>Kocuria rhizophila</i>
16		43	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
17		T-1	<i>Sphingobacterium thalpophilum</i>

T: TYESA'da üreyen koloniler

4.4.1.2. Kurbağa örnekleri havuz suyu izolatları

Anaçlardan genç erişkin kurbağa aşamasına kadar tüm havuz suyu örneklerinde 34 bakteri türüne ait toplam 44 adet izolat tespit edilmiştir (Tablo 4.12).

Bu izolatlardan *Aeromonas hydrophyla/caviae/sobria* 11 adet, *Chryseobacterium indologenes*, *Enterobacter asburiae*, *Sphingomonas paucimobilis* üçer adet, *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens/atrophia*, *Edwardsiella tarda* ve *Citrobacter freundii* ikişer adet, diğer bakteriler ise birer adet izole edilmiştir. Hasta larva havuzu (C/D/E-HS) ve genç erişkin kurbağa havuz sularında saptanan *Citrobacter freundii*'yi aynı havuzlardaki kurbağa örneklerinde de görmek mümkündür. Bu bakterinin sadece bu havuzlarda görülmesi, etkenin kurbağa kaynaklı olduğunu göstermektedir. *Citrobacter* spp., önceki çalışmalarda yetiştirilen *Lithobates catesbeianus*'un bağırsak mikrobiyotasında [16], hasta *Rana dybowskii*'nin iç organlarında [45] ve kızıl bacak hastalığı etkeni olduğu bildirilmiştir [62]. Bu durum, etkenin kurbağalar için fırsatçı patojen olabileceğini akla getirmektedir. Sucul çevrenin doğal bir üyesi olan aeromonaslar [38] da önceki çalışmalarda, özellikle kızıl bacak hastalığı olmak üzere, kurbağaların birçok hastalık olgusunda bildirilmiştir [19, 40, 41, 48, 51, 60]. Yayın ve yılan balıklarının edwardsiellozis etkeni olan *Edwardsiella tarda* [8] da izole edildiği havuz sularındaki genç ve genç erişkin kurbağalarda da bulunmuştur. Genç erişkin havuzunda belirlenen *Salmonella* spp.'nin de *E. tarda* gibi kurbağa kaynaklı olduğu görülmektedir.

Tablo 4.12. Havuz suyu izolatları.

No	Tarih	İzolat No	İzolat Adı
1	30.03.17	AS-22	<i>Providencia rettgeri</i>
2		23	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
3		25	<i>Burkholderia mallei</i>
4		26	<i>Pseudomonas mendocina</i>
5		27	<i>Shewanella putrefaciens</i>
6		4	<i>Chryseobacterium indologenes</i>
7		6	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
8	06.04.17	A2S-14	<i>Aeromonas sobria</i>
9		15	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
10		16	<i>Bacillus subtilis/ amyloliquefaciens/atrophia</i>
11		B2S-19	<i>Aeromonas sobria</i>
12		21	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
13		A3S-25	<i>Bacillus subtilis/amyloliquefaciens/atrophia</i>
14		26	<i>Bordetella hinzii</i>
15		27	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>
16		30	<i>Aeromonas sobria</i>
17		A4S-16	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
18	20.04.17	B4S-17	<i>Serratia fonticola</i>
19		C-HS-18	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
20		D-HS-13	<i>Citrobacter freundii</i>
21		21	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
22	12.06.17	A5S-16	<i>Bacillus megaterium</i>
23		T-2	<i>Chryseobacterium indologenes</i>
24		B5S-12	<i>Staphylococcus aureus</i>
25		13	<i>Pantoea spp.</i>
26	30.06.17	14	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
27		T-3	<i>Chryseobacterium indologenes</i>
28		A6S-13	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
29		B6S-15	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
30	12.07.17	A7S-20	<i>Serratia odorifera</i>
31		21	<i>Enterobacter asburiae</i>
32		B7S-23	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>
33		24	<i>Enterobacter asburiae</i>
34	10.08.17	E-HS-27	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>
35		28	<i>Enterobacter asburiae</i>
36		A8S-59	<i>Edwardsiella tarda</i>
37		60	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
38	12.10.17	A9S-37	<i>Citrobacter braakii</i>
39		38	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
40		39	<i>Salmonella spp.</i>
41		45	<i>Citrobacter freundii</i>
42		46	<i>Edwardsiella tarda</i>
43		47	<i>Bacillus smithii</i>
44		B9S-40	<i>Aeromonas sobria</i>

AS: Anaç havuzu suyu A/B2-9: A ve B havuzu suları T: TYESA'da üreyen koloniler
 C-HS/D-HS/E-HS: Ölümlemler nedeniyle ayrı yavru havuzlardan alınan su örnekleri

4.4.2. Yem Örneklerinde Saptanan Bakteriler

Toplam 8 adet yemin dördünde 5 tür bakteriye ait 7 adet izolat ayırt edilebilmiştir (Tablo 4.13). İşletme çalışanlarının özel üretimi olan pelet yemler oldukça tozlu ve bakımsız bir odada, üstleri açık, hijyenik ve uygun olmayan koşullarda muhafaza edilmektedir. İlk örneklemede alınan yem örneğinde kanlı TSA’da üreyen mantar kolonileri SDA’a subkültür yapılmış (Şekil 4.15), *Penicillium* spp. ve *Cladosporium* spp. olarak tanımlanmışlardır (Kişisel görüşme: Prof. Dr. Feza Otağ). Her iki türün de doğada, kapalı ortamlarda, bitkilerin üzerinde, suda, her yerde çok yaygın olarak bulunduğu bildirilmiştir [11, 64]. Genel olarak bitki bozunumlarına neden olan *Cladosporium* spp.’nin (Şekil 4.16) bazı türlerinin insan patojeni [11]; Penisilin’i üreten mantar olarak bilinen *Penicillium* spp.’nin (Şekil 4.17) bazı türlerinin bağışıklık sistemi sorunu olan bireylerde enfeksiyonlara yol açabildiği, bazı türlerinin ise kanserojen ve nefrotoksik etkili mikotoksin ürettiği bildirilmiştir [64]. Küflü yemde mikotoksin analizi de yapılmış, ancak bulunamamıştır (GTH Bakanlığı, Gıda Kontrol Laboratuvarı, Mersin). Bu mantarların kurbağalardaki etkisi ise bilinmemektedir.

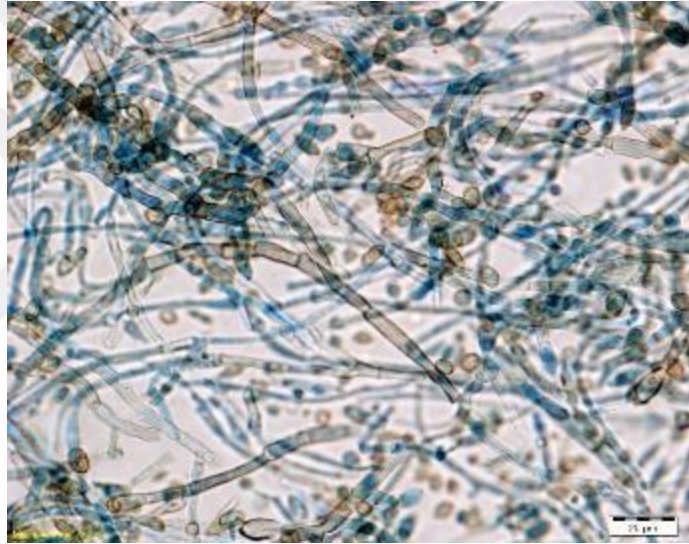
Yemlerde üreyen *Klebsiella pneumoniae ozaenae* dört bacaklı iribaş, *Pantoea* spp. larva havuz suyu; *Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis* yem verilme aşamasında olan yemlenen larva, iribaş, genç kurbağa ve erişkin genç kurbağa ve çeşme, yemlenen larva ve sağlıklı ve hasta iribaş havuzu su örneklerinde; *Bacillus clausii* besin keseli larva ve *Bacillus smithii* de genç erişkin kurbağa örneklerinde de saptanmıştır. Bu veriler, bu bakterilerin yem kaynaklı olabileceği fikrini desteklemektedir. Shadich vd. (2010) *K. pneumonia*’nın *Litoria ewingii* türü kurbağalardaki patojenite testinde deride hemoraji, ülser ve karında kızarıklık oluşturduğunu gözlemlemişler ve etkeni hastalanan kurbağaların kalp, dalak ve karaciğerinden yeniden izole etmişlerdir [72].

Tablo 4.13. Yem izolatları.

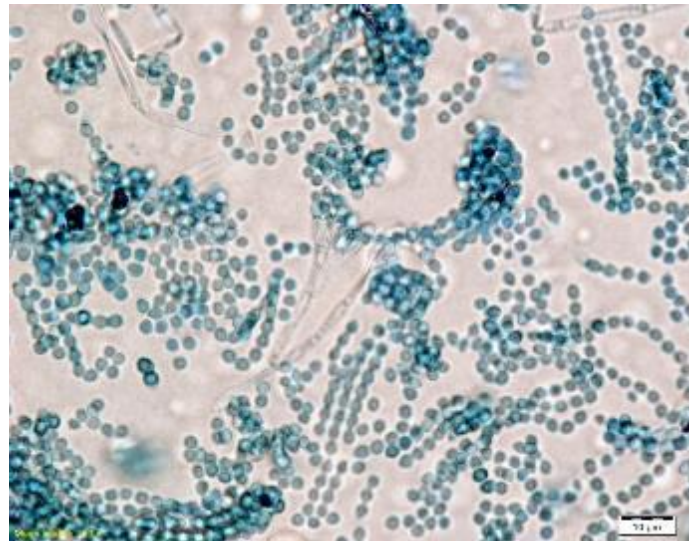
Tarih	İzolat No	İzolat Adı
30.03.17	Yem 1	<i>Penicillium</i> spp. <i>Cladosporium</i> spp.
10.08.17	Yem 5-54	<i>Pantoea</i> spp.
	55	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>
	Yem 6-58	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>
12.10.17	Yem 7-48	<i>Bacillus clausii</i>
	33	<i>Klebsiella pneumoniae ozaenae</i>
	34	<i>Bacillus smithii</i>
	Yem 8-35	<i>Bacillus smithii</i>



Şekil 4.15. Sabouraud Dextrose Agar'da mantar: 2: *Cladosporium* spp. 3: *Penicillium* spp. (Orijinal).



Şekil 4.16. *Cladosporium* spp. (DIC mikroskopi, lakto fenol pamuk mavisi boyama, orijinal).



Şekil 4.17. *Penicillium* spp. (DIC mikroskopi, lakto fenol pamuk mavisi boyama, orijinal).

4.4.3. Kurbağa Örneklerinde Saptanan Bakteriler

4.4.3.1. Anaç izolatları

Araştıma kapsamına alınan anaçlarda herhangi bir hastalık bulgusuna rastlanılmamıştır. On adet anaç kurbağanın 7'sinin karaciğer, akciğer, dalak, kan ve/veya lezyonlardan saptanan 24 adet izolat 7 adet bakteri türünü kapsamaktadır (Tablo 4.14). Anaçlarda *Aeromonas sobria*, *Brevundimonas vesicularis*, *Escherichia coli*, *Granulicatella adiacens*, *Micrococcus luteus/lylae*, *Sphingomonas paucimobilis* ve *Salmonella* spp. saptanmıştır. *Sphingomonas paucimobilis* anaç havuzu suyunda da tespit edilmiştir (Tablo 4.12).

Tablo 4.14. Kurbağa anaç izolatları (30.03.17).

Örnek No	Örnek Türü	İzolat No	İzolat Adı
Anaç 1	Karaciğer	1	<i>Salmonella</i> spp.
	Akciğer	3	<i>Salmonella</i> spp.
		4	<i>Escherichia coli</i>
Anaç 3	Karaciğer	5	<i>Escherichia coli</i>
		6	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>
Anaç 4	Kan	7	<i>Escherichia coli</i>
	Karaciğer	8	<i>Escherichia coli</i>
		9	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
	Akciğer	T-2	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
	Dalak	T-3	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
Anaç 5	Karaciğer	10	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>
Anaç 7	Karaciğer	T-4	<i>Brevundimonas vesicularis</i>
Anaç 8	Lezyon	11	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>
	Karaciğer	12	<i>Aeromonas sobria</i>
		13	<i>Escherichia coli</i>
		14	<i>Granulicatella adiacens</i>
	Kan	15	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>
	Lezyon	17	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>
	Karaciğer	18	<i>Escherichia coli</i>
		T-7	<i>Brevundimonas vesicularis</i>
	Akciğer	20	<i>Escherichia coli</i>
		21	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>
		T-5	<i>Brevundimonas vesicularis</i>
	Kan	6	<i>Brevundimonas vesicularis</i>

T: TYES Agar'da üreyen sarı koloniler

4.4.3.2. Yumurta/embriyo izolatları

Bir yumurta ve üç embriyo örneklemede izole edilen 8 adet bakterinin *Aeromonas hydrophila/caviae*, *Aeromonas sobria*, *Chryseobacterium indologenes* ve *Micrococcus luteus/lylae* türleri olduğu görülmektedir (Tablo 4.15). Yumurta kapları su örneklerinde bakteri izole edilememiştir.

Tablo 4.15. Yumurta/embriyo izolatları (30.03.17).

Örnek No	Örnek Türü	İzolat No	İzolat Adı
Y0		1	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
		2	<i>Aeromonas sobria</i>
E3	Embriyo	4	<i>Chryseobacterium indologenes</i>
		5	<i>Aeromonas sobria</i>
		6	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>
A1	Embriyo	8	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
B1	Embriyo	9	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
		10	<i>Aeromonas sobria</i>

Y0: İlk gün yumurtası E3: 3. gün embriyo A1: A kabı, 4. gün embriyo B1: B kabı, 4. gün embriyo

4.4.3.3. Besin keseli/yemlenen besin keseli larva izolatları

İkişer besin keseli ve yemlenen besin keseli larva örneklemede saptanan 8 adet izolat da 6 türe aittir: *Aeromonas hydrophila/caviae*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Kocuria rhizophila*, *Bacillus clausii*, *B. subtilis/amyloliquefaciens/atropa* ve *B. pumilus* (Tablo 4.16). *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens/atropa* ve larvaların havuz suyunda da saptanmıştır (Tablo 4.12).

Tablo 4.16. Besin keseli/yemlenen besin keseli larva izolatları (06.04.2017).

Örnek No	İzolat No	İzolat Adı
A2	1	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
	2	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>
A3	4	<i>Kocuria rhizophila</i>
	5	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>
B2	7	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>
	8	<i>Bacillus clausii</i>
B3	10	<i>Bacillus subtilis/amyloliquefaciens/atropa</i>
	11	<i>Bacillus pumilus</i>

A2: A2 kabı, besin keseli larva A3: A3 kabı, yemlenen besin keseli larva
B2: B2 kabı, besin keseli larva B3: B3 kabı, yemlenen besin keseli larva

4.4.3.4. Yemlenen larva izolatları

Yemlenen larvalarda 8 türe ait 13 adet izolat tespit edilmiş olup, bunların üçü sağlıklı bireylerden, 10'u hasta larvalardan ayırt edilmiştir. Ancak, hasta larvalarda üreyen *Shewanella putrefaciens* ve *Sphingomonas paucimobilis*'in sağlıklı bireylerde de olduğu görülmektedir (Tablo 4.17). Ayrıca, *Aeromonas hydrophila/caviae* ve *Sphingomonas paucimobilis* bu larvaların havuz suyunda da tespit edilmiştir (Tablo 4.12).

Tablo 4.17. Yemlenen larva izolatları (20.04.17),

Örnek No	Örnek Türü	İzolat No	İzolat Adı
A4	Gövde	1	<i>Shewanella putrefaciens</i>
		19	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
B4	Gövde	2	<i>Delftia (Comamonas) acidovorans</i>
C-HL	Baş	4	<i>Shewanella putrefaciens</i>
		5	<i>Delftia acidovorans</i>
D-HL	Gövde	6	<i>Shewanella putrefaciens</i>
		7	<i>Brevundimonas diminuta/vesicularis</i>
		8	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
	Baş	9	<i>Enterococcus gallinarum</i>
		10	<i>Shewanella putrefaciens</i>
	Gövde	11	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
		12	<i>Shewanella putrefaciens</i>
		20	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>

A4: A4 havuzu, yemlenen larva B4: B4 havuzu, yemlenen larva

C-HL: Ölümler nedeniyle ayrı yavru havuzundan alınan larvalar

D-HL: Ölümler nedeniyle ayrı yavru havuzundan alınan larvalar

4.4.3.5. Bacaksız iribaş izolatları

Bacaksız iribaşların başlarında 7 farklı türden 7 adet bakteri belirlenmiş, gövdede üreyenler identifiye edilememiştir (Tablo 4.18). *Bacillus megaterium* bacaksız iribaş A5 havuz suyunda da saptanmıştır.

Tablo 4.18. Bacaksız iribaş izolatları (12.06.2017).

Örnek No	Örnek Türü	İzolat No	İzolat Adı
A5	Baş	1	<i>Bacillus megaterium</i>
		3	<i>Pseudomonas putida</i>
		4	<i>Morganella morganii</i>
B5	Baş	6	<i>Shewanella putrefaciens</i>
		7	<i>Bacillus subtilis/ amyloliquefaciens/atrophia</i>
		8	<i>Morganella morganii</i>
		9	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>

A5: A5 havuzu, bacaksız iribaş B5: B5 havuzu, bacaksız iribaş

4.4.3.6. Bacaksız/arka bacaklı/dört bacaklı iribaş izolatları

30.06.17 tarihinde yapılan iribaş örneklemelerinde aynı havuzda bacaksız, arka bacaklı ve dört bacağı da çıkmış iribaşların olduğu görülmüştür. Bunun nedeni, larval dönemdeki ölümler nedeniyle, işletme çalışanlarının havuzlara yeni larvalar eklemeleridir. Bu iribaşlarda üreyen 14 adet bakteri izolatının 9 türe ait olduğu anlaşılmıştır (Tablo 3.19). *Aerococcus viridans*, *Sphingomonas paucimobilis* ve *Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis* aynı tarihli çeşme suyunda da belirlenmiştir (Tablo 4.11). İribaşların gövde ve/veya başında saptanan *Aeromonas hydrophila* her iki iribaş havuz suyunda da tespit edilmiştir (Tablo 4.12). Ayrıca yemde saptanmış olan *Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis* ve *Klebsiella pneumoniae ozaenae* izolatlarını da iribaşlarda görmek mümkündür. Yem, su ve kurbağa izolatlarının paralelliği beklenen bilimsel bir gerçekliktir.

Tablo 4.19. Bacaksız/arka bacaklı/dört bacaklı iribaş izolatları (30.06.2017).

Örnek No	Örnek Türü	İzolat No	İzolat Adı
A6 AB	Baş	9	<i>Aerococcus viridans</i>
	Gövde	11	<i>Aeromonas hydrophila</i>
		12	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>
A6 DB	Gövde	17	<i>Aeromonas hydrophila</i>
		18	<i>Klebsiella pneumoniae ozaenae</i>
		19	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>
		20	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
		24	<i>Aeromonas hydrophila</i>
B6	Gövde	25	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
		26	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>
		28	<i>Bacillus fortis</i>
	Baş	29	<i>Lysinibacillus sphaericus/fuciformis</i>
		30	<i>Aeromonas hydrophila / caviae</i>
		32	<i>Aeromonas sobria</i>

A6: A6 havuzu, iribaşları B6:B6 havuzu, bacaksız iribaş AB: Arka bacaklı iribaş DB: Dört bacaklı iribaş

4.4.3.7. Arka bacaklı/dört bacaklı iribaş/genç kurbağa izolatları

Temmuz ayı örneklemede de 3 farklı gelişme basamağındaki iribaş örnekleri alınmış ve 8 türü içeren 15 adet izolat izole edilmiştir. Bir arka bacaklı iribaş örneğinden farklı 3 adet, iki dört bacaklı iribaş örneğinden 4 farklı türde 6 adet, iki genç kurbağada farklı 3 adet ve bir hasta iribaşta 2 adet farklı izolat tespit edilmiştir (Tablo 4.20). *Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis* çeşme (Tablo 4.11) ve havuz suyunda (Tablo 4.12) da saptanmıştır. Hasta bacaksız iribaşta belirlenen *Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis* ve *Micrococcus luteus/lylæi* diğer sağlıklı bireylerde de görülmektedir. *Citrobacter freundii* havuz gübrelemesinin ardından ilk defa görülmesi dikkat çekicidir. Nitekim, doğada yaygın olarak bulunan bu etken, insan ve hayvanların dışkılarında bulunan koliform bakterilerden biridir [38].

Tablo 4.20. Arka bacaklı/dört bacaklı iribaş/genç kurbağa izolatları (12.07.2017).

Örnek No	Örnek Türü	İzolat No	İzolat Adı
A7-DB	Baş	1	<i>Aeromonas sobria</i>
	Gövde	4	<i>Aeromonas sobria</i>
		5	<i>Shewanella putrefaciens</i>
A7-GK	Baş	6	<i>Aeromonas sobria</i>
		7	<i>Citrobacter freundii</i>
	Gövde	8	<i>Citrobacter freundii</i>
B7-AB	Baş	9	<i>Shewanella putrefaciens</i>
		11	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>
	Gövde	10	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>
B7-DB	Baş	12	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>
		13	<i>Citrobacter freundii</i>
		14	<i>Shewanella putrefaciens</i>
B7-GK	Gövde	15	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>
E-Hİ	Baş	16	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>
	Gövde	17	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>

A7: A7 havuzu, arka/dört bacaklı iribaş/genç kurbağa

AB: Arka bacaklı iribaş

B7: B7 havuzu, arka/dört bacaklı iribaş /genç kurbağa

DB: Dört bacaklı iribaş

E-Hİ: Hasta bacaksız iribaş, diğer havuzlardan

GK: Genç kurbağa

4.4.3.8. Dört bacaklı/genç kurbağa örnekleri izolatları

Ağustos örneklemesinde de dört bacaklı iribaş ve genç kurbağalardan 7 türü kapsayan 46 adet izolat belirlenmiştir. A havuzundaki bir adet dört bacaklı iribaşta 2 adet *Edwardsiella tarda* ve 8 adet genç kurbağa örneğinde 14 adet *Edwardsiella tarda*, bir *Citrobacter freundii*, iki *Staphylococcus equorum* ve 2 adet *Aeromonas sobria* izolatu tespit edilmiştir. B havuzundaki bir adet dört bacaklı iribaşta ise 2 adet *Citrobacter freundii* ve 10 adet genç kurbağa örneğinde 17 adet *Citrobacter freundii*, bir *Kocuria rosea*, bir *Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis* ve iki adet *Aeromonas sobria* izolatu belirlenmiştir. A havuzunda *Edwardsiella tarda* ve B havuzunda da *Citrobacter freundii*'nin baskın olması ilginç bir durumu sergilemektedir (Tablo 4.21). Balıklarda edwardsiellozis ya da balık gangreni olarak bilinen hastalığa neden olan *Edwardsiella tarda* zoonotik bir etken olup, insan, diğer memeliler, sürüngenler ve amfibilerde de enfeksiyonlara neden olabildiği bildirilmiştir. Etken, insan ve hayvanların dışkısında bulunmaktadır [38]. Etkeni havuz suyunda (Tablo 4.12) da görmek mümkündür.

Tablo 4.21. Dört bacaklı/genç kurbağa örnekleri izolatları (10.08.2017).

Örnek No	Örnek Türü	İzolat No	İzolat Adı
A8-DB	Baş	52	<i>Edwardsiella tarda</i>
	Gövde	53	<i>Edwardsiella tarda</i>
A8G-1	Baş	29	<i>Citrobacter freundii</i>
		30	<i>Edwardsiella tarda</i>
A8G-2	Gövde	31	<i>Edwardsiella tarda</i>
	Baş	33	<i>Edwardsiella tarda</i>
A8G-3	Gövde	34	<i>Edwardsiella tarda</i>
	Baş	3	<i>Edwardsiella tarda</i>
A8G-4	Baş	37	<i>Staphylococcus equorum</i>
	Gövde	39	<i>Edwardsiella tarda</i>
A8G-5		40	<i>Edwardsiella tarda</i>
		41	<i>Staphylococcus equorum</i>
A8G-7	Gövde	42	<i>Edwardsiella tarda</i>
	Baş	43	<i>Edwardsiella tarda</i>
A8G-8	Gövde	44	<i>Edwardsiella tarda</i>
	Baş	45	<i>Edwardsiella tarda</i>
A8G-9	Baş	46	<i>Aeromonas sobria</i>
	Gövde	47	<i>Edwardsiella tarda</i>
B8-DB		48	<i>Edwardsiella tarda</i>
	Baş	50	<i>Aeromonas sobria</i>
B8G-1	Gövde	51	<i>Edwardsiella tarda</i>
	Baş	27	<i>Citrobacter freundii</i>
B8G-2		28	<i>Citrobacter freundii</i>
	Gövde	1	<i>Citrobacter freundii</i>
B8G-3	Baş	2	<i>Kocuria rosea</i>
	Gövde	3	<i>Citrobacter freundii</i>
B8G-4		4	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>
	Baş	6	<i>Citrobacter freundii</i>
B8G-5	Gövde	7	<i>Citrobacter freundii</i>
	Baş	9	<i>Citrobacter freundii</i>
B8G-6	Gövde	10	<i>Citrobacter freundii</i>
	Baş	61	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
B8G-7	Gövde	62	<i>Citrobacter freundii</i>
	Baş	63	<i>Citrobacter freundii</i>
B8G-8	Gövde	64	<i>Citrobacter freundii</i>
	Baş	11	<i>Aeromonas sobria</i>
B8G-9	Gövde	13	<i>Citrobacter freundii</i>
	Baş	14	<i>Citrobacter freundii</i>
B8G-10	Gövde	16	<i>Citrobacter freundii</i>
	Baş	17	<i>Aeromonas sobria</i>
	Gövde	18	<i>Citrobacter freundii</i>
	Baş	19	<i>Citrobacter freundii</i>
	Gövde	21	<i>Citrobacter freundii</i>
	Baş	23	<i>Citrobacter freundii</i>
	Gövde	25	<i>Citrobacter freundii</i>
	Baş	26	<i>Citrobacter freundii</i>

A8G: A8 havuzu, genç kurbağa B8G: B8 havuzu, genç kurbağa DB: Dört bacaklı iribaş

4.4.3.9. Genç erişkin kurbağa örnekleri izolatları

On adet genç erişkin kurbağanın karaciğer, akciğer ve/veya kan örneklerinde de 5 türe ait 14 adet izolat belirlenmiştir (Tablo 4.22). Bu örneklerde ise *Salmonella* spp. baskın türü meydana getirmiştir. Etken havuz suyunda da belirlenmiştir (Tablo 4.12). *Salmonella* spp.'nin sadece anaç ve genç erişkin formlarda görülmesi dikkat çekicidir. Sadece iki türü ve 2500'den fazla serotipi bulunan *Salmonella*'nın [49] neredeyse tüm türleri insanlar için patojendir ve basit mide-bağırsak rahatsızlıklarından ölüme varan ciddi enfeksiyonlara sebebiyet vermektedir [38]. Doğada, insan, sıcakkanlı ve soğukkanlı hayvanların bağırsaklarında bulunan etkenin sucül canlılar için patojen olmadığı, sadece taşıyıcı oldukları bilinmektedir [77]. Bu tez çalışmasında *Salmonella* izolasyonuna yönelik standart teknikler kullanılmadığı halde, özellikle genç erişkin ve anaçlar kurbağalarda çok sayıda *Salmonella* spp. üremiş olması dikkat çekici bir durumdur.

Tablo 4.22. Genç erişkin kurbağa örnekleri izolatları (12.10.2017).

Örnek No	Örnek Türü	İzolat No	İzolat Adı
A9-1	Karaciğer	1	<i>Salmonella</i> spp.
A9-2	Karaciğer	2	<i>Salmonella</i> spp.
		4	<i>Bacillus cereus/mycoides/ thuringiensis</i>
A9-3	Karaciğer	7	<i>Salmonella</i> spp.
A9-6	Karaciğer	9	<i>Salmonella</i> spp.
	Akciğer	10	<i>Salmonella</i> spp.
A9-7	Akciğer	11	<i>Salmonella</i> spp.
	Karaciğer	12	<i>Salmonella</i> spp.
A9-8	Karaciğer	13	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
A9-9	Karaciğer	14	<i>Salmonella</i> spp.
	Kan	16	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
A9-10	Karaciğer	17	<i>Salmonella</i> spp.
B9-3	Karaciğer	19	<i>Micrococcus luteus/ lylae</i>
B9-4	Akciğer	20	<i>Brevibacillus choshinensis</i>

A9: A9 havuzu, genç erişkin kurbağa

B9: B9 havuzu, genç erişkin kurbağa

4.4.3.10. Hasta anaç kurbağa örnekleri izolatları

Hasta anaçların dördünde de akciğer, karaciğer, kan ve/veya lezyonlardan izole edilen 10 adet izolatın 7 tür bakteri olduğu saptanmıştır (Tablo 4.23). Örneklerin akciğer, karaciğer ve kanında sırasıyla *Micrococcus luteus/lylae*, *Kocuria rhizophila*; *Salmonella* spp., *Micrococcus luteus/lylae*; *Elizabethkingia meningoseptica* izole edilirken, lezyonlarda *Klebsiella oxytoca*, *Aeromonas hydrophila/caviae* ve *Chryseobacterium indologenes* bulunmuştur.

Tablo 4.23. Hasta anaç kurbağa izolatları (12.10.17).

Örnek No	Örnek Türü	İzolat No	İzolat Adı
H-AK 1	Akciğer	21	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>
		22	<i>Kocuria rhizophila</i>
	Lezyon	23	<i>Klebsiella oxytoca</i>
H-AK 2	Akciğer	24	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>
	Karaciğer	25	<i>Salmonella</i> spp.
H-AK 3	Lezyon	28	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
		29	<i>Chryseobacterium indologenes</i>
	Akciğer	30	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>
H-AK 4	Karaciğer	31	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>
	Kan	32	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>

H-AK: Hasta anaç kurbağa

Yetiştiriciliği yapılan sağlıklı Amerika boğa kurbağası (*Lithobates catesbeianus*) bağırsaklarından bugüne kadar bildirilmiş olan *Acinetobacter haemolyticus*, *Aeromonas hydrophila/caviae* [16, 60], *Citrobacter freundii* [16], *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Plesiomonas shigelloides*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis* ve *Micrococcus* sp. [16] bizim kurbağa bulgularımızda (Ek 2) da mevcuttur. Ülkemizde yaban kurbağa ağız ve kloaka sürüntüleri üzerine yapılmış olan araştırmalarda izole edilmiş olan *Aeromonas hydrophila/caviae*, *Citrobacter freundii* [33, 34], *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae ozaenae* [33] ve *Salmonella* spp. [34] ortak bulgularımızdır. Taylor vd. (2001) bizim kurbağa ya da su bulgularımız arasında yer alan *Enterobacter* sp., *Escherichia coli*, *Klebsiella ozaenae*, *Plesiomonas shigelloides*, *Salmonella* spp., *Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis*, *Bacillus megaterium*, *Micrococcus* sp. ve *Staphylococcus* spp. türlerinin amfibilerin normal mikrobiyotasında yer almaları nedeniyle genellikle patojen olmadığını bildirmişlerdir. Yine de, bu bakterilerden herhangi birinin kan ya da selömik (karın boşluğu ile ilgili) sıvıda ya da çok yüksek oranlarda saptanması durumunda hastalığı meydana getiren etkenlerden biri olabileceği düşünülmesi gerektiği vurgulanmıştır [75]. Nitekim, *Acinetobacter* sp. [45], *Aeromonas hydrophila/caviae* [19, 40, 41, 51], *Aeromonas* sp. [48], *Chryseobacterium indologenes*, *Citrobacter braakii*, *Edwardsiella tarda* [51], *Enterobacter* sp., *Escherichia coli* [61] ve *Pseudomonas* sp. [48, 51] türlerinin hasta kurbağalardan izole edildiği bildirilmiştir. Bunlara karşın Schadich vd. (2010), *Litoria ewingii* üzerinde yapmış oldukları patojenite testinde *Aeromonas hydrophila/caviae* ve *Klebsiella pneumoniae ozaenae* zararsız olduğunu saptamışlardır [72]. Zaten, doğal suların normal mikrobiyotasında yer alan *Aeromonas hydrophila/caviae*'nin primer patojen özelliği uzun yıllardır tartışma konusu olup, daha çok sekonder enfeksiyonlara neden olduğu düşünülmektedir [8].

Yara, ülser ve nekroz gibi yüzeysel enfeksiyonlarda genellikle saptandığı bildirilen *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Citrobacter*, *Providencia* ve *Pseudomonas* türleri [75] bu tez

araştırmasında da izole edilmiştir. Ancak lezyonlardan yapılan izolasyonlarda *Aeromonas hydrophila/caviae*, *Aeromonas sobria*, *Chryseobacterium indologenes* ve *Micrococcus lylae* bulunmuştur.

Kızılacak hastalığına dair herhangi ciddi bir bulguya rastlanılmamış olmasına rağmen, etyolojik ajan olarak önceki araştırmalarda bildirilen *Aeromonas hydrophila* [19, 40, 41, 51, 72], *Edwardsiella tarda*, *Chryseobacterium indologenes*, *Pseudomonas* spp. [51] ve *Klebsiella pneumoniae* [72] etkenleri bu araştırmada da belirlenmiştir. Ancak, bu bulguların sadece bu hastalığa özgü olmayıp, diğer bazı bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlarda da görülebildiği vurgulanmıştır [21, 37, 75].

Kızılacak hastalığı herhangi bir belirti görülmeden ya da çok az belirti ile ani ölümlere de yol açabilirken [21], *Klebsiella pneumoniae*'nin % 40 oranında morbidite ve mortaliteye yol açtığı bildirilmiştir [72]. Her başkalaşım aşamasında görülebilen hastalığa iribaşların daha duyarlı olduğu belirtilmiştir [60]. Aydıncık kurbağa işletmesinde larval aşamada % 80'leri geçen ölümlerde tüm bu bakterilerin etkisi göz ardı edilmemeli, ancak, ölümlere bakım ve besleme ile ilgili tecrübesizliğin yol açtığı göz önünde bulundurulmalıdır.

Hastalık bugüne kadar Afrika pençeli kurbağası (*Xenopus laevis*), Kuzey leopar kurbağası (*Rana pipiens*), Kuzey kriket (Cırcırböceği) kurbağası (*Acris crepitans*), Dev karakurbağası (*Bufo marinus*) [75], Amerikan boğa kurbağası (*Rana catesbeiana*) [51, 60, 61, 75], Güney kahverengi ağaç kurbağası (*Litoria ewingii*) [72], Hint boğa kurbağası (*Rana tigrina*) [40] türlerinde bildirilmiş, *Pelophylax* spp. ve/veya Levanten kurbağası (*Pelophylax bedriagae*) ile ilgili herhangi bir yayına rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada bacaksız iribaş havuzunda (*Staphylococcus aureus*) ve genç kurbağa (*Staphylococcus equorum*) örneğinde saptanmış olan *Staphylococcus* türlerinin yetiştiriciliği yapılan Boğa kurbağalarında genel ödem ve dönme hastalıklarına yol açtığı bildirilmiştir [27].

4.5. İzolatların Antibakteriyel İlaç Duyarlılıkları ve MAR Endeks Değerleri

4.5.1. İzolatların Antibakteriyel İlaç Duyarlılıkları

İzole edilmiş olan 50 farklı türü kapsayan (2 mantar izolatu hariç) 241 adet izolattan 72 adedine 15 farklı ilacın antibakteriyel duyarlılık testleri yapılmıştır (Ek 3, 4, 5). Test sonuçlarına göre izolatların antibakteriyel ilaçlara olan toplam dirençlilik oranları sırasıyla linkomisin (% 98,6), penisilin (% 81,9), klindamisin (% 75), amoksisilin (% 65,3), vankomisin (% 63,9), eritromisin (% 50), neomisin (% 26,4), streptomisin (% 25), sulfametoksazol trimetoprim (%)

23,6), oksitetrasiklin (% 23,6), florfenikol (% 20,8), gentamisin (% 14,3), ofloksasin (% 4,2), doksisiklin (% 4,2) ve enrofloksasin (% 1,4)'dir (Tablo 4.24).

Tablo 4.24. Antibakteriyel ilaçların izolat gruplarına göre dirençlilik ve duyarlılık oranları.

	Gr-Basil		Gr+Basil		Gr+Kok		Toplam	
	H	D	H	D	H	D	H	D
	%		%		%		%	
Linkomisin	0	100	6,7	93,3	0	100	1,4	98,6
Penisilin	2,2	97,8	26,7	66,7	50	41,7	15,3	81,9
Amoksisilin	24,4	75,6	40	60	66,7	33,3	34,7	65,3
Klindamisin	4,4	91,1	40	53,3	41,7	41,7	18,1	75,0
Vankomisin	6,7	91,1	86,7	6,7	33,3	33,3	27,8	63,9
Eritromisin	6,7	68,9	26,7	13,4	33,3	33,3	13,9	50,0
Neomisin	35,6	31,1	80	0	33,3	41,7	44,4	26,4
Streptomisin	44,4	31,1	73,3	20	58,3	8,3	52,8	25,0
SXT	75,6	22,2	66,7	33,3	83,3	16,7	75,0	23,6
Oksitetrasiklin	31,1	33,3	73,3	6,7	66,7	8,3	45,8	23,6
Florfenikol	68,9	26,7	93,3	6,7	75	16,7	75,0	20,8
Gentamisin	73,3	20,0	93,3	0	66,7	16,7	77,1	14,3
Ofloksasin	93,3	4,4	80	0	75	8,3	87,5	4,2
Doksisiklin	86,7	6,6	93,3	0	100	0	90,3	4,2
Enrofloksasin	97,8	0	100	0	83,3	8,3	95,8	1,4

H: Duyarlılık D: Dirençlilik SXT: Sulfametoksazol trimetoprim

4.5.2. İzolatların MAR Endeks Değerleri

İzolatların MAR endeksi değerleri 0,13-0,73 arası değişmektedir. Bu oran Gram negatif basiller için 0,27-0,73 (Tablo 4.25, Ek 7), Gram pozitif basiller için 0,13-0,25 (Tablo 4.26, Ek 8) ve Gram pozitif koklar için 0,15-0,47 arasındadır (Tablo 4.27, Ek 9). MAR endeks değerinin 0,2'den daha az olması tedavilerde nadiren kullanılan veya hiç kullanılmayan antibiyotikleri belirtirken, 0,2'den daha büyük değerler hayvanların bu antibiyotiklere yüksek oranda maruz kalmış olduklarını gösterdiği bildirilmiştir [48]. Ancak, tesiste tez süresince sadece larval aşamada kullanılan enrofloksasin dışında herhangi bir antibakteriyel ilaç uygulaması yapılmamıştır. Enrofloksasin'e 12 adet Gram pozitif koktan sadece *Kocuria kristinae* dirençli, *Enterococcus gallinarum* kısmî duyarlı ve 45 adet Gram negatif basilden *Pseudomonas putida* kısmî duyarlı, geri kalan 69 izolat duyarlılık göstermiştir (Ek 7). Bu durum, tesiste uygulanan enrofloksasin'in bakterilerde direnç geliştirmedeğinin kanıtıdır. Ayrıca, MAR endeks değeri en düşük Gram pozitif basillerde, en yüksek Gram negatif basillerde belirlenmiştir (Ek 7, 8, 9).

Tablo 4.25. Gram negatif basillerin direnç, duyarlılık ve MAR endeks değerleri.

No	İzolat adı	İS	D	O	H	% D	% H	MAR
1	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	1	8	1	6	53,3	40	0,53
2	<i>Aeromonas</i> spp.	10	67	15	68	44,7	45,3	0,45
3	<i>Bordetella hinzii</i>	1	6	1	8	40	53,3	0,4
4	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	1	12	0	3	80	20	0,8
5	<i>Citrobacter</i> spp.	2	13	4	13	43,3	43,3	0,43
6	<i>Delftia acidovorans</i>	1	6	2	7	40	46,7	0,4
7	<i>Edwardsiella tarda</i>	1	5	1	9	33,3	60	0,33
8	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	1	8	2	5	53,3	33,3	0,53
9	<i>Enterobacter asburiae</i>	1	6	1	8	40	53,3	0,4
10	<i>Escherichia coli</i>	2	12	1	17	40	56,7	0,4
11	<i>Klebsiella</i> spp.	2	8	3	19	26,7	63,3	0,27
12	<i>Morganella morganii</i>	1	5	2	8	33,3	53,3	0,33
13	<i>Pantoea</i> spp.	2	8	5	17	26,7	56,7	0,27
14	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1	7	2	6	46,7	40	0,47
15	<i>Providencia rettgeri</i> *	1	8	1	6	53,3	40	0,53
16	<i>Pseudomonas</i> spp.	6	55	7	28	61,1	31,1	0,61
17	<i>Salmonella</i> spp.	5	36	11	28	48	37,3	0,48
18	<i>Serratia</i> spp.	2	13	2	15	43,3	50	0,43
19	<i>Shewanella putrefaciens</i>	1	5	1	9	33,3	60	0,33
20	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	8	3	4	53,3	26,7	0,53
21	<i>Sphingobacterium thalpophilum</i>	1	8	2	5	53,3	33,3	0,53
22	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	11	0	4	73,3	26,7	0,73
Toplam MAR		45	315	67	293	46,7	43,4	0,47
<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)		1	6	0	9	40	60	0,4

H: Duyarlılık D: Dirençlilik M: MAR endeksi T: Toplam İS: İzolat sayısı

Tablo 4.26. Gram pozitif basillerin direnç, duyarlılık ve MAR endeks değerleri.

No	İzolat adı	İS	D	O	H	% D	% H	MAR
1	<i>Bacillus</i> spp.	13	49	23	123	25,1	63,1	0,25
2	<i>Brevibacillus choshinensis</i>	1	2	1	12	13,3	80	0,13
3	<i>Lysinibacillus sphaericus/fuciformis</i>	1	3	0	12	20	80	0,2
Toplam MAR		15	54	24	147	24	65,3	0,24

H: Duyarlılık D: Dirençlilik M: MAR endeksi T: Toplam İS: İzolat sayısı

Tablo 4.27. Gram pozitif kokların direnç, duyarlılık ve MAR endeks değerleri.

No	İzolat adı	İS	D	O	H	% D	% H	MAR
1	<i>Aerococcus viridans</i>	1	3	2	10	20	66,7	0,2
2	<i>Enterococcus gallinarum</i>	1	3	5	7	20	46,7	0,2
3	<i>Granulicatella adiacens</i>	1	7	1	7	46,7	46,7	0,47
4	<i>Kocuria</i> spp.	3	18	10	17	40	37,8	0,4
5	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>	4	9	7	44	15	73,3	0,15
6	<i>Staphylococcus</i> spp.	2	8	4	18	26,7	60	0,27
Toplam MAR		12	48	29	103	26,7	57,2	0,27
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC29212)		1	5	2	8	33,3	53,3	0,33
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)		1	1	1	13	6,6	86,6	0,06

H: Duyarlılık D: Dirençlilik M: MAR endeksi T: Toplam İS: İzolat sayısı

Lee vd. (2009) yetiştiriciliği yapılan *Rana catesbeiana* iç organlarından saptadıkları *Aeromonas* spp., *Edwardsiella* spp., *Flavobacterium* spp. ve *Vibrio* spp. izolatlarına 21 antibiyotiğe karşı uygulanan antibakteriyel ilaç testi sonucunda % 57,3'ünde duyarlılık, % 7,3'ünde kısmi duyarlılık ve % 35,4'ünde dirençlilik saptamışlardır. *Aeromonas* spp. ve *Edwardsiella* spp. izolatları için, bizim de kullanmış olduğumuz antibakteriyel ilaçlardan sırasıyla linkomisin (% 90-95), amoksisilin (% 72,5-80), oksitetrasiklin (% 70-75), eritromisin (% 65-75), sulfametoksazol (% 47,5-42,5), doksisiklin (% 47,5-50) ve florfenikol'e (% 10-0) dirençli; MAR endeks değeri de 0,27 ve 0,31 bulunmuştur [48]. Tez araştırmasında antibakteriyel ilaç duyarlılık testine tabi tutulmuş olan 10 adet *Aeromonas* spp. izolatının MAR değeri 0,45; bir adet *Edwardsiella tarda*'nın ise 0,33 olup, Lee vd. (2009) bulgularına benzer olup, 0,2'nin üzerindedir (Tablo 4.25). Bizim bulgularımızda da linkomisin sadece *Aeromonas* spp. ve *Edwardsiella* spp. değil, Gram pozitif basiller hariç (% 93,3) tüm izolatlarda %100 dirençli bulunmuştur. Aynı bulguyu Tee ve Naijah (2011)'in sonuçlarında da görmek mümkün olup, yetiştiriciliği yapılan *Lithobates catesbeianus*'lardan izole ettikleri 17 adet bakteri türüne yaptıkları antibiyogram testinde linkomisin (% 92) tüm izolatlar karşı dirençli bulunurken, florfenikol ve doksisiklin'i en duyarlı antibakteriyel ilaçlar olarak belirlemişlerdir. Araştırma bulgularımızda da doksisiklin (% 90,3) ve florfenikol'ün (% 75) genel duyarlılık oranları yüksek bulunmuştur (Tablo 4.24) [76].

Huang vd. (2010) *Rana tigrina*'dan izole edilen *Aeromonas hydrophila* suşlarının enrofloksasin, florfenikol, ofloksasin, streptomisin'e duyarlı; amoksisilin, klindamisin, penisilin ve vancomisin'e orta duyarlı ya da dirençli bulmuşlardır [40]. Bizim bulgularımıza göre 10 adet *Aeromonas* spp. izolatının sırasıyla tetrasiklin, gentamisin, ofloksasin, sulfametoksazol trimetoprim, florfenikol, doksisiklin, enrofloksasin'e duyarlı (%60-100), neomisin, streptomisin, eritromisin, ve orta dirençli (% 20-40) ve eritromisin, amoksisilin, klindamisin, linkomisin, penisilin ve vankomisin'e dirençli (% 50-100) olarak belirlenmiştir (Ek 7).

Ülkemizde doğadan yakalanan kurbağaların ve içinde yaşadıkları suyun mikrobiyotasına yönelik araştırmalarda Hacıoglu and Tosunoglu (2014) [33] ve Hacıoglu vd. (2015) [34] izole ettikleri Gram negatif bakterilere antibiyogram ve MAR endeksi hesaplaması da yapmışlardır. Hacıoglu ve Tosunoglu (2014) Gram negatif izolatlar için dirençliliği genel olarak % 6,53-46,60 arası saptarken [33], bu oranları yaklaşık olarak eritromisin için % 35, amoksisilin için % 28, oksitetrasiklin % 19 ve gentamisin için % 6 olarak bildirilmişlerdir. Yine Hacıoglu vd. (2015) başka bir bölgede yürüttükleri bir yıl sonraki araştırmada aynı ilaçların dirençlilik yaklaşık oranlarını sırasıyla % 60-85, % 50-80, % 25-55 ve % 10-20 olarak belirlemişlerdir [34]. Gram negatif basiller için sonuçları ise sırasıyla % 68,9, % 75,6, % 33,3 ve % 20 (Ek 6) olup, Hacıoglu ve Tosunoglu (2014) değerlerinden daha yüksek, ancak Hacıoglu vd.

(2015) verileriyle uyum halindedir. Bu farklılıkların kurbağa türlerinin, yaşama alanları ve koşullarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülebilmektedir.

Hacıoglu ve Tosunoglu (2014) bakteri türlerinin çoklu antibiyotik direnç katsayısının 0-0,58 arasında değiştiğini, *Aeromonas* sp., *Pseudomonas* sp. ve *Providencia* sp. için 0,2'nin üzerinde, *Plesiomonas shigelloides*, *E. coli*, *Klebsiella* sp., *Proteus* sp., *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp. ve *Hafnia* sp. için 0,2'nin altında kaldığını bildirmişlerdir. Bu sonuçların, antibiyotiklere karşı yüksek oranda dirençli görünen sürüngen ve amfibilerin iç organlarındaki bakterilerin sucul hayvan ve halk sağlığını tehdit edebileceğini gösterdiğini bildirmişlerdir [33]. Sağlıklı bireylerde saptanan izolatların kurbağaların normal mikrobiyotası içinde yer aldığı görüşünü güçlendirse de, özellikle antibakteriyel ilaçlara direnci yüksek, fırsatçı patojen ve/veya patojen bakterilerin insan sağlığı için de risk oluşturabileceğini göstermektedir.



5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Dünyada kurbağaya gittikçe artan talebin doğadan avlanarak karşılanamaması nedeniyle, yetiştiricilik faaliyetleri 1960'lı yıllardan sonra hız kazanmıştır. Ancak, yetiştiricilik faaliyetlerinin tüm hayvanlarda olduğu gibi büyük kayıplara yol açması nedeniyle, kurbağalarda da hastalıklara dikkat etmeyi zorunlu kılmıştır.

Son 10 yıldır ülkemizde, özellikle Avrupa ülkelerinin ilgi gösterdiği yenilebilir kurbağa türlerinin yetiştiricilik yoluyla üreten işletmeler bulunmaktadır. Yapılan incelemeler bu işletmelerde yarı entansif yetiştiriciliğin yapıldığı, tam entansif yetiştiriciliğin henüz deneme aşamasında olduğunu göstermiştir. Mersin ili Aydıncık ilçesi elemanları tarafından yürütülmekte olan entansif kurbağa yetiştiricilik projesinde sürecinde ise birçok problemle karşılaşmıştır. Bu tez, bu sorunların çözümüne katkı amacıyla başlatılmıştır. Bu amaçla 30 Mart 2017'de kurbağaların üreme mevsiminin başlamasıyla birlikte, anaç ve yumurtalarından itibaren genç erişkin bireylerin ortalama $16,86 \pm 10,01$ g (4,46-28,0 g) ağırlığa ulaştıkları 12.10.2017 tarihine kadar 10 farklı gelişim evresinde su, yem ve kurbağa materyali alınmıştır.

Tesisin fiziki ve teknik koşulları da gözlem altına alınmıştır. Yapısal açıdan tesis D'Silva (2015) [20] ve FAO (2016) kaynaklarında anlatılanlara yakın olup, kurbağaların güvenliği için uygun görünmektedir. Tesisin en büyük sorunu su yetersizliğidir. Kurbağa yetiştiricilik alanlarının mutlaka sulak olması gerekmektedir [27]. Ne yazık ki tesisin kurulduğu alan sulak değildir. Nitekim, tesiste çok yüksek olan larva ölümlerinin birincil nedeninin yeterli su akışının olmaması sebebiyle fitoplantonun fazla üremesidir. Fitoplankton üremelerinin özellikle öğleden sonraları sudaki çözünmüş oksijen doygunluğunu yükselttiği ve larvalarda gaz kabarcığına yol açarak ölmelerine neden olduğu bildirilmiştir [50].

Tesise gelen kaynak suyunda yürütülen bakteri izolasyonları çeşme suyunun kurbağalar için fırsatçı patojen olabilecek bakterileri barındırdığını göstermiştir. Sadece insan sağlığı değil, hayvan sağlığının da birincil şartı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik yönden temiz suların varlığıdır.

Kurbağaların beslenmesi teknik personelin yem makinesi ile ürettikleri pelet yem ile sağlanmaktadır. Yemin protein oranı % 51 olup, idealdir [27]. Yemlerin muhafazası için temiz, serin ve havadar kapalı bir odanın olması gerekmektedir. Tesisin noksanlarından biri de böyle odanın olmamasıdır. Yemde üreyen mantarlar doğada, her yerde bulunan küfler olup, uygun olmayan ortam koşullarının doğal bir sonucudur.

Kurbağalar doğal yaşamlarında canlı ve hareket eden yemleri tercih etmektedir. Entansif kurbağa yetiştiriciliğinde en çok zorlanılan konunun hayvanların kuru pelet yemlere alıştırılması olduğu bildirilmiştir [27]. Projeyi yürüten teknik personel, genç kurbağa

aşamasından itibaren yem titreşim sistemi ve yemleri az miktarda önlerine fırlatarak bu sorunun üstesinden gelmişlerdir.

Sucul canlıların yetiştiriciliğinde havuzların temizliği ve su hijyeninin önemi fazlasıyla vurgulanmıştır. Havuzlara eklenen gübre fitoplanktonları azaltarak ölümleri durdurmuş olmasına karşın, suda üreyen koliform bakterilerin arttığı görülmüştür. Koliform bakterilerin kurbağa sağlığına etkileri ileri araştırmalarla ortaya konulmalıdır.

İçinde canlıların olduğu sularda bakteri çeşitliliğinin çok olması beklenebilecek bir durumdur. Ancak, bu bakterilerin kurbağa sağlığı üzerine etkileri araştırılmalıdır.

Yapılmış olan birçok araştırma su mikrobiyotası ve sucul canlı mikrobiyotasının paralelliğini göstermiştir [8]. Kurbağa havuzlarında üreyen çok sayıda bakterinin kurbağa örnekleri üzerinde ürediği de görülmektedir. Araştırma süresince kurbağa örneklerinde enfeksiyon belirtileri tespit edilememiştir. İzole edilen bakterilerin birçoğunun suyun ve kurbağa örneklerinin doğal mikrobiyotasında yer aldığı ortadadır. Ancak, stres durumlarında da birçok bakterinin fırsat kolladığı göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle, tespit edilmiş olan izolatların hastalık yapıcı etkileri (patojenite) ve hastalık yapabilme güçleri (virulans) belirlenmelidir.

Salmonella'ların sürüngenlerin normal bağırsak mikrobiyotasında yer aldığı bilinmektedir. Ancak, tezde bu etkenler kurbağaların karaciğer ve akciğerinden ayırt edilmiştir. Balık hastalıklarında sadece bir enfeksiyon durumunda balıkların organlarında bakteri saptanabilmektedir. Bu nedenle kurbağaların *Salmonella* türleri ile ilgili konak-konakçı ilişkisi incelenmelidir.

İnsan tüketimine sunulmak niyetiyle yetiştirilen bu kurbağaların insan sağlığı açısından riskli bazı bakterileri taşıdıkları görülmektedir. *Salmonella* spp. tüm dünyada insanlarda gıda kaynaklı hastalık etkenlerinin en başında yer almaktadır [77]. Bu tezde yetişkin kurbağaların sadece iç organları incelendiğinden, kurbağa etlerinin de *Salmonella* spp. ve diğer potansiyel riskli bakteriler yönünden araştırılması uygun olacaktır.

İzole edilmiş olan bakterilerin antibakteriyel ilaç duyarlılık testi özellikle Gram negatif bakterilerde antibakteriyel ilaçlara karşı çoklu direncin (MAR) 0,2'den yüksek olup, 0,70'lere kadar çıktığını göstermiştir. Tesis yerleşim bölgesine ve tarım alanlarına uzak bir yerde, ancak yakın çevresinde hayvancılığın olduğu bilinmektedir. Su kaynağının niteliği ile ilgili bir bilgi edinilememiştir. Tesiste ilaç kullanılmamış olmasına rağmen, izolatların antibakteriyel ilaç direnç yüksekliği nedenlerinin ciddiyle ele alınması gerekmektedir.

Ülkemizde kurbağa hastalıklarına yönelik ilk defa yapılmış olan bu tez temel bir araştırma niteliğinde olup, kurbağaların Mersin-Aydıncık'taki entansif yetiştiricilik

koşullarındaki mikrobiyolojik durumunu ortaya koymaktadır. Ekonomik ve besin değeri yüksek olan ülkemizdeki yenilebilir yerel kurbağa türlerinin sağlıklı ve verimli yetiştirilebilmesine yönelik uygun tekniklerin geliştirilmesi, yetiştiriciliğin sürdürülebilirliğinin sağlanması ve ülkemize yeni bir sektörün kazandırılabilmesi için bilimsel zemine dayalı, daha kapsamlı araştırmaların yapılması yararlı olacaktır.

Ülkemizde doğadan yakalanan kurbağa türlerinde paraziter ve bakteriyel mikrobyotanın varlığına yönelik bazı araştırmalar mevcuttur, ancak yetiştirilen kurbağaların diğer enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan hastalıklarının belirleneceği yeni araştırmalar hem sektörün gelişmesine, hem de insan sağlığının korunmasına katkı sağlayacaktır.



KAYNAKLAR

- [1] Alpbaz, A. (2009). *Kurbağa yetiştiriciliği*. 16 Aralık 2016 tarihinde <http://www.atillaalpbaz.com/?o=3&y=142> adresinden erişildi.
- [2] Amborski, R. L., Snider, T. G., Thune, R. L. ve Culley, Jr. D. D. (1983). A Non-haemolytic Group B Streptococcus Infection of Cultured Bullfrogs, *Rana catesbeiana*, in Brazil. *Journal of Wildlife Diseases*, 19 (3), 180-184.
- [3] Anonim. (2010). *The design and statistical analysis of laboratory animal experiments*. 3 Ekim 2016 tarihinde www.ccac.ca/Documents/Education/CALAS2010/Reduction-Festing.pdf adresinden erişildi.
- [4] APHA. (1999). American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 13 Aralık 2017 tarihinde https://www.mwa.co.th/download/file_upload/SMWW_1000-3000.pdf adresinden erişildi.
- [5] Arda, M. (1985). *Temel mikrobiyoloji*. Ankara: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları.
- [6] Arıman, H., Yanık, T. ve Yılmaz, M. (2000). Kurbağa yetiştiriciliği. *Doğu Anadolu Bölgesi IV. Su Ürünleri Sempozyumu bildiriler kitabı* içinde (ss. 317-336). Erzurum.
- [7] Atatür, M. K. ve Göçmen, B. (2001). *Kuzey Kıbrıs'ın Kurbağa ve Sürüngenleri*. (I. Baskı). Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No. 170.
- [8] Austin, B. ve Austin, D. A. (2007). *Bacterial fish pathogens*. 4th Edn., Chichester, Springer-Praxis, (ss. 552).
- [9] Baran, İ. (2005). *Türkiye amfibi ve sürüngenleri*. Ankara: Pelin Matbaası.
- [10] Başoğlu, M., Özeti, N. ve Yılmaz, İ. (1994). *Türkiye amfibileri*. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi.
- [11] Braun, B. U., Groenewald, J. Z. ve Crous, P. W. (2012). The Genus Cladosporium. *Studies in Mycology*, 72 (1), 1-401.
- [12] Brown, D. D. ve Cai, L. (2007). Amphibian Metamorphosis. *Developmental Biology*, 306, 20-33.
- [13] Brown, L. L., Cox, W. T. ve Levine, R. P. (1997). Evidence that the Causal Agent of Bacterial Cold-water Disease *Flavobacterium psychrophilum* is Transmitted with in Salmonid Eggs. *Diseases of Aquatic Organisms*, 29, 213-218.
- [14] Budak, A. ve Göçmen, B. (2005). *Herpetoloji*. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi.
- [15] Cagiltay, F., Erkan, N., Selcuk, A., Ozden, O., Tosun, D. D., Ulusoy, S. ve Atanasoff, A. (2014). Chemical Composition of Wild and Cultured Marsh Frog (*Rana ridibunda*). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 20 (5), 1250-1254.

- [16] Carr, A. H., Amborski, R. L., Culley, Jr. D. D. ve Amborski, G. F. (1976). Aerobic Bacteria in the Intestinal Tracts of Bullfrogs (*Rana catesbeiana*) Maintained at Low Temperatures. *Herpetologica*, 32 (3), 239-244.
- [17] CLSI. (2010). Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacteria Isolated From Aquatic Animals: First Informational Supplement. CLSI document M42/M49-S1 (ISBN 1-56238- 727-8). Clinical and Laboratory Standards Institute, Pennsylvania, USA.
- [18] Cowan, S. T. (1974). *Manual for the identification of medical bacteria*. Cambridge: University Printing House.
- [19] Cunningham, A. A., Hyatt, A. D., Russell, P. ve Bennett, P. M. (2007). Emerging Epidemic Diseases of Frogs in Britain are Dependent on the Source of Ranavirus Agent and the Route of Exposure. *Epidemiol. Infect.*, 135, 1200-1212.
- [20] D'Silva, R. (2015). Frog culture-why not. *International Journal of Management & Behavioural Sciences (IJMBS)*, 6-7, 418-426.
- [21] Densmore, C. L. ve Green, D. E. (2007). Diseases of Amphibians. *ILAR Journal*, 48 (3), 235-254.
- [22] Düzel, S. (1999). Balık yemi ve yem hammaddelerinde total jerm sayısı, *Enterobacteriaceae* sayısı ve *Enterobacteriaceae* izolasyonu. Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi, 24 (38), 71-78.
- [23] EC. (1998). The Council Of The European Union. On the quality of water intended for human consumption, Council Directive 98/83/EC. *Official Journal of the European Communities*, L 330/32.
- [24] Eleroğlu, H. ve Sarıca, M. (2004). Kanatlı üretiminde içme suyu kalitesi. 4. *Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, sözlü bildirisi*. Isparta.
- [25] FAO. (2015a). Food and Aquaculture Organization of the United Nations. *Yetiştiricilik üretim miktarı*. 25 Aralık 2016 tarihinde www.fao.org/figis/servlet/SQServlet?file=/work/FIGIS/prod/webapps/figis/temp/hqp_2053334975388995267.xml&outtype=html adresinden erişildi.
- [26] FAO. (2015b). Food and Aquaculture Organization of the United Nations. *Avcılık üretim miktarı*. 25 Aralık 2016 tarihinde http://www.fao.org/figis/servlet/SQServlet?file=/work/FIGIS/prod/webapps/figis/temp/hqp_598294858019360480.xml&outtype=html adresinden erişildi.
- [27] FAO. (2016). Food and agriculture organization of the united nations. *Cultured aquatic species information programme Rana catesbeiana*. 30 Ekim 2016 tarihinde http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Rana_catesbeiana/en adresinden erişildi.

- [28] Ferreira, C. M. (2003). A importância da água e sua utilização em ranários comerciais. *Panorama da Aquicultura*, 13 (79), 15-17.
- [29] Flores-Nava, A. ve Vera-Muñoz, P. (1999). Growth, metamorphosis and feeding behaviour of *Rana catesbeiana* Shaw 1802 tadpoles at different rearing densities. *Aquaculture Research*, 30(5), 341-347.
- [30] Godfrey, E. W. ve Sanders, G. E. (2004). Effect of Water Hardness on Oocyte Quality and Embryo Development in the African Clawed Frog (*Xenopus laevis*). *Comparative Medicine*, 54 (2), 170-175.
- [31] Green, S., Lifland, B., Bouley, D., Brown, B., Wallace, R. ve Ferrell, J. (2000). Disease Attributed to *Mycobacterium chelonae* in South African Clawed Frogs (*Xenopus laevis*). *Comparative Medicine*, 50, 675-679.
- [32] Gürgün, V. ve Halkman, A. K. (1990). Mikrobiyolojide sayım yöntemleri. *Gıda Teknolojisi Derneği*, 7, 146.
- [33] Hacıoglu, N. ve Tosunoglu, M. (2014). Determination of Antimicrobial and Heavy Metal Resistance Profiles of Some Bacteria Isolated from Aquatic Amphibian and Reptile Species. *Environ Monit Assess*, 186, 407-413.
- [34] Hacıoglu, N., Gul, C. ve Tosunoglu, M. (2015). Bacteriological Screening and Antibiotic – Heavy Metal Resistance Profile of the Bacteria Isolated from Some Amphibian and Reptile Species of the Biga Stream in Turkey. *International Scholarly and Scientific Research & Innovation*, 9 (4), 422- 426.
- [35] Halkman, K. (2005). *Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Ankara: Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Limited Şirketi.
- [36] Hardalo, C. ve Edberg, S. C. (1997). *Pseudomonas aeruginosa*: Assessment of risk from drinking water. *Critical Reviews in Microbiology*, 23 (1), 47-75.
- [37] Hemmingway, V., Brunner, J., Speare, R. ve Berger, L. (2009). Viral and Bacterial Diseases of Amphibians. *Amphibian Biology*, 2963-2983.
- [38] Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. ve Williams, S. T. (2000). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- [39] Holt, R. A., Rohovec, J. S. ve Fryer, J. L. (1993). Bacterial cold-water disease. Inglis, Roberts ve Bromage (ed.), In *Bacterial Diseases of Fish* (ss.3-22). Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- [40] Huang, Y.-H., Huang, J., Hu, D.-S., Wen, H.-C. ve Shi, J.-G. (2010). Isolation and Identification of Pathogenic Bacteria from *Rana tigrina* Cantor Infected with Red-leg Disease and Drug Sensitivity Tests. *Guangxi Agricultural Sciences*, 11.

- [41] Huys, G., Pearson, M., Kämpfer, P., Denys, R., Cnockaert, M., Inglis, V. ve Swings, J. (2003). *Aeromonas hydrophila* subsp. *Ranae* subsp. nov., Isolated from Septicaemic Farmed Frogs in Thailand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 885–891.
- [42] IUCN. (2017). *Pelophylax ridibundus*. *The IUCN Red List of Threatened Species*. 21 Ocak 2018 tarihinde <http://www.iucnredlist.org/details/58705/0> adresinden erişildi.
- [43] İnan, M. S. (2004). *Kurbağa biyolojisi ve yetiştirme Teknikleri*. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, TÜGEM. 3 Ekim 2016 tarihinde <http://www.tarim.gov.tr/BSGM/Belgeler/Icerikler/Su%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Yeti%C5%9Ftiricili%C4%9Fi/5-%20Kurba%C4%9Fa%20Biyolojisi%20ve%20Yeti%C5%9Firme%20Teknikleri.pdf> adresinden erişildi.
- [44] Jabbar, T. (2009). *Pelophylax bedriagae: Levant Green Frog*. 16 Aralık 2017 tarihinde <http://amphibiaweb.org/species/5078> adresinden erişildi.
- [45] Jeong, Y.-J., Kim, J.-T. ve Suh, G.-H.. (2014). Case Report: Mass Death of Frogs (*Rana dybowskii*) Caused by Septicemia in Artificial Raising Farm. *Journal title: Korean Journal of Veterinary Service*, 37 (3), 203-212.
- [46] Kuru, M. (1987). *Omurgalı hayvanlar*. Erzurum: Atatürk Üniversitesi Basımevi.
- [47] Küçük, S., Öztürk, S. ve Çoban, D. (2016). Su ürünlerinde kullanılan anestezikler. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13 (2), 79-85.
- [48] Lee, S.W., Najiah, M., Wendy, W., Nadirah, M. ve Faizah, S.H. (2009). Occurrence of Heavy Metals and Antibiotic Resistance in Bacteria from Internal Organs of American Bullfrog (*Rana catesbeiana*) Raised in Malaysia. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Disease*, 15 (2), 353-358.
- [49] LPSN. (2015). List of Prokaryotic Names. *Genus Salmonella*. 12 Aralık 2017 tarihinde <http://www.bacterio.net/salmonella.html> adresinden erişildi.
- [50] Lutz, C. G. ve Avery, J. L. (1999). Bullfrog Culture. Southern Regional Aquaculture Center Publication No. 436.
- [51] Mauel, M. J., Miller, D. L., Frazier, K. S. ve Hines II, M. E. (2002). Bacterial Pathogens Isolated from Cultured Bullfrogs (*Rana catesbeiana*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 14, 431-433.
- [52] Mercante, C. T. J., Vaz-dos-Santos, A. M., Bispo Moraes, M. de A., Pereira, J. S. ve Lombardi, J. V. (2014). Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) Farming System: Water Quality and Environmental Changes. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 26 (1), 9-17.
- [53] Miaud, C., Üzümlü, N., Avci, A. ve Olgun K. (2007). Age, size and growth of the endemic Anatolian mountain frog *Rana holtzi* from Turkey. *Herpetological Journal*, 17, 167–173.

- [54] Mikrobiyoloji.org. *Temel Mikrobiyolojik Analizler*. 13 Mayıs 2017 tarihinde <http://www.mikrobiyoloji.org/> adresinden erişildi.
- [55] Miles, J., Williams, J. ve Hailey, A. (2004). Frog farming: Investigation of Biological and Mechanical Agents to Increase the Consumption of Pelleted Food by Adult *Rana temporaria*. *Applied Herpetology*, 1 (3), 271–286.
- [56] Neveu, A. (2004). La raniculture est-elle une alternative à la récolte? Etat actuel en France. *Institut National de la Recherche Agronomique, Productions animales*, 17 (3), 167-175.
- [57] Neveu, A. (2009). Suitability of European Green Frogs for Intensive Culture: Comparison Between Different Phenotypes of the Esculenta Hybridogenetic Complex. *Aquaculture*, 295, 30–37.
- [58] Nixon, E. (2010). *Frog dissection*. 16 Şubat 2017 tarihinde <http://elizabethnixon.deviantart.com/art/Frog-Dissection-154987195> adresinden erişildi.
- [59] Özdoğan, M., Üstündağ, A. Ö. ve Demirel, H. (2016). Aydın ili yeraltı sularının hayvancılık için içme suyu kalitesi bakımından değerlendirmesi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13 (2), 113-121.
- [60] Pasteris, S. E., Bühler, M. I. ve Nader-Macias, M. E. (2006). Microbiological and Histological Studies of Farmed-bullfrog (*Rana catesbeiana*) Tissues Displaying Red-leg Syndrome. *Aquaculture*, 251, 11-18.
- [61] Pasteris, S. E., Vera Pingitore, E., Roig Babot, G., Otero, M. C., Bühler, M. I., ve Nader-Macías, M. E. (2009). Characterization of the Beneficial Properties of Lactobacilli Isolated from Bullfrog (*Rana catesbeiana*) Hatchery. *Antonie van Leeuwenhoek*, 95, 373–385.
- [62] Pasteris, S. E., Guidoli, M. G., Otero, M. C., Bühler M. I. ve Nader-Macías, M. E. (2011). In Vitro Inhibition of *Citrobacter freundii*, a Red-leg Syndrome Associated Pathogen in Raniculture, by Indigenous *Lactococcus lactis* CRL 1584. *Veterinary Microbiology*, 151, 336–344.
- [63] Pilarski, F. ve Schocken-Iturrino, R. P. (2010). Isolation and Antimicrobial Resistance of Streptococcus spp. Strains from Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62 (5).
- [64] Pitt, J. I. (1994). The Current Role of Aspergillus and Penicillium in Human and Animal Health. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 32 (1), 17-32.
- [65] Plötner, J. 2009. *Pelophylax cf. bedriagae*. 13 Aralık 2017 tarihinde <https://www.cabi.org/isc/datasheet/109855> adresinden erişildi.
- [66] Plumb, J. A. ve Browser, P.R. (1983). Microbial Fish Disease Laboratory Manual. *Brown Printing Company Montgomery*, 95.

- [67] Real, M., Martinez, I. P., Alvarez, R. (2005). Progressive Reductions in the Movement Induced in Food When Rearing *Rana perezi* Seoane, 1885, in Captivity. *Aquaculture*, 249, 189-193.
- [68] Resmî Gazete. (1980). Yem Hammaddeleri ve karma yemlerde bulunan bakteri ve mantarların kültürel sayımları ve mikroorganizma sayısına göre yem hammaddelerinin norm değerleri hakkındaki tebliğ. (1980, 6 Ağustos), Sayı 17070.
- [69] Resmî Gazete. (2004). Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği (2004, 31 Aralık). Sayı 25687.
- [70] Resmî gazete. (2008). Hayvansal kökenli yemlerde mikrobiyolojik kriterler tebliği. Tebliğ no: 2008/47. 21.08.2008, Sayı: 26974.
- [71] Resmî Gazete. (2013). İnsani tüketim amaçlı sular hakkında yönetmelikte değişiklik yapılmasına dair yönetmelik (2013, 7 Mart). Sayı 28580. Sağlık Bakanlığı.
- [72] Schadich, E. ve Cole, A. L. J. (2010). Pathogenicity of *Aeromonas hydrophila*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* to Brown Tree Frogs (*Litoria ewingii*). *Comp Med*, 60, 114-117.
- [73] Schuytema, G. S. ve Nebeker, A. V. (1999). Effects of Ammonium Nitrate, Sodium Nitrate, and Urea on Red-Legged Frogs, Pacific Treefrogs, and African Clawed Frogs. *Bulletin of Environmental Contamination nad Toxicology*, 63, 357-364.
- [74] Şereflişan, H. ve Alkaya, A. (2016). Türkiye’de eti yenilebilen kurbağaların (Ranidae) biyolojisi, ekonomisi, avcılığı ve ihracatına yönelik yasal mevzuatı. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4 (7), 600-604.
- [75] Taylor, S. K., Green, D. E., Wright, K. M. ve Whitaker, B. R. (2001). Bacterial diseases. Wright ve Whitaker (Ed.), *In Amphibian Medicine and Captive Husbandry* (159-180). Florida: Publishing Company Krieger Drive.
- [76] Tee, L.W. ve Najiah M. (2011). Antibigram and Heavy Metal Tolerance of Bullfrog Bacteria in Malaysia. *Open Veterinary Journal*, 1, 39-45.
- [77] The Center for Food Security and Public Health. (2013). *Reptile-Associated Salmonellosis*. 12 Aralık 2017 tarihinde http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/reptile_associated_salmonellosis.pdf adresinden erişildi.
- [78] Trott, K. A., Stacy, B. A., Lifland, B. D., Diggs, H. E., Harland, R. M., Khokha, M. K., Grammer, T. C. ve Parker, J. M. (2004). Characterization of a *Mycobacterium ulcerans*-Like Infection in a Colony of African Tropical Clawed Frogs (*Xenopus tropicalis*). *Comparative Medicine*, 54 (3), 309-317.
- [79] TÜİK. (2015). Türkiye İstatistik Kurumu. *Su ürünleri istatistikleri*. 20 Aralık 2016 tarihinde <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=97&locale=tr> adresinden erişildi.

- [80] TÜİK. (2016). Türkiye İstatistik Kurumu. *Ülkelere göre dış ticaret*. 25 Aralık 2016 tarihinde <https://biruni.tuik.gov.tr/disticaretapp/disticaret.zul?param1=24¶m2=4&sitcrev=0&isicrev=0&sayac=5802> adresinden erişildi.
- [81] Türk Standartları Enstitüsü. (1984). İçme Suları, TS 266. Haziran 1984. Ankara.
- [82] Whitaker, B. R. (2001). Water Quality. Wright ve Whitaker (Ed.), In *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*, (ss. 147-157). Florida: Krieger Publishing Company Krieger Drive.
- [83] Whitaker, B. R. ve Wright, K. M. (2001). Clinical Techniques. Wright ve Whitaker (Ed.), In *Amphibian Medicine and Captive Husbandry* (ss. 89-110). Florida: Publishing Company Krieger Drive.
- [84] WHO. (2009). World Health Organization. Potassium in Drinking-water background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. WHO/HSE/WSH/09.01/7.
- [85] WHO. (2011). World Health Organization. Hardness in drinking water. WHO/HSE/WSH/10.01/10/Rev/1.
- [86] Wikipedia, *Kurbağa*. 6 Aralık 2016 tarihinde <https://tr.wikipedia.org/wiki/Kurbağa> adresinden erişildi.
- [87] Wikipedia, Su *kurbağasıgiller*. 10 Ocak 2017 tarihinde https://tr.wikipedia.org/wiki/Su_kurbağasıgiller adresinden erişildi.
- [88] Xiaoying, H., Dongren, Z., Yizhi, L., Weida, S. ve Xueping, Y. (2015). Isolation and Identification of the Pathogens of Bull-frog Streptococcus Disease. *Animal Husbandry and Feed Science*, 7 (1), 36-38.

EKLER**EK 1. İzolatların örnek sayısı dağılımı.**

No	İzolat adı	Anaç kurbaga	Yumurta/Embriyo	Besin keseli larva	Yemlenen keseli larva	Hasta Larva (C/D-HL)	Yemlenen larva	Bacaksız iribaş	Hasta iribaş (E-Hİ)	Arka bacaklı iribaş	Dört bacaklı iribaş	Genç kurbaga	Genç erişkin kurbaga	Hasta anaç kurbaga	Kurbaga bakterisi tür sayısı	Çeşme	Anaç havuzu	Larva/iribaş/genç havuzu	Hasta larva havuzu (C/D/E-HS)	Genç erişkin kurbaga havuzu	Su bakterisi tür sayısı	Yem	Toplam izolat sayısı
Gram Negatif Basiller																							
1	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>			2	1										3						0		3
2	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>		3	1		1	1	3		1	1			1	12		1	5		1	7		19
3	<i>Aeromonas sobria</i>	1	3					1			2	5			12			3		1	4		16
4	<i>Bordetella hinzii</i>														0			1		1			1
5	<i>Brevundimonas diminuta/vesicularis*</i>	4				1	1								6						0		6
6	<i>Burkholderia mallei*</i>														0		1			1			1
7	<i>Chryseobacterium indologenes</i>		1											1	2	2	1	2			5		7
8	<i>Citrobacter braakii</i>														0					1	1		1
9	<i>Citrobacter freundii</i>										3	23			26				1	1	2		28
10	<i>Delftia (Comamonas) acidovorans*</i>					1	2								3	1				1			4
11	<i>Edwardsiella tarda</i>										2	16			18			1		1	2		20
12	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>													1	1					0			1
13	<i>Enterobacter asburiae</i>														0			2	1	3			3
14	<i>Escherichia coli</i>	7													7					0			7
15	<i>Klebsiella oxytoca</i>													1	1					0			1
16	<i>Klebsiella pneumoniae ozaenae</i>										1				1					0	1		2
17	<i>Morganella morganii*</i>							2							2	1				1			3
18	<i>Pantoea spp.</i>														0			1		1	1		2
19	<i>Plesiomonas shigelloides</i>							1							1					0			1

EK 1. - Devamı

No	İzolat adı	Anaç kurbaga	Yumurta/Embriyo	Besin keseli larva	Yemlenen keseli larva	Hasta Larva	Yemlenen larva	Bacaksız iribaş	Hasta iribaş (E-Hİ)	Arka bacaklı iribaş	Dört bacaklı iribaş	Genç kurbaga	Genç erişkin kurbaga	Hasta anaç kurbaga	Kurbaga bakterisi tür sayısı	Çeşme	Anaç havuzu	Larva/iribaş/genç havuzu	Hasta larva/iribaş havuzu	Genç erişkin kurbaga havuzu	Su bakterisi tür sayısı	Yem	Toplam izolat sayısı
20	<i>Providencia rettgeri</i> *														0		1			1			1
21	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>											1			1	1		1		2			3
22	<i>Pseudomonas fluorescens</i>														0	1			1	2			2
23	<i>Pseudomonas mendocina</i> *														0		1			1			1
24	<i>Pseudomonas putida</i>							1							1	1				1			2
25	<i>Rhizobium (Agrobacterium) radiobacter</i> *														0	1				1			1
26	<i>Salmonella</i> spp.	2											10	1	13					1			14
27	<i>Serratia fonticola</i> *														0			1		1			1
28	<i>Serratia odorifera</i> *														0			1		1			1
29	<i>Shewanella putrefaciens</i>					2	5	1		1	2				11		1			1			12
30	<i>Sphingomonas paucimobilis</i> *	3				1	3				1		2		10	2	1	1	1	5			15
31	<i>Sphingobacterium thalpophilum</i>														0	1				1			1
32	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> *														0	1				1			1
32	Toplam Gram negatif basiller																						181
	Gram Pozitif Basiller																						
1	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>					1		1	1	2	2	1	1		9	2		2	1	5	2		16
2	<i>Bacillus clausii</i>			1											1					0	1		2
3	<i>Bacillus fortis</i>							1							1					0			1
4	<i>Bacillus megaterium</i>							1							1			1		1			2
5	<i>Bacillus pumilus</i>					1									1					0			1
6	<i>Bacillus smithii</i>														0					1	2		3
7	<i>B. subtilis/amyloliquefaciens/atrophia</i> *					1		1							2			2		2			4
8	<i>Brevibacillus choshinensis</i>												1		1					0			1
9	<i>Lysinibacillus sphaericus/fuciformis</i> *							1							1					0			1
9	Toplam Gram Gram pozitif basiller																						31

EK 1. - Devamı

No	İzolat adı	Anaç kurbaga	Yumurta/Embriyo	Besin keseli larva	Yemlenen keseli larva	Hasta Larva	Yemlenen larva	Bacaksız iribaş	Hasta iribaş (E-Hİ)	Arka bacaklı iribaş	Dört bacaklı iribaş	Genç kurbaga	Genç erişkin kurbaga	Hasta anaç kurbaga	Kurbaga bakterisi tür sayısı	Çeşme	Anaç havuzu	Larva/iribaş/genç havuzu	Hasta larva havuzu	Genç erişkin kurbaga havuzu	Su bakterisi tür sayısı	Yem	Toplam izolat sayısı
Gram Pozitif Koklar																							
1	<i>Aerococcus viridans</i> *									1					1	1					1		2
2	<i>Enterococcus gallinarum</i> *					1	1								2						0		2
3	<i>Granulicatella adiacens</i> *	1													1						0		1
4	<i>Kocuria kristinae</i> *														0	1					1		1
5	<i>Kocuria rhizophila</i> *				1									1	2	1					1		3
6	<i>Kocuria rosea</i> *											1			1						0		1
7	<i>Micrococcus luteus/lylae</i> *	6	1			1			1	1		1	1	4	16						0		16
8	<i>Staphylococcus aureus</i> *														0			1			1		1
9	<i>Staphylococcus equorum</i> *											2			2						0		2
9	Toplam Gram pozitif kok																						29
Mantar (Fungus)																							
1	<i>Penicillium</i> spp.														0						0	1	1
2	<i>Cladosporium</i> spp.														0						0	1	1
2	Toplam mantar																						2
Örnekteki toplam izolat sayısı		24	8	4	4	9	13	14	2	6	14	50	15	10	173	17	7	25	5	7	61	9	243
52	Örnekteki toplam bakteri türü sayısı	4	4	4	4	8	6	11	2	5	8	8	5	7	34	14	7	15	5	7	33	7	

*İlk izolasyon

EK 2. Kurbağa ve su örneklerinden bugüne kadar izole edilmiş bazı bakteriler.

	Kaynaklar	Bu araştırma		[17]	[60]	[48]	[33]	[34]	[34]	[75]	[61]	[41]	[19]	[45]	[51]	[72]	[40]	[27]	[88]	[63]
		Kurbağa örnekleri	Su örnekleri	Bağırsak	Sağlıklı ^s / hasta ^h	Sağlıklı, iç organ	Yabani, kılolaka	Yabani, koaka	Su	Normal mikrobiyota	Larva ^l /yetişkin kızılback	Septisemi, ölüm, iç organ	Yaban, ölümler, deride ülser, sistemik kanama	Kurbağa	Kızıl back, dokular	Dermatoseptisemi	Kızılback, iç organ	Ödem, dönme hast.	%60 ölüm	Hasta, iç organlar
	Gram Negatif Basiller																			
1	<i>Achromobacter sp.</i>	-		+						+										
2	<i>Acinetobacter sp.</i>	+												+						
3	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	3	0	+																
4	<i>Acinetobacter lwolfi</i>	-								+										
5	<i>Actinobacillus sp.</i>	-							+											
6	<i>Aeromonas sp.</i>	+				+														
7	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	12	7	+	+		+	+	+			+	+		+	+NP	+			
8	<i>Aeromonas sobria</i>	12	4					+												
9	<i>Aeromonas liquefaciens</i>	-																		
10	<i>Alcaligenes faecalis</i>	-		+						+										
11	<i>Bordetella hinzii</i> *	0	1																	
12	<i>Brevundimonas diminuta/vesicularis</i> *	6	0																	
13	<i>Burkholderia mallei</i> *	0	1																	
14	<i>Burkholderia pseudomallei</i>	-							+											
15	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	2	5												+					
16	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	-													+					
17	<i>Citrobacter sp.</i>	+												+						
18	<i>Citrobacter braakii</i>	0	1												+					
19	<i>Citrobacter diversus</i>	-						+												
20	<i>Citrobacter freundii</i>	26	2	+			+	+												
21	<i>Corynebacterium sp.</i> ,	-								+										
22	<i>Cupriavidus metallidurans</i>	-												+						
23	<i>Delftia (Comamonas) acidovorans</i> *	3	1																	
24	<i>Edwardsiella tarda</i>	18	2			+									+					
25	<i>Eikenella corrodens</i>	-								+										
26	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	1	0						+											

EK 2-Devamı

	Kaynaklar	Bu araştırma		[17]	[60]	[48]	[33]	[34]	[34]	[75]	[61]	[41]	[19]	[45]	[51]	[72]	[40]	[27]	[88]	[63]
27	<i>Enterobacter</i> sp.	0	+	+	+ ^h					+	+ ^L									
28	<i>Enterobacter aerogenes</i>	-					+													
29	<i>Enterobacter asburiae</i>	0	3																	
30	<i>Enterobacter cloacae</i>									+										
31	<i>Enterobacter gergoviae</i>	-						+	+											
32	<i>Escherichia coli</i>	7	0	+			+		+	+	+ ^L									
33	<i>Ewingella americana</i>	-												+						
34	<i>Flavobacterium</i> sp.	-		+		+														
35	<i>Gaffkya</i> sp.	-								+										
36	<i>Klebsiella</i> sp.	+		+																
37	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0						+											
38	<i>Klebsiella pneumoniae ozaenae</i>	1	0				+			+						+ ^{NP}				
39	<i>Leptospira</i> sp.	-								+										
40	<i>Morganella morganii</i> *	2	1																	
41	<i>Moroxella</i> sp.	-							+											
42	<i>Pantoea</i> spp.	0	1																	
43	<i>Pantoea agglomerans</i>	-						+												
44	<i>Pasteurella</i> sp.	-								+										
45	<i>Pasteurella multocida</i>	-						+	+											
46	<i>Pectobacterium</i> sp.									+										
47	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1	0	+						+										
48	<i>Propionibacterium</i> sp.									+										
49	<i>Proteus mirabilis</i>	-		+												+ ^P				
50	<i>Proteus morganii</i>	-		+																
51	<i>Proteus rettgeri</i>	-		+																
52	<i>Proteus vulgaris</i>	-		+	+ ^h		+													
53	<i>Providencia</i> sp.	-																		
54	<i>Providencia rettgeri</i> *	0	1																	
55	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.	-												+						
56	<i>Pseudomonas</i> sp.	+		+											+					
57	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	2	+					+		+									
58	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	-		+						+										
59	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0	2	+					+											
60	<i>P. maltophilia</i>	-								+										
61	<i>P. pickerii</i>	-								+										
62	<i>P. pseudoalcaligenes</i>	-								+										
63	<i>Pseudomonas mendocina</i> *	0	1																	
64	<i>Pseudomonas putida</i>	1	1	+																
65	<i>Rhizobium (Agrobacterium) radiobacter</i> *	0	1																	
66	<i>Salmonella</i> spp.	13	1					+		+										
67	<i>Sarcinia lutea</i>	-								+										

EK 2-Devamı

	Kaynaklar	Bu araştırma		[17]	[60]	[48]	[33]	[34]	[34]	[75]	[61]	[41]	[19]	[45]	[51]	[72]	[40]	[27]	[88]	[63]
68	<i>Serratia</i> sp.	0	+	+																
69	<i>Serratia fonticola</i> *	0	1																	
70	<i>Serratia liquefaciens</i>	-						+	+											
71	<i>Serratia odorifera</i> *	0	1																	
72	<i>Serratia rubidaea</i>	-							+											
73	<i>Shewanella aquimarina</i>	-												+						
74	<i>Shewanella putrefaciens</i>	11	1						+											
75	<i>Shigella</i> sp.	-		+						+										
76	<i>Sphingomonas paucimobilis</i> *	10	5																	
77	<i>Sphingobacterium thalpophilum</i> *	0	1																	
78	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> *	0	1																	
79	<i>Vibrio</i> sp.	-				+				+										
80	<i>Vibrio carchariae</i>	-							+											
81	<i>Yersinia enterocolitica</i>	-						+												
	Gram Pozitif Basiller	-																		
82	<i>Bacillus cereus/mycoides/thuringiensis</i>	9	5	+						+										
83	<i>Bacillus clausii</i> *	1	0																	
84	<i>Bacillus fortis</i> *	1	0																	
85	<i>Bacillus megaterium</i>	1	1							+										
86	<i>Bacillus pumilus</i> *	1	0																	
87	<i>Bacillus smithii</i> *	0	1																	
88	<i>B. subtilis/amyloliquefaciens/atropa</i> *	2	2																	
89	<i>Brevibacillus choshinensis</i> *	1	0																	
90	<i>Lactobacillus</i> spp.	-			+						+									
91	<i>Lysinibacillus sphaericus/fuciformis</i> *	1	0																	
	Gram Pozitif Koklar																			
92	<i>Aerococcus viridans</i> *	1	1																	
93	<i>Enterococcus faecalis</i>	-			+						+									
94	<i>Enterococcus faecium</i>	-			+						+									
95	<i>Enterococcus gallinarum</i> *	2	0																	
96	<i>Granulicatella adiacens</i> *	1	0																	
97	<i>Kocuria kristinae</i> *	0	1																	
98	<i>Kocuria rhizophila</i> *	2	1																	
99	<i>Kocuria rosea</i> *	1	0																	
100	<i>Micrococcus</i> sp.	+		+	+					+										
101	<i>Micrococcus luteus/lylae</i> *	16	0																	
102	<i>Pediococcus</i> spp.	-			+						+									
103	<i>Staphylococcus</i> spp.	+								+								+		
104	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-		+							+									

EK 2-Devamı

	Kaynaklar	Bu araştırma		[17]	[63]	[50]	[33]	[34]	[34]	[75]	[61]	[41]	[19]	[45]	[51]	[72]	[40]	[27]	[88]	[63]
105	<i>Staphylococcus aureus</i> *	0	1																	
106	<i>Staphylococcus equorum</i> *	2	0																	
107	<i>Streptococcus</i> sp.	-		+						+								+		+
108	<i>Streptococcus agalactiae</i>	-																	+	+
109	<i>Streptococcus iniae</i>	-													+					

*İlk izolasyon ¹Yetiştirilen ²Doğa ³Su ^PPatojen ^{NP}Non-patojen ^HHasta ^LLarva

EK 3. Gram negatif basillerin antibakteriyel ilaç duyarlılıkları.

No	İzolat No	Örnek	İzolat Adı	AMX	CC	CN	DO	E	ENR	FFC	L	N	OFX	P	S	SXT	T	VA
1	1	A-1	<i>Salmonella spp.</i>	21 (H)	D	22 (H)	15 (O)	D	32 (H)	20 (O)	D	18 (H)	31 (H)	13 (D)	14 (O)	18 (H)	15 (O)	D
2	3	A-1	<i>Salmonella spp.</i>	12 (D)	D	D	14 (O)	D	28 (H)	14 (D)	16 (D)	D	D	12 (D)	30 (H)	D	13 (D)	D
3	4	A-1	<i>Escherichia coli</i>	25 (H)	D	18 (H)	16 (H)	D	32 (H)	30 (H)	D	20 (H)	30 (H)	18 (D)	D	26 (H)	20 (H)	D
4	12	A-8	<i>Aeromonas sobria</i>	14 (D)	D	13 (O)	20 (H)	12 (D)	36 (H)	32 (H)	D	12 (D)	40 (H)	D	10 (D)	30 (H)	20 (H)	11 (D)
5	13	A-8	<i>Escherichia coli</i>	D	D	20 (H)	22 (H)	D	34 (H)	30 (H)	D	18 (H)	30 (H)	D	14 (O)	24 (H)	20 (H)	D
6	22	AS	<i>Providencia rettgeri</i>	D	D	17 (H)	D	D	28 (H)	22 (H)	18 (D)	14 (O)	27 (H)	D	17 (H)	22 (H)	D	D
7	23	AS	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	14 (D)	D	19 (H)	20 (H)	D	30 (H)	30 (H)	D	18 (H)	30 (H)	D	18 (H)	22 (H)	18 (O)	D
8	26	AS	<i>Pseudomonas mendocina</i>	D	D	25 (H)	24 (H)	D	30 (H)	D	D	22 (H)	24 (H)	D	D	26 (H)	15 (O)	D
9	28	ÇS	<i>Pseudomonas putida</i>	D	D	18 (H)	15 (O)	D	21 (H)	D	D	16 (O)	18 (H)	D	13 (O)	D	12 (D)	D
10	29	ÇS	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	D	D	D	20 (H)	D	23 (H)	23 (H)	D	D	19 (H)	D	D	D	D	D
11	5	A3	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	D	D	22 (H)	18 (H)	D	20 (H)	D	D	20 (H)	22 (H)	D	21 (H)	D	15 (O)	D
12	14	A2S	<i>Aeromonas sobria</i>	13 (D)	34 (H)	13 (O)	24 (H)	14 (O)	24 (H)	22 (H)	D	12 (D)	14 (O)	D	11 (D)	28 (H)	D	D
13	26	A3S	<i>Bordetella hinzii</i>	22 (H)	D	D	39 (H)	D	48 (H)	30 (H)	D	28 (H)	18 (H)	14 (D)	21 (H)	38 (H)	18 (O)	D
14	5	C-HL	<i>Delftia acidovorans</i>	20 (H)	D	16 (H)	20 (H)	16 (O)	29 (H)	13 (D)	D	14 (O)	24 (H)	13 (D)	18 (H)	18 (H)	14 (D)	11 (D)
15	14	ÇS	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	D	D	20 (H)	20 (H)	20 (O)	27 (H)	D	D	D	26 (H)	D	20 (H)	D	16 (O)	D
16	16	A4S	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	D	D	12 (D)	32 (H)	D	40 (H)	D	D	22 (H)	20 (H)	D	20 (H)	D	24 (H)	D
17	17	B4S	<i>Serratia fonticola</i>	18 (D)	D	12 (D)	24 (H)	12 (D)	32 (H)	22 (H)	D	22 (H)	18 (H)	D	22 (H)	30 (H)	20 (H)	13 (D)
18	3	A5	<i>Pseudomonas putida</i>	D	D	20 (H)	18 (H)	D	18 (O)	D	D	17 (H)	20 (H)	D	15 (H)	D	14 (D)	D
19	8	B5	<i>Morganella morganii</i>	D	20 (H)	18 (H)	20 (H)	D	34 (H)	28 (H)	D	16 (O)	34 (H)	D	18 (H)	27 (H)	17 (O)	D
20	13	B5S	<i>Pantoea spp</i>	13 (D)	D	D	16 (H)	14 (O)	38 (H)	29 (H)	D	16 (O)	26 (H)	D	12 (O)	24 (H)	18 (O)	D
21	2	ÇS	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	D	12 (D)	13 (O)	20 (H)	20 (O)	33 (H)	D	D	D	23 (H)	D	D	26 (H)	D	15 (O)
22	11	A6-AB	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	12 (D)	D	18 (H)	20 (H)	14 (O)	26 (H)	32 (H)	D	13 (O)	22 (H)	D	18 (H)	26 (H)	D	D
23	15	B6S	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	14 (D)	D	15 (H)	D	18 (O)	20 (H)	30 (H)	D	20 (H)	D	D	10 (D)	28 (H)	22 (H)	D
24	25	B6	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	18 (D)	D	D	30 (H)	22 (O)	38 (H)	40 (H)	D	12 (D)	36 (H)	D	14 (O)	32 (H)	22 (H)	14 (D)
25	32	B6	<i>Aeromonas sobria</i>	D	D	15 (H)	22 (H)	D	33 (H)	22 (H)	D	14 (O)	30 (H)	D	14 (O)	26 (H)	20 (H)	D
26	1	A7-DB	<i>Aeromonas sobria</i>	20 (H)	D	20 (H)	27 (H)	25 (H)	40 (H)	32 (H)	D	D	26 (H)	D	D	27 (H)	28 (H)	D
27	9	B7-AB	<i>Shewanella putrefaciens</i>	20 (H)	D	18 (H)	26 (H)	15 (O)	36 (H)	38 (H)	12 (D)	18 (H)	24 (H)	12 (D)	10 (D)	36 (H)	24 (H)	D
28	20	A7S	<i>Serratia odorifera</i>	D	D	22 (H)	19 (H)	D	32 (H)	22 (H)	D	15 (O)	34 (H)	D	21 (H)	25 (H)	15 (O)	D
29	22	A7S	<i>Enterobacter asburiae</i>	D	D	24 (H)	20 (H)	D	34 (H)	26 (H)	D	18 (H)	36 (H)	D	20 (H)	26 (H)	15 (O)	D
30	T-1	ÇS	<i>Sphingobacterium thalpophilum</i>	18 (D)	D	16 (H)	30 (H)	D	20 (H)	20 (O)	D	D	24 (H)	D	D	40 (H)	18 (O)	D
31	3	B8-1	<i>Citrobacter freundii</i>	12 (D)	D	16 (H)	20 (H)	D	28 (H)	28 (H)	D	16 (O)	25 (H)	D	11 (D)	25 (H)	20 (H)	D
32	11	B8-6	<i>Aeromonas sobria</i>	14 (D)	D	20 (H)	20 (H)	D	28 (H)	26 (H)	D	16 (O)	20 (H)	D	12 (O)	27 (H)	18 (O)	D
33	39	A8-4	<i>Edwardsiella tarda</i>	30 (H)	D	18 (H)	24 (H)	D	38 (H)	36 (H)	D	14 (O)	28 (H)	D	16 (H)	28 (H)	24 (H)	D
34	54	Yem 5	<i>Pantoea spp.</i>	20 (H)	18 (O)	30 (H)	36 (H)	30 (H)	36 (H)	32 (H)	D	20 (H)	32 (H)	14 (D)	26 (H)	36 (H)	27 (H)	20 (H)
35	60	A8S	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	D	D	16 (H)	17 (H)	D	25 (H)	D	D	D	22 (H)	D	D	D	14 (D)	D
36	29	A8	<i>Cryseobacterium indologenes</i>	0 (D)	14 (D)	0 (D)	14 (D)	0 (D)	31 (H)	14 (D)	0 (D)	0 (D)	20 (H)	0 (D)	0 (D)	25 (H)	0 (D)	14 (D)
37	2	A9-2	<i>Salmonella spp.</i>	19 (D)	D	20 (H)	16 (H)	D	28 (H)	24 (H)	D	17 (H)	28 (H)	14 (D)	12 (O)	D	17 (O)	D
38	7	A9-3	<i>Salmonella spp.</i>	22 (H)	D	18 (H)	20 (H)	D	29 (H)	25 (H)	D	12 (D)	25 (H)	13 (D)	12 (O)	22 (H)	18 (O)	D
39	17	A9-10	<i>Salmonella spp.</i>	20 (H)	D	20 (H)	16 (H)	D	28 (H)	23 (H)	D	13 (O)	26 (H)	12 (D)	14 (O)	18 (H)	14 (D)	D
40	23	H-AK 1	<i>Klebsiella oxytoca</i>	13 (D)	D	16 (H)	18 (H)	D	28 (H)	24 (H)	D	14 (O)	20 (H)	D	15 (H)	22 (H)	18 (O)	D
41	32	H-AK 4	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	D	14 (D)	D	20 (H)	15 (O)	23 (H)	23 (H)	D	D	17 (H)	D	D	16 (O)	D	18 (H)
42	33	Yem 7	<i>Klebsiella pneumoniae ozaenae</i>	24 (H)	18 (O)	24 (H)	28 (H)	30 (H)	40 (H)	36 (H)	D	20 (H)	30 (H)	28 (H)	20 (H)	34 (H)	10 (D)	25 (H)
43	37	A9S	<i>Citrobacter braakii</i>	15 (D)	D	22 (H)	21 (H)	13 (D)	34 (H)	30 (H)	D	15 (O)	30 (H)	D	14 (O)	28 (H)	18 (O)	D
44	38	A9S	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	D	D	17 (H)	22 (H)	14 (O)	32 (H)	31 (H)	D	15 (O)	30 (H)	D	15 (H)	22 (H)	20 (H)	D
45	43	ÇS	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	D	D	18 (H)	17 (H)	D	25 (H)	D	D	D	20 (H)	D	15 (H)	D	13 (D)	D
ATCC25922				17 (D)	0 (D)	20 (H)	23 (H)	10 (D)	34 (H)	24 (H)	0 (D)	18 (H)	32 (H)	0 (D)	22 (H)	25 (H)	20 (H)	0 (D)

AMX: Amoksisilin CC: Klindamisin CN: Gentamisin DO: Doksisisiklin E: Eritromisin ENR: Enrofloksasin FFC: Florfenikol L: Linkomisin N: Neomisin
P: Penisilin OFX: Ofloksasin S: Streptomisin SXT: Sulfametoksazol trimetoprim T: Oksitetrasiklin VA: Vankomisin
H: Duyarlı O: Kısmî duyarlı D: Dirençli

EK 4. Gram pozitif basillerin antibakteriyel ilaç duyarlılıkları.

No	İzolat No	Örnek	İzolat Adı	AMX	CC	CN	DO	E	ENR	FFC	L	N	OFX	P	S	SXT	T	VA
1	8	B2	<i>Bacillus clausii</i>	34 (H)	D	24 (H)	28 (H)	20 (O)	32 (H)	34 (H)	D	20 (H)	30 (H)	30 (H)	20 (H)	44 (H)	22 (H)	21 (H)
2	10	B3	<i>B. subtilis/</i>	32 (H)	28 (H)	30 (H)	30 (H)	30 (H)	34 (H)	32 (H)	34 (H)	32 (H)	28 (H)	D	32 (H)	36 (H)	30 (H)	22 (H)
3	11	B3	<i>amyloliquefaciens/atroph</i>	20 (H)	D	17 (H)	29 (H)	D	32 (H)	32 (H)	D	20 (H)	24 (H)	28 (H)	20 (H)	42 (H)	20 (H)	20 (H)
4	25	A3S	<i>Bacillus pumilus</i>	D	12 (D)	20 (H)	28 (H)	14 (O)	39 (H)	34 (H)	D	28 (H)	14 (O)	D	D	40 (H)	16 (O)	22 (H)
5	1	A5	<i>Bacillus subtilis/</i>	28 (H)	D	17 (H)	34 (H)	30 (H)	30 (H)	30 (H)	D	24 (H)	14 (O)	26 (H)	26 (H)	26 (H)	22 (H)	22 (H)
6	6	ÇS	<i>Bacillus megaterium</i>	D	20 (H)	24 (H)	30 (H)	16 (O)	26 (H)	32 (H)	D	18 (H)	20 (H)	D	22 (H)	D	21 (H)	18 (H)
7	12	A6-AB	<i>mycoides/thuringiensis</i>	D	D	16 (H)	14 (O)	15 (O)	24 (H)	32 (H)	D	18 (H)	20 (H)	D	14 (O)	D	16 (O)	16 (O)
8	19	A6-DB	<i>Bacillus cereus/</i>	D	15 (D)	14 (O)	20 (H)	D	24 (H)	28 (H)	D	16 (O)	22 (H)	D	D	D	14 (D)	18 (H)
9	28	B6	<i>mycoides/thuringiensis</i>	D	D	30 (H)	37 (H)	20 (O)	34 (H)	15 (D)	D	30 (H)	30 (H)	D	25 (H)	34 (H)	22 (H)	26 (H)
10	29	B6	<i>Bacillus fortis</i>	D	22 (H)	26 (H)	32 (H)	32 (H)	26 (H)	30 (H)	D	20 (H)	20 (H)	34 (H)	D	34 (H)	20 (H)	22 (H)
11	11	B7-AB	<i>Lysinibacillus sphaericus/</i>	22 (H)	20 (H)	26 (H)	33 (H)	18 (O)	30 (H)	30 (H)	D	25 (H)	26 (H)	21 (O)	24 (H)	36 (H)	25 (H)	21 (H)
12	19	ÇS	<i>fuciformis</i>	18 (D)	18 (O)	24 (H)	30 (H)	30 (H)	38 (H)	30 (H)	D	21 (H)	22 (H)	16 (D)	20 (H)	36 (H)	22 (H)	22 (H)
13	4	A9-2	<i>Bacillus cereus/</i>	D	15 (D)	20 (H)	17 (H)	14 (O)	27 (H)	30 (H)	D	14 (O)	22 (H)	D	21 (H)	D	16 (O)	12 (D)
14	20	B9-4	<i>mycoides/thuringiensis</i>	24 (H)	20 (H)	24 (H)	30 (H)	22 (O)	34 (H)	28 (H)	D	22 (H)	28 (H)	16 (D)	22 (H)	34 (H)	20 (H)	26 (H)
15	34	Yem	<i>Brevibacillus choshinensis</i>	D	20 (H)	24 (H)	17 (H)	22 (O)	27 (H)	30 (H)	D	14 (O)	14 (O)	D	21 (H)	D	30 (H)	18 (H)
			<i>Bacillus smithii</i>	D	20 (H)	24 (H)	17 (H)	22 (O)	27 (H)	30 (H)	D	14 (O)	14 (O)	D	21 (H)	D	30 (H)	18 (H)

AMX: Amoksisilin CC: Klindamisin CN: Gentamisin DO: Doksisiklin E: Eritromisin ENR: Enrofloksasin FFC: Florfenikol L: Linkomisin N: Neomisin
P: Penisilin OFX: Ofloksasin S: Streptomisin SXT: Sulfametoksazol trimetoprim T: Oksitetrasiklin VA: Vankomisin
H: Duyarlı O: Kısmî duyarlı D: Dirençli

EK 5. Gram pozitif kokların antibakteriyel ilaç duyarlılıkları.

No	İzolat No	Örnek	İzolat Adı	AMX	CC	CN	DO	E	ENR	FFC	L	N	OFX	P	S	SXT	T	VA
1	6	A-3	<i>Micrococcus lylae</i>	32 (H)	16 (O)	16 (H)	29 (H)	24 (H)	26 (H)	34 (H)	14 (D)	16 (O)	17 (H)	32 (H)	16 (H)	30 (H)	22 (H)	15 (O)
2	10	A-5	<i>Micrococcus lylae</i>	28 (H)	28 (H)	26 (H)	30 (H)	30 (H)	30 (H)	32 (H)	D	28 (H)	34 (H)	30 (H)	24 (H)	36 (H)	36 (H)	D
3	14	A-8	<i>Granulicatella adiacens</i>	14 (D)	20 (H)	14 (O)	28 (H)	13 (D)	30 (H)	32 (H)	16 (D)	10 (D)	20 (H)	13 (D)	D	28 (H)	20 (H)	13 (D)
4	4	A3	<i>Kocuria rhizophila</i>	D	D	D	24 (H)	18 (O)	30 (H)	12 (D)	D	18 (H)	24 (H)	D	18 (H)	26 (H)	20 (H)	D
5	9	D-HL	<i>Enterococcus gallinarum</i>	28 (H)	D	15 (H)	32 (H)	17 (O)	17 (O)	24 (H)	D	11 (D)	14 (O)	26 (H)	12 (O)	26 (H)	16 (O)	20 (H)
6	12	B5S	<i>Staphylococcus aureus</i>	10 (D)	22 (H)	16 (H)	26 (H)	22 (O)	30 (H)	25 (H)	18 (D)	12 (D)	20 (H)	D	12 (O)	24 (H)	22 (H)	15 (O)
7	4	ÇS	<i>Kocuria kristinae</i>	24 (H)	18 (O)	14 (O)	22 (H)	20 (O)	D	20 (O)	14 (D)	D	D	38 (H)	12 (O)	18 (H)	15 (O)	20 (H)
8	5	ÇS	<i>Aerococcus viridans</i>	28 (H)	D	18 (H)	30 (H)	20 (O)	32 (H)	22 (H)	D	D	18 (H)	26 (H)	14 (O)	18 (H)	24 (H)	20 (H)
9	15	B7-GK	<i>Micrococcus luteus</i>	30 (H)	27 (H)	30 (H)	36 (H)	26 (H)	23 (H)	40 (H)	20 (D)	24 (H)	16 (H)	40 (H)	22 (H)	26 (H)	30 (H)	20 (H)
10	2	B8-1	<i>Kocuria rosea</i>	16 (D)	D	18 (H)	23 (H)	14 (O)	27 (H)	D	D	14 (O)	24 (H)	D	16 (H)	D	15 (O)	D
11	37	A8-3	<i>Staphylococcus equorum</i>	29 (H)	12 (D)	23 (H)	26 (H)	D	21 (H)	25 (H)	D	20 (H)	18 (H)	16 (D)	18 (H)	26 (H)	20 (H)	15 (O)
12	19	B9-3	<i>Micrococcus lylae</i>	30 (H)	32 (H)	D	30 (H)	D	22 (H)	24 (H)	12 (D)	16 (O)	15 (O)	22 (O)	18 (H)	D	14 (D)	15 (O)
		ATCC29212	<i>Enterococcus faecalis</i>	22 (H)	0 (D)	19 (H)	23 (H)	13 (D)	25 (H)	24 (H)	0 (D)	15 (O)	19 (H)	14 (D)	15 (O)	35 (H)	11 (D)	20 (H)
		ATCC25923	<i>Staphylococcus aureus</i>	28 (H)	24 (H)	23 (H)	28 (H)	25 (H)	30 (H)	27 (H)	25 (H)	18 (H)	19 (H)	16 (D)	20 (H)	32 (H)	20 (H)	17 (O)

AMX: Amoksisilin CC: Klindamisin CN: Gentamisin DO: Doksisiklin E: Eritromisin ENR: Enrofloksasin FFC: Florfenikol L: Linkomisin N: Neomisin
P: Penisilin OFX: Ofloksasin S: Streptomisin SXT: Sulfametoksazol trimetoprim T: Oksitetrasiklin VA: Vankomisin
H: Duyarlı O: Kısmî duyarlı D: Dirençli

EK 6. Gram ve morfolojik karakterine göre izolatların antibakteriyel ilaç duyarlılık ve dirençlilik oranları.

İzolat Adı	AMX	CC	CN	Do	E	ENR	FFC	L	N	OFX	P	S	SXT	T	VA
Gr- Basil															
Duyarlı izolat N	11	2	33	39	3	44	31	0	16	42	1	20	34	14	3
Orta duyarlı izolat N	0	2	3	3	11	1	2	0	15	1	0	11	1	16	1
Dirençli izolat N	34	41	9	3	31	0	12	45	14	2	44	14	10	15	41
Duyarlılık oranı (%)	24,4	4,4	73,3	86,7	6,7	97,8	68,9	0	35,6	93,3	2,2	44,4	75,6	31,1	6,7
Dirençlilik oranı (%)	75,6	91,1	20,0	6,7	68,9	0	26,7	100	31,1	4,4	97,8	31,1	22,2	33,3	91,1
Gr+ Basil															
Duyarlı izolat N	6	6	14	14	4	15	14	1	12	12	4	11	10	11	13
Orta duyarlı izolat N	0	1	1	1	9	0	0	0	3	3	1	1	0	3	1
Dirençli izolat N	9	8	0	0	2	0	1	14	0	0	10	3	5	1	1
Duyarlılık oranı (%)	40	40	93,3	93,3	26,7	100	93,3	6,7	80	80	26,7	73,3	66,7	73,3	86,7
Dirençlilik oranı (%)	60	53,3	0	0	13,4	0	6,7	93,3	0	0	66,7	20	33,3	6,7	6,7
Gr+ Kok															
Duyarlı izolat N	8	5	8	12	3	10	9	0	4	9	6	7	10	8	4
Orta duyarlı izolat N	0	2	2	0	6	1	1	0	3	2	1	4	0	3	4
Dirençli izolat N	4	5	2	0	3	1	2	12	5	1	5	1	2	1	4
Duyarlılık oranı (%)	66,7	41,7	66,7	100	33,3	83,3	75	0	33,3	75	50	58,3	83,3	66,7	33,3
Dirençlilik oranı (%)	33,3	41,7	16,7	0	33,3	8,3	16,7	100	41,7	8,3	41,7	8,3	16,7	8,3	33,3
Toplam duyarlı N	25	13	55	65	10	69	54	1	32	63	11	38	54	33	20
Toplam orta duyarlı N	0	5	6	4	26	2	3	0	21	6	2	16	1	21	6
Toplam dirençli N	47	54	11	3	36	1	15	71	19	3	59	18	17	17	46
Toplam duyarlılık (%)	34,7	18,1	76,4	90,3	13,9	95,8	75,0	1,4	44,4	87,5	15,3	52,8	75,0	45,8	27,8
Toplam dirençlilik (%)	65,3	75,0	15,3	4,2	50,0	1,4	20,8	98,6	26,4	4,2	81,9	25,0	23,6	23,6	63,9

N: İzolat sayısı

AMX: Amoksisilin CC: Klindamisin CN: Gentamisin DO: Doksisiklin E: Eritromisin ENR: Enrofloksasin FFC: Florfenikol L: Linkomisin N: Neomisin
P: Penisilin OFX: Ofloksasin S: Streptomisin SXT: Sulfametoksazol trimetoprim T: Oksitetrasiklin VA: Vankomisin

EK 7. Gram negatif izolatlara göre antibakteriyel duyarlılık ve MAR endeksi değerleri.

No	İzolat No	Örnek	İzolat Adı	AMX	CC	CN	DO	E	ENR	FFC	L	N	OFX	P	S	SXT	T	VA	D	O	H	MAR
1	5	A3	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	D	D	H	H	D	H	D	D	H	H	D	H	D	O	D	8	1	6	0,53
2	12	A-8	<i>Aeromonas sobria</i>	D	D	O	H	D	H	H	D	D	H	D	D	H	H	D	8	1	6	
3	23	AS	<i>A.hydrophila/caviae</i>	D	D	H	H	D	H	H	D	H	H	D	H	H	O	D	6	1	8	
4	14	A2S	<i>Aeromonas sobria</i>	D	H	O	H	O	H	H	D	D	O	D	D	H	D	D	7	3	5	
5	16	A4S	<i>A. hydrophila/caviae</i>	D	D	D	H	D	H	D	D	H	H	D	H	D	H	D	9	0	6	
6	11	A6-AB	<i>A. hydrophila/caviae</i>	D	D	H	H	O	H	H	D	O	H	D	H	H	D	D	6	2	7	
7	15	B6S	<i>A. hydrophila/caviae</i>	D	D	H	D	O	H	H	D	H	D	D	D	H	H	D	8	1	6	
8	32	B6	<i>Aeromonas sobria</i>	D	D	H	H	D	H	H	D	O	H	D	O	H	H	D	6	2	7	
9	1	A7-DB	<i>Aeromonas sobria</i>	H	D	H	H	H	H	H	D	D	H	D	D	H	H	D	6	0	9	
10	11	B8-6	<i>Aeromonas sobria</i>	D	D	H	H	D	H	H	D	O	H	D	O	H	O	D	6	3	6	
11	38	A9S	<i>A. hydrophila/caviae</i>	D	D	H	H	O	H	H	D	O	H	D	H	H	H	D	5	2	8	
Toplam																			67	15	68	0,44
Duyarlı N				1	1	7	9	1	10	9	0	3	8	0	4	9	6	0				
Orta duyarlı N				0	0	2	0	4	0	0	0	4	1	0	2	0	2	0				
Dirençli N				9	9	1	1	5	0	1	10	3	1	10	4	1	2	10				
% H				10	10	70	90	10	100	90	0	30	80	0	40	90	60	0				
% D				90	90	10	10	50	0	10	100	30	10	100	40	10	20	100				
12	26	A3S	<i>Bordetella hinzii</i>	H	D	D	H	D	H	H	D	H	H	D	H	H	O	D	6	1	8	0,4
13	29	A8	<i>Cryseobacterium indolgenes</i>	D	D	D	D	D	H	D	D	D	H	D	D	H	D	D	12	0	3	0,8
14	3	B8-1	<i>Citrobacter freundii</i>	D	D	H	H	D	H	H	D	O	H	D	D	H	H	D	7	1	7	
15	37	A9S	<i>Citrobacter braakii</i>	D	D	H	H	D	H	H	D	O	H	D	O	H	O	D	6	3	6	
Toplam																			13	4	13	0,43
16	5	C-HL	<i>Delftia acidovorans</i>	H	D	H	H	O	H	D	D	O	H	D	H	H	D	D	6	2	7	0,4
17	39	A8-4	<i>Edwardsiella tarda</i>	H	D	H	H	D	H	H	D	O	H	D	H	H	H	D	5	1	9	0,33
18	32	H-AK 4	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	D	D	D	H	O	H	H	D	D	H	D	D	O	D	H	8	2	5	0,53
19	22	A7S	<i>Enterobacter asburiae</i>	D	D	H	H	D	H	H	D	H	H	D	H	H	O	D	6	1	8	0,4
20	4	A-1	<i>Escherichia coli</i>	H	D	H	H	D	H	H	D	H	H	D	D	H	H	D	6	0	9	
21	13	A-8	<i>Escherichia coli</i>	D	D	H	H	D	H	H	D	H	H	D	O	H	H	D	6	1	8	
Toplam																			12	1	17	0,4

N: İzolat sayısı H: Duyarlı O: Kısmî duyarlı D: Dirençli

AMX: Amoksisilin CC: Klindamisin CN: Gentamisin DO: Doksisisiklin E: Eritromisin ENR: Enrofloksasin FFC: Florfenikol L: Linkomisin N: Neomisin

P: Penisilin OFX: Ofloksasin S: Streptomisin SXT: Sulfametoksazol trimetoprim T: Oksitetrasiklin VA: Vankomisin

EK 7.-Devamı.

No	İzolat No	Örnek	İzolat Adı	AMX	CC	CN	DO	E	ENR	FFC	L	N	OFX	P	S	SXT	T	VA	D	O	H	MAR
22	23	H-AK 1	<i>Klebsiella oxytoca</i>	D	D	H	H	D	H	H	D	O	H	D	H	H	O	D	6	2	7	
23	33	Yem 7	<i>K. pneumoniae ozaenae</i>	H	O	H	H	H	H	H	D	H	H	H	H	H	D	H	2	1	12	
Toplam																			8	3	19	0,27
24	8	B5	<i>Morganella morganii</i>	D	H	H	H	D	H	H	D	O	H	D	H	H	O	D	5	2	8	0,33
25	13	B5S	<i>Pantoea spp</i>	D	D	D	H	O	H	H	D	O	H	D	O	H	O	D	6	4	5	
26	54	Yem 5	<i>Pantoea spp.</i>	H	O	H	H	H	H	H	D	H	H	D	H	H	H	H	2	1	12	
Toplam																			8	5	17	0,27
27	25	B6	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	D	D	D	H	O	H	H	D	D	H	D	O	H	H	D	7	2	6	0,47
28	22	AS	<i>Providencia rettgeri</i>	D	D	H	D	D	H	H	D	O	H	D	H	H	D	D	8	1	6	0,53
29	26	AS	<i>Pseudomonas mendocina</i>	D	D	H	H	D	H	D	D	H	H	D	D	H	O	D	8	1	6	
30	28	ÇS	<i>Pseudomonas putida</i>	D	D	H	O	D	H	D	D	O	H	D	O	D	D	D	9	3	3	
31	14	ÇS	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	D	D	H	H	O	H	D	D	D	H	D	H	D	O	D	8	2	5	
32	3	A5	<i>Pseudomonas putida</i>	D	D	H	H	D	O	D	D	H	H	D	H	D	D	D	9	1	5	
33	60	A8S	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	D	D	H	H	D	H	D	D	D	H	D	D	D	D	D	11	0	4	
34	43	ÇS	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	D	D	H	H	D	H	D	D	D	H	D	H	D	D	D	10	0	5	
Toplam																			55	7	28	0,61
Duyarlı N				0	0	6	5	0	5	0	0	2	6	0	3	1	0	0				
Orta duyarlı N				0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	2	0				
Dirençli N				6	6	0	0	5	0	6	6	3	0	6	2	5	4	6				
% H				0	0	100	83,3	0	83,3	0	0	33,3	100	0	50	16,7	0	0				
% D				100	100	0	0	83,3	0	100	100	50	0	100	33,3	83,3	66,7	100				

N: İzolat sayısı H: Duyarlı O: Kısmî duyarlı D: Dirençli

AMX: Amoksisilin CC: Klindamisin CN: Gentamisin DO: Doksisiklin E: Eritromisin ENR: Enrofloksasin FFC: Florfenikol L: Linkomisin N: Neomisin

P: Penisilin OFX: Ofloksasin S: Streptomisin SXT: Sulfametoksazol trimetoprim T: Oksitetrasiklin VA: Vankomisin

EK 7.-Devamı.

No	İzolat No	Örnek	İzolat Adı	AMX	CC	CN	DO	E	ENR	FFC	L	N	OFX	P	S	SXT	T	VA	D	O	H	MAR
35	1	A-1	<i>Salmonella</i> spp.	H	D	H	O	D	H	O	D	H	H	D	O	H	O	D	5	4	6	
36	3	A-1	<i>Salmonella</i> spp.	D	D	D	O	D	H	D	D	D	D	D	H	D	D	D	12	1	2	
37	2	A9-2	<i>Salmonella</i> spp.	D	D	H	H	D	H	H	D	H	H	D	O	D	O	D	7	2	6	
38	7	A9-3	<i>Salmonella</i> spp.	H	D	H	H	D	H	H	D	D	H	D	O	H	O	D	6	2	7	
39	17	A9-10	<i>Salmonella</i> spp.	H	D	H	H	D	H	H	D	O	H	D	O	H	D	D	6	2	7	
			Toplam																36	11	28	0,48
			Duyarlı N	3	0	4	3	0	5	3	0	2	4	0	1	3	0	0				
			Orta duyarlı N	0	0	0	2	0	0	1	0	1	0	0	4	0	3	0				
			Dirençli N	2	5	1	0	5	0	1	5	2	1	5	0	2	2	5				
			% H	60	0	80	60	0	100	60	0	40	80	0	20	60	0	0				
			% D	40	100	20	0	100	0	20	100	40	20	100	0	40	40	100				
40	17	B4S	<i>Serratia fonticola</i>	D	D	D	H	D	H	H	D	H	H	D	H	H	H	D	7	0	8	
	22	A7S	<i>Serratia odorifera</i>	D	D	H	H	D	H	H	D	O	H	D	H	H	O	D	6	2	7	
41			Toplam																13	2	15	0,43
42	9	B7-AB	<i>Shewanella putrefaciens</i>	H	D	H	H	O	H	H	D	H	H	D	D	H	H	D	5	1	9	0,33
43	2	ÇS	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	D	D	O	H	O	H	D	D	D	H	D	D	H	D	O	8	3	4	0,53
44	T-1	ÇS	<i>Sphingobacterium thalpophilum</i>	D	D	H	H	D	H	O	D	D	H	D	D	H	O	D	8	2	5	0,53
45	29	ÇS	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	D	D	D	H	D	H	H	D	D	H	D	D	D	D	D	11	0	4	0,73

N: İzolat sayısı H: Duyarlı O: Kısmî duyarlı D: Dirençli

AMX: Amoksisilin CC: Klindamisin CN: Gentamisin DO: Doksisiklin E: Eritromisin ENR: Enrofloksasin FFC: Florfenikol L: Linkomisin N: Neomisin

P: Penisilin OFX: Ofloksasin S: Streptomisin SXT: Sulfametoksazol trimetoprim T: Oksitetrasiklin VA: Vankomisin

EK 8. Gram pozitif basil izolatlarına göre antibakteriyel duyarlılık ve MAR endeksi değerleri.

No	İzolot No	Örnek	İzolot Adı	AMX	CC	CN	DO	E	ENR	FFC	L	N	OFX	P	S	SXT	T	VA	D	O	H	MAR
1	8	B2	<i>Bacillus clausii</i>	H	D	H	H	H	H	H	D	H	H	H	H	H	H	H	2	1	12	
2	10	B3	<i>Bacillus subtilis/</i> <i>amyloliquefaciens/atroph</i>	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	D	H	H	H	H	1	0	14	
3	11	B3	<i>Bacillus pumilus</i>	H	D	H	H	D	H	H	D	H	H	H	H	H	H	H	3	0	12	
4	25	A3S	<i>Bacillus subtilis/</i> <i>amyloliquefaciens/atroph</i>	D	D	H	H	O	H	H	D	H	O	D	D	H	O	H	5	3	7	
5	1	A5	<i>Bacillus megaterium</i>	H	D	H	H	O	H	H	D	H	O	H	H	H	H	H	2	1	12	
6	6	ÇS	<i>Bacillus cereus/</i> <i>mycoides/thuringiensis</i>	D	H	H	H	O	H	H	D	H	H	D	H	D	H	H	4	1	10	
7	12	A6-AB	<i>Bacillus cereus/</i> <i>mycoides/thuringiensis</i>	D	D	H	O	O	H	H	D	H	H	D	O	D	O	O	5	5	5	
8	19	A6-DB	<i>Bacillus cereus/</i> <i>mycoides/thuringiensis</i>	D	D	O	H	D	H	H	D	O	H	D	D	D	D	H	8	2	5	
9	28	B6	<i>Bacillus fortis</i>	D	D	H	H	O	H	H	D	H	H	D	H	H	H	H	5	1	9	
10	11	B7-AB	<i>Bacillus cereus/</i> <i>mycoides/thuringiensis</i>	H	H	H	H	O	H	H	D	H	H	O	H	H	H	H	1	2	12	
11	19	ÇS	<i>Bacillus cereus/</i> <i>mycoides/thuringiensis</i>	D	O	H	H	H	H	H	D	H	H	D	H	H	H	H	3	1	11	
12	4	A9-2	<i>Bacillus cereus/</i> <i>mycoides/thuringiensis</i>	D	D	H	H	O	H	H	D	O	H	D	H	D	O	D	6	3	6	
13	34	Yem	<i>Bacillus smithii</i>	D	H	H	H	O	H	H	D	O	O	D	H	D	H	H	4	3	8	
Toplam				5	4	12	12	3	13	12	1	10	10	3	10	8	9	11	49	23	123	0,25
Duyarlı N				0	1	1	1	8	0	0	0	3	3	1	1	0	3	1				
Orta N				8	8	0	0	2	0	1	12	0	0	9	2	5	1	1				
Dirençli N				38,5	30,8	92,3	92,3	23,1	100	92,3	7,7	76,9	76,9	23,1	76,9	61,5	69,2	84,6				
% H				61,5	61,5	0	0	15,3	0	7,7	92,3	0	0	69,2	15,3	38,5	7,7	7,7				
% D																						
14	29	B6	<i>Lysinibacillus sphaericus/</i> <i>fuciformis</i>	D	H	H	H	H	H	H	D	H	H	H	D	H	H	H	3	0	12	0,2
15	20	B9-4	<i>Brevibacillus choshinensis</i>	H	H	H	H	O	H	H	D	H	H	D	H	H	H	H	2	1	12	0,13

N: İzolat sayısı

AMX: Amoksisilin CC: Klindamisin CN: Gentamisin DO: Doksisiklin E: Eritromisin ENR: Enrofloksasin FFC: Florfenikol L: Linkomisin N: Neomisin

P: Penisilin OFX: Ofloksasin S: Streptomisin SXT: Sulfametoksazol trimetoprim T: Oksitetrasiklin VA: Vankomisin

EK 9. Gram pozitif kok izolatlarına göre antibakteriyel duyarlılık ve MAR endeksi değerleri.

No	İzolat No	Örnek	İzolat Adı	AMX	CC	CN	DO	E	ENR	FFC	L	N	OFX	P	S	SXT	T	VA	D	O	H	MAR
1	5	ÇS	<i>Aerococcus viridans</i>	H	D	H	H	O	H	H	D	D	H	H	O	H	H	H	3	2	10	0,2
2	9	D-HL	<i>Enterococcus gallinarum</i>	H	D	H	H	O	O	H	D	D	O	H	O	H	O	H	3	5	7	0,2
3	14	A-8	<i>Granulicatella adiacens</i>	D	H	O	H	D	H	H	D	D	H	D	D	H	H	D	7	1	7	0,47
4	4	A3	<i>Kocuria rhizophila</i>	D	D	D	H	O	H	D	D	H	H	D	H	H	H	D	7	1	7	
5	4	ÇS	<i>Kocuria kristinae</i>	H	O	O	H	O	D	O	D	D	D	H	O	H	O	H	4	6	5	
6	2	B8-1	<i>Kocuria rosea</i>	D	D	H	H	O	H	D	D	O	H	D	H	D	O	D	7	3	5	
Toplam																			18	10	17	0,4
Duyarlı N				1	0	1	3	0	2	0	0	1	2	1	2	2	1	1				
Orta duyarlı N				0	1	1	0	3	0	1	0	1	0	0	1	0	2	0				
Dirençli N				2	2	1	0	0	1	2	3	1	1	2	0	1	0	2				
% H				33,3	0	33,3	100	0	66,7	0	0	33,3	66,7	33,3	66,7	66,7	33,3	33,3				
% D				66,7	66,7	33,3	0	0	33,3	66,7	100	33,3	33,3	66,7	0	33,3	0	66,7				
7	6	A-3	<i>Micrococcus lylae</i>	H	O	H	H	H	H	H	D	O	H	H	H	H	H	O	1	3	11	
8	10	A-5	<i>Micrococcus lylae</i>	H	H	H	H	H	H	H	D	H	H	H	H	H	H	D	2	0	13	
9	15	B7-GK	<i>Micrococcus luteus</i>	H	H	H	H	H	H	H	D	H	H	H	H	H	H	H	1	0	14	
10	19	B9-3	<i>Micrococcus lylae</i>	H	H	D	H	D	H	H	D	O	O	O	H	D	D	O	5	4	6	
Toplam																			9	7	44	0,15
Duyarlı N				4	3	3	4	3	4	4	0	2	3	3	4	3	3	1				
Orta duyarlı N				0	1	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	0	0	2				
Dirençli N				0	0	1	0	1	0	0	4	0	0	0	0	1	1	1				
% H				100	75	75	100	75	100	100	0	50	75	75	100	75	75	25				
% D				0	0	25	0	25	0	0	100	0	0	0	0	25	25	25				
11	12	B5S	<i>Staphylococcus aureus</i>	D	H	H	H	O	H	H	D	D	H	D	O	H	H	O	4	3	8	
12	37	A8-3	<i>Staphylococcus equorum</i>	H	D	H	H	D	H	H	D	H	H	D	H	H	H	O	4	1	10	
Toplam																			8	4	18	0,27

N: İzolat sayısı

AMX: Amoksisilin CC: Klindamisin CN: Gentamisin DO: Doksisisiklin E: Eritromisin ENR: Enrofloksasin FFC: Florfenikol L: Linkomisin N: Neomisin

P: Penisilin OFX: Ofloksasin S: Streptomisin SXT: Sulfametoksazol trimetoprim T: Oksitetrasiklin VA: Vankomisin

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Gülşah DÖKENEL

Doğum Tarihi : 19.02.1991

E-mail : yl20141918@mersin.edu.tr

Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Su Ürünleri Fakültesi	Mersin Üniversitesi	2009-2013
Lisans	İktisat	Anadolu Üniversitesi	2010-2014
Önlisans	Adalet	Anadolu Üniversitesi	2014-2017
Yüksek Lisans	Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri ABD	Mersin Üniversitesi	2014-2018

ESERLER (Bildiriler)

1. Özer, S., N. Delialioğlu, S. Tezcan Ülger, Ş. Delioğlu, **G. Dökenel** ve N. Göçmen, “Tatlısuda yetiştirilen levrek balıklarında (*Dicentrarchus labrax*) *Aeromonas sobria* izolasyonu ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi”, 18. Ulusal Su ürünleri Sempozyumu, poster, 398, İzmir, (1-4.9.2015).
2. Özer, S. ve **G. Dökenel**, “Yetiştiriciliği Yapılan Kurbağaların Hastalıkları”, 19. Ulusal Su ürünleri Sempozyumu, sözlü sunum, 51, Sinop, (12-15.10.2017).