

Research Article
Araştırma Makalesi

Elazığ İlindeki Bazı Alabalık İşletmelerinde İzole Edilen *Flavobacterium psychrophilum*'un Antibakteriyel Duyarlılıklarının İncelenmesi

Mikail ÖZCAN^{1*}, Mustafa SARIEYYÜPOĞLU²

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

²Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Elazığ, Türkiye

* Sorumlu yazar: Tel: 0344 2802097 Faks: 0344 2802097
e mail: mikailozcan@ksu.edu.tr

Geliş Tarihi: 06.06.2013

Kabul Tarihi: 14.06.2013

Abstract

Investigation of the Antibacterial Susceptibilities of *Flavobacterium psychrophilum* Isolated in Some Trout Farms of Elazığ City

In this study, it was aimed to investigate antibacterial susceptibilities of *Flavobacterium psychrophilum* isolated trout fry in four rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) farms in Keban district of Elazığ province. For bacterial isolations, total of 4024 samples were collected from rainbow trout farms between December 2008 and July 2009. In these examples 160 *F. psychrophilum* was isolated by using culture methods and biochemical tests. Polymerase Chain Reaction (PCR) technique was performed with the molecular confirmation of this *F. psychrophilum* strains. Kirby-bauer Disc diffusion method was used to evaluate antibacterial susceptibility. *Flavobacterium psychrophilum* strains were found sensitive to various antibacterial agent, such as, Oxytetracycline, Florfenikol, Enrofloxacin and Ciprofloxacin.

Keywords: *Flavobacterium psychrophilum*, Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Polymerase Chain Reaction (PCR), Antibacterial susceptibility

Özet

Bu çalışma ile Elazığ ili Keban ilçesinde bulunan dört ayrı Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) işletmesindeki yavrularda izole edilen *Flavobacterium psychrophilum* izolatlarının antibakteriyel duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla yapıldı. Bu çalışma, Aralık 2008 ve Temmuz 2009 tarihleri arasında alabalık işletmelerinden toplam 4024 örnek toplandı. Bu örneklerde 160 adet *F. psychrophilum* izole edildi. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tekniği ile bu *F. psychrophilum* suşlarının moleküler teşhisi yapıldı. Elde edilen izolatların antibakteriyel ilaçlara karşı duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. *F. psychrophilum* suşları; Oksitetrasiklin, Florfenikol, Enrofloksasin ve Siprofloksasin antibakteriyellerine ise duyarlı olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: *Flavobacterium psychrophilum*, Gökkuşluğu alabalığı, *Oncorhynchus mykiss*, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Antibakteriyel duyarlılığı

Giriş

Psikrofiloz (Bakteriyel soğuk su hastalığı, Pedinkül hastalığı, Rainbow Trout Fry Syndrome -RTFS); *F. psychrophilum*'un neden

olduğu, özellikle kuluçkahanelerde su sıcaklığının 10°C'nin altına düştüğü durumlarda meydana gelen, septisemik karakterli, akut seyir-

* Bu araştırma, birinci yazarın Doktora tez çalışmasının bir bölümünden özetlenmiştir.

© Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Trabzon

seyirli, epidemik ve öldürücü bir enfeksiyondur. Psikrofilozis, Türkiye'de ilk olarak 1993 yılında yavru gökkuşağı alabalıklarında saptanmış ve daha sonraki yıllarda farklı coğrafik bölgelere yayılarak balık üretim tesislerinde ciddi ekonomik kayıplara neden olmuştur. Şimdiye kadar ülkemizde bu hastalık şubat-haziran aylarında yaygın halde görülmüş, yavru alabalıkların önemli bir bakteriyel hastalığı haline gelmiştir (Bernardet ve Keroualt, 1989; Austin, 1992; Lumsden vd., 1996; Diler vd., 2003; İspir vd., 2004; Arda vd., 2005).

F. psychrophilum kültürü yapılan salmonid türlerden *Oncorhynchus mykiss*, *Salmo trutta*, *Salvelinus fontinalis*, *Salmo namaycush* (Shotts ve Starliper, 1999; Ekman, 2003; Nematollahi vd., 2003; Cipriano ve Holt, 2005) ile *Anguilla anguilla*, *Cyprinus carpio*, *Tinca tinca* gibi salmonid olmayan türlerden de izole edilmiştir (Bernardet ve Keroualt, 1989; Lorenzen vd., 1991; Austin, 1992; Holliman, 1993; Lorenzen vd., 1997; Plumb, 1999; Ekman, 2003; Cipriano ve Holt, 2005).

F. psychrophilum, hastalığa yol açtığı gibi alabalıkların deri, mukoza, yüzgeç, solungaç, operkulum, ovaryum sıvısı ve sindirim sisteminin doğal florasında da bulunmaktadır (Diler, 2000; Nematollahi vd., 2003; Arda vd., 2005; Kubilay vd., 2009a; Kubilay vd., 2009b). Ayrıca etkenin hasta anaç balıkların yumurtalarına, buradan da yavru balıklara bulaşabildiği bildirilmiştir (Balta, 1997; Diler vd., 2003). Çevresel faktörlerin (özellikle su sıcaklığının düşmesi, kalitesi düşük sular, balık popülasyonundaki artış, kötü bakım-besleme gibi) değişmesiyle etkenin virulensi artmakta ve enfeksiyona neden olmaktadır. Etken temas ve su yoluyla balıklar arasında hızlı bir şekilde yayılarak bulaştığından gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan işletmelerde aşırı ölümlere ve sonuçta işletmelerde önemli ekonomik kayıplara neden

olmaktadır (Cipriano ve Holt, 2005).

Psikrofiloz'un kontrolünde etkin bir aşı uygulamasının olmaması ve bakteriyel bir hastalık olması nedeniyle antibiyotik ile sağaltımı ön plana çıkmaktadır. Ancak kültür balıkçılığında yaygın olarak görülen bakteriyel hastalıkların tanı ve sağaltımında etken izolasyonu ve identifikasyonu yapılmadan, bilinçsiz ve yaygın bir şekilde antibiyotik kullanımı, dirençli suşların gelişmesine neden olmakta ve sonuçta hastalıkların sağaltımında güçlüklerle karşılaşmaktadır (Faruk, 2000; Midtlyyng, 2002; Cipriano ve Holt, 2005).

Bu çalışma ile Elazığ ili Keban ilçesinde bulunan dört ayrı Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) işletmesindeki yavrularda izole edilen *Flavobacterium psychrophilum* bakterisinin antibakteriyel duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla yapıldı.

Materyal ve Metot

Örneklerin Toplanması

Çalışmada Aralık 2008 ve Temmuz 2009 tarihleri arasında Elazığ'ın Keban ilçesinde ticari olarak gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan ve kuluçkahane bölümüne sahip 4 işletmeden örnekler toplandı. Toplam 4024 adet örnek yumurta, ovaryum sıvısı, sperm, povidin/iodin solüsyonuyla yıkanmış yumurta, döllenmiş yumurta, gözlenmiş yumurta, keseli yavru, 5 gramdan küçük yavru, 5 gramdan büyük sağlıklı yavru alabalık dalağı, 5 gramdan büyük sağlıklı yavru alabalık karaciğeri, 5 gramdan büyük sağlıklı yavru alabalık böbreği, 5 gramdan büyük sağlıklı yavru alabalık bağırsağı, hastalıktan şüpheli ve yeni ölmüş yavru alabalık dalağı, hastalıktan şüpheli ve yeni ölmüş yavru alabalık karaciğeri, hastalıktan şüpheli ve yeni ölmüş yavru alabalık böbreği, hastalıktan şüpheli ve yeni ölmüş yavru alabalık bağırsağı, yem ve su'dan alındı.

***F. psychrophilum*'un Konvansiyonel ve Genetik İzolasyonu**

F. psychrophilum'un izolasyonu için Cytophaga Agar (CA), Cytophaga Broth (CB), Modified (Modifiye) Anacker ve Ordal Agar (MAOA), Modified Anacker ve Ordal Broth (MAOB), Tryptone (Trypton) Yeast Extract Salt Agar (TYES-A), Tryptone Yeast Extract Salt Broth (TYES-B), Enriched Anacker ve Ordal+Fetal Bovine Serum+Agar (EAO+FBS+A), Enriched Anacker ve Ordal + Fetal Bovine Serum + Broth (EAO+FBS+B), Tryptone Yeast Extract Salt Agar + Tobramycin (TYES-A+T) Tryptone Yeast Extract Fetal Bovine Serum Agar (TYFBS-A) spesifik besiyerleri kullanıldı. Bütün ekim yapılan besiyerleri 15 °C'de 5-7 gün süreyle soğutmalı etüvde inkübasyona bırakıldı. CA, TYES-A, MAOA, EAO+FBS+A, TYES+ TOBRAMYCİN + A besiyerlerinde üreyen sarı renkteki kolonilerden subkültür elde etmek için TYES-A ve EAO+FBS+A besiyerlerine ekimler yapıldı. Bu kolonilerden Gram boyama yapılarak etkenin boyama özelliği ve kültürün saflığı kontrol edildi. Gram negatif ve çomak şekilli bakterilerden öncelikle katalaz ve fleksirubin pigment testleri yapıldı. Bu testlerden katalaz yarı pozitif ve fleksirubin pigment oranj (portakal renginde) renk gösteren bakterilere; sitokrom oksidaz, metil red (MR), voges proskauer (VP), oksidasyon-fermentasyon (O/F), nitrat, kongo kırmızısı, sitrat, indol, ortho-nitrophenyl-beta-d-galactosidase (ONPG), dekarboksilase (OD), üreaz, hidrojen sülfür (H²S) testleri ile karbonhidratların fermentasyonu, jelatin, hemoliz, nişasta, eskülün, kazein, tween 20 ve tween 80 hidrolizi gibi biyokimyasal testleri uygulandı ve hareket muayenesi yapıldı.

F. psychrophilum PZR ile identifikasyonunda DNA izolasyonu yapıldı. Toplam 50 µl'lik hacimde hazırlanan PZR karışımında; 5 µl 10x PZR buffer 750 mM Tris-HCl, pH 8.8, 200 mM (NH₄)₂SO₄, 0.1 % Tween - 20?, 5 µl 25

mM MgCl₂, deoksinükleotitlerin her birinden 250 µM, 1.25 U Taq DNA Polymerase enzimi (MBI, Fermentas) ve *F. psychrophilum* türüne ait spesifik iki tane primer çifti kullanıldı. *F. psychrophilum* türü için; PSY1 190–206 (5'-GTT GGC ATC AAC ACA CT-3') ve PSY2 1278–1262 (5'-CGA TCC TAC TTG CGT AG-3') primer çiftinin (Suzuki vd., 2008) her birinden 50 pmol ve 5 µl template DNA ilave edildi. PZR reaksiyonları Techne TC–512 gradient thermalcykler (Techne, İngiltere) cihazında gerçekleştirildi. PZR amplifikasyonunda 94 °C'de 5 dakika ön denaturasyon aşamasını takiben, toplam 35 PZR siklusu 94 °C'de 30 saniye denaturasyon, 51 °C'de 90 saniye hibridizasyon, 72 °C'de 2 dakika DNA sentezi ve 72 °C'de 5 dakika son uzatma işlemi yapıldı. PZR'de amplifiye edilen DNA ürünlerinden, 7 µl alınıp, 3 µl blue orange yükleme solüsyonu ile karıştırılarak daha önce hazırlanan % 1,5'lük agaroz jel üzerindeki kuyucuklara yerleştirildi. Son kuyucuğa da DNA markeri bırakıldı. Jel, Tris-borik asit-EDTA (TBE) buffer'ı kullanılarak % 1,5 'lük agaroz jelde 80 V 'da 1,5 saat elektroforez işlemine tabi tutulduktan sonra ethidium bromide (10 mg/ml) ile 30 dakika süreyle boyandı. Karanlık odada ultraviyole transilüminatörde *F. psychrophilum*'a özgü DNA bant uzunluklarına (bp-base pair) bakılarak polaroid kamera sistemi ile fotoğrafı çekildi. Metodun herhangi bir aşamasında meydana gelebilecek muhtemel bir kontaminasyonu tespit etmek amacıyla; gerek DNA ekstraksiyonu aşamasında gerekse PZR'de pozitif *F. psychrophilum* ve negatif kontrol olarak da *Esherichia coli* bakterileri kullanıldı.

Antibiyotik Duyarlılık Testi

İzolatların Antibakteriyel duyarlılıklarının belirlenmesinde Kirby-Bauer disk difüzyon testi kullanıldı (Bauer vd., 1966; Plumb, ve Browser, 1983; Koneman vd., 1997; Arda, 2000; Furones 2001).

Test için Gentamisin (CN) (10 µg), Amoksisilin (AX) (25 µg), Amoksisilin/Klavulanik asit (AMC) (30 µg), Amikasin (AK) (30 µg), Ampisilin (AMP) (10 µg), Kloramfenikol (C) (30 µg), Seftriakson (CAZ) (30 µg), Sefazolin (CZ)(30 µg), Sefoperazon (CEP) (75 µg), İmipenem (İPM) (10 units), Eritromisin (E) (15 µg), Enoksasin (EN) (10 µg), Klaritromisin (CLR) (15 µg), Siprofloksasin (CIP) (5 µg), Nitrofurantın (F/M) (300 µg), Sulfametoksazol (SMZ) (100 µg), Penisilin (P) (10 Ünite), Oksitetrasiklin (OT) (30 µg), Piperasillin (PIL) (100 µg), Furazolidone (FP) (100 µg), Basitrasin (B) (30 µg), Optokin (OP) (30 µg), Batrim- Trimetoprim+Sulfametoksazol (BC) (1,25µg+23,7 µg), Enrofloksasin (ENR) (5 µg), Florfenikol (FFC) (30 µg), Streptomisin (S) (10 µg), Neomisin (N) (30 µg), Klindamisin (CC) (2 µg), Ofloksasin (OFX) (5 µg), Vankomisin (VA) (30 µg), Tobramisin (NN) (10 µg), Sefoksitin (FOX) (30µg), Nalidiksik Asit (NA) (3 0µg), Netilmisin (NET) (30 µg), Aztreonam (ATM) (30 µg), Linkomisin (LC) (10 µg) ve Trimetoprim (TMP) (5µg) isimli diskler kullanıldı.

İdentifiye edilen *F. psychrophilum* 4 ml TYES broth bulunan tüplere ekilerek 15°C'de 5-7 gün süreyle etüvde inkübe edildi. Tüplerdeki bakteri yoğunluğu 0,5 McFarland standart yoğunluğuna eşit oluncaya kadar inkübasyona devam edildi. Mueller-Hinton agar ve TYES-A besiyerlerine, TYES broth besiyerlerinde üreyen kültürden 0,1 ml alınarak yayma tarzında ekim yapıldı ve 15°C'de 5-7 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında antibiyotik inhibisyon zon çapları ölçüldü ve sonuçlar standart zon çapları ile karşılaştırıldı (Anonim, 2000; Anonim, 2001).

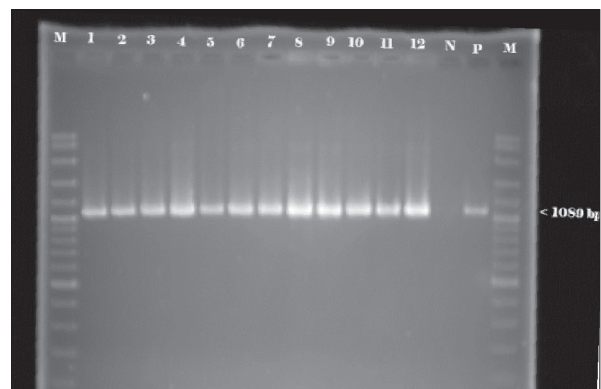
Bulgular

F. psychrophilum'un Konvansiyonel ve Genetik İdentifikasyonu

İzole edilen gram negatif çomak şekilli 160 adet suşun saf kültürlerinden fenotipik ve biyokimyasal özellikleri belirlendi. Bu suşlardan katalaz yarı pozitif; fleksirubin pigment, hemoliz, jelatin, kazein, tween 20 ve tween 80 hidrolizi pozitif ve sitokrom oksidaz, kongo kırmızısı, hareket, nitrat, sitrat, indol, metil red (MR), voges proskauer (VP), üreaz, hidrojen sülfür (H²S), nişasta, eskülün, ortho-nitrophenyl-beta-dgalactosidase (ONPG) ve dekarboksilase (OD) negatif olarak tespit edildi.

İşletmelerinden alınan 4024 adet örnekten 160 *F. psychrophilum* izole edildi. Bu izolatlar ile birlikte *F. psychrophilum* NCIMB 1947^T referans suşu ve *E. coli*'nin DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Bu DNA'ların PZR ile amplifikasyonu yapıldı. Daha sonra bu ürünler % 1,5'lük agaroz jelde elektroforezden geçirildi. Jel ethidium bromide ile boyanıp, sonuçlar ultraviyole transilluminatörde değerlendirildi.

Yüz atmış adet suşun hepsinde *F. psychrophilum* türüne ait PSY1 190-206, PSY2 1278-1262 primerlerle 1089 bp uzunluğunda bantlar görüldü (Şekil1). Dolayısıyla 160 adet izolatın tamamının *F. psychrophilum* olduğu kanıtlandı.



Şekil 1. PZR'de analizi sonucu oluşan *F. psychrophilum* türüne ait 1089 bp'lik bantları görüntüsü.

***Flavobacterium psychrophilum*'un Antibakteriyel Duyarlılık Test Sonuçları**

F. psychrophilum suşlarının kullanılan antibakteriyellere karşı duyarlılık yüzde oranları da tespit edilip Tablo 1'de verildi. Antibakteriyel disk sonuçlarına göre, *F. psychrophilum* suşları; Amoksisilin, Amoksisilin/Klavulanik asit, Amikasin, Ampisilin, Kloramfenikol, Sefazolin, Enoksasin, Optokin, Neomisin, Vankomisin, Sefoksitin, Nalidiksik Asit, Aztreonam, Linkomisin ve Trimetoprim (% 100); Penisilin ve Klindamisin (% 78,12); Ofloksasin ve Gentamisin (% 78,75); Eritromisin ve Sulfametoksazol (% 55,62) ile Furazolidone (% 15,62) gibi antibakteriyellere karşı direnç gösterdiği görüldü. *F. psychrophilum*; Eritromisin ve Sulfametoksazol (% 28,12); İmipenem (% 21,87); Nitrofurantoin, Tobramisin ve Netilmisin (% 21,25); Seftriakson, Sefoperazon, Klaritromisin, Piperasillin, Basitrasin ve Trimetoprim + Sulfametoksazol (% 16,25); Penisilin ve Klindamisin (% 12,50) gibi antibakteriyellere de orta derecede duyarlı olduğu tespit edildi. Yine *F. psychrophilum*; Oksitetrasiklin, Florfenikol, Enrofloksasin ve Siprofloksasin (% 100) ile Furazolidone (% 84,37); Trimetoprim + Sulfametoksazol, Seftriakson, Sefoperazon, Klaritromisin ve Piperasillin (% 83,75); Tobramisin, Nitrofurantoin ve Netilmisin (% 78,75); İmipenem (% 78,12); Streptomisin (% 77,5); Ofloksasin (% 21,25); Eritromisin ve Sulfametoksazol (% 16,25); Penisilin ve Klindamisin (% 9,37) antibakteriyellerine ise duyarlı olduğu belirlendi.

Sonuçlar ve Tartışma

Bu çalışmada; öncelikli olarak Elazığ ili Keban ilçesinde bulunan dört farklı gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmesindeki sağlıklı ve hastalıktan şüpheli yavru alabalıklardan *F. psychrophilum*'un bilinen klasik kültür yöntemiyle izolasyonu ve

identifikasyonu gerçekleştirildi. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tekniği ile moleküler teşhisi yapıldı. Antibakteriyel duyarlılık testi başarılı bir şekilde gerçekleştirildi.

Kültür balıkçılığında bakteriyel hastalıkların sağaltımı veya kontrolünün temelinde hijyenin önemi vurgulanmakla birlikte (Roberts ve Shepherd 2001; Woo ve Bruno 2003), aşılama ve immun sistemi uyarıcı ilaç uygulamalarının da kullanılabileceği (Cabello 2006; Ortega vd., 1996), ancak; hastalıklarla etkin bir şekilde mücadelede sınırlı da olsa antibakteriyel ilaç uygulamalarının göz ardı edilemeyeceği belirtilmektedir (Burka vd., 1997; Kum vd., 2004; Woo ve Bruno 2003).

Bulaşıcı ve öldürücü bir bakteri olan *Cytophaga/Flexibacter* benzeri bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların sağaltımında çeşitli antimikrobiyal bileşiklerin etkili olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Soltani vd., 1995). Bununla birlikte *Flavobacterium psychrophilum*'un antibiyotiklere karşı geniş duyarlılık gösterdiği bilinmektedir (Arda vd., 2005). Özellikle yavru balıklarda % 20 - 90 oranında mortaliteye neden olan bu bakterinin (Evensen ve Lorenzen, 1997) izolasyonunu takiben suşun mutlaka antibakteriyel duyarlılık testinin yapılması gerekmektedir. Zira *Flavobacterium psychrophilum*'da fonksiyonu tam olarak açıklanmasa da plazmidlerin varlığının olması, bakterinin bazı antibakterilere karşı hassasiyetinin zamanla azalabileceğini ortaya koymaktadır.

Korun ve Timur (2001), Diler vd., (2003), İspir vd., (2004), Timur vd., (2004) araştırmacılar izole ettikleri etkenlerin Amoksisilin/klavulanik asit, Ampisilin, Eritromisin ve Gentamisine ise duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise *F. psychrophilum* suşlarının Amoksisilin/Klavulanik asit, Ampisilin, Eritromisin ve Gentamisine karşı direnç gösterdiği görüldü.

Tablo 1. *F. psychrophilum* suşlarının antibakteriyellere olan duyarlılık yüzde dağılımı (n:160)

Antibakteriyeller	Dirençli (R)		Orta derecede duyarlı (I)		Duyarlı (S)	
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
Gentamisin	126	78,75	0	0	34	21,25
Amokisillin	160	100	0	0	0	0
Amoksisilin/Klavulanik asit	160	100	0	0	0	0
Amikasin	160	100	0	0	0	0
Ampisilin	160	100	0	0	0	0
Kloramfenikol	160	100	0	0	0	0
Seftriakson	0	0	26	16,25	134	83,75
Sefazolin	160	100	0	0	0	0
Sefoperazon	0	0	26	16,25	134	83,75
İmipenem	0	0	35	21,875	125	78,125
Eritromisin	89	55,625	45	28,125	26	16,25
Enoksasin	160	100	0	0	0	0
Klaritromisin	0	0	26	16,25	134	83,75
Siprofloksasin	0	0	0	0	160	100
Nitrofurantoin	0	0	34	21,25	126	78,75
Sulfametoksazol	89	55,625	45	28,125	26	16,25
Penisilin	125	78,125	20	12,5	15	9,375
Oksitetrasiklin	0	0	0	0	160	100
Piperasillin	0	0	26	16,25	134	83,75
Furazolidone	25	15,625	0	0	135	84,375
Basitrasin	0	0	26	16,25	134	83,75
Optokin	160	100	0	0	0	0
Batrim	0	0	26	16,25	134	83,75
Enrofloksasin	0	0	0	0	160	100
Florfenikol	0	0	0	0	160	100
Streptomisin	36	22,5	0	0	124	77,5
Neomisin	160	100	0	0	0	0
Klindamisin	125	78,125	20	12,5	15	9,375
Ofloksasin	126	78,75	0	0	34	21,25
Vankomisin	160	100	0	0	0	0
Tobramisin	0	0	34	21,25	126	78,75
Sefoksitin	160	100	0	0	0	0
Nalidiksik Asit	160	100	0	0	0	0
Netilmisin	0	0	34	21,25	126	78,75
Aztreonam	160	100	0	0	0	0
Linkomisin	160	100	0	0	0	0
Trimetoprim	160	100	0	0	0	0

Bu durum ülkemizde coğrafik bölgelere göre izole edilen *F. psychrophilum* suşlarının antibakteriyellere karşı duyarlılıklarının farklılık gösterebileceğini ya da izole edilen suşların antibakteriyellere direnç kazanmış olabileceğini göstermektedir.

Boyacıoğlu (2007) Muğla bölgesinde yaptığı çalışmada *F. psychrophilum*'un Oksitetrasiklin (% 20), Eritromisin (% 45), Ampisilin (% 95), Sulfametoksazol (% 95); Durmaz (2012) Orta ve Doğu Karadeniz bölgesinde izole ettikleri etkenlerin Eritromisin (% 61,5), Ampisilin (% 46,2), Sefoperazon (% 46,2) Enrofloksasin (% 23) duyarlılık göstermiştir. Bu çalışmada ise Oksitetrasiklin, Florfenikol, Enrofloksasin ve Siprofloksasin (% 100) ile Furazolidone (% 84,37); Trimetoprim+Sulfametoksazol, Seftriakson, Sefoperazon,

Klaritromisin ve Piperasilin (% 83,75); Tobramisin, Nitrofurantoin ve Netilmisin (% 78,75); İmipenem (% 78,12); Streptomisin (% 77,5); Ofloksasin (% 21,25); Eritromisin ve Sulfametoksazol (% 16,25); Penisilin ve Klindamisin (% 9,37) antibakteriyellerine ise duyarlı olduğu belirlendi. Bu durum farklı bölgelerde izole edilen *F. psychrophilum* suşlarının antibakteriyellere karşı yüzde olarak farklılığını göstermektedir.

Flavobacterium psychrophilum'un antibakteriyel duyarlılık test sonucuna göre Oksitetrasiklin, Florfenikol, Enrofloksasin ve Siprofloksasin gibi antibakteriyellerin Psikrofiloz enfeksiyonunda etkili olduğu ve enfeksiyonun sağaltımında öncelikli olarak bu antibakteriyellerin tercih edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

- Anonim, 2000. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, 5th Informational Supplement, M100-S5, Volume 14, No:16, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA.
- Anonim, 2001. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, 5th Edition, Approved Standard, M2-A5, Volume 13, No:24, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA.
- Arda, M. 2000. Temel Mikrobiyoloji; "Genişletilmiş İkinci Baskı.. Medisan Yayın Serisi no 46. Ankara".
- Arda, M., Seçer, S., ve Sarıeyyüpoğlu, M. 2005. Balık Hastalıkları Medisan Yayın serisi: 61, II. Baskı Ankara 230s.
- Austin, B. 1992. The recovery of *Cytophaga psychrophila* from Two Cases of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Fry Syndrome in the U.K. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. 12: 207-208.
- Balta, F. 1997. Kültürü yapılan alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) görülen *Flexibacter psychrophila* enfeksiyonu. IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu Eğirdir/İsparta, 641-648.
- Bauer, AU., Kirby, W.M., Sherris, J.C. ve Track M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method, Journal Clinical Pathology, 45: 493-494.
- Bernardet, J.F. ve Keroualt, B. 1989. Phenotypic and Genomic Studies of "*Cytophaga psychrophila*", Isolated from Diseased Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in France. Appl. Environ. Microbiol. Vol. 55, No: 7, 1796-1800.
- Boyacıoğlu, M. 2007. Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) RTFS'ye (Rainbow Trout Fry Syndrome) neden olan *Flavobacterium psychrophilum* etkeninin izolasyonu ve antibakteriyel sağaltım seçeneğinin belirlenmesi. T.C. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, AYDIN. Doktora Tezi. 81s.
- Burka, J.F., Hammell, K.L., Horsberg, T.E., Johnson, G.R., Rainnie, D.J. ve Speare, D.J. 1997. Drugs in salmonid culture - a review. J. Vet. Pharmacol. Ther., 20: 333-349.
- Cabello, FC. 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. Environ. Microbiol., 8: 1137-1144.
- Cipriano, R.C. ve Holt, R.A. 2005. *Flavobacterium psychrophilum*, Cause of Bacterial Cold- Water Disease and Rainbow Trout Fry Syndrome. Fish Disease Leaflet No:86. United States Dept. of the Interior. U.S. Geological Service, National Fish Health Research Laboratory, Kearneysville, WV. 44s.

- Diler, Ö., Altun, S., Çalığı, F. ve Diler, A. 2000. Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nin yaşadığı ortam ile ilişkili kalitatif ve kantitatif bakteriyel florası üzerine bir araştırma. Turk J. Vet. Anim. Sci., 24: 251–259.
- Diler, Ö., Altun, S. ve Işıklı, B.I. 2003. Kültürü yapılan gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nden izole edilen *Flavobacterium psychrophilum*'un fenotipik karakterleri. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 7: (1) 1–8.
- Durmaz, Y., Onuk, E.E. ve Çiftçi, A. 2012. Investigation of the presence and antibiotic susceptibilities of *Flavobacterium psychrophilum* in rainbow trout farms (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) in The Middle and Eastern Black Sea Regions of Turkey. Vet J Ankara Univ. 59(2): 141-146.
- Ekman, E. 2003. Natural and experimental Infections with *Flavobacterium psychrophilum* in salmonid fish. Swedish University of agricultural sciences, Doctoral thesis, 47s.
- Evensen, O. ve Lorenzen, E. 1997. Simultaneous demonstration of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) and *Flavobacterium psychrophilum* in paraffin embedded specimens of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fry by use of paired immunohistochemistry. Dis. Aquat. Org., 29: 227–232.
- Faruk, R.A. 2000. Characterisation of *Flavobacterium psychrophilum*, the causative agent of rainbow trout fry syndrome. PhD Thesis, University of Stirling, Stirling.
- Furones, M.D. 2001. Sampling for antimicrobial sensitivity testing: a practical consideration, Aquaculture, 196: 303-309.
- Holliman, A. 1993. The veterinary approach to trout in aquaculture for veterinarians. Fish Husbandry and Medicine, ed. Lydia Brown Pergamon Press, 447p.
- İspir, Ü., Şeker, E., Sağlam, N. ve Dörücü, M. 2004. Doğu Anadolu bölgesinde bazı gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmelerinde görülen *Flavobacterium psychrophilum* enfeksiyonunun araştırılması, Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimler dergisi, 16 (4), 718-724.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C. ve Winn, W.C. 1997. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th Edition, Lippincott, Philadelphia. 689 p.
- Koron, J. ve Timur, G. 2001. Gökkuşuğu Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) fry mortalite sendromu (FMS) üzerinde bir çalışma İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 12:15-30.
- Kubilay, A., Altun, S., Didinen, B.I., Ekici, S. ve Diler, Ö. 2009a. Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) İşletmelerinde *Flavobacterium psychrophilum* İzolasyonu Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg., 15 (5): 709–715.
- Kubilay, A., Altun, S. ve Savaş, S. 2009b. A study on aerobic bacterial flora during incubation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) eggs in hatchery. Journal of Fisheries Sciences. 3(1): 5–9.
- Kum, C., Gökbulut, C., Akar, F., Kırkan, Ş. ve Sekin, S. 2004. Gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Enterococcus seriolicida* izolasyonu ve etkili antibakteriyel sağıltım seçeneğinin belirlenmesi. Vet. Hek. Dern. Derg., 75: 47-53.
- Lorenzen, E., Dalsgaard, I., From, J., Hansen, F. M., Horlyck, V., Korsholm, H., Mellergaard, S. ve Olesen, N.J. 1991. Preliminary investigations of fry mortality syndrome in rainbow trout. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol., 11: 77–79.
- Lorenzen, E., Dalsgaard, I. ve Bernardet, J.F. 1997. Characterization of isolates of *Flavobacterium psychrophilum* associated with coldwater disease or rainbow trout fry syndrome I: phenotypic and genomic studies, Diseases of Aquatic Organisms, 31: 197-208.
- Lumsden, J.S., Ostland, V.E. ve Ferguson, H.W. 1996. Necrotic Myositis in Cage Cultured Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), Caused by *Flexibacter psychrophilus*. Journal of fish diseases, 19:113–119.
- Arda, M., Seçer, S. ve Sarıyüpoğlu, M. 2002. Balık Hastalıkları. Medisan, Ankara, 51–57 s.
- Midtlyng, J.P. 2002. Aquaculture disease and health management, Journal of Animal Science, 69: 4201-4208.
- Nematollahi, A., Decostere, A., Pasmans, F. ve Haesebrouck, F. 2003. *Flavobacterium psychrophilum* infections in salmonid fish. Journal of Fish Diseases, 26: 563–574.
- Ortega, C., Ruiz, I., De Blas, I., Musquiz, J.L., Fernandez, A. ve Alonso, J.L. 1996. Furunculosis control using using a paraimmunization stimulant (Baypamun) in rainbow trout. Vet. Rec., 27: 561-568.
- Plumb, J.A. ve Browser, P.R. 1983. Microbial Fish Disease Laboratory Manual, Brown Printing Company Montgomery, First printing, Alabama.: 95 p.
- Plumb, J.A. 1999. Health maintenance and principal microbial disease of cultured Fishes, Iowa State University/Amcs, 328p.

- Roberts, R.J, ve Shepherd, J.C. 2001. Handbook of trout and salmon disease. 3rd Edition, Blackwell Science, London, UK.
- Shotts, E.B. ve Starliper, C.E. 1999. Flavobacterial Disease: Columnaris Disease, Cold-water Disease and Bacterial Gill Disease, In Fish Diseases and Disorders, Vol. 3, Eds. Woo, P.T.K., Bruno, D.W., 559-577.
- Soltani, M., Shanker, S. ve Munday, B.L. 1995. Chemotherapy of *Cytophaga / Flexibacter* – like bacteria (CFLB) infections in fish: studies validating clinical efficacies of selected antimicrobials. J. Fish Dis., 18: 555–565.
- Suzuki, K., Arai, H., Kuge, T., Katagiri, T. ve İzumi, S. 2008. Reliability of PCR Methods for the Detection *Flavobacterium psychrophilum*. Fish Pathology, 43 (3): 124-127.
- Woo, P.T.K. ve Bruno, D.W. 2003. Fish disease and disorders, Volume 3: Viral, bacterial and fungal infections. CABI Publishing, Oxfordshire, UK.