



Hastalıklı Gökkuşluğu Alabalığından İzole Edilen *Lactococcus* spp. Suşlarının Tanımlanması ve Antimikrobiyal Duyarlılığının Belirlenmesi [*]

Fikri BALTA^{1*}, Zeynep DENGİZ BALTA¹ Muhammed YAĞMUR²

¹ Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Hastalıklar Anabilim Dalı, Rize, Türkiye

² Tarım ve Orman Bakanlığı, Kırklareli Tarım İl Müdürlüğü, Kırklareli, Türkiye

Received: 10.07.2024

Accepted: 21.09.2024

Published: 30.09.2024

Atıf yapmak için: Balta, F., Dengiz Balta, Z. & Yağmur, M. (2024). Hastalıklı Gökkuşluğu Alabalığından İzole Edilen *Lactococcus* spp. Suşlarının Tanımlanması ve Antimikrobiyal Duyarlılığının Belirlenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 9(3), 472-484. <https://doi.org/10.35229/jaes.1513751>

How to cite: Balta, F., Dengiz Balta, Z. & Yağmur, M. (2024). Determination of Antimicrobial Susceptibility and Identification of *Lactococcus* spp. Strains Isolated from Diseased Rainbow Trout. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 9(3), 472-484. <https://doi.org/10.35229/jaes.1513751>

<https://orcid.org/0000-0002-1823-5823>
 <https://orcid.org/0000-0002-7795-828X>
 <https://orcid.org/0000-0002-7699-6970>

*Sorumlu yazar:

Fikri BALTA

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri
Fakültesi, Rize, Türkiye

✉: fikri.balta@erdogan.edu.tr

Öz: Bu çalışmada, Fakültemiz Hastalıklar Laboratuvarına 2019-2021 yılları arasında kok enfeksiyonu şüphesi ile getirilen gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) örneklerinden izole edilen bakteri izolatları kullanılmıştır. Doğu Karadeniz Bölgesindeki farklı illerdeki gökkuşluğu alabalık çiftliklerinden laboratuvara gönderilen tipik hastalık semptomları gösteren balık numunelerinden saf olarak üretilen bakterilerden 25 adet kok (*Lactococcus* spp.) izolatu seçilmiştir. Bakteriyel hastalıkları meydana getiren etkenlerin tanımlanmasında özellikle klasik fiziksel ve biyokimyasal testler oldukça yaygın olarak kullanılmıştır. Gökkuşluğu alabalıklarındaki hastalık vakalarından izole edilen *Lactococcus garvieae* bakterisinin tanımlanmasında bazı hataların yapıldığı son yıllarda tespit edilmiştir. Bu çalışmada, gram pozitif bir bakteri olan *Lactococcus* spp. suşlarının tanımlanabilmesi için klasik testlerin yanı sıra biyokimyasal testler için api 20 strep test kitlerinin kullanılması tercih edilmiştir. Bu kitin kullanımında inkübasyon sıcaklığındaki farklılıklar, bakterilerin inkübasyon sıcaklığındaki üreme problemleri nedeni ile bazı sorunların sebebiyle yanlış sonuçların oluşabileceği belirlenmiştir. Çalışmada, api 20 strep test kitleri kullanılarak yapılan 25 adet kok suşlarının çoğunluğu 7143111 ve 7143511 profili gösterdiği görülmüştür. Çalışmada referans izolat olarak kullanılan *Lactococcus garvieae* suşuna birebir uyuşan tek bir izolatu (D-372) benzer olduğu tespit edilmiştir. Hastalıklı balıklardan izole edilen bakteri suşlarının antimikrobiyel ajanlara hassasiyetini belirlemek için disk difüzyon yöntemi kullanılarak antibiyogram testi yapılmıştır. Test sonuçlarına göre Sulfamethoksazol ve Streptomisin'e karşı izolatların hepsinin dirençli olduğu belirlenmiştir. Antibiyogramı yapılan izolatların antimikrobiyel ajanlardan amoksisiline doksisikline ve florfenikole sırasıyla %100, %76 ve %64 etkili olduğu tespit edilmiştir.

Keywords: Antibiyogram testi, API 20 strep, bakteriyel enfeksiyon, *Lactococcus garvieae*.

Determination of Antimicrobial Susceptibility and Identification of *Lactococcus* spp. Strains Isolated from Diseased Rainbow Trout [*]

Abstract: In this study, bacterial isolates isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) samples brought to our Faculty's Diseases Laboratory between 2019 and 2021 with suspicion of cocci infection were used. 25 cocci (*Lactococcus* spp.) isolates were selected from pure bacteria produced from fish samples showing typical disease symptoms sent to the laboratory from rainbow trout farms in different provinces in the Eastern Black Sea Region. Classical physical and biochemical tests have been widely used in identifying the factors that cause bacterial diseases. In recent years, it has been determined that some errors were made in the identification of *Lactococcus garvieae* bacteria isolated from disease cases in rainbow trout. In this study, *Lactococcus* spp., a gram-positive bacterium. In order to identify the strains, it was preferred to use api 20 strep test kits for biochemical tests as well as classical tests. It has been determined that incorrect results may occur when using this kit due to some problems such as differences in incubation temperature and reproduction problems of bacteria at the incubation temperature. In his study, it was observed that the majority of 25 cocci strains made using api 20 strep test kits showed 7143111 and 7143511 profiles. A single isolate (D-372) was found to be identical to the *Lactococcus garvieae* strain used as the reference isolate in the study. Antibiyogram testing was performed using the disk diffusion method to determine the sensitivity of bacterial strains isolated from diseased fish to antimicrobial agents. It was determined that the isolates whose antibiyogram was performed were 100%, 76% and 64% effective on the antimicrobial agents amoxicillin, doxycycline and florfenicol, respectively.

Anahtar kelimeler: Antibiyogram testi, API 20 strep, bakteriyel enfeksiyon, *Lactococcus garvieae*.

*Corresponding author:

Fikri BALTA

University of Recep Tayyip Erdoğan,
Faculty of Fisheries, Rize, Türkiye

✉: fikri.balta@erdogan.edu.tr

[*] Bu makale, Muhammed Yağmur'un yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

This study was produced from Muhammed Yağmur's master thesis.

GİRİŞ

Dünya nüfusundaki hızlı artışa paralel olarak insanoğlunun ihtiyaç duyduğu hayvansal protein ihtiyacı da her geçen gün hızla artmıştır. Bu protein ihtiyacı kanatlı hayvanlardan beyaz et olarak karşılanmaya çalışılsa da talebi karşılayacak yeterlilikte değildir. Son 50 yılın üzerinde hayvansal üretimin karşılanmasında akuakültür üretimi her geçen gün hızla büyüdüğü görülmüştür. Balıketi zengin essansiyel amino asitlere sahip olması ve birden fazla çoklu doymamış yağ asitleri içermesi nedeni ile tercih edildiği bildirilmiştir. İnsanoğlu tarafından tüketilen balıketi, vücudun temel besin maddesi ihtiyacını karşılamakta, fizyolojisi ve biyokimyasal işlevler üzerinde olumlu etki göstermesi bakımından sağlıklı sürdürülebilir bir yaşam için önemli besin maddeleri içinde ilk sırada yerini aldığı rapor edilmiştir (Kaya vd., 2004). TÜİK verilerine göre ülkemizde su ürünleri üretiminin %60,5'ini kültür balıkçılığı oluşturmaktadır. Bu üretimin %72'si denizlerden, %28'i ise iç sulardaki kültür balıkçılığı yoluyla gerçekleştiği, iç sulardan 152 bin 649 ton ve denizlerden ise 45 bin 454 ton alabalık yetiştiricilik yoluyla üretilen en önemli türlerden biri olduğu bildirilmiştir (TÜİK, 2023). Gökkuşluğu alabalık üretimini sınırlayan en önemli faktörlerin başında hastalıklar gelmektedir. Birim hacimde aşırı balık stoklamak ve çevresel faktörler ani değişimler balıklarda stres sebep olmaktadır. Mevsimsel olarak ani su sıcaklığı değişimlerin balıklarda stres nedeni olduğu ve immun sistemin baskılandığı bildirilmiştir (Dengiz Balta, 2010; Dengiz Balta vd., 2017). Balık yetiştiriciliğinde meydana gelen kayıpların çoğunu kimyasal zehirler, dengesiz ve eksik rasyonla beslenme veya üretim uygulamalarındaki yanlışlıklar gibi birçok faktörden ileri gelebileceği bildirilmiş ve balık yetiştiriciliğinde patojen mikroorganizmaların en fazla kayıp oranlarına sebebiyet verdiği rapor edilmiştir (Roberts vd., 2001).

Dünyanın farklı coğrafik bölgelerinde yetiştiriciliği yapılan gökkuşluğu alabalıklarında immun sistemi baskılanmış balıklarda bakteriyel hastalık etkenlerinin zaman zaman toplu ölümler meydana getirdiği ve hastalık vakalarından yapılan izolasyonlarda *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Vibrio* spp., *Streptococcus* spp., *Flexibacter* spp., ve *Yersinia ruckeri* gibi bakteriyel balık patojenlerinin varlığı bildirilmiştir (Akinbowale vd., 2006; Avcı vd., 2010; 2014; Cagırgan, 2004; Epikmen vd., 2020; Kum vd., 2004; Schmidt vd., 2000). Ülkemizde, 2001 yılında ilk kez Ege Bölgesindeki bir gökkuşluğu alabalığı işletmesindeki hastalık vakasından *Lactococcus garvieae*'nin ilk kez izole edildiği rapor edilmiştir (Diler vd., 2002). Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinde özellikle *Aeromonas salmonicida*, *Yersinia*

ruckeri, *Vibrio anguillarum* ve *Lactococcus garvieae* gibi bakteriyel patojenlerin virülensine bağlı olarak ciddi bir şekilde ekonomik kayıplara yol açtığı birçok araştırmalarda rapor edilmiştir (Altınok vd., 2022; Avcı vd., 2010; Balta vd., 2010; 2016; Kav & Erganiş, 2007; Kum vd., 2004; Matyar vd., 2009; Matyar vd., 2010; Önalın, 2016; Sipahi vd., 2013; Tanrikul, 2007; Timur vd., 2011). Özellikle yaz aylarında su sıcaklığında meydana gelen ani yükselişler kültürü yapılan gökkuşluğu alabalıklarında kok enfeksiyonlarının patlak vermesine neden olduğu ve %60-80'lere varan ölümler bildirilmiştir (Balta & Dengiz Balta, 2019a; Diler vd., 2002; Elder vd., 1999; Durmaz & Kılıçoğlu, 2015; Kiran vd., 2018; Tsai et al., 2013). Sürdürülebilir bir üretim için bakteriyel balık patojenlerin izole edilerek etkin tedavi ve kontrolün yapılmasının önemli olduğu bildirilmiştir (Balta vd., 2016; Balta & Dengiz Balta, 2016; 2017; 2019a; 2019b; Balta vd., 2016; Balta, 2016; 2020; Dolgun, 2015; Durmaz & Kılıçoğlu, 2015; Kirkan vd., 2018).

Balıklarda Laktokokkozis hastalığını meydana getiren *Lactococcus garvieae*'nin tanımlanan tek tür olduğu bildirilmiştir (Cai vd., 2011). GenBank'a birçok araştırmacı tarafından *Lactococcus garvieae*'nin girilmiş genomik DNA sekanslarının veri analizlerini yapıldığı başka bir çalışmada ise ortalama nükleotid kimlik değerine göre dört farklı grubun varlığı rapor edilmiştir (Kumru, 2021).

L. garvieae hareketsiz, Gram pozitif, kapsüllü ya da kapsülsüz, 0,7-1,4 µm çaplarında oval ve sporsuz bir bakteri olup sıvı besi yerinde kısa zincir şeklinde, kanlı agarda α-hemoliz oluşturan, katı besi ortamlarında beyaz veya gri renkli koloniler oluşturduğu ve fakültatif anaerob bir bakteri olduğu rapor edilmiştir (Kav vd., 2007; Timur vd., 2011).

Hastalık vakalarında balıkların iştahsız olduğu, sersem bir şekilde yavaş ve dengesiz bir şekilde su yüzeyinde durdukları, anormal yüzme ve ani hareketler, deride kararma, gözde tek veya çift taraflı egzofthalmus, korneada konjesyon ve matlaşma, solungaç lamellerinde kanama, yüzgeçlerin tabanında, burun-göz çevresi ile çene altında, dalak, böbrek, ve karaciğerde nokta peteşial hemorajiler, splenomegali, hava keselerinin şiş ve yangılı olduğu, bağırsağın sarımsı bir sıvı dolu olduğu, anüsün dışarı doğru gergin ve hemorajik olduğu bildirilmiştir (Balta & Dengiz Balta, 2019a; Balta & Karatay, 2021; Durmaz vd., 2015).

Bu çalışmada, kültür gökkuşluğu alabalığında kok hastalığına neden olan (*L. garvieae*) enfeksiyonun etkeninin geleneksel testler ve api 20 strep testi kullanarak elde edilen sonuçların *L. garvieae* referans izolatına (ATCC43921) ait api 20 strep testi sonuçları ile karşılaştırarak izolatların tanımlanması ve çalışmada

kullanılan virüsent *L. garvieae* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Balık Örneklerinin sağlanması: Bu çalışmada, 2019-2021 yılları arasında su sıcaklığının arttığı yaz aylarında Fakültemiz Balık Hastalıkları Laboratuvarına Doğu Karadeniz Bölgesindeki 6 değişik gökkuşuğu alabalık çiftliğinden gönderilen ve kok enfeksiyonu tanısı konulan hastalıklı alabalıklarından saf olarak üretilen bakteriler kullanılmıştır.

Hastalık vakalarında laboratuvara gönderilecek balık örneklerinin hastalıktan ölenlerle aynı semptomu göstermesi özellikle, uyuşuk, iştahsız, renkte kararma, gözlerde çift taraflı ekzofthalmus semptomları gösteren balık örneklerinin seçilmesine özen gösterilmesi işletme sahiplerinden talep edilmiştir. Her havuzdan özellikle ölmek üzere olan 10'ar adet balığın laboratuvara canlı olarak ulaştırılması gerektiği üreticiye bildirilmiştir. Bu çalışmada toplam 250 adet balık örneği kontrol edilmiştir. Balık örneklerinin nekroskopik incelemede karaciğerin solgun olduğu, safra kesesinin dolu olduğu ve dalağın az çok büyümüş olduğu, karaciğerde ve plorik sekada noktavari kanamaların varlığı ve bağırsakların hemorajik olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan örnekler veriler; örneklemelerin yapıldığı çiftliğin bulunduğu şehrin adı, örnekleme tarihi, ekim yapılan organ ve izole edilen bakteri izolatlarına verilen kod numaraları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Gökkuşuğu alabalıklardan izole edilen bakteriyel izolatların orjinlerine ait bilgiler.

Table 1. Information on the origins of bacterial isolates isolated from rainbow trout.

Sıra No	İzolat kodu	Organ	Çiftlik Konumu	Tarihi
1	D173	Dalak	Artvin / Borçka	26.10.2019
2	D174	Böbrek	Artvin / Borçka	26.10.2019
3	D175	Dalak	Artvin / Borçka	26.10.2019
4	D180	Böbrek	Artvin / Borçka	26.10.2019
5	D181	Böbrek	Artvin / Borçka	26.10.2019
6	D182	Dalak	Rize / Ardeşen	05.11.2019
7	D183	Böbrek	Rize / Ardeşen	05.11.2019
8	D184	Böbrek	Artvin / Borçka	18.11.2019
9	D185	Böbrek	Artvin / Borçka	18.11.2019
10	D368	Dalak	Artvin / Borçka	30.10.2020
11	D369	Dalak	Artvin / Borçka	30.10.2020
12	D370	Dalak	Artvin / Borçka	30.10.2020
13	D372	Böbrek	Ordu / Perşembe	04.11.2020
14	D375	Böbrek	Rize / Fındıklı	05.11.2020
15	D380	Böbrek	Trabzon / Yomra	12.11.2020
16	D381	Dalak	Trabzon / Yomra	12.11.2020
17	D382	Böbrek	Trabzon / Yomra	12.11.2020
18	D383	Böbrek	Trabzon / Yomra	12.11.2020
19	D384	Böbrek	Artvin / Borçka	18.10.2020
20	D385	Böbrek	Ordu (Sivas)	11.11.2020
21	D386	Böbrek	Rize / Fındıklı	12.11.2020
22	D387	Dalak	Trabzon / Akçabat	03.11.2020
23	D388	Böbrek	Trabzon / Akçabat	03.11.2020
24	D398	Böbrek	Trabzon / Akçabat	08.02.2021
25	D492	Böbrek	Artvin / Borçkaa	24.04.2021
26	Referans suş	Meme	ATCC 43921	1984-86

Hastalık Etkeninin İzolasyonu: Tipik hastalık semptomu gösteren ve muayenesi yapılan balıkların

böbrek ve dalaklarından Tryptone Soy Agar (TSA) ve Broth (TSB), Brain Heart Infusion Agar (BHIA) ve Broth (BHIB) gibi besi yerlerine ekimler yapılmıştır. Soğutmalı etüvde 20±2°C'de bir hafta inkübasyona bırakılmıştır. Ekim sonucunda genellikle bakteriler 24 saat içinde üredikleri tespit edilmiştir. Besi ortamında saf olarak üreyen bakterilere hareket muayenesi, Gram boyama testi, katalaz ve oksidaz testi yapıldıktan sonra bir izolat numarası verilerek kayıt edilmiş ve çalışmada kullanılmak üzere -80°C'deki derin dondurucuda stoklanmıştır.

Bakteri izolatlarının biyokimyasal testleri: Derin dondurucuda çıkartılıp TSA ve TSB besi yerlerinde bakteriler yeniden canlandırılmıştır. TSA petri kutularında üreyen 1mm çapında üreyen saf kültürlerden alınan bakteri örnekleri lam üzerine ilave edilmiş bir damla steril FTS (%85'lik NaCl) ile karıştırılıp hareket muayenesi yapılmış ve morfolojik yapısı kontrol edilmiştir. Özellikle TSB besi yerlerinde üreyen bakterilerden hazırlanan preparatlar 40'lık objektifte incelendiğinde bakterilerin kısa zincir, tek veya çiftli yuvarlak hareketsiz bakterilerin olduğu görülmüştür. Hazırlanan bu preparatlar Gram boyama yöntemiyle boyanıp 100'lük objektifte muayene edildiğinde mor renkte ikili ve 5-6 koktan oluşan kısa zincirler tarzında bakterilerin varlığı tespit edilmiştir. Gram boyama sonrası bakteri izolatının mikroskopik sahadaki görünümü Şekil 1'de verilmiştir.

Api 20 strep testi ile bakteri izolatlarının tanımlanması: TSA saf olarak üreyen kok izolatları TSB'de üretilerek %20'lik gliserol stokları yapılmıştır TSB'den %5 koyun kanı ilave edilmiş kanlı agara ekimleri gerçekleştirilmiştir. Kanlı agar besi yerleri 25°C'deki etüvde 2 gün inkübasyona bırakılmış ve kolonilerin etrafında hemoliz zonu oluşturup oluşturmadıkları kontrol edilmiştir. Koloni etrafında oluşan tam berrak hemoliz oluşturan beta hemoliz, yeşil renkli şeffaf olmayanlar alfa hemoliz ve herhangi bir hemoliz belirtisi göstermeyenler örnekler ise gama hemoliz olarak değerlendirilmiştir. Kanlı agarda alfa hemoliz gösteren izolata ait görüntü Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 1. Gram boyama sonrası bakteri izolatının mikroskopik görünümü (Orijinal).
Figure 1. Microscopic view of the bacterial isolate after Gram staining (Original).



Şekil 2. Kanlı agarda α -hemoliz gösteren kok izolatının görünümü (Orijinal).

Figure 2. Appearance of the cocci isolate showing α -hemolysis on blood agar (Original).

Bakterilerin biyokimyasal testleri api 20 strep testi (bioMérieux, Fransa) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kanlı agarda üreyen bakteriler api 20 strep test kiti kuyucuklarına prosedürüne uygun bir şekilde yerleştirilmiştir. Kuyucukların doldurulan api 20 strep test kiti 25±1°C'lik soğutmalı inkübatöre yerleştirilmiştir. Api 20 strep test kitlerindeki kuyucuklarda oluşan renk değişimleri pozitif olarak kaydedilmiştir. Api 20 strep test kitlerine 24 saat sonra ilgili kuyucuklara birer damla olarak ayraçlar damlatılıp reaksiyon sonrası 10 dakika sonra kuyucuklarda oluşan renk değişimine göre test sonuçları pozitif veya negatif olarak kaydedilmiştir (Önal, 2019). Api 20 strep test kitlerindeki şeker testleri için 48 saat beklendikten sonra izolatların test sonuçları sarı renge dönenler pozitif (+) veya renk değişirmeyen kırmızı renge negatif (-) olarak kabul edilmiştir. Api 20 strep test

kitlerine izolatların inokülesiyondan sonra ilk görüntüleri Şekil 3'de verilmiştir.

Antibiyogram Testi: Çalışmada, tipik hastalık semptomlar gösteren gökkuşağı alabalıkların böbrek ve dalak dokusundan saf olarak izole edilen 25 adet bakteri izolatlarına antibiyogram testi yapılmıştır. Antibiyogram testleri National Committee for Clinical Laboratory (1997) bildirdiği standart disk difüzyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Antibiyogram testlerinde Ampisilin (10 μ g), Amoksisilin(10 μ g), Doksisisiklin (30 μ g), Eritromisin(15 μ g), Enrofloksasin (5 μ g), Florfenikol (30 μ g), Oksitetrasiklin(30 μ g), Oksolinik asit (2 μ g), Sulfadiazin-Trimetoprim (25 μ g), Sulfametoksazol (25 μ g), Streptomisin (10 μ g) gibi 11 farklı antibiyotik diskleri kullanılmıştır.

TSA besi yerlerinde üretilen 18 saatlik taze kültürlerden birkaç koloniden öze ile alınarak 10 ml tüplerin içinde steril edilmiş %0,85'lik 2 ml FTS'de vorteks yardımıyla vorteksenerek McFarland No: 0,5 bulanıklığına ayarlanmıştır. Hazırlanan bakteri süspansiyondan 0,2 ml alınarak kurutulmuş Müller Hilton Agar (MHA) üzerine dökülüp cam yayma çubuğu ile besi yeri yüzeyine iyice yayılmıştır (Önal, vd., 2020). Antibiyotik diskleri dispanser (Bioanalyse) yardımıyla MHA üzerine dağıtılmıştır. Bu besi yerleri 25°C'de 18 saatlik bir inkübasyona bırakılmıştır. Antibiyogram testinde her bir antibiyotik diskinin tarafında oluşan zon çapları dijital kumpas ile ölçülerek kayıt edilmiştir. Antibiyogram testinde ölçülen zon çaplarına ait sonuçlarının verileri Tablo 2'deki antimikrobiyel ajanların standart inhibisyon zon çapı aralıkları ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3. API 20 strep test kiti bakteriyel izolatı yerleştirildikten sonraki ilk görüntüsü (Orijinal).

Figure 3. The first image after placing the bacterial isolate in the API 20 strep test kit (Original).

Table 2. Antibiyotik disk içerikleri ve inhibisyon disk çapı sınır değerleri.

Table 2. Antibiotic disc contents and inhibition disc diameter limit values.

Antimikrobiyel ajanlar	Disk Konsantrasyonu	Standart İnhibisyon Zon Çapı (mm)			Referanslar
		D(R)	OH(IM)	H(S)	
Ampisilin (AM)	AM 10 μ g	≤13	14-16	≥17	NCCLS, 1997
Amoksisilin (AX)	AX 10 μ g	≤13	14-17	≥18	NCCLS, 1997
Doksisisiklin (DO)	DO 30 μ g	≤10	11-13	≥14	NCCLS, 2013
Enrofloksasin (ENR)	ENR 5 μ g	≤16	17-20	≥21	NCCLS, 1997
Eritromisin (E)	E 15 μ g	≤13	14-22	≥23	NCCLS, 1997
Florfenikol (FCC)	FCC 30 μ g	≤14	15-18	≥19	NCCLS, 1997
Oksitetrasiklin (T)	T 30 μ g	≤14	15-18	≥19	NCCLS, 1997
Oksolinik asit (OA)	OA 2 μ g	≤10	11-12	≥13	NCCLS, 1997
Streptomisin (S)	S 10 μ g	≤11	12-14	≥15	NCCLS, 1997
Sülfametoksazol (SMZ)	SMZ 100 μ g	≤12	13-16	≥17	NCCLS, 1997
Trimetoprim+Sulfamethaksazol	SXT 25 μ g	≤10	11-15	≥16	NCCLS, 1997

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

R: Resistant, IM: Intermediate, S: Sensitive.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Hastalığın dış ve iç semptomları: Hastalık vakalarında genellikle balıkların iştahsız olduğu, uyuşuk bir şekilde havuz yüzeyinde yüzdüğü ve suyun durgun olduğu köşelerde ve suyun çıkış kısmında bekledikleri, hastalığın akut döneminde balıklar yakalanmak istendiğinde ani bir hareketlerle havuz dibine kaçtıkları ve kronik dönemde daha kolay yakalandıkları gibi tipik bulgular tespit edilmiştir. Aslında hastalıklı balıklarda ilk belirti olarak deride kararma ve gözlerin yerinden fırlayacak gibi tek veya çift taraflı egzofthalmusun görülmüştür. Ayrıca, gözlerin korneasında konjesyon ve matlaşma, ileri vakalarda gözün yerinden düştüğü ve hastalığı atlatan balıklarda çoğunlukla tek taraflı körlüğün varlığı da tespit edilmiştir. Solungaç lamellerinde kanama, yüzgeçlerin tabanında, gözün çevresinde, çene altında, dalak, böbrek ve karaciğerde nokta nokta şeklinde kanamaların varlığı, safra kesesinin dolu olduğu, dalağın büyüdüğü, hava keselerinin şiş ve yangılı olduğu, bağırsağın sarımsı-beyaz bir sıvı dolu ve hemorajik olduğu, hemorajik ve prolabe olmuş bir anüsün varlığı tespit edilmiştir. Hastalıklı gökkuşaağı alabalığının tipik dış semptomları Şekil 4'de ve iç semptomlar ait noktavari kanamalar ise Şekil 5'de verilmiştir.

Konvensiyel test sonuçları: Hastalıklı gökkuşaağı alabalıkların böbrek ve dalak dokusundan izole edilen bakteri izolatlarına yapılan morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testleri yapılmıştır. Test sonuçlarına göre izolatların Gram pozitif, hareketsiz, yuvarlağa yakın formunda tekli, ikili veya 4-6 koktan oluşan kısa zincirler tarzında görüldüğü, katalaz ve oksidaz testlerinin negatif

olduğu tespit edilmiştir. Bakteri izolatlarına yapılan morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testlerin sonuçları Tablo 3'de verilmiştir.



Şekil 4. Hastalıklı gökkuşaağı alabalığının tipik dış görünümü (Orijinal).
Figure 4. Typical appearance of diseased rainbow trout (Original).



Şekil 5. Hastalıklı alabalığın hava kesesi ve periton zarındaki noktavari kanamalar (Orijinal).
Figure 5. Petechial hemorrhages in the air sac and peritoneal membrane of the diseased trout (Original).

Tablo 3. Bakteri izolatlarına ait morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal test sonuçları.

Table 3. Morphological, physiological and biochemical test results of bacterial isolates.

Karakter	Balıklardan izole edilen bakteri izolatları																										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	
Şekli	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
Hareket	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gram	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OF	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İndol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lysin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ornitin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arjinin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MR testi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VP testi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SS testi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eskulin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hemoliz	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α
%0 NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
%6,5 NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+10°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+20°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+25°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+36°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+45°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

1: D173, 2: D174, 3: D175, 4: D180, 5: D181, 6: D182, 7: D183, 8: D184, 9: D185, 10: D368, 11: D369, 12: D370, 13: D370, 14: D375, 15: D380, 16: D381, 17: D382, 18: D383, 19: D384, 20: D385, 21: D386, 22: D387, 23: D388, 24: D398, 25: D492, 26: Referans suş (*L. garvieae*, ATCC 43921).

Api 20 strep testin sonuçları: Bu çalışmada, api 20 strep kitlerindeki test sonuçlarına göre izolatların hepsinin voges proskuer (VP) testinin pozitif olduğu

belirlenmiştir. Hippurat hidroliz (HIP) testi D185, D369, D370, D387 ve D388 kodlu izolatların negatif iken diğer izolatların ise pozitif olduğu tespit edilmiştir. Eskulin

hidroliz (ESC) izolatların hepsinde pozitif olduğu tespit edilmiştir. Tüm izolatların pirrolidonil arilamidaz (PYRA) testine duyarlı olduğu belirlenmiştir. D368, D369, D370, D384, D387 ve D388 kodlanmış izolatların α -galaktosidaz (α -GAL) test sonuçları pozitif iken diğer izolatların ise negatif olduğu belirlenmiştir. β -glukuronidaz (β -GUR) test sonuçlarının izolatların hepsinde negatif olduğu, β -galaktosidaz (β -GAL) D185, D368, D369, D370, D384, D387 ve D388 kodlanmış izolatların pozitif iken diğerlerinde ise negatif olduğu tespit edilmiştir. Alkalın fosfataz (PAL) D185, D368, D369, D370 ve D384 nolu izolatların test sonuçlarının pozitif olmasına karşın diğer izolatların ise negatif sonuç verdiği gözlenmiştir. Lösin arilamidaz (LAP) izolatların tümünde test sonuçları pozitif iken, arjinin dihidrolaz (ADH) testi tek bir izolatın (D387) negatif olmasına karşın diğer izolatların test sonuçları pozitif olduğu belirlenmiştir.

Şeker testlerinden riboz (RIB) iki izolat (D387 ve D388) tarafından kullanılmadığı, fakat diğer izolatların ise pozitif olduğu gözlenmiştir. Arabinoz (ARA) üç izolat (D384, D387 ve D388) tarafından kullanıldığı belirlenirken diğer izolatların ise negatif sonuç verdiği tespit edilmiştir. Mannitol (MAN) testinin bütün izolatlarda pozitif olmasına karşın, sorbitol (SOR) testinde dört izolatın (D368, D375, D384 ve D385) pozitif sonuç oluşturmalarına karşın diğer izolatların negatif olduğu belirlenmiştir. Laktoz (LAC) testine 13 izolat (D175, D368, D369, D370, D375, D380, D381, D382, D384, D386, D387, D388 ve D398) pozitif reaksiyon meydana getirmesine karşın 12 izolatın ise negatif olduğu tespit

edilmiştir. Bakteri izolatlarından bir izolatın (D385) trehaloz (TRE) ve amigdalin (AMD) şekerlerinin test sonuçları negatif olmasına karşın diğer izolatların hepsinin pozitif olduğu gözlenmiştir. İnulin (INU) testi D385, D387 ve D388 izolatlarında pozitif sonuç oluşturmalarına karşın diğer 23 izolatın ise negatif olduğu belirlenmiştir. Rafinoz (RAF) D175, D180, D368, D369, D370, D372, D375, D384, D387 ve D388 kodlu izolatların test sonuçları pozitif olmasına karşın diğer 15 izolatın ise negatif olduğu tespit edilmiştir. Glikojen (GLYG) testi D180 kodlu izolatın pozitif iken diğer izolatların hepsinin negatif olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada kullanılan bakteri izolatların hepsi %5 koyun kımı ilave dilmiş kanlı agarda alfa hemoliz oluşturduğu gözlenmiştir. Gökkuşuğu alabalıklarının dalak veya böbreğinden izole edilen bakteri izolatları api 20 strep kitlerindeki test sonuçlarına göre çoğunun genelde 7143111 ve 7143511 kod profili oluşturduğu tespit edilmiştir. İzolatlara uygulanan api 20 strep kitlerindeki testlerinin sonuçları Tablo 4'te verilmiştir. *L. garvieae* referans izolatı (ATCC43921) ile yapılan api 20 strep test sonuçlarına ait ayıraçlar ilave edilmeden önceki ve ilave edildikten sonraki biyokimyasal testlerin sonuçları Şekil 6'da verilmiştir. Çalışmada, hastalıklı balıklardan izole edilen bakterilere yapılan api 20 strep kitlerine inokülasyondan hemen sonraki ilk görüntü ve api 20 strep kitlerinin 24 saatlik inkübasyon sonrası ayıraçlar döküldükten ve bekleme süresi sonucunda oluşan reaksiyonların görüntüsü Şekil 7'de verilmiştir.

Tablo 4. Bakteri izolatlarının api 20 strep test sonuçları.

Table 4. API 20 strep test results of bacterial isolates.

İzolat Kodu	<i>L. garvieae</i> izolatlarının API 20 strep test sonuçları																				
	VP	HP	ESC	PYRA	α -GAL	β -GUR	β -GAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG	HEM
D-173	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
D-174	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
D-175	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
D-180	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	α
D-181	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
D-182	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
D-183	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
D-184	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
D-185	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
D-368	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	α
D-369	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
D-370	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
D-372	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	α
D-375	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	α
D-380	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
D-381	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
D-382	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
D-383	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
D-384	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	α
D-385	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	α
D-386	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
D-387	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	α
D-388	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	α
D-398	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	α
D-492	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α
Referans suş	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	α

VP: Voges Proskuer, HP: Hippurat hidroliz, ESC: Eskulin hidroliz, PYRA: Pirrolidonil arilamidaz, α -GAL: α -Galaktosidaz, β -GUR: β -Glukuronidaz, β -GAL: β Galaktosidaz, PAL: Alkalın fosfataz, LAP: Lösin arilamidaz, ADH: Arjinin dihidrolaz, RIB: Riboz, ARA: Arabinoz, MAN: Mannitol, SOR: Sorbitol, LAC: Laktoz, TRE:Trehaloz, INU:İnulin, RAF: Rafinoz, AMD: Amigdalin ve GLYG: Glikojen.



Şekil 6. Referans izolat *L. garvieae* (ATCC43921)'nin api 20 strep kitindeki ayrılar dökülmeden ve döküldükten sonraki biyokimyasal testlerin sonuçları (Orijinal).

Figure 6. Results of biochemical tests of the reference isolate *L. garvieae* (ATCC43921) before and after pouring the reagents in the API 20 strep kit (Original).



Şekil 7. Api 20 strep kitine bakteri inokülasyonundan hemen sonraki ilk görüntü (a), inkübasyondan 24 saat sonra ayrılar dökülüp ve bekleme süresi sonunda biyokimyasal reaksiyonların sonuçları (Orijinal).

Figure 7. The first image immediately after bacterial inoculation into the API 20 strep kit (a), 24 hours after incubation, when the reagents are poured and the results of the biochemical reactions at the end of the waiting period (b, c, d) (Original).

Antibiogram test sonuçları: Gökkuşluğu alabalıklarından izole edilen bakteri izolatlarına uygulanan antimikrobiyel test sonuçlarına göre bakteri izolatlarının hepsinin sulfamethoksazol ve streptomisine %100, trimetoprim+sulfamethaksazole %68, ampisiline %64, enrofloksasine %40, oksitetrasiklin ve oksolinik aside %36 direnç gösterdiği belirlenmiştir. Bakteri izolatlarına karşı amoksisilin %100, doksisisiklin %76, florfenikolün %64

oranında tesirli olduğu tespit edilmiştir. Antibiogram test sonuçlarına göre ölçülen zon çaplarına verilerin değerlendirilmesi sonucu antimikrobiyel ajanlara karşı bakteri izolatların oluşturduğu hassasiyet profilleri Tablo 5'de verilmiştir. Bakteri izolatlarının antimikrobiyel ajanlara karşı meydana getirdiği hassasiyet sonuçları grafik olarak Şekil 8'de gösterilmiştir.

Table 5. Antibiyogram test sonuçlarına göre bakteri izolatlarının duyarlılık profilleri.

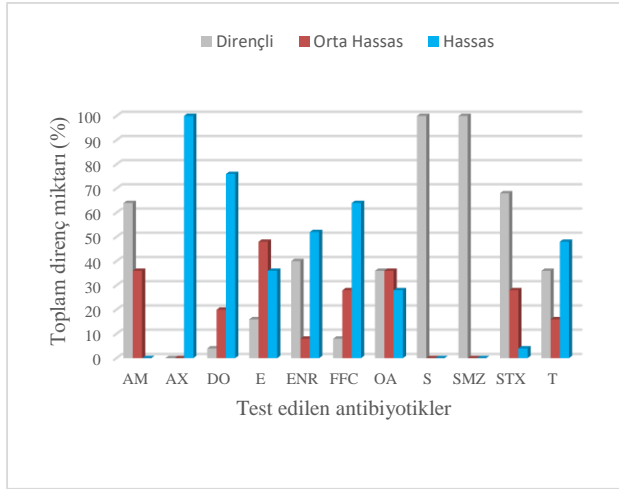
Table 5. Susceptibility profiles of bacterial isolates according to antibiogram test results.

İzolat kodu	Antibiyotik diskleri											
	AM	AX	DO	E	ENR	FFC	OA	S	SMZ	STX	T	
D173	O	H	H	H	D	D	D	D	D	O	D	
D174	O	H	H	H	D	D	D	D	D	D	H	
D175	D	D	H	H	O	D	O	D	D	D	D	
D180	D	H	H	H	H	H	O	D	D	D	H	
D181	D	H	H	D	D	H	H	D	D	D	H	
D182	D	H	H	D	H	H	D	D	D	D	H	
D183	D	H	O	O	D	D	O	D	D	D	D	
D184	D	H	O	O	D	D	O	D	D	D	D	
D185	D	H	O	O	D	D	O	D	D	D	D	
D368	D	H	O	O	D	D	O	D	D	D	D	
D369	O	H	H	O	H	H	H	D	D	O	H	
D370	O	H	H	O	H	H	H	D	D	O	H	
D372	O	H	H	O	H	H	H	D	D	O	H	
D375	O	H	H	O	H	H	H	D	D	O	H	
D380	O	H	H	O	H	H	H	D	D	O	H	
D381	O	H	H	O	H	H	H	D	D	O	H	
D382	D	H	H	H	H	H	O	D	D	H	O	
D383	D	H	H	H	H	H	D	D	D	D	O	
D384	D	H	H	H	H	H	D	D	D	D	O	
D385	D	H	H	D	H	O	O	D	D	D	D	
D386	D	H	H	H	D	D	D	D	D	D	H	
D387	D	H	H	D	O	H	D	D	D	D	D	
D388	D	H	O	O	D	O	D	D	D	D	H	
D398	D	H	D	H	H	H	O	D	D	D	O	
D492	O	H	H	O	D	H	D	D	D	D	D	

AM: Ampisilin (10µg), AX: Amoksisiklin(10µg), E: Eritromisin(15µg), ANR: Enrofloksasin (5 µg), FFC: Florfenikol (30 µg), OA: Oksolinik asit (2µg),

S: Streptomisin (10 µg), SMZ: Sulfametoksazol (25 µg), STX: Sulfadiazin-Trimetoprim (25µg), T: Oksitetrasiklin(30µg)

H: Hassas (S: Susceptible), D: Dirençli (R: Resistant), O: Orta Hassas (I: Intermediate susceptible)



Şekil 8. Bakteri izolatlarının antimikrobiyal hassasiyeti (%).
Figure 8. Antimicrobial susceptibility of bacterial isolates (%).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Fakültemiz Hastalıklar Laboratuvarına Doğu Karadeniz Bölgesindeki gökkuşağı alabalığı çiftliklerinden farklı tarihlerde getirilen tipik hastalık semptomları gösteren balık örneklerinden izole edilen hastalık etkenleri çalışılmıştır. Ülkemizin farklı bölgelerinde özellikle su sıcaklığının 18°C'nin üzerine çıktığı yaz aylarında ticari balık çiftliklerinde 5 gr'dan 1 kg'a kadar olan gökkuşağı alabalıklarında kok hastalığı olgularına sıklıkla rastlandığı, izole edilen hastalık etkeninin *L. garvieae* olduğu, daha çok porsiyonluk veya daha büyük balıklarda şiddetli ölümler (%60-80) yüzünden önemli ekonomik kayıpların meydana geldiği önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Balta ve Dengiz Balta, 2019; Diler vd., 2002; Eldar vd., 1999, Pereira vd., 2004).

Su sıcaklığının yüksek olduğu dönemlerde balıklarda hastalığın ilk belirtileri olarak deride kararma, durgunluk, iştahsızlık, anormal yüzme, tek veya çift taraflı ekzoftalmus, yüzgeç tabanlarında, burun ve göz çevresi ile çene altında hemorajilerin varlığının tespit edildiği bildirilmiştir. Ölmek üzere olan hastalıklı balıkların iç organların muayenesinde ise böbrek, karaciğer ve dalakta nokta şeklindeki kanamaların (peteşial hemoraji) varlığı, dalağın büyümüş (splenomegali) olduğu, hava kesesinin şişkin olduğu, hava kesesi ve periton zarının yaygın peteşial kanamanın olduğu, genellikle hemorajik olan bağırsakların sıvı kıvamda sarı renkli bir içerikle dolu olduğu bildirilmiştir (Balta vd., 2019; Durmaz vd., 2015).

Tipik hastalık semptomu gösteren hastalıklı gökkuşağı alabalıklarından izole edilen saf bakteri izolatların haraketsiz, gram pozitif, oksidaz ve katalaz testlerinin negatif olduğu tespit edilmiştir. Gram boyamada kısa zincirler tarzında görüldüğü belirlenmiş ve %5 koyum kanı ilave edilmiş kanlı agarda üzerinde kolonilerin alfa hemoliz oluşturduğu tespit edilmiştir. Önceki çalışmalarda *L. garvieae*'nin, yaklaşık olarak 0,7-1,4 µm çapında gram

pozitif, kok şeklinde hareketsiz, kapsüllü ya da kapsülsüz formda olduğu, sıvı besi yerlerinde üretildiğinde kısa zincirler tarzında görüldüğü, kanlı agarda üreyen kolonilerin etrafında alfa hemoliz oluşturduğu, katı besi yerlerindeki kolonilerin gri veya beyaz renkte olduğu ve etkenin fakültatif anerop bir bakteri olduğu bildirilmiştir (Kav vd., 2007, Timur vd., 2011). Bu sonuçlar bu çalışmanın sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Bu çalışmada, balıkların dalak ve böbrek gibi iç organlarından saf olarak izole edilen 25 adet bakteri izolatları Api 20 strep test kitleri kullanılarak tanımlanmaya çalışılmıştır. Sonuçların değerlendirilmesi için *L. garvieae*'nin referans izolatı (ATCC43921) kullanılmıştır. Referans şusun Api 20 strep test kitinde 7143151 profili oluşturduğu belirlenmiştir. Kok enfeksiyonu etkenini tanımlamak için kullanılan api 20 strep test kitlerindeki testlerin sonuçlarına göre izolatlar ise ağırlıklı olarak 7143111 ve 7143511 profili oluşturduğu tespit edilmiştir. Bakterilerin api 20 strep kitinde 25°C'deki inkübasyonundan sonra 7143551, 7143153, 5173111, 7373751, 5373551, 7143751, 5354571 ve 5355571 profili meydana getirdiği tespit edilmiştir. Api web sisteminde *L. garvieae*'nin referans izolatı api 20 strep test kiti sonuçları karşılaştırıldığında *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*'e %82,7 ve *Enterococcus faecium*'a %9,8 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Referans şuş ile birebir uyuşan sadece bir izolatın (D-372) olduğu tespit edilmiştir. İzolatlardan biri (D180) ise *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*'e %84,6 benzerlik göstermiştir. Bu çalışmada *Lactococcus* spp. izolatlarına ait api 20 strep kiti test sonuçları ile oluşturulan profillerin api web sisteminde karşılaştırılması ile hastalık etkenleri tanımlanmaya çalışılmıştır. Kok izolatlarına ait api 20 strep kitlerinde elde edilen test sonuçları ile belirlenen Api profili ve Api web sistemindeki benzerlik oranları yüzde olarak Tablo 6'da verilmiştir.

Api web sisteminde yapılan benzerlik karşılaştırması sonucunda bakteri izolatlarına ait biyokimyasal testlerin sonuçlarına göre mikroorganizmaların biyokimyasal profilleri üzerinde önemli birçok bilgi elde edilmesine karşın *Lactococcus* spp. izolatlarını tür seviyesinde isimlendirme için yeterli olmadığı belirlenmiştir. Çalışmada referans izolat olarak kullanılan *L. garvieae* (ATCC43921)'nin api 20 strep kiti ile oluşan biyokimyasal test sonuçlarının değerlendirilmesinde bile doğru tanımlamanın yapılamadığı tespit edilmiştir. Api strep 20 test sonucuna göre %67,2 oranında *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*'e 10 adet, %82,7 ve %84,6 oranında 1'er izolata benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. *Enterococcus faecium*'a %77,8, %74,4 ve %99,9 oranında benzerlik gösteren 1'er izolat ve %94,4 oranında ise iki izolatın benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. izolatlardan 6 adet *Enterococcus faecalis*'e

%59,9 oranında benzerlik gösterirken, 2 adet izolatın ise %92 oranında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada, *L. garvieae* izolatlarına ait api 20 strep test kitlerinden elde edilen biyokimyasal reaksiyonların sonuçları ile bakteri izolatlarının doğru isimlendirmenin yapılabilmesinin mümkün olamayacağı kanısına varılmıştır. Bu araştırmanın sonuçları, *L. garvieae* referans izolatı ve *Lactococcus* spp. izolatlarının tür seviyesinde doğru bir şekilde isimlendirilebilmesi için genetik seviyede çalışmaların yapılması gerektiğini göstermiştir. Api 20 strep test sonuçları Balta ve Dengiz Balta (2019a), Kav ve Erganis (2007) ve Balta ve Karatay'ın (2021) bulgularına benzerlik göstermiştir. Bu araştırmacılar gökkuşağı alabalıklardan izole ettikleri *L. garvieae* izolatlarını *L. garvieae* türüne özgü olduğu bildirilen 16S rRNA pLG-1

ve pLG-2 primerleri kullanarak PZR testi ile etkeni *L. garvieae* olarak tanımladıkları rapor edilmiştir (Balta & Dengiz Balta, 2019a; Kav & Erganis, 2007; Balta & Karatay, 2021). Genetik çalışmalar sonucunda gen banka yüklenmiş *L. garvieae*'lara ait genomik verilerinin analiz edildiği bir başka çalışmada ortalama nükleotid kimlik değerlerine dayandırılarak yapılan değerlendirmede dört farklı grubun veya alt grubun varlığından bahsedilmiştir (Kumru, 2021). Başka bir çalışmada, filogenetik ve genotipleme analiz sonuçlarına göre *Lactococcus* cinsinin yeni bir türü olarak *Lactococcus petauri* ilk kez Goodman ve arkadaşları tarafından tanımlanmış ve bu yeni farklı türün genomunun çoğunu *L. garvieae* ile benzerlik taşıdığı rapor edilmiştir (Kotzamanidis vd., 2020).

Tablo 6. Bakteri izolatlarına ait profillerin api wep sistemindeki % benzerlik oranları.
Table 6. Similarity rates of profiles in the api wep system of bacterial isolates.

İzolatlar	API profili	Benzerlik yüzdesi
D-173	7143111 %67,2 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	%27,9 <i>Enterococcus faecalis</i>
D-173	7143111 %67,2 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	%27,9 <i>Enterococcus faecalis</i>
D-175	7143551 %62,2 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	%22 <i>Enterococcus faecalis</i>
D-180	7143153 %84,6 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	%10,1 <i>Enterococcus faecium</i>
D-181	7143111 % 67,2 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	%27,9 <i>Enterococcus faecalis</i>
D-182	7143111 %67,2 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	%27,9 <i>Enterococcus faecalis</i>
D-183	7143111 %67,2 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	%27,9 <i>Enterococcus faecalis</i>
D-184	7143111 %67,2 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	%27,9 <i>Enterococcus faecalis</i>
D-185	5173111 %67,2 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	%27,9 <i>Enterococcus faecalis</i>
D-368	7373751 %74,4 <i>Enterococcus faecium</i>	%14,2 <i>Streptococcus uberis</i>
D-369	5373551 %94,9 <i>Enterococcus faecium</i>	%4,1 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
D-370	5373551 %94,9 <i>Enterococcus faecium</i>	%4,1 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
D-372	7143151 %82,7 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	%9,8 <i>Enterococcus faecium</i>
D-375	7143751 %92 <i>Enterococcus faecalis</i>	%5,8 <i>Streptococcus uberis</i>
D-380	7143511 %59,9 <i>Enterococcus faecalis</i>	%35 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
D-381	7143511 %59,9 <i>Enterococcus faecalis</i>	%35 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
D-382	7143511 %59,9 <i>Enterococcus faecalis</i>	%35 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
D-383	7143111 % 67,2 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	%27,9 <i>Enterococcus faecalis</i>
D-384	7143751 %92 <i>Enterococcus faecalis</i>	%5,8 <i>Streptococcus uberis</i>
D-385	7143511 %59,9 <i>Enterococcus faecalis</i>	%35 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
D-386	7143511 %59,9 <i>Enterococcus faecalis</i>	%35 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
D-387	5354571 %77,8 <i>Enterococcus faecium</i>	%20,3 <i>Globicatella sanguinis</i>
D-388	5355571 %99,9 <i>Enterococcus faecium</i>	%0,1 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
D-398	7143511 %59,9 <i>Enterococcus faecalis</i>	%35 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
D-492	7143111 % 67,2 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	%27,9 <i>Enterococcus faecalis</i>
Referans suş	7143151 %82,7 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	%9,8 <i>Enterococcus faecium</i>

Api web sisteminde yapılan benzerlik karşılaştırması sonucunda bakteri izolatlarına ait biyokimyasal testlerin sonuçlarına göre mikroorganizmaların biyokimyasal profilleri üzerinde önemli birçok bilgi elde edilmesine karşın *Lactococcus* spp. izolatlarını tür seviyesinde isimlendirme için yeterli olmadığı belirlenmiştir. Çalışmada referans izolat olarak kullanılan *L. garvieae* (ATCC43921)'nin api 20 strep kiti ile oluşan biyokimyasal test sonuçlarının değerlendirilmesinde bile doğru tanımlamanın yapılamadığı tespit edilmiştir. Api strep 20 test sonucuna göre %67,2 oranında *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*'e 10 adet, %82,7 ve %84,6 oranında 1'er izolata benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. *Enterococcus faecium*'a %77,8, %74,4 ve %99,9 oranında benzerlik gösteren 1'er izolat ve %94,4 oranında ise iki izolatın benzerlik gösterdiği

belirlenmiştir. izolatlardan 6 adet *Enterococcus faecalis*'e %59,9 oranında benzerlik gösterirken, 2 adet izolatın ise %92 oranında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada, *L. garvieae* izolatlarına ait api 20 strep test kitlerinden elde edilen biyokimyasal reaksiyonların sonuçları ile bakteri izolatlarının doğru isimlendirmenin yapılabilmesinin mümkün olamayacağı kanısına varılmıştır. Bu araştırmanın sonuçları, *L. garvieae* referans izolatı ve *Lactococcus* spp. izolatlarının tür seviyesinde doğru bir şekilde isimlendirilebilmesi için genetik seviyede çalışmaların yapılması gerektiğini göstermiştir. Api 20 strep test sonuçları Balta ve Dengiz Balta (2019a), Kav ve Erganis (2007) ve Balta ve Karatay'ın (2021) bulgularına benzerlik göstermiştir. Bu araştırmacılar gökkuşağı alabalıklardan izole ettikleri *L. garvieae* izolatlarını *L. garvieae* türüne özgü olduğu bildirilen 16S rRNA pLG-1

ve pLG-2 primerleri kullanarak PZR testi ile etkeni *L. garvieae* olarak tanımladıkları rapor edilmiştir (Balta & Dengiz Balta, 2019a; Kav & Erganis, 2007; Balta & Karatay, 2021). Genetik çalışmalar sonucunda gen banka yüklenmiş *L. garvieae*'lara ait genomik verilerinin analiz edildiği bir başka çalışmada ortalama nükleotid kimlik değerlerine dayandırılarak yapılan değerlendirmede dört farklı grubun veya alt grubun varlığından bahsedilmiştir (Kumru, 2021). Başka bir çalışmada, filogenetik ve genotipleme analiz sonuçlarına göre *Lactococcus* cinsinin yeni bir türü olarak *Lactococcus petauri* ilk kez Goodman ve arkadaşları tarafından tanımlanmış ve bu yeni farklı türün genomunun çoğunu *L. garvieae* ile benzerlik taşıdığı rapor edilmiştir (Kotzamanidis vd., 2020).

Tür düzeyinde bakterilerin tanımlamasında en çok kullanılmakta olan yöntemlerin başında geleneksel morfolojik, fiziksel ve biyokimyasal testlerin yanı sıra genetik testler gelmektedir. Geleneksel biyokimyasal testlerin dışında hızlı test kitleri (api sistemi gibi) ile tanımlanmaları yapılmaktadır. Daha önceki çalışmalarda balık hastalık etkenlerin tanımlamasında kullanılan Api 20e kit test sonuçlarının Api wep sistemine ait veri tabanında yer almadığı ve farklı inkübasyon sıcaklıklarındaki biyokimyasal testlerin sonuçlarının hatalı bir şekilde değerlendirilerek yanlış isimlendirilmelerin yapıldığı rapor edilmiştir (Popovic vd., 2007; Balta ve Dengiz Balta, 2017). Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinden değişik tarihlerde toplanan balık örneklerinde izole edilen 22 farklı *L. garvieae* suşlarının fenotipik, serotipik ve genotipik farklılıklarının ortaya çıkartılmasının hedeflendiği başka bir çalışmada ise api rapid ID 32 strep test kitleri kullanılarak yapılan çalışmada fenotipik olarak 3 değişik profilin meydana edildiği rapor edilmiştir (Önal, 2016). Aynı çalışmada 22 izolatın gen lokuslarındaki allellerinden elde edilen binomial veriler ile oluşturulan dendrogramda ise 10 farklı genetik profil grubun ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Önal, 2016). Api rapid ID 32 strep test kitleri kullanılarak yapılan başka bir çalışmada biyokimyasal test sonuçlarına göre 2 adet *L. garvieae* izolatın hatalı bir şekilde *Lactococcus lactis* olarak isimlendirmenin haricinde, diğer sekiz *L. garvieae* izolatı ≥ 99 güven aralığında başarıyla tanımlandığı rapor edilmiştir. Aynı çalışmada *L. petauri* izolatlarının üçü hariç diğer izolatların %99,9 ile %55,1 arasında değişen güven düzeylerinde *L. garvieae* olarak tanımlanmasına karşın, 18 izolatın ise *Enterococcus faecium*, *L. lactis* subsp. *lactis* ve *Streptococcus uberis*'e %30'un altında benzerlik gösterdiği rapor edilmiştir. Sonuç olarak, api rapid ID 32 strep testleri biyokimyasal sonuçlarına göre hippurati hidrolize eden ve sükröz ile tagatozdan asit üreten izolatların muhtemelen *L. petauri* olarak tanımlandığı, bu testleri negatif sonuç verenlerin ise *L. garvieae* olarak tanımlanabileceği bildirilmiştir (Vale vd., 2024). Aynı çalışmada başlangıçta

L. garvieae olarak tanımlanan laktokokkozun endemik sayılabileceği ülkelerden (İspanya, İtalya, Türkiye ve Yunanistan) 37 izolatın genom dizileri elde edilmiş, 11 izolatın genomları ise GenBank veri tabanından sağlanan toplam 48 izolatın tüm genom dizileri ve genomlarının ikili karşılaştırmaları kullanılarak yapılan in-silico DNA-DNA hibridizasyonu (dDDH) ve ortalama nükleotid kimliği (ANI) değerleri belirlenerek yapılan inceleme sonucunda daha önce *L. garvieae* olarak tanımlanan izolatların %60,4'ünün *L. petauri* olduğu rapor edilmiştir (Vela vd., 2024). Gökkuşluğu alabalıklarındaki hastalık vakalarından izole edilen kok hastalık etkenlerinin 16S rRNA sekans sonuçlarına göre *L. garvieae* olarak tanımlanırken yapılan tüm genom dizilim çalışmaları ile izolatların *L. garvieae* olmadığı anlaşılmış ve bakterinin *L. petauri* olduğu rapor edilmiştir (Altınok vd., 2022; Saticioglu vd., 2023). Bu çalışmada, api 20 strep test sonuçlarına göre hippurat testi D185 nolu izolatın negatif olmasına karşın D275 nolu izolatın ise pozitif olan iki farklı izolatın daha sonraki bir projede yapılan tüm genomik dizi analiz sonuçlarına göre etkenlerin *L. petauri* olduğu tespit edilmiştir (Yayınlanmadı). Vale vd. (2024) ve Saticioglu vd. (2023) çalışmalarında hippurat test sonucu pozitif olanların *L. petauri*, negatif olanların ise *L. garvieae* olduğu rapor edilse de bu çalışma ile hippurat testinin ayırt edici olmadığı belirlenmiştir. Bu çalışmada referans olarak kullanılan NCBI sisteminde kayıtlı ATCC 43921 *Lactococcus garvieae* izolatına yapılan api 20 strep test kitinde hippurat testinin pozitif reaksiyon verdiği tespit edilmiştir.

Ülkemizin farklı coğrafik bölgelerindeki gökkuşluğu alabalık çiftliklerinde hastalık vakalarından izole edilen laktokokkoz etkenlerinin önemli ekonomik kayıplara neden olduğu ve hastalığın tedavisinde gelişmiş ilaç kullanımına bağlı birçok araştırmacı tarafından birçok antimikrobiyel ajana karşı direnç şekillendiği rapor edilmiştir (Kav & Erganis, 2007; Ture & Boran, 2015, Hancı & Onuk, 2018; Balta & Dengiz Balta, 2019a; Balta & Karatay, 2021). Bu çalışmada, antimikrobiyal maddelere duyarlılığı belirlemek için yapılan antibiyogram test sonuçlarına göre çalışmada kullanılan izolatların hepsi sulfamethoksazol ve streptomisin'e karşı %100 dirençli olduğu tespit edilmiştir. Amoksisilinin %100, doksisisiklinin %76 ve florfenikolün %64 oranlarında izolatların hassas olduğu belirlenmiştir. Başka bir çalışmada bölgemizdeki alabalık çiftliklerden izole edilen *L. garvieae* izolatlarının antimikrobiyel ajanlara karşı çoklu dirence sahip olmasına karşı β -laktam grubu antibiyotiklerin ve florfenikolün etkili bileşiklerin olduğu bildirilmiştir (Ture & Boran, 2015). Yapılan farklı çalışmalarda laktokokkoz izolatlarının gentamisin, neomisin, linkomisin ve trimetoprim+sulfametoksazol'e karşı %100, Oksitetrasiklin %80 ve eritromisin'e %90 dirençli (Altın

vd. 2013), streptomisin, sulfametoksazol ve sulfametoksazol/trimetoprim'e %100 dirençli (Balta & Dengiz Balta, 2019a), trimetoprim+sulfametoksazol'e %100, ampisiline %94,2, oksitetrasikline %72,5, eritromisine %55,07 (Balta & Karatay, 2021) trimetoprim+sulfametoksazol'e %86,3 (Ture & Boran, 2015), flumekuın, gentamisin ve oksolinik asit'e %100 ve trimetoprim+sulfametoksazol'e ise %52 dirençli (Hancı & Onuk, 2018) olduğu rapor edilmiştir. Antimikrobiyel etkenlerdeki bu benzer ve farklı direnç oluşumu muhtemelen antibiyogram testleri yapılmadan geliş güzel kullanımına ve kullanım sıklığına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışma sonucunda, akuakültürde sürdürülebilir bir üretim için insan sağlığı, çevre kirliliği ve bakterilerde genetik olarak aktarılabilir direnç oluşumuna neden olması sebebi ile antimikrobiyel ajanların reçetesiz geliş güzel kullanımına izin verilmemesinin daha faydalı olacağı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Akinbowale, O.L., Peng, H. & Barton, M.D. (2006).** Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. *Journal of Applied Microbiology*, **100**(5), 1103-1113. DOI: [10.1111/j.1365-2672.2006.02812.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02812.x)
- Altınok, İ., Öztürk, R.Ç. & Türe, M. (2022).** NGS analysis revealed that *Lactococcus garvieae* Lg-Per was *Lactococcus petauri* in Türkiye. *Journal of Fish Diseases*, **25**(12), 1839-1843. DOI: [10.1111/jfd.13708](https://doi.org/10.1111/jfd.13708)
- Altun, S., Onuk, E.E., Çiftçi, A., Büyükekiz, A.G. & Duman, M. (2013).** Phenotypic, genotypic characterisation and antimicrobial susceptibility determination of *Lactococcus garvieae* strains. *Kafkas Üni. Vet. Fak. Derg.*, **19**, 375-381.
- Avci, H., Aydoğan, A., Tanrikul, T.T. & Birincioğlu, S.S. (2010).** Pathological and microbiological investigations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) naturally infected with *Lactococcus garvieae*. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, **16**(Suppl-B), 313-318.
- Avci, H., Birincioğlu, S.S., Tanrikul, T.T., Epikmen, E.T., Metin, N. & Avsever, M.L. (2014).** Experimental *Lactococcus garvieae* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792: a comparative histopathological and immunohistochemical study. *Journal of Fish Diseases*, **37**, 481-495. DOI: [10.1111/jfd.12132](https://doi.org/10.1111/jfd.12132)
- Balta, F. & Dengiz Balta, Z. (2016).** Deniz suyuna nakledilen gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yavrularında görülen vibrio enfeksiyonu ve tedavisi. *Anadolu Çev. ve Hay. Bil. Dergisi*, **1**(1), 14-20. DOI: [10.35229/jaes.272222](https://doi.org/10.35229/jaes.272222)
- Balta, F. & Dengiz Balta, Z. (2017).** Doğu Karadeniz'de yetiştiriciliği yapılan gökkuşuğu 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. & Dengiz Balta, Z. (2019a).** The isolation of *Lactococcus garvieae* from eyes of diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with exophthalmia. *Journal of Anatolian Env. and Anim. Sciences*, **4**(1), 27-33. DOI: [10.35229/jaes.527258](https://doi.org/10.35229/jaes.527258)
- Balta, F. & Dengiz Balta, Z. (2019b).** Preparation of O-antigen from *Yersinia ruckeri* serotype O1 and use in the slide agglutination test. *Journal of Anatolian Env. and Anim. Sciences*, **4**(3), 480-483. DOI: [10.35229/jaes.645416](https://doi.org/10.35229/jaes.645416)
- Balta, F. & Karatay, İ. (2021).** Gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) görülen *Lactococcus garvieae* enfeksiyonu ve tedavisi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, **6**(4), 651-661. DOI: [10.35229/jaes.1024825](https://doi.org/10.35229/jaes.1024825)
- Balta, F. & Yılmaz, H. (2019).** Kültür Levreklerinde (*Dicentrarchus labrax*) *Vibrio parahaemolyticus* Enfeksiyonu. *Journal of Anatolian Env. and Anim. Sciences*, **4**(2), 104-110. DOI: [10.35229/jaes.544439](https://doi.org/10.35229/jaes.544439)
- Balta, F. (2016).** Phenotypic, serotypic and genetic characterization and antimicrobial susceptibility determination of *Vibrio anguillarum*, isolated 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 gökkuşuğu alabalık çiftliklerinde izole edilen *Aeromonas* spp. İzolatlarının antimikrobiyel hassasiyetin belirlenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Bil. Dergisi*, **5**(3), 397-407. DOI: [10.35229/jaes.785447](https://doi.org/10.35229/jaes.785447)
- Balta, F., Dengiz Balta, Z., Ozgumus, O.B. & Çağırğan, H. (2016).** Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliklerinde *Yersinia ruckeri*'nin portörlük yönünden tetkiki ve antimikrobiyal direncin tespiti. *Anadolu Çev. ve Hay. Bil. Dergisi*, **1**(3), 72-76. DOI: [10.35229/jaes.280741](https://doi.org/10.35229/jaes.280741)
- Balta, F., Sandalli, C., Kayis, S. & 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.
- Cai, Y., Yang, J., Pang, H. & Kitahara, M. (2011).** *Lactococcus fujiensis* sp. nov, a lactic acid bacterium isolated from vegetable matter. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **61**, 1590-1594.
- Çağırğan, H. (2004).** Biotyping of *Lactococcus garvieae* isolated from Turkey. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **21**(3-4), 267-269.
- 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, 48s.
- Dengiz Balta, Z., Akhan, S. & 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. DOI: 10.3906/vet-1606-32
- Diler, O., Altun, S., Adiloglu, A.K., Kubilay, A. & Isikli, B. (2002).** First occurrence of Streptococcosis affecting farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Bulletin-European Association of Fish Pathologists*, **22**(1), 21-26.
- Dolgun, O. (2015).** Gökkuşluğu alabalıklarından *Lactococcus garvieae* identifikasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Türkiye, 49s.
- Durmaz, Y. & Kılıçoğlu, Y. (2015).** Bir alabalık çiftliğinde doğal enfekte gökkuşluğu alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) *Lactococcus garvieae*'nin kültür ve PCR ile saptanması ve etkenin antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, **10**(2), 109-115. DOI: 10.17094/avbd.58682
- Eldar, A., Gorla, M., Ghittino, C., Zlotkin, A. and Bercovier, H. (1999).** Biodiversity of *Lactococcus garvieae* strains isolated from fish in Europe, Asia, and Australia. *Applied and Environmental Microbiology*, **65**(3), 1005-1008.
- Epikmen, E.T., Avcı, H., Tanrikul, T.T., Birinciöglü, S.S. & Aydoğan, A. (2020).** Pathological and microbiological investigations of naturally infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with *Flavobacterium psychrophilum*. *Kocatepe Vet J.* **13**(2):172-178. DOI: 10.30607/kvj.689521
- Fenotipik ve Genotipik Olarak Belirlenmesi, *Etilik Vet. Mikrobiyol. Derg.*, **29**(2), 94-103
- Hancı, İ. & Onuk, E.E. (2018).** *Lactococcus garvieae* İzolatlarının Antimikrobiyal Direnç Profillerinin
- Kav, K. & Erganiş, O. (2007).** Konya bölgesinde bulunan gökkuşluğu alabalığı (*Onchyrnus mykiss*) çiftliklerinden *Lactococcus garvieae* izolasyonu, identifikasyonu ve fenotipik özelliklerinin belirlenmesi. *Veteriner Bilimleri Dergisi. Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, **23**(1), 7-17.
- Kaya, Y., Duyar, H.A. & Erdem, M.E. (2004).** Balık yağ asitlerinin insan sağlığı için önemi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **21**(3-4), 365-370.
- Kirkan, S., Parin, U. & Dolgun, O. (2018).** Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR from rainbow trout and investigation of susceptibility to antibiotics. *Inter J Vet Sci*, **7**(1), 28-32.
- Kotzamanidis, C., Malousi A., Bitchava, K., Vafeas, G., Chatzidimitriou, D., Skoura, L., E. Papadimitriou, Chatzopoulou, F. & Zdragas, A. (2020).** First Report of Isolation and Genome Sequence of *L. petauri* Strain from a Rainbow Trout Lactococcosis Outbreak. *Curr Microbiol* **77**, 1089-1096. DOI: 10.1007/s00284-020-01905-8
- Kum, C., Gökbulut, C., Akar, F., Kırkan, Ş. & Sekkin, S. (2004).** Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Enterococcus seriolicida* izolasyonu ve etkili antibakteriyal sağaltım seçeneğinin belirlenmesi. *Vet. Hek. Dern. Derg.*, **75**, 47-53.
- Kumru, S. (2021).** *Lactococcus garvieae*'nin Genomik Yaklaşımlarla Çeşitliliği ve Antimikrobiyal Direnci. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, **6**(4), 506-513.
- Matyar, F., Akkan, T., Uçak, Y. Eraslan, B. (2010).** *Aeromonas* and *Pseudomonas*: antibiotic and heavy metal resistance species from Iskenderun Bay, Turkey (northeast Mediterranean Sea). *Environ Monit Assess*, **167**, 309-320. DOI: 10.1007/s10661-009-1051-1
- Matyar, F., Eraslan, B., Akkan, T., Kaya, A. & Dinçer, S. (2009).** İskenderun Körfezi balıklarından izole edilen bakterilerde antibiyotik ve ağır metal dirençliliklerinin araştırılması. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, **2**(2), 1-5.
- Önalın, S. (2019).** Expression differences of stress and immunity genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) with different bacterial fish diseases. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, **71**, 1-10. IJA_71.2019.1597
- Önalın, Ş. (2016).** Van, Bitlis, Muş ve Hakkari illerinde bulunan gökkuşluğu alabalığı çiftliklerinden elde edilen *Lactococcus garvieae* izolatlarının fenotipik, serotipik ve genotipik farklılıklarının belirlenmesi. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, Türkiye, 121s.
- Pereira, F., Ravelo, C., Toranzo, A.E. & Romalde, J.L. (2004).** *Lactococcus garvieae*, an emerging pathogen for the portuguese trout culture. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, **24**, 274-279.
- Popovic, N.T., Coz-Rakovac, R. & Strunjak-Petrovic, I. (2007):** Commercial phenotypic tests (API 20E) indigagnosis of fish bacteria: A review. *Veterinarni Medicina*, **52**, 49-53.
- Roberts, J. R. & Shepherd, J.C. (2001).** *Alabalık ve Salmon Hastalıkları*. Vatansver, H. (Çeviri), Yücel Ofset Matbaacılık Turizm San. ve Tic. Ltd.Şti 1. Baskı, ISBN: 975-94467-2-3, 254s. 1-85.
- Saticioglu, I.B., Onuk, E.E., Ay, H., Ajmi, N., Demirbas, E. & Altun, S. (2023).** Phenotypic and molecular differentiation of *Lactococcus garvieae* and *Lactococcus petauri* isolated from trout. *Aquaculture*, **577**, 739933, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2023.739933
- Schmidt, A.S., Bruun, M.S., Dalsgaard, I., Pedersen, K. & Larsen, J.L. (2000).** Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four

- Danish rainbow trout farms. *Applied and Environmental Microbiology*, **66**(11), 4908-4915. DOI: [10.1128/AEM.66.11.4908-4915.2000](https://doi.org/10.1128/AEM.66.11.4908-4915.2000)
- Sipahi, N., Mutlu, C. & Akkan, T. (2013)**. Antibiotic and heavy metal resistance levels of *Enterobacteriaceae* isolated from retail fishes in Giresun. *Gıda* **38**(6), 343-49. DOI: [10.5505/gida.2013.55264](https://doi.org/10.5505/gida.2013.55264)
- Tanrikul, T.T. (2007)**. Vibriosis as an epizootic disease of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **10**(10), 1733-1737. DOI: [10.3923/pjbs.2007.1733.1737](https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.1733.1737)
- Timur, G., Yardımcı, R., Ürkü, Ç. & Çanak, Ö. (2011)**. Marmara Bölgesi kültür gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, L.) Lactococcosis'in bakteriyolojik ve histopatolojik metodlarla teşhisi. *Aquatic Sciences and Engineering*, **26**(2), 63-81.
- Tsai, M.A., Wang, P.C., Yoshida, T., Liaw, L.L. & Chen, S.C. (2013)**. Development of a sensitive and specific LAMP PCR assay for detection of fish pathogen *Lactococcus garvieae*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **102**(3), 225-235. DOI: [10.3354/dao02546](https://doi.org/10.3354/dao02546)
- Ture, M. & Boran, H. (2015)**. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance of *Lactococcus* sp. strains isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bull Vet Inst Pulawy*, **59**, 37-42.
- TÜİK. (2023)**. Su Ürünleri İstatistikleri. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Fishery-Products-2022-49678>. Erişim Tarihi: 05.02.2024.
- Vela, A.I., Blanco, M.d.M., Colussi, S., Kotzamanidis, C., Prearo, M., Altinok, I., Acutis, P.L., Volpatti, D., Alba, P., Feltrin, F., Ianzano, A., Domínguez, L. & Fernández-Garayzábal, J.F. (2024)**. The association of *Lactococcus petauri* with lactococcosis is older than expected. *Aquaculture*, **578**, 740057. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2023.740057](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740057)