

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI BAKTERİYEL BALIK PATOJENLERİNE KARŞI TANNİK
ASİTİN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİ**

YAZAR
NEŞE TEKİN

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. FİKRİ BALTA

RİZE
2021

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI BAKTERİYEL BALIK PATOJENLERİNE KARŞI TANNİK
ASİTİN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİ**

NEŞE TEKİN

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. FİKRİ BALTA

TEZ JÜRİLERİ

DOÇ. DR. EMRE ÇAĞLAK

DR. ÖĞR. ÜYESİ ŞÜKRÜ ÖNALAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

RİZE-2021

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BAZI BAKTERİYEL BALIK PATOJENLERİNE KARŞI TANNİK ASİTİN
ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİ

Prof. Dr. Fikri BALTA'nın danışmanlığında, Neşe TEKİN tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 31/08/2021 tarihinde Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı Adı Soyadı	İmzası
Başkan	: Prof. Dr. Fikri BALTA	
Üye	: Doç. Dr. Emre ÇAĞLAK	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN	

Doç. Dr. Ahmet YANIK
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

ÖNSÖZ

Bu araştırma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır. Bu tez çalışmasının konusu “Bazı Bakteriyel Balık Patojenlerine Karşı Tannik Asitin Antibakteriyel Aktivitesi” üzerine olup, bazı balık patojenlerine karşı Mueller Hinton Agarda açılacak kuyucuklara farklı konsantrasyonlarda ilave edilen tannik asitin oluşturduğu zon çapları ölçülerek ve ayrıca tüpte iki katlı solüsyonları hazırlanarak her bir bakteri suşu için Minimal İnhibe-edici Konsantrasyonu (MİK) tespit edilerek tannik asitin antimikrobiyel aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yüksek lisans öğrenciliğim boyunca, laboratuvar çalışmaları ve yazımında bana yardımcı olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Fikri BALTA’ya, annem Cemile TEKİN ve babam Mehmet Emin TEKİN başta olmak üzere tüm aile fertlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Değerli jüri üyesi hocalarım ve bana emeği geçen diğer bütün hocalarıma da teşekkürlerimi sunarım.

Hazırlanan bu Yüksek Lisans Tezi Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı FYL-2019-994 nolu proje ile desteklenmiştir.

Neşe TEKİN

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan “Bazı Bakteriyel Balık Patojenlerine Karşı Tannik Asitin Antibakteriyel Aktivitesi” başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim. 18/08/2021

Neşe TEKİN

Uyarı: Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

BAZI BAKTERİYEL BALIK PATOJENLERİNE KARŞI TANNİK ASİTİN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİ

NEŞE TEKİN

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Su Ürünleri Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışmanı: Prof. Dr. Fikri BALTA

Bu çalışmada, patojenik mikroorganizmalara karşı kendini korumak için çeşitli bitkiler tarafından üretilen polifenolik bir kimyasal madde olarak bilinen tannik asit doğal ekstraksiyon işlemleriyle elde edilen ve su ürünleri yetiştiriciliğinde yem tatlandırıcı katkı maddesi olarak hazırlanan Silvaeed TSP antimikrobiyel aktivitesi araştırıldı. Balıklarda önemli ekonomik kayıplara neden olan *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens*, *Yersinia ruckeri* ve *Vibrio anguillarum* izolatlarına karşı tannik asitin farklı konsantrasyonlardaki dilüsyonlarının antimikrobiyal aktiviteleri tespit edildi. Bu bakteri izolatlarına karşı tannik asitin etkinliği antimikrobiyal etkinliği disk difüzyon yöntemi kullanılarak Müller Hinton Agar (MHA)'da araştırıldı. Aynı bakteri izolatlarına karşı farklı konsantrasyonlarda tannik asit dilüsyonlarının Minimal İnhibe-edici Konsantrasyonu (MİK) Mueller Hinton Broth (MHB)'ta belirlendi. Florfenikol ve doksitetrasiklin'in antimikrobiyal aktivitesi de aynı yöntemle belirlendi ve tannik asit ile karşılaştırıldı. Tannik asitin 31,25 µg konsantrasyonuna *Ps. fluorescens* ve *V. anguillarum* dirençli iken, 62,5 µg konsantrasyonuna ise *A. hydrophila* ve *Y. ruckeri*'nin dirençli olduğu belirlendi. Tannik asitin MİK değerleri *A. hydrophila*, *Ps. fluorescens*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri* için sırasıyla, 125-250 µg, 15,625-31,25 µg, 250-500 µg ve 62,5-125 µg olarak tespit edildi.

2021, 63

Anahtar Kelimeler: Tannik asit, antimikrobiyal aktivite, MİK, akuakültür, tedavi.

ABSTRACT

**Recep Tayyip Erdogan University
Institute of Graduate Studies
Department of Fisheries
Master Thesis
Supervisor: Prof. Dr. Fikri BALTA**

In this study, the antimicrobial activity of Silvafeed TSP, which is obtained by natural extraction processes of tannic acid, known as a polyphenolic chemical produced by various plants to protect itself against pathogenic microorganisms, and prepared as a feed sweetening additive in aquaculture, was investigated. Antimicrobial activities of dilutions of tannic acid at different concentrations were determined against *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens*, *Yersinia ruckeri* and *Vibrio anguillarum* isolates, which cause significant economic losses in fish. The antimicrobial activity of tannic acid against these bacterial isolates was investigated on Muller Hinton Agar using disc diffusion method. The Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of dilutions of tannic acid at different concentrations against the same bacterial isolates was determined in Muller Hinton Broth. The antimicrobial activity of florfenicol and doxytetracycline was also determined using the same method and compared with tannic acid. It was determined that *Ps. fluorescens* and *V. anguillarum* were resistant to the 31.25 µg concentration, while *A. hydrophila* and *Y. ruckeri* were resistant to the 62.5 µg concentration of tannic acid. The MIC values of tannic acid for *A. hydrophila*, *Ps. fluoresces*, *V. anguillarum* and *Y. ruckeri* were determined as 125-250 µg, 15.625-31.25 µg, 250-500 µg and 62.5-125 µg, respectively.

2021, 63

Anahtar Kelimeler: Tannic acid, antimicrobial activity, aquaculture, MIC, treatment

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V-VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	VIII
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Balık Hastalıkları.....	2
1.2.1. Bakteriyel Balık Hastalıkları.....	3
1.2.1.1. <i>Aeromonas hydrophila</i> enfeksiyonu.....	5
1.2.1.2. <i>Yersinia ruckeri</i> enfeksiyonu.....	8
1.2.1.3. <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>).....	12
1.2.1.4. Vibriozis.....	13
1.2.1.4.1. <i>Vibrio anguillarum</i> enfeksiyonu.....	14
1.2.1.4.2. <i>Vibrio salmonicida</i>	15
1.2.1.4.3. <i>Vibrio damsela</i>	15
1.2.1.4.4. <i>Vibrio cholerae</i> (non-01).....	16
1.2.1.4.2.5. <i>Vibrio ordalli</i>	16
1.2.1.4.2.6. <i>Vibrio vulnificus</i> biogroup-2.....	16
1.2.1.5. <i>Pseudomonas</i> Enfeksiyonları.....	17
1.2.1.5.1. <i>Pseudomonas fluorescens</i>	17
1.3. Gökkuşuğı Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	20
1.4. Tanenler.....	21
1.4.1. Hidrolize Olabilen Tanenler.....	23
1.4.2. Kondanse Tanenler.....	24
1.4.3. Tanenlerin Besleme Üzerine Etkileri.....	25
1.4.3.1. Antiparaziter etki.....	26
1.4.3.2. Antioksidan etki.....	26

1.4.3.3. Antibakteriyel etki.....	27
1.4.3.4. Tanenlerin Kanserojen Aktiviteleri.....	27
1.4.3.5. Antimutajenik ve Antikanserojenik Aktivite.....	28
1.5. Ruminantlar (Geviş Getiren Hayvanlar).....	28
1.6. Monogastrik Hayvanlar.....	30
1.7. Tanenlerin Olumsuz Etkilerini Gidermek İçin Uygulanabilecek Yöntemler.....	31
1.7.1. Kurutma ve Depolama.....	31
1.7.2. Alkalilerle Muamele.....	32
1.7.3. Polyethylene Glycol (PEG) ile Muamele.....	32
2. YAPILAN ALIşMALAR.....	33
2.1. Materyal.....	33
2.1.1. Silvafeed TSP (Tannik Asit).....	33
2.1.2. Teste Kullanılan Mikroorganizmalar.....	34
2.1.3. Teste Kullanılacak Besi Yerleri.....	35
2.1.4. Teste Kullanılacak Kimyasallar.....	35
2.2. Metot.....	35
2.2.1. Besiyerinin Hazırlanması.....	35
2.2.2. Tannik asitin minimal inhibe edici konsantrasyonu(MİK) belirlemesi.....	38
3. BULGULAR.....	40
4. TARTIşMA VE SONUÇLAR.....	50
5. ÖNERİLER.....	53
KAYNAKLAR.....	54
ÖZGEçMİş.....	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	<i>A. hydrophila</i> 'nın Elektron mikroskobu görüntüsü	7
Şekil 2.	<i>Y. ruckeri</i> ile enfekte olmuş gökkuşağı alabalığı dalağı ve böbrek organlarının histolojik bölümleri.....	11
Şekil 3.	<i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) elektron mikroskobu görüntüsü	12
Şekil 4.	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 'in genel görünümü.....	19
Şekil 5.	Gökkuşağı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	21
Şekil 6.	Tannik asitin kimyasal yapısı	23
Şekil 7.	Hidrolize olabilen tananlar ve Kondanse tanenlerin molekül yapıları.....	24
Şekil 8.	Silvefeed TSP (Tannik Asit) toz şekli.....	34
Şekil 9.	Tannik asit 0,1 gr'lık 100 ml saf sudaki stok solüsyonu.....	35
Şekil 10.	MHA besiyeri hazırlanması.....	37
Şekil 11.	Dijital kupas ile porselen boncukların çap ve boyunun ölçülmesi.....	38
Şekil 12.	Tannik asitin beş farklı organizmaya karşı oluşturduğu zon çapları.....	43
Şekil 13.	Beş farklı patojene karşı FFC'nin etkinliğinin belirlenmesi.....	44
Şekil 14.	Beş farklı patojene karşı DO'nin etkinliğinin belirlenmesi.....	45
Şekil 15.	Tannik asit (0,1 gr) ilaveli <i>Y. ruckeri</i> bakterisinin MİK değeri.....	46
Şekil 16.	Tannik asit (0,3 gr) ilaveli <i>A. hydrophila</i> bakterisinin MİK değeri.....	47
Şekil 17.	Tannik asitin (0,3 gr) ilaveli <i>Y. ruckeri</i> bakterisinin MİK değeri.....	48

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. <i>Aeromonas</i> türlerini tanımlamada kullanılan biyokimyasal testleri.....	6
Tablo 2. Antibiyogramın değerlendirilmesinde kullanılan referans değerleri.....	41
Tablo 3. Beş farklı patojene karşı tespit edilen antibiyogram test sonuçları.....	42
Tablo 4. Beş farklı patojenin sekiz farklı antibiyotiğe karşı hassasiyeti.....	42
Tablo 5. Tannik asitin beş farklı patojene karşı etkinliğinin belirlenmesi.....	43
Tablo 6. Tannik asitin (TA) beş farklı patojene karşı antimikrobiyel hassasiyeti.....	43
Tablo 7. Florfenikol (FFC)'ün beş farklı patojene karşı oluşan zon çapı değerleri....	44
Tablo 8. FFC'ün beş farklı patojene karşı antimikrobiyel hassasiyeti	45
Tablo 9. Doksitetrasiklinin (DO) beş farklı patojene karşı etkinliği.....	46
Tablo 10. Tannik asit ilave edilmiş MHB'da <i>Y. ruckeri</i> 'nin MİK değeri.....	47
Tablo 11. Tannik asitin <i>A. hydrophila</i> karşı tespit edilen MİK değeri.....	48
Tablo 12. Tannik asitin <i>Y. ruckeri</i> izolatına karşı oluşturduğu MİK değeri.....	49
Tablo 13. Tannik asit ve florfenikol iki katlı seyreltilmiş dilisyonların beş farklı bakteri türüne karşı tespit edilen MİK değerleri.....	50

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

-	Bakteri Üremesinin Olmadığı
+	Bakteri Üremesinin Olduğu
°C	Santigrad Derece
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ADH	Arjinin Dehidrolaz Testi
AM	Ampisilin
API	Analytical Profile Index
AT	Avrupa Topluluğu
ATCC	American Type Culture Collection (Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu)
B ₁₂	B ₁₂ Vitamini
BHİA	Bristol Highlands Improvement Association
BSGM	Su Ürünleri İstatistikleri
C.A.	Canlı Ağırlık
CaOH	Kalsiyum Hidroksit
cm	Santimetre
CN	Gentamicin
D	Değişken
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DNase	Deoksiribonukleaz Enzimi
DO	Doksitetrasiklinin
ERM	Enterik Kırmızı Ağız Hastalığı
FFC	Florfenikol
gr	Gram
H & E	Hematoksilen ve Eozin Boyası ile Boyanmış
H ₂ S	Hidrojen Sülfür
HCl	Hidrojen Klorür
HT	Hidrolize Olabilen Tanenler
İ.P	İntra Peritoneal (Periton içi)

cfu/ml	Mililitrede Coloni Forming Units
Kob/ml	Mililitresinde koloni oluşturan birim
kg	Kilogram
KM	Kuru Madde
KT	Kondanse Tanenler
mg	Miligram
MHA	Mueller Hinton Agar
MHB	Mueller Hinton Broth
MİK	Minimal İnhibe-Edici Konsantrasyon
ml	Mililitre
mm	Milimetre
NA	Nütrient Agar
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit
N-TSA	Normal Triptik Soy Agar
ONPG	Orto-Nitrofenil-β-D-galaktozidaz Testi
OTC	Oksitetrasiklin
PEG	Polyethylene glycol
RNA	Ribonükleik Asit
SMZ	Sulfamethoksazol
SWA	Shotts–Waltman
SXT	Trimethoprim+Sulfamethaksazol
TA	Tannik Asit
TCBS	Thiosulfate Citrate Bile Sucrose
TSA	Triptik Soy Agar
T-TSA	Tuzlu (%1,5) Triptik Soy Agar
VP	Voges-Proskauer Testi

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Dünyadaki endüstrileşme kalkınmış ve kalkınmakta olan ülkelerdeki insanoğlunun yaşam tarzlarının değişmesine neden olmuştur. İnsanoğlu modern hayatla birlikte köylerden şehirlere göç etmiştir. Bu bağlamda insanoğlunun yaşam standartlarının değişmesi ile beslenme alışkanlıkları da sürekli değişim içine girmiştir. Doğal ve organik beslenen insanoğlu endüstrileşme ile birlikte hazır gıdalara olan eğilim ve tüketimi hızla artmıştır. İnsanoğlunun hayvansal kaynaklı protein ihtiyacının doğal ortamdan avcılık yoluyla karşılama oranı her geçen gün azalmaktadır. Ülkemizde nüfus artışına paralel olarak hayvansal protein ihtiyacı her geçen gün hızla artmakta olduğu bildirilmiştir (Karatay, 2019). Köyden şehirlere göç köy nüfusundaki azalmaya ve her geçen gün büyük baş hayvan üretiminde azalmaya neden olmaktadır. Nüfus artışına bağlı hayvansal protein ihtiyacı ilk önceleri kanatlı üretime eğilim göstermiştir. Fakat, tüketici tercihleri, üretimdeki ekonomik dar boğazlar ve kuş gribi gibi nedenlerle kanatlı üretimi de hayvansal protein ihtiyacını tamamen karşılayamadığı bir gerçektir. İnsanoğlu proteinin ihtiyacını karşılamak için yeni alternatif üretimlere yönelmiş ve kültür balıkçılığına olan eğilimi artırmıştır. Özellikle 1980’li yıllardan sonra ülkemizde hayvan üreticilerinin balık yetiştiriciliğine gönül vermesi, bu yönde Su Ürünleri Fakültelerinin kurulması ve bilimsel çalışmaların artması, sürdürülebilir yetiştiricilik için devlet desteği yanı sıra her geçen gün tüketici taleplerindeki artış akuakültür sektörünün hızlı gelişmesine neden olmuştur.

Dünya genelinde olduğu gibi ülkemizde de iç su balık üretiminin büyük bir kısmını gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*; *O. mykiss*) yetiştiriciliği oluşturmaya karşın son yıllarda denizel ortamlardaki ağ kafeslerde kültürü yapılan önemli bir tür olmuştur. Türkiye’de gökkuşağı alabalık üretimi 1970’li yıllarda yurtdışından yumurta getirilmesi ile başlamıştır. Son 20 yılda ülkemiz farklı bölgelerine yayılmış ve gökkuşağı alabalık çiftlik sayısı karasal havuzlarda, baraj gölü ve deniz ortamındaki 2000’den fazla işletme ile üretim devam etmektedir. Son 30 yıl içinde çiftlik balıkçılığı ülkemiz geneline yayılmış durumdadır. Tarım Bakanlığı verilerine göre bugün gökkuşağı alabalığı çiftlik sayısı 2000’in üzerine ulaşmış ve bu işletmelerde balık üretime devam edilmektedir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde son 10 yılda hızlı bir büyüme görülmektedir. Ülkemizde 2018 yılında 2286 adet balık çiftliklerinden elde edilen toplam ürün miktarı 276.502 ton

civarında olduğu ve toplam balıkçılık ihracatının 952 milyon dolara miktarına ulaştığı bildirilmiştir (BSGM, 2019).

Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki baraj göllerinde ve denizel ortamda yüzer ağ kafeslerde kış aylarında 8-12°C'deki su sıcaklığının gökkuşağı alabalıklarının büyümesine uygun olması ile 1-2 kg ağırlığa ulaşan balıklar iç piyasadaki talebi karşılamada büyük önem arz etmektedir. Ayrıca, son 5 yıl içinde 2-5 kg ağırlığına ulaştırılan balıklarla dış piyasadaki (Rusya, Japonya, Avrupa Topluluğu Ülkeleri ve Bazı Arap ülkeleri, vs.) talepler karşılamaya çalışılmaktadır. Gökkuşağı alabalığı üretimindeki bu büyüme üretimde bazı problemleri de beraberinde getirmektedir. Pazar talebini karşılamak için arzulanan yoğun üretim balıkların yaşadığı ortamın kalitesinde değişimlerin oluşmasına, balıkların dışkı, idrar ve metabolitlerin artışı yanı sıra çevresel kirleticilerin etkileri doğal su kaynaklarının balık için uygun olan şartların bozulmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak akuatik ortamda yaşayan balıklarda stres oluşumunun birincil etkisi sonucu oluşan biyokimyasalların etkisi ile immun sistem baskılanarak hastalık etkenlerinin balıklarda hastalık oluşturmaya neden olduğu bildirilmektedir (Dengiz Balta vd., 2017). Su ürünleri yetiştiriciliğinin hızla gelişmesiyle birlikte, yoğun bir şekilde yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalık işletmelerinde patojenlerin neden olduğu hastalıklardan kaynaklanan önemli ekonomik kayıplara neden olduğu ve her geçen gün arttığı bildirilmektedir (Balta ve Dengiz Balta, 2016; 2017; 2019; Balta vd., 2016; Balta, 2016b; 2020).

1.2. Balık Hastalıkları

Balıklar, sucul ortamda hayat döngüsünü sürdüren canlılardır. Bu ortamda meydana gelen olumsuz değişimler, etki eden maddenin dozuna veya miktarına bağlı olarak balıklarda toplu ölümlerin ortaya çıkabileceği gibi bu maddelerin düşük dozlarına sürekli maruz kalan balıklarda ise strese neden olduğu bildirilmektedir. Doğal ortamdaki balıklar içinde bulundukları akuatik ortamın olumsuz etkilerinden normal şartlar altında kaçıp kurtulurken, akuakültür sistemlerinde kapalı ortamlarda (akvaryum, havuz veya kafes) tutulan balıkların bu kirleticilerin etkilerinden kaçıp kurtulmaları mümkün değildir. Bu kirleticilerin bulunduğu ortamları terk edemeyen balıklarda strese tepki olarak birçok biyokimyasal maddeler (kortikosteroidler ve kateşolaminler) salgılanmasına ve balıklarda stresin birincil etkisinin ortaya çıkmasına neden olur. Balıklarda çeşitli

biyokimyasal olaylar sonucu salgılanan bu maddeler vücuttaki çeşitli sistem ve organ hücrelerine etki ederek birçok biyokimyasal reaksiyonu (stresin ikincil etkisi) meydana getirmektedir. Bu biyokimyasal olaylar sonucunda immun sistemde oluşan olumsuzluklar (immun baskı) bağışıklığın bozulmasına neden olduğu için balıkların hastalandığı bildirilmiştir. Bu olumsuz şartların, stres altındaki balıkları hastalıklara karşı daha duyarlı hale getirdiği rapor edilmiştir. Stres altındaki balıklar, insan ve omurgalı hayvanlarda olduğu gibi bakteri, mantar, parazit ve virüslerin neden olduğu hastalıklara daha kolay yakalanmaktadır. Ayrıca, balık yemlerinde amino asit, iz element, mineral ve vitamin gibi elzem maddelerin eksikliğinden kaynaklanan beslenmeye bağlı hastalıklarında görüldüğü bildirilmiştir (Dengiz Balta, 2010).

1.2.1. Bakteriyel Balık Hastalıkları

Günümüzde, sürdürülebilir kültür balıkçılığında kazanç maksimum seviyeye çıkarmak için sucul ortamdaki birim hacimden daha fazla balık üretmek amaçlanmaktadır. Bunun için balık çiftliklerindeki karasal havuzlarda, baraj gölü veya denizel ortamdaki kafeslerde balıkların yoğun bir şekilde stoklaması hedeflenmektedir. Balıkların yoğun stoklanması yem sarfiyatını ve atık madde miktarını artırarak sucul ortamın kirlenmesine neden olmaktadır. Balıkların beslenmesinde kullanılan yemlerin, yenilmeden havuzun dip kısmına düşmesi nedeni ile doğal ortamdaki balıkların kafes etrafında toplanmasına veya kafes dibindeki sedimentte birikmesine, balıkların yoğun yemlenmeye bağlı olarak yemlerin tam sindirilmeden dışkılamasına ve diğer metabolitlerin sucul ortamdaki bakterilerin üremesi için uygun ortam hazırlanmasına neden olmaktadır. Ayrıca, doğal ortamdaki atık yemlerle beslenen ve kafeslerdeki balıkların yem sindirmesi esnasında metabolizma hızlandığı için oksijen sarfiyatı artmakta ve metabolitlerin artması sucul ortamın kalitesinin değişmesine neden olmaktadır. Ayrıca, doğal ortamdaki balıklar kafesler arasında hastalıkları taşıması da etkili olduğu tespit edilmiştir. Sucul ortamın su sıcaklığındaki artış, havuz veya kafeslerdeki su sirkülasyonunun yeterli olmaması ortamdaki bakterilerin ani bir şekilde çoğalmasına sebep olmaktadır. Bu durumda balıklarda su sıcaklığındaki artışa paralel olarak suyun oksijen değerlerindeki düşüş, sucul ortamın pH değerindeki artış (alkalozis) veya azalış (asidozis) balıklarda ani kayıpların ortaya çıkması muhtemeldir. Bu da çiftlik

balıkçılığında sürdürülebilir üretimi olumsuz olarak etkilediği için ciddi ekonomik kayıpların oluşmasına neden olduğundan kültür balıkçılığının kârlılığını düşürmektedir.

Ülkemiz genelinde olduğu gibi Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki balık çiftliklerinde kültürü yapılan gökkuşağı alabalıklarında üretim hızla arttığı gözlenmektedir. Bu artışa paralel olarak balık üretiminde bazı olumsuzluklar ve hastalık vakalarının patlak verdiği çeşitli makalelerde rapor edilmiştir (Balta vd., 2010; Balta, 2016b; Balta ve Dengiz Balta, 2016; Balta vd., 2016; Balta ve Dengiz Balta, 2017; Balta ve Dengiz Balta, 2019; Balta ve Yılmaz, 2019; Duman vd., 2017; Kayış vd., 2009; Onuk vd., 2015, Onuk vd., 2017).

Gökkuşağı alabalık üretimini sınırlandıran hastalık etkenleri bakteriyel, paraziter, viral ve mantar enfeksiyonları olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu etkenlerden en fazla ekonomik kayıp oluşturan bakteriyel balık hastalıklarıdır. Bu bağlamda, sürdürülebilir gökkuşağı alabalığı üretimi için hastalıklarla mücadele önem arz etmektedir. Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki alabalık çiftliklerinde sıklıkla karşılaşılan bakteriyel hastalıklar aşağıda değinilmiştir. Bu hastalıkların tedavisinde bitkisel kökenli tannik asit kullanılması kimyasal çevre kirliliğinin önlenmesi, bakterilerin tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı direncin yavaşlatılması, hastalık oluşturan bakterilerde dirençli suşların oluşmasının engellenmesi ve ortamdaki diğer bakterilere direnç geni aktarımının önlenmesi, balık etinde rezidü problemlerinin bertaraf edilmesi ve organik balık yetiştiriciliğinde antibiyotiklere alternatif olabilecek doğal bitkisel kökenli (kestane ağacı) maddelerin tespit edilmesi amacıyla bu çalışma yapılmıştır. Balıklarda birincil bakteriyel patojenler olarak *Aeromonas salmonicida* ve *Renibacterium salmoninarum* etkenlerinin hastalık oluşturduğu bildirilmiştir. Balıklarda bu iki bakteriyel patojen dışındakileri ikincil etkenlerdir ki, çoğunlukla proteolitik yeteneği olan, diğer bir organizmanın (mantar, parazit ve virüs) varlığında balıklarda hastalığa sebep olabilen fakültatif etkenlerdir. Proteolitik heterotrof olan bu bakteriler, hasta ölmek üzere olan ve güçten düşmüş balıklarda hızlıca artarak veya deneysel olarak duyarlı balıklara aşırı sayıda enjekte edildiğinde balıklarda ölümlere neden olabilen bakteriyel etkenlerdir. Balıkların içinde yaşadığı sucul ortam çok sayıda değişik mikroorganizmanın içinde bulundurduğu, çeşitli etkenlere bağlı olarak balıklarda oluşan stres ile birlikte fakültatif veya fırsatçı patojen hastalık etkenleri tarafından balıklarda hastalık vakalarının meydana geldiğine dair araştırma rapor edilmiştir (Sindermann, 1990).

1.2.1.1. *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonu

Aeromonas hydrophila, Vibrionaceae familyasına dahil, Gram negatif, basil şeklinde, genellikle sucul ortamlarda bulunan fakültatif anaerobik bir bakteri türüdür. *A. hydrophila*'nın genel özellikleri; hareketli olmasını sağlayan polar flagellaya sahip, glikozu oksijensiz ve oksijenli ortamlarda metabolize edebilen, oksidaz ve katalaz testlerinin pozitif reaksiyon vermesi ile karakterize, amilaz, proteaz, fosfolipaz ve DNase gibi ekzoenzimleri üretebilme yeteneğine sahiptirler. *Aeromonas* cinsi bakteriler üreme sıcaklığı gereksinimlerine ve hareket yeteneklerine göre *A. hydrophila*, *A. caviae* ve *A. sobria* hareketli grubu ve *A. salmonicida* (*A. salmonicida*'nın alt grupları) ise hareketsiz grubu oluşturmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. *A. hydrophila* grubu bakteriler 37°C'de ürediğinde hareket kabiliyetine sahipken; hareketsiz olan *A. salmonicida* grubu ise 37°C'de üreme yeteneğine sahip değildirler. Bu yüzden *A. hydrophila* genellikle 'hareketli' veya 'mezofilik' *Aeromonas*'lar grubu olarak isimlendirilmektedirler.

Flagellalı *Aeromonas*'lar, tatlı, tuzlu ve acı sularda, evlerin atık su ortamlarında yoğun bir şekilde bulunmaktadır. Aeromonaslar, su sıcaklığına ve klor miktarına bağlı olarak değişmekle birlikte, klorlanmış ve klorlanmamış içme suyunda çoğunlukla rastlanılmaktadır. Akuakültür ürünlerinde özellikle midye olmak üzere, balık ve direkt su ile temas halindeki gıdalarda hareketli *Aeromonas*'ların en çok bulaşma ortamları arasındadır. Ayrıca, soğuk ortamda saklanan beyaz et, kırmızı et, pişmemiş süt ve süt ürünlerinin yanı sıra sebzelerde hareketli *Aeromonas*'lar tarafından kontamine olması muhtemel olan gıdalar arasındadır. Modifiye edilmiş atmosferik yöntemle paketlenen etlerde, başlangıçta çok düşük miktarda tespit edilen hareketli *A. hydrophila* sayısı depolama süresi aşıldığında bakteri sayısının $10^6/\text{cm}^2$ ulaştığı tespit edilmektedir. Sütte ilk sağıldığında hareketli *Aeromonas*'lara rastlanılmazken 5°C'de bir hafta depolandıktan sonra 10^3 - 10^4 bakteri sayısına ulaşması mümkündür.

İnsanlarda *A. hydrophila*'nın özellikle mide bağırsak yangısı, sepsisemi, akciğer yangısı ve beyin iltihaplanmasına neden olabilmektedir. Maddi hasarlı yaralanmalarda su veya toprak ile direkt temas meydana geldiği durumlarda immun sistemi güçlü olan şahıslarda etken sadece zedelenmiş bölgede sınırlı kalırken, immun sistemi zayıflamış veya hasta olan kişilerde sepsisemi tarzında seyredebildiği için nadiren insanlarda ölüm meydana gelebilmektedir. İnsanlar da *A. hydrophila*'nın bir diğer bulaşma kaynağıdır.

Bakterinin yayılmasında gıda sektöründe çalışan portör insanlar etkenin direkt bulaştırmada önemli bir taşıyıcı konumundadır.

Hareketli *Aeromonas*’lar Enterobacteriaceae familyası üyeleri ile benzerlik göstermesine karşın oksidaz testin pozitif olması ile bu familyadan kolaylıkla ayırt edilmektedir. Hareketli *Aeromonas* türlerini tanımlamak için kullanılan biyokimyasal testler Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. *Aeromonas* türlerini tanımlamada kullanılan biyokimyasal testler

Testler	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. caviae</i>	<i>A. sobria</i>
Eskulin hidrolizi	+	+	-
KCN sıvı besiyerinde üreme	+	+	-
L-arginin dehidrogenaz testi	+	+	-
L-lisin dekarboksilaz testi	+	-	+
L-arabinoz kullanım testi	+	+	-
Salisin fermentasyon testi	+	+	-
Sakkaroz fermentasyon testi	+	+	+
Mannitol fermentasyon testi	+	+	+
İnositol fermentasyon testi	-	-	-
Voges-Proskauer testi	+	-	D
Glikozdan gaz oluşum testi	+	-	+
İndol	+	+	+
Beta-hemoliz b	+	-	+
Sisteinden H ₂ S üretimi	+	-	+

D: Değişken, +: Üremenin olduğu, -: Üremenin olmadığı.

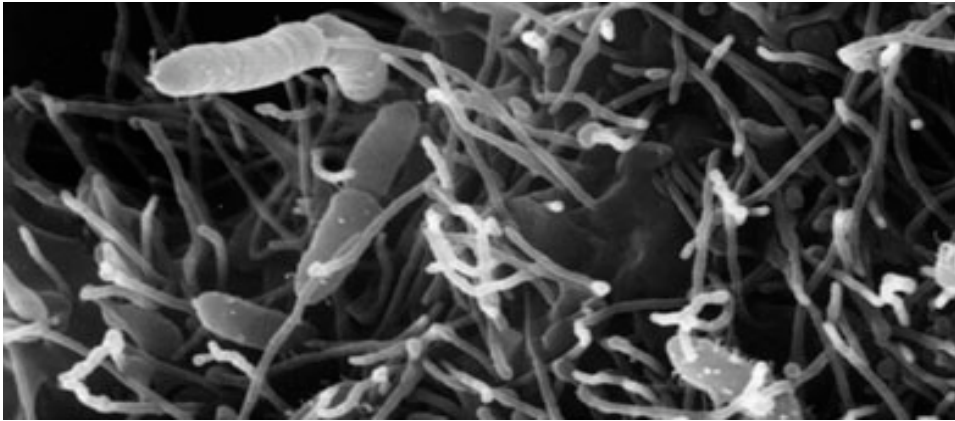
Hareketli *Aeromonas*’ların hastalık yapabilme gücü, salgılamış oldukları sitotoksik (β -hemolisin) ve sitotonik (kolera benzeri) barsak toksinlerden ileri gelmektedir. *Aeromonas*’ların bağırsak mukozasına yapışarak kana geçebilme kabiliyetine sahip oldukları bilinmektedir.

Klinik Semptomlar: Balıklardaki *Aeromonas* enfeksiyonlarında bariz fiziksel bir semptom veya hareket şekli yoktur. Hastalıklı balıkların yüzgeçlerinde erime veya derisi yüzeyinde küçük çaplı kanama ve ülser odakları görülür. Balıkların abdominal bölgesinde asitese bağlı şişkinlik olduğu ve gözlerde ekzoftalmus mevcuttur. Nekropside karın içinde sıvı toplandığı, karaciğer ve dalakta büyüme, bağırsakların aşırı bir şekilde şişkin olduğu görülmektedir. *Aeromonas*’lara duyarlı balıkların pullarında yangıya bağlı

dökülme, yüzgeçlerde erime, deride apseler ve iç organlarda yangı şekillenmektedir. Hemorajik septisemi seyreden enfeksiyonlarda balıkların vücudu yüzeyinde problem olarak ülser odakları, derin ve geniş deri dokusunda nekrozlar görülebilir. Karadeniz'deki ağ kafeslerden Haziran ayında tatlı suya nakledilen balıkların adaptasyonu esnasında strese nedeni ile renkte kararma, deride ülser, gözlerin dışarı fırladığı ve kanamaların varlığı, solungaç kapaklarında ve deri üzerindeki yaygın kanama odaklarının mevcut olduğu bildirilmiştir (Balta, 2020).

Otopsi Bulguları: Hastalıklı balığın otopsisi yapıldığında iç organlarda kanamalı olduğu, dalak ve böbreğin şişkin, karın boşluğunda kan ile karışık asitik bir sıvı birikimi görülür.

Teşhis: *Aeromonas*'lar ile hasta balıklar çoğu zaman farklı sistemik hastalık etkenler ile de enfekte olabilirler. Bu sebeple hastalık etkeninin tespiti ve tedavide kullanılacak antibiyotiklere karşı duyarlılığın belirlenmesinde problemler oluşabilmektedir. Hastalıkta olan balıkların böbrek, dalak ve karaciğer dokusundan TSA besiyerine yapılan ekimler 22°C'de 24-48 saat sonunda hastalık etkenleri saf olarak izole edilmektedir ve standart mikrobiyolojik test yöntemleri kullanılarak etken tanımlanmaktadır. *Aeromonas hydrophila*'nın elektron mikroskopik görüntüsü Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. *Aeromonas hydrophila*'nın Elektron mikroskobu görüntüsü

Tedavi: Gökkuşuğu alabalık işletmelerinde *Aeromonas* sp. hastalık etkeni tespit edilmiş ise başka bir enfeksiyon etkeni ile kontamine olup olmadığı bilinmelidir. Bir işletmedeki balıklar enfeksiyona karşı stres altındaysa suyun kalitesi ile ilgisi oldukça yüksektir. Antibiyogram test sonuçlarına göre hastalığın tedavisinde oksitetrasiklin 75-

100 mg/kg enrofloksasin 10 mg/kg, flumequin 20-30 mg/kg ve florfenikol 30 mg/kg canlı ağırlık (c.a.) dozunda 7-10 gün yemle birlikte uygulanmaktadır.

Korunma: Hastalığın kontrolü, bozulan su kalitesinin düzeltilmesi, stres faktörlerinin bertaraf edilmesi ve uygun antibiyotiğin doğru dozda verilmesi ile yapılmaktadır. Balıkta strese neden olan faktörler ortadan kaldırmalıdır. Etkenin havuz ve çiftlikteki bütün balıklara yayılması ile önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. *Aeromonas* enfeksiyonları tedavisi esnasında düşük dozda ve kısa süreli ilaç kullanımı bakterilerde hızlı bir şekilde direnç şekillenmesine neden olur ve bu direnç bakterinin gelecek kuşaklarında aktarılabilmektedir. Sağlıklı balıkların yemlerine koruyucu olarak antibiyotik ilavesinden mutlaka kaçınılmalıdır.

1.2.1.2. *Yersinia ruckeri* enfeksiyonu

Enterobacteriaceae ailesi içine dahil olan *Yersinia* cinsi, Gram negatif, hareketli, sporsuz, kapsülsüz, aerob, taze sıvı kültürlerinde yuvarlak-çubukçuklar halinde, eski kültürlerde ise kısa veya orta uzunlukta filament şeklinde görülen bir bakteridir. Yersiniozis, özellikle genç gökkuşağı alabalıklarda akut ve kronik seyirli bir enfeksiyon oluşturmaktadır. Hastalık bütün doğal ve kültürü yapılan salmonide görülmektedir. Yersiniozis sazan, sudak ve yılan balıklarında da görüldüğü bildirilmektedir (Austin ve Austin, 1987).

Yersinia ruckeri hem tatlı su hem de deniz suyunda kültürü yapılan salmonid balık yetiştiriciliğinde ciddi ölümler oluşturduğu için büyük ekonomik kayıplara sebep olan önemli bir hastalık etkenidir (Austin ve Austin, 2012; Bullock ve Snieszko, 1975; Toranzo, 2004). Ayrıca enterik kırmızı ağız hastalığı (ERM) veya yersiniosis olarak da bilinir. Hastalığın etken maddesi *Yersinia ruckeri*'dir. Etken ABD'nin Hagerman Vadisi'ndeki hastalıklı gökkuşağı alabalığından 1950 yılında ilk defa izole edilmiştir (Ross vd., 1966). Yersiniozis, salmonid üretiminin yapıldığı ülkelerde yaygın olarak görülmektedir (Plumb ve Hanson, 2011). Türkiye'de ilk vaka, Güney Anadolu'daki gökkuşağı alabalığı çiftliğinden birinde meydana gelmiştir (Timur ve Timur, 1991). Karadeniz Bölgesi'ndeki farklı illerdeki karasal havuzlarda kültürü yapılan gökkuşağı alabalığı çiftliklerinde hastalığın varlığı bildirilmiştir (Balta vd., 2010). Gürcistan, Ermenistan ve Türkiye'nin Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki karasal havuz sistemleri, tatlı ve acı sularda, deniz ve baraj göllerindeki yüzer ağ kafes işletmelerinde kültürü yapılan

gökkuşağı alabalıklarında görülen hastalık vakalarından hastalığın klinik ve otopsi bulguları tespit edilmiştir. Hastalık etkeninin differensiyel besi yerinde saflaştırılmış ve izole edilen hastalık etkenleri API 20 E test kitleri kullanarak tanımlanması gerçekleştirilmiştir. Gökkuşağı alabalıklardan izole edilen *Yersinia ruckeri* izolatlarına yapılan API 20E test kit test sonuçlarının api wep sisteminde karşılığının bulunamadığı bildirilmiştir. Bu nedenle etkenin doğru tanımlanabilmesi için 16S RNA gen primerleri kullanılarak etkenin tanımlanması gerçekleştirilmiştir (Balta vd., 2010; Balta vd., 2016). Ayrıca, hastalıklı balıkların böbrek dokusundan TSA'ya ekim yapılan petri kutularında saf olarak izole edilmiş izolatların hızlı teşhisinde lam aglütinasyon testi kullanıldığı bildirilmiştir. Tavşandan elde edilen *Y. ruckeri* serotip O1 ile yapılan lam aglütinasyon test sonuçlarına göre etkenin *Y. ruckeri* Tip I olduğu rapor edilmiştir (Balta ve Dengiz Balta, 2019).

Etiyoloji ve Epidemiyoloji: *Yersinia*'ların 0,5-0,8 µm eninde ve 1-3 µm boyunda, kokobasil şeklinde düz çomak şeklinde bakterilerdir. Adi besi ortamlarında kolaylıkla çoğalmaktadırlar. *Yersinia*'ların 26-29°C'deki etüvlerde daha iyi üreyebilmeleri karakteristik özellikleridir. Balıkların önemli ikincil patojenlerinden olan *Yersinia ruckeri*, Enterobacteriaceae ailesinin *Yersinia* cinsine ait, Gram negatif, hareketli, fermentatif basil şeklinde bakteridir. Biyokimyasal testlerden katalaz, lizin, ornitin dekarboksilaz, beta galaktosidaz, metil kırmızısı, jelatin hidroliz, glukoz ve mannitol pozitif iken oksidaz, indol, arginin dihidrolaz, H₂S, üre ve sukroz negatiftir.

Y. ruckeri izolatlarına yapılan biyokimyasal test sonuçlarında Voges Proskauer, lizin dekarboksilaz ve laktoz fermentasyonunda farklılıklar göstermektedir. Etkenin değişik sıcaklıklarda üretilmesi ve kullanılan test yöntemleri bu farklılığın neden olabileceği düşünülmektedir. Örneğin; *Y. ruckeri* izolatların bazıları 18°C'de üretildiğinde glukozdan gaz üretirken 25°C'de ise gaz üretmediği tespit edilmiştir. Shotts-Waltmann agarda *Y. ruckeri*'nin tipik koloniler oluşturmaktadır. *Y. ruckeri* %0 ve %3 tuzlu besi yerlerinde rahatlıkla üreyebildikleri gözlemlenmiştir.

Y. ruckeri'yi laboratuvar koşullarında standart mikrobiyolojik yöntemler kullanılarak üretmek oldukça kolaydır. Etken hastalıklı balıkların organlardan izole edilerek kolaylıkla tanımlanabilir. Shotts-Waltmann agarda tipik buzlu cam görünümünde koloniler oluşturmaktadırlar. Genç balıklar yaşlılara oranla hastalığa daha kolay yakalanırlar. Alabalıkların en önemli bakteriyel enfeksiyonu olarak düşünülmektedir *Y. ruckeri* sıklıkla 6-8 cm uzunluğunda olan yavru gökkuşağı

alabalıklarında görülmektedir. Kalkan ve levreklerde *Y. ruckeri* ile yapılan deneysel enfeksiyonlarda ölümlerin görüldüğü bildirilmektedir.

Genellikle su sıcaklığının 10°C'nin üstüne çıktığı dönemlerde gökkuşağı alabalıklarında hastalık vakaları görülmektedir. *Y. ruckeri* çamurda 2 ay canlı kalabilmektedir. Hastalıkta bulaşma %100'e kadar çıksada ölümlerin %100 olmadığı, ölümlerin olumsuz çevresel şartlar altında %40-50'yi geçmediği bildirilmektedir. Balık ölümleri su sıcaklığına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Su sıcaklığı 15°C'nin üzerine çıktığında ölümler artarken, 10°C'nin altına düştüğünde ise ölüm oranı oldukça düştüğü bildirilmiştir. Hastalığı atlatıp sağ kalan balıklar ise taşıyıcı durumundadırlar.

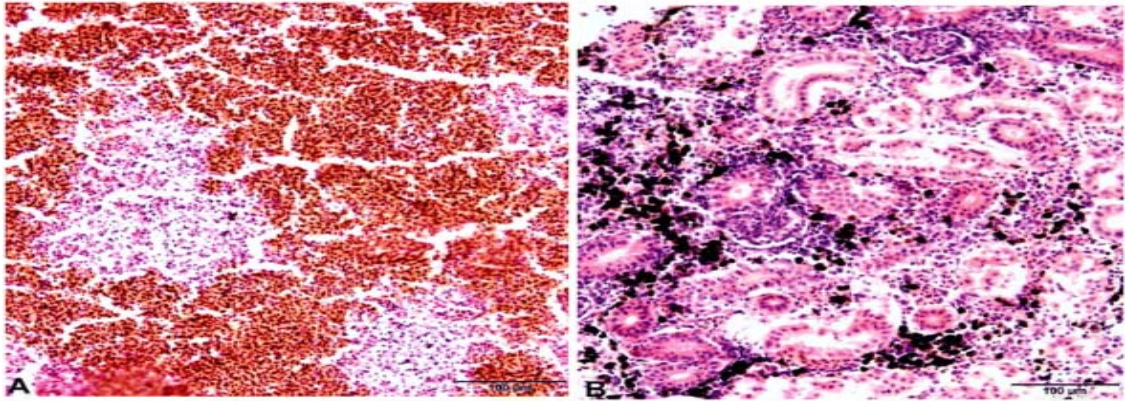
Klinik Semptomlar: Hastalık akut, subakut veya kronik olarak seyretmektedir. Hastalığın akut evresinde ilk görülen semptom balıklarda durgunluk ve iştahsız olmalarıdır. Hasta balıkların derisinin siyahlaştığı; boğaz altında, gözde, ağzın kenarında, solungaç kapakların üstünde, vücut yüzeyinde ve özellikle göğüs yüzgecinin kaidesinde kanamalar ve yaygın kızarıklıklar görülmektedir. Ağzın içinde ve dil üzerinde karakteristik hiperemik bir kızarıklık görülmektedir. Gözlerde çift taraflı ekzoftalmus, karında sıvı birikimine bağlı asites, anüsün dışı doğru çıkıntı yaptığı ve kızarıklık olduğu görülmektedir. Ölüm oranı hastalanan balıklarda yaşa bağlı olarak değişebilmektedir. Su kalitesi, stres faktörleri ve suyun oksijen seviyesinin düşük olması ölüm oranlarını %70'lere kadar çıkarmaktadır. Uzun süreli hastalık vakalarında hemorajik lezyonlara rastlanılmamaktadır. Kronik vakalarda kilo kaybına bağlı zayıflama, renkte kararırma, tek veya çift taraflı ekzoftalmus görülmektedir. Ölüm oranları oldukça düşüktür.

Otopsi Bulguları: Kaslarda, karaciğerde, kalın barsakta ve kör bağırsaklarda yaygın noktavari kanamalar görülmektedir. Böbrek ve dalak büyümüş olup barsaklar kanamalı ve yangılı olduğu görülmektedir. Barsakların şişkin ve içeriğinin sarı renkli sıvı (diare) ile dolu olduğu gözlenmektedir. Hasta balıkların kaslarında, hava kesesinde ve cinsel organlarında kanamaların mevcut olduğu tespit edilmektedir.

Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki alabalık çiftliklerindeki hastalığa yakalanmış balıkların iştahsız olduğu, balıkların su çıkışında, havuz kenarlarında, suyun durgun olduğu köşelerde ve suyun üstünde halsiz bir şekilde yüzdükleri bildirilmiştir. Bir gökkuşağı alabalığı çiftliğinde 8°C'deki su sıcaklığında 100-120 gr'lık balıklarda %30'luk ölümlerin olduğu bir hastalık olgusunda herhangi bir dış semptom göstermeksizin balıkların öldüğü rapor edilmiştir. Bu balıklara yapılan iç muayenede ağzın kızarıklık olduğu, karaciğerin solgun ve pilorik sekalar üzerinde noktavari

kanamaların olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, otopsi yapılan balıkların midesinin odun ve taş gibi yabancı cisimlerin bulunmasına karşın genelde boş olduğu, bağırsak içeriğinin sarı-sulu kıvamda olduğu ve bağırsağın anüse yakın bölümünün kanamalı olduğu rapor edilmiştir (Balta vd., 2016).

Hastalığın Teşhisi: *Y. ruckeri* 'nin teşhisi için etkenin izolasyonu gereklidir. Etkeni izole etmek için, tipik hastalık semptomları gösteren enfekte veya can çekişen balıkların böbrek, karaciğer ve dalağından farklı besi yerlerine ekim yapılmaktadır. Bu amaçla TSA, TSB, BHIA, BHIB ve SW agar kullanılmaktadır. Besi yerleri 20-25°C'de 24-48 saat soğutmalı etüvde inkübe edilmektedir. Besi yerlerindeki saf kültürlerinden etken kolaylıkla tanımlanabilmektedir. Hastalığın tanısında ELISA ve Latex Aglütinasyon Testleri de kullanılabilmektedir. *Y. ruckeri* ile enfekte olmuş gökkuşağı alabalığı dalağı ve böbrek organlarının histolojik görünümü Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. Deneysel olarak *Y. ruckeri* ile enfekte gökkuşağı alabalıkların böbrek ve dalaklarından yapılan histolojik kesit bölümleri. **A)** Dalakta multifokal nekroz odakları görülmektedir. **B)** Böbreklerde interstisyel dokunun dejenere olduğu ve melano makrofajlarda ise belirgin bir atış görüldüğü tespit edilmektedir (H & E).

Tedavi: Antibiyogram test sonucuna göre en etkin olan antibiyotik kullanılmaktadır. Oxytetracycline 75 mg/kg 10 gün; sulfadimetoksin ve ormethoprim 50 mg/kg 5 gün; sulphamerazin 200 mg/kg 5 gün; sulfadiazin ve trimethoprim 50 mg/kg 14 gün; enrofloksasin 10 mg/kg 7 gün, flumequin 30 mg/kg 10 gün, florfenikol 30 mg/kg 10 gün ve tiamulin 5 mg/kg 14 gün yeme karıştırılarak verilmektedir.

Koruma: En iyi yöntem *Y. ruckeri* 'ye karşı balıkların aşılamaştır. Aşı olarak bakterinin inaktive edilmiş kültürü kullanılmaktadır. Aşılamadan sonra 10. günde bağışıklıklığın oluştuğu bildirilmektedir. Aşılanmış balıklar kontamine bölgelere nakli yapılacaksa en erken 15 gün geçtikten sonra gönderilmelidir.

1.2.1.3. *Escherichia coli* (*E. coli*)

İnsanlarda görülen bir çok hastalığın oluşmasına neden olan bu bakteri, kişiden kişiye kolaylıkla geçebilir. Enterobacteriaceae familyasına ait bir bakteri türü olan *Escherichia coli* Pediatrist ve Mikrobiyolog Theodor Von Escherich (1857-1911) tarafından ilk kez izole edilip isimlendirilmiştir.

İnsanların ve hayvanların barsak sistemlerinde yaygın olarak bulunmaktadır. *E. coli* geniş getiren hayvanların sindirim sisteminde selülozun parçalanmasını sağlamaktadır. K vitaminin emilimine katkıda bulunmaktadır. Fakat tüm suşlar faydalı değildir. Özellikle 1982 yılında izole edilen *E. coli* O157:H7 suşu rotoksin adı verilen çok kuvvetli bir zehir salgılar için en tehlikeli olanıdır. Bu toksin insan böbrek, beyin ve barsaklarında bulunan hücrelerdeki reseptörlere bağlanarak bu hücreleri öldürmektedir. *E. coli* bakterisi üzerine yapılan bilimsel çalışmalarda yüzlerce serotipin varlığı ortaya konulmaktadır.

Genellikle sığırların mide-bağırsak sisteminde bulunan *E. coli* O157:H7 izolatu mutant bir bakteridir. Bu bakteri sığırların et olarak tüketilen kaslarında bulunmaz. Fakat kesim esnasında etin kirlenmesi veya kıyma çekimi esnasında et ürününe iyice karışabilmektedir. Genelde *E. coli* O157:H7 serotipi ile oluşan enfeksiyonların ağır ve kanlı bir ishal (bazen kansız ishal) şeklinde ve karında şiddetli kramplara neden olmaktadır. Yaşlılarda ve beş yaşından küçük çocuklarda alyuvarların hemolize edildiği ve böbreklere tutunduğunda böbrek dokularının iflas ettiği görülmektedir. *Escherichia coli* (*E. coli*) elektron mikroskobu görüntüsü Şekil 3’de gösterilmiştir.



Şekil 3. *Escherichia coli* (*E. coli*) elektron mikroskobu görünümü.

1.2.1.4. VİBRİOZİS

Vibriozis, vibrionaceae familyasında yer alan özellikle yetiştiriciliği yapılan deniz balıklarında önemli ekonomik kayıplara sebep olduğu bildirilmiştir. Yılan balıklarında görülen bir hastalık vakasından Canestrini tarafından 1893 yılında ilk kez izole edilmiş ve *Bakterium anguillarum* olarak tanımlanmıştır. Bergman tarafından 1907'de İsveç'te yılan balıklarında görülen bir salgından izole edilen patojen iki yıl sonra (1909) tanımlanmış ve *Vibrio anguillarum* olarak adlandırılmıştır. Bakterinin ribozomal RNA filogenetik verileri 1985 yılında McDonell ve Colwell tarafından incelenerek etkenin *Listonella* genusuna transfer edilmesine karar verildiği rapor edilmiştir (Austin ve Austin, 1987).

Yabani ve kültürü yapılan deniz, tatlı su balıkları ile diğer akuatik hayvanlarda septisemik tarzda seyreden hastalığın etkeni olan *Vibrio (Listonella) anguillarum* Gram negatif, virgül şeklinde, halofilik özellik gösteren bir bakteri türü olduğu bildirilmiştir. Vibriozis, tüm dünyada kültür balıkçılığı yapılan deniz ortamındaki işletmelerde ciddi ekonomik kayıplara sebep olan salgın bir hastalık olup Pasifik ve Atlantik salmonlarında, gökkuşağı alabalıklarında, kalkan, levrek, çipura, çizgili levrek, kod, Japon, Avrupa yılan balıklarında ve ayu balığında da dahil olduğu hem soğuk su hem de ılık su balık türlerinde görülmektedir. Ülkemizde kültür balıkçılığı yapılan işletmelerde özellikle levrek, çipura ve son yıllarda gökkuşağı alabalığı işletmelerinde de önemli ekonomik kayıplara yol açtığı rapor edilmektedir (Ekici vd., 2005; Balta, 2016b; Balta ve Dengiz Balta, 2016; Balta ve Dengiz Balta, 2017; Balta ve Yılmaz 2019). Vibriozis etkeni Gram negatif bir bakteri olup septisemiyle seyreden bakteriyel hastalıklar (yersiniozis, furunkulozis ve bakteriyel hemorajik septisemi) ile benzer semptomları gösterdiği bildirilmiştir (Kocabatmaz ve Ekingen, 1984). Klinik semptom gösteren vakalarda balıkların abdomonal ve vücudun yan bölgelerinde yaygın hemoraji, deride ülser ve deride melanin pigmentasyonunu sonucu kararma olduğu rapor edilmiştir (Woo ve Bruno, 1999).

Vibriozis vakalarında yaygın etkenler *Vibrio anguillarum*, *Vibrio ordalii*, *Vibrio salmonicida*, *Vibrio damsela*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus* türleridir. 13 vibrio türü balıklarda hastalık etmeni olarak bildirilmiştir.

1.2.1.4.1. *Vibrio anguillarum* enfeksiyonu

Akdeniz’de yılan balıklarından ilk izole edilen Gram negatif bir bakteri olup, 0,5x1,5 µ boyutlarında, hareketli ve O-129’a (vibriostatik ajan) duyarlı basil şeklindeki mikroorganizmadır. Hareketli (tek taraflı flagellum) olan bakteri obligatif olmayıp fırsatçı bir özellik gösterir. Sporsuz olan bakteri 18-20°C’lerde iyi üreme göstermektedir. Genel amaçlı besi yerlerinde gayet iyi gelişen ve pigment oluşumuna rastlanmamaktadır. Fakültatif anaerobik bir özellik göstermektedir. Hastalık etkeninin izolasyonu için böbrek, karaciğer ve dalaktan gibi organlardan %1,5 NaCl ilave edilmiş TSA, BHIA’a ve genel izolasyon vasatlarına ekim yapılarak etkeni üretmek mümkündür. Ayrıca, vibriolar için selektif bir besi yeri olan TCBS agara ekim yapılabilir. TCBS 15-25°C’de bir hafta inkübe edilmektedir. *V. anguillarum* primer izolasyonunda %1,5-2 tuz ilave edilmiş besi yerlerine ihtiyaç duymaktadır. İlk izolasyondan sonra ki tanımlama testleri %0,5 tuz içeren ortamlarda yapılabilir. Etkenin üremesi için tuza ihtiyaç varken tuzsuz ortamlarda da üreyebilmektedir. Çipura, levrek, birçok deniz balığından ve gökkuşaağı alabalığından etken izole edilmiştir (Balta, 2016b; Balta ve Dengiz Balta, 2016; Balta ve Dengiz Balta, 2017; Balta ve Yılmaz 2019). Hastalık su sıcaklığının yükseldiği yaz aylarında etkenin suda fazla üremesi, stres ve yaralanmaların meydana gelmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Etken anüs, deri ve solungaçlardan girebilmektedir. Aynı zamanda ıskarta balıkların veya balık atıkların pastörize edilmeden yem olarak yedirilmesi ile ağız yoluyla da vücuda alınmaktadır. *V. anguillarum*’un patojenitesinden PJM-1 plazmitinin sorumlu olduğu bildirilmiştir. Yaz aylarında su sıcaklığının arttığı dönemlerde deniz ortamında bakteri sayısı en yüksek miktara ulaşmaktadır. Etken balıkların barsaklarındaki normal mikroflorasında bulunmaktadır. Olumsuz çevre şartlarında ve balıklardaki stress durumlarında hastalık vakaları meydana gelmiştir. Denizde kültürü yapılan alabalıkların tatlı suya taşınması ile tatlı su kaynaklarında kontamine edildiği rapor edilmiştir (Balta ve Dengiz Balta 2016).

Klinik Semptomlar: Deride siyahlaşma, solungaç kapaklarında yaygın kanamalar, karın kaslarında yüzgeç kaidelerinde ve karın altında, bazen ağızda yaygın kızarıklık olabilmektedir. Bazen karında asites bağlı şişkinlik ve gözlerde eksoftalmus görülmektedir.

Otopsi Bulguları: Karın duvarında kanama, karaciğerin kanama odakları ve sararmış olduğu görülmektedir. Kör barsakların hiperimik, barsak ve rektumun gergin, içi açık renkli sıvı ile doludur. Dalak şiş ve gevşek olduğu görülmektedir.

Korunma ve Tedavi: Protozoan parazit hastalıkların tedavisinde kullanılan bakır sülfat banyoları deri ve solungaçlardaki mukuz üreten hücrelerin mukuz üretmez hale gelmesi vibriosis ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Balıkların bol oksijenli ortamlarda tutulması, gereksiz balık hareketinin azaltılması ve stres faktörlerin ortadan kaldırılması, hijyen kurallarına uyulması, deri ve solungaçlardaki parazitlerin giderilmesinde bakır sülfat kullanımından kaçınılmalıdır. Vibriozisten korunmada en iyi yöntem 15 gr'ın üzerindeki levrek ve gökkuşağı alabalıkların enjeksiyon yöntemi ile aşılmasıdır. Balıkların 1-4 gr ağırlığa ulaştığında daldırma yöntemi ile aşılabilen fakat bağışıklık kısa sürmektedir.

İzole edilen *V. anguillarum* izolatına antibiyogram testi yapıldıktan sonra ucuz ve etkili antibiyotik tercih edilmelidir. Test sonuçlarına göre oxytetrasiklin 75 mg/kg CA dozunda 10 gün, Enrofloksasin 10 mg/kg dozunda 10 gün, flumenquine 20 mg/kg CA dozunda 10 gün ve florfenikol 30 mg/kg dozunda 10 gün yeme ilave edilerek verilmektedir. Antibiyotiklerle birlikte aminoasit, vitamin ve iz element içeren premikslerin yeme katılarak balığa yedirilmesi bağışık sistemin desteklenmesine faydalı olmaktadır (Balta ve Yılmaz 2019).

1.2.1.4.2. *Vibrio salmonicida*

Hidra hastalığı etkeni olarak bilinen *V. salmonicida*, eskiden yemlerdeki selenyum ve vitamin E eksikliğinden kaynaklandığı sanılmaktaydı. Hastalıkta dış semptomlar; deri, solungaç ve periton boşluğunda noktavari kanama veya daha yaygın kanama odakları görülmektedir. Karaciğer sarımtırak ve kansız olduğu, hava kesesi, plorik kese ve karın içi yağlarda hemorajiler mevcuttur. Hastalığın kesin tanısı için bu semptomlar yeterli değildir. Etkenin üretilmesi gerekmektedir (Austin ve Austin, 1987; Balta, 2016a).

1.2.1.4.3. *Vibrio damsela*

Damsel fish balıklarındaki ülserli lezyonlardan hastalık etkeni ilk kez izole edilmiştir. Bu balıkların göğüs ve kuyruk yüzgeçleri etrafında 5-20 mm çapındaki deri

ülserler ile karakterize olan bir hastalıktır. Deri ülseri tipik olarak kas dokusunda maddi kayıp oluşmaktadır. Çipura balıklarında da hastalık görülmektedir. *V. damsela* insanlardaki ülserli yaralardan da izole edildiği için zoonos karakterde olan bir hastalık etkenidir (Austin ve Austin, 1987; Balta, 2016a).

1.2.1.4.4. *Vibrio cholerae* (Non-01)

Japonya'da 1997 yaz aylarında Amano nehrindeki hastalıklı doğal Ayu balıklarından etken ilk defa üretilmiştir. Hasta balıkların deri üzerinde noktavari kanamaların görülmüştür. İç organlarda kanamalı kızarıklık görülmüştür. Yapılan deneysel enfeksiyonlarda Ayu ve yılan balıklarında yüksek virülense sahip olduğu bildirilmiştir. Su sıcaklığı ölümler üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir. Su sıcaklığı 16°C'de ölüm görülmezken 21-26°C'de ulaştığında 2-7 gün içinde Ayu balıklarında ölümler başlamıştır. Yılan balıklarında %10 ölüm oranı 21°C'de 5 günde, %30'luk ölüm oranı 26°C'de 3-7 günde ulaştığı gözlenmiştir. İnsanlarda patojen olan *V. cholerae* biyotip "El tor"dan *V. cholerae* (Non-01) ornitin dekarboksilaz amino asiti ve mannoz şeker testinin negatif olması ile ayrılmaktadır (Austin ve Austin, 1987; Balta, 2016a).

1.2.1.4.2. 5. *Vibrio ordalli*

Hastalık etkeni *V. anguillarum* biyotip 2 olarak tanımlanmıştır. Etkenin *V. anguillarum*'dan farklı olduğu tespit edilmiştir. Hastalıklı balıklardan yapılan ekimlerde etkenin primer kolonilerin besi yerinde 4-6 günde oluştuğu rapor edilmiştir. Hastalıklı balıklardaki klinik bulguların *Vibrio anguillarum* ile aynı semptomları gösterdiği bildirilmiştir. Hastalığa karşı geliştirilen aşı *Vibrio anguillarum*'daki gibi uygulandığı rapor edilmiştir (Austin ve Austin, 1987; Balta, 2016a).

1.2.1.4.2. 6. *Vibrio vulnificus* biogroup-2

Japonya'da 1975-1977 yılları arasında, altı ayrı bölgeden kültürü yapılan yılan balıkları arasında ciddi hastalık salgınları meydana getirdiği bildirilmiştir. Tüm bu salgınlardan, aynı taksona ait olduğu anlaşılan bir grup bakteri izole edildiği rapor edilmiştir (Austin ve Austin, 1987). Nybelin'in (1935). Açıklamasına göre en yakın

komşunun *Vibrio anguillarum* tip B (*V. anguillarum* forma *anguillicida*) olarak isimlendirilmiştir. Fakat, bu grubun taksonomik anlamdan yetersiz olduğu ve sonuç olarak organizmaları tanımlamak için *Vibrio anguillicida* isminin yeniden isimlendirilmesi kararlaştırılmıştır. Tison vd., (1982), organizmaların aslında *V. Vulnificus*'a (laktoz fermente edici vibriozis) yaklaştıklarının farkına varılması ile yeni bir biyotip, yani biyogrup 2, usulüne uygun olarak oluşturuldu ve hastalık etkenini *Vibrio vulnificus* biogroup-2 olarak isimlendirilmiştir (Austin ve Austin, 1987). Şimdiye kadar hastalık Japonya ve İngiltere'de yılan balıklarıyla sınırlı görünmektedir.

Bu hastalık, vücut üzerinde özellikle yan ve/veya kuyrukta kızarıklıkla karakterize hemorajik bir durumdur. İleri durumlarda, patolojik değişiklikler solungaçlar, mide-barsak sistemi, kalp, karaciğer ve dalakta gözlenebilir. Hastalık klinik semptomlar yönünden klasik vibriozise oldukça benzemektedir.

1.2.1.5. Pseudomonas Enfeksiyonları

Pseudomonadaceae ailesine ait *Pseudomonas* 'lar hareketli, Gram negatif, sporsuz, kapsülsüz, kısa çomaklar şeklindeki bakterilerdir. Gıdaların soğuk hava depolarında bozulmasında önemli rol oynayan birkaç türü isteğe bağlı anaerob, genellikle aerobik, hareketli ve basil şeklinde olan bakterilerdir. *Pseudomonas* 'ların tür bazında sayıları çok fazla olduğundan besiyerinde pigment oluşturup oluşturmadıklarına, mikroskopik görünümüne ve metabolizmalarına göre tanımlanılmıştır. Doğal ortamda, toprak ve sulara *Pseudomonas* cinsi bakteriler çok yoğun olarak bulunmaktadır. *Pseudomonas* 'ların bazıları insanlarda, hayvanlarda ve bitkilerde hastalık yapmaktadır. *Pseudomonas* 'ların katalaz ve oksidaz testleri pozitif, şekerleri aerobik yolla parçalayabilen, fakat anaerobik ortamda kullanamayan bakterilerdir (Balta, 2016a).

1.2.1.5.1. Pseudomonas fluorescens

Pseudomonas fluorescens, bitkilerde, su yüzeylerinde ve toprakta yaşayan Gram-negatif çubuk şeklindeki Gram negatif bir bakteridir. Bitkilerdeki patojenlerin etkinliğini baskılamak, besin maddelerin emilmesine yardımcı olmanın yanı sıra çevresel kirleticilerin etkinliğini azaltmak bakımından oldukça faydalı bir bakteri türüdür. Bu bakterinin tür adı yeşil renkli “floresan” ve çözülebilir bir pigment olan “pyoverdin”

salgılayabilme yeteneğine göre isimlendirilmiştir. Yiyecek maddelerinin kontaminasyonundan sorumlu ve bitkileri hastalıklara karşı korumaktan sorumlu olan bu bakteri türü dünyadaki mikrobiyologlar için ortak ilgi alanı olmuştur. Üremesi için oksijene gereksinim duyduğu, *Pseudomonas fluorescens* zorunlu aerob bakteri grubu altında kategorize edilmiştir. Optimum büyüme sıcaklığı 25-30°C'dir (Balta, 2016a).

P. fluorescens; tatlı su ekosisteminde baskın olarak bulunan bir bakteridir. *P. fluorescens*'in balıklara farklı kaynaklardan kontaminasyon sonucu bulaştığı ya da ortamda oluşan stres sonucu fırsatçı patojen olarak yerleştiği (istilacı patojen) ve balık dokularında primer patojen etkenler gibi aynı ölçüde bozukluk yaptığı, fakat etkenin patojenitesinin düşük olduğu yapılan çalışmalar sonucunda ortaya konulmuştur. Bu bakteri türü birçok balık türünde hastalık etkeni olarak bildirilmiştir. Genellikle su kalitesindeki bozulma, balıkların yoğun stoklaması sonucu meydana gelen fiziksel hasar ve yaralanmalara ya da diğer stres faktörlerine bağlı olarak *P. fluorescens* infeksiyonları ortaya çıkmaktadır. Bu etkenin balıklarda "Bakteriyel Hemorajik Septisemi" hastalığına neden olduğu ve bu hastalığın *Aeromonas* septisemileri ile birlikte seyrettiği tespit edilmiştir (Austin ve Austin, 1987).

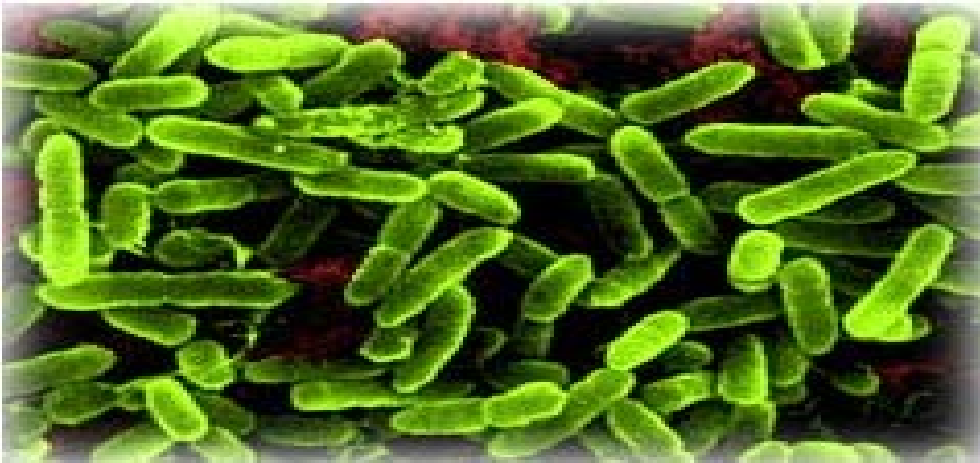
Bakteri, dünyadaki tatlı ve tuzlu suların hepsinde yaygın olarak bulunur. Etken infeksiyon oluştururken canlılara muhtemelen sulardan bulaşmaktadır. Bütün balık türleri bu etkene karşı duyarlıdır. Çevre koşulları ve stres faktörlerine bağlı olarak göl ve göletlerde yapılan kültür balıklarında infeksiyon sık sık görülür. Hastalığın kronik ve akut seyrettiği durumlarda klinik semptomlar ile deri ve iç organlarda lezyonlar genellikle görülür. Hemorajik ve septisemik bir klinik tablo görünüm mevcuttur. Teşhis için spesifik etkenin laboratuvar ortamında izole ve identifiye edilmesi gereklidir.

Hastalık genellikle su sıcaklığının düşük olduğu dönemlerde (10°C civarında) ortaya çıkar. 1982 yılında yapılan bir deneme çalışmasında infeksiyona yakalanan yavru balıkların 10 gün içerisinde hemen hemen %100'ünün öldüğü bildirilmiştir (Austin ve Austin, 1987). Hastalıkla ilgili ilk bilgileri bu araştırma sonucunda ortaya konulmuştur. Bu çalışmada populasyonun %30'unda deride hemoraji oluşumu gözlemlendiği bildirilmiştir. Bu balıklar 7 gün sonra laboratuvara götürülmüş ve izlemeye alınmıştır. Ölüm 14. günde başladığı ve 2 hafta sonra balıkların %90'ı öldüğü bildirilmiştir (Austin, ve Austin, 1993). Kışın su sıcaklığının sıfır dereceye yakın olduğu dönemlerde su ısısında oluşan inip-çıkma balıklar üzerinde stres yaratmaktadır. Sazan balıkları için bu streslerden sonra

kış boyunca bu hastalığın ortaya çıkma ihtimali bulunmaktadır. Bu durum bu balıklar için önemli bir risk oluşturmaktadır.

Gram negatif, oksidaz, ADH ve katalaz pozitif, oksidatif, çomak şeklinde bir basildir. Polar flagellası ile hareket eder. Etken olan bakteri 4°C’de ürerken, 42°C’de ise üremediği görülmüştür. Hastalık etkeni flouresan pigment oluşturma özelliğine sahiptir. Adenitol, H₂S, indol, ONPG, salisin, üre ve VP testi negatif olmasına karşın arabinoz, inositol, ksiloz, mannitol, sorbitol, sukroz ve trehaloz pozitifdir.

Balıklarda kuyruk ve yüzgeç çürümeleri ile karakterize olan ve yavru balıklarda % 90’a varan mortaliteye neden olabilmektedir. Makroskobik muayenede görülen hastalıkla ilgili esas belirtiler deri ve yüzgeçlerdeki hemorajilerdir. Periton boşluğunda asidik bir sıvı toplanır. Solungaç, karaciğer, böbrek ve ince bağırsakların lümeni ile submukozasında peteşiyal hemorajiler görülür. Balıklarda generalize ve tipik bakteriyel septisemi lezyonları mevcuttur. Bu etkenin Gökkuşaağı alabalıklarının solungaç ve yüzgeçlerinde de hemorajik ülserler oluşturduğu saptanmıştır. *P. fluorescens*, iç organlardan genel besi yerlerine yapılan ekimlerle saf olarak üretilmektedir. Fluorescens agar, Kanlı agar, TSA ve NA’a ekim yapılarak 22-28°C’de 24-28 saat inkübasyona bırakılmaktadır. Etken besi yeri yüzeyinde, diffusible (yayılabilen) kendine özgü karakteristik yeşil sarı bir pigment oluşturur (Austin ve Austin, 1987; Austin ve Austin, 1999). *Ps. fluorescens*’in mikroskobik genel görünümü Şekil 4’de verilmiştir.



Şekil 4. *Pseudomonas fluorescens*’in genel elektron mikroskobu görünümü.

Akuakültür ortamındaki stres şartları ortadan kaldırmak, suyun fiziksel ve kimyasal kalitesi düzeltilmek, balıkların direnci artırmak hastalıktan korunmada önemli bir yöntemdir. Tedavide amacıyla benzalkonyum klorür ile 1-2 mg/lt dozunda 1 saat banyo

uygulamasý, furanaz ile 0.5-1 mg/lt konsantrasyonunda 5-10 dakika banyo uygulamasý ile klinik belirtiler ortaya çýkmadan hastalık kontrol altına almak mümkün olabilir. Balýklara; kanamisin İ.P yolla 25 mg/kg dozunda, nalidiksik asit ve oksitetrasiklin 55 mg/kg dozunda yeme katýlarak verilebilir. Tedavide antibiyotik terapisinden faydalanýlmalıdır. Havuz veya kafes ortamlarındaki stok yoęunluęu düşürmek süratiyle fiziksel hasarın ortadan kaldırýlmasında oldukça etkili olduęu ileri sürülmektedir (Austin ve Austin, 1999).

1.3. Gökkuşadı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)

Taksonomik olarak Salmonidae ailesinde bulunan ekonomik olarak ticari öneme sahip bir tür olan gökkuşadı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), Avrupa’da yoğun miktarda tüketilmektedir (Çaklı vd., 2006). Gökkuşadı alabalıkları yüksek besin içeriğine ve hızlı büyüme kabiliyetine sahip olması nedeni ile bir çok ülkede yoğun bir şekilde yetiştiriciliği yapılan bir türdür (Gall ve Crandell, 1992; Mashaie, 2001; Gokoglu vd., 2004; Fallah vd., 2011). Büyük marketlerde taze, dondurulmuş ya da vakumlanmış fileto ürünleri paketleme koşulları altında piyasaya sunulduğu bildirilmektedir (Pyrgotou vd., 2010).

Gökkuşadı alabalığında zeytin yeşili renk vücutta baskın, kahverengi veya sarımtırak sırt kısımları, yan yüzey daha açık, karın ise beyaz renktedir. Lateral taraf boyunca 10-12 koyu leke bulunmaktadır. Bu lekeler siyah ve kahve renkli değişik ebatta, açık renkte bir hale ile etrafı çevrili veya çevrili olmadığı görülmektedir. Lekeler çoğunluğu vücudun üst ve ön tarafında dağılım göstermektedir. Dorsal yüzgecin etrafında sıralanmış siyah lekeler ve yüzgeç kaidesinde ise kırmızı lekelerin bulunduğu bildirilmektedir. Lateral derideki yanal çizgi üzerinde görülen tuğla kırmızısı lekelerin bulunduğu görülmektedir. Gökkuşadı alabalığı ortalama 50-70 cm uzunluğa ve 5-7 kg ortalama ağılığa büyümeaktadır. Bu balýkların 100 cm maksimum uzunluğa ve 26 kg maksimum ağırlığa (Şekil 5) kadar ulaşabilmektedir. Anadolu’da sadece Kuzey ve Kuzey-Doęu bölgesindeki akarsularla (Çıldır Gölü ve Çoruh nehri havzaları), Uludaę ve Karadeniz Bölgesi’ndeki akarsularda bulunmaktadır.



Şekil 5. Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)

1.4. Tanenler

Yüzyıllardan beri ham deriyi tabaklamak amacıyla kullanılan ve adını “taneng=tabaklama” kelimesinden alan tanenler, sahip olduğu dikkat çekici farklı özellikleri sayesinde ham deri sanayinde, gıda, ilaç ve tıp sahasındaki birçok bilimsel çalışmaya konu olduğu bildirilmiştir. Bilimsel kaynakların bazılarında tanenler yerine tannik asit ismi de kullanılmıştır. Kestane, meşe, meşe palamudu ve sumak gibi yüksek yapılı bitkilerde fazlaca bulunan tanenler, kimyasal yapıları bakımından epeyce değişkenlik göstermektedir. Tanenler 20.000 dalton (Da) molekül ağırlığına sahip suda kolayca çözünebilen polifenolik yapılı kimyasal bileşikler olduğu rapor edilmiştir. Tannik asit bitkilerin daha çok kabuk, yaprak, kök, meyve ve tohum kısımlarında bulunabilen açık sarıdan beyaza, parlaktan mata kadar değişebilen gevşek yapılı acı tatta bir bileşik olduğu bildirilmiştir (Chung vd., 1998a; 1998b; Khanbabaee ve van Ree, 2001).

Tannin kelimesi, Fransızca'daki tanin'den kökeninden geldiği ve çeşitli polifenoller için kullanıldığı rapor edilmiştir (Khanbabaee ve Van Ree, 2001). Tanenlerin kesin bir tanımının yapılması, kimyasal olarak çeşitli oldukları için zor olmasına rağmen, tanen kelimesi, hidroksil ve karboksil gibi diğer uygun grupları içeren ve etkili bir şekilde oluşturmak için yeterince yüksek molekül ağırlıklı (500-3000 Da) fenolik bir bileşik olarak tanımlanabilmektedir. Belirli çevresel koşullar altında protein ve diğer makromoleküllerle güçlü kompleksler oluşturabilmektedir.

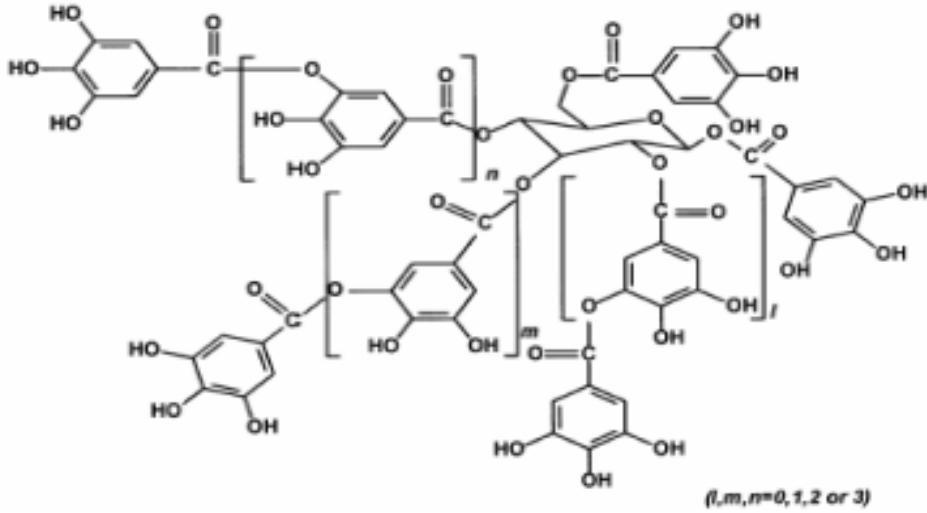
Yapılan araştırmalarda tohum kabuğunda, tohumda bulunandan 7-10 katın üzerinde tanen varlığı ortaya konulmuştur (Yalçın, 2013). Tanenler bulunduğu doku kısımlarına göre değişik görevleri olduğu rapor edilmiştir. Bitkinin tomurcuğunda bulunan tanenler bitkiyi kış aylarında donmaya, yaprak dokusunda bulunanlar ise acı lezzetleri sayesinde

böcekler, kuşlar ve otla beslenen hayvanlar tarafından bitkinin yenilmesini engellediği tespit edilmiştir. Tohumda bulunan tanenler bakteri gelişimini engellerek mikroorganizmalara karşı tohumu koruduğu ve böylece bitkinin sürekliliğini sağladığı bildirilmiştir (Aydın ve Üstün, 2007; Aktaş ve Akkan, 2011).

Farklı bitki türlerinden elde edilen tanenler, belirli fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir. Antimikrobiyal aktivitede tanen, gıda kaynaklı hastalıklar ve hayvan hastalıkları salgınları ile ilişkili farklı bakteri suşları üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. Taninlerin antibakteriyel etkilerinin, *A. hidrophilla*, *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Yersinia ruckeri*, ve *Vibrio anguillarum* dahil olmak üzere farklı zararlı bakterilere karşı bakteriyostatik ve bakterisit özellik gösterdiği bildirilmiştir (Chung vd., 1998; Banso ve Adeyemo, 2007).

Tanenler; bitkilerin farklı kısımlarında bulunan, 300-5000 dalton molekül ağırlığı sahip, azotsuz ve fenolik bileşikler olduğu bildirilmiştir (Kuloğlu, 2007; Akray, 2009; Yalçın, 2013). Tannik asitlerin kimyasal formülü Şekil 6'da verilmiştir. Hidrolize olabilen tanenler ve kondanse tanenler (=proantosiyanidinler) olmak üzere (Şekil 7) iki gruba ayrılmaktadır (Nyachoti vd., 1997; Yalçın, 2013). Proteinlere ile çok, polisakkaritlerle az miktarda ve metal iyonlarına bağlanarak kompleks yapı oluşturmaktadırlar (Aydın ve Üstün, 2007; Yalçın, 2013). Tanenler; başta baklagiller olmak üzere, akasya, meşe, keçiboynuzu, çay, nar ve üzüm gibi çeşitli bitkilerde bulunduğu bildirilmiştir (Özkal ve Dinç, 1993; Ağma Okur, 2010; Yalçın, 2013). Tanenler sağlık alanında çok eski zamanlardan beri; ateş düşürücü, romatizma önleyici, ishal kesici, kuvvet verici, sakinleştirici ve zehirlenme (bakır, kurşun ve alkaloid kaynaklı) olaylarında antidot olarak kullanıldığı rapor edilmiştir (Aydın ve Üstün, 2007). Bunlara ilaveten, bazı aromatik yağlarda bulunan proantosiyanidinlerin ise yangı önleyici (ödem azaltıcı), oksitlenmeyi engelleyen, alerjik giderici, mikrop öldürücü, kanser önleyici, eklem yangısı giderici, kalp rahatsızlıklarını ve cilt yaşlanmasını koruyucu özellikte olduğu rapor edilmiştir (Ağma Okur, 2010; Gönültaş ve Balaban Uçar, 2012).

Tanenlerin kullanım alanlarının günümüzde de epeyce yaygın olduğu bildirilmiştir. En yaygın olarak kullanılan deri ve boya sanayisinin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, şarap ve biranın berraklaştırılması aşamasında tannik asitlerden yararlanıldığıda rapor edilmektedir (Gnanamani vd., 2001; Aydın ve Üstün, 2007; Kuloğlu, 2007).



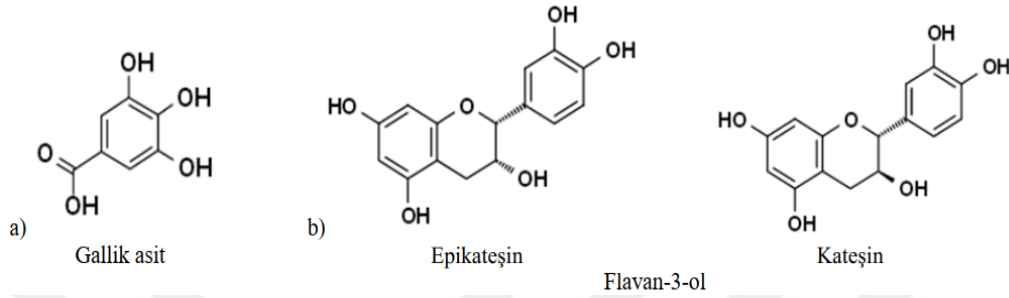
Şekil 6. Tannik asitin kimyasal yapısı (Nakamura, 2003).

1.4.1. Hidrolize Olabilen Tanenler

Hidrolize olan tanenler (HT); sıcak su, canlıların sindirim sistemindeki zayıf asitler, zayıf bazlar, mide-barsak sistemindeki esterazlar ile birlikte bakteri, maya ve mantarlar tarafından salgılanan enzimler tarafından kolayca parçalandıkları birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Aydın ve Üstün, 2007; Kuloğlu, 2007; Yalçın, 2013). Hidrolize olan tanenlerin toksik etkileri, kendileri ya da parçalanma ürünlerinin sindirim kanalı epitel hücreleri tarafından emilmeleri sonucunda olduğu rapor edilmiştir (Yalçın, 2013).

HT'ler, rumendeki mikroorganizmaları tarafından parçalanması sonucu gallik asit, pirogallol ve floroglusinol birbirini izleyen enzim aktiviteleri ile asetat ve bütirat meydana getirdiği rapor edilmiştir. Gallik asit tanenlerden 1,5 kat daha toksikken pirogallol ise tanenlerden 5 kat daha toksik olduğu rapor edilmiştir. Sindirim sisteminde oluşan bu maddelerin metabolitlerin emilerek fenollerin kanda yüksek seviyelere çıkması, karaciğerin bu bileşikleri parçalamada yetersiz kalması sonucu toksik etki ortaya çıktığı rapor edilmiştir. HT'lerin karaciğer, böbrek ve dalak gibi organlara zarar verdiği, mukoza hücreleri üzerine büzüştürücü etki yaparak salgıları azalttığı, fazla miktarda tüketildiğinde iştahı azalttığı, aşırı miktarlarda alındığında mide ve barsak yangısına neden oldukları rapor edilmiştir (Aydın ve Üstün, 2007; Üstün ve Aydın, 2007). Özellikle ilkbahar aylarında meşe (*Quercus* spp.) ağaçlarının yeni açan yapraklarının hayvanlar tarafından yenilmesi sonucu zehirlenmelerin vuku bulduğu bildirilmiştir (Vermeire ve Wester, 2001; USDA, 2014). Nisan 1985'de Kuzey Kaliforniya'da 2700 adet büyükbaş hayvanın meşe zehirlenmesinde ölmesi örnek olarak verilmiştir (Plumlee vd., 1998;

Forero vd., 2011). Vermeire ve Wester (2001), sığırların yemlerindeki meşe yaprağı miktarı %50'yi aştığı durumlarda hastalandığı, %75'i ulaştığında ise ölüm meydana geldiği bildirilmiştir. Kamalak (2007), kuru madde içeriği %20'den yüksek HT içeren rasyonlar ile beslenen ruminantların zehirlenme ve ölüm miktarını arttırmaktadır.



Şekil 7. a) Hidrolize olabilen tanenler, b) Kondanse tanenlerin molekül yapıları (Hagerman, 2002).

1.4.2. Kondanse Tanenler

Kondanse tanenler “Proantosiyanidinler” olarak bilinirler. Bu sınıfa ait tanenlerle, hidrolize olabilen tanenler arasındaki en önemli fark, şeker içeren bir kısma sahip olmamalarıdır (Albertse, 2002). Kondanse tanenler (KT), hidroliz yoluyla parçalanamayan dayanıklı flavonoid bileşikler (flavan-3-ol gibi) oligomer veya polimer olduğu rapor edilmiştir (Aydın ve Üstün, 2007). Kondanse tanenlerin rumen mikroorganizmalarına ait enzimler tarafından sindirilemedikleri bildirilmiştir (Yalçın, 2013). Bu yüzden, HT’lerde meydana gelen toksik etkinin benzer bir toksisiteye kondanse tanenlerin sahip olmadıkları bildirilmiştir (Kamalak, 2007). Kondanse ve hidrolize olabilen tanenlerin özelliklerini birleştiren bir ara tanen grubu daha olduğu ve “kateşin tanenler” olarak adlandırıldığı rapor edilmiştir (Graham, 1992).

Geleneksel olarak halk tarafından alternatif ilacı olarak kullanılan birçok bitkide tanenlerin varlığı bildirilmiştir (Achmadi ve Choong, 1992; Kedlaya, 1971; Haslam, 1989; Steiner, 1989). Çin’de geleneksel olarak uygulanan ilaç tedavilerinde tanenlerin temel teşkil ettiği rapor edilmiştir (Steiner, 1989). Çin ilaçlarının elde edildiği çoğu bitkinin ham droglarının (uyuşturucu) aktif maddeleri tanenlerce zengin olduğu rapor edilmiştir. Son günlerde Avrupa ve Kuzey Amerika’da da bitkilerden elde edilen ilaçlarla tedavinin arttığı bildirilmiştir. Modern eczacılık, tıbbi bitkiler ile tedaviyi ilgi alanına

aldığıda bildirmiştir (Haslam, 1989). Son dönemde, doğu kökenli ilaç bitkilerinden değişik tanenler izole edildiği ve izole edilen bu tanenlerin farmakolojik incelemelerine önem verildiği bildirilmiştir (Kedlaya, 1971; Ezaki vd., 1985). Taninlerin biyolojik ve farmakolojik özellikleri; enzimler ve mikroorganizmalara (bakteri ve virüsler) karşı etkileri detaylı bir şekilde incelenmiştir (Ezaki vd., 1985, Steiner, 1989; Ali vd., 1991;). *Limonium axillare* bitkisinden alkol ile ekstrakt edilerek elde edilen gallik asit ve gallotaninin Gram pozitif ve negatif bakterilere karşı karakteristik bir antimikrobiyel etki gösterdiği rapor edilmiştir (Ali vd., 1991). *Linderae umbellate* bitkisini dallarından elde edilen ham ekstraktının anti-sindirim ve anti-ülser aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır (Ezaki vd., 1985). Yanık tedavisinde %10'luk tannik asit çözeltisi haricen yanık bölgesine püskürtülerek kullanıldığı bildirilmiştir. Bu sayede yanık bölgenin dokusu bakteriyel enfeksiyonlara karşı korunduğu gibi yanık dokusundan su kaybının önlendiği de bildirilmiştir. Tannik asit merhem veya sprey şeklinde lokal olarak yaralarda, %15'lik tannik asitli gliserin formunda ağız ve boğaz iltihaplarına karşı gargara şeklinde uygulandığı bildirilmiştir. Ayrıca, hemoroit tedavisinde tannik asit suppozituarı şeklinde kullanıldığı rapor edilmiştir (Kedlaya, 1971; Ali vd., 1991). Glikoz çekirdeğinde bulunan 0-2 ve 0-3 pozisyonlarındaki galloil grupları ihtiva eden, ellagitanin monomeri bulunduran tellimgrandin taninleri güçlü bir şekilde antitümör aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir. Tanenler üzerine yapılan son çalışmalarda, gallik asit ve ellagik asit içerdikleri için anti-tümör aktiviteleri oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir. Gelecekte bitkilerden elde edilen tanenler veya monomerlerinden tıp sahasında yoğun uygulamaların olacağı ileri sürülmektedir (Kedlaya, 1971, Haslam, 1989; Steiner, 1989).

1.4.3. Tanenlerin Besleme Üzerine Etkileri

Yem bitkileri, çok fazla miktarda kondanse tanenler (KT) bulundurmakta ve bu yüzden KT, hayvanların beslenmesinde önemli olduğu bildirilmiştir (Aydın ve Üstün, 2007; Yalçın, 2013). Örnek olarak, baklagillerin çok fazla miktarda kondanse tanen bulundurduğu ve bu miktarın %0.15-18.70 oranları arasında değiştiği rapor edilmiştir (Yalçın, 2013). Yemlerdeki tanen miktarı, bitkinin yetiştiği mevsimden ve bölgeden etkilendiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, tanen sentezi bitkinin maruz kaldığı stresin de artırdığı bildirilmiştir (Kamalak, 2007). Ayrıca, bitkilerin çiçek ve tohum kabuğu koyu

renkte olanlarda çok daha fazla miktarda tanen bulundurdıkları rapor edilmiştir (Yalçın, 2013).

Hayvan beslemede tanenlerin gösterdiği etki; tanenin çeşidine, tanenin yoğunluğuna, hayvanın türüne, hayvanın fizyolojik özelliğine, hayvanın yaşına ve yemin karışımına bağlı olarak değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (İmİK ve Şeker, 1999; Kamalak, 2007; Yalçın, 2013). Evcil sığır ve koyunların mukoza salyalarında, prolince zengin proteinlerin olmadığı rapo edilmiştir. İnsan, fare, geyik ve ceylan gibi canlıların salyalarında prolince zengin proteinlerin bulunduğu ve rasyondaki tanenlere bağlı olarak meydana geldikleri bildirilmiştir. Bu yüzden, tanenlerin rasyondaki proteinler ile bileşik meydana getirmesinin engellendiği rapor edilmiştir (Kamalak vd., 2005).

1.4.3.1. Antiparaziter etki

Kondanse tanenler antiparaziter etkilerini sindirim kanalında bulunan parazitlerin larvalarının gelişimini direkt olarak engelledikleri, rumende (geviş getiren hayvanların ön midesi) proteinlere bağlanarak ve mikrobiyal parçalanmayı engelleyerek dolaylı olarak gösterdikleri rapor edilmiştir. Sonuç olarak, protein sindirimini artırarak aminoasitlerin oniki parmak bağırsağına geçişini sağladığı ve buradan emilerek konak hayvanın bağışıklık sistemini güçlendirdiği bildirilmiştir (Aydın ve Üstün, 2007).

1.4.3.2. Antioksidan etki

Tanenlerin yapısında bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan etkileri, özellikle redoks özellikli olmalarından ve iyi bir hidrojen vericisi olmalarından kaynaklanmakta olduğu bildirilmiştir. Bu bileşikler serbest radikal kabul edicisi gibi hareket ederek, oksidasyon işlemini daha başlangıç noktasında durdurduğu rapor edilmiştir (Mayes, 1993). Üzüm çekirdeği, çay ve sarı kantaron gibi bitkilerin ekstraktlarında bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan etki oluşturdıkları tespit edilmiştir (Aydın ve Üstün, 2007; Ağma Okur, 2010). Mutajenler tarafından meydana getirilen zararlı etkileri tanenlerin azalttığı rapor edilmiştir. Ayrıca, tanenlerin hücrelerde oluşabilecek DNA hasarlarına karşı önleyici bir özelliğe de sahip olabilecekleri bildirilmiştir (Aydın ve Üstün, 2007).

1.4.3.3. Antibakteriyel etki

Kondanse tanenlerin, protein ve karbonhidratlar ile birleşerek karmaşık yapılar meydana getirdikleri, mikrobiyal kökenli proteaz, selüloz vs gibi enzimlerin işlevlerini engellediği, mikroorganizmaların hücre membranları üzerinde toksik etkilerinin bulunduğu ve metal iyonları ile meydana getirdikleri karmaşık yapıları sayesinde toksisiteyi arttırdığı ve böylece mikroorganizmalar üzerindeki antibakteriyel etkilerini gösterdikleri rapor edilmiştir (Kaya ve Yalçın, 1999; Aydın ve Üstün, 2007). Tannik asitin, barsakta bulunan bakterilerin (*Bacteriodes fragilis*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* ve *Enterobacter cloacae* gb.) üremesini demir iyonları ile birleşerek karmaşık yapılar oluşturduğu ve demir iyonlarının bakteriler tarafından kullanılmasını engellediği ve böylece bakterilerin üremesi üzerine baskılayıcı bir etki meydana getirdiği bildirilmiştir (Aydın ve Üstün, 2007). Bununla birlikte, tanenlerin bakterilerin biyofilm oluşturma özelliğini engellediği rapor edilmiş ve *S. aureus* gibi biyofilm oluşturabilen bakterilere ve meydana getirdikleri hastalıklara karşı etkili olabileceği de ileri sürülmektedir (Aydın ve Üstün, 2007).

Özellikle meyvelerde bulunan tanenler hasat edilmeden önce meydana gelebilecek mikrobiyal enfeksiyonlara karşı doğal bir savunma mekanizması meydana getirdiği bildirilmiştir. Tanenlerin bazı virüsler, bakteriler, mayalar ve küfler üzerine oldukça yüksek seviyede antimikrobiyal etkilerinin bulunduğu rapor edilmiştir. Bu antimikrobiyal etki mikrobiyal enzimler veya bunların bileşikler tarafından tanenlerin değişik kompleksler oluşturarak solunumun durdurmasına ve hücre membranlarındaki elektron taşıma sistemlerinin zarar görmesine bağlı olarak ve aynı zamanda taninlerin metal iyonları ile şelat oluşturma özelliği nedeniyle esansiyel metalleri etkisiz hale getirmelerine bağlı olduğu bildirilmiştir (Scalbert, 1991).

1.4.3.4. Tanenlerin Kanserojen Aktiviteleri

Güneydoğu Asya ve Hindistan'ın doğu bölgelerinde “betel nut” ismi ile anılan ve %11-26 tanen içeren meyvenin sıklıkla akşam sofralarında tüketildiğinde keyif veren özellikleri sebebiyle tüketildiğinde yanak ve gırtlakta kanser meydana getirdiği rapor edilmiştir (Chung vd., 1998b).

Çay tüketimine bağlı olarak mide, akciğer ve böbrek gibi organlarda kanser oluşumu arasında pozitif bir ilişkinin varlığından bahsedildiği de rapor edilmiştir (Kinlen vd., 1988). Tanenlerin kanserojenik etkileri DNA'yı mutasyona uğratmalarından daha çok hücreleri tahrip etmelerine dayandırılmaktadırlar. Tanenlerin bildirilen kanserojenik etkileri tek başlarına değil aynı zamanda başka bazı kimyasal moleküller ile birlikte oluşturdukları da rapor edilmiştir (Chung vd., 1998a).

1.4.3.5. Antimutajenik ve Antikanserojenik Aktivite

Uzakdoğu ülkelerinde üretilen tanen içeriği yüksek olan yeşil çayın bol miktarda içilmesine bağlı olarak midede kanser oluşumuna neden olan tümör hücrelerinin oluşmasını engellediği bildirilmiştir (Kono vd., 1988). Deney hayvanlarında ellajik asit kullanılarak ile yapılan bir çalışmada bu maddenin kolon, gırtlak, karaciğer, akciğer, dil ve deri dokularında kanser oluşumlarını ciddi seviyede engellediği belirtilmiştir. Bu çalışmanın verileri doğrultusunda ellajik asidin kanser tedavisinde kullanılabilecek potansiyel bir kemoterapitik bir madde olabileceği rapor edilmiştir (Lee, 1992). Farklı mikroorganizmalar üzerinde yapılan birçok çalışmada tanenlerin önemli bir antimutajen ajan olduğu tespit edilmiştir. Tanenlerin antioksidatif özellikleri sayesinde antikanserojenik ve antimutajenik özelliğe sahip oldukları bildirilmiştir (Chung vd., 1998a; Chung vd., 1998b).

1.5. Ruminantlar (Geviş Getiren Hayvanlar)

Tanenlerin ruminantlar (geviş getiren, çift tırnaklı hayvanlar)'da olumlu veya olumsuz etkileri; tanenlerin yapısına, miktarına, rasyonun bileşimine ve hayvanın yem alma isteğine bağlı olarak değiştiği rapor edilmiştir (Yalçın, 2013). Mevsimsel olarak, özellikle bahar aylarında meraya otlatılan sığırlarda, gaz oluşumuna bağlı meydana gelen şişkinliklerin görülme durumu ile genellikle karşılaşıldığı bildirilmiştir. Şişkinliğin meydana gelmesinin nedeni, yeşil otlarda bulunan yüksek çözünürlükteki proteinlerden kaynaklandığı rapor edilmiştir (Üstün ve Aydın, 2007). Min vd. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, 5 g/kg kuru madde (KM) ya da çok fazla miktarda kondanse tanen bulunduran bitkiler ile beslendiği durumlarda, sığırların rumeninde oluşan gaz

üretimine bağlı meydana gelen köpük oluşumunu büyük ölçüde azalttığı ve şişkinliği önlediği tespit edilmiştir.

Geviş getiren hayvanların rasyonlarına tanen ilave edilmesi durumunda sera gazı oluşturan bakterilerin ürettiği metan gazını azalttığı ve yemlerdeki enerjiden yararlanmayı artırdığı rapor edilmiştir (Hassanat ve Benchaar, 2013; Meral ve Biricik, 2013). Yapılan bir çalışmada kuru maddesinde 820 g/kg kondanse tanen bulunduran akasya tanenlerinin 50, 100, 150, ve 200 g/kg farklı miktarlarda rasyona ilave edilmesi ile metan gazı üretiminin sırasıyla %12, %21, %32 ve %38 oranlarında azaldığı bildirilmiştir. Aynı araştırmada 755 g/kg KM'de hidrolize tanen yönünden zengin meşe palamudu tanenlerinin 50, 100, 150 ve 200 g/kg miktarında rasyona ilave edilmesi ile %9, %23, %31, %40 oranında metan gazı üretimini düşürdüğü tespit edilmiştir (Hassanat ve Benchaar, 2013).

Yeşil yemlerin besin içeriğini ve kalitesini koruma amaçlı yapılan silajların içinde tanen bulunmasının, siloda meydana gelen proteolitik enzimlerin etkilerini azaltabileceği düşünülmüş ve bununla ilgili çalışmalar yapıldığı bildirilmiştir (Lorenz vd., 2013). Özkan (2012) şeker pancarı posası silajı üzerine yaptığı bir araştırmada %6,04 kondanse tanen içeren galiçya ağacı meyvesi ilave edildiğinde proteoliz oluşumunda benzer şekilde azalma meydana geldiği bildirilmiştir.

Kondanse tanenlerin, pH'nın 3,5-7,5 aralığında değiştiği zaman proteinler ile kompleks oluşturdıkları bildirilmiştir. Bu yüzden proteinlerin rumendeki (pH 5,5-7,0) mikrobiyal sindirim oranını düşürdüğü bildirilmiştir. Böylece, rumendeki amonyak miktarında azalma olduğu ve by-pass protein miktarını artırdığı rapor edilmiştir. Abomasumda pH'nın 2,5-3,5 aralığında değiştiği durumlarda ise; tanen-protein bileşikleri birbirinden ayrıldığı tespit edilmiştir. Bu proteinlerin ince bağırsakta kolaylıkla sindirilmesine ve emilmesine imkan sağladığı ileri sürülmüştür. Ayrıca, tanenlerin abomasumda ayrılmasının, ince barsaktaki (pH 7,5-8,5) enzim ve proteinler üzerinde olumsuz etkiye neden olabileceği rapor edilmiştir (Silanikove vd., 1994).

Rasyonun kuru maddesinde %1-4 oranlarında kondanse tanen bulundurmasının, rumende protein yıkımını azalttığı, amonyak şekillenmeden azot ve esansiyel amino asitlerin rumenden abomasuma geçmesini ve emilmesini arttırdığı bildirilmiştir (Silanikove vd., 1994; Kaya ve Yalçın, 1999; Yalçın, 2013). Fakat, rasyonun kuru maddesinde kondanse tanen miktarının %5'in üstüne çıktığı durumda yem tüketim oranının, sindirilebilir besin madde miktarını ve yem değerlendirme oranını olumsuz

etkilendiği bildirilmiştir (İmik ve Şeker, 1999; Kaya ve Yalçın, 1999; Kamalak, 2007; Yalçın, 2013). Aktaş ve Akkan, (2011) yürüttükleri bir araştırmada benzer sonuçları tespit etmişler ve sığır rasyonuna %1, %2, %3, %4 oranlarında meşe palamudu taneni eklenmesinin, rumende amonyum oluşmasını önemli miktarda düşürdüğü ve ham proteinlerin rumende parçalanmasında ise bir azalma eğiliminde olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, koyunların rasyonunda %6; keçilerin rasyonunda ise %8-10 oranlarında tanen içeriğinin tolere edebildiği rapor edilmiştir (Narjisse vd., 1995; İmik ve Şeker, 1999).

Kuloğlu, (2007)'de yaptığı bir araştırmasında, rumen bakterileri üzerine %0,3 tannik asit içeren rasyonla beslenen hayvanlarda rumen enzim aktivitesi ve üremeyi durdurucu yönde etki ettiği rapor edilmiştir. Protein sindirimi üzerine olumlu etki gösterebileceği fakat lignoselülolitik maddelerin enzimler tarafından ayrıştırılmasının olumsuz yönde etkilenmesinin mümkün olduğu bildirilmiştir.

1.6. Monogastrik (Tek Mideli) Hayvanlar

Tanenlerin olumsuz etkilerinden, kanatlı hayvanlar ve diğer tek mideli hayvanlar geniş getirenlere oranla daha çok etkilendiği bildirilmiştir (Yalçın, 2013). Tek mideli hayvanların rasyonlarda tanen bulunması durumunda, protein sindirimini azaldığı ve buna bağlı olarak da yemden yararlanma oranının, yem tüketim miktarının, büyümenin ve verimin olumsuz bir şekilde etkilendiği rapor edilmiştir (Nyachoti vd. 1997; Kaya ve Yalçın, 1999; Yalçın, 2013). Yüksek miktarda tanen bulunduran yemlerin tadının acılaşmasına bağlı olarak, kanatlıların bu yemleri yemekten kaçındıkları rapor edilmiştir (Açıkgöz ve Özkan, 2002).

Tanenlerin, besin maddelerinin faydalılığı üzerindeki olumsuz etkisinin ana sebeplerinden birinin, pankreatik enzimler olan tripsin ve amilaz aktivitesinde meydana gelen azalma olduğu bildirilmiştir (Sılanikove vd., 1994). Bununla birlikte tanenler; demir ve kalsiyum başta olmak üzere mineral iyonlarla ve B12 vitamini ile birleşerek kompleks yapılı bileşikler (şelat) oluşturarak, bunların emilimini de azalttığı bildirilmiştir (Kaya ve Yavuz, 1993; Yalçın, 2013). Bu problem, kanatlı yemlerine protein, demir ve kalsiyum gibi maddelerinin yüksek miktarlarda katılması ile çözülebileceği rapor edilmiştir (Kaya ve Yavuz, 1993; Açıkgöz ve Özkan, 2002).

Tanenler sindirim sistemine yemlerle alındığında özefagus dokusu epitel hücrelerini tahriş ettiği, mide duvarında kalınlaşmaya sebep olduğu, mide ve duodenum mukoza hücrelerinde nekrozlaşmaya, temas ettiği epitel hücrelerin altındaki mukozada ise doku kaybına neden olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, rasyonlarında tanen bulunan yemlerle beslenen hayvanların sindirim sisteminde emilim yeteneğinin azalacağı ve performansın olumsuz yönde etkileneceği araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Nyachoti vd. 1997; Açıkgöz ve Özcan, 2002).

Tannik asitin etçil piliçlerin rasyonlarında %0,5 oranında bulunması büyümede gerilemeye, daha yüksek miktarlarda tanen içeriğinin rasyonda bulunması durumunda ise eklemlerde şişkinler, bacak kemiklerinin gelişiminde anormalliklerin (dışa doğru eğilme) ve piliçlerin ayakta duramaması gibi zorlukların ortaya çıkmasına neden olduğu tespit edilmiştir. Rasyondaki tannik asit seviyesi %1'den fazla olan yumurta tavuklarının yumurta kalitesi ve veriminin düştüğü, yumurta sarısının yeşil renkli talep edilmeyen bir şekilde görüldüğü rapor edilmiştir (Nyachoti vd., 1997; Yalçın, 2013).

1.7. Tanenlerin Olumsuz Etkilerini Gidermek İçin Uygulanabilecek Yöntemler

Hayvanları beslemek için hazırlanan rasyonda bulunan tanenlerin besleme değeri üzerindeki olumsuz etkilerini minimize etmek için birçok yöntem baş vurulmaktadır. Bu farklı yöntemlerin başında kurutma, depolama, alkalilerle işleme tabi tutma, funguslarla fermentasyona bırakma ve Polyethylene glycol (PEG) ile işleme maruz bırakma şeklinde kullanıldığı bildirilmiştir. Bu yöntemlerden en az birinin kullanılması ile yemlerdeki kondanse tanen bileşikleri değişik miktarlarda azaltılabileceği rapor edilmiştir (Silanikove vd., 1994; Kamalak, 2007).

1.7.1. Kurutma ve Depolama

Kurutma ve depolama, en çok tercih edilen pratik yöntemlerden biri olduğu bildirilmiştir. Bu işlemler sayesinde kondanse tanen bileşiklerinin azaldığı ve yemlerdeki besleme değerleri yeterli seviyesinde olmadığı fakat besleme değerlerini artırdığı bildirilmiştir (Kamalak, 2007). Bununla birlikte yaprakların parçalanıp, 5-10 gün depolandıktan sonra hayvanlara yedirilmesinin, çiftçinin kolayca uygulayabileceği ve

etkili bir şekilde sonuç elde edebileceği düşünülen bir yöntem olduğu tespit edilmiştir (Makkar, 2003).

1.7.2. Alkalilerle Muamele

Yemlerdeki kondanse tanen bileşikleri CaOH, NaOH ve üre gibi alkaliler ile işleme tabi tutulması sonucunda %90'lara seviyesinde azaldığı rapor edilmiştir. Odun külüne maruz bırakılan yemlerdeki kondanse tanen bileşikleri %60'lar seviyesine düştüğü ve proteinlerin sindirilme oranının ise %55 oranında arttığı tespit edilmiştir (Kamalak, 2007). Başka bir araştırmada tanenli yemlerin %10 meşe ve %10 çam odunu külüne maruz bırakıldığında kondanse tanen birleşikleri sırasıyla %80 ve %85 oranında azaldığı rapor edilmiştir (Makkar, 2003).

1.7.3. Polyethylene Glycol (PEG) ile Muamele

Bitkisel yemlerdeki tanenler, proteinler yerine PEG ile karmaşık yapılu kalıcı bileşikler oluşturabilme eğiliminde oldukları bildirilmiştir. Bu sayede protein ve kuru madde sindirebilme oranlarını artırabildiği rapor edilmiştir (Silanikove vd., 1994; Makkar, 2003; Kamalak, 2007). Kamalak vd. (2005)'nin yaptığı bir çalışmada, tanen içeren *Arbutus andrachne*, *Pistia lentiscus* ve *Juniperus communis* türü ağaçlardan sağlanan yapraklara 1 mg PEG katıldığında organik madde sindirilebilirliği 0,13 ve metabolik enerji elde etme değerleri ise 0,02 birim arttırdığı tespit edilmiştir.

Bu tez çalışması “Bazı Bakteriyel Balık Patojenlerine Karşı Tannik Asitin Antibakteriyel Aktivitesi” üzerine olup, hastalıklı balıklardan izole edilen bakteriyel balık patojenlerinin tedavisinde antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların bitkisel kökenli tannik asitle tedavi edilebilirliği hedeflenmiştir. Böylece, antibiyotiklerin sucul ortamda kimyasal kirleticiliğini önlemek, organik balık yetiştiriciliğinde antibiyotiklerin yerine tannik asitin kullanılabilirliğini tespit etmek, antibiyotik dirençli bakterilerin oluşumunun engellenmesini sağlamak ve balık etinde oluşabilecek rezidü problemlerin ortadan kaldırmak için tannik asitin bakteriyel balık patojenleri üzerindeki etkinliğini Mueller Hinton Agarda disk difüzyon yöntemi ve Minimal İnhibe-edici Konsantrasyon (MİK) testi ile antimikrobiyel aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

2.1.1. Silvefeed TSP (Tannik Asit)

Bu çalışmada Silvefeed TSP Profeed Gıda ve Kim. Mad. San. Tic. Ltd. Şti. şirketinden ücretsiz olarak sağlanmıştır. Silvefeed TSP, bitkilerden doğal ekstraksiyon işlemleri kullanılarak elde edilen suda çözünür toz şeklindeki bir üründür. Yapısında bol miktarda polifenoller (Minimum %75 (ISO 14088)) içermekte olup tanenler açısından oldukça zengin olan bitkisel bir üründür. Bu ürünün antimikrobiyel etkinliğinin belirlenmesi için silvefeed hassas terazide (0,0001g) 0,1 gr ve 0,2 gr tartılarak 100 ml saf suda ayrı ayrı çözündürüldü. Çalışmada Silvefeed etkinliğini belirlemek için 10 katlı dilüsyonlar hazırlandı. Hazırlanan bu dilüsyonlar ile ön çalışma yapılarak bakteri yoğunlukları ve etkili inhibisyon zon çapları *E. coli* (ATCC 25922) standart suş kullanılarak belirlendi. Silvefeed TSP (Tannik asit)'nin toz şekli Şekil 8'de verilmiştir. Silvefeed TSP (Tannik Asit)'in hassas terazide 0,1 gr tartılıp 100 ml saf sudaki çözündürülmüş solüsyonu Şekil 9'da verilmiştir.



Şekil 8. Silvefeed TSP (Tannik Asit) toz şekli.

- 100 ml → Saf su → 0,1 g (100 mg= 100000 µg) stok solüsyon
100 ml → Saf su → 0,2 g (200 mg= 200000 µg) stok solüsyon
Bu stok solüsyonları 10 katlı dilüsyonlar ile seyreltildi.
1 ml stok solüsyonunda → 1000 µg
1 ml stok solüsyonunda → 2000 µg
1 ml stok solüsyonunda + 1 ml saf su → 500 µg
1 ml stok solüsyon + 9 ml saf su → 1 ml'de → 10 mg (10000 µg)
1 ml stok solüsyon + 9 ml Saf su → 1 ml'de → 20mg (20000 µg)
1 ml + 9 ml saf su → 10 ml (10 mg) 1 ml'de → 1 mg (1000 µg)
1 ml + 9 ml Saf su → 10 ml (20 mg) 1 ml'de → 2mg (2000 µg)
1 ml + 9 ml saf su → 10 ml (1 mg) 1 ml'de → 0,1 mg (100 µg)
1 ml + 9 ml Saf su → 10 ml (2 mg) 1 ml'de → 0,2 mg (200 µg)
1 ml + 1 ml saf su → 2 ml (1 mg) 1 ml'de → 0,05 mg (50 µg)



Şekil 9. Tannik asit 0,1 gr'lık 100 ml saf sudaki stok solüsyonu.

2.1.2. Teste Kullanılan Mikroorganizmalar

Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki gökkuşağı alabalığı çiftliklerinden balık patojeni olarak izole edilen ve tanımlanan bakteriler kullanıldı. Bölgede en fazla görülen bakteriyel balık patojenleri ve daha önceki çalışmalarda tanımlanmış ve -80°C'de %1,5

gliserol içeren besiyerinde stoklanmış olan *A. hydrophila*, *Ps. fluorescens*, P-73, *V. anguillarum*, V976 ve *Y. ruckeri* izolatlar kullanıldı. Ön çalışmalarda Silvefeed etkin inhibisyon zon çaplarını belirlemek için *E. coli* (ATCC 25922) standart izolatu kullanıldı.

2.1.3. Teste Kullanılacak Besi Yerleri

Silvefeed TSP'nin antimikrobiyal aktivesini belirlenmek için Disk difüzyon yönteminde kullanılmak üzere Mueller Hinton Agar (MHA - Merck) ve Minimal İnhibe edici- Konsantrasyonu belirlemek (MİK) için Mueller Hinton Broth (MHB - Merck) ticari firmadan satın alındı.

2.1.4. Teste Kullanılacak Kimyasallar

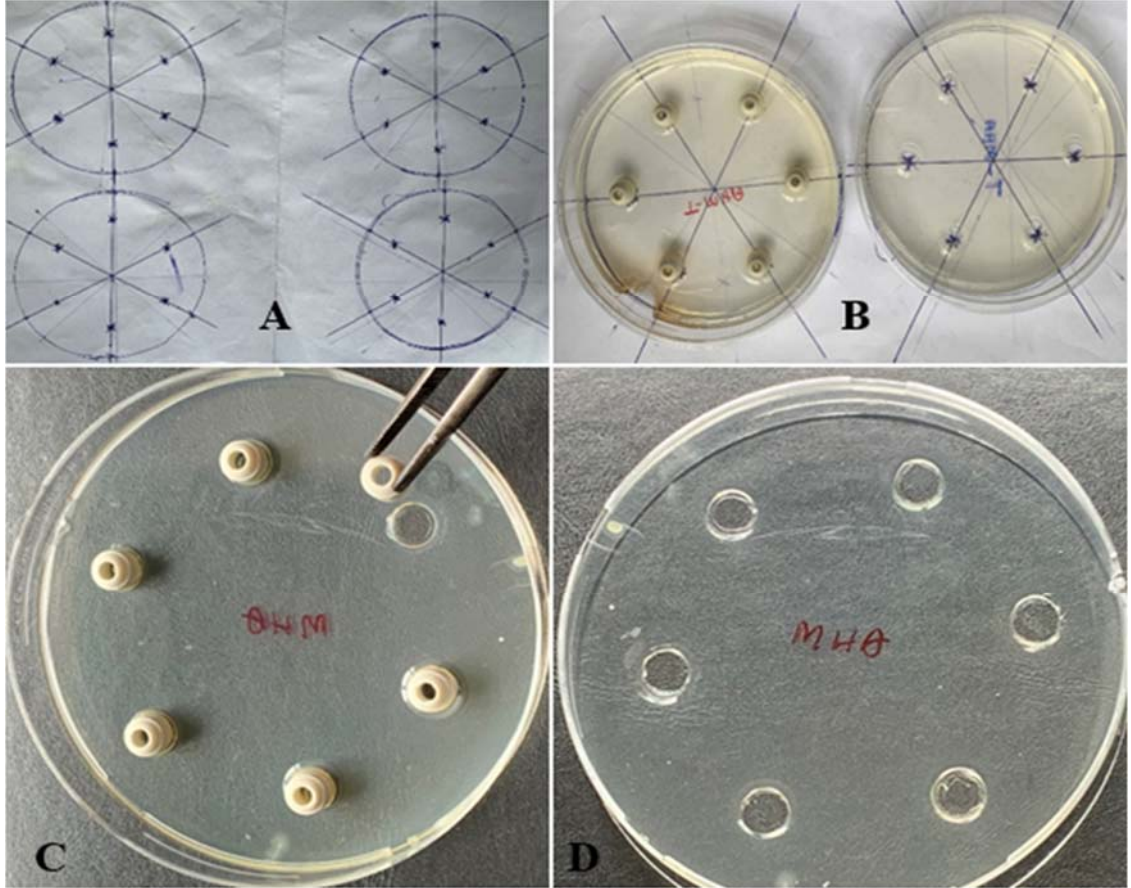
Çalışmada kullanılacak kimyasalların (tannik asit, doksitetrasiklin ve florfenikol) stok çözeltisi hazırlanırken 100'er ml %2'lik HCl (Merck) içeren methanol solüsyonu kullanıldı. Tannik asit, doksitetrasiklin ve florfenikol hassas terazide (0,0001 hassasiyette) tartıldı. Tannik asit 0,2 gr ve florfenikol 0,1 gr olarak tartıldı. Balon jojede (100 ml) %2'lik 0,1M HCl içeren methanol çözeltisinde çözündürüldü. İçine bir bar atılarak manyetik karıştırıcı yardımı ile homojen hale getirildi. Hazırlanan stok solüsyonları steril 0,45 µm'lik enjektör takılabilir membran flitreler (Merck-Millipore) ile steril edildi. Bu kimyasalların her birinden steril 20 ml şişelere 5'er ml olarak bölündü ve -20°C'deki derin dondurucuda stoklandı. Çalışma yapıldığı esnada -20°C'deki derin dondurucudan çıkartılan bu kimyasallar çözündürüldü ve hemen dilüsyonlar hazırlanarak tez çalışmasında kullanıldı. Antibiyogram testinde kullanılan antibiyotik diskleri (Bioanalyse) ticari firmadan satın alındı.

2.2. Metot

2.2.1 Besiyerinin Hazırlanması

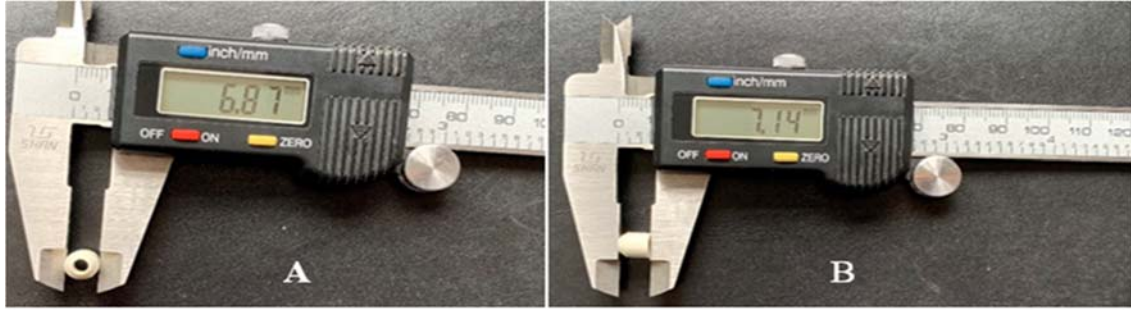
Bu araştırmada Silvefeed TSP'nin antimikrobiyal aktivesini belirlenmek için Arret ve arkadaşlarının 1971'de kullandığı metot modifiye edilerek kullanıldı (Balta ve Çağırğan, 2007). Bu amaçla Antibiyotik Medium No: 2 yerine Müller Hinton Agar

(MHA) kullanıldı. Test edilecek *E. coli*, *A. hydrophila*, *Ps. fluorescens* ve *Y. ruckeri* mikroganizmaları için normal MHA ve *V. anguillarum* için ise tuzlu MHA hazırlandı. Hazırlanan MHA'da eşit aralıklarla yerleştirilecek olan porselen boncuklar otoklavda steril edildi. MHA'a eşit aralıklarda porselen boncukları yerleştirebilmek için A4 kâğıdı üzerine 4 adet petri kutusu yerleştirilerek dört daire çizildi (Şekil 10).



Şekil 10. MHA besiyeri hazırlanması, **A)** A4 kağıt üzerine hazırlanan şablon **B)** Steril petri kutusuna porselen boncuk yerleştirme ve besiyerinin dökülmesi **C)** MHA'dan porselen boncukların steril pens yardımı ile çıkarılması, **D)** MHA'da kuyucukların görünümü.

Daha sonra cetvel ve dijital kumpas yardımı ile eşit aralıklarda porselen boncukların yerleştirileceği 6 yer belirlenip işaretlenerek bir şablon hazırlandı. Steril petri kutuları şablon üzerine yerleştirildikten sonra steril bir pens yardımı ile 6,78 mm çapında ve 7,14 mm yüksekliğinde ölçülen (Şekil 11) porselen boncuklar şablon üzerinde eşit uzaklıkta işaretli noktalara denk gelecek şekilde yerleştirildi.



Şekil 11. Dijital kupa ile porselen boncukların çap ve boyunun ölçülmesi.

Otoklavda steril edilmiş normal ve tuzlu MHA'dan 10'ar ml olacak şekilde porselen boncuk yerleştirilmiş petri kutularına döküldü (Şekil 10). Petri kutuları donduktan sonra +4°C'de buzdolabında bir gece tutuldu. Sabahleyin steril bir pens yardımı ile porselen boncuklar besi yerindeki yerlerinden çıkartılarak kuyucukların oluşması sağlandı. Hazırlanan kuyucuklu MHA'lar +4°C'deki buzdolabında kullanılabilecek kadar en fazla 10 gün süreyle tutuldu. Çalışmada kullanılacak olan mikroorganizmalar derin dondurucudan çıkartıldı. Bu mikroorganizmalardan *E. coli*, *A. hydrophila*, *Ps. fluoresens* ve *Y. ruckeri* için N-TSA'ya, *V. anguillarum* ise T-TSA'ya ekildi ve 20°C'de soğutmalı etüvde 24-48 saat üremesi için bekletildi. Saf olarak üreyen bakterilerin 16 saatlik kültürlerinden cam tüpteki 1,5 ml'lik fizyolojik tuzlu suda (%0,85 NaCl) McFarland 0,5 bulanıklığına ayarlandı. Buzdolabında stoklanmış kuyucuklu normal ve tuzlu MHA çıkartılıp 36°C'deki etüvde nemi alınarak 30 dakika kurutuldu. Nemi alınmış besi yeri üzerine McFarland 0,5 bulanıklığına ayarlanmış 1,5 ml süspansiyon döküldü ve bilek hareketi ile besiyerinin her yerine 30 saniyelik bir süre ile yayıldı ve süspansiyonun fazlası bir kapta toplanarak daha sonra otoklavda steril edildi. Daha önceden hazırlanan stok tannik asit solüsyonundan hazırlanan 10 katlı dilüsyonlarının her birinden 50 µl mikropipet yardımı ile 3'er paralel olmak üzere kuyucuklara ilave edildi. Farklı konsantrasyonlarda tannik asit ilave edilmiş MHA'lar 25°C'de 18 saat inkübasyona bırakıldı. Her bir kuyucuğun etrafında bakterinin üremediği zon çapları dijital kumpas yardımı ile ölçüldü ve ortalamaları alınarak kaydedildi. Antimikrobiyal duyarlılık test sonuçları dirençli, orta hassas ve hassas olarak değerlendirilmek için Tablo 2'de verilen verilerden yararlanılmıştır (CLSI, 2013; CLSI, 2014). Bu çalışmada kullanılacak olan mikroorganizmaların antimikrobiyel aktivitesini belirlemek için Bauer-Kirby (1959-1960) yöntemi kullanılarak disk difüzyon testi uygulanmıştır. Ticari firmadan satın alınan standart antibiyotik diskleri yardımıyla her bir bakteri izolatu için ayrı ayrı antibiyogram testleri yapılmış ve ölçülen zon çapları Tablo 3'de verilmiştir. Bu tez çalışmasında

kullanılan tannik asitin aktivitesini belirlemek için ölçülen zon çaplarına ait ortalama değerler Tablo 4’de verilmiştir.

2.2.2. Tannik Asitin Minimal İnhibe Edici Konsantrasyonu (MİK) Belirlemesi

Bu tez çalışmasında tannik asitin minimal inhibe edici konsantrasyonu belirlemek (MİK) için Mueller Hinton Broth (MHB-Merck) kullanıldı. MHB prosedüre uygun bir şekilde hazırlandı. Besiyeri 2ml tüplere yerleştirildi ve otoklavda steril edildi. MİK belirlemek için hassas terazide tartılan 0,1 gr florfenikol, doksitetrasiklin ve 0,1- 0,3 gr tannik asit %2’lik 0,1 N HCl 100 ml methanol iki farklı balon jodede çözündürüldü. Manyetik karıştırıcı yardımı ile homojen hale getirilen çözelti enjektöre (5 ml) takılabilen steril 0,45 µm’lik membran flitreden (Merck-Millipore) geçirilerek steril edildi. Aynı şekilde florfenikol ve doksitetrasiklin solüsyonları hazırlandı. Çözündürülüp steril edilen tannik asit solüsyonları steril 20 ml’lik şişelere bölündü.

100 ml → 0,1 M HCl → 0,1 gr Florfenikol ve Doksitetrasiklin tartılıp ilave edildi.

100 ml → 100 mg ve 100 ml → 200 mg stok solüsyon hazırlandı.

1 ml → 1 mg → 1000 µg

1 ml = 1000 µl → 1000 µg

1 ml + 9 ml su → 1 ml (1000 µg) 10 misli difüzyon → 1 ml → 100 µg

- | | |
|---|--------------------------------------|
| 1. Tüp: 2 ml (100 µg TA) | 100 µg FFC ve DO |
| 2. 2 ml (100 µg TA) + 2 ml MHB | 50 µg FFC ve DO (iki katlı dilüsyon) |
| 3. 2 ml (50 µg TA) + 2 ml MHB | 25 µg FFC ve DO |
| 4. 2 ml (25 µg TA) + 2 ml MHB | 12,5 µg FFC ve DO |
| 5. 2 ml (12,5 µg TA) + 2 ml MHB | 6,25 µg FFC ve DO |
| 6. 2 ml (6,25 µg TA) + 2 ml MHB | 3,125 µg FFC ve DO |
| 7. 2 ml (3,125 µg TA) + 2 ml MHB | 078 µg FFC ve DO |
| 8. 2 ml (0,78 µg TA) + 2 ml MHB | 0,39 µg FFC ve DO |
| 9. 2 ml MHB + 2 ml %2’lik HCl içeren methanol | Kontrol (0 µg FFC ve DO). |

Tannik asit (TA) 0,3 gr'lık stok solüsyondan biri kontrol olmak üzere 10 adet tüpde gerekli dilüsyonlar aşağıdaki gibi hazırlandı.

100 ml → 300 mg → 1 ml → 3 mg TA

1 ml → 1000 µl → 3000 µg iki katlı solüsyonlar hazırlandı.

1. Tüp: 2 ml (3000 µg TA)
2. Tüp: 2ml ana stok solüsyon (3000 µg TA) + 2ml MHB (1500 µg TA)
3. Tüp: 2ml ana stok solüsyon (1500 µg TA) + 2ml MHB (750 µg TA)
4. Tüp: 2ml ana stok solüsyon (750 µg TA) + 2ml MHB (375 µg TA)
5. Tüp: 2ml ana stok solüsyon (375 µg TA) + 2ml MHB (187,5 µg TA)
6. Tüp: 2ml ana stok solüsyon (187,5 µg TA) + 2ml MHB (93,75 µg TA)
7. Tüp: 2ml ana stok solüsyon (93,75 µg TA) + 2ml MHB (46,875 µg TA)
8. Tüp: 2ml ana stok solüsyon (46,875 µg TA) + 2ml MHB (23,44 µg TA)
9. Tüp: 2ml ana stok solüsyon (23,44 µg TA) + 2ml MHB (11,75 µg TA)
10. Tüp: 2ml MHB + 2 ml %2'lik HCl içeren metanol Kontrol (0 µg TA)

Çalışmada kullanılacak bakteriler TSB'de (*E. coli*, *A. hydrophila*, *Ps. fluoresens* ve *Y. ruckeri*) ve %1,5 tuz ilave edilmiş TSB'de (*V. anguillarum*) 25°C'de 18 saat üretilen kültürden kontrol grubu hariç her bir tüpe 10 µl (10⁶ cfu/ml) eklendi. Tüpler 25°C'deki soğutmalı etüvde 24 saat inkübe edildi. Her bir örnek iki paralel olarak çalışıldı. MİK testinin sonuç değerleri bakterilerin üremediği tüpdeki kimyasal maddenin en düşük konsantrasyon değeri olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Bu tez çalışmasında tannik asitin farklı konsantrasyonlardaki dilüsyonlarının antimikrobiyel aktivitesi beş farklı mikroorganizmaya karşı Mueller Hinton Agarda açılan kuyucukların etrafında oluşan zon çaplarının dijital kumpas yardımı ile ölçülmesi ile gerçekleştirilmiştir. Sekiz farklı antibiyotiğe disk difüzyon testi kullanılarak yapılan antimikrobiyel hassasiyet testi sonuç ölçülen zon çaplarına ait değerlerin Tablo 2’de verilen zon çapları ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Mueller Hinton Agarda disk difüzyon testi ile bu bakterilerin sekiz farklı antibiyotiğe karşı oluşturduğu antimikrobiyel aktiviteleri belirlenmiş ve dijital kumpas yardımı ile ölçülen zon çapları Tablo 3’de verilmiştir. Dijital kumpas yardımı ile ölçülen zon çaplarına ait veriler Tablo 4’de sunulmuştur. Çalışmada kullanılan bakterilerden *Ps. fluoresens* türü gentamisin ve doksitetrasiklin hariç hepsine dirençli olduğu, diğer bakteri türlerin (*A. hydrophila*, *E. coli*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri*) ise ampisilin hariç diğer antibiyotiklere karşı hassas olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 2. Antibiyogram testinin değerlendirilmesinde kullanılan referans sınır değerleri.

Antimikrobiyel ajanlar ve disk konsantrasyonları (5 µg)	Ölçülen inhibisyon zon çapı (mm)			
	D	OH	H	Literatür
Ampisilin (AM-10)	≤ 13	14-16	≥ 17	CLSI, 2014
Gentamicin (CN-10)	≤12	13-14	≥ 15	CLSI, 2014
Doksitetrasiklin (DO-30)	≤ 10	11-13	≥ 14	CLSI, 2013
Enrofloksasin (ENR-5)	≤ 16	17-20	≥ 21	CLSI, 2014
Florfenikol (FFC-30)	≤ 14	15-18	≥ 19	CLSI, 2014
Oksitetrasiklin (T-30)	≤ 14	15-18	≥ 19	CLSI, 2014
Sulfamethoksazol (SMZ-100)	≤ 12	13-16	≥ 17	CLSI, 2014
Trimethoprim+Sulfamethaksazol (SXT-25)	≤ 10	11-15	≥ 16	CLSI, 2014

AM: Ampisilin, CN: Gentamicin, DO: Doksitetrasiklin, ENR: Enrofloksasin, FFC: Florfenikol, T: Oksitetrasiklin, SXT: Trimethoprim+Sulfamethaksazol, D: Dirençli, OH: Orta Hassas, H: Hassas.

Tablo 3. Beş farklı patojene karşı tespit edilen antibiyogram test sonuçları.

Diskler/miktar	<i>E. coli</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>P-73</i>	<i>V-976</i>	<i>Y. ruckeri</i>
AM (10 µg)	8,90mm	0,00 mm	0,00 mm	0,00 mm	0,00 mm
CN (10 µg)	23,40mm	19,75mm	21,37mm	15,20mm	18,22mm
DO (30 µg)	19,80mm	24,50mm	20,68mm	17,26mm	21,80mm
ENR (5 µg)	21,80mm	28,30mm	14,20mm	28,60mm	21,99mm
FFC (30 µg)	21,28mm	26,70mm	8,17mm	24,44mm	29,10mm
OTC (30 µg)	17,16mm	22,50mm	12,67mm	17,67mm	20,07mm
SMZ (100 µg)	16,55mm	23,86mm	0,00 mm	22,60mm	17,38mm
STX	21,29mm	26,60mm	9,20mm	17,80mm	25,30mm

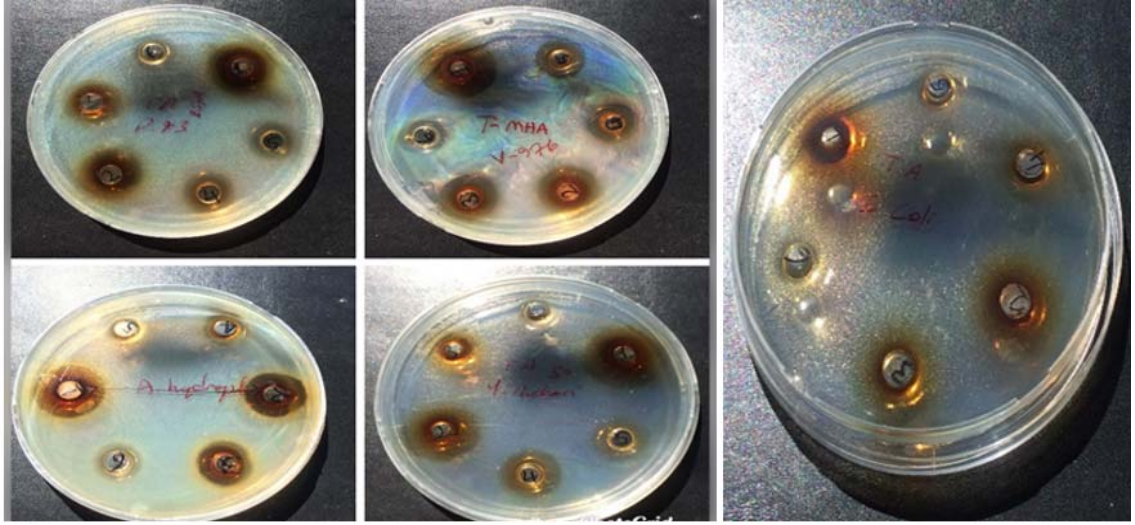
AM: Ampisilin, CN: Gentamicin, DO: Doksisetrasiklin, ENR: Enrofloksasin, FFC: Florfenikol, T: Oksitetrasiklin, SXT: Trimethoprim+Sulfamethaksazol.

Tablo 4. Beş farklı patojenin 8 farklı antibiyotiğe karşı tespit edilen hassasiyeti.

Diskler/miktar	<i>E. coli</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>P-73</i>	<i>V-976</i>	<i>Y. ruckeri</i>
AM (10 µg)	D	D	D	D	D
CN (10 µg)	H	H	H	H	H
DO (30 µg)	H	H	H	H	H
ENR (5 µg)	H	H	D	H	H
FFC (30 µg)	H	H	D	H	H
OTC (30 µg)	H	H	D	H	H
SMZ (100 µg)	H	H	D	H	H
STX	H	H	D	H	H

D: Dirençli, OH: Orta Hassas, H: Hassas.

Tannik asitin farklı konsantrasyonlarda beş farklı bakteri türüne karşı oluşturduğu antimikrobiyel hassasiyet testine ait oluşan zon çaplarının görünümü Şekil 12’de verilmiştir. MHA’da yapılan disk difüzyon testi sonucu oluşan zon çapları dijital kumpas yardımı ile ölçülmüş, elde edilen zon çaplarına ait veriler Tablo 5’de sunulmuştur. Tannik asitin farklı konsantrasyondaki beş farklı bakteri türüne karşı oluşturduğu antimikrobiyel hassasiyet Tablo 2’de verilen değerlerden faydalanarak karşılaştırılmış ve tannik asitin (TA) beş farklı patojene karşı etkinliğinin belirlenmesi gerçekleştirilmiştir. Tannik asitin (TA) beş farklı patojene karşı antimikrobiyel hassasiyeti Tablo 6’da verilmiştir.



Şekil 12. Tannik asitin beş farklı organizmaya karşı oluşturduğu zon çapları.

Tablo 5. Tannik asitin (TA) beş farklı patojene karşı etkinliğinin belirlenmesi.

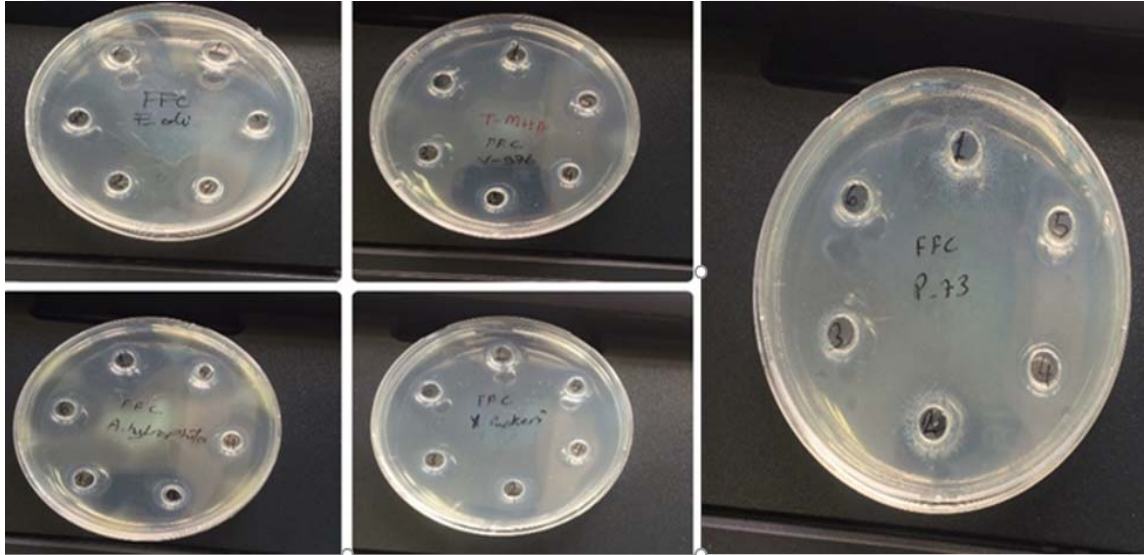
TA (µg)	<i>E. coli</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>P-73</i>	<i>V-976</i>	<i>Y. ruckeri</i>
2000	18,34 mm	20,44 mm	21,66 mm	23,51 mm	24,55 mm
1000	16,43 mm	16,20 mm	18,80 mm	18,24 mm	20,40 mm
500	15,05 mm	15,36 mm	17,65 mm	16,82 mm	18,48 mm
250	13,28 mm	14,75 mm	15,36 mm	15,06 mm	16,47 mm
125	0,00 mm	13,50 mm	14,50 mm	17,19 mm	13,22 mm
62,5	0,00 mm	0,00 mm	13,70 mm	13,20 mm	0,00 mm
31,25	0,00 mm	0,00 mm	11,13 mm	10,81 mm	0,00 mm
K	0,00 mm	0,00 mm	0,0 mm	0,00 mm	0,00 mm

Tablo 6. Tannik asitin (TA) beş farklı patojene karşı antimikrobiyel hassasiyeti.

TA (µg)	<i>E. coli</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>P-73</i>	<i>V-976</i>	<i>Y. ruckeri</i>
2000	H	H	H	H	H
1000	H	H	H	H	H
500	H	H	H	H	H
250	H	H	H	H	H
125	D	D	H	H	D
62,5	D	D	D	D	D
31,25	D	D	D	D	D

D: Dirençli, OH: Orta Hassas, H: Hassas

Bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış florfenikolün MHA’da disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirilen test sonuçlarına ait zon çaplarının görünümü Şekil 13’de verilmiştir. Florfenikol (FFC)’ün farklı konsantrasyonlarında beş farklı mikroorganizmanın MHA’da oluşturduğu zon çapları dijital kumpas yardımı ile ölçülerek kaydedilmiştir. FFC’ün beş farklı patojene karşı antimikrobiyel hassasiyet test sonuçları Tablo 7’de verilmiştir. FFC’ün beş farklı patojene karşı elde edilen zon çapı değerleri Tablo 2’de verilen standart değerlerle karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonrası *E. coli*’nin sadece 31,25 µg tannik asit konsantrasyonuna dirençli iken diğer bakteri türlerinin hepsinin (*A. hydrophila*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri*) türlerine karşı tannik asitin farklı konsantrasyonlarındaki dilüsyonları hassas olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 13. Beş farklı patojene karşı florfenikolün (FFC) farklı konsantrasyonlarının etkinliği.

Tablo 7. Florfenikol (FFC)’ün beş farklı patojene karşı oluşan zon çapı değerleri.

FFC	<i>E. coli</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>P-73</i>	<i>V-976</i>	<i>Y. ruckeri</i>
1000 µg	26,90mm	34,45mm	0,00 mm	32,32mm	28,33mm
500 µg	23,76mm	31,90mm	0,00 mm	28,22mm	25,17mm
250 µg	20,36mm	28,65mm	0,00 mm	26,60mm	23,70mm
125 µg	17,26mm	26,56mm	0,00 mm	25,00mm	21,06mm
62,5 µg	15,96mm	24,68mm	0,00 mm	23,20mm	17,58mm
31,25 µg	0,00 mm	23,13mm	0,00 mm	19,71mm	16,53mm
Kontrol	0,00 mm	0,00 mm	0,00 mm	0,00 mm	0,00 mm

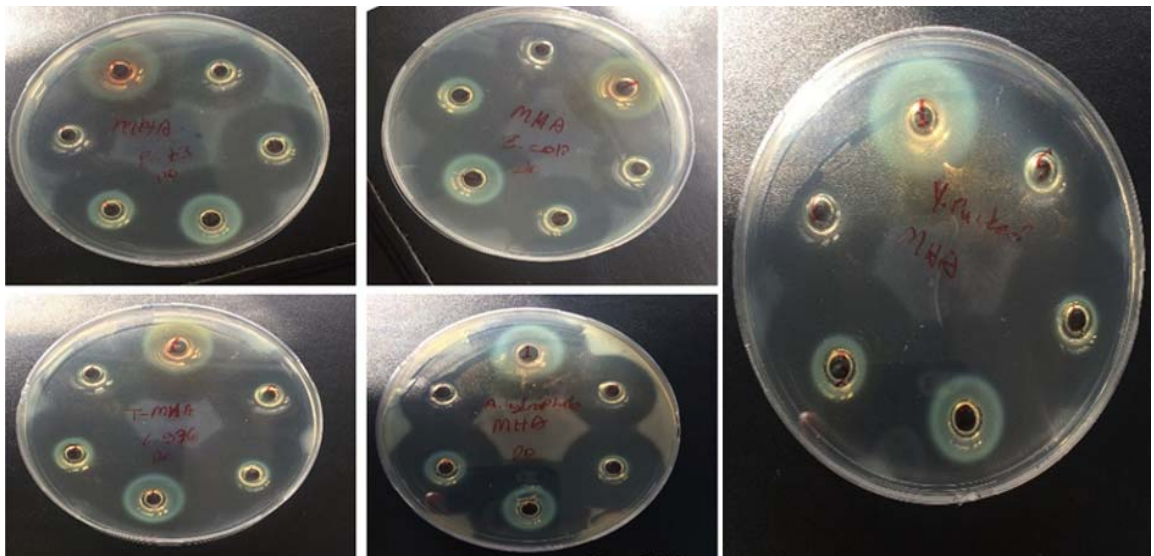
FFC'ün farklı konsantrasyonlardaki beş bakteri türüne karşı oluşturduğu antimikrobiyel hassasiyet değerleri Tablo 8'de verilmiştir. *Ps. fluoresens* türünün FFC'ün bütün konsantrasyonlara karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 8. FFC'ün beş farklı patojene karşı antimikrobiyel hassasiyeti

FFC	<i>E. coli</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>P-73</i>	<i>V-976</i>	<i>Y. ruckeri</i>
1000 µg	H	H	D	H	H
500 µg	H	H	D	H	H
250 µg	H	H	D	H	H
125 µg	H	H	D	H	H
62,5 µg	H	H	D	H	H
31,25 µg	D	H	D	H	H

D: Dirençli, OH: Orta Hassas, H: Hassas

Bu tez çalışmasında hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki doksitetrasiklin (DO)'e ait dilüsyonların MHA'daki kuyucuklarda oluşturduğu zon çaplarına ait görünüm Şekil 14'de sunulmuştur. Yapılan test sonucunda dijital kumpas yardımı ile ölçülen zon çaplarına ait değerler Tablo 9'da verilmiştir. Bu değerlerin Tablo 2'de verilen standart zon çapları ile kıyaslandığında bütün konsantrasyonların beş farklı bakteri türüne karşı antimikrobiyel olarak hassas olduğu tespit edilmiştir. Yapılan antimikrobiyel test sonucuna göre bu konsantrasyonlarda direnç oluşturacak zon çapı tespit edilmemiştir.

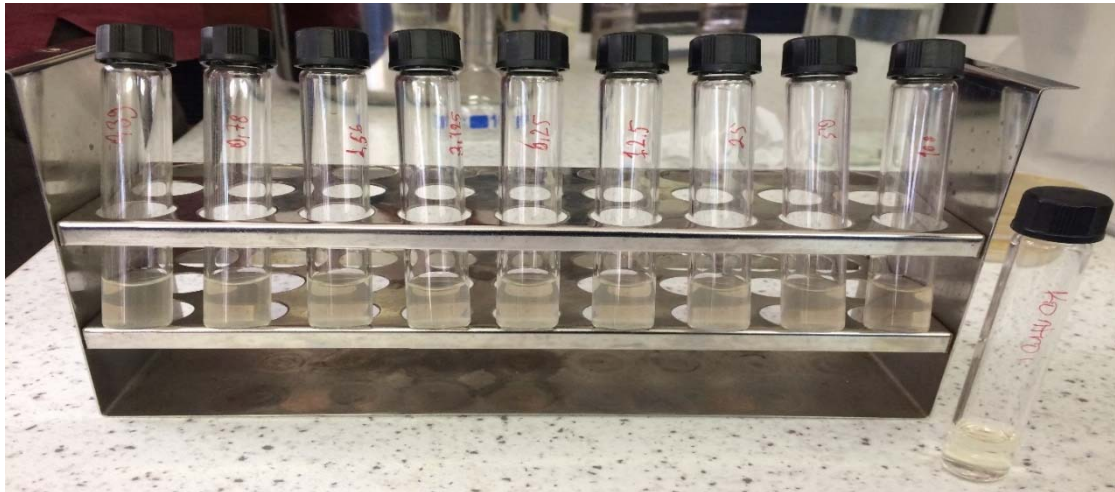


Şekil 14. Beş farklı patojene karşı doksitetrasiklinin (DO) farklı konsantrasyonlarının etkinliği.

Tablo 9. Doksitetrasiklinin (DO) beş farklı patojene karşı etkinliğinin belirlenmesi.

DO	<i>E. coli</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>P-73</i>	<i>V-976</i>	<i>Y. ruckeri</i>
2000 µg	37,67 mm	35,54 mm	35,34 mm	38,81 mm	39,46 mm
1000 µg	33,52 mm	32,02 mm	31,14 mm	31,51 mm	34,29 mm
500 µg	33,58 mm	30,80 mm	29,42 mm	32,02 mm	32,60 mm
250 µg	28,23 mm	29,16 mm	28,08 mm	29,56 mm	29,82 mm
125 µg	27,31 mm	26,56 mm	26,65 mm	28,37 mm	28,00 mm
62,5 µg	25,67 mm	24,73 mm	25,30 mm	26,30 mm	26,10 mm
31,25 µg	23,15 mm	22,13 mm	23,20 mm	23,91 mm	24,03 mm
Kontrol	0,00 mm	0,00 mm	0,00 mm	0,00 mm	0,00 mm

Bu tez çalışmasında MHB’da tannik asitin (0,1 gr farklı konsantrasyonlarındaki dilüsyonların *Y. ruckeri* karşı MİK değerlerinin belirlenmesi amacı ile yapılan test tüplerinin görünümü Şekil 15’de verilmiştir. Test sonucu yapılan değerlendirmede tannik asit ilaveli *Y. ruckeri* bakterisinin minimal inhibe edici konsantrasyonu (MİK) 12,5 µg ve 6,25 µg konsantrasyonlara sahip tüpler arasında olduğu tespit edilmiştir. MİK değeri olarak üremenin olmadığı ilk tüp olarak değerlendirildiğinde 12,5 µg MİK olarak belirlenmiştir. Tannik asit ilave edilmiş tüplerde *Y. ruckeri* bakterisinin minimal inhibe edici konsantrasyonu (MİK)’na ait veriler Tablo 10’da verilmiştir.



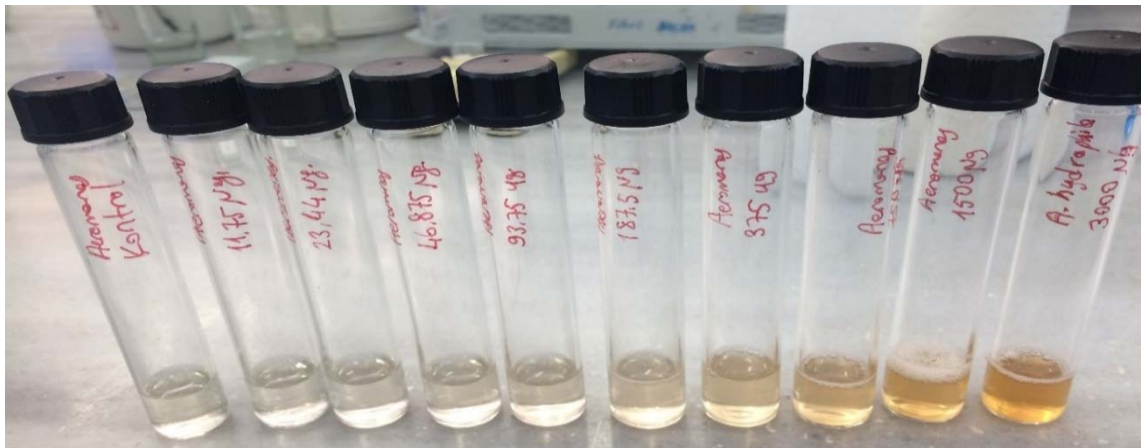
Şekil 15. Tannik asit (0,1 gr) ilaveli *Y.ruckeri* bakterisinin 24 saat sonra MİK değeri. Tannik asitin 12,5µg’a konsantrasyonunda bakterinin üremediği ve 6,25 µg bakterinin ürediği tespit edilmiştir.

Tablo 10. Tannik asit ilave edilmiş MHB’da *Y. ruckeri*’nin MİK değerinin belirlenmesi.

Silvafed TSP (Tannik asit)	<i>Y. ruckeri</i> (10 ⁸ kob/ml)
100 µg	-
50 µg	-
25 µg	-
12,5 µg	-
6,25 µg	+
3,125 µg	+
0,78 µg	+
0,39µg	+
Kontrol	+

+: Bakteriyel üremenin olduğu tüpleri, -: Bakteriyel üremenin olmadığı tüpleri.

MHB’da iki katlı dilüsyon yöntemi ile hazırlanan tannik asitin (0,3 g stok) farklı konsantrasyonlarına karşı *A. hydrophila*’nın tespit edilen MİK değerine ait test tüplerinin görünümü Şekil 16’de verilmiştir. MHB’da tannik asitin farklı konsantrasyonlarının *A. hydrophila* karşı tespit edilen MİK değeri Tablo 11’de verilmiştir. *A. hydrophila*’nın minimal inhibe-edici konsantrasyonu (MİK) 375 µg ve 187,5 µg konsantrasyonları arasındaki tüplerde olduğu belirlenmiştir. Tannik asitin üremenin olmadığı ilk tüp olarak değerlendirildiğinde 375 µg MİK olarak belirlenmiştir.



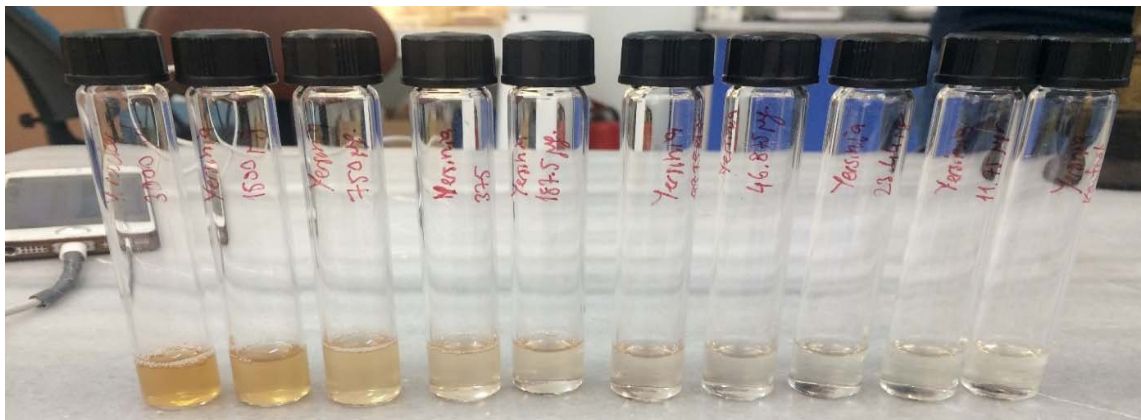
Şekil 16. Tannik asitin (0,3 g) *A. hydrophila* (10⁸ cfu/ml) bakterisinin karşı MİK değerinin belirlenmesi. MHB içeren test tüplerinde 24 saat sonra 375µg’da bakterinin üremediği ve 187,5 µg’lık tüpte ise üremenin varlığı tespit edilmiştir.

Tablo 11. Tannik asitin *A. hydrophila* karşı tespit edilen MİK değeri.

Silvafed TSP (Tannik asit)	<i>A. hydrophila</i> (10^8 kob/ml)
3000 µg	-
1500 µg	-
750 µg	-
375 µg	-
187,5 µg	+
93,75 µg	+
46,875 µg	+
23,44 µg	+
11,71 µg	+
Kontrol	+

+: Bakteriyel üremenin olduğu tüpleri, -: Bakteriyel üremenin olmadığı tüpleri.

MHB’da tannik asitin (0,3 g) farklı konsantrasyonlarındaki dilüsyonların *Y. ruckeri* karşı MİK değerlerinin belirlenmesi amacı ile yapılan test tüplerinin görünümü Şekil 17’de verilmiştir. Test sonucu yapılan değerlendirmede tannik asit ilaveli *Y. ruckeri* bakterisinin minimal inhibe-edici konsantrasyonu (MİK) 12,5 µg ve 6,25 µg konsantrasyonlara sahip tüpler arasında olduğu tespit edilmiştir. MİK değeri olarak üremenin olmadığı ilk tüp olarak değerlendirildiğinde 12,5 µg MİK olarak belirlenmiştir.



Şekil 17. Tannik asitin (0,3 g) *Y. ruckeri* (10^8 cfu/ml) bakterisine karşı MİK değerinin belirlenmesi. MHB içeren test tüplerinde 24 saat sonunda 187,5 µg üremenin olmadığı ve 93,75 µg konsantrasyon üremenin olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 12. Tannik asitin *Y. ruckeri* izolatına karşı oluşturduğu MİK değeri.

Silvafed TSP (Tannik asit)	<i>Yersinia ruckeri</i> (10 ⁸ kob/ml)
3000 µg	-
1500 µg	-
750 µg	-
375 µg	-
187,5 µg	-
93,75 µg	+
46,875 µg	+
23,44 µg	+
11,71 µg	+
Kontrol	+

+: Bakteriyel üremenin olduğu tüpleri, -: Bakteriyel üremenin olmadığı tüpleri.

Bu çalışma tannik asit ve FFC'nin farklı konsantrasyonlarındaki iki katlı seyreltilmiş dilüsyonlarının beş farklı bakteri türüne karşı test edilen MİK değerleri Tablo 13'de verilmiştir. Tannik asit *E. coli* için 125-250 µg aralığında MİK (250 µg) iken florfenikol için 12,5-25 µg aralığında MİK (25 µg) oluşturduğu tespit edilmiştir. Tannik asit *A. hydrophila* için 125-250 µg aralığında MİK (250 µg) iken florfenikol için 6,25-12,5 µg aralığında MİK (12,5 µg) oluşturduğu tespit edilmiştir. Tannik asit *Ps. fluoresens* için 15,625-31,25 µg aralığında MİK (31,25 µg) iken florfenikol ilave edilmiş tüplerin hepsinde *Ps. fluoresens* izolatının üremesi gerçekleştiği için MİK değeri tespit edilmemiştir. Tannik asit *V. anguillarum* için 250-500 µg aralığında MİK (500 µg) iken florfenikol için 6,25-12,5 µg aralığında MİK (12,5 µg) değeri oluşturduğu tespit edilmiştir. Tannik asit *Y. ruckeri* için 62,5-125 µg aralığında MİK (125 µg) iken florfenikol için 25-50 µg aralığında MİK (50 µg) değeri oluşturduğu tespit edilmiştir.

Tablo 13. Tannik asit (TA) ve florfenikol (FFC) iki katlı seyreltilmiş dilisyonların beş farklı bakteri türüne karşı tespit edilen üremenin engellendiği en düşük antibiyotik konsantrasyonun MİK değerleri.

Kimyasallar	Konsantrasyon	<i>E. coli</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>P-73</i>	<i>V-976</i>	<i>Y. ruckeri</i>
TA	1000 µg	-	-	-	-	-
FFC	100 µg	-	-	+	-	-
TA	500 µg	-	-	-	-	-
FFC	50 µg	-	-	+	-	-
TA	250 µg	-	-	-	+	-
FFC	25 µg	-	-	+	-	+
TA	125 µg	+	+	-	+	-
FFC	12,5 µg	+	-	-	-	+
TA	62,5 µg	+	+	-	+	+
FFC	6,25 µg	+	+	+	+	+
TA	31,25 µg	+	+	-	+	+
FFC	3,125 µg	+	+	+	+	+
TA	15,625 µg	+	+	+	+	+
FFC	1,56 µg	+	+	+	+	+
TA	7,813 µg	+	+	+	+	+
FFC	0,78 µg	+	+	+	+	+
TA	3.90 µg	+	+	+	+	+
FFC	0,39 µg	+	+	+	+	+
Kontrol	0,00 µg	+	+	+	+	+

+: Bakteriyel üremenin olduğu tüpleri, -: Bakteriyel üremenin olmadığı tüpleri.

4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Ülkemizde kültürü yapılan gökkuşağı alabalık yavru ve porsiyonluk boydaki balıklarda özellikle su sıcaklığına bağlı olarak ortaya çıkan ve toplu ölümlere neden olan Gram negatif bakteriyel balık patojenlerinden; *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens*, *Yersinia ruckeri* ve *Vibrio anguillarum* tarafından meydana getirilen enfeksiyonların tedavisinde antibiyogram test sonuçlarına göre farklı antibiyotikler kullanılmaktadır. Gelişi güzel antibiyotik kullanımı bazı problemleri beraberinde getirmektedir. Antibiyotikler uygun süre ve dozda kullanılmadığında bakterilerde bu antibiyotiklere karşı geçici (biyokimyasal) ve kalıcı (genetik) direnç şekillenmektedir. Bu da daha sonra ortaya çıkan aynı enfeksiyonların tedavisinde başarısızlığa neden olmaktadır. Ayrıca antibiyotik kullanımı rezidü problemlerine de neden olmaktadır. Tannik asit bitkilerin gövde, yaprak vs. gibi farklı bölgelerinden elde edilen polifenolik yapıda suda eriyen bir bileşiktir. Tanenler, antimikrobiyal, anti-enflamatuar, anti-viral, antioksidan ve anti-parazitik aktiviteler gibi önemli biyolojik özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir. Bitkilerden elde edildiğinden doğal bir madde olması nedeni ile bakterilerin meydana getirdiği hastalıkların tedavisinde kullanımı bir ayrıcalıktır. Bu amaçla, balıkların bakteriyel hastalıkların tedavisinde tannik asitin etkinliğini araştırılarak hangi hastalıklara etkili olduğu belirlenerek balık patojenlerinin tedavisinde kullanılması balık etinde rezidü problemine neden olmaması yurt dışına balık ihracatını kolaylaştıracaktır. Tannik asit, balık etinde rastlanılacak antibiyotik kalıntıları sonucu insanlarda oluşabilecek kanserojenik ve mutajenik muhtemel etkilerin önüne geçilebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada Karadeniz Bölgesi'ndeki balık çiftliklerindeki hastalıklı balıkların iç organlarından izole edilen Gram negatif; *A. hydrophila*, *Ps. fluorescens*, *Y. ruckeri* ve *V. anguillarum* gibi bakteri izolatlarına karşı tannik asitin farklı konsantrasyonlarındaki antimikrobiyal aktiviteleri (disk difüzyon testi ve MİK) bakteri izolatları arasında farklı değerlerde etkili olduğu tespit edilmiştir. Tannik asitin balıkların üzerine yapılan çalışma oldukça sınırlıdır. Antioksidan aktivitesi, bağırsak hareketine etkisi ve bağırsak mikroflorası üzerine etkileri farklı araştırmacılar tarafından çalışılmıştır. Tannik asit yem katkı maddesi olarak lezzetlendirici özellikleri sayesinde kanatlılarda yem alımını artırdığı ve yem stresini düşürdüğü bildirilmiştir (Zaccarato vd., 2006; Schiavone vd., 2008). Rekabetçi dışlama mekanizması sayesinde mikroflora tercihini değiştirerek mikroflorayı dengelediği (Schiavone vd., 2008) patojen bakterilerin artmasını ve toksin

oluşumunu baskıladığı için hayvan refahını artırdığı, gelişim performansını artırdığı, antibiyotik kullanımını azalttığını, ölümleri azalttığını ve büyüme performansını iyileştirebileceği etkisinin olduğunu bildirmişlerdir (Zaccarato vd., 2006; Zoccarato vd., 2008).

Kültür balıkları bitkilerden elde edilen bitki ekstraktları beslendiği zaman iştah artışına bağlı kilo artışı sağladığı, beyaz kan hücresi ve kırmızı kan hücresi seviyelerinin, hemoglobin, hematokrit, lenfositlerin ve monositlerin *Vibrio harveyi* ile enfekte enfekte edilen balıklarda önemli ölçüde artırdığı bildirilmiştir (Harikrishnan vd., 2012). *A. hydrophila*'ya karşı aşı geliştirilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada yavru sazan balıklarına bitki ekstraktının düşük dozda (10 ppm) verildiğinde kontrol ve diğer deney gruplarına (20 ve 30 ppm) göre maksimum antikor yanıtı ve daha fazla fagositik aktivite gösterdiğinin tespit edildiği rapor edilmiştir (Pavaraj vd., 2011). Üç farklı (*Crataegi fructus* (Cf), *Artemisia capillaries* ve *Cnidium officinale*) tıbbi bitkilerin özetleri ve karışımlarının kırmızı çipura (Mercan) larvalarında büyüme ve *V. anguillarum*'a karşı direnç üzerine etkilerinin araştırıldığı bir araştırma yapılmıştır. Bu bitki ekstratları ile beslenen rotiferlerde vibrio sayısını azaldığı, Cf özütü içerenle beslenen rotiferlerin diğer gruplara oranla istatistik olarak boylarının daha fazla büyüdüğü tespit edilmiştir. Aynı çalışmada Cf ve bu bitki karışımlarının metanol özleri, *Aeromonas*, *Edwasiella*, *Photobavterium*, *Pseudomonas* ve *Vibrio* cinsleri dahil yedi bulaşıcı bakteri suşunun çoğalmasını engellediği bildirilmiştir. Bitki özü karışımı ile beslenmiş rotiferlerin yedirildiği larvaların hayatta kalması *V. anguillarum* ile yapılan deneysel enfeksiyon testinden kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar, bitki özü ile beslenen rotiferlerin, çipura larvalarında büyüme ve *V. anguillarum*'a karşı direnci teşvik etmek için faydalı olduğunu ve hastalığa dirençli yavrularının seri üretimi için yeni bir teknoloji sağladığını bildirmişlerdir (Takaoka vd., 2011). *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas bestiarum*, *Aeromonas sobria*, *Listonella anguillarum*, *L. garviae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas anguilliseptica*, *Y. ruckeri* ve *Vagococcus salmoninarum* gibi önemli balık patojenlerine karşı Silvaeed TSP'nin 6 farklı konsantrasyonunun (%0,05, 0,01, 0,02, 0,04, 0,08 ve 0,1) Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyel etkinliği test edildiği rapor edilmiştir. Bütün konsantrasyonlar *Listonella anguillarum* ve *Y. ruckeri* karşı hassas olmasına karşın *L. garviae* ve *V. salmoninarum*'a dirençli olduğu rapor edilmiştir. *Aeromonas* türlerinin (*Aeromonas bestiarum*, %0,05 hariç) hassas olduğu, *Ps. fluorescens*

ve *Ps. anguilliseptica* ilk iki konsantrasyonda orta hassasiyette olduğu ve diğerk dört konsantrasyonlarda hassas olduğu bildirilmiştir (Tanrıkul ve Dinçtürk, 2017).

Bu alışma sonunda bakteriyel balık patojenlerinin tedavisinde Gram negatif bakteriler karşı Silvafeed TSP etkili olacağı ve hastalıkların tedavisinden çok yem katkısı olarak hastalık çıkmadan önce koruyucu amaçla yemlere katılmasının faydalı olacağı dşnlmştir.



5. ÖNERİLER

Bu çalışmada, test edilen Silvafeed TSP'nin balıklarda hastalık yapan bakteriyel patojenlere, özellikle Gram negatif (*A. hydrophila*, *Ps. fluoresens*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri*) bakterilere karşı etkili olduğu için su ürünleri yetiştiriciliğinde hastalık önleyici yem katkı maddesi olarak kullanılabileceği görülmüştür.

Balıklarda özellikle antibiyotiklerle tedavi edilemeyen dirençli bakteriyel etkenlere karşı tannik asitin (Silvafeed TSP) antibakteriyel etkinliğini belirlemek için yeni çalışmaların yapılması gerektiği kanısına varılmıştır.

Bu çalışmada pandemi nedeni ile çalışılmayan MİK değeri aralıklarının daha hassas olarak çalışılması gerektiği kanısına varılmıştır. Bu çalışmada florfenikole karşı disk difüzyon yönteminde dirençli olan *Ps. fluoresens* bakteri izolatına karşı tannik asitin 125 µg/ml konsantrasyon üzeri etkili olduğu, aynı bakterinin MİK değerinin 1000 µg/ml olmasına karşın tannik asitin MİK değeri 125-250 µg/ml aralığında tespit edilmesi nedeni ile antibiyotiğe dirençli *Ps. fluoresens* karşı tannik asit daha ayrıntılı çalışılması gerektiği düşünülmüştür.

Tannik asitin yem katkı maddesi olarak balıklara farklı konsantrasyonlarda pelet yeme karıştırılarak yedirme denemelerinin yapılması gerektiği düşünülmüştür. Balıkların büyüme performansları ve kan hücreleri, özellikle akyuvarlar üzerine etkilerinin çalışılması gerektiği düşünülmektedir.

Balıklarda kullanılan antibiyotiklerin akuatik ortamdaki bakterilerde dirençli suşların oluşmasına neden olduğu ve balık etinde rezidü problemlerine neden olduğu için bitkisel kaynaklı doğal madde olması nedeni ile tannik asitlerin (Silvafeed TSP) kullanılmasının faydalı olacağı ön görülmektedir.

Silvafeed TSP'nin özel bir çiftlikteki ön çalışmasında gökkuşağı alabalık yavrularında düzenli bir şekilde kullanıldığında kullanılmayanlara oranla balıkların yem alım iştahının daha fazla olduğu ve kullanılmayan gruba oranla hastalıklara karşı daha dirençli olduğu gözlemlendiği tespit edilmiştir. Bu nedenle bir sonraki çalışmada Silvafeed TSP'nin balık yedirme denemelerinin yapılacağı yeni bir çalışmanın yapılması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

- Achmadi, S.S. and Choong, E.T. (1992). Utilization of tannins in Indonesia, (R.W. Hemingway and P.E., Laks, Eds.), Plenum Press, New York, 881-893.
- Ağma Okur, A. (2010). Etlik piliçlerde yemlere aromatik yağlar ve vitamin E ilavesinin bağırsak mikrobiyolojisi ve oksidatif stabilite üzerine etkileri. Doktora Tezi. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, Türkiye, 99 s.
- Aktaş, B. ve Akkan, S. (2011). Sığır besi yemine ilave edilen meşe palamudu taneninin rumen fermantasyonuna etkilerinin rumen simulasyon tekniği (Rusitek) ile saptanması. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 48, 249-254.
- Ali, A.A., Ross, S.A., Mesbah, M.K. and El Moghazy, S.A. (1991). Phytochemical study of *Limonium axillare* (Forssk.) Kuntze. *Bull. Fac. Pharm.*, 29(3), 59-62.
- Austin, B. and Austin, D.A. (1987). Bacterial Fish Pathogens. Disease in farmed and wild fish. First Edition, Ellis Horwood Ltd., Chichester. 364 p.
- Austin, B., Austin, D.A. (1999). Bacterial Fish Pathogens. Disease of Farmed and Wild Fish, 3rd Edition., Springer-Praxis, Chichester, UK, 457p.
- Aydın, S.A. ve Üstün, F. (2007). Tanenler 1, Kimyasal yapıları, farmakolojik etkileri, analiz yöntemleri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 33, 21-31.
- Balta, F. ve Çağırman, H. (2007). Levrek'lerde (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) Sağaltım Sonrası Oksitetrasiklinin Kas ve Derideki Rezidüsünün Belirlenmesi. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 4(1-2), 173-178.
- Balta, F., Dengiz Balta, Z., Ozgumus, O.B. ve Çağırman, H. (2016). Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliklerinde *Yersinia ruckeri*'nin portörlük yönünden tetkiki ve antimikrobiyal direncin tespiti. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi*, 3(1), 72-76.
- Balta, F. ve Dengiz Balta, Z. (2016). Deniz suyuna nakledilen gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yavrularında görülen vibrio enfeksiyonu ve tedavisi. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi*, 1(1), 14-20.

- Balta, F. (2016a). Balık Hastalıkları Ders Notları. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi.
- Balta, F. (2016b). Phenotypic, serotypic and genetic characterization and antimicrobial susceptibility determination of *Vibrio anguillarum*, isolated and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) in the southeast Black Sea, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25(10), 4393-4400.
- 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.
- Balta, F. and Dengiz Balta Z. (2019). The isolation of *Lactococcus garvieae* from eyes of diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with exophthalmia. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(1), 27-33. DOI: 10.35229/jaes.527258.
- Balta, F. and Dengiz Balta, Z. (2019). Preparation of O-antigen from *Yersinia ruckeri* serotype O1 and use in the slide agglutination test. *Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 4(3), 480-483.
- Balta, F. ve Dengiz Balta, Z. (2017). Doğu Karadeniz’de yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*)’ndan izole edilen *Vibrio anguillarum* suşlarının serotiplendirilmesi, genetik karakterizasyonu ve antimikrobiyal duyarlılığının belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 64, 321-328.
- Balta, F. ve Yılmaz, H. (2019). Kültür Levreklerinde (*Dicentrarchus labrax*) *Vibrio parahaemolyticus* Enfeksiyonu. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(2), 104-110. DOI: 10.35229/jaes.544439
- Balta, F., Sandalli, C., Kayis, S. and Ozgumus, O.B. (2010). Molecular analysis of antimicrobial resistance in *Yersinia ruckeri* strains isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) grown in commercial fish farms in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 30(6), 211-219.
- BSGM. (2020). Su Ürünleri İstatistikleri. <https://www.tarimorman.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/BSGM.pdf>; Accessed Date: 22.09.2020

- Bullock, G.L. and Snieszko, S.F. (1975). Hagerman redmouth, a disease of salmonids caused by a member of the enterobacteriaceae. United States Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, *Fish Disease Leaflet*. 42, 1-5
- Carrera, S., Mitjavila, S. and Derache, R. (1973). Effect of tannic acid on the digestive availability of vitamin B12 in rats. *Ann. Nutr. Aliment.* 27, 73.
- Chung, K.T., Wei C.I. and Johnson, M.G. (1998a). Are tanens a double-edged sword in biology and health. *Trends in Food Science & Technology*, 9(4), 168-175.
- Chung, K.T., Wong, T.Y., Wei, C.I., Huang, Y.W. and Lin, Y. (1998b). Tanens and human Health: a Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(6), 421-468.
- CLSI. (2013). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Vol. 33, No.1, Wayne, PA.
- CLSI. (2014). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-Fourth Informational Supplement. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, USA, M100-S24, 230.
- Çaklı, S., Kılınç, B., Dincer, T., Tolasa, S. (2006). Comparison of the shelf-lives of map and vacuum packaged hot smoked rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Eur. Food Res. Technol.* 224:19-26.
- Dengiz Balta, Z. (2010). Ani sıcaklık şoku uygulanmış Karadeniz alabalığı (*Salmo trutta labrax* Pallas, 1811)'nda fizyolojik stres cevabın belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, Türkiye, 48 s.
- Dengiz Balta, Z., Akhan, S. and Balta, F. (2017). The physiological stress response to acute thermal exposure in Black sea trout (*Salmo Trutta Labrax* Pallas, 1814). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 41, 400-406.
- Duman, M., Satıcıoğlu, İ.B., Buyukekiz, A.G., Balta, F. and Altun, S. (2017). Molecular Characterization and Antimicrobial Resistance Profile of Atypical *Citrobacter gillenii* and *Citrobacter* sp. isolated from diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 10, 136-142.

- Ekici, S., Diler, Ö. ve Altun, S. (2005). Kültürü yapılan balıklarda görülen vibriosis enfeksiyonları. *XIII Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu*, 01-04 Eylül, Çanakkale, Türkiye.
- Ezaki, N., Kato, M., Takizawa, N., Morimoto, S., Nonaka, G. and Nishioka, I. (1985). Pharmacological studies on *Linderae umbellatae* Ramus, IV. Effects of condensed tannin related compound on peptic activity and stress-induced gastric lesions in mice. *Planta Med.*, 1, 34-8.
- Fallah, A.A., Saei-Dehkordi, S.S. and Nematollahi, A. (2011). Comparative assessment of proximate composition, physicochemical parameters, fatty acid profile and mineral content in farmed and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 767-773.
- Forero, L., Nader, G., Craigmill, A., Ditomaso, J.M., Puschner, B. and Maas, J. (2011). Livestock- poisoning plants of California. University of California, *Agriculture and Natural Resources*, Publication: 8398, 1-44.
- Gall, G.A.E. and Crandell, P.A. (1992). The rainbow trout. *Aquaculture*, 100 (1-3), 1-10.
- Gnanamani, A., Sekaran, G. and Babu, M. (2001). Removal of tannin from cross-linked and open chain polymeric tannin substrates using heme peroxidases of *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 24, 211-217.
- Gokoglu, N., Yerlikaya, P. and Cengiz, E. (2004). Changes in biogenic amine contents and sensory quality of sardine (*Sardina pilchardus*) stored at 4°C and 20°C. *Journal of Food Quality*, 27, 221-231.
- Gönültaş, O. ve Balaban Uçar, M. (2012). Fıstıkçamı (*Pinus pinea*) kabuğunun tanen bileşimi. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, Özel Sayı, 80-84.
- Hagerman, A.E. (2002). The tannin handbook. Miami University Oxford, OH 45056, <http://chemistry.muohio.edu/hagerman> (20.03.2014).
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C. and Heo, M.S. (2012). Effect of *Inonotus obliquus* enriched diet on hematology, immune response, and disease protection in kelp

- grouper, *Epinephelus bruneus* against *Vibrio harveyi*. *Aquaculture*, 344-349, 48-53.
- Haslam, E. (1989). Plant polyphenols, Vegetable tannins revisited, Cambridge University Press, Cambridge, Pp. 230. U.K.
- Hassanat, F. and Benchaar, C. (2013). Assessment of the effect of condensed (acacia and quebracho) and hydrolysable (chestnut and valonea) tannins on rumen fermentation and methane production *in vitro*. *J. Sci. Food Agric.* 93, 332-339.
- İmik, H. ve Şeker, E. (1999). Farklı tanen kaynaklarının tiftik keçilerinde yem tüketimi canlı ağırlık artışı, tiftik verimi ve kalitesi üzerine etkisi. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.* 39, 85-100.
- Kamalak, A. (2007). Kondanse tanenin olumsuz etkilerini azaltmak için kullanılan katkı maddeleri ve yemlere uygulanan işlemler. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv., Fen ve Mühendislik Dergisi*, 10, 144-150.
- Kamalak, A., Canbolat, Ö., Şahin, M., Gürbüz, Y., Özköse, E. and Özkan, Ç.Ö. (2005). The effect of polyethylene glycol (PEG 8000) supplementation on in vitro gas production kinetics of leaves from tannin containing trees. *South African Journal of Animal Science*, 35, 229-237.
- Karatay, İ. (2019). Hastalıklı Gökkuşluğu Alabalıklar (*Oncorhynchus mykiss*)’ından İzole Edilen *Lactococcus garvieae* Suşlarının Antimikrobiyal Hassasiyetinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, Türkiye, 34 s.
- Kaya, İ. ve Yalçın, S. (1999). Baklagil tane yemleri ve ruminant rasyonlarında kullanımı. *Lalahan Hay. Arast. Enst. Derg.*, 39, 101-114.
- Kaya, S. ve Yavuz, H. (1993). Yem ve yem hammaddelerinde bulunan olumsuzluk faktörleri ve hayvanlara yönelik etkileri: 1: Organik nitelikli olumsuzluk faktörleri. *Ankara Vet. Fak. Derg.*, 40, 586-614.
- Kayis, S., Capkin, E., Balta, F. and Altinok, I. (2009). Bacteria in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the southern Black Sea region of Turkey-A survey. *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, 61(4), 339-344.

- Kedlaya, K.J. (1971). Chemistry and technology of vegetable tannins. *Leather Sci.*, 18, 75-87.
- Khanbabaee, K. and Ree, T. (2001). Tannins: Classification and Definition. *Natural Product Reports*, 18, 641-649.
- Kinlen, L.L., Willows, A.N., Goldblatt, P. and Yudkin, J. (1988). Tea consumption and cancer. *British Journal of Cancer*, 58, 397-401.
- Kocabatmaz, M. ve Ekingen, G. (1984). Değişik tür balıklarda kan örneği alınması ve hematolojik metotların standarizasyonu. *Doğa Bilim Derg.*, 8(2), 149 -159.
- Kono, S., Ikeda, M., Tokudome, S. and Kuratsume, M. (1988). A case control study of gastric cancer and diet in northern kyushu, Japan. *Jap. J. Cancer Res. (Gann)* 79, 1067-1074.
- Kuloğlu, R. (2007). Tanik asidin rumen bakterilerinin bazı fibrolitik enzimlerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni ABD, Kahramanmaraş, Türkiye, 37 s.
- Kuppusamy, U.R. and Das, N.P. (1993). Protective effects of tannic acid and related natural compounds on *Crotalus adamanteus* subcutaneous poisoning in mice. *Pharmacology & Toxicology*, 72(4-5), 290-295.
- Lee, K.H. (1992). Plant phenolics compounds as cytotoxic antitumour agents in phenolic compounds in food and their effects on health, II. Antioxidants and Cancer Prevention, pp. 367-379. *ACS Symposium Series 506*, American Chemical Society.
- Makkar, H.P.S. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49(3), 241-256.
- Mashare, M.A. (2001). Manual of Trout Farming. Nourbakhsh Press, Tehran, Iran, pp. 17-26.
- Min, B.R., Barry, T.N., Attwood, G.T. and McNabb, W.C. (2003). The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Animal Feed Science and Technology*, (106), 3-19.

- Nakamura, Y., Tsuji, S., Tonogai, Y. (2003). Method for analysis of tannic acid and its metabolites in biological samples: application to tannic acid metabolism in the rat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 331-339.
- Narjisse, H., Elhonsali, M.A. and Olsen, J.D. (1995). Effects of oak (*Quercus ibex*) tannins on digestion and nitrogen balance in sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 18, 201-206.
- Nyachoti, C.M., Atkinson, J.L. and Leeson, S. (1997). Sorghum tannins: review. *World's Poultry Science Journal*, 53, 5-21.
- Onuk, E.E., Çaycı, Y.T., Çoban, A.Y., Çiftci, A., Balta, F., Didinen, B.I., Pekmezci, G.Z., Altun, S., Ünlü, M.S. ve Deveci, A. (2015). Türkiye’de su kaynaklı *Aeromonas* izolatlarında saptanan ilk QnrS gen Pozitifliği. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 49(1), 114-123.
- Onuk, E.E., Çaycı, Y.T., Çoban, A.Y., Çiftci, A., Balta, F., Didinen, B.I. ve Altun, S. (2017). Balık ve yetiştirme suyu kökenli *Aeromonas* izolatlarının antimikrobal duyarlılıklarının saptanması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 64(1), 69-73.
- Özkal, N. ve Dinç, S. (1993). *Punicagranatum* L. (Nar) bitkisinin kimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri. *Ankara Ecz. Fak. Der.*, 22, 38-50.
- Pavaraj, M., Balasubramanian, V., Baskaran, S. and Ramasamy P. (2011). Development of immunity by extract of medicinal plant *Ocimum sanctum* on common carp *Cyprinus carpio* (L.). *Research Journal of Immunology*, 4(1), 12-18.
- Plumlee, K.H., Johnson, B. and Galey, F.D. (1998). Comparison of disease in calves dosed orally with oak or commercial tannic acid. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 10, 263-267.
- Pyrgotou, N., Giatrakou, V., Ntzimani, A. and Savvaidis, I.N. (2010). Quality assessment of salted, modified atmosphere packaged rainbow trout under treatment with oregano essential oil. *Journal of Food Science*, 75, 406-411.
- Ratnoff, O.D. and Crum, J.D. (1964). Activation of hageman factor by solution of acid. *J. Lab. Clin. Med.*, 63, 359.

- Ross, A.J., Rucker, R.R. and Ewing, W.H. (1966). Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian Journal of Microbiology*, 12, 763-770.
- Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30, 3875-3883.
- Schiavone, A., Guo, K., Tassone, S., Gasco, L., Hernandez, E., Denti, R. and Zoccarato, I. (2008). Effects of a natural extract of chestnut wood on digestibility, performance traits, and nitrogen balance of broiler chicks. *Poultry Science*, 87, 521-527.
- Silanikove, N., Nitsan, Z. and Perevolotsky, A. (1994). The effect of daily supplementation of polyethylene glycol on intake and digestion of tannin-containing leaves (*Ceratonia siliqua*) by sheep. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 2844-2847.
- Steiner, P.R. (1989). Tannins as specialty chemicals: An overview, (R.W. Hemingway and J.J. Karchesy, Eds.), chemistry and significance of condensed tannins, Plenum Press, New York, 517-523.
- Suschetet, M. (1975). Influence of tannic acid on the hepatic content of vitamin A in rats fed a vitamin A containing diet or a vitamin A deficient diet. *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.*, 169, 970.
- Takaoka, O., Ji, S.C., Ishimaru, K., Lee, S.W., Jeong, G.S., Ito, J., Biswas, A. and Takii K. (2011). Effect of rotifer enrichment with herbal extracts on growth and resistance of red sea bream, *Pagrus major* (Temminck & Schlegel) larvae against *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture Research*, 42, 1824-1829.
- Tanrikul, T.T. and Dincturk, E. (2017). Antibacterial susceptibility of hydrolysable tannins (Silvafeed TSP) against bacterial fish pathogens. *Aquaculture Europe 2017*, October 17-20, Dubrovnik, Croatia.
- Timur, G. and Timur, M. (1991). An outbreak of enteric redmouth diseases rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Turkey. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 11(5), 181-182.
- Toranzo, A.E. (2004). A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. *Aquaculture*, 246, 37-61. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.01.002

- Vermeire, L.T. and Wester, D.B. (2001). Shinnery oak poisoning of rangeland cattle: Causes, effects & solutions. *Rangelands*, 23(2), 19-21.
- Woo, P.T.K. and Bruno, D.W. (1999). Viral, bacterial and fungal infections. Fish diseases and disorders. Vol. 3. Oxon, Cabi Publishing, United Kingdom.
- Yalçın, S. (2013). Yemlerde antinutrisyonel faktörler, yemler ve yem hijyeni ve teknolojisi. Genişletilmiş 5. Baskı, Ankara Üniv., Veteriner Fakültesi, Ankara, 261-286.
- Zitko, V. and Rosik, J. (1962). Tanen-gelatin reaction in Lichte der Theorie de Reaktionen kleiner Molekule mit Makromolekulern. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 27, 2058.
- Zoccarato, I., Gasco, L., Schiavone, A., Guo, K., Barge, P., Rotolo, L., Savarino, G. and Masoero, G. (2008). Effect of extract of chestnut wood inclusion (ENC) in normal and low protein amino acid supplemented diets on heavy broiler rabbits. *In Proceedings of the 9th world rabbit congress* (pp. 873-877), 10-13 June 2008, Verona, Italy.
- Zoccarato, I., Schiavone, A., Tassone, S., Gasco, L. and Malfatto, V. (2006). Study on the utilisation of a natural silvafeed in the nutrition of heavy chickens. *XII European Poultry Conference*, Verona (Italy).

ÖZGEÇMİŞ

Neşe TEKİN, doğdu. İlkokul ve ortaokul öğrenimini Batman’da tamamladı. Üniversite eğitimi için; 2012 yılında Mersin Silifke Meslek Yüksek Okulu Su Ürünleri bölümünde öğrenim görmeye başladı ve 2014 yılında mezun oldu. Dikey geçiş sınavıyla 2014 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Mühendisliğini kazandı. 2016 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümünü başarı ile tamamladı. 2017 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı’nda başladığı Yüksek Lisans öğrenimini halen devam ettirmektedir.

