

**IZMIR KATIP CELEBI UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

**RESEARCHING ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF *Lactococcus garvieae*
ISOLATED FROM RAINBOW TROUT FARMS IN SOUTH AEGEAN REGION
WITH E TEST**



M.Sc. THESIS

Dilara ÇAM

Department of Aquaculture

Thesis Advisor: Prof. Dr. T. T. TANRIKUL

FEBRUARY 2018

**IZMIR KATIP CELEBI UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

**RESEARCHING ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF *Lactococcus garvieae*
ISOLATED FROM RAINBOW TROUT FARMS IN SOUTH AEGEAN REGION
WITH E TEST**

M.Sc. THESIS

Dilara ÇAM

Department of Aquaculture

Thesis Advisor: Prof. Dr. T. T. TANRIKUL

FEBRUARY 2018

İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GÜNEY EGE BÖLGESİNDEKİ ALABALIK İŞLETMELERİNDEN İZOLE
EDİLEN *Lactococcus garvieae* SUŞLARININ E TEST KULLANILARAK
ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dilara ÇAM
(Y130107056)

Su Ürünleri Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. T. T. TANRIKUL

ŞUBAT 2018

Dilara ÇAM a **M.Sc.** student of **IKCU Graduate School Of Natural And Applied Sciences**, successfully defended the thesis entitled “**RESEARCHING ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF *Lactococcus garvieae* ISOLATED FROM RAINBOW TROUT FARMS IN SOUTH AEGEAN REGION WITH E TEST**”, which she prepared after fulfilling the requirements specified in the associated legislations, before the jury whose signatures are below.

Thesis Advisor :

Prof. Dr. T. T. TANRIKUL
İzmir Katip Çelebi University

Jury Members :

Yrd. Doç. Dr. Sevim HAMZAÇEBİ
İzmir Katip Çelebi University

Yrd. Doç. Dr. Edis KORU
Ege University

Date of Submission : 28.02.2018

Date of Defense : 28.02.2018



ÖNSÖZ

Öğrencilik dönemim boyunca hep daha iyi bir araştırmacı olabilmem için bana yol gösteren, desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. T. Tansel TANRIKUL'a, ortak çalışma alanımızda düzenli, disiplinli ve dürüst çalışmamız için bize vizyon kazandıran sayın hocalarıma, yine ortak çalışmalarımız süresince beni hep doğruya yönlendiren, özgüvenimi kazanmamı sağlayan ve beni teşvik eden değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Tuğçe ŞENSURAT GENÇ, Doç. Dr. Aytaç ÖZGÜL ve Prof. Dr. Altan LÖK'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımızı gerçekleştirdiğimiz İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarı'nda beni hiç yalnız bırakmayan çalışma arkadaşlarım ve meslektaşlarım Hilal ÇALIK, Gülşah COŞKUNİŞİK, Ömer KOCA ve Araş. Gör. Ezgi DİNÇTÜRK'e desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Bu uzun süren maceramda beni her zaman, her konuda destekleyen, kapılarını her daim açan can dostlarım Gizem ERYILMAZ UÇAR, Can UÇAR ve Uzm. Dr. Nazlı DEVECİ'ye sonsuz teşekkürler.

Varlıklarından gurur duyduğum, maddi manevi beni hep destekleyen canım annem Özlem ÇAM ve canım babam Mehmet ÇAM'a teşekkür ederim.

İzmir Kâtip Çelebi Üniveristesi Su Ürünleri Fakültesin'deki eğitim sürecine başlamama vesile olan, desteğini hiç esirgemeyen Sayın Kezban SAYGIN ve ailesine, İzmir Kâtip Çelebi Üniveristesi Öğrenci İşleri Daire Başkanı Sayın Mustafa KAYA'ya teşekkür ve minnettarlarımı sunarım.

Şubat 2018

Dilara ÇAM.



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
TABLO DİZİNİ.....	xiii
RESİM DİZİNİ	xv
ABSTRACT	xvii
ÖZET.....	xix
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLDİRİŞİ	9
3. MATERYAL VE METOT	15
4. BULGULAR	23
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	35
6. ÖNERİLER	43
7. REFERANSLAR.....	45
8. EKLER.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	53

KISALTMALAR

µg/ml	: Mikrogram / Mililitre
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AC	: Amoksisilin
AM	: Ampisilin
BA	: Blood Agar
BEA	: Bile Esculin Agar
BHIA	: Brain Heart Infusion Agar
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
CM	: Klindamisin
DC	: Doksisiklin
EF	: Enrofloksasin
EM	: Eritromisin
<i>Enterococcus sp.</i>	: <i>Enterococcus</i> species
EUCAST	: European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing
FM	: Fosfomisin
I	: Intermediate (Orta Dirençli)
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
NaCl	: Sodyum Klorür
NCCLS	: National Committee for Clinical Laboratory Standards
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polimeraze Chain Reaction)
PFGE	: Pulsed Field Gel Electrophoresis
R	: Resistant (Dirençli)
RPS	: Nispi Yaşama Yüzdeleri (Relative Percent Survival)
S	: Sensitive (Duyarlı)
SM	: Streptomisin
TS	: Trimetoprim/Sülfametoksazol
TSA	: Tryptic Soy Agar
TSB	: Tryptic Soy Broth
w/v	: Hacimde Ağırlıkça Yüzde
XL	: Amoksisilin/Klavulanik Asit
α hemoliz	: Alfa Hemoliz



TABLO DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1.1 : <i>L. garvieae</i> 'nin sistematığı.....	2
Tablo 1.2 : <i>L. garvieae</i> 'nin fiziksel, biyokimyasal ve morfolojik özellikleri [7].....	4
Tablo 3.1 : Numune alınan işletmeler, örnekleme zamanı ve numune kodlama.....	16
Tablo 4.1 : Bölgelere göre <i>L. garvieae</i> API Rapid ID 32 STREP profilleri.....	30
Tablo 4.2 : <i>L. garvieae</i> izolatlarında antibiyotiklerin MİK değerleri (µg/ml) ve duyarlılık renk skalası.....	33
Tablo 5.1 : Köyceğiz - Beyobası izolatlarının MİK değerleri ve antibiyotik dirençleri.....	39
Tablo 5.2 : Fethiye - Yanıklar izolatlarının MİK değerleri ve antibiyotik dirençleri.....	39
Tablo 5.3 : Fethiye - Eşen izolatlarının MİK değerleri ve antibiyotik dirençleri.....	40
Tablo 5.4 : Fethiye - Patlangıç izolatlarının MİK değerleri ve antibiyotik dirençleri.....	41
Tablo 5.5 : Fethiye - Söğütlüdere izolatlarının MİK değerleri ve antibiyotik dirençleri.....	41



RESİM DİZİNİ

Sayfa

Resim 3.1 : Muğla'nın Köyceğiz ve Fethiye ilçelerindeki numune alınan alabalık çiftliklerinin lokasyonları [67].....	15
Resim 3.2 : Havuzdaki hasta balıkların görünümü (E.Dinçtürk).....	17
Resim 3.3 : Üreyen suşların identifikasyon öncesinde saflaştırılmak üzere TSA besi yerlerine pasaje edilmesi.....	18
Resim 3.4 : API Rapid ID 32 STREP kiti pozitif ve negatif renk skalaları (bioMérieux®SA, France).....	19
Resim 3.5 : Hazırlanan MHA petripleri.....	19
Resim 3.6 : E Test stripleri.....	20
Resim 3.7 : 150 mm petri kaplarına hazırlanmış olan MHA besi yerlerine E Test stripleri 4-6 adet olarak yerleştirilmesi.....	21
Resim 4.1 : Anormal renk değişimi ve karama.....	23
Resim 4.2 : Gözlerde ekzoftalmus ve renkte karama.....	23
Resim 4.3 : Gözde ekzoftalmus ve hemoraji.....	24
Resim 4.4 : Anüste prolapsus.....	24
Resim 4.5 : Abdominal bölgede peteşi ve pelvik yüzgeç kaidesinde hemoraji.....	25
Resim 4.6 : Anal yüzgeç kaidesinde hemoraji ve deride anormal renk değişimi.....	25
Resim 4.7 : A) Periton zarında hemoraji, B) Hava kesesi ve gonad zarında hemoraji, C) Bağırsakta diyare.....	26
Resim 4.8 : Bağırsakta hemorajik diyare.....	26
Resim 4.9 : A) Karaciğerde soluk renk ve peteşi, B) Hava kesesi yüzeyinde hemoraji, C) Bağırsakta diyare.....	27
Resim 4.10 : Karaciğerde solma ve peteşi.....	27
Resim 4.11 : <i>L. garvieae</i> 40x mikroskop native görünümü.....	28
Resim 4.12 : <i>L. garvieae</i> Gram boyama sonrası 100x mikroskop görünümü.....	28
Resim 4.13 : API Rapid ID 32 STREP kiti identifikasyon sonucu.....	29
Resim 4.14 : APIWEB™ veritabanı üzerinden kaydedilen identifikasyon sonuçları.....	29
Resim 4.15 : 24°C de 24 saat inkübasyon sonrası doksisisiklin (DC) stribi etrafındaki eliptik zon ve MİK değeri.....	31
Resim 4.16 : 24°C de 24 saat inkübasyon sonrası stripler etrafındaki eliptik zonlar ve MİK değerleri.....	32



**RESEARCHING ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF *Lactococcus garvieae*
ISOLATED FROM RAINBOW TROUT FARMS IN SOUTH AEGEAN
REGION WITH E TEST**

ABSTRACT

Lactococcus garvieae is caused to important economic losses for rainbow trout farms (Oncorhynchus mykiss, Walbaum 1792) especially in summer, in South Aegean Region which is a zoonotic bacteria. Lactococcosis have a high mortality that is caused to hemorrhagic lesions and anorexia. For treatment of the disease, using various antibiotics frequently is caused to become resistant to these chemicals of the bacteria and then reduce the achievement rates of treatments and get under control the disease. For this reason, need to rapid diagnostic and clinical tests is occurring.

This research have target to determine MIC (minimum inhibition concentration) values and antimicrobial susceptibilities of 20 *L. garvieae* strains, which isolated from different 5 location in South Aegean Region, against to amoxicillin/clavulanic acid (2/1), amoxicillin, ampicillin, clindamycin, doxycycline, enrofloxacin, erythromycin, fosfomicin, streptomycin, trimethoprim/sulfamethoxazole (1/19) with E Test (bioMérieux®SA, France). Rapid ID 32 STREP (bioMérieux®SA, France) was used for identification of strains from diseased rainbow trout and then investigated on APIWEB™.

Although the research recorded that specific MIC results; amoxicillin between 0,25 - 6 µg/ml, amoxicillin/clavulanic acid (2/1) between 0,25 - 8 µg/ml, ampicillin between 0,19 - 3 µg/ml, clindamycin between 16 - 192 µg/ml, doxycycline between 0,75 - 32 µg/ml, enrofloxacin between 0,25 - 3 µg/ml, erythromycin between 0,023 - 1 µg/ml, fosfomicin between 192 - 1024 µg/ml, streptomycin between 16 - 512 µg/ml, and trimethoprim/sulfamethoxazole (1/19) MIC > 32 µg/ml. In this research have a target to determine the resistance of bacteria against and quantitative MIC rates for the antibiotics, that is used for the treatment of Lactococcosis, via E test.



GÜNEY EGE BÖLGESİNDEKİ ALABALIK İŞLETMELERİNDEN İZOLE EDİLEN *Lactococcus garvieae* SUŞLARININ E TEST KULLANILARAK ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Lactococcus garvieae, gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) çiftliklerinde büyük ekonomik kayıplara neden olan, şiddetli hemorojik lezyonlar ve iştahsızlık gibi semptomlara neden olarak yüksek mortaliteye sebebiyet veren, zoonoz karakterli bir bakteridir. Özellikle alabalık yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Güney Ege Bölgesi'nde de birçok işletmede suların ısındığı yaz aylarında görülmektedir. Hastalığın tedavisinde antibiyotiklerin yoğun olarak kullanılması, antibakteriyel direncin şekillenmesine sebep olarak yapılacak olan tedavilerde başarı oranını düşürmekte ve aynı zamanda hastalığın kontrolünü oldukça zorlaştırmaktadır. Bu sebeple hızlı tanı ve klinik testlere olan ihtiyaç ortaya çıkmaktadır.

Bu çalışmada Güney Ege Bölgesi'ndeki alabalık işletmelerinden izole edilen *L. garvieae*'nin antibiyotik duyarlılıklarının ve MİK (minimum inhibitör konsantrasyon) değerleri araştırılmıştır. Bu amaçla 5 farklı lokasyondan toplamda 20 adet suş izole edilmiştir. Bu suşların identifikasyonu için morfolojik ve biyokimyasal özellikleri incelenerek Rapid ID 32 STREP (bioMérieux®SA, France) test kiti kullanılarak sonuçlar APIWEB™ ile değerlendirilmiştir. İdentifiye edilen *L. garvieae* suşlarında amoksisilin/klavulanik asid (2/1), amoksisilin, ampisilin, klindamisin, doksisisiklin, enrofloksasin, eritromisin, fosfomisin, streptomisin, trimetoprim/sülfametoksazol (1/19) antibiyotiklerine karşı E Test kiti (bioMérieux®SA, France) kullanılarak MİK değerleri belirlenmiştir.

Araştırma sonucunda E Testlerde; amoksisilin 0,25 - 6 µg/ml, amoksisilin/klavulanik asid (2/1) 0,25 - 8 µg/ml, ampisilin 0,19 - 3 µg/ml, klindamisin 16 - 192 µg/ml, doksisisiklin 0,75 - 32 µg/ml, enrofloksasin 0,25 - 3 µg/ml, eritromisin 0,023 - 1 µg/ml, fosfomisin 192 - 1024 µg/ml, streptomisin 16 - 512 µg/ml aralığında MİK değerleri kaydedilirken trimetoprim/sülfametoksazol (1/19)'e MIC > 32 µg/ml olarak kaydedilmiştir. Yapılan bu çalışma ile Lactococcus'in tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı MİK değerleri kantitatif olarak ölçülmüş ve antimikrobiyal duyarlılıkları tespit edilmeye çalışılmıştır.



1.GİRİŞ

Her geçen gün su ürünleri üretiminin arttığı ülkemizde, yetiştiriciliği hızla yükselişte olan gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) üretimi, kültür balıkçılığının en önemli kollarından biri olarak toprak havuzlarda, akarsu ve baraj göllerinde kurulan birçok işletmede yapılmakta ve ihraç edilmektedir. Ancak sektörün büyümesi ile birlikte fiziksel koşullarda karşılaşılan problemler, yoğun üretime bağlı sorunlar, enfeksiyöz hastalıklar gibi problemler de sıklıkla görülmeye başlanmıştır. Bu sorunlara bağlı olarak, alabalıkların vücut yüzeyi ve iç organlarında şiddetli hemorajik lezyonlara yol açan, mezofilik bakteri *Lactococcus* sp. birçok işletmeyi ciddi anlamda tehdit etmektedir. Stres, çevre şartları, manuplasyon ve özellikle yaz aylarına girilen dönemde su sıcaklığının 16°C'nin üzerine çıkması gibi belirli parametrelerin hızlı değişmesiyle ortaya çıkan Lactococcosis enfeksiyonunun tedavisinde, etkenin duyarlı olduğu antibiyotikler kullanılmalıdır [42]. Üretimin arttığı su ürünleri yetiştiriciliğinde balık hastalıklarının teşhis ve tedavisinin yapılması, ekonomik zararın azaltılması için oldukça önemlidir. Bunun için de günümüzde daha hızlı ve aynı zamanda güvenilir teşhis, tanı ve identifikasyon yöntemlerinin kullanılabilirliği büyük avantaj sağlamaktadır.

Streptococcaceae ailesine dahil olan bakterilerin sebep olduğu Streptococcosis dünya'da ilk olarak Japonya'daki gökkuşaağı alabalığı işletmesinde görülmüştür [31]. O günden beri sarı kuyruklarda (*Seriola quinqueradiata*) [41, 37], gümüş som balıklarında (*Oncorhynchus kisutch*) [6], ayu (*Plecoglossus altivelis*) ve tilapia (*Tilapia nilotica*) [38] gibi birçok türde hastalığın görülmesi Streptococcosis'in önemini arttırmıştır. "Pop-eye" diye bilinen bu hastalık Avusturalya, İsrail, İtalya ve

Güney Afrika’da gökkuşığı alabalıklarında [10, 12, 14, 16] oldukça büyük önem teşkil etmektedir [7].

İlk kez 1983 yılında İngiltere’de büyükbaş hayvan mastitisinden izole edilen *Lactococcus garvieae* önce Streptococcus cinsine dahil olup *Streptococcus garvieae* olarak tanımlanmıştır [19]. 1988 yılında İspanya’daki alabalık çiftliklerinde ilk kez salgın olarak görülen Lactococcosis etkeni, biyokimyasal özellikleri bakımından *Enterococcus seriolicida*’ya çok benzediği için gökkuşığı alabalıklarından *L. garvieae* olarak identifiye edilinceye kadar başta *Enterococcus* sp. olarak tanımlanmıştır [47].

Daha sonra yapılan fenotipik ve moleküler taksonomik çalışmalar sonucunda *L. garvieae* ve *E. seriolicida*’nın aynı türler olduğu doğrulanmıştır [24]. Genotipik karakterlere bağlı olarak yeni tekniklerin geliştirilmesiyle *Streptococcus* cinsi *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus* ve *Carnobacterium* olarak yeniden sınıflandırılmıştır [62]. Bu yeni sınıflandırmaya göre *Lactococcus* cinsine dahil olan *L. garvieae*’nin sebep olduğu Lactococcosis de Streptococcosis’e benzer şekilde tatlı suda kültürü yapılan salmonidlerde tahribat yaratmaktadır. Tablo 1.1 ‘de *L. garvieae*’nin sistematigi verilmiştir.

Tablo 1.1 : *L. garvieae*’nin sistematigi

Alem	Bacteria
Şube	Firmicutes
Sınıf	Bacili
Cins	Lactococcus
Tür	<i>Lactococcus garvieae</i>

Türkiye’de alabalıklarda ilk Streptococcus enfeksiyonu 1995 yılında Aydın’ın Nazilli ilçesinde yer alan bir karasal alabalık işletmesinden *Enterococcus* sp. olarak izole edilmiştir [21]. İzole edilen etken alabalıklarda Avrupada da *Enterococcus* sp. olarak izole edilmiş olup daha sonra *L. garvieae* olarak beyan edilmiştir [24, 27]. Bu tarihten sonra ülkemizde değişik coğrafyalarda birçok izolasyon gerçekleştirilmiştir. 2001 yılının Mayıs – Haziran ayları arasında 100-150 gr aralığındaki gökkuşığı alabalıklardan *L. garvieae* izole edilmiştir [22]. 2004 yılında ise ilk kez alabalıklardan

izole edilen 20 adet *L. garvieae* suşu fenotipik, serolojik ve kapsül oluşumu yönünden incelenmiş, birbirleriyle ve İspanya izolatları ile biyokimyasal benzerlikleri ortaya konmuştur [20]. 2007 yılında Konya Bölgesindeki Gökkuşuğu alabalık tesislerinde görülen Streptococcosis etkeni olan *L. garvieae*'nin izolasyon, identifikasyon ve fenotipik özellikleri üzerine çalışmalar yapılmıştır [33].

Ekonomik olarak büyük kayıplara neden olan ve %50 mortaliteye yol açan Lactococcosis akut ve hemorajik septisemi olarak tanımlanmıştır [66]. Enfeksiyonun ortaya çıkması, suyun sıcaklığı ve suyun mikrobiyolojik kalitesi gibi çevresel şartlara bağlı olarak değişmektedir. Hastalık semptomları düzensiz yüzme, deride kararma, uyuşukluk, iştahsız, ekzoftalmus olarak dışarıdan gözlemlenebilir şekilde başlayıp kanama, karın boşluğunda kanlı ya da irinli sıvı birikimi ve buna bağlı karında şişlik, iç organların yüzeyinde kanama, hava kesesi, karaciğer, beyin, böbrek, bağırsak, kalp ve periton gibi dokularda değişen yüzeysel kanamalar, anüste prolapsus olarak görülmektedir [47, 26, 46, 61, 23]. Deri, operkulum, yüzgeç kaideleri ve anüs çevresinde hemoraji görülür. Gözlemlenen lezyonlar ise tipik özelliktedir [26, 62]. Birçok araştırmacı tarafından ise karaciğerin solgun bir renk aldığı, abdominal boşluk ve bağırsak lümeninde hemorajik sıvı görüldüğü, splenomegali ve bağırsaklarda hemoraji görüldüğü rapor edilmiştir [40, 15, 27, 46, 26, 54]. Histopatolojik bulgulara göre gözün ön ve arka bölümlerinde irinli bölgeler, meningitis, kalp, karın zarı ve karaciğerde bol fibroblast makrofaj ve lenfosit infiltrasyonu bildirilmiştir [26, 17]. Hasta balıklarda gözlenen semptomlar benzer olarak diğer hastalıklarda da görülebildiğinden kesin teşhis için laboratuvar metotları kullanılarak tanımlanma gerçekleştirilmelidir [62].

L. garvieae gram pozitif, sporsuz, hareketsiz, fakültatif anaerobik, kısa zincirli, 0.7 - 1.4 µm çapında ovoid bir koktur. Katalaz, H₂S, indol ve oksidaz negatiftir. α hemoliz gösterir. Eskulin ve arjinin hidrolize olurken kasein, jelatin ve sodyum hipurat hidrolize olmaz. Eskulin, sellobiyoz, D-fruktoz, galaktoz, D-glukoz, maltoz, mannitol, D-manoz, salisin, sorbitol, trehaloz için asit üretimi pozitifken adonitol, D-arabinoz, gliserol, glikojen, inositol, laktoz, meleziyoz, melibioz, rafinoz, L-rammoz, nişasta, sucroz, D-ksiloz için asit üretimi negatiftir. Metil-red, tetrazolium ve Voges Proskauer pozitif, nitrat redüksiyonu negatiftir. Üreme 10 - 45°C aralığında, % 0 - 6,5

(w/v) NaCl, pH 4,5 – 9,6 aralığında gerçekleşirken 50°C de üreme olmaz [7]. TSA (tryptic-soy agar) ve BHIA (brain heart infusion agar) da 20-25 °C arasında 48-72 saatte inkübasyon sonucunda gri-beyaz renkli yuvarlak koloniler meydana getirmektedir [30, 13]. Blood agar (BA), tryptic-soy broth (TSB) ve bile-esculin agar (BEA) gibi besiyerlerinde de üreme göstermektedir [7]. İdentifikasyonda kullanılan fizyolojik, biyokimyasal ve morfolojik özellikler aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak sunulmuştur (Tablo 1.2).

Tablo 1.2 : *L. garvieae*'nin fiziksel, biyokimyasal ve morfolojik özellikleri [7].

Özellikler	<i>L. garvieae</i>	Özellikler	<i>L. garvieae</i>
Hücre morfolojisi	Kok	Arjinin Dekarboksilazı	+
Gram boyama	+	Ornitrin Dekarboksilazı	-
Hareket	-	Lizin Dekarboksilazı	-
4 °C' de üreme	+	Gliserol	-
20 °C' de üreme	+	Rafinoz	-
37 °C' de üreme	+	Arabinoz	-
45 °C' de üreme	+	Sorbitol	+
pH 9.6'da üreme	+	Mannitol	+
% 6.5 NaCl üreme	+	Sellobiyoz	+
Hemoliz	α	Galaktoz	+
Sitokrom Oksidaz varlığı	-	Maltoz	+
Katalaz Varlığı	-	Trehaloz	+
O/F	F	Laktoz	+
Nitrat Üretimi	-	Riboz	v
Sitrat vasatında üreme	-	Sükroz	v
Üre	-	Nişasta	-
İndol Üretimi	-	Tagatoz	v
Eskulin Hidrolizi	+	Salisin	+
Voges-Proskauer	+	İnositol	-
H ₂ S Üretimi	-	Metil Kırmızısı Testi	+

(+): Pozitif reaksiyon, (-): Negatif reaksiyon, (F): Fermentatif, (V): Değişken reaksiyon, (α): α -hemolitik [50].

Lactococcosis tedavisinde genellikle gram (+) kokların duyarlı olduğu antibiyotikler kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda amoksisilin, amoksisilin/klavulanik asit, sefalotin, novobiosin, spektinomisin, kloramfenikol, tetrasiklin, doksisisiklin, eritromisin, tilosin, kolistin, pristinamisin, basitrasin, linkomisin, kotrimoksazol, enrofloksasin, nitrofurantoin, penisilin, oksasilin, streptomisin, kanamisin, gentamisin, apramisin, sefoperazon, sülfametizol, flumequin, oksolinik asit gibi bir çok antibiyotiğin *L. garvieae* suşlarına karşı antimikrobiyal duyarlılıklarına bakılmış, farklı sonuçlar elde edilmiştir [28, 22, 42, 34, 48].

Özellikle yaz aylarında büyük kayıplara sebep olan Lactococcosis tedavisinde bilinçsiz antibiyotik kullanımı, patojenin bu kemoterapötiklere karşı direnç geliştirmesine sebep olarak tedavinin başarısını düşürmektedir. Gram (+) balık patojenleri için intraperitoneal enjeksiyon yöntemi ile aşı uygulamaların başarılı koruma sağlaması beklense de özellikle sıcaklığın 16 °C'yi aştığı yaz periyodunda kısa süreli immünite sağladığından (2-3 ay) dolayı başarı oranı düşmekte ve salgın meydana gelmektedir [51]. Bu problemlerin üstesinden gelmek için Lactococcosis tedavisinde genellikle gram (+) kokların duyarlı olduğu antibiyotikler kullanılmaktadır. Ancak enfeksiyonun ortaya çıktığı lokasyon ve bakteri karakterizasyonuna bağlı olarak değişimler gözlenmekte, bu sebeple ezbere müdahale yerine en etkili olan antibiyotiğe göre hareket etmek önem arz etmektedir. Uygun antibiyotik kullanımı balık etindeki rezidünün ve patojenin antibakteriyel direnci açısından tedavide aşamasında çok önemli bir noktadır. Bu nedenle tedaviden önce mutlaka antimikrobiyal duyarlılık testi yapılarak, hastalık etkeninin duyarlı olduğu antibiyotiklerle tedavi uygulaması yapılmalıdır. Antimikrobiyal duyarlılık testleri, mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyonun tedavisinde kullanılabilecek olan kemoterapötiklerin in-vitro olarak etkinliğinin tahmin edilmesi, antibiyotik direncinin ortaya konarak ampirik tedavi yaklaşımına yön vermek amaçlı uygulanan bir yöntemdir. Antimikrobiyal duyarlılık testlerini yöntem olarak “dilüsyon” ve “difüzyon” olarak iki gruba ayırmak mümkündür.

Dilüsyon testleri, bir antimikrobiyal ajanın bir mikroorganizmanın üremesini inhibe etmek için gerekli olan minimum konsantrasyonunu (MİK) belirlemek için uygulanır. MİK değeri antimikrobiyal duyarlılık testleri için “altın standart” olarak adlandırılır. Dilüsyon testleri, farklı konsantrasyonlarda dilüe edilen bakterilerin üreme gösterip göstermediği incelenerek yapılmaktadır. Prosedür olarak benzer özellik göstermekte yalnızca üremenin kontrol edileceği besi yerinin sıvı veya katı oluşuna göre, tüp dilüsyon ve agar dilüsyon olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır.

Difüzyon testleri, disk difüzyon ve gradiyent testler olarak iki gruba ayrılmaktadır. Disk difüzyon yönteminde antibiyotik emdirilmiş steril diskler, mikroorganizma inoküle edilmiş petripler üzerine yerleştirilerek inkübasyon süresi sonunda oluşan zon çapı ölçülerek değerlendirilir. Böylece antibiyotiğin, uygulanan mikroorganizmaya karşı duyarlı ya da dirençli olduğu tespiti yapılır. Genellikle bakterilerin duyarlılıkları Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ile tespit edilir [11]. Gradyent testler ise, disk difüzyon ve dilüsyon testlerinin ortak özelliklerini taşıyan bir duyarlılık testidir. Ticari olarak ülkemizde E Test (Bio-Merieux), M.I.C.E. testleri (Oxoid) ve MİK test strip (Liofilchem) olmak üzere üç ürün mevcuttur. Bu yöntemde ise, disk difüzyon testinden farklı olarak mikroorganizma inoküle edilmiş besi yerleri üzerine, üzerinde MİK değerleri yazılı olan ve antibiyotik emdirilmiş stripler yerleştirilmektedir. İnkübasyon süresi sonunda, stripler etrafında oluşan eliptik zonun sribi kestiği noktadaki sayısal değer, o mikroorganizma için MİK değerini verir. Bu yöntemle dilüsyon testlerindeki gibi kantitatif değerler elde edilir. Patojenlere karşı kullanılacak olan antibiyotiklerin MİK değerlerinin ölçülmesi ve uygun antibiyotiğin uygun konsantrasyonda ve periyotta kullanılması için en güvenilir yöntemdir. Son yıllarda en hızlı MİK değerlendirmesi için E Test tercih edilmektedir. E Test (Epsilometre testi) 1988 yılında ilk olarak AB Biodisk tarafından tanımlanmıştır. E Testi teknik olarak disk difüzyon yönteminden uygulama, özel araç gereç gerektirmeme ve en önemlisi MİK değerlerinin de saptanmasına olanak sağlaması konusunda çok daha avantajlı bir antimikrobiyal duyarlılık testidir. E Test’in en önemli üstünlüğü, 150 mm lik bir agar plağında beş farklı antimikrobik ilaç için MİK değerlerinin belirlenebilmesidir [59]. Yapılan çalışmalar sonucunda, E Test’in disk difüzyon yöntemi baz alındığında duyarlılık, özgüllük ve uyumluluk açısından oldukça güvenilir olduğu belirlenmiştir [60]. Bu nedenle mikroorganizmalara karşı doğru ve çabuk tedavi için diğer

yöntemlerden oldukça pratik ve güvenilir olan E Test'lerin kullanılması önem arz etmektedir.

Bu çalışmada da, tüm bu önemli noktalar göz önünde bulundurularak pratik ve güvenilir olan E Test ile alabalık çiftliklerinde ciddi mortaliteye sebep olan *L. garvieae* kaynaklı Lactococcosis'in antibiyotik duyarlılıkları ve MİK değerleri kayıt altına alınmıştır. Lactococcosis tedavisi için kullanılacak antibiyotiklerin, MİK değerlerinin standardilize edilmesi, antibiyotik duyarlılık sonuçlarının MİK değerleri üzerinden kantitatif olarak duyarlı (S), orta dirençli (I) ve dirençli (R) olarak belirlenmesi, tedavi sırasında bu antibiyotiklerin konsantrasyon ve periyodunu doğru belirlemek için büyük önem taşımaktadır. Tedavi aşamasında geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı tercih ederek hedef günü kurtarmak olmamalıdır. Bunun yerine doğru organizma, doğru kemoterapötik madde ve doğru konsantrasyon kullanılarak enfeksiyonun bilinçli olarak kontrol altına alınabilmesi amaçlanmıştır.



2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ

Tüm dünyada balık hastalıkları ile mücadelede çeşitli kemoterapötikler kullanılmaktadır. Ancak bu patojenlerin antimikrobiyal duyarlılık ve MİK değerlerinin belirlenmesi, çalışma sonunda çıkan kantitatif verilerin değerlendirilerek tedavi sürecinde kullanılması büyük önem arz etmektedir. Yapılan çalışmalar Klinik Ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI), Ulusal Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi (National Committee for Clinical Laboratory Standards - NCCLS) ya da Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Avrupa Komitesi (European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST) standartlarında belirtilen, mikroorganizma ya da cins odaklı olarak patojenlerin çeşitli kemoterapötiklere karşı oluşturdukları disk difüzyon zonları ve MİK değerlerine göre yorumlanmaktadır. Dilüsyon, difüzyon ya da E Test'ler ile birçok balık patojeni ve özellikle de *L. garvieae* izolatları ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. İnsan, balık ve su orjinli Edwardsiella türlerinde mikrodilüsyon yöntemi ile 71 adet antibiyotiğin MİK değerleri belirlenmiştir. MİK değerleri NCCLS / Enterobacteriaceae sınırlarına göre değerlendirilmiştir [55]. Yine balık patojenleri olan *Aeromonas salmonicida* (*A. salmonicida*), *Yersinia ruckeri* (*Y. ruckeri*), Motile *Aeromonas*, *Flavobacterium psychrophilum* (*F. psychrophilum*) ve Laktik asit bakterilerinde (4 adet izolat İtalya ve Fransa orjinli *L. garvieae*) agar dilüsyon yöntemi ile kloramfenikol ve florfenikol MİK değerleri belirlenmiştir (Michel ve diğ., 2003). Balık patojeni olan *Escherichia coli* (*E. coli*) ve *A. salmonicida* izolatlarında 10 farklı antibiyotiğin MİK değerleri broth mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiş. Bu MİK değerleri CLSI / NCCLS sınırlarına göre değerlendirilmiştir [45]. *L. garvieae* zoonoz bir patojen olup insan sağlığını ciddi şekilde etkilediği bilinmektedir. ABD - Atlanta'da insandan izole edilen *L. garvieae* ve *L. lactis* izolatlarında broth dilüsyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmış, eritromisine MİK<0,12 µg/ml ile duyarlı, klindamisine ise MİK>8 µg/ml ile dirençli olarak bildirilmiştir [28]. 2000-

2003 yılları arasında Tayvan'da gastrointestinal şikayetler ile hastaneye başvuran 4 hastadan 3'ünün bu şikayetlerden kısa bir süre önce çiğ balık tükettikleri bildirilmiş ve hastalardan alınan numunelerden *L. garvieae* izole edilmiştir. Daha sonra bu hastalardan 2'sinin *L. garvieae* ve *K. pneumoniae* enfeksiyonu ile beraberinde gelen organ yetmezliğinden dolayı hayatlarını kaybettikleri bildirilmiştir [65]. Benzer bir bildirim Kore'den 69 yaşındaki erkek bir hastanın 2 gün süren karın ağrısı ve doyunluk hissi ile hastaneye başvurduğu şeklinde yapılmış. Hastanın klinik geçmişinde gastrik ülser, karaciğer yağlanması, alkol ve tütün tüketimi olduğu bildiriliyor ve hastaya safra kesesi iltihabı teşhisi konulmuş. Operasyon sonrası safra, sarfa dokusu ve safra mukozasından alınan örneklerden *L. garvieae* izole ediliyor. İzolatlara E Test yöntemi ile yapılan antimikrobiyal duyarlılık testi sonucunda ampisilin (MİK = 0.25 µg/ml), seftriakzon (MİK = 1 µg/ml), kloramfenikol (MİK = 2 µg/ml), linezolid (MİK = 2 µg/ml), ofloksasin (MİK = 2 µg/ml), tetrasiklin (MİK = 1 µg/ml), ve vankomisin (MİK = 1 µg/ml)'e duyarlı, eritromisin (MİK = 0.5 µg/ml)'e orta dirençli, fakat klindamisin (MİK = 8 µg/ml)'e dirençli olduğu bildirilmiş. Daha sonra hastanın rutin alışkanlıkları araştırıldığında, 69 yaşındaki hastanın hayatının büyük bir kısmını balık yetiştiriciliği yapılan çiftliklerde balıkçılık yaparak geçirdiği, bu süreçte çiğ alabalık tükettiği ve tanı konulana kadar da çiğ tatlı su balığı ve kabuklu deniz ürünleri tüketmeye devam ettiği öğrenilmiştir [36].

Kültür balıkçılığında yüksek mortaliteye sebep olan *L. garvieae* üzerinde yapılan antibiyotik duyarlılık çalışmalarında Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi (1966), agar dilüsyon ya da mikrodilüsyon tercih edilmiştir. 2002 yılında Streptococcus enfeksiyonundan izole edilen *L. garvieae* suşlarına disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır. Çalışma sonucunda eritromisin, ofloksasin, ampisilin ve kloramfenikole karşı duyarlı fakat penisilin ve klindamisine karşı dirençli olduğu bildirilmiştir [22]. Yapılan başka bir çalışmada 9 adet *L. garvieae* şusu üzerinde antibiyotik duyarlılık testi yapılarak amoxicillin, amoksisilin/klavulanik asit, cefoperazon, cephalothin, spectinomycin, cloramphenicol, tetracyclin, doxycylin, erytromycin, pristinamycin, cotrimoxazol, enroflaxacin, nitrofurantoina duyarlı, penicillin, oxacillin, streptomycin, kanamycin, gentamycin, apramycin, lincomycin, tylosin, colistin, sulfamethizol, flumequin, oxolinic asite karşı dirençli olduğu gözlenmiştir. Çalışmanın sonucunda yalnızca en yüksek duyarlılık tespit edilen

eritromisin için E Test uygulanarak MİK değerlerinin 0,032 – 0.125 µg/ml olduğu tespit edilmiş ve tüm suşlarda etkili olduğu bildirilmiştir [42]. Japonya’da *Seriola* cinsi balıklardan izole edilen 170 *L. garvieae* suşuna agar dilüsyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmış ve MİK değerleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda sülfamonometoksine tüm suşların tamamen dirençli olduğu eritromisin, linkomisin ve oksitetrasikline karşı yüksek direnç, florfenikole ise yüksek duyarlılık gösterdikleri bildirilmiştir [35]. Yine Japonya’da 1999 ve 2006 yılları arasında *Seriola quinqueradiata* çiftliklerinden 146 adet *L. garvieae* suşu izole edilmiş ve bunlara agar dilüsyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır. Çalışma sonucunda 146 izolatın 46’sar tanesi eritromisin, linkomisin ve tetrasikline yüksek direnç göstermiştir. Florfenikol ve kloramfenikol için ise 1,6 µg/ml MİK değeri bildirilmiştir [43]. İspanya’da gökkuşuğu alabalıklarından izole edilen 31 adet *L. garvieae* suşunda mikrodilüsyon yöntemi ile eritromisinin MİK değerleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda 27 izolatın MİK değeri 0,125 µg/ml iken yalnızca 4 izolatın MİK değeri 0,06 µg/ml olarak tespit edilmiştir [63]. 2008’de Türkiye’de yapılan bir çalışmada 2002 ve 2004 yılları arasında 6 farklı balık çiftliğinden toplamda 180 adet enfeksiyon belirtisi gösteren balıktan izole edilen *L. garvieae* suşlarında, 2-105 µg aralıklarındaki dozlarda 28 adet antibiyotiğin duyarlılıklarına bakılmış ve sonucunda tedavi için en yüksek duyarlılığı tespit edilen eritromisin tercih edilmiştir [34]. Türkiye’deki başka bir çalışmada izole edilen *L. garvieae* suşlarının antibiyotik duyarlılık testi sonucunda ampisilin, fusidik asit, gentamisin, linkomisin, nalidisik asit, neomisin ve sülfametoksazol/trimetoprime karşı direnç gösterdikleri fakat amoksisilin, basitrasin, eritromisin, florfenikol, kloramfenikol ve novobiosine karşı duyarlılık gösterdikleri bildirilmiştir [1]. İsviçre’de mastitisten izole edilen *L. garvieae* ve *L. lactis* izolatlarına broth dilüsyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır. Sonuçlara göre izolatların 0,5 µg/ml MİK değeri ile eritromisine duyarlı, MİK>8 µg/ml ile klindamisine dirençli olarak bildirilmiştir [64]. İspanya’da gökkuşuğu alabalıklarından izole edilmiş *L. lactis*, *L. pelintarum* ve *L. meseateroide* izolatlarına disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır. Çalışma sonucunda izolatların yalnızca gentamisine duyarlı olduğu, amoksisilin/klavulanik asite ise orta dirençli olduğu bildirilmiştir [53]. İran’da 10 farklı balık çiftliğinden toplamda 52 adet *L. garvieae* izolatlarına disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır.

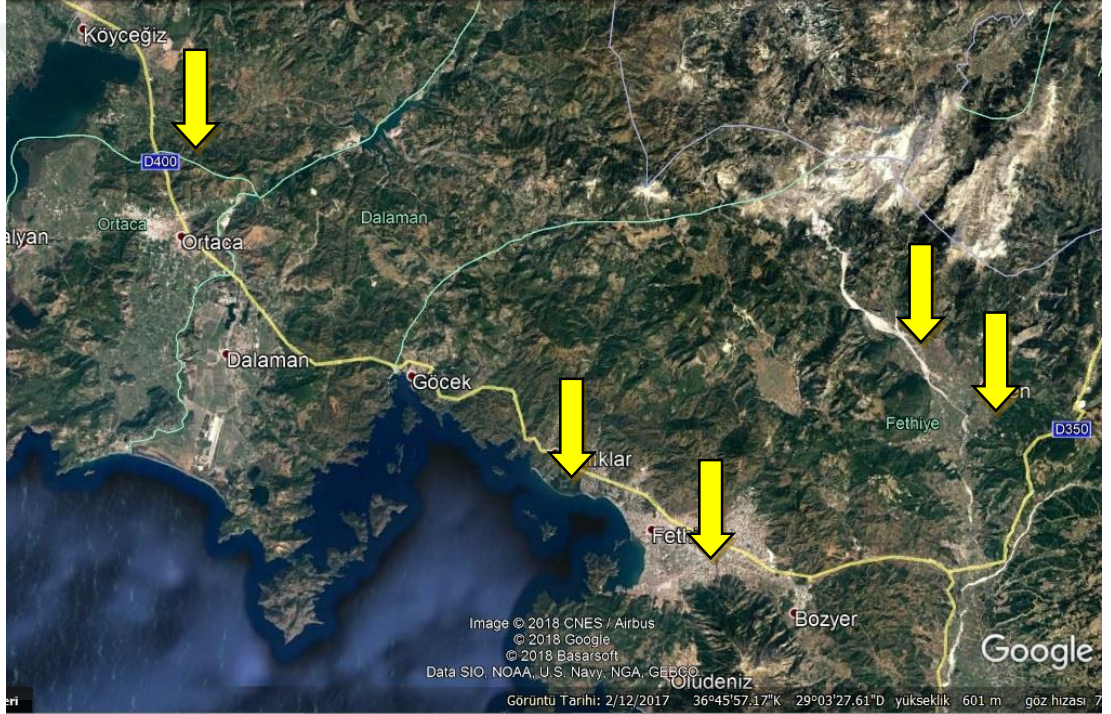
Çalışmanın sonucunda klindamisine ve linkomisine karşı %100 direnç kaydedilirken florfenikol ve eritromisine karşı duyarlılık tespit edilmiştir. Florfenikolün %57,6 duyarlılık oranı göz önüne alınarak kullanılabilir en uygun antibiyotik olarak bildirilmiştir [48]. Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), Karadeniz alabalığı (*Salmo trutta labrax*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) balıklarından izole ettikleri *L. garvieae*'nin PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) metodu kullanılarak genetik çeşitliliğini ve yayılımını belirledikleri çalışmalarında Türkiye'den elde edilen izolatlar ile İtalya, İspanya ve Fransa menşeli balık ve diğer hayvanlardan izole edilmiş olan suşlar arasında farklı biyokimyasal özellikler tespit etmişlerdir. Ayrıca suşların oksitetrasiklin, amoksisilin, tetrasiklin ve florfenikol gibi antibiyotiklere karşı da duyarlı oldukları ve gentamisin, sülfametoksazol/trimetoprim gibi antibiyotiklere karşı ise dirençli olduklarını rapor etmişlerdir [58]. Ürdün'de inek, koyun ve keçi sütü orjinli *L. garvieae* izolatlarında disk difüzyon yöntemi ile yapılan antibiyotik duyarlılık testi sonucunda sulfametoksazol/trimetoprimin 20 mm çap zonu ile tedavi için kullanılacak en efektif antibiyotik olduğu bildirilmiştir [2]. Türkiye'deki başka bir çalışmada, 13 adet *L. garvieae* izolatında disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmış. Çalışma sonucunda linkomisin, gentamisin, neomisin ve sülfametoksazol/trimetoprime karşı tüm suşların %100 dirençli, eritromisine %92 dirençli, florfenikole %53 dirençli olduğu bildirilmiştir [4]. Türkiye'de yapılan bir diğer çalışmada, 13 adet *L. garvieae* izolatında disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmış. Çalışma sonucunda linkomisin, gentamisin, neomisin ve sülfametoksazol/trimetoprime karşı tüm suşların %100 dirençli, eritromisine %92 dirençli, florfenikole %53 dirençli olduğu bildirilmiştir [3]. 2014 yılının Ağustos ayında Karadeniz bölgesindeki gökkuşığı alabalıklarından izole edilen *L. garvieae* izolatlarının disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılığına bakılmış. Çalışma sonucunda eritromisin, oksitetrasiklin, amoksisilin, ampisilin, florfenikole duyarlı olduğu, sülfametoksazol/trimetoprim, okzolinik asit ve trimetoprime dirençli olduğu bildirilmiştir [25]. İspanya'da insan orjinli 33 *L. garvieae* izolatına E Test ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır. Test sonucunda suşların rifampin, fosfomisin ve klindamisine dirençli olduğu bildirilmiş, duyarlı olduğu antibiyotiklerin MİK değerleri; penisilin (1 - 0,125 µg/ml), levofloksasin (0,5 – 1,5 µg/ml), siprofloksasin (2 – 8 µg/ml < MİK) şeklinde kaydedilmiştir [52]. Gökkuşığı alabalığı, keçi peyniri

ve sığır sütünden izole edilen toplam 30 adet *L. garvieae* suşlarına disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılıklarına bakılmış, çalışma sonucunda penisilin, oksitetrasiklin, ampisilin ve tetrasikline %10, amoksisilin ve eritromisine %16, enrofloksasine %36, gentamisine %50, sülfametoksazol/trimetoprime 90 dirençli oldukları, bunun yanı sıra florfenikole tüm suşların duyarlı olduğu bildirilmiştir [57]. Dolgun (2015), gökkuşığı alabalıklarından izole ettiği *L. garvieae*'nin identifikasyonu ve antibiyotiklere olan duyarlılığını araştırdığı çalışmasında 2 farklı çiftlikten örnekleme gerçekleştirmişlerdir. Biyokimyasal testler ve PCR (Polimeraze Chain Reaction) ile identifikasyonunu gerçekleştirdikleri *L. garvieae*'nin penisilin g, florfenikol, amoksisilin/klavulanik asit, ampisilin, sefoperazon, eritromisin, metisilin, gentamisin, oksasilin ve kloksasiline karşı duyarlılığını test etmek amacıyla da antibiyotik diskleri ile disk difüzyon yöntemini kullanmıştır. Çalışma sonunda izole edilen *L. garvieae* suşlarının amoksisilin/klavulanik asite %90 oranında duyarlı, florfenikole %65 oranında orta derecede duyarlı, kullanılan diğer antibiyotiklere karşı ise dirençli olduğu bildirilmiştir [23]. İran'da gökkuşığı alabalıklarından izole edilen 24 adet *L. garvieae* suşuna disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır. Çalışma sonucunda izolatların sülfametoksazol ve florfenikole duyarlı oldukları, ampisilin (%87,5), eritromisin (%37,5) ve tetrasiklin (%79) 'e dirençli oldukları bildirilmiştir [49].



3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada Güney Ege Bölgesinin Muğla ilinin Fethiye ve Köyceğiz ilçelerindeki 5 farklı lokasyonunda bulunan alabalık işletmelerinden örnekler alınmıştır (Resim 3.1). Örnekler *Lactococcus* semptomları gözlenen balıklardan izole edilmiştir.



Resim 3.1 : Muğla'nın Köyceğiz ve Fethiye ilçelerindeki numune alınan alabalık çiftliklerinin lokasyonları [67].

Belirlenen 5 farklı bölgedeki alabalık çiftliklerinin yeri ve örnekleme yapılan dönemlere ait bilgiler aşağıdaki tabloda sunulmuştur (Tablo 3.1).

Tablo 3.1 : Numune alınan işletmeler, örnekleme zamanı ve numune kodlama

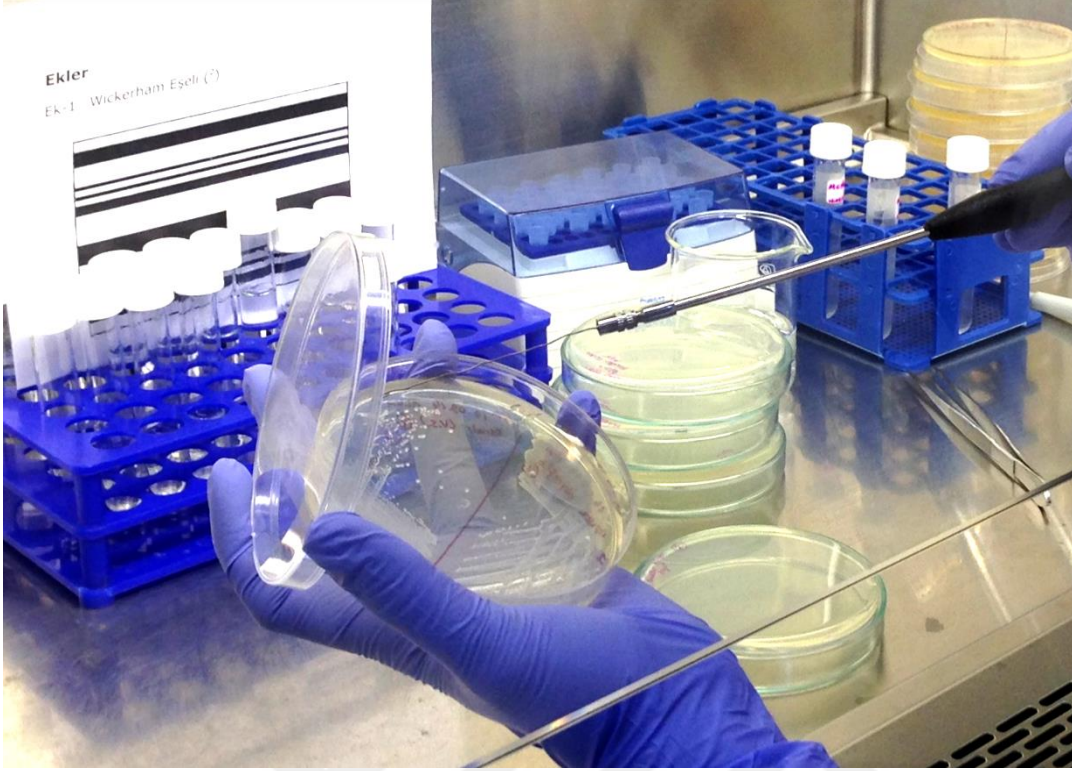
İL / İLÇE	BÖLGE	ÖRNEKLEME DÖNEMİ	ÖRNEKLERİN KODLANMASI
A) Muğla - Köyceğiz	1) Beyobası	Temmuz 2014 / Eylül 2014	A10714 / A10914
B) Muğla - Fethiye	1) Yanıklar	Temmuz 2014 / Eylül 2014	B10714 / B10914
	2) Eşen	Temmuz 2014 / Eylül 2014	B20714 / B20914
	3) Patlangıç	Temmuz 2014 / Eylül 2014	B30714 / B30914
	4) Söğütlüdere	Temmuz 2014 / Eylül 2014	B40714 / B40914

Bu çalışmada, 2014 yılının Temmuz ve Eylül aylarında işletmeler içerisindeki havuzlardan ilk bakışta hastalık belirtisi gözlemlenen, özellikle yüzme bozukluğu, renkte karama olan, durgunlaşan ve ekzoftalmus görünen hasta balıklar alınmıştır (Resim 3.2).



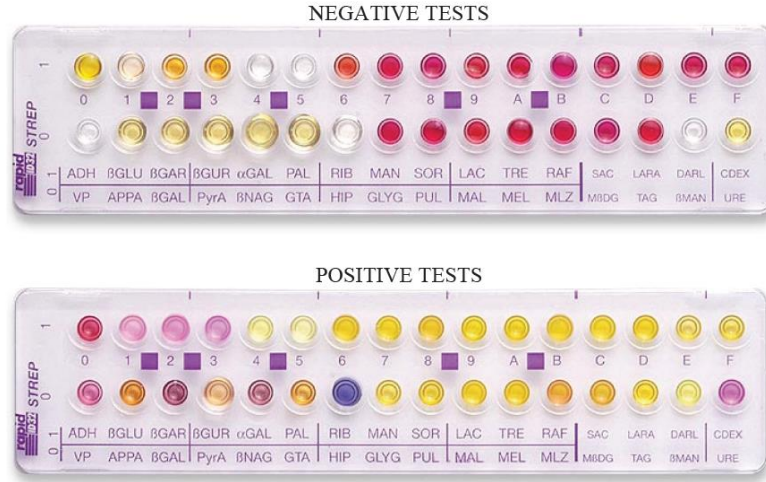
Resim 3.2 : Havuzdaki hasta balıkların görünümü (E. Dinçtürk)

Alınan örneklerin böbrek, dalak ve karaciğerlerinden TSA besi yerlerine aseptik bir şekilde mikrobiyolojik ekim yapılmıştır. Ekim yapılan besi yerleri 24°C de 24-48 saat inkübasyona bırakılmış ve üremeleri gözlenmiştir. Üremeleri takiben suşların saflaştırılması için homojen görünen, tekli koloniler yeniden TSA besi yerlerine aseptik olarak pasaje edilmiştir (Resim 3.3).



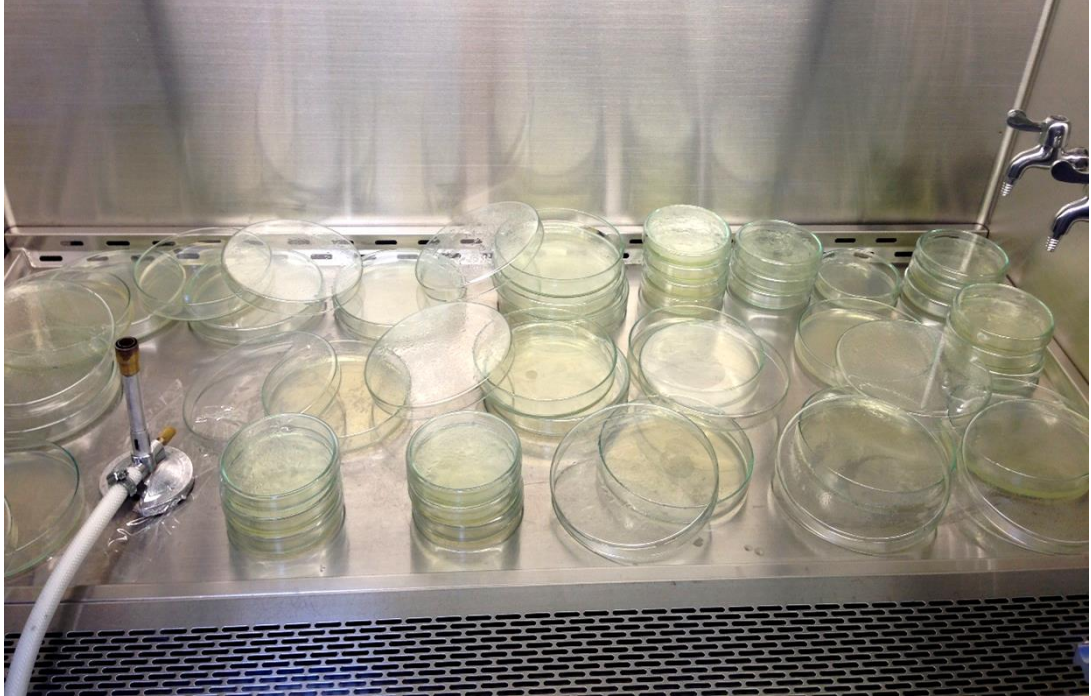
Resim 3.3 : Üreyen suşların identifikasyon öncesinde saflaştırılmak üzere TSA besi yerlerine pasaje edilmesi.

Saflaştırma işleminden sonra suşlarının identifikasyonunda API Rapid ID 32 STREP kiti kullanılmıştır. API inkübasyonu sonunda kuyucuklardaki renk değişimleri kontrol cetveliyle karşılaştırılmış, pozitif ve negatif olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar APIWEB™ veritabanı üzerinden kontrol edilerek identifiye edilen türün *L. garvieae* olduğu belirlenmiştir. Aşağıda API Rapid ID 32 STREP referans renk skalaları verilmiştir (Resim 3.4).



Resim 3.4 : API Rapid ID 32 STREP kiti pozitif ve negatif renk skalaları
(bioMérieux®SA, France)

API Rapid ID 32 STREP ile tanımlanmış *L. garvieae* kolonilerinden McFarland 0.5 standartında süspansiyon hazırlanmıştır. Hazırlanan bakteri süspansiyonu MHA besiyerinin tüm yüzeyine steril swab ile aseptik bir şekilde yayılmıştır (Resim 3.5).

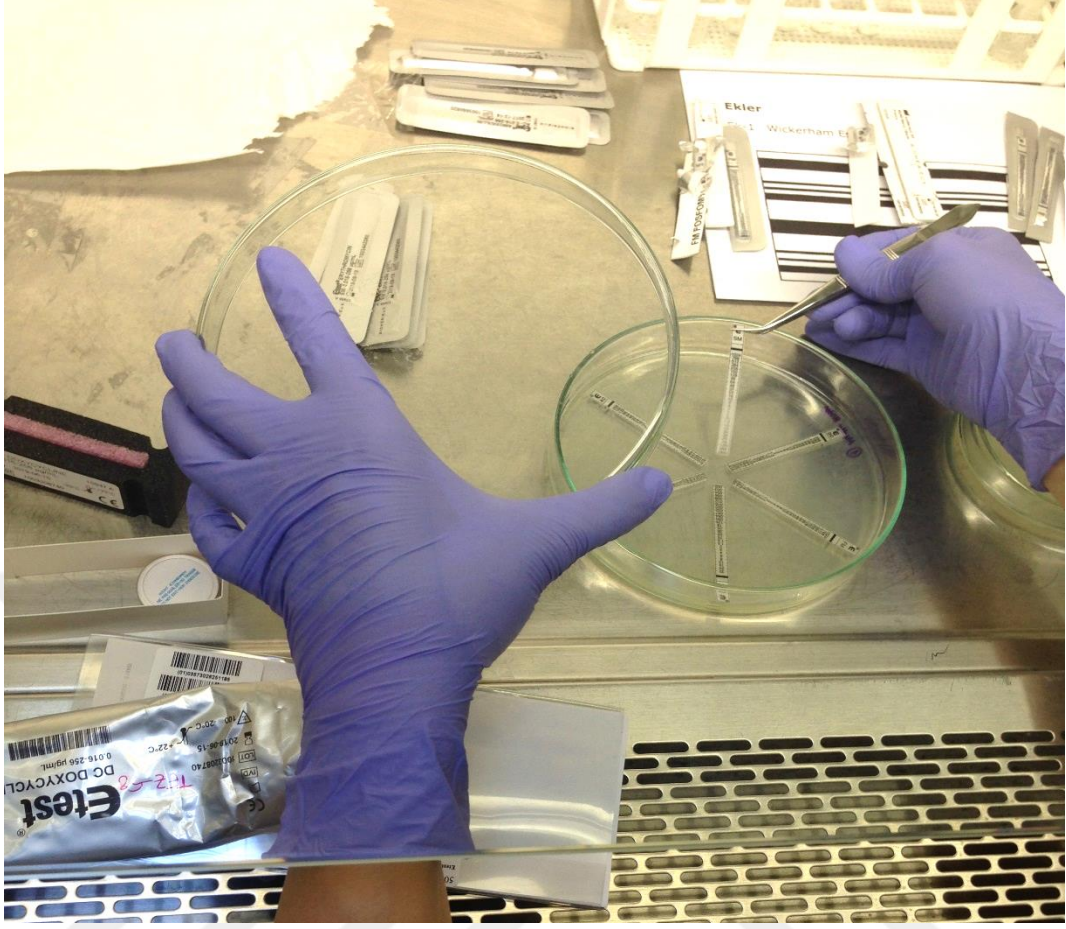


Resim 3.5 : Hazırlanan MHA petrileri



Resim 3.6 : E Test stripleri

Kullanılacak olan E Test stripleri özel ambalajından bir penset yardımıyla E işaretli tutaç kısmından tutarak çıkarılmıştır. Stripler, dikkatli, dengeli hareketlerle “E” işaretli kısım plağın çevre kısmına ve MİK konsantrasyonlarının yazılı olduğu yüzey üstü gelecek şekilde, bir defada agar üzerine yerleştirilmiştir. 90 mm petrilere 1, 150 mm petrilere 4-6 strip, yan yana gelen stripler çapraz olarak yerleştirilmiştir (Resim 3.7). İnokülasyonu tamamlanan petri 24 - 48 saat süre ile 24°C de inkübasyona bırakılmıştır.



Resim 3.7 : 150 mm petri kaplarına hazırlanmış olan MHA besi yerlerine E Test stripleri 4-6 adet olarak yerleştirilmesi

İnkübasyon süresi sonunda oluşan eliptik zonların E Test üzerindeki konsantrasyon değeri ile kesiştiği nokta MİK değeri olarak kabul edilmiş ve kayıt altına alınmıştır.



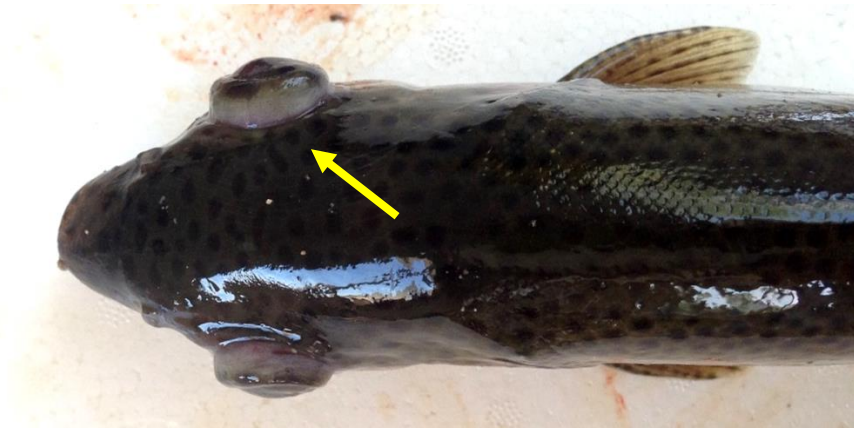
4. BULGULAR

5 farklı lokasyondan seçilen numuneler enfeksiyon belirtisi gözlemlenen havuzlardan, renk değişimi ve kararma tespit edilen bireylerden alınmıştır (Resim 4.1). Tespit edilen klinik belirtiler aşağıda yer almaktadır (Resim 4.2; Resim 4.3; Resim 4.4; Resim 4.5; Resim 4.6; Resim 4.7; Resim 4.8; Resim 4.9; Resim 4.10).



Resim 4.1 : Anormal renk değişimi ve kararma

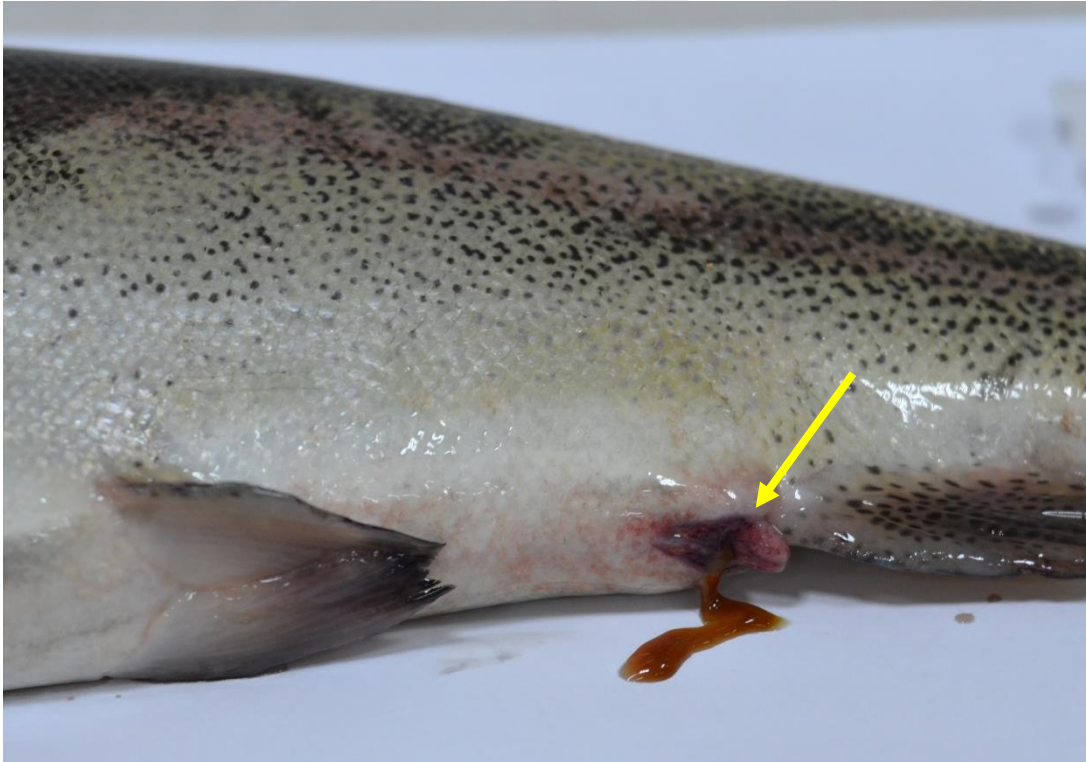
Lactococcosis'in en belirgin semptomu ve hastalığın adının "pop-eye" olarak bilinmesine sebep olan ekzoftalmus gözlenmiştir (Resim 4.2 ve Resim 4.3).



Resim 4.2 : Gözlerde ekzoftalmus ve renkte kararma



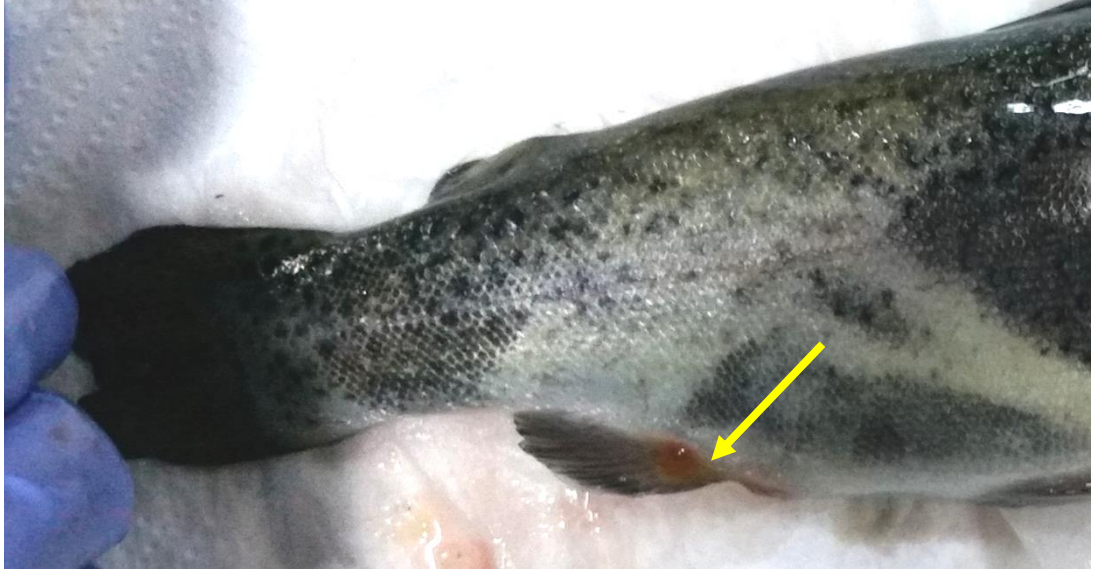
Resim 4.3 : Gözde ekzoftalmus ve hemoraji



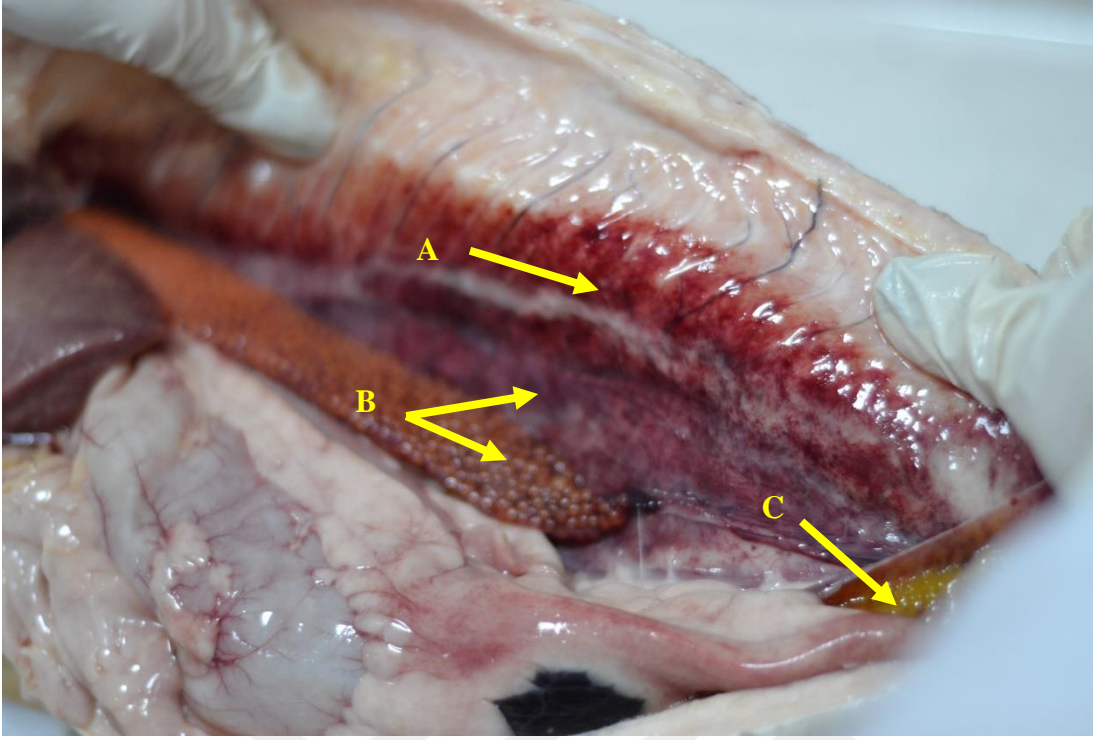
Resim 4.4 : Anüste prolapsus



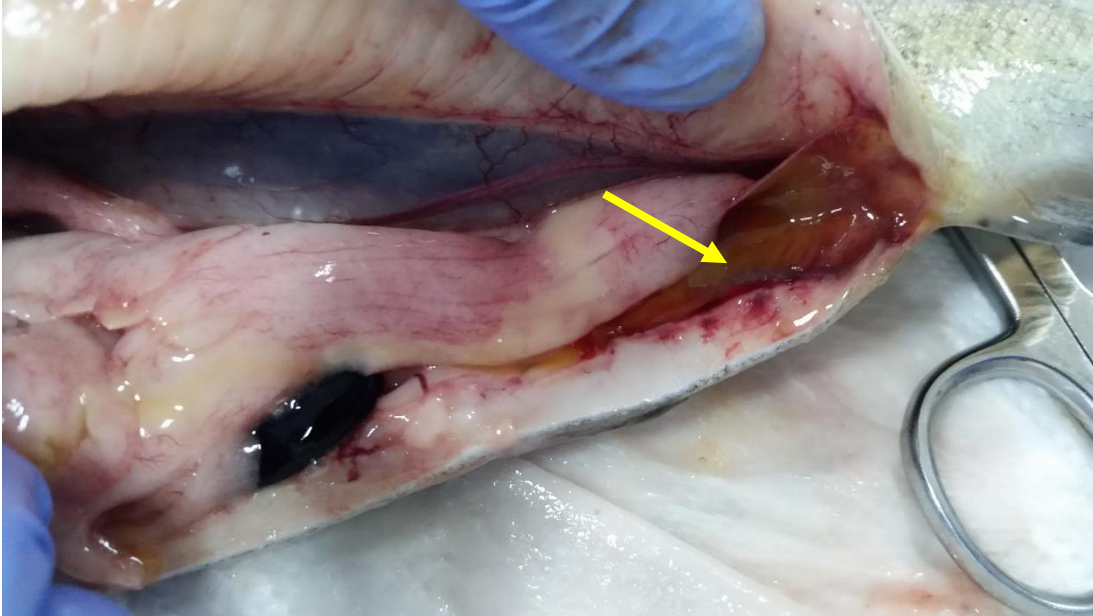
Resim 4.5 : Abdominal bölgede peteşi ve pelvik yüzgeç kaidesinde hemoraji



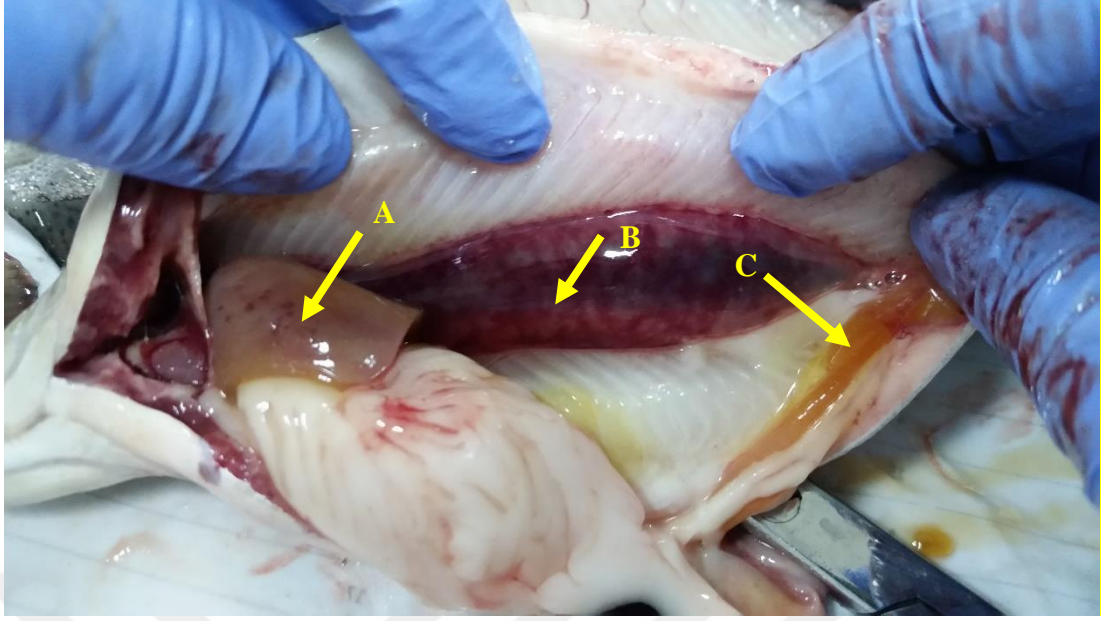
Resim 4.6 : Anal yüzgeç kaidesinde hemoraji ve deride anormal renk değişimi



Resim 4.7 : A) Periton zarında hemoraji, B) Hava kesesi ve gonad zarında hemoraji, C) Bağırsakta diyare



Resim 4.8 : Bağırsakta hemorajik diyare



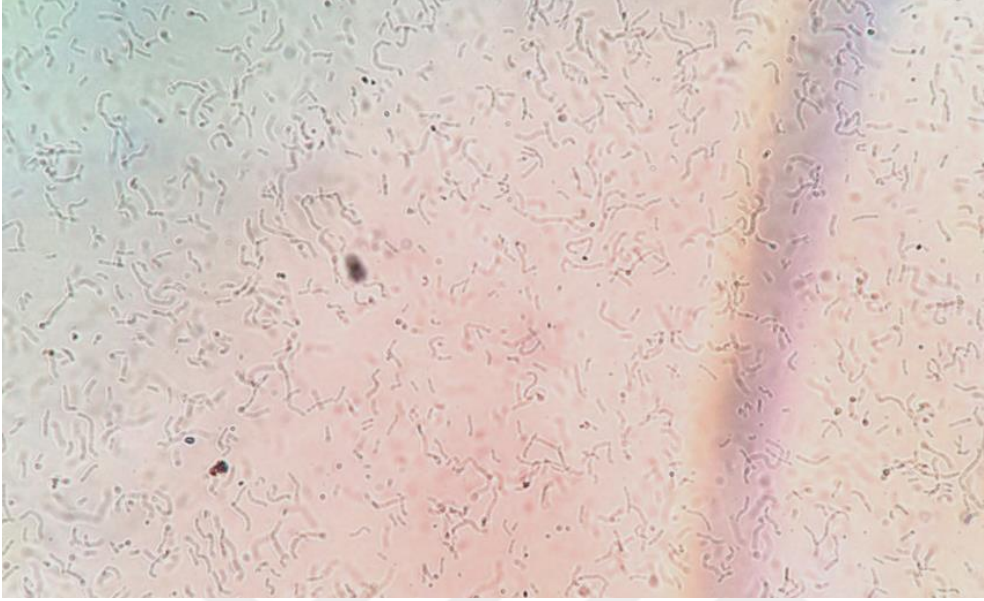
Resim 4.9 : A) Karaciğerde soluk renk ve peteşi, B) Hava kesesi yüzeyinde hemoraji, C) Bağırsakta diyare



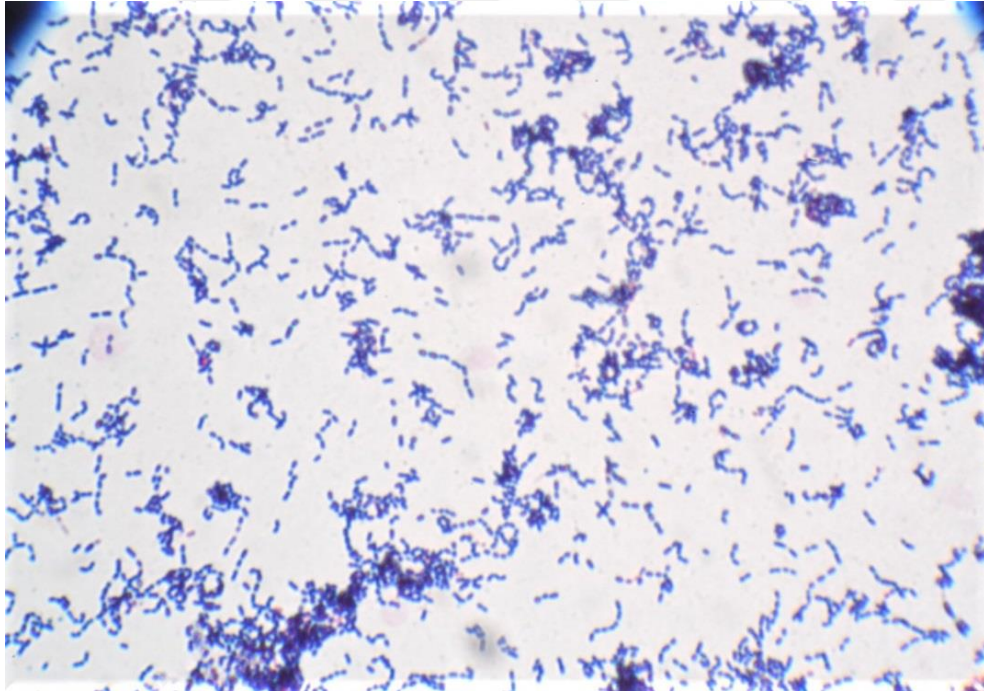
Resim 4.10 : Karaciğerde solma ve peteşi

Bu klinik semptomları gösteren numunelerin karaciğer, dalak ve böbreklerinden aseptik olarak TSA besi yerlerine mikrobiyolojik ekim yapılmıştır. Üreme görülen petrilerden alınan koloniler pasaje edilerek saflaştırılmış, saflaştırma sonucunda homojen görünümdeki kolonilerden frotiler hazırlanmış, ardından bu frotilere hareket muayenesi, oksidaz ve katalaz testi ile gram boyama yapılmıştır. Bunun sonucunda

hareket negatif, oksidaz ve katalaz negatif, kısa zincirli, gram pozitif kok bakteriler izole edilmiştir (Resim 4.11 ve Resim 4.12).

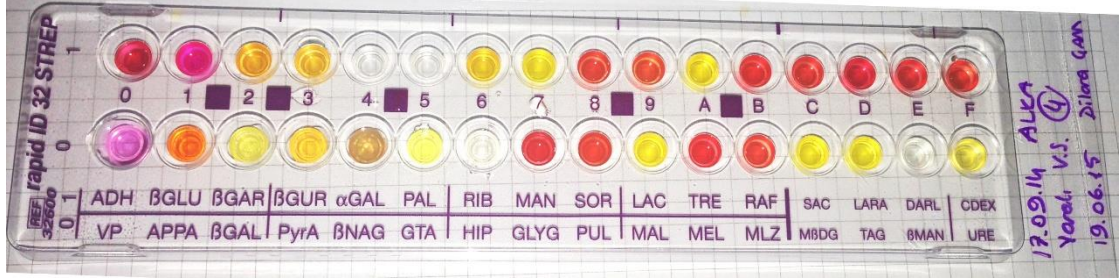


Resim 4.11 : *L.garvieae* 40x mikroskop native görünümü



Resim 4.12 : *L.garvieae* Gram boyama sonrası 100x mikroskop görünümü

Çalışma sonucunda 20 adet suş izole edilmiş ve bu suşların identifikasyonunda API Rapid ID 32 STREP kiti kullanılmıştır (Resim 4.13). Kit sonuçları APIWEB™ veritabanı üzerinden kontrol edilerek identifiye edilen türün %99,8 *L. garvieae* olduğu belirlenmiştir (Resim 4.14).



Resim 4.13 : API Rapid ID 32 STREP kiti identifikasyon sonucu

REFERENCE	DATE
	7/6/15
COMMENT	
VERY GOOD IDENTIFICATION	
Strip	rapid ID 32 STREP V4.0
Profile	++-----++-+-?-----+-----++---
Note	
Significant taxa	% ID T Tests against
Lactococcus garvieae	99.8 0.86
Next taxon	% ID T Tests against
Lactococcus lactis ssp lactis	0.1 0.48 TAG 3% CDEX 95%

Resim 4.14 : APIWEB™ veritabanı üzerinden kaydedilen identifikasyon sonuçları

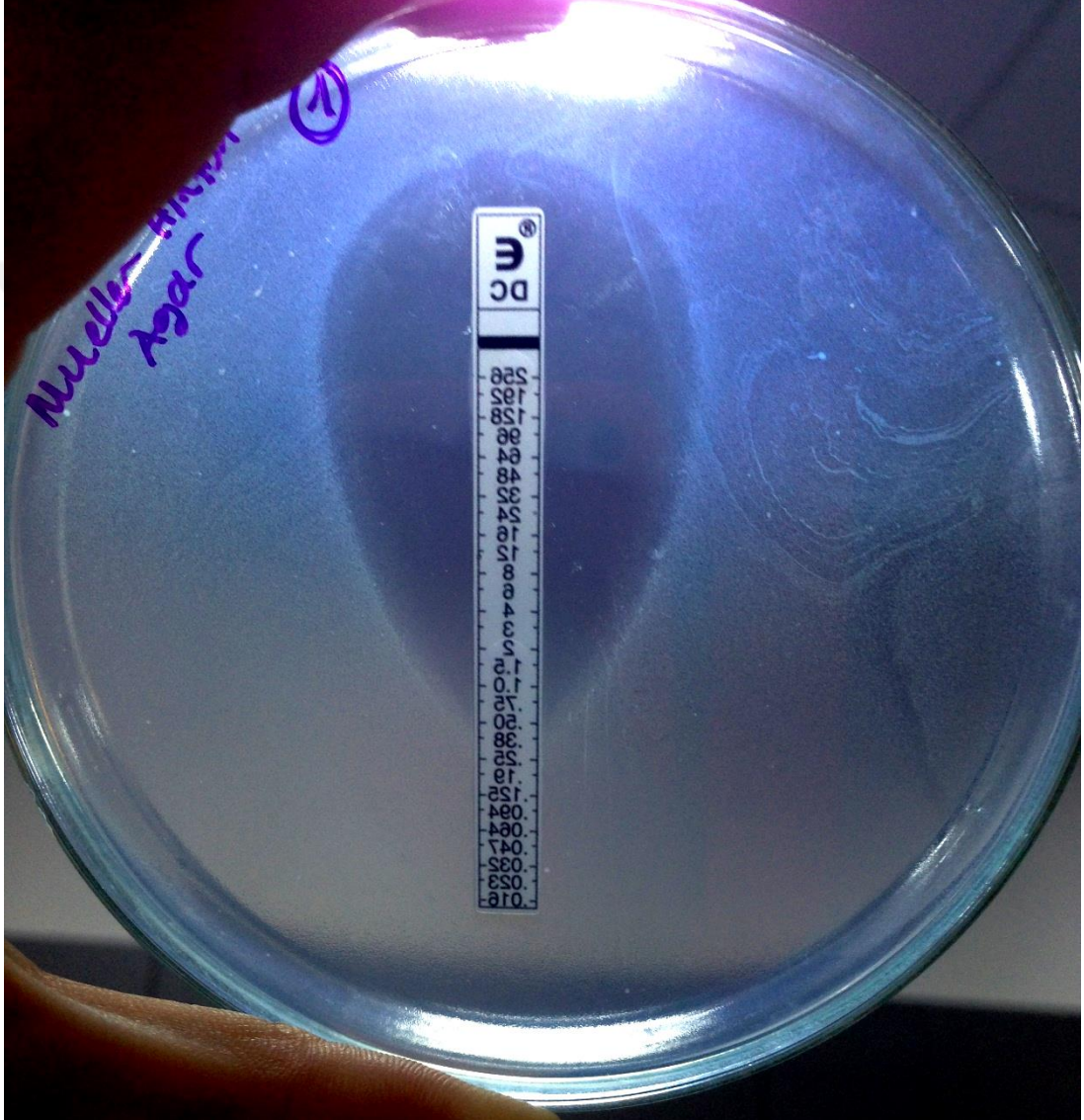
Aşağıda identifiye edilen *L. garvieae* suşlarının API Rapid ID 32 STREP profilleri verilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 : Bölgelere göre *L. garvieae* API Rapid ID 32 STREP profilleri

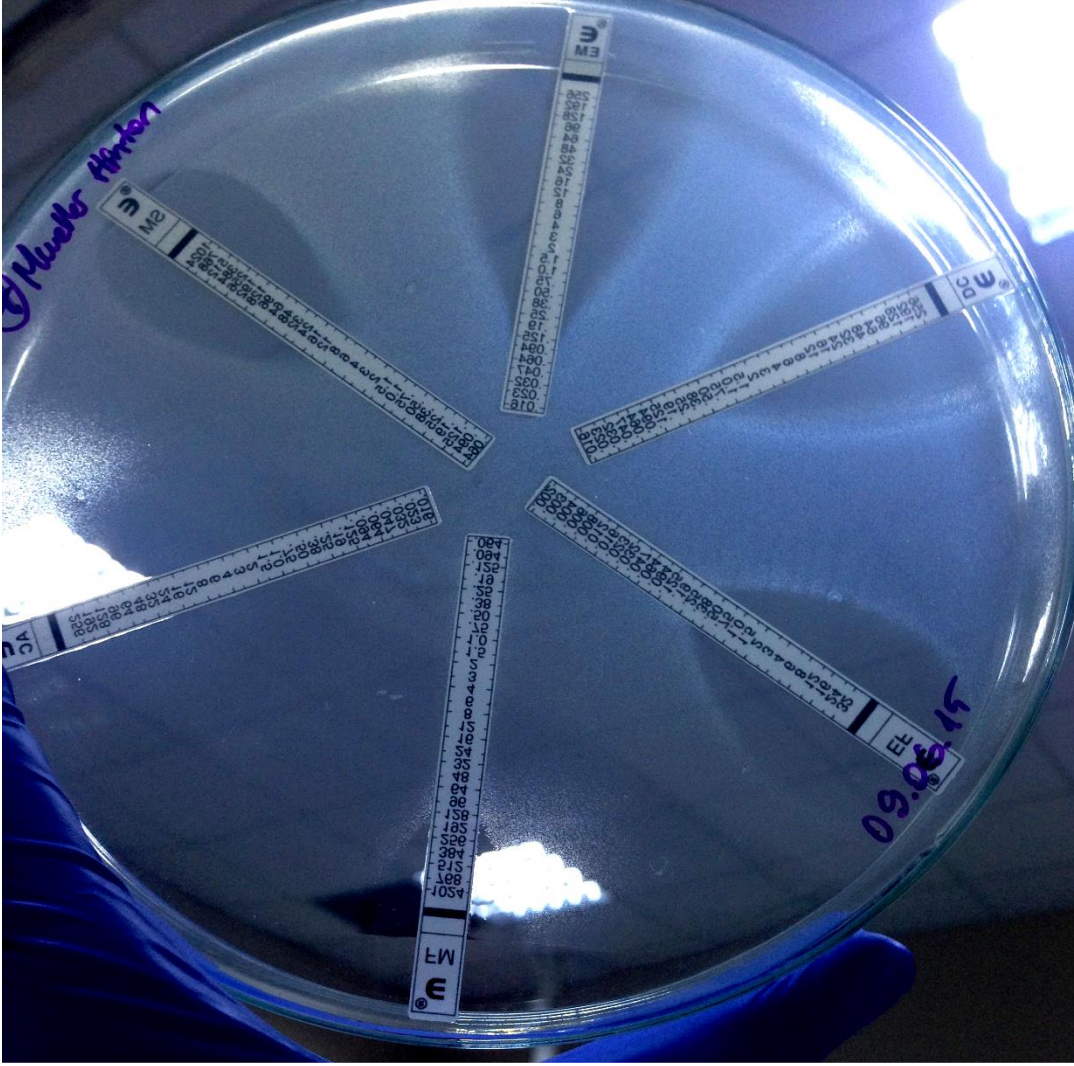
	A1 2014	B1 2014	B2 2014	B3 2014	B4 2014
ADH	+	+	+	+	+
β GLU	+	+	+	+	+
β GAR	-	-	-	-	-
β GUR	-	-	-	-	-
GAL	-	-	-	-	-
PAL	-	-	-	-	-
RIB	+	+	+	+	+
MAN	+	+	+	+	+
SOR	-	-	-	-	-
LAC	-	-	-	-	-
TRE	+	+	+	+	+
RAF	-	-	-	-	-
VP	+	+	+	+	+
APPA	+	+	+	+	+
β GAL	-	-	-	-	-
PyrA	+	+	+	+	+
β NAG	-	-	-	-	-
GTA	-	-	-	-	-
HIP	-	-	-	-	-
GLYG	-	-	-	-	-
PUL	-	-	-	-	-
MAL	+	+	+	+	+
MEL	-	-	-	-	-
MLZ	-	-	-	-	-
SAC	-	-	-	-	-
LARA	-	-	-	-	-
DARL	-	-	-	-	-
M β DG	+	+	+	+	+
TAG	+	+	+	+	+
β MAN	-	-	-	-	-
CDEX	-	-	-	-	-
URE	-	-	-	-	-

Pozitif (+) , Negatif (-)

İdentifiye edilen 20 adet *L. garvieae* suşunda sırası ile amoksisilin/klavulanik asit (2/1) (XL), amoksisilin (AC), ampisilin (AM), klindamisin (CM), doksisisiklin (DC), enrofloksasin (EF), eritromisin (EM), fosfomisin (FM), streptomisin (SM) ve trimetoprim/sülfametoksazol (TS) olmak üzere 10 adet antibiyotiğin duyarlılıklarına bakılarak MİK değerleri belirlenmiştir.



Resim 4.15 : 24°C de 24 saat inkübasyon sonrası doksisisiklin (DC) stribi etrafındaki eliptik zon ve MİK değeri



Resim 4.16 : 24°C de 24 saat inkübasyon sonrası stripler etrafındaki eliptik zonlar ve MİK değerleri

Araştırma sonucunda amoksisilin (AC) 0,25 - 6 µg/ml aralığında, amoksisilin/klavulanik asit (2/1) (XL) 0,25 - 8 µg/ml aralığında, ampisilin (AM) 0,19 - 3 µg/ml aralığında, klindamisin (CM) 16 - 192 µg/ml aralığında, doksisisiklin (DC) 0,75 - 32 µg/ml aralığında, enrofloksasin (EF) 0,25 - 3 µg/ml aralığında, eritromisin (EM) 0,023 - 1 µg/ml aralığında, fosfomisin (FM) 192 - 1024 µg/ml aralığında, streptomisin (SM) 16 - 512 µg/ml aralığında MİK değerleri kaydedilirken, sülfametoksazol/trimetoprim (1/19) (TS)'e karşı tüm izolatların MİK > 32 µg/ml ve yüksek dirençli olduğu görülmüştür. İzolatlara göre kaydedilen MİK değerleri Tablo 4.2'de sunulmuştur.

Tablo 4.2 : *L. garvieae* izolatlarında antibiyotiklerin MİK değerleri (µg/ml) ve duyarlılık renk skalası

	DC (0.016- 256 µg/ml)	FM (0.064- 1024 µg/ml)	EF (0.002- 32 µg/ml)	EM (0.016- 256 µg/ml)	AC (0.016- 256 µg/ml)	SM (0.064- 1024 µg/ml)	TS (1/19) (0.002- 32 µg/ml)	CM (0.016- 256 µg/ml)	AM (0.016- 256 µg/ml)	XL (2/1) (0.016- 256 µg/ml)
A10714-1	3	>1024	1,5	0,25	0,38	16	>32	32	0,38	0,75
A10714-2	3	>1024	0,25	0,64	0,38	16	>32	48	0,19	0,50
A10714-3	4	>1024	1	0,64	0,75	24	>32	64	0,50	2
A10914-1	0,75	256	1	0,032	0,50	96	>32	16	0,19	0,38
B10714-1	6	>1024	1,5	0,75	0,50	16	>32	32	0,25	0,38
B10714-2	3	>1024	0,50	0,19	1	128	>32	32	0,50	0,38
B10714-3	1	>1024	0,25	0,023	0,25	192	>32	192	0,25	0,38
B10714-4	32	>1024	>32	>256	6	512	>32	64	1	0,75
B10714-5	4	192	1,5	1	0,75	128	>32	32	0,50	0,50
B10714-6	3	>1024	1,5	0,38	0,50	48	>32	24	0,38	0,75
B20714-1	3	>1024	0,38	0,094	0,25	16	>32	48	0,25	0,50
B20714-2	8	>1024	1,5	0,38	0,75	128	>32	192	0,38	1,5
B20714-3	2	384	2	0,25	0,50	96	>32	32	0,50	0,50
B30714-1	1	>1024	0,38	0,064	0,38	24	>32	24	0,50	0,25
B30714-2	12	1024	3	>256	0,50	>1024	>32	96	0,38	0,50
B40917-1	6	>1024	1,5	0,19	3	>1024	>32	96	1,5	8
B40917-2	8	>1024	>32	0,50	4	>1024	>32	24	3	4
B40917-3	1,5	1024	0,50	0,032	0,38	256	>32	24	0,38	0,50
B40917-4	0,75	>1024	0,75	0,032	0,38	>1024	>32	24	0,75	0,75
B40917-5	0,75	>1024	0,25	0,023	0,38	192	>32	16	0,50	0,38

CLSI ve EUCAST'a göre **Duyarlı**; **Orta Dirençli**; **Dirençli**.



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

L. garvieae kaynaklı Lactococcosis, gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliği yapan işletmeler için suların ısındığı periyotta yüksek mortaliteye sebebiyet vererek üretimi ciddi derecede etkilemektedir. Lactococcosis enfeksiyonlarının kontrolünde çeşitli kemoterapötikler kullanılmaktadır. Ancak enfeksiyonun tedavi edilebilmesi etkenin, kullanılan kemoterapötiğe karşı duyarlılığına bağlıdır. Bunu tespit etmek için antimikrobiyal duyarlılık testlerine ve MİK değerlerine ihtiyaç duyulmaktadır. MİK değerleri, disk difüzyon testlerinin kullanılmayacağı ya da beklenmedik bakteri direnci tespit edilen durumlar çok önemlidir [5]. Disk difüzyon yönteminde sonuçlar duyarlı (S) ya da dirençli (R) olarak bildirilmektedir. Ancak bu sonuçların kantitatif dökümü olan MİK'ler değişim gösterebilmektedir. Esas MİK değerleri ile belirlenen antimikrobiyal duyarlılık, doğru antimikrobiyal ajanı doğru konsantrasyon ve doğru periyotta uygulayabilmek adına tedavi sürecine yön vermektedir. İnfeksiyon sahasındaki ilaç konsantrasyonu MİK değerinin altında kalıyorsa tedavi başarısızlığı muhtemeldir [39]. E Test ile tespit edilen MİK sonuçları agar ve broth dilüsyon testlerine kıyasla iyi ve hızlı sonuçlar vermektedir. Dilüsyon, difüzyon ve E Test metot olarak kıyaslandığında, dilüsyon ve difüzyon yöntemlerinde daha fazla işlem basamağının olması, uygulama prosedüründe fazlaca ekipman kullanılması kontaminasyon ve hata riskini de arttırmaktır. E Test, aynı anda aynı patojen için 4-6 MİK sonucu okuyabilme imkânı sağlayarak iş gücü ve zamandan da kazanım sağlamaktadır. Ancak uygun mikroorganizma için uygun antimikrobiyal ajan kombinasyonunu oluşturabilme konusunda bazı ön yargılar vardır. Broth dilüsyon ve disk difüzyon için oluşturulan standart ve sınır değerlerin E Test için olmayışı bu ön yargıların temelini oluşturmaktadır [32]. Amerika'da yapılan çalışmada (1991), 195 adet patojen için 14 adet antibiyotiğin antibiyotik duyarlılıklarına bakılmış. Çalışma sırasında E Test, agar dilüsyon ve broth dilüsyon yöntemleri birbirleriyle

karşılaştırılmıştır. E Test o zamana kadar uygulanabilir antimikrobiyal duyarlılık testleri içinde en üstün metot olarak bildirilmiştir [9]. Bu sebeple yapılan bu çalışmada antimikrobiyal testler içinde güvenilir, hızlı, en iyi kullanılabilen E Test ile antimikrobiyal duyarlılık ve MİK değerleriyle bakteri direnci ortaya konmuştur.

Bu çalışmada ilk kez Türkiye’de gökkuşığı alabalıklarından izole edilen *L. garvieae* suşlarında E Test kullanılarak MİK değerleri belirlenmiştir. Kubilay vd.’nin yaptığı bir çalışmada 9 adet *L. garvieae* şusu üzerinde antimikrobiyal duyarlılık testi yapılarak, çalışmanın sonucunda yalnızca en yüksek duyarlılık tespit edilen eritromisin için E Test uygulanmış ve tüm suşlarda etkili olan bu kemoterapötik için MİK değerlerinin 0,032 – 0.125 µg/ml arasında olduğu bildirilmiştir [42]. Bu çalışmada ise toplam 20 adet izolat için seçilen kemoterapötiklerde E Test kullanımı ve duyarlılıklar direkt kantitatif MİK değerleri olarak belirlenmiştir. Eritromisin için MİK değerleri bu çalışmada 0,023 - 1 µg/ml aralığında kaydedilmiştir.

ABD, İsviçre ve İspanya’da yapılan çalışmalarda insan ve mastitisten izole edilen *L. garvieae* ve *L. lactis* izolatlarının broth dilüsyon ve E Test yöntemi ile antimikrobiyal duyarlılıklarına bakılmıştır. Çalışmalar sonucunda; Atlanta’daki çalışmada *L. garvieae* suşları MİK<0,12 µg/ml ile eritromisine duyarlı, MİK>8 µg/ml ile klindamisine dirençli olarak bildirilirken İsviçre’de ise MİK sonuçlarına göre izolatların 0,5 µg/ml ile eritromisine duyarlı, MİK>8 µg/ml ile klindamisine dirençli olduğu bildirilmiştir. İspanya’daki test sonucunda da suşların rifampin, fosfomisin ve klindamisine dirençli olduğu bildirilmiştir. Duyarlı olduğu antibiyotiklerin MİK değerleri; penisilin (1 - 0,125 µg/ml), levofloksasin (0,5 – 1,5 µg/ml), siprofloksasin (2 – 8 µg/ml < MİK) şeklinde kaydedilmiş ve CLSI’ye göre değerlendirilmiştir [28, 64, 52]. Bu çalışmada aynı insan ve mastitis orjinli izolatlarda olduğu gibi gökkuşığı alabalıklarından izole edilen *L. garvieae* izolatlarında da klindamisine yüksek direnç tespit edilmiştir.

Farklı balık patojenlerinde de antimikrobiyal testler yapılarak patojenlerin kemoterapötiklere karşı MİK değerleri belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda mikrodilüsyon, agar dilüsyon ve broth dilüsyon yöntemleri tercih edilmiştir.

Edwardsiella, *A. salmonicida*, *Y. ruckeri*, Motile Aeromonas, *F. psychrophilum* ve Laktik asit bakterilerinde MİK değerlerini belirlemişlerdir. MİK değerleri NCCLS / *Enterobacteriaceae* ve CLSI sınırlarına göre değerlendirilmiştir [55, 44, 45]. Bu sebeple yaptığımız bu çalışmada balık patojenleri için daha önce kullanılmamış olan E Test kullanılmış, sonuçlar CLSI ve NCCLS MİK sınırlarına göre değerlendirilmiştir. Bu şekilde tıp ve klinik mikrobiyoloji alanında tercih edilen E Test ilk kez balık hastalıkları alanında kullanılmıştır.

L. garvieae ile ilgili yapılan çalışmalarda daha çok disk difüzyon ve agar dilüsyon ya da broth dilüsyon tercih edilmektedir. Japonya'da *Seriola* cinsi balıklardan izole edilen *L. garvieae* suşuna agar dilüsyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmış, Japonya'da 1999 ve 2006 yılları arasında *Seriola quinqueradiata* çiftliklerinden izole edilen suşlara agar dilüsyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmış, İspanya'da gökkuşığı alabalıklarından izole edilen 31 adet *L. garvieae* suşunda mikrodilüsyon yöntemi ile eritromisin MİK değerleri belirlenmiştir [35, 43, 63].

Bundan farklı olarak, Türkiye'de 2002 yılında streptokok enfeksiyonundan izole edilen *L. garvieae* suşlarına disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi uygulanmış, 2008'de Türkiye'de yapılan başka bir çalışmada 2002 ve 2004 yılları arasında izole edilen *L. garvieae* suşlarında disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal duyarlılıklarına bakılmış, İspanya'da gökkuşığı alabalıklarından izole edilmiş *L. lactis*, *L. pelintarum* ve *L. meseateroide* izolatlarına disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmış, İran'da *L. garvieae* izolatlarına disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmış, Türkiye'de yapılan bir başka çalışmada, *L. garvieae* izolatında disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi

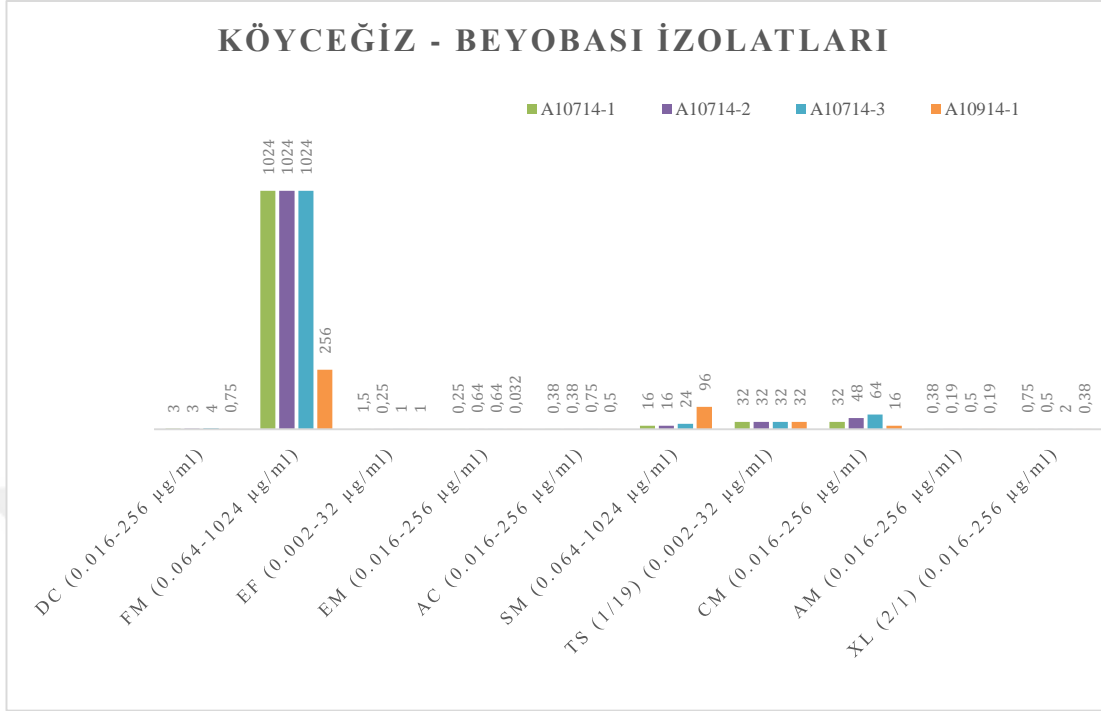
yapılmış, 2014 yılının ağustos ayında Karadeniz bölgesindeki gökkuşığı alabalıklarından izole edilen *L. garvieae* izolatlarının disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılığına bakılmıştır. Başka bir çalışmada ise gökkuşığı alabalığı, keçi peyniri ve sığır sütünden izole edilen toplam 30 adet *L. garvieae* suşlarına disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılıkları araştırılmış, İran'da gökkuşığı alabalıklarından izole edilen *L. garvieae* suşuna disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır [22, 34, 53, 48, 3, 25, 57, 49]. Bu sebeple yaptığımız bu çalışmada, balıktan izole edilen *L. garvieae* suşunda MİK değeri ve antimikrobiyal

duyarlılıklarının belirlenmesi için disk difüzyon ve dilüsyon yöntemlerinin yerine, tıp ve klinik mikrobiyoloji alanında çok tercih edilen, hızlı, güvenilir ve kontaminasyon riski daha az olan E Test kullanılmıştır. Çalışmanın E Test'in tercih edilebilmesi için örnek teşkil etmesi hedeflenmiştir.

Bu çalışmada kullanılan izolatlar; doksisisikline karşı %70 (14/20) duyarlı, %25 (5/20) orta dirençli, %5 (1/20) yüksek dirençli, fosfomisine karşı %5 (1/20) orta dirençli, %20 (4/20) dirençli, %75 (15/20) yüksek dirençli, enrofloksasine karşı %10 (2/20) yüksek dirençli, eritromisine karşı %70 (14/20) duyarlı, %15 (3/20) orta dirençli, %5 (1/20) dirençli, %10 (2/20) yüksek dirençli, amoksisiline karşı %95 (19/20) duyarlı, %5 (1/20) orta dirençli, streptomisine karşı %80 (16/20) dirençli, %20 (4/20) yüksek dirençli, sülfametaksazol/trimetoprim karşı %100 (20/20) yüksek dirençli, klindamisine karşı %100 (20/20) dirençli, ampisiline karşı %100 (20/20) duyarlı, amoksisilin/klavulanik asite karşı %95 (19/20) duyarlı, %5 (1/20) dirençli olarak belirlenmiştir [18, 29].

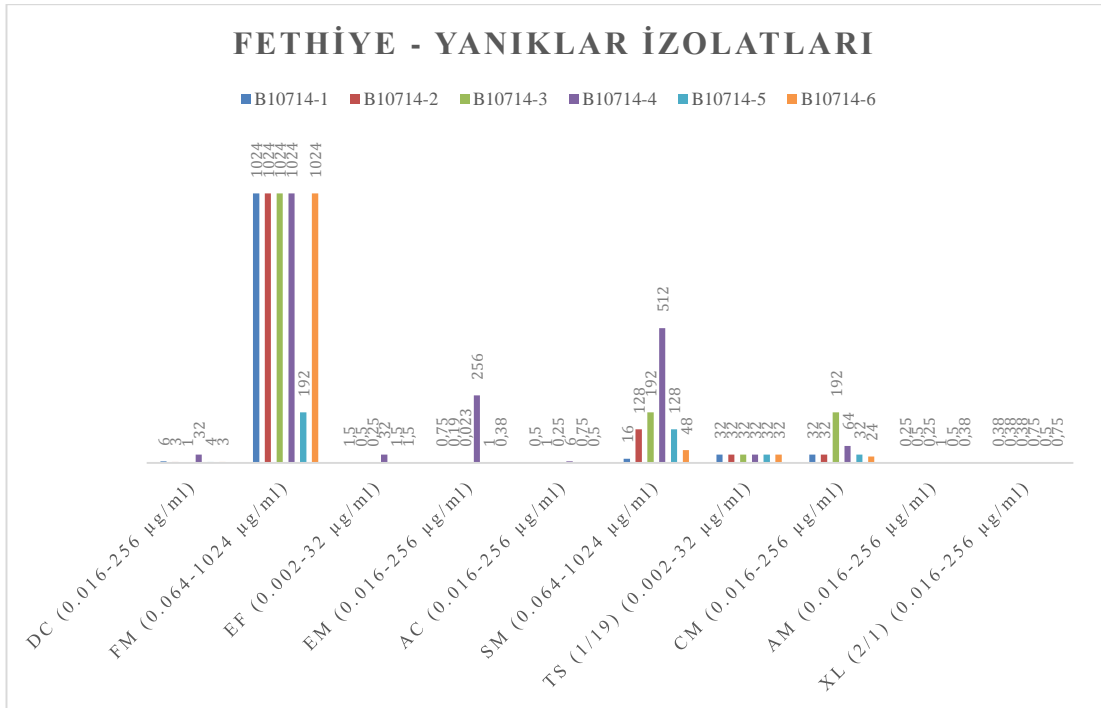
Çalışmanın yapıldığı 5 lokasyon içerisinde kemoterapötiklere karşı en dirençli izolat (B10714-4) Fethiye-Yanıklar bölgesine ait iken, kemoterapötiklere karşı en duyarlı izolat (B40914-5) Fethiye-Söğütlüdere bölgesine aittir. İzolatlar bölgesel olarak incelendiğinde; Köyceğiz-Beyobası'nda sırası ile ampisilin, amoksisilin, amoksisilin/klavulanik asit, doksisisikline duyarlılık yüksek iken eritromisine duyarlılığı %50'dir (Tablo 5.1).

Tablo 5.1 : Köyceğiz - Beyobası izolatlarının MİK değerleri ve antibiyotik dirençleri



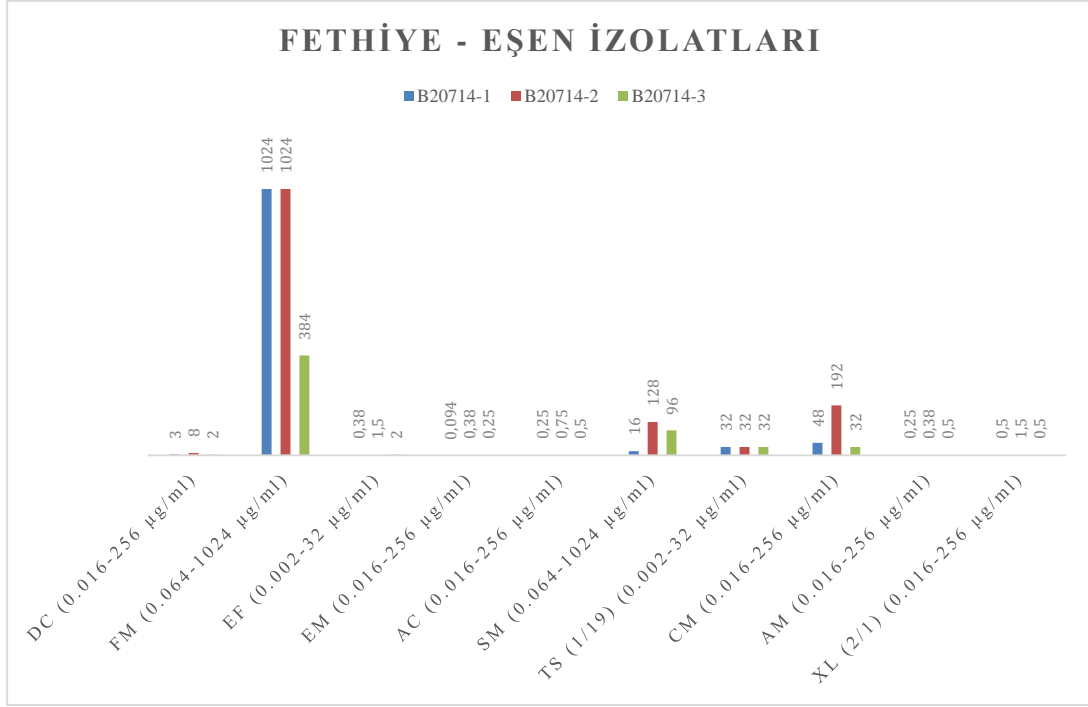
Fethiye-Yanıklar'da sırası ile amoksisilin/klavulanik asit, ampisilin, amoksisilin duyarlılığı yüksek iken eritromisine duyarlılığı %50'dir (Tablo 5.2).

Tablo 5.2 : Fethiye - Yanıklar izolatlarının MİK değerleri ve antibiyotik dirençleri



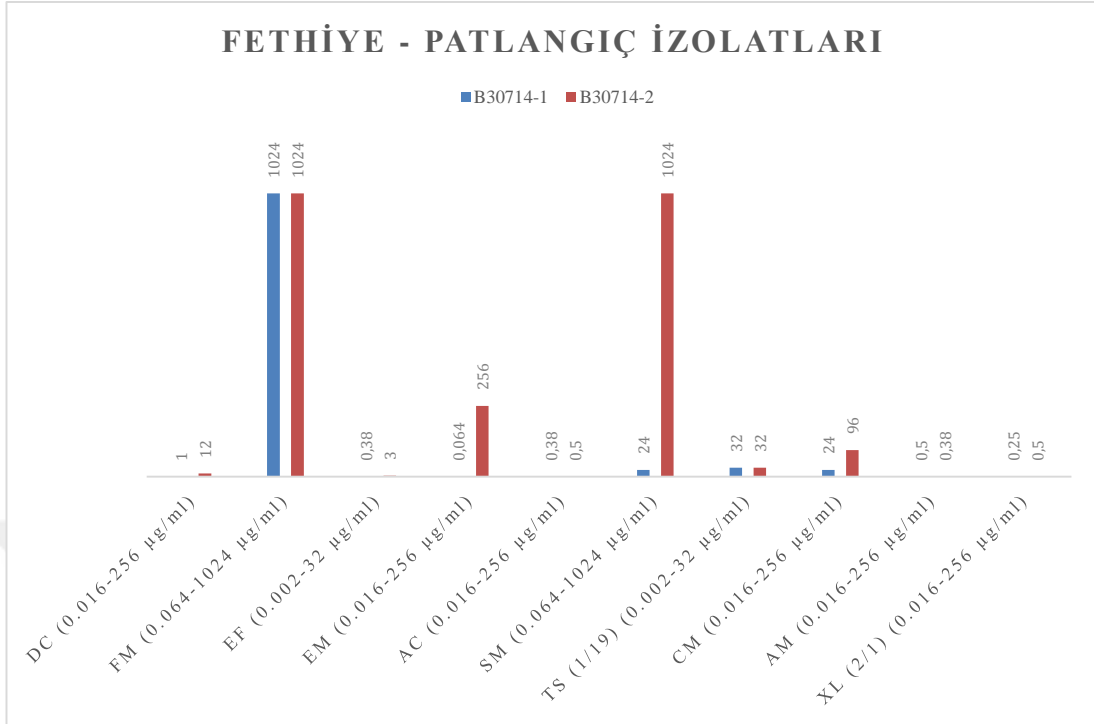
Fethiye-Eşen’de sırası ile eritromisin, ampisilin, amoksisilin, amoksisilin/klavulanik asite duyarlılık yüksek iken en düşük duyarlılık doksisikline karşı ölçülmüştür (Tablo 5.3).

Tablo 5.3 : Fethiye - Eşen izolatlarının MİK değerleri ve antibiyotik dirençleri



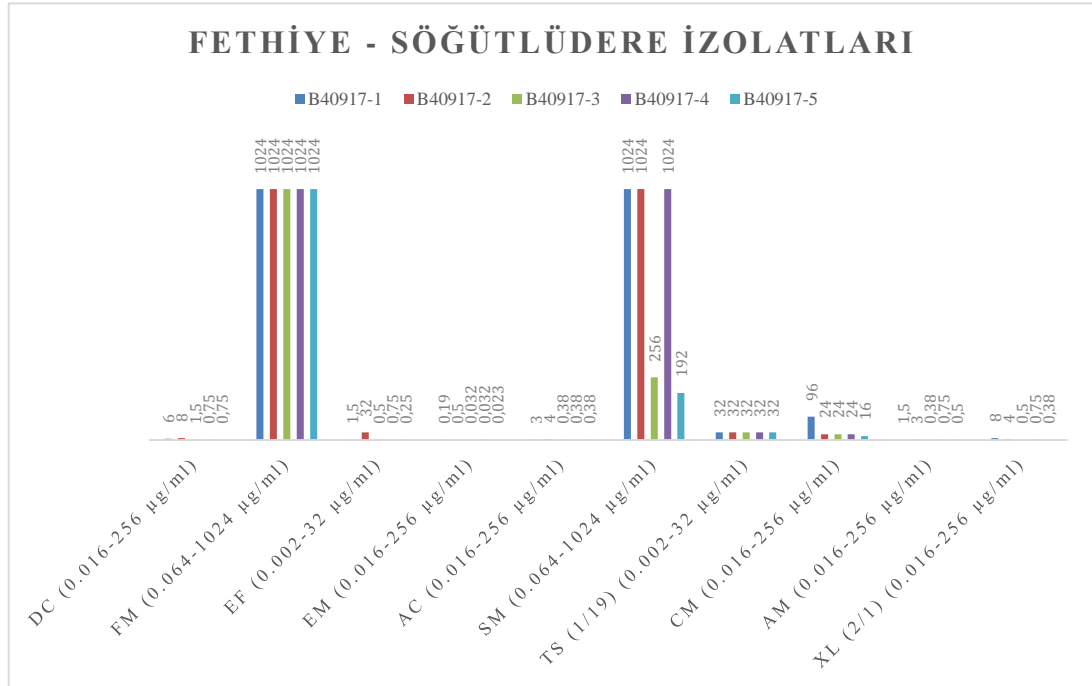
Fethiye-Patlangıç’da amoksisilin/klavulanik asit, ampisilin, amoksisilin duyarlılığı yüksektir (Tablo 5.4). Bu bağlamda Patlangıç ve Yanıklar izolatları benzerlik göstermektedirler.

Tablo 5.4 : Fethiye - Patlangıç izolatlarının MİK değerleri ve antibiyotik dirençleri



Fethiye-Söğütlüdere bölgesinde ise sırası ile eritromisin, ampisilin, amoksisilin, amoksisilin/klavulanik asite karşı yüksek duyarlılık tespit edilmiştir (Tablo 5.5). Bu bağlamda da Söğütlüdere ve Eşen izolatları benzerlik göstermektedir.

Tablo 5.5 : Fethiye-Söğütlüdere izolatlarının MİK değerleri ve antibiyotik dirençleri



Doksisikline karşı Köyceğiz-Beyobası izolatları %100 duyarlılık göstermiştir. Fosfomisine karşı en yüksek direnç Fethiye Patlangıç ve Söğütlüdere izolatlarında kaydedilmiştir. Eritromisin için Köyceğiz-Beyobası, Fethiye-Yanıklar ve FethiyePatlangıç izolatlarının %50'si duyarlılık gösterirken, Fethiye-Eşen ve FethiyeSöğütlüdere izolatlarının %100'ünün duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Amoksisilin için Köyceğiz-Beyobası, Fethiye-Eşen, Fethiye-Patlangıç ve Fethiye-Söğütlüdere izolatlarının %100'ü duyarlılık göstermiştir. Streptomisine karşı en yüksek direnci Fethiye-Söğütlüdere izolatları göstermiştir. Sülfametaksazol/trimetoprim karşı tüm izolatlarda %100 yüksek direnç tespit edilmiştir. Klindamisine karşı tüm izolatlar %100 direnç göstermiş, en yüksek MİK değerleri Fethiye-Yanıklar ve Fethiye-Eşen izolatlarına karşı kaydedilmiştir. Ampisiline karşı en yüksek duyarlılık Fethiye Beyobası izolatlarıyla, amoksisilin/klavulanik asit'e karşı en yüksek duyarlılık Fethiye Patlangıç izolatlarıyla kaydedilmiştir.

Diğer çalışmalarda da ortaya konulduğu gibi, bu çalışmada da *L. garvieae*'nin Sülfametaksazol/trimetoprim karşı %100 yüksek dirençli olduğu belirlenmiştir [58, 1, 3, 25, 57]. Ancak Alrabadi 2012'de yapmış olduğu çalışmada sülfametaksazol/trimetoprimin 20 mm zon çapı ile tedavi için kullanılabilir en efektif antibiyotik olduğunu bildirmiştir [2]. Sonuçların farklı olmasındaki en büyük sebebin, iki çalışmada da kullanılan izolatların farklı orjinli olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışma neticesinde *L. garvieae* izolatlarının klindamisine yüksek direnç gösterdiği hususunda ortak kaniya varılmıştır [28, 22, 64, 48, 52]. Tedavide kullanılabilir olan kemoterapötikler direnç, duyarlılık ve MİK değerlerine bakılarak sırası ile ampisilin, amoksisilin, amoksisilin/klavulanik asit, eritromisin ve doksisiklin olarak değerlendirilebilir. Bu kemoterapötikler içinden en az toksik ve en etkili olabilecek olan tedavi için tercih edilebilir.

6. ÖNERİLER

Bu çalışmada E Test'ler kullanılarak 5 farklı işletmeden alınan örneklerden izole edilen 20 adet *L. garvieae* suşunun 10 farklı antibiyotikte duyarlılıklarının araştırılması ve bu duyarlılık derecelerinin kantitatif olarak belirlenmesi hedefi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma gökkuşağı alabalığından izole edilen *L. garvieae* suşunda E Test ile elde edilen ilk MİK değerlerini ortaya koymuştur. Ancak bu MİK değerlerinden yalnızca 8 antibiyotik için CLSI ve EUCAST sınır değerlerine ulaşılabilmiştir. *L. garvieae* için referans alınan bu sonuçlar, *Streptococcus* spp. ve *Enterococcus* spp. grupları dahilinde değerlendirilmiştir. Zoonoz olan *L. garvieae* ve diğer balık patojenleri için spesifik MİK sınırlarının oluşturulması önemlidir. E Test ve MİK değerlerinin *L. garvieae* için kesin sınırlarıyla belirlenebilmesi için bu çalışmaya benzer çalışmalar yapılabilir.

Güney Ege Bölgesindeki 5 farklı lokasyondan izole edilen *L. garvieae* suşlarının MİK değerleri arasındaki farklılıkların araştırılması adına daha kapsamlı çalışmalar yapılarak, farklılıklara sebep olan parametreler belirlenebilir.

MİK değerleri, tedavinin periyodunu ve kemterapötiklerin kullanımının belirlenmesinde önemlidir. Aynı zamanda patojenin antibiyotiklere karşı direncini de ortaya koymaktadır. Ancak in-vitro yapılan bu gibi çalışmaların sonuçları ile uygulama alanlarındaki sonuçlar birbirini tutmayabilmektedir. Bu nedenle bu çalışmanın devamı olarak elde edilen in-vitro değerlerin, in-vivo olarak denmesinin yapılması önerilmektedir. İn-vivo olarak yapılacak çalışmalarda tedavi periyotlarını belirleyebilmek için kandaki antibiyotik konsantrasyonları incelenebilir. Böylece bakteriyel balık hastalıklarının tedavilerinde başarı arttırılabilir.



7. REFERANSLAR

- [1] **Akşit, D., Kum, C.** (2008). Gökkuşığı Alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)'nda Sık Görülen Patojen Mikroorganizmaların Tespiti ve Antibiyotik Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi. *Yyü Vet Fak Derg* 19(1): 1-7.
- [2] **Alrabadi, N.I.** (2012). The effect of several antibiotics on *Lactococcus garvieae* isolated from Jordanian dairy products. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 7 (4), 468-472.
- [3] **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 Univ Vet Fak Derg* 19 (3): 375-381.
- [4] **Altun, S., Onuk, E.E., Çiftçi, A., Büyükekiz, A.G., Duman, M.** (2012). Phenotypic, genotypic characterisation and antimicrobial susceptibility determination of *Lactococcus garvieae* strains. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University*, 19, 375-381.
- [5] **Andrew, J. M.** (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48, S1, 5-16.
- [6] **Atsuta, S., Yoshimoto, J., Sakai, M., Kobayashi, M.** (1990). Streptococciosis occurred the pen-cultured coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. *Suisanzoshoku* 38: 215–219.
- [7] **Austin, B., Austin, D.A.** (2007). Bacterial Fish Pathogens Disease Of Farmed And Wild Fish Fourth Edition. *Praxis Publishing Ltd, Chichester, UK*. 16-387.
- [8] **Austin, B., Austin, D.A.** (2016). Bacterial Fish Pathogens Disease Of Farmed And Wild Fish Sixth Edition. *Springer International Publishing, Switzerland*.
- [9] **Baker, C.N., Stocker, S.A., Culver, D.H., Thornsberry, C.** (1991). Comparison of the E Test to Agar Dilution, Broth Microdilution, and Agar Diffusion Susceptibility Testing Techniques by Using a Special Challenge Set of Bacteria. *Journal Of Clinical Microbiology*, 533-538.
- [10] **Barham, W.T., Schoonbee, H., Smit, G.L.** (1979). The occurrence of *Aeromonas* and *Streptococcus* in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish Biol.* 15: 457–460.
- [11] **Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C. and Truck, M.** (1966). Antibiyotik susceptibility testing by a standardized single disk method. *Amer. J. Clin. Pathol.* 45: 493-6.
- [12] **Boomker, J., Imes, G.D., Cameron, C.M., Naudé, T.W., Schoonbee, H.J.** (1979). Trout mortalities as a result of *Streptococcus* infection. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 46: 71–77.

- [13] **Buller, N.B.** (2004). Bacteria from Fish and Other Aquatic Animals: A Practical Identification Manual. *CABI Publishing, Cambridge, MA*, 361.
- [14] **Carson, J., Munday, B.** (1990). *Streptococcosis*- an emerging disease in aquaculture. *Aust Aquac* 5: 32–33.
- [15] **Carson, J., Gudkovs, N. and Austin, B.** (1993). Characteristics of an enterococcus-like bacterium from Australia and South Africa, pathogenic for Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Fish Diseases*, 16: 381-388.
- [16] **Ceschia, G., Giorgetti, G., Giavenni, R., Sarti, M.** (1992). A new problem for Italian trout farms: streptococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bull Eur Assoc Fish Pathol* 12: 1–72.
- [17] **Chang, P. H., Lin, C. W., Lee, Y. C.** (2002). *Lactococcus garvieae* infection of cultured rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, in Taiwan and associated biophysical characteristics and histopathology. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 22(5), 319-327.
- [18] **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. M100, (ISBN 1-56238-804-5).
- [19] **Collins, M. D., Farrow, J. A. E., Phillips, B. A., Kandier O.** (1983). *Streptococcus garvieae* sp. nov. and *Streptococcus plantarum* sp. nov. *J. Gen. Microbiol.*, 129, 3427-3431.
- [20] **Çağırğan, H.** (2004). Biotyping of *Lactococcus garvieae* Isolated from Turkey. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 21, 3-4, 267-269.
- [21] **Çağırğan, H., Tanrıku, T. T.** (1996). Türkiye'deki alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliklerinde yeni bir sorun: *Enterococcus* benzeri bir bakteri enfeksiyonu. *Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 19: 9-19.
- [22] **Diler, Ö., Altun, S., Adiloglu, A. K., Kubilay, A., Isıklı, B.** (2002). First occurrence of Streptococcosis affecting farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 22(1), 21-25.
- [23] **Dolgun, O.** (2015). Gökkuşığı Alabalıklarından *Lactococcus garvieae* İdentifikasyonu Ve Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Araştırılması (Doktora tezi). *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, MİK-YL-2015-0011.
- [24] **Domenech, A., Prieta, J., Fernandez-Garaizabal, J.F., Collins, M.D., Jones, D. and Dominguez, L.** (1993). Phenotypic and phylogenetic evidence for a close relationship between *L. garvieae* and *Enterococcus seriolicida*. *Microbiologia*, 9: 63–68.
- [25] **Durmaz, Y., Kılıçoğlu, Y.** (2015). Bir Alabalık Çiftliğinde Doğal Enfekte Gökkuşığı Alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) *Lactococcus garvieae*'nin Kültür ve PCR ile Saptanması ve Etkenin Antibiyotik Duyarlılık Profillerinin Belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.* 10(2): 109-115.
- [26] **Eldar, A., Ghittino, C.** (1999). *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae* infections in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: similar, but different diseases. *Diseases of Aquatic Organisms*, 36: 227-231.
- [27] **Eldar, A., Ghittino, C., Asanta, L., Bozzetta, E., Gorla, M., Prearo, M., Bercovier, H.** (1996). *Enterococcus seriolicida* is a junior synonym of

- Lactococcus garvieae*, a causative agent of septicemia and meningoencephalitis in fish. *Curr. Microbiol.* 32: 85–88.
- [28] **Elliott, J.A., Facklam, R.R.** (1996). Antimicrobial susceptibilities of *Lactococcus lactis* and *Lactococcus garvieae* and a proposed method to discriminate between them. *J. Clin. Microbiol.*, Vol. 34, 1296-1298.
- [29] **European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).** Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, Version 8.0
- [30] **Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Williams, S. T.** (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology. *Williams & Wilkins, Baltimore, Md, 9th ed*, 527–558.
- [31] **Hoshina. T., Sano, T., Morimoto, Y.** (1958). A Streptococcus pathogenic to fish. *J Tokyo Univ Fish* 44:57–58.
- [32] **Jorgensen, J. H., Ferraro, M. J.** (2009). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Medical Microbiology*, 49, 1749-1755.
- [33] **Kav, K. ve Erganis, O.** (2007). Konya Bölgesinde Bulunan Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Çiftliklerinden *L. garvieae* İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Fenotipik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Veteriner Bilimler Dergisi*, 23, 3, 7-17.
- [34] **Kav, K., Erganis, O.** (2008). Antibiotic susceptibility of *Lactococcus garvieae* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms. *Bull Vet Inst Pulawy* 52, 223-226.
- [35] **Kawanishi, M., Kojima, A., Ishihara, K., Esaki, H., Kijima, M., Takahashi, T., Suzuki, S., Tamura, Y.** (2005). Drug resistance and pulsed-field gel electrophoresis patterns of *Lactococcus garvieae* isolates from cultured *Seriola* (yellowtail, amberjack and kingfish) in Japan. *Letters in Applied Microbiology*, 40, 322–328.
- [36] **Kim, J.H., Go, J., Cho, C.R., Kim, J.I., Lee, M.S., Park, S.C.** (2013). First Report of Human Acute Acalculous Cholecystitis Caused by the Fish Pathogen *Lactococcus garvieae*. *Journal of Clinical Microbiology* Vol.51 (2), 712–714.
- [37] **Kitao, T., Aoki, T., Iwata, K.** (1979). Epidemiological study on streptococciosis of cultured yellowtail (*Seriolaquinqueradiata*) – I. Distribution of *Streptococcus* sp. in sea water and muds around yellowtail farms. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 45: 567–572.
- [38] **Kitao, T., Aoki, T., Sakoh, R.** (1981). Epizootics caused by β -haemolytic *Streptococcus* species in cultured freshwater fish. *Fish Pathol* 15: 301–307.
- [39] **Köksal, İ.** (2013). Antibiyogramın Kliniğe Yansıması: Klinisyen Gözüyle Antibiyogram. *ANKEM Derg.* 27 (Ek 2): 21-23
- [40] **Ksuda, R., Kawai, K., Salati, F., Banner, C.R. and Fryer, L.** (1991). *Enterococcus seriolicida* sp. Nov., a fish pathogen. *Int.J. Syst. Bacteriol.*, Vol. 41, 406-409.
- [41] **Ksuda, R., Kawai, T., Toyoshima, T., Komatsu, I.** (1976). A new pathogenic bacterium belonging to the genus *Streptococcus*, isolated from an epizootic of cultured yellowtail. *Bull Jpn Soc Scient Fish* 42:1345–1352
- [42] **Kubilay, A., Altun, S., Ulukoy, G., Diler, O.** (2005). *Lactococcus garvieae* Suşlarının Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi Cilt I, Sayı I*, 39-48.

- [43] Maki, T., Hirono, I., Kondo, H., Aoki, T. (2008). Drug resistance mechanism of the fish-pathogenic bacterium *Lactococcus garvieae*. *Journal of Fish Diseases*, 31, 461–468.
- [44] Michel, C., Kerouault B., Martin C. (2003). Chloramphenicol and florfenicol susceptibility of fishpathogenic bacteria isolated in France: comparison of minimum inhibitory concentration, using recommended provisory standards for fish bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 95, 1008–1015.
- [45] Miller, R.A., Walker, R. D., Carson, J., Coles, M., Coyne, R., Dalsgaard, I., Gieseke, C., Hsu, H. M., Mathers, J. J., Papapetropoulou, M., Petty, B., Teitzel, C., Reimschuessel, R. (2005). Standardization of a broth microdilution susceptibility testing method to determine minimum inhibitory concentrations of aquatic bacteria. *Diseases Of Aquatic Organisms Vol. 64*: 211–222.
- [46] Muzquiz, J.L., Royo, F.M., Ortega, C., de Blas, I., Ruiz, I., Alonso, J.L. (1999). Pathogenicity of Streptococcosis in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Dependence of Age of Diseased Fish. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 19, 114–119.
- [47] Prieta, J., Domenech, A.M., Fernandez-Grayzabal, J.F., Collins, M.D., Rodrigues, U.M., Jones, D., Rodriguez, A., Dominguez, L. (1993). Lactococcosis de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). *Med. Vet.*, 10: 367-373.
- [48] Raissy, M., Ansari, M. (2011). Antibiotic susceptibility of *Lactococcus garvieae* isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran fish farms. *African Journal of Biotechnology*, 10(8), 1473-1476.
- [49] Raissy, M., Moumeni, M. (2016). Detection of antibiotic resistance genes in some *Lactococcus garvieae* strains isolated from infected rainbow trout. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 15(1), 221-229.
- [50] Ravelo, C., Magarinos, B., Romalde, J.L. and Toranzo, A.E. (2001). Conventional versus miniaturized systems for the phenotypic characterization of *Lactococcus garvieae* strains. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 21:136–144.
- [51] Romalde, J.L., Luzardo-Alvarez, A., Ravelo, C., Toranzo, A.E., Blanco-Mendez, J. (2004). Oral immunization using alginate microparticles as a useful strategy for booster vaccination against fish lactococcosis. *Aquaculture* 236:119–29.
- [52] Sánchez, F.G., Lozano, I.G., Soto T.T., Brito M.R., Iglesias M.R. (2015). Antimicrobial susceptibility of strains of *Lactococcus garvieae* isolated from human samples. *ESCMID 2015*, Denmark.
- [53] Sánchez, T.P., Balcázar, J.L., Garcia, Y., Halaihell, N., Vendrell, D., Blas, I., Merrifield, D.L., Zarzuela, I.R. (2011). Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), with inhibitory activity against *Lactococcus garvieae*. *Journal of Fish Diseases*, 34, 499–507.
- [54] Soltani, M., Nikbakht, Gh., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A. and Ahmadzadeh, N.A. (2008). Epizootic outbreaks of lactococcosis caused by *Lactococcus garvieae* in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 28: 209-214.

- [55] **Stock, I., Wiedemann, B.** (2001). Natural Antibiotic Susceptibilities of *Edwardsiella tarda*, *E. ictaluri*, and *E. hoshinae*. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy* Vol. 45, 8, 2245–2255.
- [56] **Tanrikul, T.T.** (2012). Efficacy of a whole cell *Lactococcus garvieae* vaccine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11(7), 886-889.
- [57] **Türe, M.** (2015). *Lactococcus garvieae*'nin Farklı Balık Türlerinde Patojenitesinin Belirlenmesi ve Antibiyotik Dirençliliğinin Araştırılması (Doktora tezi). *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- [58] **Türe, M., Isidan, H., Savas, H., Kutlu, I.** (2012). PFGE metodu kullanılarak *Lactococcus garvieae*'nin genetik çeşitliliğinin ve yayılımının belirlenmesi, TAGEM.
- [59] **Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS)**. AMD-TP-04. MİK Saptama Yöntemleri (Gradient difüzyon, sıvı dilüsyon ve agar dilüsyon). T.C. Sağlık Bakanlığı.
- [60] **Ulusoy, S., Arda, B., Ozer, O., Cetin, B., Ozinel, M.A.** (1995). E Test: Yeni bir antimikrobiyal duyarlılık testinin disk difüzyon yöntemi ile karşılaştırılması. *ANKEM Derg* 9 (No.1) 85-89.
- [61] **Vendrell, D., Balcazar, J.L., Ruiz-Zarzuela, I., de Blas, I., Girones, O., Muzquiz, J.L.** (2004). Evaluation in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) of Ichtiovac-Lg, a Vaccine against *Lactococcus garvieae*. In: Proceedings of the Sixth International Symposium on Fish Immunology.
- [62] **Vendrell, D., Balcazar, J.L., Ruiz-Zarzuela, I., de Blas, I., Girones, O., Muzquiz, J.L.** (2006). *Lactococcus garvieae* in fish: A review. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 29: 177–198.
- [63] **Vendrell, D., Serarols, L., Balcázar1, J.L., Blas, I., Zarzuela1, I.R., Múzquiz, J.L.** (2008). Minimum inhibitory concentrations of erythromycin in *Lactococcus garvieae* strains isolated from cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Spain. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 28(3), 125-128.
- [64] **Walter, C., Rossano, A., Thomann, A., Perreten, V.** (2008). Antibiotic resistance in *Lactococcus* species from bovine milk: Presence of a mutated multidrug transporter mdt(A) gene in susceptible *Lactococcus garvieae* strains. *Veterinary Microbiology*, 131, 348–357.
- [65] **Wang, C.Y.C., Shie, H.S., Chen, S.C., Huang, J.P., Hsieh, I.C., Wen, M.S., Lin, F.C., Wu1, D.** (2007). *Lactococcus garvieae* infections in humans: possible association with aquaculture outbreaks. *Int J Clin Pract*, 61, 1, 68–73.
- [66] **Aguirre, M. and Collins, M.D.** (1993). Lactic Acid Bacteria and Human Clinical Infection. *Journal of Applied Bacteriology*, 75, 95–107.
- [67] <https://i.hizliresim.com/5Dqk8M.jpg> (Erişim Tarihi: 02.12.2017)



8. EKLER

EGE ÜNİVERSİTESİ 18. ULUSAL SU ÜRÜNLERİ SEMPOZYUMU 2015

GÜNEY EGE BÖLGESİNDEKİ ALABALIK İŞLETMELERİNDEN İZOLE EDİLEN *Lactococcus garvieae* SUŞLARININ E TEST KULLANILARAK ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

Dilara ÇAM, T.Tansel TANRIKUL

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü Hastalık Anabilim Dalı 35620 İzmir

Güney Ege Bölgesinde yoğunlaşan gökkuşağı alabalığı işletmelerinde Lactococcosis özellikle yaz aylarında önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Hastalıkla mücadelede çeşitli antibiyotiklerin sık olarak uygulanması etken bakterinin bu kimyasallara karşı direnç geliştirmesine neden olmakta ve daha sonra yapılacak tedavilerde başarı oranını düşürmektedir.

Bu çalışmada Muğla'nın Fethiye ve Köyceğiz bölgelerindeki alabalık işletmelerinden izole edilen 20 adet *Lactococcus garvieae* suşunda Amoxicillin/Clavulanic acid, Amoxicillin, Ampicillin, Clindamycin, Doxycycline, Enrofloxacin, Erythromycin, Fosfomycin, Streptomycin, Trimethoprim/sulfamethoxazole antibiyotiklerine karşı E test kiti (bioMérieux®SA, France) kullanılarak MİK (minimum inhibitör konsantrasyon) değerlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Hasta gökkuşağı alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) izole edilen suşların identifikasyonunda morfolojik özellikleride incelenerek Rapid ID 32 STREP (bioMérieux®SA, France) test kiti kullanılmış ve değerlendirmeler APIWEB™ ile gerçekleştirilmiştir. 2014 yılı boyunca izole edilerek stoklanan 20 adet *Lactococcus garvieae* suşu TSA (Trypticase Soy Agar) ekilerek 25°C de 24 saatlik inkübe edilmiştir. 24 saatlik kültürlerden 0,5 McFarland standartlarına ayarlanarak PBS'de süspansiyon edilen örnekler Muller Hinton Agar besiyerlerine aseptik olarak yayılmıştır. Laminar Flow'da 5-10 dk kuruması beklenen petriler üzerine E test stripleri yerleştirilerek 25°C de 24 saat inkübe edilmiş ve sonuçlar değerlendirilmiştir.

Araştırma sonucunda Amoxicillin 0,25 - 6 µg/ml, Amoxicillin/Clavulanic acid 0,25 - 8 µg/ml, Ampicillin 0,19 - 3 µg/ml, Clindamycin 16 - 192 µg/ml, Doxycycline 0,75 - 32 µg/ml, Enrofloxacin 0,25 - 3 µg/ml, Erythromycin 0,023 - 1 µg/ml, Fosfomycin 192 - 1024 µg/ml, Streptomycin 16 - 512 µg/ml aralığında MİK değerleri gösterirken Trimethoprim/sulfamethoxazole karşı suşlar duyarlı olmadığı için herhangi bir değer belirlenmemiştir. Yapılan bu çalışma ile Lactococcosis'in tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı bakterinin geliştirdiği direnç tespit edilmeye çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Lactococcus garvieae*, Lactococcosis, antibiyotik duyarlılık, minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK), E test



ÖZGEÇMİŞ

Dilara ÇAM

1989 yılında Çanakkale’de doğdu. İlkokul öğrenimini Ankara’da, ortaokul ve lise öğrenimini İzmir’de tamamladı. 2007 yılında Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi’nde başladığı lisans eğitimini 2012 yılında Avlama ve İşleme Teknolojileri opsiyonundan mezun olarak tamamladı. 2013 yılında İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Anabilim Dalı’nda Balık Hastalıkları üzerine lisansüstü eğitimine başladı. 2014 yılında Anadolu Üniversitesi Açık Öğretim Fakültesi İnsan Kaynakları Yönetimi Önlisans programından mezun olmuş ve aynı yıl yine Anadolu Üniversitesi Açık Öğretim Fakültesi Laborant ve Veteriner Sağlık Teknikerliği önlisans programı öğrenimine başlamıştır. 2013-2015 yılları arasında İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarı’ndaki çalışmalarını takip etmiştir. Buna istinaden Lactococcus'in Güney Ege Bölgesindeki Alabalık İşletmelerinde Yaygınlığının Araştırılması (İzmir Katip Çelebi Üniversitesi - BAP), Güney Ege Bölgesindeki Alabalık İşletmelerinden İzole Edilen Lactococcus garvieae Suşlarının E Test Kullanılarak Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması (İzmir Katip Çelebi Üniversitesi - BAP - TEZ), Yapay Resiflerdeki Balıkların Hareket Modellerinin Belirlenmesi ve Küçük Ölçekli Balıkçılığa Yönelik Kullanımı (TÜBİTAK) projelerinde yer almıştır.

Eylül 2015’de İzmir Urla’da çipura ve levrek yetiştiriciliği yapılan Özsu Balık Üretim A.Ş. ‘de Balık Sağlığı Sorumlusu olarak göreve başlamış, Aralık 2017’de bu görevinden ayrılmıştır. Halen Laborant ve Veteriner Sağlık Teknikerliği önlisans eğitimine devam eden Su Ürünleri Mühendisi Dilara Çam aynı zamanda C sınıfı İş Sağlığı ve Güvenliği Uzmanı ve 2* CMAS belgeli dalgıçtır.