

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**TUNCELİ İLİNDEKİ ALABALIKLARDA AEROMONAS TÜRLERİNİN
MALDI-TOF MS YÖNTEMİYLE İDENTİFİKASYONU**

Çilem SEVGÜL TÜTMEZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ülkü ÖZBEY

2. DANIŞMAN
Prof. Dr. Gökben ÖZBEY

TUNCELİ - 2023

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TUNCELİ İLİNDEKİ ALABALIKLARDA AEROMONAS TÜRLERİNİN
MALDI-TOF MS YÖNTEMİYLE İDENTİFİKASYONU

Çilem SEVGÜL TÜTMEZ
(200010025)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ülkü ÖZBEY

2. DANIŞMAN
Prof. Dr. Gökben ÖZBEY

TUNCELİ - 2023

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**TUNCELİ İLİNDEKİ ALABALIKLARDA AEROMONAS TÜRLERİNİN
MALDI-TOF MS YÖNTEMİYLE İDENTİFİKASYONU**

**Çilem SEVGÜL TÜTMEZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 10/01/2023 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oy birliği** ile kabul edilmiştir.

İmza
Prof. Dr. Ülkü ÖZBEY
(Munzur Üniversitesi)

**BAŞKAN
DANIŞMAN**

İmza
Prof. Dr. Barış OTLU
(İnönü Üniversitesi)

ÜYE

İmza
Doç. Dr. Önder AKSU
(Munzur Üniversitesi)

ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Murat KORUNUR
Enstitü Müdürü

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: YLMUB021-02

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, sekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı ‘Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu’ndaki hükümlere tabidir.

10/01/2023

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İmza
Çilem SEVGÜL TÜTMEZ

Danışman
Prof. Dr. Ülkü ÖZBEY

TEŞEKKÜR

“Tunceli İlindeki Alabalıklarda Aeromonas Türlerinin MALDI-TOF MS Yöntemiyle İdentifikasyonu” isimli yüksek lisans tez çalışmam sürecinde ve akademik eğitimimde engin deneyimleri ile bilgi birikimlerini, fikirlerini paylaşmasından, çalışmamın gelişmesine, eğitime katkı sağlamalarından ve bilimsel katkılarıyla bana destek olan, bilgilerinden, deneyimlerinden yararlanırken gösterdiği hoşgörü ve desteklerinden ötürü saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Ülkü ÖZBEY’e, çalışmalarım esnasında materyallerin hazırlanması sürecinde bilgi, tecrübe ve desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Önder AKSU’ya, laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Barış OTLU ve Uzm. Dr. Elif Seren TANRIVERDİ’ye, istatistik bilgilerinden faydalandığım Noyan PAMUKÇU ve Uzm. Hemşire Yeşim PAMUKÇU’ya, çalışmalarımın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen eşim Opr. Dr. Aydın TÜTMEZ’e teşekkür eder, saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmama, YLMUB021-02 nolu proje kapsamında maddi destek sağlayan Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine de ayrıca teşekkür ederim.

Tez çalışmamı; Tunceli ili için kültürel ve doğal miras olan Munzur Nehri’ne adıyorum.

Çilem SEVGÜL TÜTMEZ
TUNCELİ - 2023

İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ	V
TABLolar LİSTESİ	VI
RESİMLER LİSTESİ	VII
SEMBOLLER LİSTESİ	VIII
KISALTIMLAR LİSTESİ	IX
ÖZET	X
ABSTRACT	XI
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Su Ürünleri Yetiştiriciliği Tarihçesi	1
1.2. Dünyada Su Ürünleri Üretiminin Mevcut Durumu.....	3
1.3. Türkiye’de Su Ürünleri Üretiminin Mevcut Durumu.....	4
1.4. Tunceli İlinde Su Ürünleri Yetiştiriciliğinin Mevcut Durumu	7
1.5. Gökkuşluğu Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	9
1.6. Gökkuşluğu Alabalığı’nda Görülen Bakteriyel Hastalıklar.....	10
1.7. <i>Aeromonas</i> Cinsi Bakterilerin Genel Özellikleri.....	13
1.8. <i>Aeromonas</i> Türleri	13
1.9. Hareketli <i>Aeromonas</i> ’larda Kontaminasyon	15
1.10. <i>Aeromonas</i> Türleri’nin İnsanlarda Neden Olduğu Hastalıklar.....	15
1.11. <i>Aeromonas</i> Türleri’nin Balıklarda Neden Olduğu Hastalıklar.....	16
1.12. <i>Aeromonas</i> Türlerinin Görüldüğü Mevsimler	17
1.13. Besin Kaynaklarında <i>Aeromonas</i> ’lar.....	18
1.14. <i>Aeromonas</i> Türlerinin Tanımlanmasında Kullanılan Moleküler Yöntemler	19
1.15. Matris Yardımlı Lazer Desorpsiyon İyonizasyon-Uçuş Zamanı Kütle Spektrometrisi (MALDI-TOF MS).....	19
1.16. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	21
1.17. Ribozomal DNA	21
1.18. <i>gyrB</i> Gen Bölgesi	22
1.19. Tezin Önemi ve Amacı.....	23
2. MATERYAL VE METOT.....	26
2.1. Materyal.....	26
2.1.1 Alınan izinler	26
2.1.2. Araştırmanın yürütüldüğü yer	26
2.1.3. Örneklerin toplanması	26
2.1.4. Kullanılan cerrahi aletler	26
2.1.5. Kullanılan cihazlar.....	27
2.1.6. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler	27
2.1.7. <i>Aeromonas</i> türlerinin izolasyon ve identifikasyonunda kullanılan besiyerleri	28
2.1.7.1. Alkali peptonlu su.....	28
2.1.7.2. <i>Aeromonas</i> agar (Oxoid CM 833)	28
2.1.7.3. Blood agar (Merck 1. 10886)	28
2.2. Metot.....	28
2.2.1. Konvansiyonel yöntemle <i>Aeromonas</i> türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu	29
2.2.2. Referans suşlar.....	31
2.2.3. Bakteri kolonilerinin sayımı	31

2.2.4. İzole edilen <i>Aeromonas</i> türlerinin MALDI-TOF MS cihazı ile tanımlanması	32
2.2.5. 16S rDNA ve <i>gyrB</i> gen bölgesinin dizi analizi	33
2.2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile DNA Amplifikasyonu	34
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	37
3.1. Bulgular	37
3.1.1. MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlanan bakteri türleri.....	37
3.1.2. MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakterilerin üretim metoduna göre dağılımları	45
3.1.3. MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakteri türlerinin aylara göre dağılımları.....	48
3.1.4. Su örneklerinin incelenmesi sonucu MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakterilerin dağılımları.....	49
3.1.5. MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakterilerin moleküler analizleri	51
3.2. Tartışma	53
3.2.1. Gökkuşuğu alabalıklarından izole edilen bakteri türleri.....	53
3.2.2. MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakterilerin üretim metoduna göre dağılımları	59
3.2.3. MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakterilerin aylara göre dağılımları.....	61
3.2.4. Su örneklerinin incelenmesi sonucu MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakterilerin dağılımları.....	62
3.2.5. MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakterilerin moleküler analizleri	64
4. SONUÇ ve ÖNERİLER	68
5. KAYNAKLAR	71

ÖZGEÇMİŞ

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 3.1.** Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan balıkların doku örneklerinde tespit edilen *Aeromonas* türlerinin dağılımı..... 45
- Şekil 3.2.** Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki ağ kafes ve beton havuzlarda Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerin üretim metoduna göre dağılımları..... 46
- Şekil 3.3.** Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden temin edilen Gökkuşığı alabalığı örneklerinde *Aeromonas spp.*’nin üretim metoduna göre görülme sıklığı..... 47
- Şekil 3.4.** Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerinde Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan balık örneklerinde tespit edilen *Aeromonas* türlerinin aylara göre dağılımı..... 49

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. 2020 yılında illere göre Türkiye’de iç sularda yapılan Gökkuşığı alabalığı üretim miktarları.....	6
Tablo 1.2. Tunceli su ürünleri yetiştiricilik tesisleri.....	8
Tablo 2.1. 16S rDNA ve <i>gyrB</i> dizi analizinde kullanılan primerler.....	33
Tablo 2.2. Polimeraz zincir reaksiyon protokolü.....	34
Tablo 2.3. 16S rDNA geninin PZR koşulları.....	34
Tablo 2.4. <i>gyrB</i> geninin PZR koşulları.....	35
Tablo 3.1. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan balık örneklerinde tespit edilen bakteri türlerinin doku örneğine, gram özelliğine ve ait olduğu familyaya göre dağılımı.....	38
Tablo 3.2. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan Gökkuşığı alabalıklarının doku örneklerinden tespit edilen <i>Aeromonas</i> spp. türlerinin dağılımı.....	44
Tablo 3.3. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden temin edilen Gökkuşığı alabalığı örneklerinde <i>Aeromonas</i> spp.’nin üretim metoduna göre görülme sıklığı.....	47
Tablo 3.4. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden <i>Aeromonas</i> spp. olarak izole edilen bakterilerin numune alınan aylara göre dağılımı.....	48
Tablo 3.5. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerin beton havuz ve ağ kafeslerinden alınan su örneklerinden izole edilen bakterilerin dağılımı.....	50
Tablo 3.6. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan balık örneklerinden MALDI TOF-MS yöntemiyle tanımlanan <i>Aeromonas</i> türlerinin MALDI TOF-MS doğruluk aralıkları.....	51
Tablo 3.7. <i>Aeromonas</i> türü bakterilerin konvansiyonel yöntem, MALDI-TOF MS, 16S rDNA dizi analiz ve <i>gyrB</i> dizi analiz sonuçlarının karşılaştırılması.....	52

RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1. Ekim yapılan petri kaplarının etüvde görünümü.....	30
Resim 2.2. Besiyerinde üreme gösteren bakteri kolonilerinin tipik görünümü.....	30
Resim 2.3. Koloni sayımı yapılan besiyerinde inkübe olan bakteri kolonilerinin görünümü.....	32



SEMBOLLER LİSTESİ

bp	: Baz çifti
cfu	: Koloni oluşturan birim
°C	: Santigrat derece
dATP	: deoksiadenozin trifosfat
dCTP	: deoksisitidin trifosfat
dGTP	: deoksiguanozin trifosfat
dTTP	: deoksitimidin trifosfat
g	: Gram
kob	: Koloni oluşturma birimi
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
ppm	: Milyonda bir birim
V	: Hacim
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre

KISALTMALAR LİSTESİ

AB	: Avrupa Birliği
ark	: Arkadaşları
BHİA	: Brain Herat Infusion Agar
BSGM	: Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü
DDJB	: Japonya Veritabanı
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EMBL	: Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FMS	: Fry Mortalite Sendromu
HES	: Hidro Elektrik Santrali
MALDI-TOF MS	: Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon İyonizasyon-Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi
M.Ö.	: Milattan Önce
O/F	: Oksidasyon / Fermantasyon
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rDNA	: Ribozomal Deoksiribonükleik asit
rRNA	: Ribozomal Rinonükleik asit
RNA	: Rinonükleik asit
NCBI-GenBank	: Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
TSA	: Trypticase Soy Agar
UNESCO	: Birleşmiş Milletler Eğitim, Bilim ve Kültür Örgütü

ÖZET

Aeromonas cinsi, son 20 yılda bir dizi taksonomik ve terminoloji revizyonlarından geçmiştir ve sürekli olarak yeni (alt) türler ve biyogruplar tanımlanmıştır. *Aeromonas* cinsi, çoğunlukla fırsatçı mikroorganizmalar olarak işlev gören otuzdan fazla Gram-negatif bakteri türünü içerir. Bu bakteriler, balık ve kabuklular gibi hayvanlardan kolayca izole edildikleri çeşitli su ekosistemlerinde doğal olarak dağılmıştır. Biyokimyasal karakterizasyon gibi standart tanımlama yöntemlerinin eksiklikleri vardır ve taksonomik konumun netleştirilmesine izin vermez. Bu çalışma, klinik ve çevresel *Aeromonas* izolatlarının hızlı bir şekilde tanımlanması için bir matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon-uçuş süresi kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) tanımlama veri tabanının geliştirilmesini açıklamaktadır.

Bu çalışmada Nisan, Mayıs, Aralık, Ocak aylarında Tunceli ili Mazgirt, Ovacık, Çemişgezek ve Pertek ilçelerinde ağ kafesler ve beton havuzlarda bulunan 16 tesisten temin edilen 200 adet Gökkuşluğu alabalığının karaciğer, bağırsak, dalak ve böbreklerinden alınan doku örnekleri, 64 adet su numunesi analiz edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, Tunceli ilindeki tatlı su balık çiftliklerinde *Aeromonas* türlerinin prevalansını ve prevalansını etkileyen faktörleri belirlemektir. Ayrıca *Aeromonas*'ın tür sınıf tayini için kullanılan MALDI-TOF MS, 16S rDNA dizileme ve housekeeping gen dizileme (*gyrB*) gibi farklı yöntemlerin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Geleneksel yöntemle izole edilen 526 şüpheli izolatın MALDI TOF-MS ile analizi sonucunda; *Basillaceae*, *Comamonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Erwiniaceae*, *Moraxellaceae*, *Nocardiaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Sthaphylococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Xanthomonadaceae*, *Yersiniaceae* ve *Aeromonadaceae* olmak üzere 13 familyaya ait 526 bakteri tanımlanmıştır. Tunceli ili Mazgirt, Ovacık, Çemişgezek ve Pertek ilçelerinde ağ kafeslerde ve beton göletlerde yetiştirilen dört ilçedeki 16 çiftlikte yapılan kesitsel çalışmada, *Aeromonas*'ın 5 türü 16S rDNA ve *gyrB* sekanslama ile teşhis edildi. Balık çiftliklerinde beş *Aeromonas* türü daha yaygındı, *A. sobria* (% 47,52) en yüksekti, bunu *A. veronii* (% 26,95), *A. media* (% 12,06) ve *A. hydrophila* (% 7,80) izledi. Daha az yaygın olan tür ise *A. salmonicida* (% 5,67) idi. *Aeromonas* türlerinin prevalansında mekansal varyasyon gözlemlendi. Çalışmamızda, *Aeromonas* türü olarak tanımlanmış 141 adet izolatın MALDI-TOF MS sonucunun doğruluk saptama oranı, cins düzeyinde tanımlamada % 100 (141 izolat) ve tür düzeyinde tanımlamada % 92,2 (130 izolat) olduğu tespit edildi. MALDI-TOF MS yönteminin moleküler analizlerde doğru ve hızlı sonuç vermesi nedeniyle kullanılması önerilmektedir. Ancak, *Aeromonas* cinsinin filogenetik çalışmalarında türler arasında ayırım yapmak için daha yüksek kapasite göstermeleri nedeniyle tür düzeyinde tanımlamada ayırım yapılamadığı noktada 16S rDNA ve *gyrB* gen dizileme yöntemlerinin daha güvenilir yöntemler olduğu kanısına varılmıştır. Ülkemizde, Yukarı Fırat havzasında ve Tunceli ilinde gökkuşluğu alabalıklarında MALDI-TOF MS yöntemiyle *Aeromonas* türlerinin tanımlanmasına yönelik yapılan bu çalışma, konusu itibarıyla öncü çalışmalardan biri olma niteliğini taşımaktadır. Çalışmamız bu alanda ileride yapılacak araştırmalar için yol gösterici olacaktır. Bu, tatlı su balık çiftliklerinde *Aeromonas* türlerinin prevalansını belirleyen ve prevalansını etkileyen faktörleri belirleyen ilk çalışmadır. Bu bilgi, balıklardaki *Aeromonas* enfeksiyonunun ve bunların halk sağlığı üzerindeki risklerinin yönetilmesinde faydalı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Aeromonas* türleri, gökkuşluğu alabalığı, 16S rDNA, MALDI-TOF MS, *gyrB*

ABSTRACT
Identification of *Aeromonas* Species in Trout in Tunceli Province By MALDI-TOF MS Method

The genus *Aeromonas* has undergone a number of taxonomic and nomenclature revisions over the past 20 years, and new (sub)species and biogroups are continuously described. The genus *Aeromonas* comprises more than thirty Gram-negative bacterial species which mostly act as opportunistic microorganisms. These bacteria are distributed naturally in diverse aquatic ecosystems, where they are easily isolated from animals such as fish and crustaceans. Standard identification methods such as biochemical characterization have deficiencies and do not allow clarification of the taxonomic position. This study describes the development of a matrix-assisted laser desorption/ionisation–time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) identification database for a rapid identification of clinical and environmental *Aeromonas* isolates.

In this study tissue, samples taken from the liver, intestine, spleen and kidneys of 200 rainbow trout obtained from 16 facilities rainbow trout in net cages and concrete ponds in Mazgirt, Ovacık, Çemişgezek and Pertek districts in Tunceli province in April, May, December, January and 64 water samples were analysed.

The aim of this study was to determine the prevalence of *Aeromonas* species in freshwater fish farms and factors affecting their prevalence in Tunceli province. In addition, it was aimed to compare the different methods such as MALDI-TOF MS, 16S rDNA sequencing and housekeeping gene sequencing (*gyrB*), method for species class identification of *Aeromonas*. As a result of the analysis with MALDI-TOF MS of 526 suspected isolates isolated by the traditional method; 526 bacteria belonging to 13 families including *Basillaceae*, *Comamonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Erwiniaceae*, *Moraxellaceae*, *Nocardiaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Sthaphylococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Xanthomonadaceae*, *Yersiniaceae* and *Aeromonadaceae* were identified. In a cross-sectional study from 16 farms in four districts of raised in net cages and concrete ponds in Mazgirt, Ovacık, Çemişgezek and Pertek districts in Tunceli province, 5 species of *Aeromonas* were identified by 16S rDNA and *gyrB* sequencing. Five species of *Aeromonas* were more prevalent (MP) in fish farms, *A. sobria* (% 47,52) was the highest, followed by *A. veronii* (% 26,95), *A. media* (% 12,06) and *A. hydrophila* (% 7,80). The less prevalent species were *A. salmonicida* (% 5,67). Spatial variation in the prevalence of *Aeromonas* species was observed. In our study, the accuracy of MALDI-TOF MS results of 141 isolates identified as *Aeromonas* species was found to be % 100 (141 isolates) at genus level and % 92,2 (130 isolates) at species level. It is recommended to use the MALDI-TOF MS method because it gives accurate and fast results in molecular analysis. However, it has been concluded that 16S rDNA and *gyrB* gene sequencing methods are more reliable methods at the point where no distinction can be made in identification at the species level due to the higher capacity to distinguish between species in phylogenetic studies of the genus *Aeromonas*. This study, conducted in our country for the identification of *Aeromonas* species by MALDI-TOF MS method in rainbow trout in the Upper Euphrates basin and Tunceli province, is one of the pioneering studies in terms of its subject. Our study will be a guide for future research in this field. This is the first study that determined the prevalence and identified the factors that affect the prevalence of *Aeromonas* species in freshwater fish farms. This information will be useful in managing *Aeromonas* infection in fish and their risks to public health.

Keywords: *Aeromonas* species, rainbow trout, 16S rDNA, MALDI-TOF MS, *gyrB*

1. GİRİŞ

1.1. Su Ürünleri Yetiştiriciliği Tarihçesi

Sucul ürünlerin yetiştiriciliği ideal çevre koşullarının kontrollü sunulmasıyla sucul organizmaların biyolojik gelişim süreçlerine göre, su kaynaklarının fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin sürdürülebilirliğini sağlayarak doğal stokları koruyan, ekonomik prensipleri dikkate alan çeşitli bilim alanları, sektörlerle ilişkili olan önemli hem üretim hem de bilim alanıdır (Güney ve Aydın, 2016). Ülkemizde, “Yetiştiricilik tesislerinde, entansif, yarı entansif veya ekstansif şartlarda yapılan, su ürünlerini üretme ve/veya büyütme (besicilik) faaliyeti” su ürünleri yetiştiriciliği olarak 29.06.2004 tarihli ve 25507 sayılı Resmi Gazete’de yayımlanarak yürürlüğe giren Su Ürünleri Yetiştiriciliği Yönetmeliği ile tanımlanmıştır (Su Ürünleri Yetiştiriciliği Yönetmeliği, 2004). Tarihi eskilere dayanan su ürünleri yetiştiriciliği Eski Mısır’da milattan önce 2500’lü yıllarda mezarlardaki resimlerde, *Tilapia* türü balıkların insanlar tarafından havuzdan çıkarılırken ki betilere; milattan sonra 1127’ler de ise Hindistan’da yapılan balık besiciliği yöntemlerini anlatan bilgilere rastlanılmıştır. Sazan balığı yetiştiriciliği ise M.Ö. 2000’li yıllardan itibaren geleneksel yöntemlerle Çin’de başlayıp Vietnam, Malezya, Filipinler, Kamboçya, Tayland’a yayılmıştır (FAO, 1987). Sucul ürünlerin yetiştiriciliğindeki çalışmaların amaçları arasında insanlar için gıda talebini karşılama, doğal stokların desteklenmesi, bilimsel araştırmalar bulunur (Çelikkale ve ark., 1999).

Yem ve üretim teknolojilerinin gelişmesiyle yetiştiricilik için uygun balık türleri ile beraber kabuklular ve diğer sucul canlıların yetiştiriciliği iç su ve denizlerde giderek artarak dünya genelinde yapılmaya başlamıştır. Nüfusun seyrek ve gıda ihtiyacının buna bağlı daha az olduğu yıllarda sucul ürün ihtiyacı avcı yöntemlerle karşılanmaktaydı. Nüfus arttıkça buna paralel artan gıda ihtiyacı, teknolojik gelişmeler, ekonominin güçlenmesi ve sağlıklı ürünlerle beslenme tercihinin artması gibi nedenlerle, iyi bir protein kaynağı olarak sucul canlıların üretim miktarları yetiştiricilikle artmıştır. Su ürünleri üreticiliğinin ekonomik, sosyal ve çevresel yönden yararları; önemli besin kaynağı olması yabancı sermayenin ülkelere girişi, istihdam, göçün azalması, sucul organizmaların sayılarının korunması, atık haldeki suların sucul bitkiler sayesinde arıtılması, tarımsal üretimde pestisit, gübre gibi ürünlerin daha az kullanılması, sucul ekosistemdeki ötrofikasyonu azaltmasıdır (Bert, 2007).

Su ürünleri yetiştirme ve av faaliyetleri dünya genelinde insanlar için hem gıda amaçlı hem de ekonomik amaçlı önemli kaynaklardır. Su ürünlerinin yetiştirilmesinde amaç balık, kabuklu deniz canlıları, yumuşakçalar ve eklem bacaklı hayvanlar, alg gibi denizel ve botaniksel canlı türlerinin ideal ortamlarda yetiştiriciliği işlemlerini kapsamaktadır (Çelikkale ve ark., 1999).

Sucul organizmaların yetiştiriciliğinin gelişmesi ile gıda üretimi ve üretim miktarı dünya genelinde önemli düzeyde artmış ve balıkçılığın kültür yöntemiyle yapılması ile sayı olarak çokça bir arada bulunmaları sonucu temaslarının artması, kültür balıklarında; diğer serbest koşullarda yaşayan balıklara göre daha çok hastalık görülmesine neden olmuştur (Arda ve ark., 2002).

Balıkların yaşam alanları olan tatlı su, deniz gibi alanların balıkların yaşamaları için gereken canlı ve cansız koşullar ile kimyasal, fiziksel ve biyolojik bileşenlerin ideal seviyelerinin değişmesi balıklarda ekonomik kayıplara neden olmakla beraber virüs, bakteri, mantar ve parazitlerin neden oldukları balık hastalıklarının gelişmesine sebebiyet verir. Balıklarda gelişen hastalıkların teşhis edilmesi ve patojen mikroorganizmaların halk sağlığı yönünden riskli olması nedenleriyle bu mikroorganizmaların tanımlanması ve yayılışlarının tespiti kültür balıkçılığında hastalıkların kontrol edilmesi açısından yön göstericidir (Wanja ve ark., 2019). Gökkuşaağı alabalığı yetiştiriciliğine ilk olarak 1879 yılında Amerikan Birleşik Devletleri'nde başlanılmış, sportif balıkçılık, gıda amaçlı, doğal stokları destekleme gibi sebeplerle de diğer ülkelerinde kültür üretimine başlamalarıyla yaygınlaşmıştır (Korun, 2015). Yaşadıkları çevre ile doğrudan etkileşimi olan alabalıklar poikloterm olduklarından sıcaktan çok etkilenirler. Sucul ekosistemde suyun fiziksel, kimyasal ve biyolojik parametreleri doğrudan balık sağlığını etkiler (Timur ve Timur, 2003).

Ekonomik amaçlı yetiştiricilik faaliyetlerine ülkemizde 1970'lerde Gökkuşaağı alabalığı (*O. mykiss*) türü ve sazan balığı (*Cyprinus carpio*) türünün kültür yöntemiyle yetiştiriciliklerinin yapılmasıyla başlanmıştır. Avrupa deniz levreği, yaldız başlı çipura türlerinin yetiştiriciliğine 1985 yılında başlanmıştır. Bölgesel olarak Karadeniz de 1990 yılında alabalık yetiştiriciliği ile Ege ve Akdeniz'de ise 2000 yılında orkinos yetiştiriciliğine başlanarak ülkemizde kültür yöntemiyle su ürünleri yetiştiriciliği artmıştır (Güney ve Aydın, 2016).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde sudaki kirlilik yükü, balıkların sayılarının fazla olması halinde artan temas ve suyun fiziksel, kimyasal, biyolojik ve diğer fizyolojik

parametrelerinin bozulması gibi etkilerle balıklarda hastalık gelişmesi ve yayılması kolaylaşır. Balık sağlığını etkileyen bu durum işletme ekonomisine de zarar verir (Snieszko ve Axelrod, 1971; Alpbaz, 2005). Su ürünleri yetiştiriciliğinde öncel amaçların başında balıkların sağlıklı koşullarda yaşamasını sağlayarak gelişme ve büyümesine yardımcı olarak yumurtadan satış boyuna ulaşana kadar hastalanmamalarını sağlamak gelir. Suların sahip olduğu parametreler denizlerde sabit olmasına karşın, akvaryum, havuz, kuluçkahanelerde kullanılan suyun özellikleri farklılaşabilir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde karşılaşılan en önemli sorun balıklarda hastalık görülmesi olup gelişen hastalıklar balık ve çevresel etkenlerin birlikte etkileşimleri sonucu oluşmaktadır (Jeeva ve ark., 2013).

Bakteri, mantar, virüs ve parazitlerin patojen etkileri ile oluşan hastalıkların görülme sıklığı Gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliğindeki üretim miktarının artmasıyla paralel olarak artmıştır (Nya ve Austin, 2009). *Aeromonas* cinsine ait bir bakteri türü olan *A. hydrophila*, psikotrof bir bakteridir ve gıda kaynaklı bir patojen olma potansiyeli ile ekotoksinler, sitotoksinler ve bazı farklı virülans faktörlerini üretmektedir. Soğutulma ve soğukta muhafaza edildiğinde gıdalarda gelişebilmekte ve toksin oluşturabildiğinden gıdalarda *A. hydrophila* varlığının araştırılması gerektiği önerilmektedir (Daskalov, 2006). *A. hydrophila*'nın içme suları, kullanma ve yüzey suları ile balık, kırmızı et, kanatlı eti, süt ve süt ürünlerinde yüksek miktarda izole edilmiştir (İşleyici ve ark., 2006).

1.2. Dünyada Su Ürünleri Üretiminin Mevcut Durumu

Günümüzde uluslararası bir endüstri haline gelen su ürünleri yetiştiriciliği yüzbinlerle ifade edilecek sayıda olan üretim tesislerinde 598 adet sucul türün üretimi yapılmaktadır. Bu türler; 369 balık, 109 molluska, 64 kabuklu, 7 amfibik tür, 9 omurgasız hayvan türü ve 40 alg türüdür. Toplam sucul ürünlerin üretimi içerisinde yetiştiricilik yoluyla elde edilen ürünlerin üretim miktarı giderek artmaktadır. 2017 yılı dünya su ürünleri üretim miktarına bakıldığında üretimi yapılan ürünlerin çoğunun yetiştiricilik yöntemiyle sağlandığı görülmektedir. 1950 yılında bu oran % 3'ler de iken bugün ise % 55 civarındadır. Dünyada kıtalara ve en fazla üretim yapılan ülkesine göre su ürünleri yetiştiriciliğinin üretim miktarlarına bakıldığında Afrika kıtasında Mısır, Amerika kıtasında Şili, Asya kıtasında Çin, Avrupa kıtasında Norveç, Okyanusya kıtasında ise Yeni Zelanda gelmektedir. Çin su ürünleri yetiştiricilik üretiminde birinci sıradaki ülke olarak 64 milyon ton yapmış olup ikinci sırada Endonezya 16 milyon ton ve Hindistan 6 milyon

ton üretim yaparak üçüncü ülke olmuştur. Asya kıtasından sonra en çok su ürünleri yetiştiriciliği yapılan kıta Amerika ve Avrupa kıtalarıdır. Amerika kıtasındaki su ürünleri yetiştiricilik üretiminde ilk ülke Şili 1 milyon ton üretim yaparak, Brezilya 0,6 milyon ton üretim yaparak ikinci ülke ve Ekvator ise 0,5 milyon ton üretim yaparak üçüncü ülke olmuştur. Avrupa kıtasında su ürünleri yetiştiricilik üretiminde birinci sırada Norveç 1,3 milyon ton, ikinci sırada İspanya 0,3 milyon ton ve üçüncü sırada Birleşik Krallık ise 0,2 milyon ton üretim yapmıştır (FAO, 2021).

1.3. Türkiye’de Su Ürünleri Üretiminin Mevcut Durumu

Dünya nüfusu arttıkça protein ihtiyacının da her geçen gün arttığı ve karşılanamadığı nedenleriyle balıkçılık ve sucul ürünlerin yetiştiriciliği önemli olmaktadır. Türkiye’de daha çok sucul ürünlerin tüketiminde balık görülmektedir. Türkiye’de halen sucul ürünlerin üretiminin yapılabileceği 25 milyon hektar kadar alan bulunmakta ve gölet ve baraj göllerinin yapımı arttıkça su ürünleri üretiminin yapılabileceği iç su kaynaklarının sayısı da artmaktadır. Türkiye’de yaklaşık 1.000 gölet, 220 baraj gölü ve 200 doğal göl vardır (FAO, 2018; BSGM, 2020).

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine bakıldığında, Türkiye’de deniz ürünleri üretim miktarı 2020 yılında otuzbirbin ton, tatlı su ürünleri üretim miktarı ise otuzüçbin ton, yetiştiricilik üretim miktarı ise dörtyüzyirmibirbin ton olarak gerçekleşmiş olup; 2021 yılında ise deniz ürünleri üretim miktarı ikiyüzdoksanbeşbin ton, tatlı su ürünleri üretimi otuzüçbin ton, yetiştiricilik üretimi ise dörtyüzyetmişbirbin ton olarak gerçekleşmiştir. Akarsular ve göllerden oluşan iç sular, su ürünleri üretiminde önemli bir yere sahiptir. Ülkemizde 2020 yılında avcılık yoluyla elde edilen su ürünleri üretim miktarı % 46,4 ve su ürünleri üretim miktarının % 53,6’sı ise yetiştiricilik ürünlerinden sağlanmıştır. Nüfus artışı ile beraber insanların sağlıklı beslenmeye olan ilgilerinin giderek artması ve su ürünlerinin beslenmedeki yararları gibi nedenlerle su ürünlerine olan talep giderek artmaktadır. Su ürünlerine yönelik artan talep, su ürünlerinin yetiştiriciliğinin değerini arttırmıştır. Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan en önemli türler; alabalık, levrek ve çipura balıkları olmuştur. Denizlerde yetiştiricilik yoluyla üretimi yapılan balıkların % 57,1’i levrek, % 38,2’si çipura balığı ve % 4,7’si alabalık iken, iç sularda yetiştiricilik yoluyla üretilen balıkların ise tamamına yakını neredeyse alabalıklar oluşturmaktadır.

1980 yılından sonra balık çiftliklerinin sayısının artmaya başlamasıyla Türkiye’de kültür balıkçılığı yayılmaya başlamıştır. Türkiye’de su ürünleri yetiştiriciliğinde modern teknolojilerin kullanılmaya başlanmasıyla kafes çaplarındaki büyütme, kuluçkahane kapasitelerindeki artış, teknik personel ve su ürünleri mühendisi sayılarının artmasıyla Türkiye balık yetiştiriciliğinde dünya ülkeleriyle yarışacak düzeye çıkmıştır (TÜİK, 2021).

Hem iç sularda hem denizlerde en fazla üretimi yapılan alabalık türü Gökkuşaağı alabalığı türüdür (TÜİK, 2021). Türkiye’de su ürünleri yetiştiricilik üretimi arttıkça yetiştiriciliğin ülkedeki toplam üretimdeki payı da yükselmektedir. Türkiye’nin su ürünleri ihracatında son yıllardaki su ürünleri üretimi ve su ürünleri yetiştiriciliğindeki teknolojik gelişmelerin işletmelerde kullanılmasıyla 2020 yılında 421 bin ton kültür balığı üretilmesiyle önemli bir artış sağlamıştır (FAO, 2018; BSGM, 2020). 2020 yılında Türkiye’de illere göre iç sularda yapılan Gökkuşaağı alabalığı türü alabalık üretiminin yapıldığı iller Tablo 1.1’de verilmiş olup; verilere göre Gökkuşaağı alabalığı üretimi en fazla Elâzığ, ikinci olarak Muğla ilinde yapılmıştır. 2020 yılında Elâzığ ilinde 23 bin ton, Muğla ilinde ise 22 bin ton Gökkuşaağı alabalığı üretimi yapılmıştır. 2020 yılında Gökkuşaağı alabalığı üretim miktarı toplamda 126 bin tondan fazla gerçekleşmiştir. Türkiye’de diğer önemli Gökkuşaağı alabalığı üretimi yapılan iller ise Şanlıurfa, Tokat, Kahramanmaraş, Gaziantep ve Samsun ili olup; 5 bin tondan fazla Gökkuşaağı alabalığı üretimi yapılmıştır (TÜİK, 2021).

2022 yılı TÜİK verilerine bakıldığında, bir önceki yıla oranla % 1,8 oranında artan su ürünleri üretim miktarı 2021 yılında 799 bin 851 tondur. Avcılık yoluyla elde edilen deniz balıkları üretim miktarı % 32,8’i, avcılık yoluyla toplanan diğer deniz ürünleri üretim miktarı % 4,1’i avcılık yoluyla elde edilen iç su ürünleri üretim miktarı % 4,1’i ve su ürünleri üretim miktarının % 59’u ise yetiştiricilik ürünlerinden sağlanmıştır (TÜİK, 2022).

Tablo 1.1. 2020 yılında illere göre Türkiye’de iç sularda yapılan Gökkuşığı alabalığı üretim miktarları (TÜİK, 2021)

İl	Gökkuşığı Alabalığı (Ton)
Elazığ	23.000
Muğla	22.000
Şanlıurfa	7.004
Tokat	5.800
Kahramanmaraş	5.259
Gaziantep	5.250
Samsun	5.103
Artvin	4.990
Aydın	4.767
Kayseri	3.974
Isparta	3.069
Burdur	2.835
Malatya	2.800
Van	2.550
Kırşehir	2.486
Denizli	2.441
Gümüşhane	2.310
Tunceli	1.822
Sivas	1.603
Antalya	1.406
Karaman	1.310
Yozgat	1.065
Kütahya	944
Adana	940
Bilecik	873
Bayburt	808
Rize	807
Erzurum	728
Sakarya	670
Afyonkarahisar	554
Erzincan	535
Trabzon	512
Manisa	502
Diğer İller	5.384
Toplam	126.101

1.4. Tunceli İlinde Su Ürünleri Yetiştiriciliğinin Mevcut Durumu

Tunceli ili Doğu Anadolu Bölgesi'nde Yukarı Fırat olarak adlandırılan bölgede bulunur. Tunceli ilinin kuzey ve batısında Munzur Dağları ve Karasu Irmağı, Bingöl Dağları ile Peri Suyu doğusunda, güneyinde ise Keban Baraj Gölü bulunmaktadır. Geçim kaynağı olarak tarım ve hayvancılık faaliyetleri yapılmaktadır. Kültür balıkçılığı ile su ürünleri yetiştiriciliği tesislerinin bulunduğu yerlerde ekonomik katkılar sağlanmaktadır (Erkil ve Küçükgül, 2015).

Tunceli ili Mazgirt ilçesinde; 3 adet tesiste ağ kafeslerde alabalık yetiştiriciliği, 2 adet tesiste beton havuzlarda alabalık yetiştiriciliği olmak üzere toplam 5 adet tesiste yetiştiricilik yapılmaktadır. Bu tesislerin sofralık alabalık miktarı 740 ton/yıl, yavru alabalık miktarı 6.000.000 adet/yıl kapasiteye sahiptir. Nazımiye ilçesinde 1 adet beton havuzlarda alabalık yetiştiriciliği tesisi bulunmaktadır. Bu kafeslerde alabalık yetiştiriciliği tesisi bulunmaktadır. Bu tesisin sofralık alabalık miktarı 570 ton/yıl kapasiteye sahiptir. Çemişgezek ilçesinde 8 adet ağ kafeslerde alabalık yetiştiriciliği tesisi, 1 adet beton havuzlarda alabalık yetiştiriciliği tesisi ve 1 adet yavru üretimi tesisi bulunmaktadır. Bu tesislerin sofralık alabalık miktarı 5070 ton/yıl ve yavru alabalık miktarı 30.000.000 adet/yıl kapasiteye sahiptir. Tunceli şehir merkezinde ise 2 adet ağ kafeslerde alabalık yetiştiriciliği tesisi bulunmaktadır. Bu tesislerin sofralık alabalık miktarı 54 ton/yıl kapasiteye sahiptir (Güçer, 2022).

2020 yılında Tunceli ilinde ki Mazgirt, Nazımiye, Ovacık, Pertek, Çemişgezek ilçeleri ve Merkez ilçe olmak üzere iç sularda 24 adet tesiste 7033 ton/yıl kapasite ile 1822 ton Gökkuşaağı türü alabalık üretimi yapılmıştır (TÜİK, 2021).

2021 yılında ise Mazgirt, Nazımiye, Ovacık, Pertek, Çemişgezek ilçeleri ve Merkez ilçe olmak üzere iç sularda 27 adet tesiste 9319 ton/yıl kapasite ile 1972 ton Gökkuşaağı alabalığı üretimi yapılmıştır (TÜİK, 2021). Tunceli ilimizde Tablo 1.2.'de görüldüğü gibi 2021 yılı itibarıyla 27 adet üretim tesisinde toplam 1972 ton/yıl Gökkuşaağı alabalığı üretim kapasitesi gerçekleşmiştir (TÜİK, 2022).

Tablo 1.2. Tunceli su ürünleri yetiştiricilik tesisleri (Güçer, 2022)

Tesisin Adı	Üretim Metodu	Proje Kapasitesi (ton/yıl)	Üretim Miktarı (kg)	Tesis Yeri
Hasan Ali Baysal Alabalık Tesisi	Faal /Ağ Kafes	950	251.949,02	Keban Baraj Sahası 4. Bölge / Çemişgezek
Alibeyköy Su.Ür.Ltd.Şti.Alabalık Tesisi (Osman Baysal'dan devir)	Faal /Ağ Kafes	950	259.127,76	Keban Baraj Sahası 4. Bölge / Çemişgezek
Beymen Su.Ür.Ltd.Şti.Alabalık Tesisi (Fatih Baysal'dan devir)	Faal /Ağ Kafes	950	226.814,59	Keban Baraj Sahası 4. Bölge / Çemişgezek
Ada Alabalık ve Su Ürünleri Hayv. Gıda İnş. Nak.Taah.Turiz.Ürt. Paz. San. ve Tic. Ltd. Şti. Tesisi	Faal /Ağ Kafes	950	Üretim Yok	Keban Baraj Sahası 4. Bölge / Çemişgezek
Aysel Ünlü-1 Alabalık Tesisi	Faal /Ağ Kafes	25	19.680,00	Keban Baraj Sahası 4. Bölge / Çemişgezek
Aysel Ünlü-2 Alabalık Tesisi	Faal /Ağ Kafes	25	18.450,00	Keban Baraj Sahası 4. Bölge / Çemişgezek
Aysel Ünlü-3 Alabalık Tesisi	Faal /Ağ Kafes	25	19.270,00	Keban Baraj Sahası 4. Bölge / Çemişgezek
İncedere Su Ürünleri Alabalık Yetiştiricilik Tesisi	Faal /Ağ Kafes	950	Üretim Yok	Keban Baraj Sahası 4. Bölge / Çemişgezek
İrmak Su Ürünleri Alabalık Yetiştiricilik Tesisi	Faal /Ağ Kafes	950	Üretim Yok	Keban Baraj Sahası 4. Bölge / Çemişgezek
Vadi Alabalık Su Ürünleri Hayvancılık Gıda İnş. Tur. Üretim Paz.San.Tic.Ltd.Şti.Alabalık Tesisi	Faal/Beton Havuz Kuluçkahaneli	245(30.000.000 adet/yıl kuluçkahane)	Üretim Yok	Anıl Köyü/ Çemişgezek
Ömer Mustafa Yöntürk Alabalık Tesisi	Faal /Ağ Kafes	250	Üretim Yok	Keban Baraj Sahası 5. Bölge/ Pertek
Fv Su Ürünleri Ltd.Şti. Alabalık Tesisi (Gülcan Çeliktaş'tan devir)	Faal /Ağ Kafes	245	Üretim Yok	Keban Baraj Sahası 5. Bölge/ Pertek
Tekin Orğun Alabalık Tesisi	Faal /Ağ Kafes	25	Üretim Yok	Keban Baraj Sahası 5. Bölge/ Pertek
Fishark Su Ürünleri Alabalık Yetiştiricilik Tesisi	Faal /Ağ Kafes	950	Üretim Yok	Keban Baraj Sahası 5. Bölge/ Pertek
Fethi Kurt Alabalık Tesisi	Faal /Ağ Kafes	25	21.819,05	Keban Baraj Sahası 5. Bölge/ Pertek
Hasan Kurt Alabalık Tesisi	Faal /Ağ Kafes	25	20.990,50	Keban Baraj Sahası 5. Bölge/ Pertek
Munzur Üniversitesi Alabalık Tesisi	Faal /Ağ Kafes	25	Eğitim Tesisi	Uzunçayır Barajı/ Merkez
Nesrin Yarıcı Alabalık Tesisi (Deniz Yarıcı-1'den veraset nedeniyle devir)	Faal /Ağ Kafes	29	Üretim Yok	Uzunçayır Barajı / Merkez
Nesrin Yarıcı Alabalık Tesisi (Deniz Yarıcı-2'den veraset nedeniyle devir)	Faal /Ağ Kafes	245	Üretim Yok	Keban Baraj Sahası 7. Bölge/ Mazgirt
Haydar Can Sonar-1 Alabalık Tesisi	Faal /Ağ Kafes- Kuluçkahaneli	245(6.000.000 adet/yıl kuluçkahane)	124.250,00	Keban Baraj Sahası 7. Bölge/ Mazgirt
Bülent Demir Alabalık Yetiştiricilik Tesisi	Faal /Ağ Kafes	245	148.786,00	Keban Baraj Sahası 7. Bölge/ Mazgirt
Özlem Koran Alabalık Yetiştiricilik Tesisi	Faal/Beton Havuz	245	129.480,00	Yaşaroğlu Köyü/ Mazgirt
Cebraail Sonar Alabalık ve Sazan Yetiştiricilik Tesisi	Faal/Beton Havuz ve Toprak Havuz	150 ton/yıl Alabalık 50 ton/yıl Sazan	58.860,02	Yaşaroğlu Köyü/ Mazgirt
Gökhan Fidan Alabalık Tesisi	Faal/Beton Havuz	45 (10 ton/yıl Üretim izinli)	Üretim Yok	Gelinpınar Şelalesi / Nazımiye
Kılınçoğlu Nak.İnş.Tah.Turizm Teks.Tic.San.Ltd.Şti. Alabalık Tesisi	Faal/Beton Havuz- Kuluçkahaneli	500(10.000.000 adet/yıl kuluçkahane)	Üretim Yok	Kandolar Mah. / Ovacık
Kurtuluş Demirdöğen Alabalık Tesisi	Faal/Beton Havuz	25	21.840,00	Yeşilyazı Köyü/ Ovacık
Selma Düşkün Alabalık Tesisi	Faal/Beton	25	20.800,00	Yeşilyazı Köyü/ Ovacık

1.5. Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)

Kuzey Amerika kökenli Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), alabalık türlerinden yetiştiriciliği en yaygın olarak yapılan tür olup her geçen gün yetiştiriciliği artarak dünya genelinde ciddi ekonomik bir sektör haline gelmiştir (Çağıltay, 2007). 14-17 °C sıcaklık aralığında yaşarlar. Türkiye’de su ürünleri yetiştiriciliği yapılan işletmelerde üretimi yapılan ilk türdür. Uygun koşullarda 1 yılda ortalama 250 grama ulaşırlar. Ömürlerinin 2 yıla kadar olabildiği görülmüştür (Lucas ve Soutgate 2003; Moksness ve ark., 2004; Alpbaz, 2005).

Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nın baş ve vücut şekli dere alabalığı ile benzerlik gösterir. Kuyruktaki yüzgeç görüntüsü çatallı, gözün arka kısmına doğru ağız açıklığı ulaşan Gökkuşığı alabalığının rengi koyu yeşilden kahve yeşile doğru değişken özelliktedir. Gökkuşığı alabalığının vücutunun yan kısımları daha açık, karın bölgesi ise gümüş beyaz renktedir. Gökkuşığı alabalığının ismi vücutunun yan hattı boyunca geniş, kırmızı veya pembe gökkuşığı rengine benzeyen bir bant görünümü bulunmasından belirlenmiştir. Üreme döneminde erkek balıklarda vücutun yan kısımlarında bulunan bu bant çok daha göz alıcı görünüm kazanır. Gökkuşığı alabalığının baş kısmında, vücutun her iki lateralinde, sırtta, kuyrukta ve yüzgeçlerinde siyah renkli çok sayıda küçük benek bulunur (Tekelioğlu, 2005).

Gökkuşığı Alabalığı’nın *O. mykiss*’in sistematigi aşağıya çıkarılmıştır.

Alem	:	<i>Animalia</i>
Şube	:	<i>Chordata</i>
Sınıf	:	<i>Actinopterygii</i>
Takım	:	<i>Salmoniformes</i>
Familiya	:	<i>Salmonidae</i>
Cins	:	<i>Oncorhynchus</i>
Tür	:	<i>O. mykiss</i>

1792 yılında Johann Julius Walbaum tarafından türün orjinal ismi olan *Onchorhynchus mykiss* ismi verilmiştir. 1836 yılında Richardson tarafından aynı türe *Salmo gairdneri* isimlendirmesi yapılmıştır (Moksness ve ark., 2004; Alpbaz, 2005). Kuzey Amerika’nın Pasifik bölgesinden adını alan Gökkuşığı alabalığı kökenini ise Kaliforniya’da akarsularda yaşayan, denize göç etmeyen *Salmo irideus* türü ile Kuzey Amerika’nın kıyı bölgelerindeki akarsularda yaşayan ve denize göç

eden *Salmo gairdneri* türünün çaprazlanması sonucunda oluşarak kültür üretim koşullarına uyum sağlayarak almış bir türdür (Moksness ve ark., 2004; Alpbaz, 2005).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde kültürü yapılan türler arasında Gökkuşaağı alabalığının tercih edilmesinin başlıca nedenleri; çevreye adaptasyon yeteneklerinin yüksek olması, sıcaklık yüksekliğine karşı dayanıklı olması, yem alma özelliğinin aktif ve kolay olması ve aldığı yemi iyi değerlendirmesi ile hızlı büyüme ve gelişme göstermesi, su sıcaklığının arttığı ilkbahar aylarında diğer salmonidlere oranla kısa kuluçka dönemine sahip olması, sağım ve döl alımı, yavruların yapay yemlerle beslenmesi ve büyümelerinin kolay olmasıyla düşük maliyetli olması, diğer türlere göre hastalıklara daha dayanıklı olması, yetiştiriciliğinin yeni olmaması nedeniyle yetiştiricilik problemlerinin çoğunun çözüm yöntemlerinin biliniyor olmasıdır (Kürüm ve ark., 1998).

1.6. Gökkuşaağı Alabalığı'nda Görülen Bakteriyel Hastalıklar

Gökkuşaağı alabalığında görülen bakteriyel hastalıklar arasında en sık görülenler; yersinozis, bakteriyel soğuk su hastalığı, Gökkuşaağı alabalığı fry mortalite sendromu (FMS), bakteriyel böbrek hastalığı, tuberculosis, furunkulozis ve hareketli motil *Aeromonas* septisemisi olduğu bugüne kadar yapılan çalışmalarda görülmektedir. Gökkuşaağı Alabalığı'nda gelişen hastalıklara etken olan bakteriler ise; *Flavobacterium psychrophilum*, *Yersinia ruckeri*, *Renibacterium salmoninarum*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium piscium*, *Mycobacterium platypoecilus* ve *Mycobacterium salmoniphilum*, *A. salmonicida*, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. punctata*'dır. *Flavobacterium psychrophilum* bakterisinin salmonid balıklarda Gökkuşaağı alabalığı fry mortalite sendromu olarak isimlendirilen soğuk su hastalığı olarak da bilinen hastalık etkenidir. Bu hastalık evvelde eyerli sırt hastalığı olarak bildirilmiştir ve son yıllarda yüksek mortalite ile seyretmiştir (Korun ve Timur, 2001; Timur ve Timur, 2003).

Hastalıklı Gökkuşaağı alabalıklarında balıkların kuyruk bölgelerine yakın yerleri, kuyruklarının üst bölgesinde özgün açık yaralar gözlenmesi nedeniyle bu hastalığın adı pedunkul hastalığı olarak bildirilmiştir. Artan lezyonlarda kuyruk yüzgecinin düştüğü gözlenmiştir. Balıkların boğaz bölgesinde ve dorsal yüzgecin ön yüzünde lezyonlara rastlanmıştır (Austin ve Austin, 1992; Timur ve Timur, 2003). Hastalık etkeni olan *Flavobacterium psychrophilum*'un patojen bir tür olduğu bilinmektedir. *F. psychrophilum*

katı yüzeylerle temas ettiklerinde kayma hareketi yapabilen, aerobik, gram negatif, uzun, ince esnek çomak şeklinde bakteridir (Timur ve Timur, 2003).

İlk olarak enterik kızıl ağız hastalığı 1950 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde ki bir alabalık işletmesinde bulunmuş olup; daha sonra Almanya, İtalya, Norveç, Kanada, Danimarka, İngiltere, Fransa, Avusturalya, Yunanistan ve Türkiye'de görülmeye başlayarak geniş bir coğrafik alanda yayılım göstererek salmonid balıklarda ölümlere sebebiyet vermiştir. Gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan yetiştiricilik tesislerindeki balıklarda yüksek ölçüde kayıplara neden olan septisemik, kontagiyöz bakteriyel bir hastalıktır (Timur ve Timur, 2003; Cengizler, 2006). Etken *Yersinia ruckeri* olarak isimlendirilen enterik bakteri türüdür. Gram negatif olan bu bakteri hafif kıvrık ve 1,0 x 2,0-3,0 µm büyüklüğünde çomak şeklinde olup sahip olduğu 7-8 adet peritrik flagellası ile hareketli bir bakteri türüdür. Akut ve subakut sistemik bir infeksiyon hastalığı olan enterik kızıl ağız hastalığı adını cilt altı kanamalarına sebep olduğu ağız ve çevresinin kırmızılaşmasından kaynaklı almıştır. Hastalık balıkların ağız ve boğaz kısmında kızarıkların oluşmasıyla beraber diğer belirtileri deri renginin koyulaşması, çift taraflı ekzoftalmus, hiper pigmentasyon, yüzgeçlerin dip kısımlarında ve göz çevrelerinde kanamalar, bağırsaklarda sarı renkli bir sıvı oluşması, istahsızlık ve hareketlerde yavaşlama gibi bulgularla izlenmektedir (Austin ve Austin, 1992; Timur ve Timur, 2003). Balıklarda stresle ilintili olarak gelişen hastalık, akut ve kronik seyirli olup Gökkuşağı alabalıklarında 7,5 cm uzunluğundaki balıkları daha çok etkilediği görülmüştür. Hastalık su sıcaklığı 15-18 °C'ye çıktığı zaman yükselirken, 10 °C' ye düştüğünde azalır. Sularda birkaç ay yaşadığı görülmüş ayrıca memelilerde, insanda ve bazı kuşların dışkılarında rastlanmıştır (Timur ve Timur, 2003).

İskoçya'nın Dee ve Spray nehirlerinde ilk olarak 1930 yılında salmonidlerde görülen *Renibacterium salmoninarum*'un etken olduğu bakteriyel böbrek hastalığı olduğu bildirilmiştir (Timur ve Timur, 2003). Bir basil olan *Renibacterium salmoninarum*; küçük, gram pozitif, hareketsiz, aside karşı dirençsiz olan, çoğunlukla çiftler halinde oluşan bir patojen bir bakteridir. Konakçı balığın böbrek, dalak, kalp ve kas dokularında çok yavaş şekilde çoğalan bu bakterinin kültürde büyümesi zordur ve hızlı üreyebilmeleri için laboratuvar ortamında özel besiyerine gereksinimleri vardır (Austin ve Austin, 1992; Timur ve Timur, 2003; Cengizler, 2006). Hastalıklı balıklarda koyu renkli ve ara sıra göz küresinin öne doğru yer değiştirdiği, bazen gözün birinde kayıp, korneada bulutlanma ve yanal çizgi boyunca küçük yaralar, balıkların pektoral yüzgeçlerinde küçük hemorajiler

oluştugu ayrıca kültür alabalıklarında balıkların vücutlarının yan taraflarında minik kabarıklıklar olduğu görülmüştür (Austin ve Austin, 1992). *Renibacterium salmoninarum*'un primer izolasyonunda optimal sıcaklık 15-16 °C olup, yaklaşık 6 hafta kadar bir süre sonunda gözle görülür koloniler meydana gelir (Austin ve Austin, 1999; Timur ve Timur, 2003).

Balıklarda kronik olarak seyreden, kaşektik, koyu renk görünüm ve karın bölgesinde şişkinlik, kilo kaybı, deride inflamasyon, ekzoftalmus, açık yaralar ve ülser gibi belirtilerle balıkların vücudunun farklı bölgelerinde küçük tüberküllerin oluşması ile beliren bulaşıcı ve kronik bir hastalık olan tuberculosis etkeni olarak bildirilen *M. fortuitum*, *M. piscium*, *M. platypoecilus* ve *M. salmoniphilum* türleri hasta salmonid balıklarda, deniz levreğinde, çipura, çizgili levrek, uskumru, morina balığı, tilapia ve akvaryum balıklarından izole edilmiştir. Gram pozitif, aside dirençli, hareketsiz, 1,5-2,0 µm x 0,25-0,35 µm büyüklüğündeki bu balık tüberküloz basilleri düzgün sınırlı, ıslak görünümlü, parlak ve krem rengi koloniler oluşturur (Austin ve Austin, 1992; Timur ve Timur, 2003). *Aeromonas salmonicida* salmonidlerde öldürücü epizootik bir hastalık olan furunkulosis hastalığına etken bir patojen bakteridir. Salmonid balıkların vücudunda furunkul denilen apse benzeri klinik lezyonlar oluşturur (Timur ve Timur, 2003; Beaz, Hidalgo ve ark., 2008). *Aeromonas salmonicida*, Trypticase soy agar (TSA) katı besiyerine ekimi yapıldığında konveks, kenarları düzgün yuvarlak ve parlak koloniler oluşturur ve oluşan koloniler zamanla renk değiştirerek kahverengine dönüşür (Austin ve Austin, 1992; Timur ve Timur, 2003; Beaz, Hidalgo ve ark., 2008).

Hareketli *Aeromonas* türlerinden *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. punctata* balıklarda septisemi ile seyreden motil *Aeromonas* septisemisine neden olur. Hastalığın inkübe olma süresi 2 ile 4 gün kadardır. Enfekte balıkların kafa, yüzgeç, karın bölgelerinde kanamalar görülür. Balıkların iç organlarda ise septisemiye bağlı hemorajik tablo oluşur (Toranzo ve ark., 1989; Esteve ve ark., 1993; Wahli ve ark., 2005; Austin ve Austin, 2007; Wanja ve ark., 2019). Çiftliklerde yavru ve porsiyon boyundaki Gökkuşuğu alabalıklarının fazla stoklanmaları, su kalitesinin pH, amonyak, nitrit gibi özelliklerinin düşük olması ile su ısısının ani değişmesi gibi nedenlerle balıklarda gelişen strese bağlı motil *Aeromonas* infeksiyonları çok sık görülmektedir. Motil olan *Aeromonas* infeksiyonları % 87,6'ya varan yüksek miktardaki ölüm nedeni ile balıklarda yüksek ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Balta, 2020).

1.7. *Aeromonas* Cinsi Bakterilerin Genel Özellikleri

Dünyada ve Türkiye’de sucul canlı üretimi yapılan işletmelerde sıklıkla karşılaşılan patojen bakterilerden en fazla *Aeromonas* genusuna ait türler izole edilmiştir. *Aeromonas* genusu, *Aeromonadaceae* familyasına ait çomak şeklindeki bakteriler olup; Gram negatif, sitokrom oksidaz pozitif, fakültatif anaerob olan ve katalaz pozitif olmaları ile nitratı nitrite dönüştürürler, O/F glukoz testine fermentatif reaksiyon gösteren, sporsuz ve Vibriostat (O/129) testine karşı dirençlidirler. Doğal yaşam alanları deniz ve tatlı sular olan *Aeromonas* genusu sularda yaygın bulunması nedeniyle, etkenler tatlı su ve deniz balıklarının yanı sıra kabuklu hayvanların ve amfibianların bağırsak mikrobiyatasında ve vücut yüzeylerinde bulunurlar. Bu cinse ait bazı türler insan, balık ve diğer akuatik hayvanlarda infeksiyonlara neden olur. *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae* önemli balık patojenleri olan hareketli *Aeromonas* türleridir (Akaylı ve ark., 2011; John, 2014; Fernandez ve Figueras, 2020).

Tatlı sularda bölünerek çoğalabilecekleri koşullar bulunduğundan *Aeromonas* genusunun bu suların doğal mikrobiyatasına ait bakteriler olduğu düşünülmüştür. Çamurlu yerlerde, yeryüzü sularında ve atık sularda dağınık halde yaşarlar. *Aeromonas* genusu vücut sıcaklığı çevre ısısına göre değişen ve sabit vücut sıcaklığına sahip hayvanların mikrobiyatasında da görülmüşlerdir. Balık barsaklarının mikrobiyatası ile kabuklu deniz canlıları *Aeromonas hydrophila* için bilinen önemli gıda kaynaklarından. Bu nedenle su ile teması olmuş tüm gıdalar *Aeromonas* türleri ile kontamine olmuş olabilir (Farmer ve ark., 1992; Abeyta ve Wekell, 1988).

Aeromonadaceae familyasına ait bakterilerin optimal üreme ısıları 22-28 °C arasında olup; mezofilik türler 10 °C ile 40 °C arasında ürerlerken, psikrofil türler 37 °C’nin altında üreyebilirler (Uzel, 1996).

1.8. *Aeromonas* Türleri

Yirmiden fazla enzim üretilen, birçok şekeri parçalayabilen *Aeromonas* cinsine ait bakterilerin biyokimyasal özelliklerine bakılarak tür tanımlamaları yapılmaktadır. Hareketli *Aeromonas* cinsi bakteriler için en uygun olan üreme sıcaklığı 28 °C’dir ve biyokimyasal tepkimeler sıcaklığa bağlı olarak gerçekleştiği için fermentatif özelliklerin 28 °C olan üreme sıcaklığı ile aynı derecede incelenmesi önerilmiştir (Midilli, 1998). 1984

yılında basılan Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin baskısında 1974 yılında Popoff ve Veron tarafından yapılan sınıflandırmaya göre *Aeromonas* cinsine ait bakteriler, az sayıda deneme ile *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae* olarak ayrılabilmişlerdir. Carnahan ve arkadaşları tarafından 1991 yılında Aerokey II yöntemiyle 7 *Aeromonas* türü tanımlanmıştır (Carnahan ve ark., 1991). Sonradan yapılan çalışmalarda, DNA homolojisine bakılarak; *Aeromonas* cinsine ait 14 genotür bulunduğu ve tamamının fenotipik özelliklerine göre ayıramadığını rapor etmişlerdir. Bugüne kadar 14 DNA homoloji grubunun tanımlanmıştır (Abbott ve ark., 1992).

Aeromonas cinsi içerisinde kabul görmüş 25 tür bulunmakla birlikte bu türlerden 14'ü Bergey's Manual'in son baskısında tanımlanmıştır (Beaz, Hidalgo ve ark., 2013). *Aeromonas* cinsi bakterilerden 10 isimlendirilmiş tür sıcaklık gereksinimleri ve hareketlilik durumlarına göre iki grupta toplanmaktadır.

Psikrofil grup: Esas balık patojeni olarak bilinen bu gruba ait tanımlanan tek tür *A. salmonicida*'dır. Hareketsiz bir tür olan *A. salmonicida* 37 °C'de yeterince üreyemez. Optimum 23 °C'de üreyebildiklerinden klinik olarak değeri yoktur. Bu türe ait alt türler; *A. salmonicida* sp. *salmonicida*, *A. salmonicida* sp. *maoucida*, *A. salmonicida* sp. *achromogenes*, *A. salmonicida* sp. *smitha*'dır (McCovan ve Steinberg, 1995; Koneman ve ark., 1997).

Mezofilik grup: *A. hydrophila*, *A. caviae* ve *A. sobria* türleri bu grupta yer alır. *A. media* dışında diğer türler hareketli olup optimal 37 °C'de, 1 °C ile 45 °C aralığında ürerler (McCovan ve Steinberg, 1995; Koneman ve ark., 1997). Bu gruba yer alan türlerin insan patojeni olduğu bildirilmiştir (Erdem, 1997). Hareketli olarak tanımlanmış mezofilik türler hem insanlarda hem de hayvanlarda çeşitli enfeksiyon etkeni olmaları nedeniyle önemlidirler (Janda ve Abbott, 2010).

Aeromonas türlerinden *A. hydrophila* türü insanlarda enfeksiyon oluşturma nedeni olduğundan hakkında yapılan çalışmalar son yıllarda artmış ve *A. hydrophila* insanlarda fırsatçı patojen olarak bildirilmiştir (Uzel, 1996). Balıklardan izole edilen *A. hydrophila* ile *A. caviae*'nin enterotoksik özellik göstermesi *A. hydrophila*'nın çocuklarda gastroenterit nedeni olarak görülmesi bu türün bağırsak patojeni olarak kabul edilmesine neden olmuştur. (Merino ve ark., 1995; Freitas ve ark., 1993; Farmer ve ark. 1992; Şık ve ark., 2020).

Aeromonas türü bakterilerin hastalık yaptığı balıklarda kanama ve ülserler hasta balığın deri, yüzgeç ve kaslarında yüzgeç düşmesi, ağız çevresinde erozyonlar, periorbital

ödem, ekzoftalmus, asites, viseral organlarda hiperemi hastalık belirtileri olarak görülmektedir (Erer, 2002). Mikroskopik incelemede hasta balıkların derilerinde ve kaslarında kanama ve nekroz, karaciğer, böbrek ve dalakta kanlanma ile seyretmektedir (Erer, 1983; Mancini ve ark., 1997).

1.9. Hareketli *Aeromonas*'larda Kontaminasyon

Aeromonas türü bakterilerle kontaminasyon, portörlerin hasta hayvanların dışkı veya kontamine gıdalarıyla ve enfekte sularla temasıyla oluşur. Tatlı sularda ve denizlerde, içme suları ve lağım suyu gibi atık sularda çok miktarda hareketli *Aeromonas* türlerine rastlanır. Kontamine sularla temas halinde insan ve hayvanlarda, kontamine sularla teması olan gıdaları tüketen insanlarda hastalıklara neden olurlar. *Aeromonas*'lar bazen herhangi bir hastalık oluşturmada insan ve hayvan sindirim sisteminde görülür, gıdalar vasıtasıyla insanlara geçerek üreyebilecekleri ısı, pH, NaCl ve nem gibi koşullarda üreyerek toksin etki yaratırlar (Biscardi ve ark., 2002).

Gıda üretimi yapılan tesislerde kirli su kullanılmasıyla gıdalar farklı düzeylerde bu mikroorganizmalarla kontamine olurlar. İlerleyen aşamalarda malzeme ve personel gibi kaynaklardan gelişen sekonder bulaş ve çapraz kontaminasyonlara bağlı olarak üretilen gıdalar değişik düzeylerde hareketli *Aeromonas*'larla kontamine olurlar (Holt ve ark., 1994; Gill ve ark., 1999; Yu ve Palumbo, 2000).

1.10. *Aeromonas* Türleri'nin İnsanlarda Neden Olduğu Hastalıklar

Aeromonas türlerinden *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. veronii*, *A. sobria* insanlarda hastalıklara neden olan türlerdir. *A. jandaei*, *A. veronii* biovar *veronii* ve *A. schuberti* türü bakterilerin patojeniteleri yüksektir. Bu gruptaki bakterilerin patojenitesi sitotoksik ve sitotonik (kolera benzeri) enterotoksin üretmeleri ile adhezyon özelliğinin varlığı ve S-layer yapıda olmalarıyla ölçülür. Yara, göz ve üriner sistem infeksiyonları, yumuşak doku infeksiyonları, jinekolojik infeksiyonlar, gangren, miyosit, septisemi, artritis, peritonit, menenjit, septisemi, endokardit, pnömoni ve osteomyelitis gibi sistemsel hastalıklara etken olan patojendirler. *Aeromonas* türü bakterilerin iki çeşit gastroenterite etken olduğu bildirilmiştir. Biri kolera tipi olan diyare ve hafif ateş varlığı ile seyreden, diğeri ise dizanteri tipi kanlı ve mukuslu ishal seyreden tip olarak bildirilmiştir (İşleyici, 2009).

A. hydrophila türü bakteri ile kontamine olan kişilerde en çok sulu ishal ve çocuklarda kusma görülmüştür. İlaveten ateş ve karın ağrısının bulunduğu vakalar bildirilmiştir (İşleyici, 2009). *A. hydrophila* türü bakteriler bölgesel yumuşak dokularda ve deride difüzyon yapabilme özellikleri ile toprak, su gibi ortamlarla kontamine olmaları ile enfeksiyonlara neden olabilirler. Yapılan çalışmalarda *Aeromonas* türlerinin diyabetik ayak yara bölgelerinden, dekibütüs ülserlerinden izole edildiği ve böbrek yetmezliği olan hastalarda ise peritonit, sepsis ve diyaliz sıvısı bulaşları olduğu bildirilmiştir. Hasta bireylerde ise perfore apandisit, ülseratif kanamalar, kolonda gangrenöz apsesi, ileum perforasyonu, postoperatif yaralar, enterokolit ile ilgili *Aeromonas* enfeksiyonlarının tespit edildiği rapor edilmiştir. Gebelerde ve uygun olmayan koşullarda gerçekleşen doğumlardan sonra yenidoğan bebeklerde sepsis tespit edilmiştir. Septik abortus sonrası tespit edilen olgulara da rastlanmaktadır (Farmer ve ark., 1992).

1.11. *Aeromonas* Türleri'nin Balıklarda Neden Olduğu Hastalıklar

Gökkuşuğu alabalığında *A. salmonicida*, *A. hydrophila*, *A. bestiarum* ve *A. veronii* enfeksiyonu ile ilişkili patolojik septik süreçleri, karaciğer dokusunun kolonizasyonunu ve mortaliteyi içerir. Balıklarda ekzoftalmi, oküler ülserasyon, anoreksiya, klinik belirtiler arasında dermis lezyonu (ülserler, erozyon, kanama, koyu cilt, pul kaybı, furunküloz ve diğerleri), karında şişkinlik, yüzgeç çürümesi ve bazı durumlarda premaksilla kemik ekspozesi görülebilir. Enfekte genç balıklar, havuzdan atlama, derinin kararması, anormal yüzme, düşük yüzme, uyuşukluk ve iştahsızlık olmak üzere davranış değişikliği gösterirler (Gomez ve ark., 2021).

Motil *Aeromonas* Septisemisi; *A. hydrophila* türü bakterilerin kahverenkli alabalıklarda, chinook türü salmonlarda, Gökkuşuğu alabalıklarında, ayı balıklarında, sazan ve yayın balıklarında, yılan balıklarında, goldfish ve tilapia balıkları gibi doğal balık türleri ile kültürü yapılan diğer balıklar türlerinde hemorajik septisemiye sebep oldukları bildirilmiştir (Balta, 2020). Hasta balıkların deri, yüzgeç ve kaslarında kanama ile ülserler görülmüş (Erer, 1983; Mancini ve ark., 1997), yüzgeç kaybı, ağız çevrelerinde erozyonlar, periorbital ödem, ekzoftalmus, asites ve viseral organlarında hiperemi ve yaygın kanamalar görülmüştür (Erer, 2002).

Hasta balıkların mikroskopik incelemelerinde, deri ve kaslarında kanama ve nekroz, epidermislerinde hiperplazi, karaciğer, böbrek ve dalak gibi organlarında

hiperemi, kanama ve nekroz olduğu bildirilmiştir (Erer, 1983; Mancini ve ark., 1997).

Motil olan *Aeromonas* infeksiyonları *Aeromonas* cinsinin tatlı sularda yaşayan balıklarda hemorajik sepsis ile prognoz gösteren infeksiyonlara etken olduğu bildirilmiştir (Munro, 1982; Diker, 1999). Patojen olan bu türler organik atıklarla kirletilmiş sularda yüksek miktarda ve yine tuzlu sularda da olmak üzere tüm su kaynaklarında görüldükleri bildirilmiştir (Balta, 2020).

Furunkulozis (Balıkların Ülseratif Hastalığı), *A. salmonicida*'nın neden olduğu hastalık, ilk keşfedildiği 1894 yılından itibaren, hastalığın ileri evrelerinde oluşan ve ülseratif hale gelen çıban benzeri şişlik nedeniyle "furunculosis" olarak adlandırılmıştır. Ancak türlerin taksonomisindeki tutarsızlık, bu patojenin neden olduğu hastalıklar için kullanılan terminolojiyi de etkilemiştir. Öncü çağda, "furunculosis" terimi, daha sonra özellikle çıban benzeri şişlikler gösteren alabalıkların infeksiyonları için kullanılmasına rağmen, esas olarak *A. salmonicida* türlerinin neden olduğu tüm balık hastalıklarını kapsamak için kullanılmıştır (McCarthy ve Roberts 1980). Furunkulozisin balıklarda gelişen akut formu genelde genç balıklarda hastalıkla ilgili klinik belirtiler oluşmadan öldürücü olup; bazı vakalarda yüzgeçlerin taban ve vücudun lateralinde ciltaltı dokularda ve kaslarda noktasal veya yaygın tarzda kanamalar görülmektedir. Subakut ve kronik formda ise balıkların vücudunda furunkul ve ülseratif alanlar oluşarak hastalığın tüm belirtileri görülerek hastalık tanılır. Bazen ülseratif alanlar birleşip yayılabildiği gibi bazen de koyu renk skar alan oluşturarak iyileşebilirler. Hasta balıklar hareketsiz, iştahsız ve ağır hareketlerle yüzerler. Hastalığın ilerlediği balıkların derisinde koyulaşma ve ekzoftalmus görülebilir. Hastalığın asemptomatik formunda balık kaybı yaşanmaz, asemptomatik balıklar portör kaynağı olarak sağlıklı balıklar için tehlike oluşturabilirler (Arda ve ark., 2002).

1.12. *Aeromonas* Türlerinin Görüldüğü Mevsimler

Hareketli *Aeromonas* türleri sularda çok yaygın olarak bulunur. Ürün üretiminin farklı aşamalarında ve özellikle yıkama suları ile bu doğal kaynaklardan gıdalara bulaşarak insan sağlığı için potansiyel tehlike oluşturmaktadır (Falcao ve ark., 1998). Doğal yaşam ortamları denizler ve tatlı sular olan hareketli *Aeromonas* türleri akarsular kanalizasyon, atık sular, termal ve kuyu suları ile klorlu ve klorlanmamış içme suları ile kaynak suları gibi tüm su kaynaklarında bulunurlar (Araujo ve ark., 1991; Poffe ve Beeck, 1991; Falcão

ve ark., 1998; Biscardi ve ark., 2002). Hareketli *Aeromonas* türlerinin sularda görülme oranı sıcak mevsimlerde yüksekken, soğuk mevsimlerde ise bu oran düşer (Araujo ve ark., 1991; Poffe ve Beeck, 1991; Falcão ve ark., 1998; Biscardi ve ark., 2002).

Önceleri sadece balık patojeni olarak bilindiklerinden *Aeromonas* cinsi bakteriler ile ilgili çalışmalar balıklar üzerinde yoğunlaşmıştır. Hasta balık ve kurbağalar ile yaşam ortamlarındaki sularda hastalık etkenlerini taşırlar. Daha çok kültürü yapılan tropik balıklarda yaz aylarında görülür. Bulaşma, gelişme ve yayılım sıcaklıkla ilgilidir. Balıklarda gelişen *Aeromonas* kökenli hastalıklarda genellikle *A. hydrophila* türü izole edilmektedir. Ancak *Aeromonas* cinsi diğer türler de hasta balıklardan izole edilmişlerdir. Hayvanlar arasında temas yoluyla bulaştığı için, kültür balıklarında *Aeromonas* kaynaklı infeksiyonların yayılma oranı daha yüksektir (Wang ve Silva, 1999).

Aeromonas türü bakteriyel etken kaynaklı infeksiyonlar özellikle Mayıs, Haziran, Temmuz, Ağustos, Eylül, Ekim ve Kasım aylarında artmaktadır. Deniz ve göl sucul ekosisteminde yaşayan canlıların temasının artması infeksiyonların görülme oranını artırmaktadır. Bu bakteriler aynı zamanda potansiyel insan patojenidir. Çeşitli toksin ve hemolizinler oluşturarak insanlarda hastalık oluştururlar (URL-1).

1.13. Besin Kaynaklarında *Aeromonas*'lar

Aeromonas türü bakteriler genellikle kümes hayvanları, domuz, kuzu eti, süt ve süt ürünleri gibi hayvanlardan elde edilen gıdaların saklama koşullarında bozulmaları ile ilgili bulunmaktadır. Gerçekleşen bozulmalarda en fazla *Pseudomonas* türlerine ait bakteriler görülürken *Aeromonas* türü bakterilere nadir rastlanılır. Anaerobik ve fakültatif olan *A. hydrophila*'nın atmosfer değişikliği yapılan paketlenmiş gıdalarda fazla ürediği bildirilmiştir (Abeyta ve ark., 1988).

Hareketli *Aeromonas*'lar buzdolabı ısısında da üreyebilme yeteneğine sahip olduklarından soğukta muhafaza yöntemi ile stoklanan etlerde ve kıymalarda da üreyerek halk sağlığı açısından önemli riskler oluştururlar (Abeyta ve ark., 1988; Falcão ve ark., 1998; Yu ve Palumbo, 2000). Isıya karşı duyarlı olan hareketli *Aeromonas* türleri pastörizasyona tabii tutulan sütlerde işleme bağlı yıkımlanırlar ancak yapılan bazı çalışmalarda pastörize sütlerden ve peynirlerden bazı hareketli *Aeromonas* türleri izole edildiği bildirilmiştir (Biscardi ve ark., 2002; Sarımeahmetoğlu ve ark., 1998; Yücel ve ark., 2005).

1.14. *Aeromonas* Türlerinin Tanımlanmasında Kullanılan Moleküler Yöntemler

Mikroorganizmaların büyük bir kısmı kültüre edilemezler. Kültür temeline dayanarak uygulanan yöntemler mikroorganizmalar hakkında detaylı bilgi sağlayamadıkları için, moleküler yöntemler mikroorganizmaların analizlerinde kullanılan temel yöntemler olmuştur. Mikroorganizmaların tanımlanmasında kullanılan moleküler yöntemler ile kimyasal yöntemlerin geliştirilmesiyle bakteri izolasyonu yapmadan mikroorganizmaların biyoçeşitliliğini tahmin etmemiz sağlanmaktadır (Güngör, 2014).

Mikrobiyal çeşitliliği belirlemede alınan bir örnekten DNA izolasyonu yapılması mikroorganizmaların moleküler yöntemlerle tanımlanması için genellikle ilk basamaktır. DNA izolasyonunun ilk aşaması hücre lizizi'dir. İkinci aşaması ise kimyasal veya enzimatik yöntemlerle protein, makro ve RNA moleküllerin DNA'dan uzaklaştırılmasıdır. Bir örnekten DNA elde etmek için ayrıca ticari kitler kullanılmakta yine klasik yöntemlerle de DNA izolasyonu yapılmaktadır. Önemli olan saf DNA elde etmektir (Güngör, 2014).

1.15. Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon İyonizasyon-Uçuş Zamanı Kütle Spektrometrisi (MALDI-TOF MS)

Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon İyonizasyon-Uçuş Zamanı Kütle Spektrometrisi (MALDI-TOF MS) yöntemiyle tanımlanmak istenilen mikroorganizmanın kendisine özgün protein kütle spektrometresi ile o mikroorganizma için özgün parmak izini çıkararak bakteri, mantar ve virüs identifikasyonu yapılabilmektedir. Bu yöntemle mikroorganizmaların biyomolekülleri olan protein, peptid, şeker ve büyük organik moleküllerden polimer, dendrimer ve makromoleküllerin iyonizasyonundan sonra elektrik ve/veya manyetik alana maruz bırakılarak proteinlerin profilleri çıkarılır. Grafik olarak çıkarılan profiller sistemin veri tabanında yer alan referans organizma ile karşılaştırılarak uyum sonucuna bağlı cins ve tür yönünden tanımlanmaktadır. Tıp'ta bazı kanser türlerinin tanısı ile romatoid artrit, alzheimer, çeşitli alerjik hastalıklar gibi hastalıkların tanısında kullanılmaya başlanmıştır (Yılmaz ve ark., 2014).

MALDI-TOF MS yöntemi ile mikroorganizma tanımlamanın dezavantajlı yanlarına bakıldığında; iki günden yaşlı olmayan genç kolonilerin analiz için seçilmesi gerekmekte ve buna neden olarak 48 saatten sonra kültürlerde ribozomal proteinler parçalanıp pik

sayısı ve yoğunluğunun düşmesinin sebep olması gösterilmiştir (Yılmaz ve ark., 2014). Klinik örneklerden doğrudan tanımlama için yeterli bilginin olmaması, antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılamaması, *Staphylococcus aureus* türü bakterilerde metisilin direnci, *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteri türlerinde ise beta-laktam direnci gibi antibiyotik direnç mekanizmalarının yeterince çalışılmaması, bazı mikroorganizmalar için testlerin tekrarlanmasının gerekmesi nedeniyle ilave iş yükü oluşması, birbirine yakın türler arasında bazen tam bir ayrım yapamaması, veri tabanının yetersiz olduğu görülmektedir (Croxatto ve ark., 2012; Murray, 2012; Wieser ve ark., 2012). *S. pneumoniae*, *S. mitis* ve *S. parasanguinis* gibi aynı cins içerisinde birbirine yakın olan türler doğru olarak tanımlanamayabilmektedir (Prodhom ve ark., 2010; Stevenson ve ark., 2010). Veri tabanında bu iki suşu ayırabilecek derecede yeterli bilgi bulunmaması ve bu iki bakterinin ribozomal nükleotit dizilerinde yeterli farklılık bulunmamasından kaynaklanmaktadır. Anaerob bakteri türlerinin tanımlamasının veri tabanı yetersizliğinden dolayı başarılı tanımlama oranları % 50'nin altında kalmaktadır (Cherkaoui ve ark., 2010). Bu yöntem ile mikobakteri türlerinin tanımlanması yapılırken sıklıkla yapılan işlemlerin hassasiyet ve tekrarı gerektiği bildirilmiştir (Lotz ve ark., 2010).

MALDI-TOF MS yöntemiyle mikroorganizma tanımlamanın avantajlarına bakıldığında ise; ucuz, hızlı ve doğru sonuç veren bu metod bu özelliklerinden dolayı günümüzde moleküler düzeyde yapılan tanımlama yöntemleri arasında alternatif oluşturmuştur. Alışlagelmiş kültüre dayalı yöntemlerle üretilmiş bakterilerin tanımlanması bir ile iki gün arasında sürer. Ancak MALDI-TOF MS ile hızlı ve doğru tanımlama süresi 1 saat kadardır (Yılmaz ve ark., 2014). Kütle spektrofotometrelerinde özel bir deneyim gerektirmeyen, işlem hacmi yüksek, basit, otomatik, ucuz bir sistemdir. Çalışma için tek bir koloni yeterli olmakla beraber sistem satın alındıktan sonra uygun maliyetlidir. Bu sistem, cins ve tür düzeyinde Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin tanımlanmasında yüksek hassasiyet ve özgüllüğe sahip olup ayrıca mikobakteriler ve mayalarla yapılan çalışmalarda da güvenilir sonuçlar alınmaktadır (Croxatto ve ark., 2012; Murray, 2012; Wieser ve ark., 2012). MALDI-TOF MS ile *Enterobacteriaceae*'lar, non-fermentatif gram negatif bakteriler, stafilokoklar ve streptokoklar hızlı ve kolay bir şekilde tür düzeyinde güvenilir bir şekilde tanımlanabilmektedir (Holler ve ark., 2011). Özellikle konvansiyonel yöntemlerin çok da yeterli olmadığı gram pozitif basillerin, anaerob ve bazı nonfermentatif bakterilerin tanımlanmasında MALDI-TOF MS'in üstün olduğunu gösteren yayınlar bulunmaktadır (Barbuddhe ve ark., 2008; Mellmann ve ark., 2008).

1.16. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

1985 yılında Kary Mullis tarafından bulunan ve patenti alınan bu teknik yine 1985 yılında R. Saiki, K. Mullis ve arkadaşları tarafından orak hücre anemisi tanılanmasında kullanılarak uygulamaya başlanılmıştır. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), bir organizmanın genomik DNA'sında ki özgül bölgelerinin çoğaltan kolay ve başarılı bir invitro DNA sentezi metodudur. Bu yöntemle DNA molekülünün milyonlarca hatta milyarlarca kopyası kısa sürede yapılır.

- ✓ DNA dizi analiz işleminde ve DNA haritalaması yapmada,
- ✓ Genetik hastalıkların tanısında (orak hücre anemisi, kistik fibrozis, fragile Xsendromu, AIDS, lösemi gibi),
- ✓ DNA parmakizi analizi yapılırken,
- ✓ İnsan evrim araştırmalarında,
- ✓ İnsan Genom Projesi çalışmalarında,
- ✓ Allellik dizi varyasyonlarını belirlemesi ile doku naklinde doku tipini belirlemede,
- ✓ Adli tıp incelenecek numunelerin genetik tiplerinin belirlenmesinde (analık babalık tayini),
- ✓ Tarım alanında (tohum saflığını belirlemede),
- ✓ Ekosistemlerdeki biyoçeşitliliğin belirlenmesinde, belirlenen türlerin polimorfizminin yapılmasında kullanılır (Güngör,2015).

PZR reaksiyonu için deoksiniükleotid, DNA polimeraz primerler, kalıp ve magnezyum içeren PZR tamponu gerekmektedir. PZR' da temel prensipler tekrarlanan üç işleme dayanmaktadır. Çoğaltılacak DNA' nın yüksek ısıda denatüre edilmesi, primerin hedef DNA'ya bağlanması, primerin uzamasıdır (Güngör, 2015).

1.17. Ribozomal DNA

Woese ve arkadaşları, genetik şifrenin değişmeyen bir bölgesinin karşılaştırılarak bakterilerin ve diğer yaşam formlarının filogenetik ilişkilerinin belirlenebileceğini belirtmişlerdir. Bakterilerde karşılaştırma için uygun alanlar 5S, 16S ve 23S rDNA'yı şifreleyen gen bölgeleridir. Bakterilerde en çok 16S rDNA geni taksonomik çalışmalarında

kullanılır. Bakterilerde 16S rDNA geninin ortak olarak bulunması bakteriler arasındaki filogenetik ilişkilerin belirlenmesini kolaylaştırır (Woese ve ark., 1985).

Mikroorganizmalar oluşumu bağımsız genomik DNA taşıyan farklı hücrelerin bir araya gelmesiyle oluşurlar. Bir araya gelerek mikrobiyal topluluk oluşturan bu hücreler klon gibi görünse de, birbirlerinin aynı genomik yapıya sahip olmayabilirler. Bu nedenle farklı genomları kolayca birbirlerinden ayırt yeteneği olan birkaç moleküler belirteç tanımlanmıştır. Ribozomal RNA'nın 5S, 16S ve 23S olarak adlandırılan gen bölgeleri yüksek oranda bakteri türleri arasında korunurken, filogenetik sinyaller bulunan farklı bölgeleri içerir. Ribozomal RNA molekülü bakterilerin filogenetik tanımlanması için iyi bir çalışma materyali özelliğindedir. Diğer moleküler belirteç genlerinden 16S rRNA geni PCR primerleri için içerdiği korunmuş bölgeler en ideal bölge taşıması ve evrimsel kronometre gibi rol oynayan değişken bölgeler taşımasıyla filogenetik tanımlamalarda daha çok tercih edilmektedir. Çok sayıda 16S rRNA kopyası bulunduğundan, bu gen bölgesini temel alan yöntemlerin duyarlılığının yüksek ölçüldüğü bildirilmektedir. 16S rRNA geninin yapısı, yakından ilişkili organizmaların farklılaşmasına uygun değişken bölgelerden oluşan bir mozaik sunar ve bunların korunan bölgeleri, evrensel primerlerin tasarımına izin vererek uzak organizmaların karşılaştırılması için kullanışlıdır. MALDI-TOF MS yöntemi esas olarak 16S rRNA geni ile ilişkili proteinleri saptamaktadır (Fernández Bravo ve ark., 2020).

1.18. *gyrB* Gen Bölgesi

DNA girazın β -alt ünitesini kodlayan gen olan *gyrB* geni, DNA replikasyonunda görev alan DNA molekülünde negatif süper sarılı tip II DNA topoizomerase'dir. Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler arasında evrensel olup sekansa dayalı yöntemlerin tür tanımlamada kullanılan DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarının yerine kullanılması için *gyrB* gen bölgesi ile yapılan filogenetik çalışmalarda gelişme yaşanabileceği belirtilmiştir (Kirby ve ark., 2010).

Aeromonas türlerinin tanımlanması geleneksel olarak farklı biyokimyasal testlerin kombine kullanılmasıyla gerçekleştirilirken bununla birlikte, bazı *Aeromonas* türleri heterojen biyokimyasal özellikler gösterdiğinden, her zaman kesin sonuç vermeyebilir. Moleküler yöntemlerle karşılaştırıldığında, biyokimyasal testlerle doğru tanımlama oranının çok düşük olduğu gösterilmiştir (Persson ve ark., 2015).

Moleküler tür tanımlaması, 16S rRNA geni tarafından, kısıtlama fragman uzunluğu polimorfizmi veya doğrudan dizileme yoluyla kullanıldığında yetersiz türler arası sekans varyasyonu ve aynı bakterideki ribozomal RNA operonlarının kopyaları arasındaki heterojenlik nedeniyle, bu gen optimal bir hedef olmayabilir. Bir dizi çalışma, birkaç farklı temizlik geninin dizilimlerinin, bu sıkı taksonomik organizma grubunu ayırt edebildiğini göstermiştir. Bu genler; RNA polimeraz B alt birimi (rpoB), RNA polimeraz D alt birimi (rpoD) ve DNA giraz B alt birimi (gyrB) genidir (Persson ve ark., 2015).

1.19. Tezin Önemi ve Amacı

İnsan sağlığı için son derecede önemli bir patojen olan *Aeromonas* cinsine ait bakteri türleri su ürünlerinden sıklıkla izole edilmesi ve halk sağlığı açısından tehlike oluşturması nedeniyle önemlidir. İntensif balık yetiştiriciliğinde hastalıklar, tedavilerinin güç ve pahalı olması nedeniyle büyük ekonomik sorunlar yaratabilmekte ve işletme ekonomisinin olumsuz yönde etkilenmesine yol açmaktadır. Bu nedenle balık hastalıklarının erken teşhisi, etkili tedavisi ve gerekli kontrol önlemlerinin alınması, kültür balığı yetiştiriciliğinde büyük önem taşımaktadır. Balıklarda bulunan *Aeromonas* türlerinin insan ve hayvan sağlığına etkilerine bakılmadan önce identifikasyonu gerekmektedir.

Son yıllarda ülkemizde kültür balığı yetiştiriciliği yoğun olarak yapılmaktadır. Çalışmamızın yapılacağı Tunceli ilinde 27 adet su ürünleri yetiştiriciliği işletmesi bulunmakta ve bu işletmelerin 20'si ağ kafeslerde ve 7'si beton havuzlarda yapılmaktadır. Ülkemizde alabalık üretimi 2013 yılında 122.873 ton/yıla ulaşırken, 2019 yılı itibarıyla toplam 113.678 ton/yıla düşmüştür (TÜİK, 2020; Güçer, 2022). Bu düşüşten balık hastalıklarındaki artış sorumlu tutulmaktadır. Balık hastalıkları, tedavilerinin zor ve masraflı olmasından dolayı balık yetiştiriciliğinde büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle, balık hastalıklarının teşhisi, etkin tedavisi ve kontrol stratejilerinde planlanması açısından oldukça önemlidir.

Tunceli ilindeki alabalıklarda *Aeromonas* türlerinin bir ekstraksiyon prosedürü ile tanımlamak için MALDI-TOF MS yöntemi ile tespit etmemiz ve ülkemizde bir ilk olma özelliği taşımanın yanı sıra ilimizde yetiştiricilik işletmelerinin kurulduğu su kaynaklarının, sürdürülebilirliğinin sağlanabilmesi için yetiştiricilikten kaynaklanan çevresel bozulmalara yol açan etkilerin olup olmadığını göstermesi bakımından sucul canlıların, insanların, su kaynaklarının ve su ürünleri yetiştiriciliğinin sağlıklı düzeyde

sürdürülebilirliğinin sağlanması açısından doğru işletme yönetimi, çevre dostu tekniklerin geliştirilmesi konularında yol gösterici olacaktır.

Aeromonas türleri akuatik çevrede, özellikle balıkların normal mikrobiyal florasında yaygın olarak bulundukları gibi, insanlar için de infeksiyon kaynağıdır. Ülkemizde şimdiye kadar balıklarda *Aeromonas*'lar ile ilgili yapılan çalışmaların büyük bir kısmı, hastalığa neden olan etkenin izolasyonu ve konvansiyonel yöntemlerle identifikasyonuna yönelik olmuştur. Yapılan literatür taramasında MALDI-TOF MS yöntemi ile etkenin identifikasyonuna yönelik çalışmalar henüz yapılmamış ve bu çalışma ülkemizde ilk kez gerçekleştirilecektir. Sonuçta, balıklarda önemli ekonomik kayıplara ve insanlarda ciddi hastalıklara neden olan *Aeromonas* türlerine karşı eradikasyon stratejilerinin de planlanması yapılabilecektir.

Bu çalışmada;

- ✓ Tunceli ilindeki Mart-Mayıs ile Kasım-Ocak aylarında Mazgirt, Çemişgezek, Ovacık ve Pertek ilçelerindeki ağ kafeslerde ve beton havuzlarda Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden rastgele alınan 200 adet yavru veya ergin Gökkuşığı alabalığının karaciğer, dalak, böbrek ve bağırsak kısımlarında ve alabalıkların bulunduğu havuz suyu örneklerinden *Aeromonas* türlerinin kültür metodu ile izolasyonu ve moleküler bir yöntem olan MALDI-TOF MS yöntemi ile identifikasyonunun yapılması, *Aeromonas* türlerinin yaygınlığına yönelik verilerin elde edilmesi,
- ✓ MALDI-TOF MS analiz sonucunda tespit edilen şüpheli izolatların 16S rDNA ve *gyrB* gen bölgesinin uygun primerlerle çoğaltılmasıyla dizi analizine tabi tutulması,
- ✓ *Aeromonas* türlerinin identifikasyonunda sıkça kullanılan, MALDI-TOF MS, 16S rDNA ve *gyrB* gen dizi analizi yöntemlerinin karşılaştırılması,
- ✓ Tunceli ilinde Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerde *Aeromonas* türlerinin yaygınlığının belirlenmesi ile etkin tedavi ve eradikasyon stratejilerinin planlanmasına yardımcı olacak veriler elde edilmesi,
- ✓ *Aeromonas* türü bakterilerin yaygınlığının belirlenmesi ile etkin tedavi ve eradikasyon stratejilerinin planlanmasına yardımcı olacak veriler elde etmek,
- ✓ Türkiye’de Gökkuşığı alabalıklarında *Aeromonas* cinsi bakteri türlerinin MALDI-TOF MS yöntemi ile tespit edilmesi ve yöntemin tür düzeyinde ayırım yapamadığı noktada 16S rDNA ve *gyrB* gen dizi analizinin ilk kez bu çalışmada yapılacağından, yapılacak olan bu çalışma ile MALDI-TOF MS yöntemiyle *Aeromonas* türlerinin identifikasyonunun nasıl ilerlediğine dair yazılı bir rapor oluşturularak ileriye yönelik yapılacak çalışmalarda

araştırmacılaraya yol gösterici olabilecek veriler elde edilmesi amaçlandı.



2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1 Alınan izinler

Çalışmamız için Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'na başvurular yapıp gerekli onay alındıktan sonra yaptığımız çalışmada moleküler analizlerde kullanılan ticari kitler ve kimyasallar, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından karşılandı (Proje no:YLMUB021-02).

2.1.2. Araştırmanın yürütüldüğü yer

Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (SÜDAM) biriminde incelenecek Gökkuşığı alabalığı örneklerine dekapitasyon işlemi yapılarak karaciğer, dalak, böbrek ve bağırsaktan alınan doku örnekleri materyalleri hazırlanarak soğuk zincir altında moleküler analizler yapılmak üzere İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi Moleküler Mikrobiyoloji laboratuvarına getirilerek mikrobiyolojik olarak incelendi.

2.1.3. Örneklerin toplanması

Çalışmamızda alabalık yetiştiriciliği yapılan Tunceli ili Mazgirt, Çemişgezek, Ovacık ve Pertek ilçelerindeki ağ kafeslerde ve beton havuzlarda alabalık yetiştiriciliği yapılan tesislerden rastgele seçilerek alınan toplam 200 adet yavru veya ergin Gökkuşığı alabalığı ile ilgili tesislerin ağ kafeslerde ve beton havuzlarda kullanılan 64 su örneği alındı.

2.1.4. Kullanılan cerrahi aletler

Gökkuşığı alabalıklarının organlarını ayırmak için yapılan otopsilerinde; cerrahi makas, penset, pens, bisturi sapı ve 22 numara bisturi uçları steril edildikten sonra kullanıldı.

2.1.5. Kullanılan cihazlar

Çalışmamızda kullanılan cihazlar aşağıda listelenmiştir. Bu cihazlar;

- ✓ VİTEK MS MALDI-TOF MS (Bio Mérieux, Fransa) cihazı
- ✓ Gene Amp PCR System 9700 cihazı (APPLIED Biosystems)
- ✓ EZ1 otomatize ekstansiyon sistemi (Qiagen, Hilden, Almanya)
- ✓ Stomacher (AeaChemunex)
- ✓ Trytic Soy Agar (TSA) (HiMedia, Almanya)
- ✓ Brain Herat Infusion Agar (BHI) Besiyeri (HiMedia, Almanya)
- ✓ Hassas terazi (Precisa, 220 SCS)
- ✓ Otomatik dilüsyon terazisi (Dilumat Start, BioMérieux)
- ✓ Deiyonize su sistemi (Milipore Mili-Q)
- ✓ pH metre (WTW pH 3110)
- ✓ Hız ayarlı vorteks (Labinco 121, Hollanda)
- ✓ Elektroforez aparatı (Biorad, ABD)
- ✓ Electrophoresis box (Biorad, ABD)
- ✓ Eppendorf santrifüj tüpleri, steril 0,2 ml, 0,5 ve 1,5 ml (Qiagen, Hilden, Almanya)
- ✓ Derin dondurucu -20 °C'lik (Uğur)
- ✓ Derin dondurucu -80 °C'lik (Panasonic)
- ✓ Biyogüvenlik kabineti Tip II (Esco, AC2-4E1)
- ✓ İnkübatörler (Memmert UN55)
- ✓ Soğutmalı Santrifüj
- ✓ Stomacher (AesChemunex)
- ✓ Yatay elektroforez tankı ve güç kaynağı (Biorad, USA)
- ✓ Etüv (Nüve EN 400)
- ✓ Otoklav (Panasonic, 3180)'dır.

2.1.6. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmamızda kullanılan kimyasal maddeler aşağıya çıkarılmıştır. Bu kimyasalar;

- ✓ Deoksinükleotid trifosfat (dNTP) seti (dATP, dGTP, dCTP, dTTP)
- ✓ 50 bp ve 100 bp'lik DNA boyut markerları

- ✓ 1 ul Matriks çözeltisi
- ✓ ATTC Escherichia coli 8739 suşu
- ✓ Vitek MS Target
- ✓ Vitek MS Chca (Matrix)'dır.

2.1.7. Aeromonas türlerinin izolasyon ve identifikasyonunda kullanılan besiyerleri

2.1.7.1. Alkali peptonlu su

15 gr Pepton Water (Oxoid CM 9) besiyerinden tartılarak 1000 ml distile suyun içinde çözündürüldü. Hazırlanan karışım homojenize edilip pH'ı 8,4'e ayarlandı. 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilizasyona bırakıldı (Popoff, 1984).

2.1.7.2. Aeromonas agar (Oxoid CM 833)

29,5 gr Aeromonas Agar (Oxoid CM 833) besiyeri tartılıp 500 ml distile su eklenerek hazırlanan karışım sıcak su banyosu ile eritildikten sonra 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra karışıma Ampicillin Selective Supplement (Oxoid SR 136) maddesinden 1 vial ilave edilerek karıştırıldıktan sonra steril petrilere döküldü (Popoff, 1984).

2.1.7.3. Blood agar (Merck 1. 10886)

40 gr Blood Agar besiyeri tartılıp 1000 ml distile su ile karıştırılarak pH'ı 7,2-7,4 ayarlanıp 15 dk otoklav işlemi yapıldı ve 50 °C'ye % 7 oranında steril insan kanı ilave edildi (Popoff, 1984).

2.2. Metot

Çalışmamızda Tunceli ilindeki Mazgirt, Çemişgezek, Ovacık ve Pertek ilçelerindeki ağ kafeslerde ve beton havuzlarda Gökkuşluğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden Mart-Mayıs ile Kasım-Ocak aylarında rastgele seçilerek temin edilen toplam

200 adet yavru veya ergin Gökkuşığı alabalıklarının bağırsak, böbrek, dalak ve karaciğerlerinden alınan doku örnekleri, ağ kafes ve beton havuzlardan temin edilen 64 adet su örnekleri kullanıldı. Balık örnekleri bakteriyel çalışma öncesi ekto ve endoparazit yönünden incelendi. Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (SÜDAM) biriminde 50 ppm benzocaine ile anesteziye tabi tutularak balıkların vücut yüzeyi % 70'lik etil alkolle silinerek karın boşluğu steril şartlarda açıldı ve derileri steril bir bistüri ile kesilip kaldırılarak steril penslerle karaciğer, dalak, böbrek ve bağırsak kısımlarından alınan örnekler steril plastik öze yardımıyla steril stomacher poşetlerine, su örnekleri ise steril plastik kavanozlara konularak soğuk zincir altında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı.

2.2.1. Konvasiyonel yöntemle *Aeromonas* türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu

Stomacher poşetlerinde bulunan balıklardan alınan karaciğer, dalak, böbrek ve bağırsak doku numunelerinin her birine % 0,1'lik Alkali Pepton Water 225 ml ilave edildikten sonra 2 dakika homojenize edilip 28 °C'de 18-24 saat aralığında inkübasyona bırakıldı. Su örneklerine de aynı işlem yapıldı. İnkübe edildikten sonra bir öze dolusu zenginleştirme sıvısından alınıp *Aeromonas* Agar ve Blood Agar'a çizme yöntemiyle ekimleri yapılarak petri plakları 28 °C'de 18 ile 24 saat aralığında Resim 2.1'de görüldüğü gibi inkübasyona bırakıldı. Yine zenginleştirme sıvısından plastik öze ile 10 µl alınarak % 5 koyun kanlı agar besiyerlerine kantitatif ekim yapılarak aerobik koşullar altında 37 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Her örnek için kanlı besiyerine ekim yapıldı. 18-24 saat süreyle 37 °C'de etüve bırakıldı (İşleyici ve ark., 2007).



Resim 2.1. Ekim yapılan petri kaplarının etüvde görünümü

Aeromonas agar'da üreme gösteren ortası opak koyu yeşil koloniler *Aeromonas* yönünden şüpheli koloni, kanlı agar plakları üzerinde üreyen şüpheli koloniler ise diğer bakteri türleri olarak şüpheli koloni olarak kabul edildi (Resim 2.2) (İşleyici ve ark., 2007).



Resim 2.2. Besiyerinde üreme gösteren bakteri kolonilerinin tipik görünümü

Aeromonas ve diğer bakteri türlerinden olduğundan şüphelenilen izolatlar saflaştırıldı. Saflaştırma işlemi için üreyen bakteriler katı besiyerine tek koloni halinde ekildi. Ard arda iki defa işlem tekrarlanarak saflaştırma işlemi tamamlandı. 1,5 ml hacminde eppendorf tüplerin içine % 30'luk gliserol ile MRS sıvı besiyerlerine yaklaşık

üç dört öze dolusu kadar saf kültürden eklenerek vortekslendi. Stok kültürler daha sonra kullanılması için -80 °C’de muhafaza edildi (İşleyici ve ark., 2007).

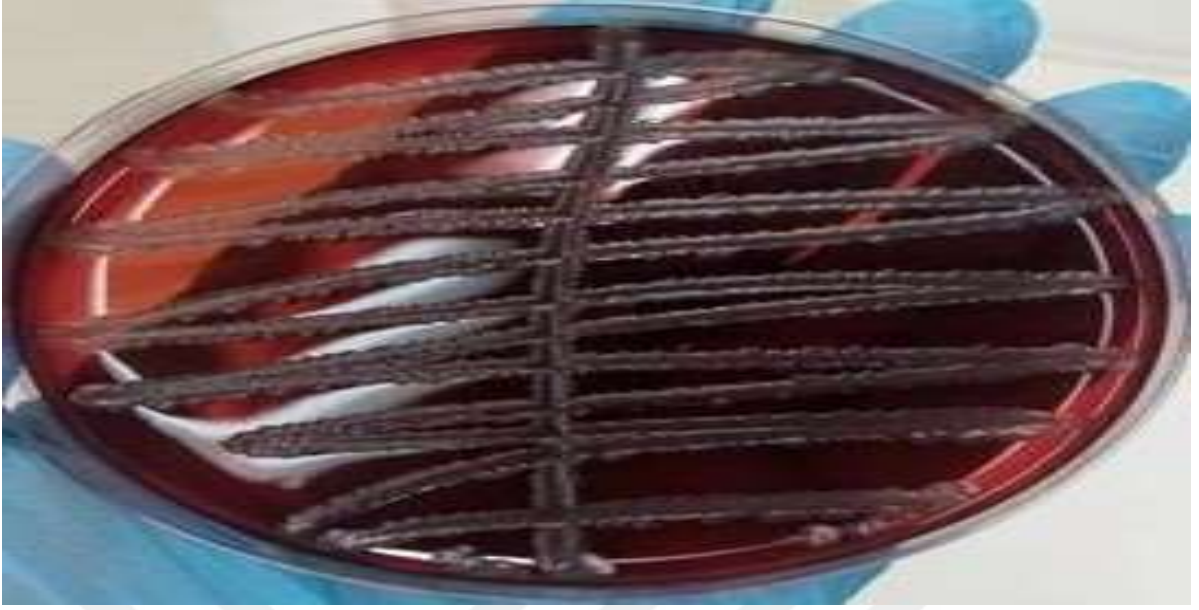
2.2.2. Referans suşlar

Kalibrasyon işlemi için kullanılmak üzere MALDI TOF MS cihazı çalışmalarında *Escherichia coli* ATCC 8739 (American Type Culture Collection Manassas, ABD) standart bakteri suşları pozitif kontrol olarak kullanıldı (Dubois ve ark., 2012; Westblade ve ark., 2013).

2.2.3. Bakteri kolonilerinin sayımı

Sıvı besiyerinden 1 ml çaplı öze kullanılarak katı besiyeri olan *Aeromonas* agar ve kanlı agara ekimi yapılan petri kaplarında inkübe olan bakterilerin koloni sayımı yapıldı (Resim 1 2.3).

Katı besiyeri kullanarak yaptığımız koloni sayımında her canlı hücrenin belirli bir inkübasyon sonrasında 1 adet koloni oluşturması prensibiyle sadece koloni oluşturabilenlerin sayımı yapılarak koloni oluşturan birimler sayıldı. Genel tıp kurallarına göre bir bakteriden köken alan bakteri topluluğu olan koloni, bir millitre kültürde en az 100.000 koloni üremişse enfeksiyon varlığı düşünülerek 10.000 ile 100.000 koloni olması anlamlı kabul edildiğinden çalışmamızda elde edilen koloni sayım sonucu 525 örnekte 100.000 cfu/ml, 1 örnekte ise 70.000 cfu/ml tespit edildiğinden anlamlı kabul edildi.



Resim 2.3. Koloni sayımı yapılan besiyerinde inkübe olan bakteri kolonilerinin görünümü

2.2.4. İzole edilen *Aeromonas* türlerinin MALDI-TOF MS cihazı ile tanımlanması

Matriks solüsyonu 2 mg HCCA (α -siyano-4-Hidroksisinnamik Asit) matriks ve 150 μ l organik çözücü ile karıştırılarak 1 ml organik çözücü alınarak steril bir eppendorf tüpüne eklenerek karıştırıldı. *Aeromonas* Selective Agar'da üreyen 24 saate kadar olan kültürler doğrudan alınıp sisteme yüklendi. Logaritmik fazdan sonra *Aeromonas* şüpheli bakteri kolonileri petri kaplarından tek kullanımlık 1 μ l hacminde halka uçlu öze yardımıyla alınıp target adı verilen metalden yapılmış plaka üzerindeki alanlara sürülüp her örneğin üzerine 1 μ l matriks solüsyonu Vitek MS CHCA ilave edilerek havada kuruması için bekletildi. Bu işlem daha sonra Blood Agar (Merck 1. 10886)'da gelişen 24 saatlik kültürler içinde yapıldı. Aleti kalibre etmek için, standart bakteri suşu *E. coli* ATCC 8739 (Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu Manassas, ABD), yukarıda referans olarak açıklanan yöntem kullanılarak hedef slaytta belirlenmiş kuyucuklara aktarıldı. Kalite kontrol amacıyla, pozitif kontroller (*E. coli* suşları) her tahlilde analiz edildi. Plakalar kurutulup cihaza yerleştirilip okumaya başlandı (Guo ve ark., 2014).

2.000-20.000 da ağırlığındaki yapıların 20 Hz lazer darbe frekansı ile doğrusal pozitif iyon modeli kullanılarak spektrum tepe görüntüleri elde edildi. Yine suşların birbirine yakınlığı ve uzaklığı UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic

Mean) algoritması kullanılarak "Pearson Correlation" (% 0,8 tolerans) kullanılarak hesaplandı (Guo ve ark., 2014).

2.2.5. 16S rDNA ve *gyrB* gen bölgesinin dizi analizi

MALDI-TOF MS yöntemi kullanılarak çıkan sonuçlardan *A. hydrophila*/*A. punctata* olarak tanımlanan izolatlar için 16S rDNA ve *gyrB* gen bölgelerinin dizi analizi yapıldı. 16S rDNA ve *gyrB* gen bölgelerinin dizi analizi için kalıp DNA hazırlandı. Bunun için birkaç bakteri kolonisi alındı ve 750 µl TE içinde süspanse edildi ve vortekslendi. Süpernatant, 12000 devir/dk hızda 2 dakika santrifüjleme yoluyla çıkarıldı. Daha sonra yıkama iki kez tekrarlandı ve pelet 250 µl TE içinde süspanse edildi. 95 °C'de 20 dakika bekletildi ve bakteriler parçalanarak DNA açığa çıkarıldı. 12000 devir/dk hızda 2 dakika santrifüj edilerek oluşturulan süpernatant temiz bir tüpe aktarıldı ve kalıp DNA hazırlandı. PZR primerleri olarak çalışmada *gyrB* housekeeping gen ve 16S rDNA gen bölgeleri çoğaltıldı. Çalışmada 16S rDNA ve *gyrB* dizi analizinde kullanılan primerler Tablo 2.1'de verilmiştir (McCabe ve ark., 1999; Yanez ve ark., 2003; Soler, 2004; Abu Elala ve ark., 2015).

Tablo 2.1. 16S rDNA ve *gyrB* dizi analizinde kullanılan primerler (McCabe ve ark., 1999; Yanez ve ark., 2003; Soler, 2004; Abu Elala ve ark., 2015)

Gen	Primer	Bp
16S rDNA	p8FPL 5'-AGTTTGATCCTGGCTCAG-3' p806R 5'-GACTACCAGGGTATCTAAT-3'	~834
<i>gyrB</i>	<i>gyrB</i> 3F (F) 5'-TCCGGCGGTCTGCACGGCGT-3' <i>gyrB</i> 14R (R) 5'-TTGTCCGGGTTGTACTCGTC-3'	~ 1100

0,026U/µl Taq polimeraz ve *gyrB* PCR için *gyrB*3F ve *gyrB*14R primerleri içeren toplam 35 µl amplifikasyon karışımı, çalışılacak 11 örnek sayısına göre ayarlandı ve 32,5 µl PZR tüplerine ve 2,5 µl paylaştırıldı. Bakterilerden elde edilen DNA karışıma eklendi. p8FPL ve p806R primerleri ile 16S rDNA PZR için karışımı çalışılacak 11 örnek için hazırlandı ve DNA aynı miktarda eklendi (McCabe ve ark., 1999), (Yanez ve ark., 2003; Soler, 2004; Abu Elala ve ark., 2015).

2.2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile DNA Amplifikasyonu

Isı döngü cihazlarına çoğaltma karışımının konulduğu tüpler yerleştirildikten sonra PZR döngüleri ve sıcaklıkları ayarlandı. Amplifikasyon tüpüne eklenen bileşenler ve reaksiyon basamakları Tablo 2.2, Tablo 2.3 ve Tablo 2.4'te verilmiştir (McCabe ve ark., 1999), (Yanez ve ark., 2003; Soler, 2004; Abu Elala ve ark., 2015).

Tablo 2.2. Polimeraz zincir reaksiyon protokolü (McCabe ve ark., 1999), (Yanez ve ark., 2003; Soler, 2004; Abu Elala ve ark., 2015)

Bileşen	Miktarı
Kalıp DNA	5 µl
10x Taq Buffer	5 µl
D9NTP	1 µl
Primer – F	1 µl
Primer – R	1 µl
5x Tune Up Buffer	10 µl
Taq Polimeraz	1,25 µl
Su	50 µl'ye tamamlanır.

Tablo 2.3. 16S rDNA geninin PZR koşulları (McCabe ve ark., 1999), (Yanez ve ark., 2003; Soler, 2004; Abu Elala ve ark., 2015)

İşlem	Süre	Sıcaklık	Döngü
İlk Denatürasyon	4 dk	95 °C	1
Denatürasyon	30 sn	95 °C	35
Annealing	30 sn	56 °C	
Elongasyon	1 dk	72 °C	
Son Uzama	7 dk	72 °C	1
Soğutma	Sınırsız		4 °C

Tablo 2.4. *gyrB* geninin PZR koşulları (McCabe ve ark., 1999), (Yanez ve ark., 2003; Soler, 2004; Abu Elala ve ark., 2015)

İşlem	Süre	Sıcaklık	Döngü
İlk Denatürasyon	5 dk	94 °C	1
Denatürasyon	1dk	94 °C	30
Annealing	30 sn	62 °C	
Elongasyon	45 sn	72 °C	
Son Uzama	1 dk	72 °C	1
Soğutma	Sınırsız		4 °C

PZR ürünlerinin saflaştırılması için çoğaltma işleminden sonra yükleme tamponu ile 2 µl elde edilen PZR ürünlerinden karıştırılarak % 2'lik agarozlu jele yüklendi. İlk çukura molekül ağırlık standartı yüklendi. 100 V güçle 45 dakika süreyle elektroforez yürütüldükten sonrada etidyum bromür çözeltisi içinde 20 dakika süre bekletildikten sonra boyandı. UV ışık altında yaklaşık 834 ve 1100 baz çiftlik DNA bantları, görüntüleme sistemi yardımıyla bilgisayara aktarıldı. DNA bantı görülen PZR ürünleri saflaştırıldı. Qiaquick PZR saflaştırma kiti kullanılarak dizi analizi tepkimelerini etkileyen ortamda kullanılmayan nükleotit ve primerler uzaklaştırılmaya çalışıldı. Spin filtreler aktarılan karışım 1 dakika sürede inkübe edilerek 130 µl Buffer P eklendi. 30 saniye santrifüj edilerek 700 µl yıkama tamponu ilavesi sonrası 30 saniye santrifüj ile açığa çıkan sıvı uzaklaştırıldı. Yıkama tamponunda bulunan etanol 14 000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilerek uzaklaştırıp spin filtreler 1.5 µl'lik temiz tüplere aktarıldı. 20 µl deiyonize su ilave edilip oda sıcaklığında en az 3 dakika bekletilip 1 dakika santrifüj edildi. Dizi analizinde kullanmak için saflaştırdığımız PZR ürünleri -20 °C'de saklandı. Döngüsel dizi analizi tepkimesi için BigDye Terminator V3.1 dizileme kiti kullanıldı. dNTP, ddNTP ve Taq polimeraz içeren 1x tampon ve 0.160 µm primer içeren karışım 11 örneğe yapacağımız dizi analizine göre PZR tüplerine 6 µl konularak üzerine saflaştırılmış DNA'dan 4 µl ilave edilerek dizi analizi tepkimesi için ısı döngü aletine yerleştirildi. Döngüsel dizi analizi ürünleri formamid ile çözündürülüp tüplere aktararak elektroforez işlemine kadar -20 °C'de bekletildi. -95 °C'de 2 dakika, -20 °C'de 1 dakika tutuldu. Kapiler jel elektroforez cihazına yüklenene kadar buz üstünde bekletildi. DNA dizileri denatüre edildi ve "ABI Prism 310 Genetic Analyzer" kapiler jel elektroforezinde çalıştırıldı. Elde edilen DNA dizileri cihaz tarafından kromatogram dosyaları olarak

kaydedildi. 16S rDNA ve *gyrB* dizi analizi ile elde edilen nükleotit dizileri, elektroferogramlar için görsel olarak kontrol edildi. Her iki yönde dizi analizi ile elde edilen diziler eşleştirildi. Doğrulanmış diziler Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) web sitesinde (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BALST/>) BLAST programı kullanılarak gen bankası veritabanıyla karşılaştırıldı. Çalışma sonucunda bulgular sayı ve yüzde olarak ifade edildi. (McCabe ve ark., 1999), (Yanez ve ark., 2003; Soler, 2004; Abu Elala ve ark., 2015).

Çalışmamızla elde edilen bulguların analizi, betimsel istatistik yöntemi kullanılarak yapıldı.



3. BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1. Bulgular

Bu çalışmada, Tunceli ilindeki Mazgirt, Çemişgezek, Ovacık ve Pertek ilçelerindeki Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan 16 tesisteki ağ kafes ve beton havuzlardan rastgele seçilerek alınan toplam 200 adet yavru veya ergin Gökkuşığı alabalıklarının bağırsak, böbrek, karaciğer ve dalak kısımlarının herbirinden 200'er adet olmak üzere toplam 800 adet alınan doku örnekleri ve bu tesislerin ağ kafes ve beton havuzlarından temin edilen 64 adet su örnekleri alınarak; İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Moleküler Mikrobiyoloji laboratuvarında *Aeromonas* cinsine ait bakteri türlerinin varlığının olup olmadığı yönünden analiz edildi.

Çalışmamızda konvansiyonel yöntemle besiyerlerinden izole edilen 141 adet kültürde *Aeromonas* selective agar'da *Aeromonas* spp'ye ait şüpheli koloniler bulunduğu; kanlı agarda yapılan ekim sonucunda ise bütün doku örneklerinde total 385 adet diğer bakteriler yönünden toplamda 526 adet şüpheli koloni olduğu, üreme olmayan örnek sayısının ise 274 adet olduğu tespit edildi. *Aeromonas* agarda üreyen merkezi koyu yeşil opak koloniler *Aeromonas* yönünden şüpheli koloni olarak kabul edilerek izole edilen bakteri türleri ile kanlı agarda üreyen şüpheli 385 koloniden ve su örneklerinin ekiminin yapıldığı kanlı agar plaklarında üreyen 4 şüpheli koloniden izole edilen bakteri türleri MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlandı.

3.1.1. MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlanan bakteri türleri

Çalışmamızda, Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan balıkların bağırsak, böbrek, dalak ve karaciğerlerinde tespit edilen bakteri türlerinin bağırsak, böbrek, dalak ve karaciğer dokularındaki yerleşimlerine, gram özelliğine ve ait olduğu familyaya göre bakteri türlerinin dağılımına bakıldığında; Tablo 3.1'de verildiği üzere, *Aeromonas* agarda ve kanlı agarda inkübe olan bakteri kolonilerinde 526 adet şüpheli koloni tespit edilerek, şüpheli bakteri kolonilerinden MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlanan bakteri türlerinin *Aeromonadaceae*, *Basillaceae*, *Comamonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Erwiniaceae*, *Moraxellaceae*, *Nocardiaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Staphylococcaceae*,

Streptococcaceae, *Xanthomonadaceae* ve *Yersiniaceae* familyası olmak üzere 13 adet familyaya ait bakteri türleri olduğu ve en fazla *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteri türlerinin tespit edildiği gözlemlendi.

Tablo 3.1. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan balık örneklerinde tespit edilen bakteri türlerinin doku örneğine, gram özelliğine ve ait olduğu familyaya göre dağılımı

	Bakteri Türü	Gram Boyama Öz.		Numune Kaynağı							
		Gram Boyama Öz.		Bağırsak		Böbrek		Dalak		Karaciğer	
		Gram (+)	Gram (-)	n	%	n	%	n	%	n	%
Ovacık	<i>A.veronii</i>		-	0	0	1	33,33	1	33,33	1	33,33
Ovacık	<i>A.sobria</i>		-	3	42,85	3	42,85	1	14,28	0	0
Ovacık	<i>A.salmonicida</i>		-	3	75,00	1	25,00	0	0	0	0
Ovacık	<i>Hafnia alvei</i>		-	11	42,31	6	23,08	4	15,39	5	19,23
Ovacık	<i>Escherichia coli</i>		-	4	100	0	0	0	0	0	0
Ovacık	<i>Proteus mirabilis</i>		-	1	50,00	0	0	0	0	1	50,00
Ovacık	<i>Citrobacter brakii</i>		-	1	100	0	0	0	0	0	0
Ovacık	<i>Obesumbacterium proteus</i>		-	1	50,00	0	0	1	50,00	0	0
Ovacık	<i>Eschericia hermannii</i>		-	0	0	0	0	0	0	1	100
Ovacık	<i>Stenotrophomonas maltophila</i>		-	2	40,00	0	0	1	20,00	2	40,00
Ovacık	<i>Serratia marcescens</i>		-	3	100	0	0	0	0	0	0
Ovacık	<i>Pantoea agglomerans</i>		-	0	0	0	0	1	100	0	0
Ovacık	<i>Acinetobacter lwoffii</i>		-	0	0	0	0	3	75,00	1	25,00
Ovacık	<i>Pseudomonas stutzeri</i>		-	0	0	1	100	0	0	0	0
Ovacık	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+		1	7,14	6	42,86	4	28,57	3	21,43
Ovacık	<i>Staphylococcus aureus</i>	+		0	0	0	0	0	0	1	100
Ovacık	<i>Streptococcus mitis</i>	+		0	0	0	0	1	100	0	0
Ovacık	<i>Streptococcus oralis</i>	+		0	0	0	0	1	100	0	0
Ovacık	<i>Lactococcus garvieae</i>	+		0	0	0	0	0	0	1	100
Ovacık	<i>Enterococcus faecium</i>	+		2	16,67	2	16,67	4	33,33	4	33,33
TOPLAM		6	14	32	6,08	20	3,80	22	4,18	20	3,80

Tablo 3.1’in devamı

Çemişgezek	<i>A.veronii</i>		-	5	50,00	2	20,00	1	10,00	2	20,00
Çemişgezek	<i>A.sobria</i>		-	8	66,67	2	16,67	1	8,33	1	8,33
Çemişgezek	<i>Bacillus pumilus</i>	+		0	0	0	0	1	50,00	1	50,00
Çemişgezek	<i>Comamonas aquatica</i>		-	1	50,00	0	0	0	0	1	50,00
Çemişgezek	<i>Escherichia coli</i>		-	5	33,33	4	26,67	3	20,00	3	20,00
Çemişgezek	<i>Providencia rettgeri</i>		-	2	40,00	1	20,00	1	20,00	1	20,00
Çemişgezek	<i>Hafnia alvei</i>		-	3	20,00	2	13,33	6	10,00	4	26,67
Çemişgezek	<i>Providencia stuartii</i>		-	1	100	0	0	0	0	0	0
Çemişgezek	<i>Leclercia adecarboxylata</i>		-	1	33,33	0	0	2	66,67	0	0
Çemişgezek	<i>Plesiamonas shigelloides</i>		-	3	50,00	1	16,67	1	16,67	1	16,67
Çemişgezek	<i>Klebsiella aerogenes</i>		-	2	18,18	0	0	5	45,45	4	36,36
Çemişgezek	<i>Morganella morganii</i>		-	2	100	0	0	0	0	0	0
Çemişgezek	<i>Citrobacter freundii</i>		-	1	33,33	2	66,66	0	0	0	0
Çemişgezek	<i>Citrobacter werkmanii</i>		-	1	50,00	0	0	1	50,00	0	0
Çemişgezek	<i>Proteus vulgaris</i>		-	0	0	1	100	0	0	0	0
Çemişgezek	<i>Obesumbacterium proteus</i>		-	0	0	0	0	1	5,00	1	50,00
Çemişgezek	<i>Enterobacter kobei</i>		-	0	0	0	0	1	100	0	0
Çemişgezek	<i>Proteus mirabilis</i>		-	0	0	0	0	0	0	1	100
Çemişgezek	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		-	0	0	1	50,00	0	0	1	50,00
Çemişgezek	<i>Enterococcus faecalis</i>	+		2	33,33	1	16,67	2	33,33	1	16,67
Çemişgezek	<i>Enterococcus casseliflovis</i>	+		0	0	0	0	1	50,00	1	5,00
Çemişgezek	<i>Acinetobacter radioresistent</i>		-	2	28,57	1	14,28	2	28,57	2	28,57
Çemişgezek	<i>Acinetobacter lwoffii</i>		-	1	50,00	0	0	0	0	1	50,00
Çemişgezek	<i>Acinetobacter baumannii</i>		-	0	0	1	16,67	2	33,33	3	50,00
Çemişgezek	<i>Pseudomonas stutzeri</i>		-	1	100	0	0	0	0	0	0
Çemişgezek	<i>Macrococcus caseolyticus</i>	+		2	11,76	5	29,41	5	29,41	5	29,41
Çemişgezek	<i>Sterotrophomoas maltophila</i>		-	0	0	3	100	0	0	0	0
TOPLAM		4	23	43	8,17	27	5,13	36	6,84	34	6,46

Tablo 3.1'in devamı

Mazgirt	<i>A.hydrophila</i>		-	2	22,22	1	11,11	2	22,22	4	44,44
Mazgirt	<i>A.veronii</i>		-	3	16,66	5	27,78	6	33,33	4	22,22
Mazgirt	<i>A.sobria</i>		-	9	24,32	6	16,22	10	27,02	12	32,43
Mazgirt	<i>A.media</i>		-	10	58,82	0	0	6	35,29	1	5,88
Mazgirt	<i>A.salmonicida</i>		-	1	25,00	0	0	2	50,00	1	25,00
Mazgirt	<i>Hafnia alvei</i>		-	2	50,00	1	25,00	1	25,00	0	0
Mazgirt	<i>Plesiamonas shigelloides</i>		-	1	100	0	0	0	0	0	0
Mazgirt	<i>Escherichia coli</i>		-	4	30,77	1	7,69	2	15,38	6	46,15
Mazgirt	<i>Lelliottia amnigena</i>		-	0	0	0	0	0	0	1	100
Mazgirt	<i>Enterococcus faecium</i>	+		2	40,00	1	20,00	2	40,00	0	0
Mazgirt	<i>Acinetobacter lwoffii</i>		-	2	50,00	2	50,00	0	0	0	0
Mazgirt	<i>Acinobacter baumanii</i>		-	2	50,00	1	25,00	0	0	1	25,00
Mazgirt	<i>Pseudomonas putida</i>		-	3	21,43	7	50,00	2	14,28	2	14,28
Mazgirt	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+		0	0	1	50,00	0	0	1	50,00
Mazgirt	<i>Staphylococcus hominis</i>	+		0	0	0	0	3	100	0	0
Mazgirt	<i>Macroccoccus caseclyticus</i>	+		0	0	1	100	0	0	0	0
Mazgirt	<i>Lactococcus garvieae</i>	+		0	0	5	50,00	2	20,00	3	30,00
Mazgirt	<i>Sterotrophomoas maltophila</i>		-	10	17,54	16	28,07	14	24,56	17	29,82
Mazgirt	<i>Serratia marcescens</i>		-	0	0	1	50,00	1	50,00	0	0
TOPLAM		5	14	51	9,70	49	9,32	53	10,08	53	10,08

Tablo 3.1'in devamı

Pertek	<i>A.hydrophila</i>		-	1	50,00	0	0	0	0	1	50,00
Pertek	<i>A.veronii</i>		-	0	0	2	66,67	1	33,33	0	0
Pertek	<i>A.sobria</i>		-	9	81,81	1	9,09	1	9,09	0	0
Pertek	<i>Bacillus cereus group</i>	+		3	16,67	3	16,67	5	27,78	7	38,89
Pertek	<i>Hafnia alvei</i>		-	2	50,00	1	25,00	0	0	1	25,00
Pertek	<i>Leclercia adecarboxylata</i>		-	2	50,00	0	0	1	25,00	1	25,00
Pertek	<i>Escherichia coli</i>		-	2	28,57	1	14,28	3	42,85	1	14,28
Pertek	<i>Enterobacter hormaechei</i>		-	1	50,00	0	0	0	0	1	50,00
Pertek	<i>Obesumbacterium proteus</i>		-	2	100	0	0	0	0	0	0
Pertek	<i>Citrobacter werkmanii</i>		-	1	20,00	4	80,00	0	0	0	0
Pertek	<i>Citrobacter freundii</i>		-	1	20,00	3	60,00	0	0	1	20,00
Pertek	<i>Enterobacter asburiae</i>		-	1	100	0	0	0	0	0	0
Pertek	<i>Enterococcus faecium</i>	+		0	0	6	54,55	2	18,18	3	27,27
Pertek	<i>Lelliottia amnigena</i>		-	0	0	0	0	0	0	1	100
Pertek	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	+		0	0	1	100	0	0	0	0
Pertek	<i>Acinetobacter lwoffii</i>		-	1	50,00	0	0	1	50,00	0	0
Pertek	<i>Nocardia brasiliensis</i>	+		0	0	0	0	1	100	0	0
Pertek	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+		0	0	0	0	0	0	2	100
Pertek	<i>Yersinia ruckerii</i>		-	3	75,00	0	0	1	25,00	0	0
TOPLAM		5	14	29	5,51	22	4,18	16	3,04	19	3,61
GENEL TOPLAM		20	65	156	29,46	118	22,43	127	24,14	125	23,95

Çalışmamızda, Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan balıkların doku örneklerinde tespit edilen bakteri türlerinin Gram özelliğine göre dağılımına ilçeler bazında bakıldığında; Ovacık ilçesindeki tesislerden alınan örneklerde tespit edilen 20 adet bakteri türünden Gram pozitif bakteri 6, Gram negatif bakteri sayısı ise 14, Çemişgezek ilçesindeki tesislerden alınan örneklerde tespit edilen 27 adet bakteri türünden Gram pozitif bakteri 4, Gram negatif bakteri sayısı ise 23, Mazgirt ilçesindeki tesislerden alınan örneklerde tespit edilen 19 adet bakteri türünden Gram pozitif bakteri 5, Gram negatif bakteri sayısı ise 14, Pertek ilçesindeki tesislerden alınan örneklerde tespit edilen 29 adet bakteri türünden Gram pozitif bakteri sayısı 5, Gram negatif bakteri sayısının ise 14 olduğu

tespit edildi.

Çalışmamızda, Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan balıkların bağırsak, böbrek, dalak ve karaciğerlerinde ilçeler bazında en fazla tespit edilen bakteri türlerine bakıldığında; Ovacık ilçesindeki Gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan Gökkuşuğu alabalığı örneklerinden bağırsakda 32 (% 6,08), böbrekde 20 (% 3,80), dalakda 22 (% 4,18), karaciğerde ise 20 adet (% 3,80) bakteri türü tespit edildi. Tespit edilen bakteri türlerinden; bağırsakda, en fazla *Hafnia alvei*, böbrekde, *Hafnia alvei* ve *Staphylococcus epidermidis*, dalakda, *Hafnia alvei*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium* ve karaciğerde ise *Hafnia alvei* ve *Enterococcus faecium* türünün yerleşim gösterdiği tespit edildi.

Çemişgezek ilçesinde, bağırsakda 43 (% 8,17), böbrekde 27 (% 5,13), dalakda 36 (% 6,84), karaciğerde ise 34 adet (% 6,46) bakteri türü tespit edildi. Tespit edilen bakteri türlerinden; bağırsakta, en fazla *A.sobria*, böbrekde, *Macrococcus caselclyticus* ve *E.coli* dalakda, *Hafnia alvei*, *Macrococcus caselclyticus* ve *Klebsiella aerogenes* ve karaciğerde ise *Hafnia alvei*, *Macrococcus caselclyticus* ve *Klebsiella aerogenes* türünün yerleşim gösterdiği tespit edildi.

Mazgirt ilçesinde, bağırsakda 51 (% 9,70), böbrekde 49 (% 9,32), dalakda 53 (% 10,08), karaciğerde ise 53 adet (% 10,08) bakteri türü tespit edildi. Tespit edilen bakteri türlerinden; bağırsakta, en fazla *A.sobria*, *A.media* ve *Steretrophomonas maltophila*, böbrekde, *Steretrophomonas maltophila*, dalakda *A.sobria*, *Steretrophomonas maltophila* ve karaciğerde ise en fazla *A.sobria* ve *Steretrophomonas maltophila* türü tespit edildi.

Pertek ilçesinde, bağırsakda 29 (% 5,51), böbrekde 22 (% 4,18), dalakda 16 (% 3,04), karaciğerde ise 19 adet (% 3,61) bakteri türü tespit edildi. Tespit edilen bakteri türlerinden; bağırsakta, en fazla *A.sobria*, böbrekde, *Enterococcus faecium*, dalakda ve karaciğerde ise en fazla *Bacillus cereus* grup bakteri türleri tespit edildi (Tablo 3.1).

Yapılan analizler sonucunda çalışmamızda; bütün ilçelerdeki tesislerden temin edilen balıkların organlarından alınan numunelerde bağırsakda 156, böbrekde 118, dalakda 127 ve karaciğerde ise 125 olmak üzere toplam 526 adet bakteri türü tespit edildi.

Konvansiyonel yöntemle ekimi yapılan petri kaplarında inkübe olan bakteri koloni sayımında; her canlı hücrenin belirli bir inkübasyon sonrasında 1 adet koloni oluşturması prensibiyle sadece koloni oluşturabilen canlı hücre sayımı yapılarak koloni oluşturan birimler sayıldı. Genel tıp kurallarına göre bir bakteriden köken alan bakteri

topluluğu olan koloni, bir millitre kültürde en az 100.000 koloni üremişse enfeksiyon varlığı düşünülerek 10.000 ile 100.000 koloni olması anlamlı kabul edildiğinden çalışmamızda elde edilen koloni sayım sonucu 525 örnekte 100.000 cfu/ml, 1 örnekte ise 70.000 cfu/ml koloni tespit edildiğinden anlamlı kabul edildi.

Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan balıkların bağırsak, böbrek, dalak ve karaciğerlerinde tespit edilen *Aeromonas* türlerinin dağılımı incelendiğinde;

Bağırsakda tespit edilen *Aeromonas* türlerinden, *A. hydrophila* 3 (% 5,17), *A. sobria* 29 (% 50,00), *A. veronii* 12 (% 20,69), *A. salmonicida* 4 (% 6,90) ve *A. media* türünün ise 10 adet (% 16,39) olmak üzere toplam 58 adet (% 41,13) bakteri türlerinin olduğu tespit edildi.

Böbrekde tespit edilen 24 adet (% 17,02) *Aeromonas* türlerinin, *A. hydrophila* türü 1 (% 4,17), *A. sobria* türü 12 (% 50,00), *A. veronii* türü 10 (% 41,67), *A. salmonicida* türünün ise 1 adet (% 4,17) olduğu gözlemlendi.

Dalakda tespit edilen 32 (% 22,70) *Aeromonas* türlerinin, *A. hydrophila* türü 2 (% 6,25), *A. sobria* türü 13 (% 40,63), *A. veronii* türü 9 (% 28,13), *A. salmonicida* türü 2 (% 6,25) ve *A. media* türünün ise 6 adet (% 18,75) olduğu gözlemlendi.

Karaciğerde tespit edilen 27 (% 19,15) *Aeromonas* türlerinin, *A. hydrophila* türü 5 (% 18,52), *A. sobria* türü 13 (% 48,15), *A. veronii* türü 7 (% 25,93), *A. salmonicida* türü 1 (% 3,70) ve *A. media* türünün ise 1 adet (% 3,70) olduğu gözlemlendi.

Yapılan analiz sonucunda çalışmamızda toplam 141 pozitif örnekte; *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. veroni* ve *A. salmonicida* türlerinin bağırsak, dalak, böbrek ve karaciğer dokularında yayılım gösterdiği tespit edildi. *Aeromonas* türleri arasında *A. sobria* türünün en fazla görülen bakteri türü olduğu ve organlar arasında ise en fazla bağırsakda yayılım gösterdiği ayrıca *A. media* türünün ise en fazla bağırsak, dalak ve karaciğer dokusunda yerleşim gösterdiği ancak böbrekde varlığına rastlanılmadığı tespit edildi (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşluğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan Gökkuşluğu alabalıklarının doku örneklerinden tespit edilen *Aeromonas* türlerinin dağılımı

Örnek Türü	Pozitif Örnek Sayısı (<i>Aeromonas</i> spp.)	Bakteri Türleri									
		<i>A.hydrophila</i>		<i>A. sobria</i>		<i>A.veronii</i>		<i>A.salmonicida</i>		<i>A. media</i>	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Bağırsak	58	3	5,17	29	50,00	12	20,69	4	6,90	10	17,24
Böbrek	24	1	4,17	12	50,00	10	41,67	1	4,17	0	0
Dalak	32	2	6,25	13	40,63	9	28,13	2	6,25	6	18,75
Karaciğer	27	5	18,52	13	48,15	7	25,93	1	3,70	1	3,70
Toplam	141	11	7,80	67	47,52	38	26,95	8	5,67	17	12,06

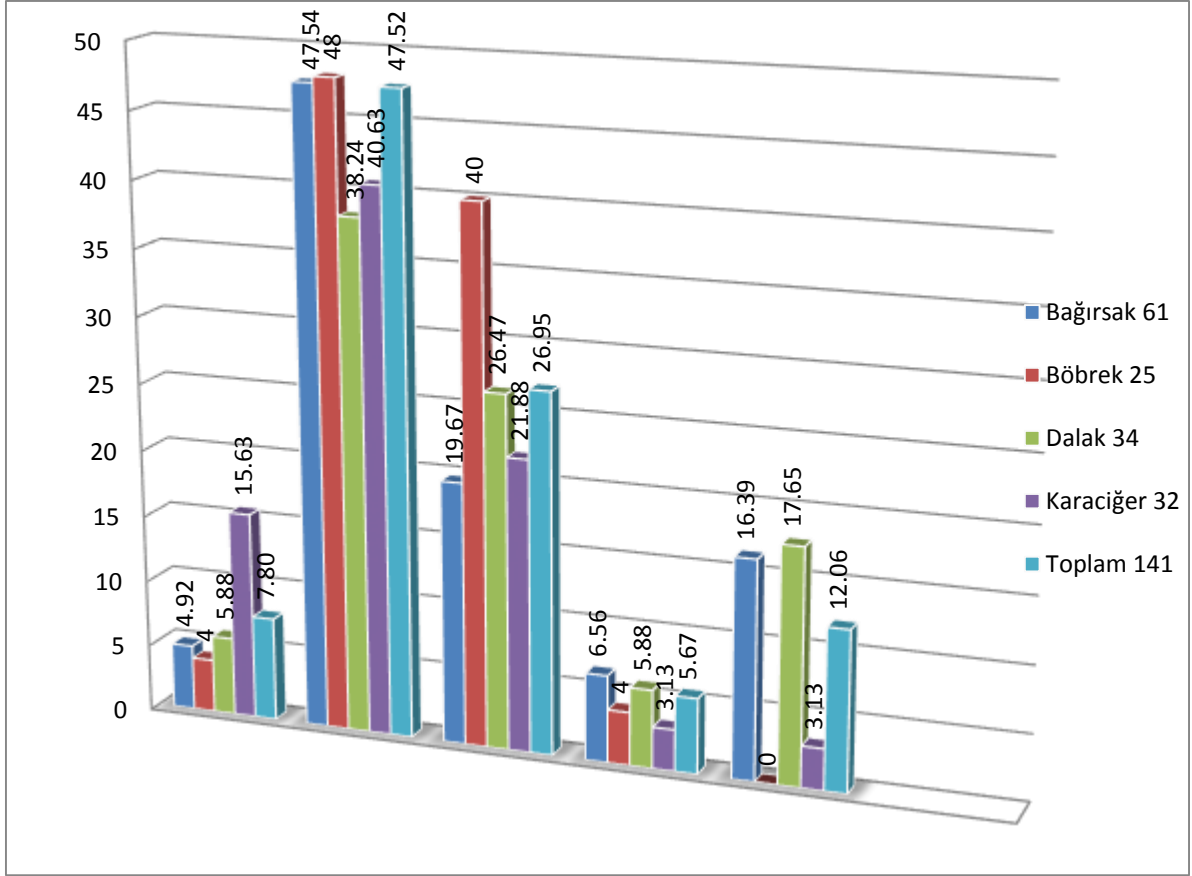
İlçeler bazında Gökkuşluğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden temin edilen balıkların bağırsak, böbrek, dalak ve karaciğerlerinden alınan doku örneklerinde tespit edilen *Aeromonas* türlerinin dokulardaki yerleşimlerine göre dağılımında Tablo 3.1 ve Şekil 3.1’de verildiği üzere;

Ovacık ilçesinde, dalak, karaciğer ve böbrekde *A. veronii* türü, bağırsak, böbrek ve dalakda *A. sobria* türü, bağırsak ve böbrekde ise *A.salmonicida* türü tespit edildi.

Çemişgezek ilçesinde, bağırsak, dalak, karaciğer ve böbrekde *A. veroni* türü, bağırsak, böbrek, dalak ve karaciğerde ise *A. sobria* türü tespit edildi.

Mazgirt ilçesinde, bağırsak, dalak, karaciğer ve böbrekde *A. hydrophila* türü, bağırsak, dalak, karaciğer ve böbrekde *A. veroni* türü, bağırsak, böbrek, dalak ve karaciğerde *A. sobria* türü, bağırsak, dalak ve karaciğerde *A.media* türü, bağırsak, dalak ve karaciğerde ise *A.salmonicida* türü ise tespit edildi.

Pertek ilçesinde, bağırsak ve karaciğerde *A. hydrophila* türü, dalak ve böbrekde *A. veronii* türü, bağırsak, böbrek ve dalakda ise *A. sobria* ise türü tespit edildi.



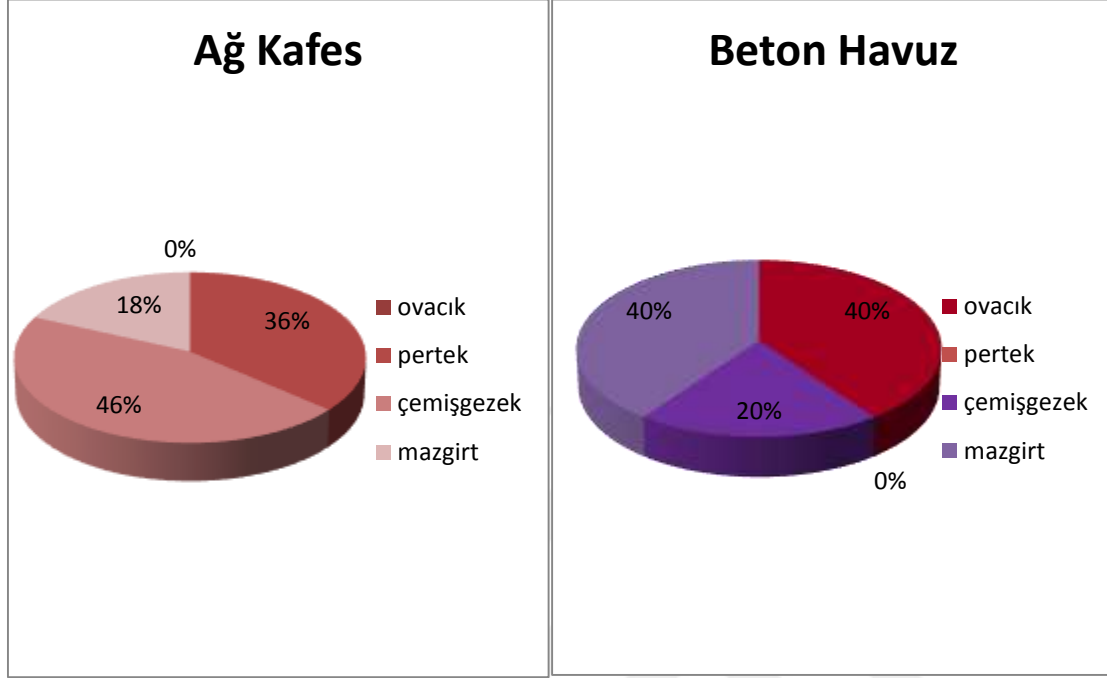
Şekil 3.1. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşluğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan balıkların doku örneklerinde tespit edilen *Aeromonas* türlerinin dağılımı

3.1.2. MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakterilerin üretim metoduna göre dağılımları

Çalışmamızda, Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki ağ kafeslerde ve beton havuzlarda Gökkuşluğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan 11'i ağ kafes, 5'i beton havuz olmak üzere toplam 16 tesisin üretim metoduna göre dağılımlarına bakıldığında;

Ovacık ilçesinde ağ kafes bulunmadığı, Çemişgezek ilçesinde Keban baraj sahasında 5 (% 46) ağ kafes, Pertek ilçesinde Keban baraj sahasında 4 (% 36) ağ kafes, Mazgirt ilçesinde Uzunçayır baraj sahasında 2 adet (% 18) ağ kafes tesislerinden en fazla Çemişgezek ilçesinde ağ kafeslerde yetiştiricilik yapıldığı, beton havuz tesisleri ise; Ovacık ilçesinde Munzur Nehri kenarında 2 (% 40), Çemişgezek ilçesinde Tagar çayı üzerinde 1 (% 20), Mazgirt ilçesinde ise Peri çayı üzerinde 2 adet (% 40) bulunmakla

beraber en fazla Mazgirt ve Ovacık ilçelerinde Şekil 3.2’de gösterildiği üzere beton havuzlarda üretim yapıldığı görülmektedir.



Şekil 3.2. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki ağ kafes ve beton havuzlarda Gökkuşaağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerin üretim metoduna göre dağılımları

Üretim metoduna göre Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerinden Gökkuşaağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden temin edilen Gökkuşaağı alabalığı örneklerinde üreyen *Aeromonas* cinsine ait bakteri türlerinin dağılımına bakıldığında;

Pertek ilçesinde sadece ağ kafeslerde üretim yapıldığı ve moleküler analizi yapılan 16 örnekte *Aeromonas* türü bakteri,

Çemişgezek ilçesinde ağ kafeslerden 17 örnekte ve beton havuzlarda 5 örnekte olmak üzere toplam 22 örnekte *Aeromonas* türü bakteri,

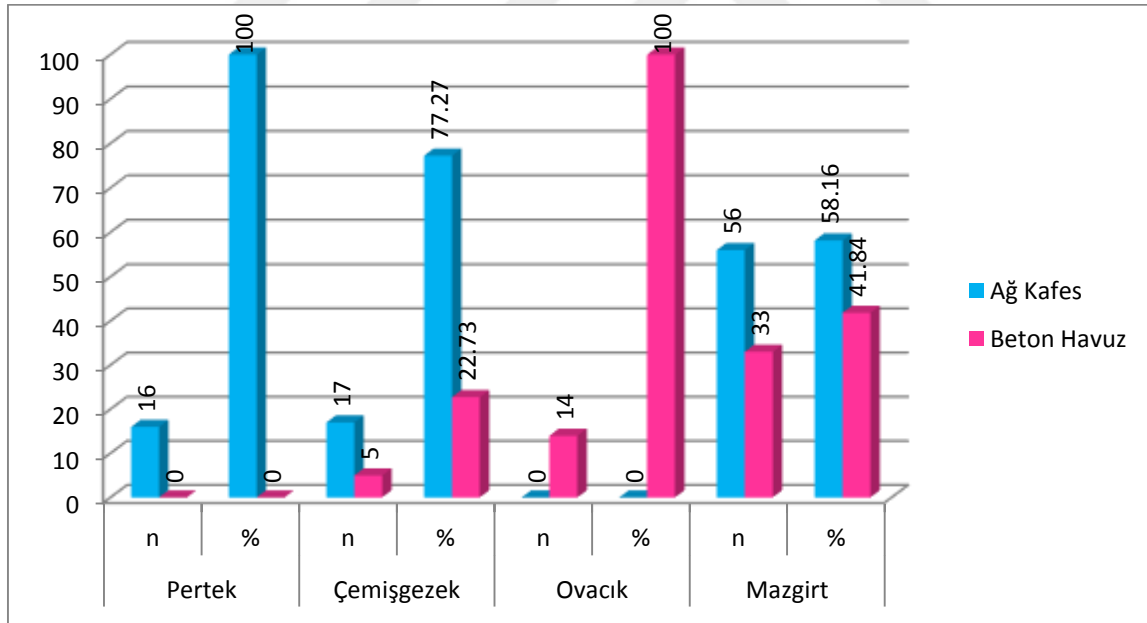
Ovacık ilçesinde sadece beton havuzlarda üretim yapıldığı ve 14 örnekte *Aeromonas* türü bakteri,

Mazgirt ilçesindeki ağ kafeslerde 56 örnekte ve beton havuzlardan alınan 33 örnekte olmak üzere toplamda ise 89 örnekte *Aeromonas* türlerine ait bakteri türleri tespit edildi (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden temin edilen Gökkuşığı alabalığı örneklerinde *Aeromonas* spp.'nin üretim metoduna göre görülme sıklığı

Üretim Metodu	İlçeler							
	Pertek		Çemişgezek		Ovacık		Mazgirt	
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
Ağ Kafes	16	100	17	77,27	0	0	56	58,16
Beton Havuz	0	0	5	22,73	14	100	33	41,84
Toplam	16	100	22	100	14	100	89	100

Yapılan analiz sonucunda çalışmamızda *Aeromonas* cinsine ait bakteri türlerinin en fazla Mazgirt ilçesindeki ağ kafeslerde yetiştiricilik yapılan tesislerden temin edilen Gökkuşığı alabalıklarından alınan bağırsak, böbrek, karaciğer ve dalakdan alınan doku örneklerinde tespit edildiği göze çarpmaktadır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden temin edilen Gökkuşığı alabalığı örneklerinde *Aeromonas* spp.'nin üretim metoduna göre görülme sıklığı

3.1.3. MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakteri türlerinin aylara göre dağılımları

Çalışmamızda Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden temin edilen balıklardan alınan doku örneklerinde tespit edilen *Aeromonas* türlerinin aylara göre dağılımı incelendiğinde;

Nisan ayında alınan örneklerde *Aeromonas* cinsi bakterilerden *A. salmonicida* türü 1 adet (% 0,71);

Mayıs ayında, *A. hydrophila* türü 11 (% 7,80), *A. veronii* türü 35 (% 24,82), *A. sobria* türü 59 (% 41,85), *A. media* türü 16 (% 11,35), *A. salmonicida* türü 4 adet (% 2,84);

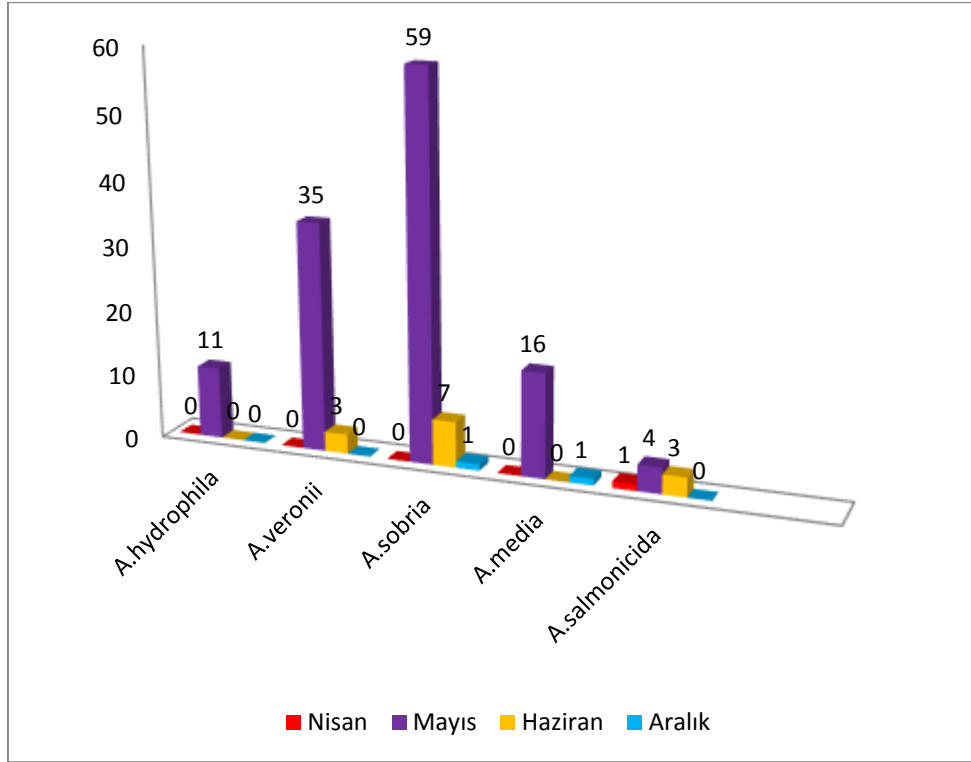
Haziran ayında, *A. veronii* türü 3 (% 2,13), *A. sobria* türü 7 (% 4,97), *A. salmonicida* türü 3 adet (% 2,13);

Aralık ayında ise, *A. sobria* türü 1 (% 0,65), *A. media* türünün 1 adet (% 0,65) olduğu tespit edildi (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden *Aeromonas* spp. olarak izole edilen bakterilerin numune alınan aylara göre dağılımı

Aylar	<i>Aeromonas</i> Türleri									
	<i>A.hydrophila</i>		<i>A.veronii</i>		<i>A.sobria</i>		<i>A.media</i>		<i>A.salmonicida</i>	
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
Nisan	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,71
Mayıs	11	7,80	35	24,82	59	41,85	16	11,35	4	2,84
Haziran	0	0	3	2,13	7	4,97	0	0	3	2,13
Aralık	0	0	0	0	1	0,71	1	0,71	0	0

Yapılan analiz sonucunda tespit edilen *Aeromonas* türlerinin pozitif örneklerinin Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarında tespit edildiği, 141 pozitif örnekte *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. veronii*, *A. salmonicida* ve *A. media* türlerinin bağırsak, dalak, böbrek ve karaciğer dokularında en çok Mayıs ayında ve en fazla üreyen türün ise *A. sobria* olduğu gözlemlendi (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerinde Gökkuşáğı alabalığı yetiştiriciliğı yapılan tesislerden alınan balık örneklerinde tespit edilen *Aeromonas* türlerinin aylara göre dağılımı

3.1.4. Su örneklerinin incelenmesi sonucu MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakterilerin dağılımları

Çalışmamızda, Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşáğı alabalığı yetiştiriciliğı yapılan tesislerin beton havuz ve ağ kafeslerinden alınan su örneklerinin analiz sonuçları incelendiğinde; kanlı agarda inkübe olan 64 su örneğinden 4 şüpheli koloninin MALDI-TOF MS yöntemi yapılan analizi sonucu, *Escherichia coli* 2 (% 3,12), *Lelliottia amnigena* 1 (% 1,56) ve *Raoultella planticola* 1 adet (% 1,56) tespit edildi. Sadece Ovacık ilçesindeki beton havuz tesislerinden alınan su örneklerinde bakteri

ürettiği ve bu bakteri türlerinin analiz edilen 8 su örneğinde üreyen bakteri türlerinden *Escherichia coli* 2, *Lelliottia amnigena* 1 ve *Raoultella planticola* bakterisinden ise 1 adet ürettiği tespit edildi (Tablo 3.5).

Tablo 3.5. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşluğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerin beton havuz ve ağ kafeslerinden alınan su örneklerinden izole edilen bakterilerin dağılımı

İlçe ve Tesis No	Ağ Kafes	Beton Havuz	Tespit Edilen Bakteri Türü					
			<i>Escherichia coli</i>		<i>Lelliottia amnigena</i>		<i>Raoultella planticola</i>	
			(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
Ovacık - Tesis No:1		✓	2	3,12	-	-	-	-
Ovacık -Tesis No:2		✓	-	-	1	1,56	1	1,56
Pertek - Tesis No:3	✓		-	-	-	-	-	-
Pertek - Tesis No:4	✓		-	-	-	-	-	-
Pertek - Tesis No:5	✓		-	-	-	-	-	-
Pertek - Tesis No:6	✓		-	-	-	-	-	-
Çemişgezek - Tesis No:7	✓		-	-	-	-	-	-
Çemişgezek - Tesis No:8	✓		-	-	-	-	-	-
Çemişgezek - Tesis No:9	✓		-	-	-	-	-	-
Çemişgezek - Tesis No:10	✓		-	-	-	-	-	-
Çemişgezek - Tesis No:11	✓		-	-	-	-	-	-
Çemişgezek - Tesis No:13		✓	-	-	-	-	-	-
Mazgirt - Tesis No:14	✓		-	-	-	-	-	-
Mazgirt - Tesis No:15	✓		-	-	-	-	-	-
Mazgirt - Tesis No:16		✓	-	-	-	-	-	-
Mazgirt - Tesis No:17		✓	-	-	-	-	-	-

3.1.5. MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakterilerin moleküler analizleri

Çalışmamızda MALDI TOF-MS yöntemiyle Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan Gökkuşuğu alabalıklarının bağırsak, böbrek, dalak ve karaciğerinden alınan doku örneklerinden konvansiyonel yöntemle *Aeromonas* türü olduğu düşünülen 141 izolatın moleküler analiz sonuçlarına bakıldığında; MALDI TOF-MS yöntemiyle *Aeromonas* türleri olarak tanımlanan *Aeromonas* cinsine ait bakteri türlerinin MALDI TOF-MS sonucu belirlenen doğruluk saptama oran aralıkları tespit edilerek tür bazında değerlendirildi (Tablo 3.6).

Tablo 3.6. Tunceli ili Pertek, Çemişgezek, Ovacık ve Mazgirt ilçelerindeki Gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan balık örneklerinden MALDI TOF-MS yöntemiyle tanımlanan *Aeromonas* türlerinin MALDI TOF-MS doğruluk değer aralıkları

Bakteri Adı	İzole Edildiği Organ Kaynağı	MALDI -TOF-MS Doğruluk Saptama Oran Aralığı (%)
<i>A.hydrophila/A. punctata (caviae)</i>	Bağırsak, Dalak, Karaciğer, Böbrek	% 51,0 - % 99,9
<i>A. media</i>	Bağırsak, Dalak, Karaciğer,	% 98,5 - % 99,9
<i>A. salmonicida</i>	Bağırsak, Dalak, Karaciğer, Böbrek	% 89,7 - % 99,9
<i>A. sobria</i>	Bağırsak, Dalak, Karaciğer, Böbrek	% 90,3 - % 99,9
<i>A. veronii</i>	Bağırsak, Dalak, Karaciğer, Böbrek	% 90,7 - % 99,9

Yapılan değerlendirme sonucunda, doğruluk saptama oran aralığı % 89,7 ile % 99,9 arasında çıkan 130 izolatın tür tespitinin doğru sonuç verdiği kabul edilerek; doğruluk saptama oran aralığı % 51,0 ile % 99,9 arasında çıkan 11 izolatın MALDI TOF-MS yöntemi ile *A.hydrophila/A.punctata (caviae)* sonucu çıkan izolatlar olduğu tespit edildi.

Doğruluk saptama oran aralığının düşük olması ve MALDI TOF-MS analizi sonucunda *A.hydrophila/A.punctata (caviae)* çıkan örneklerden izole edilen türün *A.hydrophila mı* veya *A.punctata (caviae) mı* olduğunu ve iki tür arasında tam bir ayırım yapılabilmesi için 11şüpheli izolatın 16S rDNA gen bölgelerine dizi analizi yapıldı. 16S

rDNA dizi analizi yapılan 11 şüpheli izolata ait nükleotid dizilerinin *Aeromonas hydrophila* suşuna ait olduğu tespit edildi.

16S rDNA dizi analizi yöntemi dışında MALDI TOF-MS analizi sonucunda iki tür arasında ayırım yapılamadığı durumlarda kullanılan bir diğer yöntem olan *gyrB* dizi analizi yöntemi ile MALDI TOF-MS sonucu *A.hydrophila/A.punctata (caviae)* olarak sonuç veren 11 şüpheli izolatin tür tespitinin teyidi için *gyrB* gen bölgelerine de dizi analizi yapıldı ve *gyrB* dizi analizi yapılan 11 şüpheli izolatin *Aeromonas hydrophila* suşuna ait olduğu tespit edildi.

Çalışmamızda *Aeromonas* türü bakterilerin konvansiyonel yöntem, MALDI-TOF MS yöntemi, 16S rDNA dizi analiz ve *gyrB* dizi analiz sonuçları karşılaştırıldığında; konvansiyonel yöntemle *Aeromonas* spp. olduğu düşünülen 11 şüpheli izolatin MALDI-TOF MS yöntemi ile *A.hydrophila/A.punctata (caviae)* olarak identifiye edildiği, 11 şüpheli izolatin 16S rDNA ve *gyrB* gen bölgelerine yapılan dizi analizi sonuçlarına göre ise 11şüpheli izolatin *Aeromonas hydrophila* türü olduğu tespit edildi (Tablo 3.7).

Tablo 3.7. *Aeromonas* türü bakterilerin konvansiyonel yöntem, MALDI-TOF MS, 16S rDNA dizi analiz ve *gyrB* dizi analiz sonuçlarının karşılaştırılması

No	NCBI KAYIT NUMARASI	KONVANSİYONEL YÖNTEM	MALDI-TOF MS	16S rDNA	gyrB
1	AY987739.1	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>A.hydrophila/A.punctata(caviae)</i>	<i>A.hydrophila</i>	<i>A.hydrophila</i>
2	AY987732.1	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>A.hydrophila/A.punctata(caviae)</i>	<i>A.hydrophila</i>	<i>A.hydrophila</i>
3	AY987736.1	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>A.hydrophila/A.punctata(caviae)</i>	<i>A.hydrophila</i>	<i>A.hydrophila</i>
4	AY987736.1	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>A.hydrophila/A.punctata(caviae)</i>	<i>A.hydrophila</i>	<i>A.hydrophila</i>
5	AY987736.1	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>A.hydrophila/A.punctata(caviae)</i>	<i>A.hydrophila</i>	<i>A.hydrophila</i>
6	AY987736.1	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>A.hydrophila/A.punctata(caviae)</i>	<i>A.hydrophila</i>	<i>A.hydrophila</i>
7	AY987736.1	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>A.hydrophila/A.punctata(caviae)</i>	<i>A.hydrophila</i>	<i>A.hydrophila</i>
8	AY987736.1	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>A.hydrophila/A.punctata(caviae)</i>	<i>A.hydrophila</i>	<i>A.hydrophila</i>
9	AY987736.1	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>A.hydrophila/A.punctata(caviae)</i>	<i>A.hydrophila</i>	<i>A.hydrophila</i>
10	AY987736.1	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>A.hydrophila/A.punctata(caviae)</i>	<i>A.hydrophila</i>	<i>A.hydrophila</i>
11	AY987736.1	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>A.hydrophila/A.punctata(caviae)</i>	<i>A.hydrophila</i>	<i>A.hydrophila</i>

Yaptığımız moleküler analizler sonucunda; *Aeromonas* türüne ait toplam 141 izolat MALDI-TOF MS, 16S rDNA ve *gyrB* gen dizisi analizi kullanılarak tanımlanmış ve MALDI-TOF MS sonucunun, cins düzeyinde tanımlamada % 100 (141 izolat) ve tür düzeyinde tanımlamada % 92,2 (130 izolat) doğruluk gösterdiği, *gyrB* sonuçlarının 16S rDNA dizi analizi sonuçlarıyla tutarlı olduğu görüldü.

3.2. Tartışma

3.2.1. Gökkuşığı alabalıklarından izole edilen bakteri türleri

Balıkların organlarında bakteri türlerinin varlığının tespitine yönelik olarak organlarda yayılımlarının araştırıldığı uluslararası çalışmalara bakıldığında; Austin ve arkadaşları yaptıkları çalışmaları sonucunda balıkların sindirim sistemi mikroflorasında yer alan bakteri cinslerinden *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Moraxella* ve *Pseudomonas*'ın daha çok gıda maddeleri ve sudan köken alan mikroorganizmalar olduğunu bildirilmişlerdir (Austin ve ark., 1987). Austin ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada ise *Aeromonas* ve *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakterilerin Gökkuşığı alabalığının sindirim sisteminde ve diğer salmonidlere benzer fermentatif özellikteki bakterilerin dominant olarak yer aldıklarını, *Aeromonas* türü bakterilerin her mevsimde sulara yaşadığını ancak *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakterilerin sulardaki bir kontaminasyon sonucu bulunduklarını bildirmişlerdir (Austin ve ark., 1989). Barker ve arkadaşları ise balık yumurtalarında en çok *Pseudomonas* spp. ve *A. hydrophila* izole ettiklerini bildirmişlerdir (Barker ve ark. 1989). Sarma ve arkadaşlarının *Ophiocephalus punctuate* ve *Labio rohita* balıklarının hastalıklarını inceledikleri araştırmalarında, balıklardan izole edilen 17 suşun 10'u nu (% 58,8) *A. hydrophila* olarak tanımladıklarını bildirmişlerdir (Sarma ve ark., 1990). Kapetanovic ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Gökkuşığı alabalığı kuluçkahanelerinde yavruların bakteri florasını inceleyerek kuluçka dolabındaki yavrularda saptadıkları Gram negatif bakterilerin daha çok *Flavobacterium*, *Acinetobacter* ve *Yersinia* türlerini ihtiva ederken, havuzlarda *Aeromonas* ve *Pseudomonas* cinsine ait en çok rastlanan türler olduğu bildirmişlerdir (Kapetanovic ve ark., 2005). Fowoyo ve Achimugu yaptıkları çalışmalarında Lokoja'daki Kporoko Nehri'nden temin ettikleri tatlı su yayın balığının karaciğer, böbrek, deri ve bağırsak organlarından hem fenotipik hem de genotipik yöntemler kullanarak *A. hydrophila* tespit ettiklerini, izolatlarını inceledikleri balıkların karaciğer, böbrek, deri ve bağırsaklarında *A. hydrophila* tespit ettiklerini ve inceledikleri tüm balıkların bağırsaklarında *A. hydrophila* insidansının yaygın olduğunu bildirmişlerdir (Fowoyo ve Achimugu 2019). John tarafından, bakteriyel etkenlerin, yüksek mortalite ile seyreden infeksiyonlarda primer etken olarak sorumlu olduklarını, konağın normal florasında bulunan bazı mikroorganizmaların konağın immun sisteminin baskılandığı durumlarda

sekonder infeksiyon olarak ortaya çıkabileceğini bildirilmiştir (John, 2014). Kumar ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında genel olarak tatlı sulardaki balık çiftliklerinde *Aeromonas* türlerinin yaygınlığının mekansal ve zamansal değişkenlerden, çiftlik balıklarının konakçı türlerinden ve çiftlik içi biyogüvenlik önlemlerinden etkilendiği sonucuna varılabileceğini bildirmişlerdir (Kumar ve ark., 2022).

Yapılan ulusal çalışmalara bakıldığında; Ertaş tarafından yapılan bir çalışma sonucunda canlı balıkların mikroflorasının, içinde yaşadıkları suyun mikroorganizma popülasyonu ile ilişkili olduğu, balıkların derilerinin üzerinde yar alan kaygan tabakanın *Acinobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Sarcina*, *Micrococcus*, *Serratia*, *Bacillus*, *Vibrio* cinsi bakteri içerdiği, bu bakterilerin balığın vücuduna girip ilerlemesinin balıkların solungaç dokusu, uzun damarsal yapıları ve kuyruklarına yakın yerdeki damarlarla olduğunu, bu bakterilerin birkaç günde böbreğin her tarafına, karın çeperi ve vücut boşluğuna, ete ve etin üstündeki deriye yayıldıklarını, balıkların yakalanmasından sonra kayıklar, motor gibi nakil araçlarına sevk edilirken kullanılan kasa, kutu ve diğer tüm araç ve gereçlerden kontaminasyonla balıkların bakteriyel floralarını arttığını bildirilmiştir (Ertaş, 1981). Sarıeyyüpoğlu, Gökkuşığı alabalıklarının mide ve bağırsak mikroflorasını araştırdığı çalışmada en fazla *Enterobacter* türlerinin bulunduğunu tespit ettiğini ve bunun alınan yem ve su ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. İnceledikleri 11 adet balıkçılık tesisinden 244 adet *Acinetobacter* türü tespit ettiklerini rapor etmişlerdir (Sarıeyyüpoğlu, 1984). Diler ve arkadaşları tatlı su balıklarının sindirim kanalında *Aeromonas* ve *Enterobacteriaceae* familyasına ait türleri tespit ettiklerini, bu cinslere ait bakterilerin tatlı suda geniş bir dağılım gösterdiklerini, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Moraxella* ve *Pseudomonas* cinsi bakterilerin ise sudan ve yemden kaynaklandığını, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türlerinin ise bağırsak mikroflorasının predominant unsuru olduğunu bildirerek bu durumun açlıkla ve balıkların istenmeyen fizyolojik şartlarda yaşadıklarının bir belirtisi olduğunu düşündüklerini bildirmişlerdir (Diler ve ark., 2000). Özer ve arkadaşları tarafından Mersin ili Çağlarca köyünde bulunan iki Gökkuşığı alabalığı işletmesinden aldıkları su, sperma, ovaryum sıvısı, yumurta, döllenmiş yumurta, gözlenmiş yumurta, keseli yavru ve yemlenen yavrulardan örnek alınarak yaptıkları çalışmalarında toplam aerobik bakteri sayısını, Gram negatif bakterilerin izolasyonu ve identifikasyonu yönünden klasik yöntemlerle inceleyerek ve bir işletmeden alınan yumurta örneklerinde *Aeromonas hydrophila/caviae*, *Enterobacter amnigenus*, *Hafnia alvei*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. fluorescens*, *P. aeruginosa*, *P.*

oruzihabitans, *P. putida*, *Moraxella lacunata*, *Oligella* spp., *Achromobacter denitrificans* ve *Brevundimonas diminuta* diğer işletmede ise *A. hydrophila* / *caviae*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *K. pneumoniae pneumoniae*, *P. fluorescens* ve *P. aeruginosa*, *P. putida*, *Brevundimonas vesicularis*, *Moraxella lacunata* ve *Stenotrophomonas maltophilia* saptadıklarını, her iki işletmede de kuluçkahanelerdeki tüm aşamalarda en çok *Pseudomonas* ve *Aeromonas* cinsi bakteriler tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Özer ve ark., 2008). Korkoca'nın 50 adet alabalığın bağırsak içeriğinde yaptığı çalışmasında örneklerin 14'ünde (% 28,0) *A. sobria*, 5'inde (% 10,0) *A. caviae*, 4'ünde de *A. hydrophila* tespit ettiklerini bildirerek çalıştıkları balık bağırsak içeriklerinde dominant tür olarak *A. sobria*'yı belirlemişlerdir (Korkoca, 2001). İşleyici ve arkadaşları tarafından Van'da tüketime sunulan balıklarda hareketli *Aeromonas*'ların varlığını ve yaygınlığını belirlemek amacıyla 50 çiğ balık bağırsak içeriği örneğinde yaptıkları çalışmada örneklerin 26 (% 52,0)'sında hareketli *Aeromonas* türü tespit ederek, 26 örneğin 23 (% 46,0)'ünün *A. hydrophila*, 2 (% 4,0)'sinin *A. caviae* ve 1 (% 2,0)'inin *A. sobria* olduğunu bildirmişlerdir (İşleyici ve ark., 2007). Diler ve arkadaşlarının Gökkuşluğu alabalıklarının deri, solungaç, bağırsak, karaciğer, böbrek ve dalaklarına ait kalitatif ve kantitatif aerobik bakteriyel florası tespitine yönelik yaptıkları çalışmalarında bir işletmeden alınan balıkların bağırsak, deri, solungaçlar, böbrek, karaciğer ve dalak örneklerinde *Coryneform* grup bakterilerin predominant olduğunu diğer işletmeden alınan balık örneklerinde de benzer bulgular elde ederek bağırsakta *Aeromonas*, karaciğer ve dalakta Gram pozitif kok'ların predominant olduğunu bildirmişlerdir (Diler ve ark., 2000). Sağlam ve arkadaşlarının Erzurum ili çevresinde Gökkuşluğu alabalığı yetiştiriciliği yapan tesislerden sağladıkları yeni ölmüş veya hastalık belirtisi gösteren balık örneklerinde *A. hydrophila* ve *Y. ruckeri* etkenlerinin varlığı ve oluşturdukları patolojik bulgularını inceledikleri çalışmalarında mikrobiyolojik inceleme için, karaciğer, dalak, böbrek ve lezyonlu deri kısımlarından örnekler alarak yaptıkları analiz sonucu; histopatolojik olarak böbrek tubulus epitelyumunda dejenerasyon ve nekroz, özellikle *A. hydrophila*'nın yalnız izole edildiği balıklarda dalak ve böbrekte hematopoietik dokuda melanomakrofajlarda artış, tüm olgularda ise karaciğerde fokal mononükleer hücre infiltrasyonları ve hiperemi, hepatositlerde hidropik dejenerasyon ile birlikte milier nekroz odakları tespit ederek *A. hydrophila* ile *Y. ruckeri*'nin birlikte izole edildiği balıklarda ise, karaciğerdeki nekroz odaklarının daha geniş olduğunu gözlemlediklerini bildirmişlerdir (Sağlam ve ark., 2006). Genç tarafından yapılan bir çalışmada; bir gıdada mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesinde toplam aerobik mezofilik

bakteri sayım yöntemi ile canlı bakteri sayısının tespit edilmesinin, işletmede hijyen kurallarına uyumun olup olmadığını, uygun taşıma, depolama ve saklama koşullarının sağlanıp sağlanmadığı açısından belirteç olduğunu, insan veya hayvan kaynaklı patojenlerin de gelişmesine olanak sağlayacak koşullarda üretilip depolandığını ve bu üründe bu tür patojenlerin bulunma olasılığının yüksek olduğunu gösterdiği, taze balık ve balık ürünlerinde kalite değişimlerine toplam bakteri sayısı 104 -105 kob/g olarak etki ettiğinin kabul edildiğini bildirmiştir (Genç, 2006). Öztürk yaptığı çalışmada, balık larvalarının sindirim sistemine yumurta epiflorasında ve sudaki bakteri türlerinin ilk kolonize olduğunu gözlemlediklerini, normalde balık larvalarının çoğunun dışarıdan yem almaya başladığında alkali pH'a sahip mide gelişiminin başladığını, yem ve suda bulunan mikroorganizmaların bu şekilde larval bağırsağa yerleştiğini, immün sistemin gelişmediği larvalarda spesifik olmayan savunma sistemi ile bağışıklık sağlayarak patojenlere karşı bağırsak mukozası ve koruyucu bağırsak mikroflorası oluşturduklarını, bu larval dönemde oluşumu başlayan mikrofloranın balıkların kalıcı florasını oluşturduklarını bildirmiştir. Yine aynı çalışmada balıkların sindirim sistemi mikroflorası üzerine yapılmış daha önceki çalışmalarda, balık bağırsağında yaklaşık 105 kob/g düzeyinde anaerobik bakteri, 108 kob/g düzeyinde aerobik heterotrofik bakteri türleri tespit edildiğini ve mevsimsel olarak ve sindirim sisteminin farklı bölgelerinde değişim gösterdiği bildirilmiştir (Öztürk, 2007).

Çalışmamızda ise Gökkuşaağı alabalıklarının bağırsak, böbrek, dalak ve karaciğerlerinden alınan doku örnekleri incelendiğinde; *A. sobria*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Hafnia alvei*, *E. coli*, *A. veronii* sırasıyla en fazla izole edilen bakterilerdir. *Enterococcus faecium*, *Bacillus cereus* grup, *Acinobacter baumannii*, *Acinobacter lwoffii*, *Klebsiella aerogenes*, *Lactococcus garvieae*, *Macrococcus caseolyticus*, *Pseudomonas putida*, *Staphylococcus epidermidis*, *Yersinia ruckeri*, *Obesumbacterium proteus*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter werkmanii*, *Providencia rettgeri*, *Acinobacter radioresistent* türlerinin en fazla görülen bakteri türleri olarak izole edilmesinin tatlı su balıklarının bakteriyel florasının yaşadıkları su ortamının mikroflorasını yansıttığı, farklı balık işletmelerinde yaşayan balıklar arasında da cins ve tür farklılıklarının yanısıra aynı türe ait bakteriyel floranın da değişebileceği ile ilgili olduğu, elde ettiğimiz bulguların diğer araştırmacıların rapor ettikleri çalışmalarla paralellik gösterdiği görülmektedir.

Balıkların mikroflorasında normal olarak bağırsakda bulunan bakterilerin diğer organlarda yerleşimi ile ilgili su ürünleri alanında yapılan çalışmalarda yeterli bilgi bulunmadığından çalışmamızda; tespit edilen bakterilerin bulundukları lokasyonların

konvansiyonel yöntemle ekimi yapılan petri kaplarında inkübe olan bakteri kolonilerinin, petri kabında bakteri sayım miktarları değerlendirildiğinde; Gökkuşaağı alabalıkların karaciğer, böbrek, dalak ve bağırsaklarında yayılım gösteren *Aeromonas* ve diğeri bakteri türlerinin 70.000-100000 cfu/ml aralığında tespit edilmesi bu bakterilerin patojen olduğunun göstergesidir. Patojenik olduğu tespit edilen balıkların karaciğer, böbrek, dalak ve bağırsak kısımlarında yayılım gösteren bu bakteriler hastalık oluşturarak makroskopik değışiklere sebep olacağından, yerleştikleri organda hastalık etkeni olarak bulunduklarını bize düşündürmektedir. Tunceli ilinde Gökkuşaağı alabalığı yetiştiriciliğı yapan tesislerde aktif kuluçhane bulunmadığından yavru balıkları diğeri illerdeki tesislerden temin ederek faaliyet göstermektedirler. Yavru balıkların yetiştirildikleri tesislerdeki suyun mikroflorası farklı olduğundan balıkların mikrofloralarında yetiştirildikleri ortamın bakteri florasından etkilendiğı için ve temin edildikleri tesisten ilimizdeki tesislere nakledilirken bu esnada kullanılan tanklar, su ve personelin hijyen kurallarına uymadan çalışmaları gibi çevresel faktörlerden kontamine olarak bakteriyel floralarının artması, çalışmamızda tespit ettiğimiz bakterilerin yavru balıkların taşıdıkları bakteri floraları ile bu bakteri türlerinin böbrek, karaciğer ve dalaktan izole edilmesinin bakteriyel translokasyonla immün sistemin zayıfladığı durumlarda bakterilerin balıkların derilerinde bulunan ve bir bariyer görevi gören mukoid tabakadaki mukoza duvarını aşarak translokasyonla bu organlara yerleştiiğı düşünülmektedir. Yapılan literatür araştırmalarında bölgede balıklarda bakteri tanımlama ve bakteri sayım çalışmalarının yetersiz olması bu yönde çalışmaların yapılmasının gerekliliğinin oluştuğunu göstermektedir.

Aeromonas türlerinden toprakta yaşayan *A. sobria*'nın; bağırsak, böbrek, karaciğer ve dalakta dominant bakteri türü olduğunun tespit edilmesinin *A. sobria*'nın bulaşma yolunun özellikle balığın dış derisi üzerinde olduğu için yetiştiricilik ortamının şartları, tesislerde kullanılan su ve yem özelliklerinin kalitesi, sularda yaygın olarak bulunması ile ilişkili olduğu, balıklarda bakteriyel yükün fazla olmasının balık hastalıklarına neden olacağı, özellikle Mazgirt ilçesinde beton havuzda üretim yapan tesislerin kurulu olduğu Peri Çayı üzerinde faaliyet gösteren baraj ve Hidro elektrik santrali (HES)'in etkisi sonucu suyun sediment ve akış özelliklerinde değışimlerle havzanın ekolojik ve hidrolojik özelliklerindeki değıştirdiğı sebebiyle tesisteki havuzlarda kullanılan suyun yetiştiricilik için elverişli olmadığı, tesise çok yakın mesafede bulunan doğal kaplıcanın sıcak atık sularının tesise gelen suyun sıcaklığına etki ettiğı, 45 °C sıcaklığa kadar üreyebilen *Aeromonas* türlerinin yaygınlığının suyun kalitesi ve sıcaklığıyla ilgili olduğu kanaatini oluşturdu.

Mazgirt ilçesinde Peri Çayı üzerinde bulunan tesislerden alınan balıklarda yüksek sayıda bakteri tespit edilmesi nedeniyle ilgili tesislerdeki balıklarda olumsuz stres koşullarında hastalık gelişebileceği sonucuna varıldı.

Stenotrophomonas maltophilia türü bakteri özellikle hastanede yatan hastalarda fırsatçı bir patojen olarak, ilaçlara karşı dirençli Gram negatif bir basil olmakla beraber balıklarda patojen olduğuna dair herhangi bir literatüre rastlanmamış olup normal olarak ekosistemin florasında var olabilen bakterileridir. Çalışmamızda bu bakteri türünün en fazla beton havuzlarda yetiştiricilik yapılan tesislerden temin edilen Gökkuşığı alabalıklarından izole edilmiş olması bu tesislerin kırsal alanda olması ve bu alanda aynı zamanda hayvancılık yapılması ve tesislerin bulundukları yerleşim yerlerinde kanalizasyon atıklarının doğrudan sulara karışmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca balık üretim tesisinin üzerinde bulunduğu su kaynaklarının tarım ve hayvancılıkta yöre halkının yoğun olarak kullanıyor olmaları sudan kaynaklanan bir kontaminasyon olduğu kanaatini oluşturmuştur.

Enterobacteriaceae familyasına ait *Hafnia alvei* bakterisi patojenik bakteri olarak rapor edilmiştir ve bu bakterinin Gökkuşığı alabalıklarında epizootik hemorajik septisemiye neden olduğu bildirilmiştir. Ancak Sakazaki ve Tamura'nın yaptıkları çalışma ile bu bakterinin zorunlu patojen olmadığı ve fırsatçı patojen olarak kabul edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir (Sakazaki ve Tamura, 1992).

Çalışmamızda Gökkuşığı alabalıklarının bağırsak, böbrek, karaciğer ve dalak kısımlarında hareketli *Aeromonas* türleri ile birlikte balık patojeni olarak bilinen hareketsiz, psikrofil bir tür olan *A. salmonicida* tespit edilmesinin düşük sıcaklıklarda yaşayan soğukkanlı omurgalıları, özellikle de salmonid balıkları enfekte etme özelliği olan, 37 °C'ye kadar üreyebilen ve insanlar için patojen olmayan ancak balıklarda yüksek morbidite ve mortalite oranları ile ekonomik kayıplara neden olan frunkulozis hastalığı etkeni ve yaygın bir patojen bakteri olarak bildirilen *A. salmonicida*'nın, akut ve kronik seyri yanında asemptomatik (portör) olabildiğinden çalışmamızda psikrofil ve mezofilik *Aeromonas* türlerinin aynı ortamda ve tüm balık organlarından izole edilmesinin su sıcaklığının 37 °C'nin altında olması ile *A. salmonicida* türü için uygun üreme koşullarının bulunduğu ve balıklarda hastalık oluşturabileceği görülmektedir.

3.2.2. MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakterilerin üretim metoduna göre dağılımları

Dünya’da ve Türkiye’de alabalık üretimi denizlerde, baraj göllerinde ağ kafeslerde, akarsularda ise beton havuzlarda yapılmaktadır. Ağ kafeslerde ve beton havuzlarda yapılan balık yetiştiriciliğinin etkilerine bakıldığında yapılan uluslararası çalışmalarda; Pulatsu ve arkadaşları tarafından bu yetiştiricilik metodunun alıcı su ortamının bazı fiziksel ve kimyasal su kalite parametrelerine olumsuz etkisinin olduğunu, alıcı ortamın sediment kalitesine etki ettiğini, yabancı balık stokları, hastalık, ekolojik, biyolojik ve besin ağı etkileşimleri ile sucul ekosistemin bozulması, kontrolsüz kimyasal madde kullanımının oluşturacağı negatif etkiler oluşturduğunu bildirmişlerdir (Pulatsu ve ark., 2014). Durgun sularda, ağ kafeslerde balık yetiştiriciliği ile su kütlesine giriş yapan besin elementlerinin etkileri değerlendirildiğinde; balık yetiştiriciliğinden kaynaklanan atıkların aynı zamanda yetiştiricilik tesislerinde balık hastalıklarının yayılması ve dolayısıyla balık ölümlerine neden olduğu, besin elementlerince zengin su kütlelerinde hastalık etkenlerinin çoğalması temiz su kütlelerine göre daha sık görülmektedir. Podemski ve Blanchfield’in yaptıkları çalışmada Polonya’daki göllerde bulunan Gökkuşluğu alabalığı ağ kafes yetiştiricilik tesislerinin etrafında bakteri çoğalmasının normalden yüksek olduğunu tespit ederek nedeninin yem ve dışkı salınan azot, fosfor ve organik karbonun pelajik bölgelerde yaşayan bakteriyel popülasyonların çoğalmasını sağladıklarından oluştuğunu bildirmişlerdir (Podemski ve Blanchfield, 2006). Sedwig; yaptığı bir çalışma sonucunda, beton havuzlarda alabalık yetiştiriciliğinin etkilerinin, balık yetiştiriciliğinde kullanılacak havuzların kesin bir boyutu, şekli ve malzeme cinsinin söz konusu olmadığı, kullanılan suyun miktarına, kalitesine, arazinin yapısına, toprağın yapısına ve iklim özelliklerine göre belirlendiğini bildirmiştir. (Sedgwick, 1978). Conte ve Moreas ise alabalık yetiştiriciliğinde su kaynağının kalitesinin yüksek nitelikte olmasının önemli olup suyun fiziksel ve kimyasal özelliklerinin uygun olmasının yanı sıra, soğuk, temiz, berrak, bol oksijenli ve uygun sıcaklıkta olmasının da en temel şartlardan olduğunu, alabalık yetiştiriciliğinde ideali, yetiştirme ortamındaki balıklara düzenli bir şekilde daima aynı kalitede su temin etmek olduğunu, suyun içeriğindeki değişimlerin yetiştiriciliği ciddi anlamda etkilediğini belirterek yaz mevsiminde sıcaklığın artması, yenmeyen yemler ve metabolizma atıkları nedeniyle havuzların kirlenmesine buna bağlı olarak sudaki çözünmüş oksijen düzeyinin azalmasına tedbir alınmaması halinde de balıklarda toplu

ölümlerin gerçekleşmesine sebep olduğunu bildirmişlerdir (Conte, 2004; Moraes, 2004). Diğer araştırmacılar ise yaptıkları çalışmalarında, su kalitesindeki değişimin balıklarda strese sebep olarak, stresin ilk belirtisi olan kortizol, stres oluşumu ile salgılanmaya başlar ve stresle beraber artan kortizol hormonu, hücrelerde metabolik aktiviteler üzerinde etkili olmaya başladığı zaman ise enerji gereksinimini de artmakta ve olumsuz sonuçları ortaya çıkıldığını bildirmişlerdir (Arslan ve ark., 2015; Tort ve ark., 2004; Boretto ve ark., 2006).

Yapılan ulusal çalışmalarda ağ kafeslerde ve beton havuzlarda üretim yapılmasının balık yetiştiriciliğindeki etkilerine bakıldığında; Şahin tarafından yapılan çalışmada; su ürünleri yetiştiriciliğinde üretim metodu ve kullanılan yem kaynağına bağlı olarak kirlilik, hastalık, yabancı türlerin girişi ve biyolojik çeşitlilik açısından ekosistem üzerinde farklı düzeylerde etkiler meydana gelerek su ürünleri yetiştiriciliği ile ilgili her faaliyetin, doğal ortamdaki suyun kimyasal özellikleri, popülasyonun yapısı, genetik çeşitlilik ve üreme özellikleri üzerinde potansiyel bir etkisinin olduğu, su ürünleri yetiştiriciliğinde su ve toprak gibi doğal kaynakların yanı sıra zenginleştirme ve yem gibi girdilerin de değişen düzeylerde kullanılması ve balıklar tarafından tüketilmeyen su yüzeyine saçılan pelet şeklindeki suni yemin büyük bir kısmının dipte birikerek bentik organizmaların besin kaynağını oluşturması veya mikroorganizmalar tarafından ayrıştırılması, aşırı besleme, bentik canlı yapısını değiştirerek ve besin kirliliği olarak adlandırılabilir ötrofikasyona yol açtığından, yemin mikrobiyal ayrışmasının bir sonucu olarak da sudaki oksijenin tükenmesinin hareketsiz organizmaların ölümüne ve hareketli organizmaların çevreden göç etmesine neden olduğunu, yetiştirilen türlerin metabolik atıklarının, tüketilmeyen yemlerin ayrışmasıyla oluşan besinlerle birleşerek alg üremesi için ideal bir ortam oluşturduğunu bildirmiştir (Şahin, 2003). Çelikkale, ülkemiz yetiştiricilik sistemlerinde genel olarak beton havuzların tercih edildiğini, beton havuzlarda dezenfeksiyon, bakım ve yemleme kontrollerinin daha iyi ve kolay olduğunu bildirmiştir (Çelikkale, 1988).

Çalışmamızı yaptığımız Tunceli ili sucul ekosistemleri birçok canlı türünün habitat alanı olması nedeniyle önemlidir. Ovacık, Çemişgezek ve Mazgirt ilçelerinde su ürünleri yetiştiricilik tesislerinden beton havuz metodu ile yetiştiricilik faaliyeti yapılmakta olan tesisler kaynak suyunu Ovacık ilçesinde Munzur Nehri'nden, Çemişgezek ilçesinde Tagar Çayı'ndan ve Mazgirt ilçesinde Peri Çayı'ndan almaktadır. Beton havuzların su çıkış noktalarından atıklar bu ilçelerde arıtma tesisi bulunmadığından alıcı oldukları kaynak akarsulara deşarj edilmektedir. Ağ kafes metodu ile yetiştiricilik faaliyeti yapılan Pertek, Çemişgezek ve Mazgirt ilçelerinde baraj gölleri su kaynağı olarak kullanılmaktadır. Ağ

kafeslerde ve beton havuzlarda üretim yapılmasının balık yetiştiriciliğindeki etkilerine bakıldığında ise; Tunceli ili Ovacık, Çemişgezek, Mazgirt ve Pertek ilçelerinde Gökkuşaağı alabalığı yetiştiriciliğı yapılan tesislerden aldığımız balık ve su örneklerinin yaptığımız mikrobiyolojik ve moleküler analizleri sonucunda karaciğer, bağırsak, böbrek ve dalakda *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. media*, *A. salmonicida* ve *A. veroni* türleri tespit edildi. *Aeromonas* türleri en çok ağ kafeslerde Gökkuşaağı alabalığı yetiştiriciliğı yapılan tesislerden alınan örneklerde tespit edildi. Yapılan literatür taraması sonucunda araştırmacıların yaptıkları çalışmalar, çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz verilerle uyumluluk göstermektedir. Ağ kafeslerde Gökkuşaağı alabalığı yetiştiriciliğı yapılan tesisler baraj gölleri üzerinde, beton havuzlarda yetiştiricilik yapılan tesisler ise akarsular üzerinde kuruludur. Beton havuzlarda; Gökkuşaağı alabalığı yetiştiriciliğı yapan tesislerin havuz temizliğine yeteri kadar önem vermemelerinin balık metabolizması sonucu suya atılan atıkların, yem ve antibiyotik gibi girdilerin suda yoğunlaşması ve yetersiz hijyen koşullarında suyun gerekli klor işlemlerine tabi tutulmaması gibi nedenlerle balıklarda gelişebilecek hastalık etkeni bakterilerin fazlaca bulunması, gelişebilecek antibiyotik direncinden kaynaklı hastalık etkenlerinin tedaviyle etkisinin az olabileceğı, ağ kafeslerde; Gökkuşaağı alabalığı yetiştiriciliğı yapan tesislerin kullandıkları suyun durgun olmasının, sudaki besin elementlerinin bakteriyolojik komüniteler üzerinde bakteriyel etkenleri arttırıcı etkisi ve alıcı su ortamının bazı fiziksel ve kimyasal su kalite parametrelerini bozma olasılığı ile ilçelerde atık tesisi bulunmadığı için tesislerde kullanılan sulara kanalizasyon atıklarının karışmış olmasının balıklarda ve sularda bakteriyel etkenleri arttırdığını düşündürmektedir. Tunceli ilinde hem ağ kafes hem de beton havuzlarda yapılan üretim metodlarıyla yetiştirilen Gökkuşaağı alabalıklarında bakteriyel etkenleri azaltmak için su kaynaklarının kirliliğinin önüne geçilmesi gerektiğı düşünülmektedir.

3.2.3. MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakterilerin aylara göre dağılımları

Numune alınan aylara göre Gökkuşaağı alabalığında *Aeromonas* türlerinin tespit edildiğı ulusal ve uluslararası çalışmalara bakıldığında; Austin ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *Aeromonas* türü bakterilerin her mevsimde sularda yaşadığını bildirmişlerdir (Austin ve ark., 1989). Boynukara ve arkadaşları Van Gölü'nde yaşayan tek balık türü olan *Chalcaburnus tarichii*'lerin (İnci kefalı) bağırsaklarında hareketli

Aeromonas türlerinin varlığının ve sıklığını mevsimsel olarak araştırarak, Ocak ayında piyasadan satın aldıkları 50 adet balığın bağırsak içeriğinden 6 adet (% 3) hareketli *Aeromonas* türü izole ettiklerini, izole edilen suşların 1'inin (% 16,6) *A. hydrophila*, 2'sinin (% 33,3) *A. caviae*, 3'ünün (% 50) *A. sobria* olduğunu, Haziran ayında piyasadan satın aldıkları 50 adet balığın bağırsak içeriğinden ise 40 adet (% 80) hareketli *Aeromonas* spp. izole ettiklerini, izole edilen 40 suşun 14'ünün (% 35) *A. hydrophila*, 16'sı (% 40) *A. caviae*, 10'unun ise (% 25) *A. sobria* olarak tespit ettiklerini rapor etmişlerdir (Boynukara ve ark., 1998). Çalışmamızda ise Tunceli ilinde yetiştiriciliği yapılan Gökkuşluğu alabalığı bağırsak, böbrek, karaciğer ve dalak dokusundan alınan doku örneklerinde *Aeromonas* türlerinin varlığı araştırılarak sıklığının mevsimsel olarak dağılımında en fazla pozitif olgu Mayıs ayında su sıcaklığının arttığı aylarda tespit edildi. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulguların analizinde sıcaklığın *Aeromonas* türlerinin varlığını etkilediği sonucu diğer araştırmacıların yapmış oldukları çalışma sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

3.2.4. Su örneklerinin incelenmesi sonucu MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakterilerin dağılımları

Gökkuşluğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerin kullandıkları sulardan alınan örneklerin mikrobiyolojik ve moleküler analizlerinin yapıldığı uluslararası çalışmalara bakıldığında; Paniagua ve arkadaşlarının İspanya'nın farklı bölgelerinden topladıkları tortu ve su örneklerini inceledikleri çalışmalarında 97 hareketli *Aeromonas* türü izole ettiklerini, ve bu türlerin % 76,2'sinin *A. hydrophila*, % 12,3'ünün *A. caviae* ve % 11,3'ünün *A. sobria* türü olduğunu rapor etmişlerdir (Paniagua ve ark., 1990). Rosa ve ark. tarafından yapılan bir başka çalışmada ise İspanya'nın kuzey ve güney bölgelerinde yer alan 10 farklı istasyondan aldıkları su örneklerinde *A. caviae* (% 55), *A. hydrophila* (% 34) ve *A. sobria* (% 6) tanımladıklarını bildirmişlerdir (Rosa ve ark., 1991). Esteve ve arkadaşları yayın balıklarının yetiştiriciliğinin yapıldığı bir tesiste yetiştirme suyu ve balıklardan aldıkları örneklerin incelenmesi sonucunda 9 adet *A. hydrophila*, 8 adet *A. sobria* ve 1 adet *A. caviae* tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Esteve ve ark., 1991). Lam ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada 56 yaşındaki bir kadının kalamar ve ahtapot içeren bir deniz ürünü salatası tükettikten dört gün sonra bakteriyemi ve kolanjit ile uyumlu semptomlar ile hastaneye başvurduğu ve iki defa alınan kan kültüründe *Raoultella planticola* bakterisi ürediğini bildirmişlerdir (Lam ve ark., (2014). Yuk ve arkadaşları *Lelliottia* bakteri türlerinin

genellikle toprakta ve besinlerde bulunan Gram negatif, hareketli ve çubuk şeklinde olduğunu, *L. nimipressuralis* türünün ise çoğunlukla bitkilerde bulunduğunu, *L. amnigena* türünün ise gıda kontaminasyon belirteci olarak, *L. nimipressuralis* türünün ise insanların kan dokusunda tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Yuk ve ark., 2018).

Yapılan ulusal çalışmalara bakıldığında; Terzi'nin yaptığı Ankara ve çevresinde bulunan 3 alabalık çiftliğinden temin ettiği alabalık, yem ve su örneklerinin mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması amacıyla yaptığı çalışmasında 84 alabalık deri örneği, 21 yem ve 21 su örneği olmak üzere toplam 126 örnek kullanarak *E. coli* gibi patojenik mikroorganizmalar tespit ederek mikrobiyolojik olarak incelenen alabalık, yem ve suların hijyenik kalitelerinin düşük olduğu ve özellikle alabalıklarda bakteriyel etkenlerin bulunmasının halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği için bu tür işletmelerin düzenli denetimlerinin yapılması gerektiğini bildirmiştir (Terzi, 2005). Çarbaş ve arkadaşlarının Erzurum ilinde yaptıkları çalışmalarında Gökkuşluğu alabalığı yetiştiren 6 farklı işletmeden Nisan, Mayıs, Haziran aylarında yetiştiricilik suyu, yem ve balık örnekleri olarak toplam aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, koliform grubu bakteri ve *Escherichia coli* yönünden araştırmaları sonucu havuz suyu örneklerinde *E. coli* tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Çarbaş ve ark., 2011). Karapınar, koliform bakterilerin dışkı ve lağım sularında çok fazla miktarlarda bulunmaları ve su içindeki çok düşük sayılarının dahi tespit edilebilmeleri bakımından suyun fekal kontaminasyonunu gösteren en duyarlı indikatörler olduğunu bildirmiştir (Karapınar, 1990).

Çalışmamızda ise; Gökkuşluğu alabalığı yetiştiriciliği yapılan tesislerden alınan su örneklerinin mikrobiyolojik ve moleküler analizleri sonucunda; çalışılan 64 örnekten Ovacık ilçesindeki bir tesisten alınan su örneğinde *Escherichia coli* 2 adet (% 50), *Lelliottia amnigena* 1 adet (% 25), *Raoultella planticola* 1 adet (% 25) tespit edildi. Yapılan literatür taraması sonuçlarına bakıldığında çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz veriler diğer araştırmacıların yaptıkları çalışma sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Ovacık ilçesinde beton havuz metodu ile yetiştiricilik yapılan tesiste tespit edilen *E. coli* bakterisinin sularda varlığı, suyun hayvan veya insan dışkısı ile kontamine olduğunu göstermektedir. Yüzlerce farklı türü bulunan *E. coli* bakterilerinin bir kısmı insanlar için zararsızken, bir kısmı da çocuklarda, yaşlılarda ve bağışıklık sistemi zayıf kişilerde ölümcül hastalıklara neden olabilir. Koliform bakteriler arasında yer alan bakteri türlerinden yalnızca *E.coli*, sıcakkanlı hayvanların (memeliler ve kümes hayvanları) bağırsak mikrobiyotasının doğal bir üyesi olması nedeniyle bir gıda veya çevresel numunede bu bakterinin varlığı,

doğrudan veya kanalizasyon vb. yoluyla dışkı kontaminasyonunu nedeniyle bulunabilir. Ovacık ilçesinde Munzur nehrinin doğduğu Munzur Gözeleri bölgesine yakın mesafede konumlanan tesis kaynak suyu olarak Munzur suyunu kullanmakta ve kullanılan su yine Munzur Nehri'ne deşarj edilmektedir. Tesisin bulunduğu bölge üzerinde akarsu boyunca yerleşim yerleri bulunmakta ve bu yerlerde hayvancılık faaliyetleride sürdürülmektedir. İlçede kanalizasyon atıkları köylerde fosseptik çukurlarda biriktirilmekte ancak zaman zaman biriken atıkların bertaraf sürecinin ihlal edildiği ve bazı yerlerde ise doğrudan Munzur Nehri'ne akıtıldığı görülmektedir. Bu durum, tesise gelen suyun kanalizasyon atıklarıyla kontamine olduğunu açıkça göstermektedir. Munzur Nehri Munzur Vadisi Milli Parkı'nın temel kaynak değerlerinden olup; birçok canlı türünün habitat alanıdır. Munzur Vadisi Milli Parkı doğal çevresi yaban hayvanları için elverişli bir ortam sunarken bu canlılar içme suyu olarak Munzur Nehri'nide kullanmaktadır. Munzur Nehri'nde ayrıca doğal olarak yetişen birçok balık türüde bulunmaktadır. Tesiste kullanılan suyun arıtma işlemi yapılmadan doğrudan Munzur Nehri'ne deşarj edilmesi sonucu Munzur Vadisi yaban hayvanları ve sucul ekosistem özelliklerine etki ederek biyolojik çeşitliliği olumsuz etkileyeceği kanaatine varılmıştır.

3.2.5. MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakterilerin moleküler analizleri

Aeromonas cinsine ait bakteri türlerinin identifikasyon yöntemlerine bakıldığında yapılan uluslararası çalışmalarda; Laupland ve arkadaşları, bakteriyel infeksiyonların teşhisinde, bakterinin cins ve tür düzeyinde tanımlanabilmesi için klasik mikrobiyolojik tanı yöntemleri ile 16S rDNA dizi analizine dayanan moleküler yöntemlerin altın standart olarak kabul edilip ve önemini korumakta olduğunu bildirmişlerdir (Laupland ve Valiquette, 2013). Elbehiry ve arkadaşları geleneksel yöntemlerle *Aeromonas*'ların identifikasyonunun zahmetli, bazı türlerin fenotipik olarak çok benzer olması, zaman kaybı ve sonuçlardaki değişkenlikler gibi nedenlerden dolayı problemli olduğunu, *Aeromonas*'ların ayrımı için, geleneksel yöntemlerdeki yetersizliklerden dolayı, birçok avantajı bulunan MALDI-TOF MS ve 16S rRNA dizi analizi gibi çeşitli moleküler yöntemler geliştirildiğini bildirilmişlerdir (Janda ve Abbott, 2007). Guo ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada MALDI-TOF MS'in *Aeromonas* cinsi içinde *A. hydrophila* ve *A. caviae* türleri arasında ayrım yapamadığını ve belirsiz tür tanımlama sonuçları ürettiğini,

cihazın veritabanlarında yapılan güncellemelerin türle ilgili sorunu çözebileceğini bildirmişlerdir. Bu sorunun, suşların *A.hydrophila/caviae* olarak tanımlanmasıyla geçici olarak çözüldüğünü kesin tanımlamanın normalde klinik yönetimi etkilemediğinden, çözümün rutin uygulamada tatmin edici olduğunu bildirmişlerdir (Guo ve ark., 2014). Justesen ve arkadaşları anaerob bakterilerin MALDI TOF ile tür saptanması üzerine yaptıkları çalışmalarında doğru tür saptama oranının % 67,2 olduğunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Justesen ve ark., 2011). Veen ve arkadaşları ise mikrobiyoloji laboratuvarında yaptıkları çalışmalarında hem bakterilerin hem de mayaların türlerini MALDI-TOF yöntemi kullanarak % 92 doğru saptama oranı ile klasik biyokimyasal testlerin doğru saptama oranının ise % 83 olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Veen ve ark., 2010).

Aeromonas cinsine ait bakteri türlerinin tanımlanmasına yönelik dizi analizi yöntemlerine bakıldığında; son yıllarda geliştirilen *gyrB* ve *rpoD* gibi korunmuş gen bölgelerinin kullanıldığı standardizasyonu daha yüksek çalışmaların 16S rRNA PZR analizlerinin kullanımını sınırlandırdığı görülmektedir (Alperi ve ark., 2008; Saavedra ve ark., 2006; Martinez ve ark., 2008; Martínez ve ark., 2009; Duman, 2017; Yi ve ark., 2013). Yaptıkları bir çalışmada Yanez ve arkadaşları DNA girazın B-alt birimini kodlayan bir gen olan *gyrB* dizisini kullanarak *Aeromonas* cinsinin bilinen tüm türlerinin filogenetik ilişkilerini araştırarak *gyrB*'nin nükleotit sekansları, 16S rDNA değişken bölgelerinin analizi ile karakterize edilen bazı yeni izolatlar dahil olmak üzere *Aeromonas*'ın 53 suşundan belirleyerek çıkan sonuçların *Aeromonadaceae* familyasının *Plesiomonas shigelloides* ve diğer enterik bakterilerden farklı olarak tanınmasını desteklediğini, bu filogenetik belirtecin, bugüne kadar açıklanan tüm *Aeromonas* türlerinin taksonomik organizasyonu ile tutarlı tür gruplarını ortaya çıkardığını, özellikle *gyrB* sonuçlarının 16S rDNA analizi ile tutarlı olduğu; türler arasında ayırım yapmak için daha yüksek bir kapasite gösterdiği, mevcut analizin, farklı DNA-DNA hibridizasyon setleri arasında bildirilen tutarsızlıkları aydınlatmak için faydalı olduğunu, tür içi düzeyde bulunan dizi çeşitliliği nedeniyle *gyrB* türlerin ve suşların eş zamanlı tanımlanması için yararlı bir hedef olarak önerdiklerini, yaptıkları çalışmanın sonuçlarında, *gyrB* geninin *Aeromonas* cinsinin filogenetik çalışmaları için mükemmel bir moleküler kronometre olduğunu bildirmişlerdir (Yanez ve ark., 2003). Shin ve arkadaşlarının yaptıkları bir başka çalışmada ise *Aeromonas*'ı tür düzeyinde tanımlamaya yönelik farklı yöntemlerin doğruluğunu ve uygulanabilirliğini karşılaştırmak için 1996 ile 2012 yılları arasında

Kore'de bir üniversite hastanesindeki hastalardan elde edilen 65 *Aeromonas* izolatını analiz ettikleri çalışmada geleneksel biyokimyasal yöntem, MALDI-TOF MS, 16S rRNA dizilimi ve temizlikçi gen dizilimi (*gyrB*, *rpoB*) karşılaştırılmış ve sonuç olarak geleneksel biyokimyasal yöntem ve 16S rRNA dizilimi, *Aeromonas*'ı cins düzeyinde çok doğru bir şekilde tanımlarken ancak tür düzeyinde tanımlamanın tatmin edici bulunmadığı, MALDI-TOF MS sisteminin, tür düzeyinde 60 (% 92,3) izolat ve cins düzeyinde ek olarak dört izolatı (% 6,2) doğru tanımladığı, genel olarak, filogenetik analiz ile temizlikçi gen sıralamasının, *Aeromonas*'ı tür düzeyinde tanımlamada en doğru yöntem olduğu test edilen 65 izolattan 35 *A. hydrophila* izolatı, 23 *A. caviae* izolatı, 6 *A. veronii* izolatı ve 1 *A. aquariorum* tür düzeyinde tanımlandığını tespit etmişlerdir (Shin ve ark., 2015). Mursalim ve arkadaşları tarafından *Aeromonas* spp.'nin dağılımını ve çeşitliliğini antimikrobiyal duyarlılıklarını belirlemek için yaptıkları çalışmada Tayland'daki 13 çiftlikten hastalıklı tatlı su balıklarından elde edilen *Aeromonas* türüne ait toplam 86 izolatın biyokimyasal özelliklerini, MALDI-TOF MS, PZR deneyleri ve *gyrB* gen dizisi analizi kullanılarak tanımlamış ve MALDI-TOF MS sonucunun, cins düzeyinde tanımlamada % 100 (86 izolat) ve tür düzeyinde tanımlamada % 88,4 (76 izolat) doğruluk gösterdiğini tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Mursalim ve ark., 2022).

Ülkemizde yapılan çalışmalara bakıldığında, *Aeromonas* cinsine ait türler, akuatik ortamda bulunmakta, tatlı su ve deniz balıklarında hastalık oluşturmakta ve insanlarda sepsisemi, gastroenteritis, yara enfeksiyonu, aspirasyon pnömonisine ve gıda zehirlmesine neden olduğu bildirilmiştir (Duman, 2017; Ghenghesh ve ark., 2005). Sağlam ve arkadaşları tarafından Erzurum ve çevresindeki 20 ayrı alabalık yetiştiriciliği yapılan işletmeden yeni ölmüş veya hastalık belirtisi gösteren toplam 380 adet balık örneğinin mikrobiyolojik incelemelerinin yapıldığı bir araştırmada, işletmelerin 7 (% 35)'sinde *Aeromonas hydrophila* ve 3 (% 15)'ünde *Yersinia ruckeri* izole ve identifiye ettiklerini bildirmişlerdir (Sağlam ve ark., 2006). Çalışmamız sonucunda elde edilen veriler diğer araştırmacıların MALDI-TOF MS yönteminin tür düzeyinde bazen ayırım yapamadığı ile ilgili bildirdikleri çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Yapılan değerlendirme sonucunda, MALDI TOF-MS analizi sonucunda doğruluk değer oranları % 89,7 ile % 99,9 arasında olan 130 izolatın tür tespitinin doğru sonuç verdiği kabul edilerek; doğruluk değer oranları % 51,0 ile % 99,9 arasında çıkan *A. hydrophila/A. punctata (caviae)* olarak 11 şüpheli izolat tespit edildi. 11 şüpheli izolatın 16S rDNA gen dizi analizi yapılarak, sekansı yapılan 11 şüpheli izolata ait nükleotid

dizilerinin *Aeromonas hydrophila* suşuna ait olduğu tespit edildi. Tekrar 16S rDNA gen dizi analizi yapılan 11 şüpheli izolatın tür tespitinin teyidi için *gyrB* dizi analizi yapılarak 11 şüpheli izolatın *Aeromonas hydrophila* suşuna ait olduğu ve iki sekanslama yönteminde sonuçların birbiriyle uyumlu olduğu görüldü. Moleküler analizler sonucunda *Aeromonas* türüne ait toplam 141 izolat MALDI-TOF MS, 16S rDNA ve *gyrB* gen dizisi analizi kullanılarak tanımlanmış ve MALDI-TOF MS sonucunun, cins düzeyinde tanımlamada % 100 (141 izolat) ve tür düzeyinde tanımlamada % 92,2 (130 izolat) doğruluk gösterdiği, *gyrB* sonuçlarının 16S rDNA analizi ile tutarlı olduğu görüldü. Özellikle *gyrB* sonuçlarının 16S rDNA analizi ile tutarlı olduğu; türler arasında ayırım yapmak için daha yüksek bir kapasite gösterdiği, mevcut analizin, farklı DNA-DNA hibridizasyon setleri arasında bildirilen tutarsızlıkları aydınlatmak için faydalı olduğunu, tür içi düzeyde bulunan dizi çeşitliliği nedeniyle *gyrB* türlerin ve suşların eş zamanlı tanımlanması için yararlı bir hedef olduğu, *gyrB* geninin *Aeromonas* cinsinin filogenetik çalışmaları için mükemmel bir moleküler kronometre olduğu, çalışmamızda *gyrB* sonuçlarının 16S rDNA analizi ile tutarlı olması ve *gyrB* gen dizi analizinin türler arasında ayırım yapmak için daha yüksek bir kapasite göstermesi nedeniyle *gyrB* geninin moleküler yöntem olarak *Aeromonas* cinsinin filogenetik çalışmalarında kullanılmasını önermekteyiz.

Yapılan literatür taramasında; ülkemizde şimdiye kadar Gökkuşuğu alabalıklarında *Aeromonas* cinsi bakteri türlerine yönelik çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen *Aeromonas*’lar ile ilgili yapılan çalışmaların büyük bir kısmının, hastalığa neden olan etkenin izolasyonu ve konvansiyonel yöntemler, PZR, 16S rRNA/DNA ve *gyrB* dizi analizi ile etkenin identifikasyonuna yönelik olmuştur. Türkiye’de Gökkuşuğu alabalıklarında *Aeromonas* cinsi bakteri türlerinin varlığının ve yayılımının belirlenmesi amacıyla MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlanması ve yöntemin tür düzeyinde tanımlamada ayırım yapamadığı noktada 16S rDNA ve *gyrB* gen dizi analizleri ilk kez bu çalışmada yapılmıştır.

4. SONUÇ ve ÖNERİLER

Aeromonas türleri akuatik çevrede, özellikle balıkların normal mikrobiyal florasında yaygın olarak bulundukları gibi, insanlar için de infeksiyon kaynağıdır. Ülkemizde şimdiye kadar balıklarda *Aeromonas* larla ilgili yapılan çalışmaların büyük bir kısmı, hastalığa neden olan etkenin izolasyonu ve konvansiyonel yöntemler, PZR, 16S rRNA ve *gyrB* dizi analizi ile etkenin identifikasyonuna yönelik olmuştur.

Tunceli ilinde 27 adet su ürünleri yetiştiriciliği işletmesi bulunmakta ve bu işletmelerin 20'si ağ kafeslerde, 7'si beton havuzlarda alabalık yetiştiriciliği yapılmaktadır. Balıklarda önemli ekonomik kayıplara ve insanlarda ciddi hastalıklara neden olan *Aeromonas* türlerinin identifiye edildiği çalışmamız üretim yapılan 16 tesisten alınan Gökkuşluğu alabalığı örneklerinin organlarının moleküler analizleri sonucu; Tunceli ilindeki Gökkuşluğu alabalığı işletmelerinde bakteriyel etkenlerin tüketime sunulan balıkların sağlık risklerine yol açabileceğini göstermektedir.

Çalışmamız sonucunda; MALDI-TOF MS sonucunun, *Aeromonas* türlerini cins düzeyinde tanımlamada % 100 (141 izolat) ve tür düzeyinde tanımlamada % 92,2 (130 izolat) doğruluk göstermesi, hızlı sonuç vermesi nedeniyle moleküler analizlerde kullanılması tavsiye edilmekte, *gyrB* sonuçlarının 16S rDNA analizi ile tutarlı olması ve *gyrB* gen dizi analizinin türler arasında ayırım yapmak için daha yüksek bir kapasite göstermesi nedeniyle *gyrB* geninin moleküler yöntem olarak *Aeromonas* cinsinin filogenetik çalışmalarında kullanılmasını önermekteyiz.

Ovacık, Mazgirt, Çemişgezek ve Pertek ilçelerinde ki işletmelere;

- ✓ Özellikle Mazgirt ilçesindeki tesislerden alınan balıklarda yüksek sayıda bakteri bulunmasının balıklarda olumsuz stres koşullarında hastalık gelişebileceğini göstermektedir.
- ✓ Baraj ve HES'in etkisi sonucu suyun sediment ve akış özelliklerinde değişimlerle havzanın ekolojik ve hidrolojik özelliklerinin değiştiği,
- ✓ Tesisteki havuzlarda kullanılan su parametrelerinin yetiştiricilik için elverişli olmadığı,
- ✓ Tesise çok yakın mesafede bulunan doğal kaplıcanın atık sularının tesiste kullanılan suyun sıcaklığına etki ederek 45 °C sıcaklığa kadar üreyebilen *Aeromonas* türlerinin yaygınlığının suyun kalitesi ve sıcaklığıyla ilgili olabileceği,

- ✓ Bakteriyel etkenlerin su ve karasal ekosisteme ve insanlara yayılmasının önlenmesi için balıkların tüketime sunuluncaya kadar tüm aşamalarında hijyen kurallarına uyulması,
- ✓ Gıda güvenliği uygulamalarına riayet edilmesi ve resmi otoriteler tarafından rutin olarak kontrollerin yaptırılması,
- ✓ İşletmelerde biyolojik güvenlik sistemlerinin kurulması ve belirli aralıklarda kontrol edilmesi,
- ✓ İlçelerde atık su arıtma tesisleri bulunmadığından su kaynaklarının kirliliğinin önüne geçilmesi için yetkili idarelerce atık su arıtma tesislerinin yapılması için talep oluşturulması gerektiği önerilmektedir.

Tüketicilere;

- ✓ *Aeromonas* türlerinin çoğu psikrotrofik özellikte olması nedeniyle buzdolabı muhafaza koşullarında da üreyebilmektedirler. Bu nedenle kontamine gıdaların yalnızca buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmesi bu bakterilerden kaynaklanabilecek infeksiyonların önlenmesinde yeterli kontrolü sağlayamamaktadır. Bundan dolayı ürünlerin tüketiminde dikkatli davranılmalı ve kısa sürede tüketilmesi sağlanmalı,
- ✓ Tunceli ilindeki Gökkuşuğu alabalıklarında bakteriyel etkenlerin tespiti tüketime sunulan balıkların sağlık risklerine yol açabileceğini göstermektedir. Bu nedenle tüketicilerin balığın iç kısmının iyi pişmesine özen göstermeleri önerilmektedir.

Gıda Mühendislerine;

- ✓ Bakteriyel etkenlerin tespit edildiği Tunceli ilinde ve ilçelerinde gıda olarak tüketime sunulan Gökkuşuğu alabalığında mikrobiyolojik kriterlerin yani, mikroorganizmaların bulunup bulunmadığının, sayısının veya bunların toksinlerinin ve metabolitlerinin miktarının kütle, hacim, alan, parti veya birim başına belirlenerek ülkemizde Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği ve diğer kanuni düzenlemelerle belirlenmiş talimatlara göre numunelerin alınması, analizin yapılması ve düzeltici faaliyetlerin yerine getirilmesi ile sonucuna göre uygun veya kabul edilebilir gıda olup olmadığının araştırılması gerektiği önerilmektedir.

Su ürünleri Mühendislerine ise;

- ✓ Sucul ürünlerin yetiştiriciliğinin Tunceli ilinde yaygınlaşması ekonomik nedenlerle teşvik edilmiş olsa da ekosisteme olumsuz etkisi ve biyolojik çeşitlilik kaybı konularında endişe yaratarak, su ürünleri yetiştiriciliğinin gelişiminin gözden geçirilmesi gerektiği, su ürünleri yetiştiriciliği ile ilgili faaliyetlerin ekonomik olduğu kadar çevre dostu olması gerektiği, çevresel dengenin korunması için üretim şekli ve seviyesi ile su ürünleri ve çevre

etkileşimi konusunda daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu,

- ✓ Tunceli ilinde su ürünleri yetiştiriciliğinde sürdürülebilir büyüme bazı zorunlu önlemlerle sağlanabilir. Atıkların oluşturacağı organik yükün olumsuz etkisini en aza indirmek için çevrenin taşıma kapasitesi dikkate alınmalı, ekonomik değeri yüksek sucul türlerin yetiştirilmesinde kirliliği kontrol altına alan sistemlerin tercih edilmesi,
- ✓ Tesislerin bulundukları havzaların ekolojik özelliklerine olumsuz etkileri nedeniyle yetiştiricilik tesislerinde kullanılan su ve yem girdilerinin yetiştiricilikteki etkilerinin değerlendirilmesi,
- ✓ Yavru balıkların tesislere naklinde taşıyabilecekleri bakteriyel etkenlerin yetiştiricilikte olumsuz etki yaratmamaları için tesise getirilirken alındıkları tesislerin denetim sonuçlarının titizlikle incelenerek kabullerinin sağlanması,
- ✓ Stres, balıkların bağışıklık sistemini etkileyen ve hastalıklara karşı direncini azaltan en önemli faktör olduğu için kültürel ortamda stres yaratan faaliyetlere izin verilmemeli, bulaşmayı önlemek için öncelikle koruyucu önlemler alınması,
- ✓ Tagar Çayı ve Peri Çayı üzerine kurulu tesislerin kullandıkları suların analiz edilmesi ve tesislerde hijyen kurallarına uyumun denetlenmesi,
- ✓ Keban Baraj Gölü ve Uzunçayır Baraj Gölü'nün kirlilik yönünden değerlendirilmesi ve biyolojik ve hayvansal atıkların bu sulara karışmasının engellenmesi için tedbirler alınması önerilmektedir.
- ✓ Munzur Vadisi Milli Parkı'nın; Munzur Nehri ve Munzur Vadisi'nin Avrupa'nın Yaban Hayatı ve Yaşama Ortamlarını Koruma Sözleşmesi kapsamında koruma altında bulunan çok sayıda fauna ve flora türlerinin habitatı olması nedeniyle bu türlerin popülasyonlarını olumsuz etkileyecek etkilerin öncel olarak tesislerin atıklarının doğrudan Munzur Nehri'ne deşarj edilmesinin engellenmesi için atık yönetimi ulusal mevzuatına uygun olarak atıkların bertaraf edilmesi işlemlerinin ivedi olarak atık su arıtma tesisinin ilçede kurularak yapılması,
- ✓ Ortaya çıkabilecek çevresel kaygıları ortadan kaldırmak için ise Ovacık ilçesinde özellikle yetiştiricilik yapan tesislerin kuruldukları yerlerin yetiştiricilik için uygunluğunun tekrar değerlendirilerek verilen tesis izinlerinin revize edilmesi gerektiği önerilmektedir.

5. KAYNAKLAR

- Abbott, S.L., Ceung, W.K., Kroske-Bystrom, S., Malekzadeh, T., Janda, J.M.,** 1992. Identification of aeromonas strains to the genospecies level in the clinical labarotory. *J Clin Microbiol*, 5:262-1266.
- Abeyta, C., Wekell, M.M.,** 1988. Potential sources of a. hydrophila. *J of Food Safety*, 9:11-22.
- Abu-Elala, N., Abdelsalam, M., Marouf, S., Setta, A.,** 2015. Comparative analysis of virulence genes, antibiotic resistance and gyrB-based phylogeny of motile Aeromonasspecies isolates from Nile tilapia and domestic fowl. *Letters in applied microbiology*, 61(5):429-436.
- Akaylı, T., Çanak, Ö., Başaran, B.,** 2011. Gökkuşığı alabalıklarında (Oncorhynchus mykiss Walbaum, 1792) görülen Aeromonas schubertii enfeksiyonu üzerine bir çalışma. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4:99-106.
- Alpbaz, A.,** 2005. Su ürünleri yetiştiriciliği: genel su ürünleri yetiştiriciliği, yetiştirilen su canlıları ve üretim yöntemleri. Alp Yayınları, Ankara, 48s.
- Alperi, A., Figueras, M.J., Inza, I., Martinez-Murcia, A.J.,** 2008. Analysis of 16S rRNA gene mutations in a subset of Aeromonas strains and their impact in species delineation. *Int. Microbiol*, 11:185–194.
- Araujo, R.M., Arribas, R.M., Pares, R.,** 1991. Farklı kirlilik düzeylerine sahip sularda Aeromonas türlerinin dağılımı. *J Appl Bacteriol*, 71:182-185.
- Arda, M., Seçer, S., Sarıeyyüpoğlu, M.,** 2002. Balık hastalıkları. Medisan Yayınları. Ankara.
- Arslan, G., Sahin, T., Hisar, O., Hisar, S.A.,** 2016. Effects of low temperature and starvation on plasma cortisol, triiodothyronine, thyroxine, thyroid-stimulating hormone and prolactin levels of juvenile common carp (Cyprinus carpio). *Mar. Sci. Technol. Bull*, 4:5-9.
- Austin, B., Austin, D.A.,** 2007. Bacterial fish pathogens. 4. Edt., UK, Praxis Publishing
- Austin, B., Austin, D.A.,** 1987. Bacterial fish pathogens disease in farmed and wild fish New York Ellis Horwood Lmt. 364p.
- Austin, B., Austin, D.A.,** 1989. Methods for the microbiological examination of fish and shell fish. Ellis Horwood Lmt. 317p.
- Austin, B., Austin, D.A.,** 1992. Bacterial fish pathogens: Diseases of farm and wild fish. Fourth edition, Springer publishing, U.K.

- Balta, F.**, 2020. Fırtına deresindeki gökkuşağı alabalık çiftliklerinde izole edilen *Aeromonas* spp. izolatlarının antimikrobiyel hassasiyetin belirlenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(3):397-407.
- Barbuddhe, S.B., Maier, T., Schwarz, G.**, 2008. Rapid identification and typing of listeria species by matrixassisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Appl Environ Microbiol*, 74:5402-07.
- Barker, G.A.Z., Smith, N., Bromage, N.R.**, 1989. Gökkuşağının bakteri florası alabalık, *Salmo gairdneri* Richardson ve kahverengi alabalık, *Salmo trutta* L., yumurta ve gelişimsel başarı ilişkisi. *Balık Hastalıkları Dergisi*, 12(4):281-293.
- Beaz-Hidalgo, R., Figueras, M. J.**, 2013. *Aeromonas* spp. whole genomes and virulence factors implicated in fish disease. *Journal of fish diseases*, 36(4):371–388.
- Bert, T.M.**, 2007. Çevreye duyarlı su ürünleri yetiştiriciliği devam eden bir çalışma. Su ürünleri yetiştiriciliği faaliyetlerinin ekolojik ve genetik etkileri. Springer, Dordrecht, 1-31s.
- Biscardi, D., Castaldo, A., Gualillo, R., De Fusco, R.**, 2002. The occurrence of cytotoxic *Aeromonas hydrophila* strains in Italian mineral and thermal waters. *The Science of The Total Environment*, 292:255-263.
- Borreto, K.E., Valpato, G.L., Pottinger, T.G.**, 2006. The effect of elevated blood cortisol levels on the extinction of a conditioned stress response in rainbow trout. *Hormones and Behavior*, 50:484-488.
- Boynukara, B., Gürtürk, K., İlhan, Z., Gülhan, T., Ögün, E., Ekin, İ.H.**, 1998. Van Gölü'nde yaşayan *Chalcalburnus tarichii* balıklarından izole edilen *Aeromonas*'ların görülme sıklığı. *Van Tıp Dergisi*, 5(4):239-242.
- BSGM**, 2020. Su ürünleri istatistikleri, Ankara.
- Carnahan, A.M., Behram, S., Joseph, S.W.**, 1991. Aerokey II: A flexible key for identification clinical *Aeromonas* species. *J Clin Microbiol*, 12 2843-2849.
- Cengizler, İ.**, 2006. Balık hastalıkları. Nobel Kitap Evi. Adana, 135s.
- Cherkaoui, A., Hibbs, J., Emonet, S.**, 2010. Comparison of two matrixassisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry methods with conventional phenotypic identification for routine identification of bacteria to the species level. *J Clin Microbiol*, 48:1169-75.
- Conte, F.S.**, 2004. Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behaviour Science*, 86:205-223.
- Croxatto, A., Prod'hom, G., Greub, G.**, 2012. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology, *FEMS Microbiol Rev.*, 36(2):380-407.

- Çağıltay, F.,** 2007. İç su balıkları yetiştiriciliği. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 87s.
- Çarbaş, A., Yanık, T., Kaya, M.,** 2011. Erzurum ilindeki bazı ticari gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliklerinin yetiştiricilik suyu, yem ve balıklarının mikrobiyolojik yönden incelenmesi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 39(1):55-60.
- Çelikkale, M.S.,** 1988. İç su balıkları ve yetiştiriciliği. Cilt I, K.T.Ü. Sürmene D.B. Tek. Yüksekokulu, Trabzon.
- Çelikkale, M.S., Duzgunes, E., Okumus, İ.,** 1999. Turkish fisheries sector: Potantial, current situation, problems and leads for problem solution, chamber of trade of Istanbul. İstanbul, 414s.
- Daskalov, H.,** 2006. The importance of *Aeromonas hydrophila* in food safety. *Food Control*, 17(6):474-483.
- Diker, K.S.,** 1999. *Aeromonas* ve *aeromonas* enfeksiyonları. *Özel Mikrobiyoloji*, 26:59-62.
- Diler, Ö., Atun, S., Çalikuşu, F., Diler, A.,** 2000. Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)' nin yaşadığı ortam ile ilişkili kalitatif ve kantitatif bakteriyel florası üzerine bir araştırma. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 24(3): 251-259.
- Doğruöz Güngör, N.,** 2015. Çevresel mikrobiyal çeşitlilik tayininde uygulanan bazı moleküler teknikler. *Sigma mühendislik ve doğa bilimleri dergisi*, 33(1):54-64.
- Dubois, D., Grare, M., Prere, M.F.,** 2012. Performances of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for rapid identification of bacteria in routine clinical microbiology. *J Clin Microbiol*, 50: 2568-2576.
- Duman, M.,** 2017. Gökkuşağı alabalıklarında görülen motil *Aeromonas* (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*), *Yersinia ruckeri* ve *Lactococcus garvieae* bakterilerinin antimikrobiyal duyarlılıkları ve duyarlılıkta rol oynayan genlerin tespiti. *Doktora tezi*, T.C. Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Erdem, B.,** 1999. *Aeromonas* ve *Plesiomonas*: Temel ve klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, Ankara, 527-530s.
- Erer, H.,** 1983. Aynalı sazanlarda (*Cyprinus carpio* L.) deneysel *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonunda (Bakteriyel hemorajik sepsis) oluşan patolojik bulguların incelenmesi. *A.Ü. Vet. Fak. Derg*, 30(4):674-690.
- Erer, H.,** 2002. Balık Hastalıkları. 2. baskı, Selçuk Üniv. Basımevi, Konya, 23-28s.
- Erkil, V., Küçükgül, A.,** 2015. Tunceli Bölgesi alabalık yetiştiriciliği işletmelerinde merkezi kayıt sistemi . *Bilim ve Gençlik Dergisi*, 3(1):8-10.

- Ertaş, A.H.,** 1981. Balık mikroflorası ve kutu konserve balıklarda bozulmaya neden olan bakteriler. *Gıda*, 6(4).
- Esteve, C., Amaro, C.,** 1991. Siderophore production in *Aeromonas* spp. isolated from European eel, *Anguilla anguilla* L. *Journal of Fish Diseases*, 14(3):423-427.
- Esteve, C., Biosca E.G., Amaro, C.,** 1993. Virulens of *Aeromonas hydrophila* and some other bacteria isolated from European eels, *Anguilla Anguilla* reared in fresh water. *Dis. Aquat Organ*, 16:15-20.
- Falcão, D.P., Lustri, W.R., Bauab, T.M.,** 1998. Incidence of Non-01 *Vibrio cholerae* and *Aeromonas* spp. in freshwater in Araraquara, Brazil. *Current Microbiol*, 37:28-31.
- FAO,** 1987. African Regional Aquaculture Centre, Port Harcourt, Nigeria Centre Regional African D'aquaculture, Port Harcourt, Nigeria, Arac/Rep/87/Wp/11
- FAO,** 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018 Yearbook, Dünyada Balıkçılık ve Su Ürünleri Yetiştiriciliğinin Durumu.
- FAO** 2021. FAO Yıllığı. Balıkçılık ve Su Ürünleri İstatistikleri 2019/FAO yıllık. Balık ve su ürünleri istatistikleri 2019/FAO yılı. Estadísticas de pesca y acuicultura.
- Farmer, J.J., III, Arduino, M.J., Hickman-Brenner, F.W.,** 1992 The genera *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In *The Prokaryotes*, 3:3012-3043.
- Fernández-Bravo, A., Figueras, M.J.,** 2020. Cins *Aeromonas* üzerine bir güncelleme: Taksonomi, epidemiyoloji ve patojenite. *Mikroorganizmalar*, 8(1):129.
- Fowoyo, P.T., Achimugu, F.,** 2019. Virulence of *Aeromonas hydrophila* isolated from fresh water catfish. *Journal of Biosciences and Medicines*, 7:1-12.
- Freitas, A.C., Nunes, M.P., Milhomem, A.M., Ricciardi, I.D.,** 1993. Occurrence and characterization of *Aeromonas* species in pasteurized milk and cheese in Rio de Janeiro. *J of Food Protection*, 5:62-65.
- Genç, İ.Y., Esteves, E., Diler, A.,** 2016. Handbook of seafood quality maintenance and applications. Nova Science Publishers.
- Ghenghesh, K.S., Ahmed, S.F., El-Khalek, R.A., Al-Gendy, A., Klena, J.,** 2008. *Aeromonas*-associated infections in developing countries. *J Infect Dev Ctries*, 2(2):81-98.
- Gill, C.O., Baker, L.P., Janes, T.,** 1999. Koyun karkas kırma işleminde kullanılan yeterince temizlenmemiş ekipmanın belirlenmesi. *J Food Prot*, 62(6): 637-643.
- Gómez de Anda, F.R., Vega-Sánchez, V., Reyes-Rodríguez, N.E., Martínez-Juárez, V.M., Ángeles-Hernández, J.C., Acosta-Rodríguez, I., Campos-Montiel, R.G., Zepeda-Velázquez, A.P.,** 2021. The Nasal Epithelium as a Route of Infection and

Clinical Signs Changes, in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fingerlings Infected with *Aeromonas* spp. *Appl. Sci*, 11:9159.

- Guo, L., Ye, L., Zhao, Q., Ma, Y., Yang, J., Luo, Y.,** 2014. Comparative study of MALDI-TOF MS and VITEK 2 in bacteria identification. *Journal of thoracic disease*, 6(5):534–538.
- Güney, C., Aydın, H.,** 2016. Su ürünleri yetiştiriciliği yapan işletmelerde çevresel maliyetlerin muhasebeleştirilmesi. *Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 9(40):1095.
- Holler, J.G., Pedersen, L.K., Calum, H.,** 2011. Using MALDI-TOF mass spectrometry as a rapid and accurate diagnostic tool in infective endocarditis: a case report of a patient with mitral valve infective endocarditis caused by *Abiotrophia defectiva*. *Scand J Infect Dis*, 43(3):234–37.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staly, J.T., Williams, S.T.,** 1994. Cins *Aeromonas*, Bergey's manual of determinative bacteriology. 9. baskı, Williams ve Wilkins, Baltimore, 190-191s.
- Horsley, R.W.,** 1977. A review of the bacterial flora of teleosts and elasmobranchs, including methods for its analysis. *J. Fish Biol*, 10:529-553.
- İşleyici, Ö.,** 2009. Gıdalarda hareketli *Aeromonas*'lardan kaynaklanan sağlık riskleri. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(2):69-74.
- İşleyici, Ö., Sancak, Y.C., Hallac, B., Ekici, K.,** 2006. Presence of motile aeromonas ssp. in raw chicken meats. *Indian Veterinary Journal*, 83(2):153-155.
- İşleyici, Ö., Sancak, Y.C., Hallaç, B.,** 2007. Van'da tüketime sunulan balıklarda hareketli aeromonas türlerinin varlığı ve yaygınlığı. *YYÜ Vet. Fak. Dergisi*, 18(1):79-85.
- Janda, J.M., Abbott, S.L.,** 2010. The genus aeromonas: Taxonomy, pathogenicity and infection. *Clin Microbiol Rev*, 23:35-73.
- Janda, J.M., Abbott, S.L.,** 2007. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *J. Clin. Microbiol*, 45:2761-2764.
- Jeeva, S., Packia, Lekshmi, N.C., Rja Brindha, J., Vasudevan, A.,** 2013. Studies on antibiotic susceptibility of *Aeromonas hydrophila* isolated from gold fish (*Carassius auratus*). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(12):7-13.
- John, N.,** 2014. Distribution, extracellular virulence factors and antibiogram of motile aeromonads in fresh water ornamental fishes and immune response of *Cyprinus carpio* against *Aeromonas hydrophila* infection. *Thesis*. Cochin University of Science and Technology.

- Justesen, U.S., Holm, A., Knudsen, E., Andersen, L.B., Jensen, T.G., Kemp, M., Skov, M.N., Gahrn-Hansen, B., Møller, J.K.,** 2011. Species Identification of Clinical 1 Isolates of Anaerobic Bacteria: a Comparison of Two Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry Systems. *J. Clin. Microbiol*, 49(12):4314-4318.
- Kapetanovic, D., Kurtovic, B., Teskeredzic, E.,** 2005. Bakterilerdeki farklılıklar alabalık popülasyonu (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) kızartma kuluçka makinesinden havuzlara transfer edildikten sonra. *Gıda Teknolojisi ve Biyoteknoloji*, 43(2):189-193.
- Karapınar, M.,** 1990. Gıdaların mikrobiyolojik kalite kontrolü. Ege Üni. Ege Meslek Yüksekokulu, Yayın No: 6, Ege Üni. Basımevi, Bornova-İzmir.
- Kirby, B.M., Everest, G.J., Meyers, P.R.,** 2010. Kribbella türünün gyrB genine dayalı filogenetik analizi: Kribella türündeki görevi için bir gyrB dizisi. *Antonie van Leeuwenhoek*, 97:131-142.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C.,** 1997. Curved gram negative basilli and oxidase positive fermenters: Campylobacteraceae and Vibrionaceae. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th edition, JB Lippincott Comp, Philadelphia, 321-361s.
- Korun, J.,** 2015. A study on the present disease situation of the cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) in Turkey. Sixth International Scientific Agricultural Symposium, Agrosym. Book of Proceedings, 1729-1733s.
- Korun, J., Timur, G.,** 2001. Gökkuşluğu Alabalıklarında (*O. Mykiss*) Fry Mortalite Sendromu (FMS) Üzerinde Bir Çalışma. *İst. Üniv. Su Ürün. Derg*, 12:15-30.
- Körkoca, H.,** 2001. Tavuk, martı ve gökkuşluğu alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) dışkılarından izole edilen hareketli *Aeromonas* türleri ve SDS-Page yöntemi ile protein profillerinin tespiti. *Yüksek Lisans Tezi*, Y.Y.Ü. Sağ. Bil. Ens. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van, 76s.
- Kumar, C.B., Kumar, A., Paria, A., Kumar, S., Prasad, K.P., Rathore, G.,** 2022. Effect of spatio-temporal variables, host fish species and on-farm biosecurity measures on the prevalence of potentially pathogenic *Aeromonas* species in freshwater fish farms. *Journal of applied microbiology*, 132(3):1700–1712.
- Kürüm, V., Emre, Y., Bayrak, M.,** 1998. Havuz ve kafeslerde alabalık yetiştiriciliği. Minpa Matbaacılık Tic. Ltd.
- Lam, P.W., Salit, I.E.,** 2014. Raoultella planticola bacteremia following consumption of seafood: The Canadian journal of infectious diseases medical microbiology. *Journal canadien des maladies infectieuses et de la microbiologie medicale*, 25(4):e83–e84.

- Laupland, K.B, Valiquette, L.,** 2013. The changing culture of the microbiology laboratory. *J Infect Dis Med Microbiol.*, 24:125-8.
- Lotz, A., Ferroni, A., Beretti, J.L.,** 2010. Rapid identification of mycobacterial whole cells in solid and liquid culture media by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol.*, 48:4481-86.
- Lucas, J., Southgate, P.,** 2003. Aquaculture farming aquatic animals and plants. Blackwell Publishing, UK, 502s.
- Mancini, M.A., Galetto, M., Gonzalez Quintana, H.,** 1997. Identification, clinical signs and histopathological lesions of *Aeromonas hydrophila* in fishes (*Odontesthes bonariensis*). *Revista de Medicina Veterinaria Buenos Aires*, 78(1):65-68.
- Martínez-Murcia, A.J, Figueras, M.J., Saavedra, M.J., Stackebrandt, E.,** 2007. The recently proposed species *Aeromonas sharmans* sp. nov., isolate GPTSA-6T, is not a member of the genus *Aeromonas*. *Int. Microbiol.*, 10:61-64.
- McCabe, K.M., Zhang, Y.H., Huang, B.L., Wagar, E.A., McCabe, E.R. B.,** 1999. Bacterialspecies identification after DNA amplification with a universal primer pair. *Molecular Genetics and Metabolism*, 66:205-211.
- McCarthy, D.H, Roberts, R.J.,** 1980. Furunculosis of fish the present state of our knowledge, In Droop MA, Jannasch HW (eds). *Advances in Aquatic Microbiology*, Academic Press, London, 293-341s.
- McCovan, J.E., Steinberg, J.P.,** 1995. Other gram-negative bacilli: *Aeromonas*, *Plesiomonas shigelloides*: Principles and practice of infectious diseases 4th ed, Churchill Livingstone, New York, 2107-2110.
- Mellmann, A., Cloud, J., Maier, T.,** 2008. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time-offlight mass spectrometry in comparison to 16S rRNA gene sequencing for species identification of nonfermenting bacteria. *J Clin Microbiol*, 46:1946-54.
- Merino, S., Rubires, X., Knochel, S., Tomas, J.M.,** 1995. Emerging Pathogens: *Aeromonas* spp., *Int J Food Microbiol.*, 28:157-68.
- Midilli, K.,** 1998. İstanbul ve çevresinde toplanan çeşitli su örnekleride *Aeromonas* cinsi bakterilerin varlığı, sıklığı ve biyotip özellikleri. *Uzmanlık tezi*, İstanbul Üniversitesi Cerrahpasa Tıp Fakültesi, İstanbul, 48-49s.
- Moksness, E., Kjorsvik, E., Olsen. Y.,** 2004. Culture of cold-water marine fish. Blackwell Publishing, UK, 528s.
- Moraes, G.,** 2004. Metabolical responses in adaptation to stress in fish, International Congress on the Biology of Fish, Brazil, 47s.

- Munro, A.L.S.**, 1982. The pathogenesis of bacterial diseases of fishes. In, Roberts JR (Ed): Microbial diseases of fish. Academic Pres, London, 131-151s.
- Murray, P.R.**, 2012. What is new in clinical microbiology-microbial identification by MALDI-TOF mass spectrometry: a paper from the 2011 William Beaumont Hospital Symposium on molecular pathology. *The Journal of molecular diagnostics: JMD*, 14(5):419–423.
- Mursalim, M.F., BudiYansah, H., Raharjo, H.M., Debnath, P.P., Sakulworakan, R., Chokmangmeepisarn, P., Rodkhum, C.**, 2022. Diversity and antimicrobial susceptibility profiles of *Aeromonas* spp. isolated from diseased freshwater fishes in Thailand. *Journal of Fish Diseases*, 45(8):1149–1163.
- Nya, E.J., Austin, B.**, 2009. Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas Hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 32(11):963-970.
- Özer, S., Demirel, M., Us, M., Yıldırım, S.**, 2008. Mersin ili Çağlarca köyündeki gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) kuluçkahanelerinin mikrobiyal florasi. *FisheriesSciences.com Dergisi*, 2(4):261-271.
- Öztürk, Y.F.**, 2007. Levrek balıklarında (*Dicentrarchus labrax*) probiyotik olarak *Lactobacillus rhamnosus* kullanılmasının performan üzerine etkisi. *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 54-56s.
- Paniagua, C., Rivero, O., Anguita, J., Naharro, G.**, 1990. Pathogenicity factors and virulens for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) or motile *Aeromonas* spp. isolated from a river. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(2):350-355.
- Persson, S., Al-Shuweli, S., Yapici, S., Jensen, J.N., Olsen, K.E.**, 2015. Identification of clinical aeromonas species by *rpoB* and *gyrB* sequencing and development of a multiplex PCR method for detection of *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*, *A. veronii*, and *A. media*. *Journal of clinical microbiology*, 53(2):653–656.
- Podemski, C., Blanchfield, P.**, 2006. A scientific review of the potential environmental effects of aquaculture in aquatic ecosystems, Canada.
- Poffe, R., Op de Beeck, E.**, 1991. Evsel atık su arıtma tesislerinden ve yüzey sularından *Aeromonas hydrophila* sayımı. *J Appl Bact*, 71:366-370.
- Popoff, M., Krieg, N.R., Holt, J.G.**, 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology, Williams&Wilkins Co, Baltimore, USA.
- Prodhom, G., Bizzini, A., Durussel, C., Bille, J., Greub, G.**, 2010. Matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for direct bacterial identification from positive blood culture pellets. *J Clin Microbiol.*, 48(4):1481–83.
- Pülatsü, S., Topçu, A., Atay, D.**, 2014. Su kirlenmesi ve kontrolü Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları Yayın No:1617.

- Rosa, M., Rosa, A., Arribas, M., Pares, R.,** 1991. Distribution of *Aeromonas* species in waters with different levels of pollution. *J. Applied Bacteriology*, 71:182-186.
- Saavedra, M.J., Figueras, M.J., Martinez-Murcia, A.J.,** 2006. Updated phylogeny of the genus *Aeromonas*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56:2481–2487.
- Sağlam, Y., Işık, N., Arslan, A., Erer, H.,** 2006. Erzurum bölgesindeki gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* W. 1792) *Aeromonas hydrophila* ve *Yersinia ruckeri* İzolasyonu ve patolojik incelemeler. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 1(1-2):6-10.
- Sakazaki, R., Tamura, K.,** 1992. The genus *Hafnia*. The prokaryotes. 2nd ed. III. Chichester, United Kingdom: John Wiley and Sons Ltd., 115-142s.
- Sarıeyyüpoğlu, M.,** 1984. Gökkuşağı alabalıklarında (*S. gairdneri*) mide barsak bakteriyel florasının aerobik yönden ince-lenmesi. *Doğa Bilim Dergisi*, 8(3): 281-287.
- Sarımehmetoğlu, B., Küplülü, Ö., Kaymaz, Ş.,** 1998. Ankara'da tüketilenlere pastörize sütlerden hareketli *Aeromonas* izolasyon ve tanımlama. *Gıda*, 23(2):141-145.
- Sarma, D.K., Barman, N.N., Sharma, R., Rahman, T., Boro, B.R.,** 1990, Isolation of *Aeromonas hydrophila* from fishes with ulcerative lesions. *Indian Journal of Animal Sciences*, 60(12):1514-1516.
- Sedgwick, S.D.,** 1978. Trout farming handbook. Schdium International Inc., New York.
- Seng, P., Drancourt, M., Gouriet, F.,** 2009. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis*, 49:543-51.
- Shin, H.B., Yoon, J., Lee, Y., Kim, M.S., Lee, K.,** 2015. Comparison of MALDI-TOF MS, housekeeping gene sequencing, and 16S rRNA gene sequencing for identification of *Aeromonas* clinical isolates. *Yonsei medical journal*, 56(2):550-555.
- Snieszko, S.F., Axelrod, H.R.,** 1971. *Diseases of fishes*. TFH Publications.
- Soler, L., Yanez, M.A., Chacon, M.R., Aguilera-Arreola, M.G., Catalan, V., Figueras, M.J., Martínez-Murcia, A.J.,** 2004. Phylogenetic analysis of the genus *Aeromonas* based on twohousekeeping genes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, 54:1511–1519.
- Stevenson, L.G., Drake, S.K., Murray, P.R.,** 2010. Rapid identification of bacteria in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol.*, 48(2):444–47.
- Su Ürünleri Yetiştiriciliği Yönetmeliği,** 2004. T.C Resmi Gazete, 25507, 29 Haziran 2004.

- Şahin, T.**, 2003. Su ürünleri yetiştiriciliğinde biyoteknoloji. *Aquaculture Studies*, (1):2-3.
- Şık, Z., Altıntaş, Ö., Atıcı, E.G.**, 2020. Balıklardan izole edilen bakteriyel etkenler: Beş yıllık değerlendirme. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 31:4-8.
- Güçer, Ş.**, Kişisel Görüşme, 26 Eylül 2022.
- Tekelioğlu, N.**, 2005. İç su balıkları yetiştiriciliği. Nobel Kitapevi. Adana, 278s.
- Timur, G., Timur, M.**, 2003. Balık hastalıkları. İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayın, (5):558.
- Toranzo, A.E., Baya, A.M., Romalde, J.L., Hetrick, F.M.**, 1989. Association of *Aeromonas sobria* with mortalities of adult gizzard shad, *Dorosoma cepedianum* Lesueur. *J. Fish Dis*, 12:439-448.
- Tort, L., Liarte, C., Acarete, L., Mackenzie, S.**, 2004. Immune suppression in fish after stress the role of cortisol, international congress on the biology of fish. tropical hotel resort, Manaus Brazil.
- TÜİK**, 2021. Su Ürünleri İstatistikleri <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Su-Urunleri-2021>
- TÜİK**, 2022. Su Ürünleri İstatistikleri <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Su-Urunleri-2021-45745>
- URL-1**, 2022. <https://vetkontrol.tarimorman.gov.tr/samsun/Belgeler/Makaleler>
- Uzel, A.**, 1996. İzmir ilindeki çeşitli kaynaklardan *A. hydrophila*'nın izolasyonu, identifikasyonu, ve toksikolojik testleri ile ilgili bir araştırma. *Yüksek Lisans Tezi*, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji AD.
- Van Veen, S.Q., Claas, E.C.J., Kuijper, E.J.**, 2010. High-Throughput Identification of Bacteria and Yeast by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry in Conventional Medical Microbiology Laboratories. *J. Clin. Microbiol.*, 48:900-907.
- Wahli, T., Burr, S.E., Pugovkin, D., Mueller, O., Frey, J.**, 2005. *Aeromonas sobria*, a causative agent of disease in farmed perch. *Perca fluviatilis* L. *J. Fish Dis*. 28:141-150.
- Wang, C., Silva, J.L.**, 1999. Prevalence and characteristics of *Aeromonas* species isolated from processed channel catfish. *J. Food Prot*, 62(1):30-34.
- Wanja, D.W., Mbuthia, P.G., Waruiru, R.M., Mwadime, J.M., Bebora, L.C., Nyaga, P.N., Ngowi, H.A.**, 2019. Bacterial pathogens isolated from farmed fish and source pond water in Kirinyaga County, Kenya. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 7:295-301.

- Westblade, L.F., Jennemann, R., Branda, J.A., Bythrow, M., Ferraro, M.J., Garner, O.B., Ginocchio, C.C., Lewinski, M.A., Manji, R., Mochon, A.B., Procop, G.W., Richter, S.S., Rychert, J.A., Sercia, L., Burnham, C.A., 2013.** Multicenter study evaluating the Vitek MS system for identification of medically important yeasts. *J. Clin. Microbiol.*, 51:2267-72.
- Wieser, A., Schneider, L., Jung, J., Schubert, S., 2012.** MALDITOF MS in microbiological diagnosis-identification of microorganisms and beyond (mini review). *Appl Microbiol Biotechnol.*, 93(3):965-74.
- Woese, C.R., Debrunner-Vossbrinck, B.A., Oyaizu, H., Stackebrandt, E., Ludwig, W. 1985.** Gram-positive bacteria: possible photosynthetic ancestry. *Science*, 229(4715):762-765.
- Yanez, M.A., Catalan, V., Apraiz, D., Figueras, M.J., Martinez-Murcia, A.J., 2003.** Phylogenetic analysis of members of the genus *Aeromonas* based on *gyrB* gene sequences. *Int J Syst Evol Microbiol.*, 53:875–883.
- Yıldırım, S., Özer, S., 2010.** Mersin ili Çağlarca köyündeki gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, walbaum, 1792) kuluçkahanelerinde *Flavobacterium* spp. varlığı. *Journal of Fisheries Sciences*, 4(1):112-122.
- Yılmaz, S., Duyan, S., Artuk, C., Diktaş, H., 2014.** Mikrobiyolojik ilk tanımlamada Maldı-Tof Ms uygulamaları. *Tsk Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 13(5):421-426.
- Yi, S.W., You, M.J., Cho, H.S., Lee, C.S., Kwon, J.K., Shin, G.W., 2013.** Molecular characterization of *Aeromonas* species isolated from farmed eels (*Anguilla japonica*). *Veterinary microbiology*, 164(1):195-200.
- Yu, S.L., Palumbo, S.A., 2000.** Domuz karkas işleme proseslerinin hijyenik yeterliliğinin doğrulanması için *Aeromonas* sayımı. *J Gıda Güvenliği*, 20(1):43-52.
- Yuk, K.J., Kim, Y.T., Huh, C.S., Lee, J.H., 2018.** *Lelliottia jeotgali* sp. nov., isolated from a traditional Korean fermented clam. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 68(5):1725-1731.
- Yücel, S., Erdem, B., Kaya, D., 2005.** Süt ve beyaz peynirden elde edilen hareketli *Aeromonas* türlerinin bazı virülans özellikleri ve karakterizasyonu. *Int J Dairy Technology*, 58(2):106–110.