

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ
DOKTORA PROGRAMI
DR-2025-0049

**BALIKLARDA *VIBRIO* ENFEKSİYONLARINA KARŞI
AŞI GELİŞTİRİLMESİ: *IN SILICO* ANTİJEN ANALİZİ**

YAĞMUR YILDIRIM EVCİM
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. K. Serdar DİKER

AYDIN-2025

Yağmur YILDIRIM EVCİM bu doktora tezini 100/2000 YÖK Doktora Bursiyeri olarak tamamlamıştır.

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Ayşenur YILDIRIM EVCİM tarafından hazırlanan “BALIKLARDA *VİBRİO* ENFEKSİYONLARINA KARŞI AŞI GELİŞTİRİLMESİ: *İN SİLİCO* ANTİJEN ANALİZİ” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 06/08/2025

Üye (T.D): Prof. Dr. K. Sedar DİKER – Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Şükrü KIRKAN – Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Hasan EREN – Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Şeyda CENGİZ – Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Volkan ÖZAVCI – Dokuz Eylül Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün tarih ve sayılı Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Kadir Serdar DİKER'e çok teşekkür ederim. Ayrıca bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Şükrü KIRKAN, Prof. Dr. Serap SAVAŞAN Prof. Dr. Uğur PARIN, Hafize Tuğba YÜKSEL DOLGUN ve ADÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki emeği geçen tüm hocalarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmam süresince gösterdiği sabır, özveri ve destekleri için eşime/aileme ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLOLAR DİZİNİ	ix
ÖZET.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2.1 Geleneksel Aşılar.....	3
2.1.1 İnaktif Aşılar.....	3
2.1.2 Canlı Attenuated Aşılar	4
2.1.3 DNA Aşıları.....	5
2.2. Rekombinant Protein Aşıları	6
2.3. Balıklarda Hastalık Yapan <i>Vibrio</i> Türleri ve Özellikleri	7
2.3.1. <i>Vibrio anguillarum</i>	7
2.3.2. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	10
2.3.3. <i>Vibrio alginolyticus</i>	13
2.3.4. <i>Vibrio</i> Türlerine Karşı Aşılama	14
2.4. <i>Vibrio</i> Türlerinin Virulans Genleri.....	15
2.4.1. <i>Vibrio anguillarum</i> 'un Balıklarda Hastalık Yapmasında Rol Oynayan Genler	15
2.4.2. <i>Vibrio parahaemolyticus</i> 'un Balıklarda Hastalık Yapmasında Rol Oynayan Genler	16
2.4.3. <i>Vibrio alginolyticus</i> 'un Balıklarda Hastalık Yapmasında Rol Oynayan Genler	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. Gereç.....	19
3.2. Cihazlar.....	19
3.3. Kullanılan Kültür Ortamı ve Kimyasal Maddeler	19
3.4. İn Silico Analizlerde Kullanılacak Biyoinformatik Yazılımlar.....	21
4. BULGULAR	22
4.1. <i>Vibrio</i> Suşlarının Kültürel ve Biyokimyasal Karakterizasyonu	22
4.2. <i>Vibrio anguillarum</i> 'un İn Silico Analizi.....	23

4.2.1. NCBI Veritabanındaki <i>angR</i> Geni.....	23
4.2.2. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen <i>Vibrio anguillarum angR</i> Geni:	25
4.2.3. NCBI Veritabanındaki <i>fatA</i> Geni	32
4.2.4. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen <i>Vibrio anguillarum fatA</i> Geni:.....	35
4.2.5. NCBI Veritabanındaki <i>fatB</i> Geni	41
4.2.6. Mikrobiyoloji laboratuvarından izole edilmiş <i>fatB</i>	43
4.2.7. NCBI Veritabanındaki <i>fatC</i> Geni	47
4.2.8. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen <i>Vibrio anguillarum fatC</i> Geni.....	48
4.2.9. NCBI Veritabanındaki <i>empA</i> Geni	52
4.2.10. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen <i>Vibrio anguillarum empA</i> Geni.....	58
4.2.11. NCBI Veritabanındaki <i>flhA</i> Geni	62
4.2.12. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen <i>Vibrio anguillarum flhA</i> Geni.....	63
4.3. <i>Vibrio parahaemolyticus</i> İn Silico Analizi.....	69
4.3.1. NCBI Veritabanındaki <i>tdh1</i> Geni	69
4.3.2. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen <i>Vibrio parahaemolyticus tdh1</i> Geni....	70
4.3.3. NCBI Veritabanındaki <i>OpaR</i> Geni.....	73
4.3.4. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen <i>Vibrio parahaemolyticus OpaR</i> Geni..	75
4.4. <i>Vibrio alginolyticus</i> İn Silico Analizi.....	78
4.4.1. NCBI Veritabanındaki <i>toxR</i> Geni.....	78
4.4.2. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen <i>Vibrio alginolyticus toxR</i> Geni.....	82
4.4.3. NCBI Veritabanındaki <i>ompA</i> Geni	85
4.4.4. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen <i>Vibrio alginolyticus ompA</i> Geni	88
5. TARTIŞMA	92
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	94
KAYNAKLAR	95
BİLİMSEL ETİK BEYANI	111
ÖZ GEÇMİŞ	112

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BHI	: Brain Heart Infusion
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
CAS	: Chrome Azurol S
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EPS	: Ekzopolisakkarit
FCA	: Freund'un Complete Adjuvanı
IEDB	: Immune Epitope Database
IFA	: Freund'un Incomplete Adjuvanı
KT	: Kolaskar Tongaonkar
KP	: Kanagawa fenomeni
LPS	: Lipopolisakkarit
NCBI	: Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
NSAI	: Non Steroidal Antienflamatuar İlaç
O/F	: oksidasyon/fermentasyon
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
QS	: Quorum Sensing
RPS	: Relative Percent Survival
SDM	: Sitedirected mutagenesis
TCBS	: Thiosulfate-Citrate-Bile Salts-Sucrose
Tdh	: thermostable direct hemolysin
TLH	: Termolabil hemolizin
TLR	: Toll Benzeri Reseptör
TSA	: Tryptic Soy Agar

TSI : Triple Sugar Iron

WBA : Wagatsuma Blood Agar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Vibrio anguillarum</i> 775 suşunun, angR genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).	25
Şekil 2. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, angR genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).	30
Şekil 3. <i>Vibrio anguillarum</i> 775 suşunun, fatA genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).	35
Şekil 4. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, fatA genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).	40
Şekil 5. <i>Vibrio anguillarum</i> 775 suşunun, fatB genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).	42
Şekil 6. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, fatB genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).	45
Şekil 7. <i>Vibrio anguillarum</i> 775 suşunun, fatC genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).	48
Şekil 8. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, fatC genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).	51
Şekil 9. <i>Vibrio anguillarum</i> 775 suşunun, empA genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).	58
Şekil 10. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, empA genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).	61

Şekil 11. <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, flhA genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).....	63
Şekil 12. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, flhA genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).....	68
Şekil 13. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, tdh1 genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).....	71
Şekil 14. <i>Vibrio parahaemolyticus</i> BB22OP suşunun, OpaR genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).....	75
Şekil 15. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, OpaR genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).....	77
Şekil 16. <i>Vibrio alginolyticus</i> suşunun, toxR genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).....	82
Şekil 17. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, toxR genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).....	83
Şekil 18. <i>Vibrio alginolyticus</i> ZJ04107 suşunun, ompA genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).....	87
Şekil 19. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, ompA genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).....	90

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. <i>Vibrio anguillarum</i> 775 suşu GenBank:AF070446 (Bipolaris maydis) (Wertheimer, A. M., 1999)	23
Tablo 2. IEDB B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024)	24
Tablo 3. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun angRgen dizilimi	25
Tablo 4. IEDB B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).	27
Tablo 5. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun angR Geninin Karşılaştırılması.....	31
Tablo 6. <i>Vibrio anguillarum</i> 775 suşu GenBank: AY312585 (Naka ve Crosa 2003).	32
Tablo 7. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).	34
Tablo 8. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, fatA genine ait gen dizilimi	35
Tablo 9. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).	38
Tablo 10. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun fatA Geninin Karşılaştırılması.....	41
Tablo 11. <i>Vibrio anguillarum</i> 775 suşu GenBank:AY312585 (Naka ve diğerleri, 2003).	41
Tablo 12. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, fatB genine ait gen dizilimi	43
Tablo 13. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).	44
Tablo 14. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun fatB Geninin Karşılaştırılması.....	46
Tablo 15. <i>Vibrio anguillarum</i> 775 (ATCC 68554) GenBank: AY312585.1 (Naka ve diğerleri, 2003).	47

Tablo 16. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).....	48
Tablo 17. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, fatC genine ait gen dizilimi	48
Tablo 18. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).....	50
Tablo 19. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun fatC Geninin Karşılaştırılması.....	52
Tablo 20. <i>Vibrio anguillarum</i> 775 (serotype O1) CP002285.11 (Naka ve diğerleri, 2003). ...	52
Tablo 21. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).....	54
Tablo 22. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, empA genine ait gen dizilimi.....	58
Tablo 23. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, empA genine ait gen dizilimi.....	59
Tablo 24. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun empA Geninin Karşılaştırılması.....	62
Tablo 25. <i>Vibrio anguillarum</i> GenBank: AY691434.1 (Ren, S., ve arkadaşları 2004).....	62
Tablo 26. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş <i>Vibrio anguillarum</i> suşunun, flhA genine ait gen dizilimi	63
Tablo 27. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).....	66
Tablo 28. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun flhA Geninin Karşılaştırılması.....	69
Tablo 29. <i>Vibrio parahaemolyticus</i> RIMD 2210633 GenBank: NC_004603.1 (Makino, K., ve arkadaşları, 2003)	69
Tablo 30. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).....	70
Tablo 31. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş <i>Vibrio parahaemolyticus</i> suşunun, tdh1 genine ait gen dizilimi	70
Tablo 32. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).....	71
Tablo 33. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun tdh1 Geninin Karşılaştırılması.....	72

Tablo 34. <i>Vibrio parahaemolyticus</i> BB22OP suşu GenBank: NZ_CP003972.1 (Naka ve diğerleri, 2011).	73
Tablo 35. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).	74
Tablo 36. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş <i>Vibrio parahaemolyticus</i> suşunun, OpaR genine ait gen dizilimi	75
Tablo 37. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).	76
Tablo 38. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun OpaR Geninin Karşılaştırılması	78
Tablo 39. <i>Vibrio alginolyticus</i> GenBank: KP146109 (Li, Y. ve arkadaşları, 2015).	78
Tablo 40. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).	80
Tablo 41. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş <i>Vibrio alginolyticus</i> suşunun, toxR genine ait gen dizilimi	82
Tablo 42. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).	83
Tablo 43. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun toxR Geninin Karşılaştırılması	84
Tablo 44. <i>Vibrio alginolyticus</i> ZJ04107 GenBank: EU625283.1 (Bunpa, S. ve arkadaşları, 2020)	85
Tablo 45. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).	86
Tablo 46. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş <i>Vibrio alginolyticus</i> suşunun, ompA genine ait gen dizilimi	88
Tablo 47. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).	89
Tablo 48. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun ompA Geninin Karşılaştırılması	91

ÖZET

BALIKLARDA *VIBRIO* ENFEKSİYONLARINA KARŞI AŞI GELİŞTİRİLMESİ: *IN SILICO* ANTİJEN ANALİZİ

Yıldırım Evcim Y. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Mikrobiyolojisi Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2025.

Amaç: Bu araştırma *Vibrio* patojenlerine karşı, *in silico* antijen analizi yapılarak uygun aşı suşlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Araştırmada kullanılacak *Vibrio* suşları ADÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan sağlanmıştır. *Vibrio* kültürü yapıldıktan sonra fenotipik ve virulans özellikleri belirlenmiştir. Fenotipik ve virulans özellikleri belirlenmiş suşların sekans ve genom analizleri yapılmıştır. *In silico* olarak antijenik bölgeler belirlenmiş ve aşı suşları olup olamayacakları değerlendirilmiştir.

Bulgular: Bu çalışmada, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio parahaemolyticus* ve *Vibrio alginolyticus* suşlarında yer alan bazı virülans genlerine ait antijenik özellikler *in silico* olarak değerlendirilmiştir. Referans suşlarla ADÜ Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan izole edilen suşlara ait gen sekansları karşılaştırılmış, gen uzunlukları, dizin benzerlikleri ve B hücresi epitop içerikleri analiz edilmiştir. *angR* geninde referans suş 618 bp uzunluğundayken izolat suşta 1726 bp uzunluk gözlemlenmiştir. Referans suşta 19, izolat suşta 75 B hücresi epitopu tespit edilmiştir. Ortak epitop bulunmamıştır. Ancak *angR*'nin hücre içi regülatör olması, aşı adayı olarak değerlendirilmesini sınırlayabilir. *fatA* geninde her iki suşta da yaklaşık 2040 bp uzunluk belirlenmiştir. Referans suşta 48, izolat suşta 51 epitop saptanmıştır. Dış membranda yer alması nedeniyle aşı geliştirme açısından umut verici bir hedef olarak değerlendirilmiştir. *fatB* geni her iki suşta da 2050–2060 bp uzunluğunda olup referans suşta 35, izolat suşta 38 epitop belirlenmiştir. Ortak 17 epitop saptanmıştır. Dış membran proteini olması, onu önemli bir aşı adayı hâline getirmektedir. *fatC* geni yaklaşık 1190–1200 bp uzunluğunda olup referans suşta 27, izolat suşta 30 epitop belirlenmiştir. 13 ortak epitop tespit edilmiştir. Ancak *fatC* ile ilgili literatürdeki veriler sınırlıdır. *empA* geninde her iki suşta yaklaşık 1150–1160 bp uzunlukta genler gözlemlenmiştir. Referans suşta 22, izolat suşta 26 epitop tanımlanmış; 10

ortak epitop saptanmıştır. Metalloproteaz enzimi olması sebebiyle bağışıklıkla teması kuvvetlidir. *flhA* geni yaklaşık 2050 bp uzunluğundadır. Referans suşta 36, izolat suşta 44 epitop belirlenmiştir. İzolat suşun epitop zenginliği aşı adayı olarak potansiyelini artırmaktadır, ancak membran dışı lokalizasyonu sınırlayıcı olabilir. *tdh1* geni 585 bp uzunluğunda olup referans suşta 14, izolat suşta 18 epitop belirlenmiştir. Toksik etkili hemolizin üretmesi nedeniyle önemli bir virülans faktörüdür. *opaR* geni 981 bp uzunluğundadır. Referans suşta 26, izolat suşta 29 epitop tanımlanmış; ancak bu genin hücre içi regülatör olması, bağışıklık sistemiyle temasını kısıtlamaktadır. *toxR* geni 837 bp uzunluğunda olup referans suşta 18, izolat suşta 25 epitop belirlenmiştir. 9 ortak epitop tespit edilmiştir. Hücre içi regülatör protein olması nedeniyle immünojenitesi sınırlı olabilir. *ompA* geni yaklaşık 1090 bp uzunluğunda olup referans suşta 34, izolat suşta 36 epitop belirlenmiştir. Ortak 14 epitop bulunmuştur. Dış membranda yer alması nedeniyle, immünojenik potansiyeli yüksektir.

Sonuç: Bu çalışmada *Vibrio anguillarum*, *V. parahaemolyticus* ve *V. alginolyticus* suşlarında virülansla ilişkili bazı genlerin *in silico* analizleri gerçekleştirilmiş ve potansiyel aşı adayları belirlenmiştir. Özellikle *fatA*, *fatB*, *fatC*, *empA* ve *ompA* genlerinin ürünleri, immünojenik özellikleri ve dış membran lokalizasyonları sayesinde öncelikli aşı hedefleri olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca, farklı türler arasında korunan epitopların tespit edilmesi, geniş spektrumlu ve türler arası koruma sağlayabilecek aşı stratejileri için umut vericidir. Bu adayların rekombinant protein veya peptid bazlı platformlarda değerlendirilmesi önerilmektedir.

Anahtar kelimeler: *in silico*, antijen, epitop, *Vibrio*

ABSTRACT

VACCINE DEVELOPMENT AGAINST VIBRIO INFECTIONS IN FISH: IN SILICO ANTIGEN ANALYSIS

**Yıldırım Evcim Y. Aydın Adnan Menderes University Health Sciences Institute
Veterinary Microbiology Program, PhD Thesis, Aydın, 2025.**

Objective: This study aimed to identify suitable vaccine strains against *Vibrio* pathogens through in silico antigen analysis.

Material and Methods: The *Vibrio* strains used in the study were obtained from the culture collection of the Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Adnan Menderes University. Following *Vibrio* culturing, phenotypic and virulence characteristics were determined. Sequence and genome analyses were performed on the strains with identified phenotypic and virulence properties. Antigenic regions were determined in silico, and their potential as vaccine strains was evaluated."

Results: In this study, the antigenic properties of certain virulence genes found in *Vibrio anguillarum*, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Vibrio alginolyticus* strains were evaluated in silico. Gene sequences from reference strains and strains isolated from the ADU Department of Microbiology were compared in terms of gene lengths, sequence similarities, and B-cell epitope content. The *angR* gene was 618 bp in the reference strain, while it was 1726 bp in the isolate. A total of 19 B-cell epitopes were identified in the reference strain and 75 in the isolate. No common epitopes were detected. However, since *angR* is an intracellular regulator, its suitability as a vaccine candidate may be limited. The *fatA* gene was approximately 2040 bp in both strains. Forty-eight epitopes were identified in the reference strain and 51 in the isolate. Due to its localization in the outer membrane, it is considered a promising target for vaccine development. The *fatB* gene was about 2050–2060 bp in both strains, with 35 epitopes identified in the reference strain and 38 in the isolate. Seventeen shared epitopes were found. As an outer membrane protein, *fatB* is considered an important vaccine candidate. The *fatC* gene was approximately 1190–1200 bp long, with 27 and 30 epitopes identified in the reference and isolate strains, respectively. Thirteen common epitopes were detected. However, available

literature on *fatC* is limited. The *empA* gene was about 1150–1160 bp in both strains, with 22 epitopes in the reference strain and 26 in the isolate; 10 shared epitopes were identified. As a metalloprotease enzyme, it is likely to have strong immunological interactions. The *flhA* gene was around 2050 bp long, with 36 and 44 epitopes identified in the reference and isolate strains, respectively. The higher epitope content of the isolate strain increases its potential as a vaccine candidate, although its intracellular or non-membrane localization may limit accessibility. The *tdh1* gene was 585 bp in length, with 14 epitopes in the reference strain and 18 in the isolate. Since it encodes a hemolysin with toxic effects, it is considered a key virulence factor. The *opaR* gene was 981 bp long, with 26 epitopes in the reference strain and 29 in the isolate. However, as *opaR* is an intracellular regulator, its interaction with the immune system may be limited. The *toxR* gene was 837 bp in both strains, with 18 and 25 epitopes identified in the reference and isolate strains, respectively. Nine common epitopes were identified. As an intracellular regulatory protein, its immunogenicity may be limited. The *ompA* gene was approximately 1090 bp in length, with 34 epitopes in the reference strain and 36 in the isolate. Fourteen shared epitopes were found. Due to its outer membrane localization and high number of accessible epitopes, *ompA* shows strong immunogenic potential.

Conclusion: In this study, *in silico* analyses of certain virulence-associated genes in *Vibrio anguillarum*, *V. parahaemolyticus*, and *V. alginolyticus* strains were performed, and potential vaccine candidates were identified. In particular, the products of the *fatA*, *fatB*, *fatC*, *empA*, and *ompA* genes stand out as priority vaccine targets due to their immunogenic properties and outer membrane localization. Additionally, the identification of conserved epitopes among different species offers promising opportunities for broad-spectrum and cross-protective vaccine strategies. It is recommended that these candidates be evaluated using recombinant protein or peptide-based platforms.

Keywords: *in silico*, antigen, epitope, *Vibrio*

1. GİRİŞ

Su ürünleri endüstrisi ülkemizde ve dünyada en hızlı büyüyen sektörlerden birisidir. Su ürünleri yetiştiriciliğinin sürekli gelişmesiyle, balık, kabuklular, yumuşakçalar ve diğer su hayvanlarının küresel üretimi 172,6 milyon tona ulaşmıştır ve üretiminin satış değeri 2017 yılında 238 milyar ABD doları olarak tahmin edilmektedir. Dünya çapında balık, yaklaşık 3,3 milyar insana kişi başına hayvansal protein alımının neredeyse %20'sini sağlamaktadır (FAO, 2019). Ancak endüstrideki bu artış sucul canlılarda meydana gelen enfeksiyöz hastalıkların görülme sıklığını da arttırmaktadır (Naghashyan ve diğerleri, 2018). Bu enfeksiyonlara neden olan etkenler içerisinde *Vibrio* türleri en sık rastlanılanlardan birisidir ve bu nedenle balık hastalıkları için önemli bir yer tutmaktadır (Ina-Salwany ve diğerleri, 2019). Bu etken konağın yüzeyine yapıştıktan sonra deriye sızarak balığı enfekte etmektedir (Frans ve diğerleri, 2011). Mukozal tabakanın hasar görmesi enfeksiyon riski artmaktadır. Yapılan çalışmalar çipura derisi hasar gördüğünde, daldırma yoluyla yapılan *Vibrio alginolyticus* aşılamaalarının ölüm riskini arttıracığını ortaya koymaktadır (Li ve diğerleri, 2003). *Vibrio* enfeksiyonunun ikinci tip bulaşma yolu ise enfekte su veya gıdaların oral yolla alınmasıyla oluşan enfeksiyondur (Marco-Noales ve diğerleri, 2001). *Vibrio* virülans faktörleri, patojenlerin vücutta çoğalmasını, konak savunma mekanizmalarından korunmasını ve konakçıya zarar vermesini sağlayarak patojenezde önemli rol oynamaktadır (Ruwandepika ve diğerleri, 2012). Ayrıca insidans mevsimlerden de etkilenmektedir. Mevsimsel bir araştırma, *Vibrio parahaemolyticus* insidansının yaz aylarında diğer mevsimlere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir (Nair ve diğerleri, 1980).

Hastalıkların koruma, kontrolünü sağlamak ve aynı zamanda canlının büyümesini desteklemek amacıyla antibiyotik, pestisit ve diğer kimyasal maddelerin kullanımında yoğun artış görülmektedir. Antibiyotikler ve diğer kimyasal maddeler şu anda hastalıkları önlemek ve kontrol etmek için en sık kullanılan yöntemler arasında yer almaktadır (Ji ve diğerleri, 2020). *Vibrio* spp. enfeksiyonlarını kontrol etmek için tetrasiklin, doksisisiklin, sefalosporin florokinolon ve trimetoprim-sülfametoksazol kullanılmaktadır (Morris ve diğerleri, 1985; Tang ve diğerleri, 2002; Centers for Disease Control and Prevention, 2014). Ancak yoğun antibiyotik kullanımı, antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların gelişmesine ve antibiyotik kalıntılarının ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Barug ve diğerleri, 2006). CDC'ye (Centers for Disease Control and Prevention) göre ilaca dirençli bakterilerin Amerika Birleşik

Devletleri'nde en az 2.868.700 enfeksiyona ve 35.900 ölüme sebep olduğu düşünülmektedir (CDC, 2019). Bu nedenle, *Vibrio spp.* enfeksiyonunu kontrol etmek için yeni yöntemlere ihtiyaç duyulması su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisi ve akademinin fikir birliği haline gelmiştir (Ji ve diğerleri, 2020).

Balık yetiştiriciliği sektörü yoğun ilaç kullanımını azaltmaya çalışmaktadır (Neary ve diğerleri, 2008). Bu kapsamda üç ana nokta; koruma, kontrol ve eradikasyon büyük önem kazanmaktadır. Eradikasyon sucul ortamlarda çok zor, hatta imkansızdır denilebilir. Akuatik sistemlerde etkenin eradikasyonu mümkün olmadığından, hastalıklardan korunmada aşılama etkin bir rol oynamaktadır (Gudding, 2014). Akuakültürde aşılama yüksek verim alma, güvenilir kullanım ve kolay uygulama açısından üstün gelmektedir. Ayrıca aşılama ile daha büyük ekonomik faydalar elde edilebilmektedir (Ji ve diğerleri, 2020). Aşılamada en sık kullanılan yöntem intraperitoneal enjeksiyonla uygulanan adjuvantlı inaktif aşılardır. Moleküler biyolojinin gelişmesiyle beraber belirli patojen bileşenlerinin ve yeni adjuvantların kombinasyonları kullanılarak daha etkili bağışıklık sağlanabilmektedir (Ji ve diğerleri, 2020).

Mevcut *Vibrio spp.* aşılarının çoğu inaktif aşılardır ve çoğunlukla enjeksiyon, nadiren ise daldırma yoluyla uygulanmaktadır (Ma ve diğerleri, 2019). DNA aşıları ve canlı vektör aşıları gibi yeni *Vibrio spp.* aşıları piyasada bildirilmemiştir. Balıkların çoğunluğu gizli bir büyüme ortamına ve büyük bir popülasyona sahiptir, bu da enjeksiyon şeklinde aşılamaların yapılmasını neredeyse imkansız hale getirmektedir. Oral inaktif aşıların ise koruma etkileri çok düşüktür. Bu nedenle sucul ortamdaki antibiyotik kalıntılarını azaltmak ve mukozal bağışıklığın etkisini güçlendirmek için yeni aşı stratejilerinin oluşturulması gerekmektedir (Ji ve diğerleri, 2020).

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Geleneksel Aşılar

Geleneksel aşılar inaktif ve canlı attenué edilmiş aşıları kapsamaktadır. Lisanslı *Vibrio* spp. aşılarının büyük bir kısmı inaktif aşıları içermektedir ve balıklara intraperitoneal enjeksiyonla uygulanmaktadır.

2.1.1 İnaktif Aşılar

İnaktif aşı, amplifikasyon ve kültürden sonra fiziksel veya kimyasal yöntemlerle öldürülen bakteri veya virüslerdir, bu da patojenitelerini kaybetmelerini ve antijenitelerini korumalarını sağlamaktadır (Tlaxca ve diğerleri, 2015). İnaktif aşılar güvenilir bir şekilde kullanılmakta ve kolay saklanmaktadır. Spesifik antikorlar, patojen mikroorganizmaları ve bunların ürettiği toksinleri nötralize edebilmektedir, bu da hücre dışı yollarla enfekte olmuş patojenik mikroorganizmalar üzerinde daha iyi bir koruyucu etkiye sahip olmaktadır (Baxter ve diğerleri, 2007). 1942'de Duff, sert başlı alabalığına oral yoldan inaktif *Aeromonas salmonicida*'yı başarıyla uygulamıştır ve bu, su ürünlerinde hastalık kontrolüne yönelik aşıların ilk uygulaması olmaktadır (Duff, 1942). Daha sonra, birçok inaktif *Vibrio* spp. aşısı incelenmiştir. Örneğin, formalinle inaktifleştirilmiş bir aşının, turuncu benekli lagos balığına *Vibrio harveyi* enfeksiyonuna karşı iyi bir koruma sağlayabileceği belgelenmiştir (Nguyen ve diğerleri, 2017). Ancak, attenué edilmiş canlı aşılarla kıyaslanıldığı zaman, inaktif aşılar da çoğalmayan antijenler kullanılmaktadır. Bu nedenle, inaktif aşılar kullanıldığı zaman birden fazla aşılama gerekebilmektedir. Bu durum daha yüksek doz aşı kullanımı, kısa bağışıklık süresi gibi dezavantajlara sahiptir. Esas olarak humoral bağışıklığı uyarır ve mukozal bağışıklık sağlamakta başarısız olmaktadır (Baxter, 2007). Örneğin yapılan bir çalışmada girbuna havuz balığına uygulanan *Edwardsiella tarda* inaktif aşısının, enfeksiyona karşı korumada başarısız olduğu gösterilmiştir (Yamasaki ve diğerleri, 2015). Bu nedenle, inaktif aşıların immünojenitesini arttırmak için adjuvantlara ihtiyaç duyulmaktadır (O'Hagan, 1998). Geleneksel mineral yağ adjuvantları yaygın olarak kullanılmaktadır fakat bunların ciddi yan

etkileri vardır. Örneğin, Freund'un complete adjuvanı (FCA) enjeksiyon bölgesinde granüloma neden olabilir (Tafalla ve diğerleri, 2013) ve Freund'un incomplete adjuvanı (IFA) Atlantik morinasında peritonite neden olabilir (Gjessing ve diğerleri, 2012). Bu eksiklikler, nano/mikropartiküller, alüminyum içeren adjuvanlar, b-Glukanlar, kitosan oligosakkarit, saponinler, lipopeptitler, sitokinler, toll benzeri reseptör (TLR) 9 agonisti CpG, TLR 5 agonisti flagellin ve TLR 3 agonisti poliinosinik polisitidilik asit (Poli I:C) dahil olmak üzere yeni nesil adjuvanların geliştirilmesine yol açmıştır (Tafalla ve diğerleri, 2013). Araştırma, suda çözünen bir adjuvan olarak kitosan oligosakkaritinin, formalinle inaktive edilmiş bir *Vibrio anguillarum* aşısıyla birleştirilmesinin aşıllanmış zebra balığının RPS (Relative Percent Survival) değerini %47,8'den %89'a çıkardığını ve bunun da konakçının humoral bağışıklık tepkisini önemli ölçüde artırabileceğini doğrulamıştır (Liu ve diğerleri, 2015). Wei ve diğerlerinin kitosan oligosakkarit veya astragalus polisakkaritlerini *Vibrio harveyi* formalinle öldürülmüş hücre aşısına adjuvan olarak uyguladıkları benzer bir çalışmada, inaktif aşının bağışıklık koruma etkisini önemli ölçüde artırabildikleri görülmüştür (Wei ve diğerleri, 2020).

2.1.2 Canlı Attenuated Aşılar

Bilimsel çalışmalar, yüzeysel virülans faktörleri, kültürleme kolaylığı, ucuz üretim gibi çeşitli nedenlerden dolayı canlı zayıflatılmış aşılarla giderek daha fazla odaklanmaktadır (Ye ve diğerleri, 2016). Ayrıca, canlı zayıflatılmış aşılar, mukozal bağışıklığa ek olarak hücre aracılı ve humoral antikorları indükleyebilmektedir (Shoemaker ve Klesius, 2009). Bu nedenle balıklarda inaktif aşılarla göre daha büyük adaptif bağışıklık korumasını teşvik ederler (Wang ve diğerleri, 2014). Canlı zayıflatılmış aşılar, normalde patojenler tarafından canlı organizmada ifade edilen doğal antijenik yapıları taşımaktadır. Bu durum doğal enfeksiyonun ardından oluşan gerçek enfeksiyonu taklit eden, kendi kendini sınırlayan bir enfeksiyona neden olmaktadır (Pore ve diğerleri, 2009). Bu tür "taklit" enfeksiyonlar tarafından uyarılan bağışıklık tepkileri, normal bir enfeksiyonda tespit edilenlere çok benzer. Klinik hastalık üretme yetenekleri yoktur; ancak uygun bölgeleri kolonize edebilir ve bağışıklık tepkilerini uyarabilirler (Brown ve diğerleri, 1993). Ayrıca, adjuvanlara ihtiyaç duymazlar ve aşılama sırasında yalnızca tek veya birkaç doz yeterli olmaktadır (Ebensen ve diğerleri, 2004).

Rifampin streptomisine karşı seçici çift direnç kullanan canlı zayıflatılmış bir aşı, *V. anguillarum* suşu VAN1000'e karşı geliştirilmiştir (Norqvist ve diğerleri, 1989). Genç

gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde test edilmiştir ve *V. anguillarum* enfeksiyonuna karşı iyi bir homolog koruma sağladığı, ancak *Aeromonas salmonicida* enfeksiyonuna karşı yalnızca hafif koruma sağladığı gösterilmiştir (Sommerset ve diğerleri, 2005; Håstein ve diğerleri, 2005). Hu ve diğerleri, virülent bir *V. harveyi* suşu olan T4D'den rifampisin direncinin bir seçimini kullanarak, T4DM suşu olarak adlandırılan bir mutantı başarıyla zayıflatmıştır. Mutant suş T4DM, canlı daldırma aşısı olarak kullanıldığında hem *V. harveyi* hem de *V. alginolyticus*'a karşı etkili çapraz tür koruması sağlayabilmiştir (Hu ve diğerleri, 2012). Moleküler biyoloji, immünoloji ve genetik mühendisliğindeki son gelişmeler, patojenite ve rekombinant DNA alanlarında olağanüstü teknolojik gelişmeler sunmuştur. Moleküler biyoloji ve immünoloji, patojenlerin ve patojenitelerinin tanımlanması ve karakterizasyonu ile ilgili bilgileri daha da ortaya koymaktadır (Li ve diğerleri, 2010). Genetik mühendisliği, hassas zayıflatılmış aşılarda yapımını mümkün kılmıştır. Sitedirected mutagenesis (SDM), hedeflenen genlerde iyi tanımlanmış bir silme, ekleme veya ilave elde etmek için güvenilir bir stratejidir (IDT, 2011). Bu yeni yaklaşım kullanılarak geliştirilen canlı zayıflatılmış aşılarda, koruyucu bir bağışıklık tepkisi uyandırmada bakterinlerden dikkate değer derecede potansiyele sahiptir ve daha etkilidir (Gao ve diğerleri, 2014).

Canlı aşılarda dikkate değer avantajlarına rağmen, birkaç dezavantajı da bulunmaktadır. Zayıflatılmış izolatlar genç balıklarda yeterli bağışıklığı uyaramayabilmektedir (Shoemaker ve Klesius, 2009). Canlı aşılarda ayrıca konakda çoğaldığında enfeksiyon üretme riski taşır. Hatta sistemik semptomlara yol açabilir ve orijinal enfeksiyonun semptomlarını gösterebilmektedir (Goldman ve Lambert, 2004).

2.1.3 DNA Aşılarda

Vibrio parahaemolyticus, *V. anguillarum* ve *V. alginolyticus* gibi Gram-negatif bakteriler, balık yetiştiriciliğinde ciddi enfeksiyonlara neden olarak yüksek mortalite ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Guo et al., 2022). Bu patojenlere karşı geliştirilen DNA aşılarda, hedef antijen genini içeren plazmid DNA'nın konak kas dokusuna enjekte edilmesiyle çalışır; böylece hem humoral hem de hücresel bağışıklık yanıtı uyarılır (Lu ve diğerleri, 2024; Xing ve diğerleri, 2019). Örneğin, *V. anguillarum* VAA genine karşı geliştirilen DNA aşısı, Japon Dilbalığı (*Paralichthys olivaceus*) CD4⁺/CD8⁺ T hücre yanıtı ve özgül antikor üretimini artırarak %50'ye varan bağışıklık sağlamıştır (Xing ve diğerleri, 2019). Benzer şekilde, *V.*

alginolyticus enfeksiyonuna karşı geliştirilen *flaA* geni kullanılarak uygulanan DNA aşısı %88, *V. parahaemolyticus* enfeksiyonuna karşı geliştirilen proteaz genli DNA aşısı ise %96 göreceli sağkalım oranı sağlamıştır (Liu ve diğerleri, 2011; Liang ve diğerleri, 2011).

DNA aşıları, düşük üretim maliyeti, uzun raf ömrü, patojen içermemesi ve çoklu antijen taşıma potansiyeli ile geleneksel aşılarla göre birçok avantaj sunar (Lu ve diğerleri, 2024). Bununla birlikte, DNA'nın uzun süre konakta kalması genom entegrasyonu riski taşır; bu da çevresel ve genetik güvenlik açısından bazı engellere yol açmaktadır (Guo ve diğerleri, 2022). Ayrıca kas içi uygulama büyük ölçekli üretimde zahmetli olmaktadır ve balık türüne göre etkinlik değişebilir (Lu ve diğerleri, 2024). Bu dezavantajlar, DNA aşılarının ticari uygulanabilirliğini kısıtlayabilmektedir.

2.2. Rekombinant Protein Aşıları

Patojenlere karşı geliştirilen rekombinant protein aşıları, hedef antijenlerin genetik mühendislik teknikleriyle izole edilip saflaştırılmasıyla oluşturulmakta ve balıklarda özgül bağışıklık yanıtını indüklemektedir. Özellikle dış membran proteinleri (örneğin *OmpK*), bağışıklık sistemini güçlü biçimde uyaran yapılar olarak tercih edilmektedir.

V. alginolyticus enfeksiyonuna karşı geliştirilen rekombinant *OmpK* protein aşısı, Deniz levreğine (*Dicentrarchus labrax*) uygulanmış ve yüksek antikor üretiminin yanı sıra %100'e yakın göreceli sağkalım sağlamıştır. Benzer şekilde, *V. anguillarum* ve *V. parahaemolyticus* antijenleri kullanılarak yapılan çalışmalar, balıklarda spesifik bağışıklık yanıtının geliştiğini ve enfeksiyon sonrası mortalitenin önemli ölçüde azaldığını göstermiştir. Bu aşılardan en önemli avantajlarından biri, canlı veya inaktive edilmiş mikroorganizmalar içermemeleri nedeniyle yüksek biyogüvenlik sunmalarıdır. Ayrıca belirli antijenler üzerinden geliştirildikleri için hedefe yönelik güçlü bir bağışıklık yanıtı sağlarlar ve bazı durumlarda birden fazla *Vibrio* türüne karşı çapraz koruma da oluşturabilirler. Örneğin, *V. alginolyticus* kaynaklı *OmpK* proteiniyle geliştirilen aşı, aynı zamanda *V. harveyi* ve *V. parahaemolyticus* karşı da koruyuculuk göstermiştir (Zhang ve diğerleri, 2020).

Bununla birlikte, rekombinant protein aşılarının bağışıklık sistemi üzerindeki uyarıcı etkisi genellikle daha zayıf olduğu için adjuvan kullanımını gerektirir. Ayrıca proteinlerin doğru katlanması ve antijenik yapılarının korunması gibi üretimle ilgili teknik zorluklar mevcuttur. Enjeksiyon yoluyla uygulanmaları, küçük balık türlerinde pratiklik açısından sorun

yaratmakta, bu da uygulama sürecini iş gücü açısından maliyetli hale getirebilmektedir (FAO, 2021).

Tüm bu değerlendirmeler ışığında, rekombinant protein aşılı balık hastalıklarının önlenmesinde güvenli ve etkili bir alternatif olarak öne çıkmakta, ancak saha uygulamaları öncesi bazı teknik ve pratik sorunların çözülmesi gerekmektedir.

2.3. Balıklarda Hastalık Yapan *Vibrio* Türleri ve Özellikleri

Vibrionaceae ailesine ait şimdiye kadar toplamda 143 tür tanımlanmıştır. Bunlar altı cins altında toplanmıştır; *Aliivibrio* (Urbanczyk ve ark. 2007), *Enterovibrio* (Thompson ve diğerleri, 2002), *Grimontia* (Thompson ve diğerleri, 2003), *Photobacterium* (Beijerinck, 1889), *Salinivibrio* (Mellado ve diğerleri, 1996) ve *Vibrio* (Pacini, 1854). *Vibrio* genusu içerisinde yer alan türler Vibriosis hastalığına sebep olmaktadır. Vibriosis, deniz balıkları yetiştiriciliğinde en yaygın ve tehlikeli patojenleri içermektedir. Vibriosis'e neden olan türler arasında *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum* ve *V. vulnificus* yer almaktadır (Huzmi ve diğerleri, 2019).

2.3.1. *Vibrio anguillarum*

Vibrio anguillarum, çeşitli deniz ve tatlı su balıklarında hemorajik sepsisemiye neden olur. Hem su ürünleri yetiştiriciliğinde hem de larva yetiştiriciliğinde dünya çapında ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Frans ve diğerleri, 2011).

1893'te Canestrini, göç eden yılan balıklarında salgın bir hastalık, bildirdi ve neden olan bakteriye *Bacterium anguillarum* adını verdi (Canestrini, 1893). Birkaç yıl sonra Bergman, Baltık Denizi'ndeki yılan balıklarının etiyolojik etkeni için *Vibrio anguillarum* adını önerdi (Bergman, 1909). Her iki raporda açıklanan bakterinin hastalık belirtileri ve özelliklerinin yüksek benzerliği nedeniyle, aynı nedensel etkenle ilgili olduğu öne sürüldü. Günümüzde *V. anguillarum*, çeşitli tatlı ve tuzlu su balıklarında yaygın olarak bulunmakta ve vibriosis adı verilen ölümcül hemorajik sepsisemi hastalığına neden olmaktadır (Aguirre-Guzma'n, 2004). Klinik belirtilere dayanarak, vibriosis tuzlu su furunkülozu (Rucker, 1963), çıban hastalığı (Kubota ve Takakuwa, 1963) ve ülser hastalığı (Bagge ve Bagge, 1956) olarak da bilinir.

Vibriosisin tipik dış klinik belirtileri arasında kilo kaybı, uyuşukluk, balığın ventral ve lateral bölgelerinde kırmızı lekeler ve ülserleşebilen ve kanayabilen şişmiş ve koyu cilt lezyonları bulunur. Gözler de enfekte olur ve ilk başta opaklık, daha sonra ülserasyon ve ekzoftalmi ile sonuçlanır. Patojen kanda ve hematopoetik dokularda yüksek konsantrasyonlarda bulunur. İç kısımda, bağırsaklar şişebilir ve berrak, viskoz bir sıvı ile dolabilir. Bununla birlikte, akut epizootiklerde enfeksiyon o kadar hızlı yayılır ki enfekte balıkların çoğu herhangi bir klinik belirti göstermeden ölür (Actis, Tolmasky ve Crosa, 1999; Toranzo ve diğerleri 2005; Austin ve Austin 2007).

Vibrio anguillarum, *Vibrionaceae* familyasına ait, basil şeklinde Gram negatif, bakteridir. Polar kamçılıdır, spor oluşturmaz, halofiliktir ve fakültatif anaerobiktir (Madigan, Martinko ve Parker 2000; Buller, 2004). %1,5-2 sodyum klorür (NaCl) içeren zengin ortamlarda 25 ila 30 °C arasındaki sıcaklıklarda hızla büyür ve krem rengi ve yuvarlak şekilli koloniler oluşturur (Frans ve diğerleri, 2011). Şu anda kadar, *V. anguillarum* için 23 O serotipi (O1–O23) bildirilmiştir ve her biri farklı bir patojenite ve konak özgüllüğü göstermektedir. Bunlardan yalnızca O1 ve O2 serotipleri ve daha az ölçüde O3 serotipleri balıklarda vibriyozis ile ilişkilidir (Pedersen, Grisez, ve diğerleri, 1999). Diğer *V. anguillarum* serotipleri çoğunlukla patojenik olmayan tortu, plankton veya deniz suyundan elde edilen çevresel izolatları temsil eder (Frans ve diğerleri, 2011).

Patogenez mekanizması tam olarak anlaşılmamış olsa da, *V. anguillarum* için kemotaksi ve hareketliliği etkileyen genler, bir demir alım sistemi, lipopolisakkaritler (LPS'ler) ve proteolitik veya hemolitik aktiviteye sahip ekstraselüler ürünler dahil olmak üzere birkaç virülansla ilişkili faktör ve gen tanımlanmıştır. *V. anguillarum*da, cilt veya bağırsaktaki mukus tabakasındaki bileşenler için kemotaksis, enfeksiyonda önemli bir ilk adımdır. Kemotaksik sinyallere yanıt için gerekli olan sitoplazmik bir metil transferazı kodlayan *cheR* genindeki bir mutasyonun gökkuşağı alabalığında azalmış virülansla sonuçlandığını göstermiştir. Ancak balıklar intraperitoneal olarak enfekte edildiğinde *cheR* mutantının virülansında azalma gözlenmemiştir. Bu durum kemotaksisin patojenin konakçıya doğru hareketinde önemli bir rol oynadığını ancak enfeksiyonda ve konakçada kalıcılığında önemli bir rol oynamadığını düşündürmektedir. Bununla birlikte, hareket yeteneğinin patogenezde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (OTOole, Milton ve Wolf Watz, 1996). *V. anguillarum*, deriya nüfuz ettikten sonra aktif hareketlilik vibriyozis gelişimi için önemli olmasa da 5 flagellin alt biriminden biri olan *flagellin A* geninin sistemik enfeksiyonlar için önemli olduğu bilinmektedir (Milton, OTOole, Horstedt ve Wolf-Watz, 1996), *flagellin A* geninin C ucunun çıkarılmasının, balıklar

intraperitoneal olarak veya kirli su yoluyla enfekte edildiğinde virülansın azalmasına neden olduğunu göstermiştir (Milton ve diğerleri, 1996). Benzer fenomenler *flaD* ve *flaE* gibi diğer flagellin alt birimleri mutasyona uğradığında da gözlemlenmiştir (McGee ve diğerleri, 1996). Konağa yapışma, konak kolonizasyonunda ve sonraki enfeksiyonda önemli bir adımdır. Bakterilerin konak epitel hücrelerine yapışması, pili ve fimbria, dış zar proteinleri, LPS ve hücre dışı polisakkaritler gibi sözde adhezinlerin varlığıyla kolaylaştırılır (Pizarro-Cerda & Cossart 2006). Rodkhum ve diğerleri (2006b), *pilC*, *pilB* ve *pilQ* genlerini tanımlayarak ilgili proteinlerin *V. anguillarum* virülansında olası bir rolü olduğunu öne sürmüşlerdir. *V. anguillarumun* deriye veya bağırsak mukusuna yapışmasından sonra, konakta sistemik bir enfeksiyona neden olabilmesi için epiteli delmesi gerekmektedir. *V. anguillarum* tarafından üretilen mukusnaz aktivitesine sahip bir ekstraselüler metalloproteazın (EmpA) keşfi, EmpA'nın muhtemelen mukus bozulması ve penetrasyonunda rol oynadığını göstermektedir (Norqvist, 1990). Bu proteazın proteolitik aktivitesinin neden olduğu doku hasarının bir sonucu olarak, patojen balıkları kolonize edebilir ve ederek ve daha sonra karaciğer ve dalak gibi çeşitli organları etkileyen sistemik bir enfeksiyona neden olabilir (Croxatto ve diğerleri, 2007). Ayrıca, EmpA proteaz aktivitesinin balık mukusundaki uyarıcılar tarafından güçlü bir şekilde indüklendiği gösterilmiştir (Denkin ve Nelson, 1999). Bakteriyel hemolizinler, konaktaki eritrositlerin lizisine ve dolayısıyla hücre içi hemin salınmasına neden olan ekzotoksinlerdir ve bu nedenle hemorajik sepsisemiye katkıları nedeniyle *Vibrionaceae*'nin önemli virülans faktörleri olarak tanımlanmıştır (Zhang ve Austin 2005). Hemolizinlerin mast hücreleri, nötrofiller ve polimorfonükleer hücreler dahil olmak üzere diğer hücre tiplerinde de lize neden olduğu bilinmektedir. *V. anguillarum*, her biri patojenin hemolitik aktivitesine katkıda bulunan birkaç hücre dışı hemolizin (VAH 1–5) içerir (Rodkhum ve diğerleri, 2005). RTX toksinleri, birçok Gram-negatif bakteri tarafından sentezlenen sitolitik toksinler, metalloproteazlar ve lipazlar dahil olmak üzere gözenek oluşturan ekzotoksinlerin çeşitli bir grubudur (Rodkhum ve diğerleri, 2006). İntraperitoneal enjeksiyonla balık enfeksiyonu çalışmaları, bu RTX toksininin *V. anguillarumun* önemli bir virülans faktörü olarak önemini göstermiştir. Bununla birlikte, bu toksinin bağırsak epitelinin istilası sırasındaki kesin rolü hakkında daha fazla araştırma, *V. anguillarum* virülansındaki rolünü tam olarak anlamak için gereklidir (Li ve diğerleri, 2008).

Balıklar, transferrin, laktoferrin ve ferritin gibi demir bağlayıcı proteinleri kullanarak, demirin potansiyel patojenik mikroorganizmalar için kullanılamaz hale gelmesini sağlayan spesifik olmayan bir savunma mekanizmasına sahiptir. *V. anguillarum* serotip O1 suşlarının çoğu, sözde virülans plazmidinde kodlanan siderofor anguibaktini sentezler (Di Lorenzo ve

diğerleri, 2003). Buna karşılık, O2 serotipine ait suşlar genellikle kromozomal olarak kodlanan bir siderofor olan vankrobaktini ifade eder (Conchas ve diğerleri, 1991; Soengas ve diğerleri, 2006). Alice ve diğerleri, 2005) Virülans plazmidinden anguibaktin sentezinde (*angB/G*, *angM*, *angN*, *angR* ve *angT*) ve demir-anguibaktin alımında (*fatA*, *fatB*, *fatC* ve *fatD*) yer alan birkaç gen izole edilmiştir ve bu genlerin birkaçı demir taşıma biyosentetik operonunda kümelenmiştir (Stork ve diğerleri, 2002).

Konakçının tuzluluğundaki (%0,85) ve deniz suyunun tuzluluğundaki (%3,5) farklılıklar nedeniyle, *V. anguillarum* ozmotik basınçtaki değişikliklerle başa çıkabilmesi için etkili bir ozmolarite düzenlemesine ihtiyacı vardır. Farklı tuzluluklara adaptasyonda rol oynayan beş tuza duyarlı dış zar proteini tanımlanmıştır (Kao ve diğerleri, 2009). *OmpW* ve *OmpU*, muhtemelen NaCl'nin etkili bir şekilde dışarı atılması için gerekli olan porin benzeri proteinlerdir. Her iki protein de artan tuz konsantrasyonlarında artmaktadır. Ayrıca, 38 kDa'lık majör dış zar proteini *OmpU* da safra direncinde önemli bir rol oynar ve bu nedenle balık bağırsağında hayatta kalmaya ve kolonizasyona katkıda bulunur. *OmpU* sentezi, ozmolarite ve besin kısıtlaması gibi çevresel değişikliklere yanıt olarak transkripsiyonel aktivatör *ToxR* tarafından düzenlenir. Ek olarak, *OmpU* ifadesindeki değişiklikler dış zardaki LPS ve fosfolipid profilinde ve dolayısıyla zar geçirgenliğinde değişikliklere yol açar. *OmpU* safra direncinde rol oynamasına rağmen, bu dış zar proteininin kaybı gökkuşağı alabalığı için virülans azalmasına neden olmaz. Bu nedenle *V. anguillarum* safra direncinde rol oynayan iki dış zar proteinine sahip olması mümkündür (Wang ve diğerleri, 2002).

Bakteriyel hücre-hücre iletişimi olan ve popülasyon yoğunluğuna yanıt olarak gen ifadesini düzenleyen çoğunluk quorum sensing, genellikle bakteriyel patojenlerde virülans gen ifadesinin kontrolünde rol oynar (de Kievit ve Iglewski 2000; Whitehead ve diğerleri, 2001). Milton (2006), Bir *V. anguillarum* serotip O1 suşunda, *VanM/N*, *VanS/PQ* ve *VanI/R* algılama sistemleri tanımlamıştır (Milton, 2006).

2.3.2. *Vibrio parahaemolyticus*

Bu organizma ilk olarak 1951 yılında Japonya'da sardalya tüketimiyle ilişkili büyük bir salgından (272 hastalık ve 20 ölüm) sonra gıda kaynaklı gastroenteritin etken maddesi olarak tanımlanmıştır (Fujino ve diğerleri, 1953).

TDH (Thermostable direct hemolysin), *V. parahaemolyticus* için ilk tanınan virölans faktörüdür ve virölans suşları tanımlamak için önemli bir belirteç olarak kullanılmaktadır (Okuda ve diğerleri, 1997a). TDH, *tdh1* geninden ziyade *tdh2* geninden üretilmiştir. Nishibuchi ve diğerleri (1992) TDH ile salgısal ishal arasındaki bağlantıyı göstererek TDH kodlayan genin bağırsak klorür salgılanmasını indükleyebildiği sonucuna vardı. Raimondi ve diğerleri (1995) (tavşanı hayvan modeli olarak kullanarak) TDH'nin insan patojenleri tarafından üretilen ve etkisi hücre içi kalsiyum tarafından sağlanan birkaç enterotoksinden biri olduğunu gösterdi.

Bakteriler, virölans faktörü salgılanması gibi çeşitli fizyolojik aktiviteleri düzenlemek için QS (Quorum Sensing) iletişim devrelerini kullanırlar; burada bakteri hücreleri gen ifadelerini koordine etmek, değiştirmek ve senkronizasyon gerektiren aktivitelerini kontrol etmek için uyum içinde işlev görürler (Kernell ve diğerleri, 2015). Yüksek hücre yoğunluklarında, *V. parahaemolyticus*, oto-indüktör 2 (AI-2) dahil olmak üzere oto-indüktörler tarafından QS sistemi uyarımına verilen bir yanıt sonucu transkripsiyonel düzenleyici *OpaR* üretir (Zhang ve arkadaşları, 2012). *OpaR*, *V. Parahaemolyticus*'ta virölans faktörü gen ifadesini, örneğin sürü halinde hareket kabiliyetini, tip 3 salgılamayı ve tip 6 salgılama sistemlerini kontrol eden birincil QS düzenleyicisidir (Gode-Potratz ve McCarter, 2011). Ek olarak, *OpaR* ayrıca bir yüzeyde büyüme ve biyofilm oluşumu ile ilişkili olan koloni ve hücre morfolojiyi de kontrol eder, Kernell Burke ve diğerleri (Kernell ve diğerleri, 2015), *OpaR*'nin aşağı akışındaki 11 transkripsiyon faktörünün, organizmanın hayatta kalması ve virölansı için kritik olan fenotipik çıktıyı kontrol eden düzenleyici ağda muhtemelen önemli bir rol oynadığını öne sürmüştür. *OpaR* üretiminin durdurularak ve *AphA* yapısının düşük hücre yoğunluklarında ifadesi de, başka bir transkripsiyonel düzenleyicidir ve *OpaR*'nin tersi şekilde işlev görür (Zhang ve diğerleri, 2012). *AphA*'nın ifadesi, T3SS1 genlerinin transkripsiyonunu baskılayarak *V. parahaemolyticus*un hayatta kalmak için bu sistemi kullanmasına olanak tanır (Burdette ve arkadaşları, 2008). *V. parahaemolyticus* enfeksiyonunun doku kültürü hücrelerinde neden olduğu sitotoksiste, *AphA*'nın silinmesiyle önemli ölçüde azaldı ve bu da QS'nin *V. parahaemolyticus* virölansındaki rolünü desteklemektedir (Wang ve diğerleri, 2013).

Bakterilerin konak hücrelere ilk bağlanması, virölans faktörlerinin aktivasyonu ve iletimi için esastır ve bu nedenle patojenin başarısının hayati bir belirleyicisidir. Çok değerlikli yapışma molekülü, çok çeşitli Gram negatif patojenlerde bulunan bir adhezindir ve bu da enfeksiyonun erken evrelerinde konak hücrelere yüksek afiniteli bir bağlanma kurmalarını sağlar. (Krachler ve diğerleri, 2011), MAM7'yi *V. parahaemolyticus*'ta konak hücre bağlanmasını sağlayan dış zar proteini olarak bildirmiştir. MAM7, N-terminusta bir

transmembran motifi ve *Mycobacterium* spp. ve bazı Gram pozitif bakteri türlerinde de bulunan yedi memeli hücre girişi alanı içerir (Krachler ve diğerleri, 2011). MAM7'nin iki konak reseptörü vardır: hücre dışı matris proteini fibronektin ve plazma zarı fosfolipid fosfatidik asit (Ghenem ve diğerleri, 2017). MAM7, bu iki reseptörle etkileşime girerek bakterilerin konak hücrelere bağlanmasını kolaylaştırır ve bu da muhtemelen bakteriyel ve ökaryotik hücre yüzeyinde üçlü bir kompleks oluşturur (Krachler ve diğerleri, 2011). Dahası, MAM7 aracılı bağlanma, bazı hücre tiplerinde T3SS aracılı hücre ölümünü artırır. MAM7 keşfi ve karakterizasyonu, yalnızca *V. parahaemolyticus* ile değil, aynı zamanda diğer birçok Gram-negatif bakteriyel enfeksiyonla mücadelede yeni bir terapötik veya profilaktik ajan olarak yeni araştırma içgörülerine yol açmıştır (Krachler ve diğerleri, 2011).

TDH ve TRH, konak hücrede hemoliz ve sitotoksisteye neden olan *V. parahaemolyticus* ile ilişkili iki virülans faktörüdür (Broberg ve diğerleri, 2011). *V. parahaemolyticus* deniz ve haliç ortamlarında yaygın olarak bulunur, ancak tüm suşlar patojenik olarak kabul edilmez (Valazquez ve diğerleri, 2012). Patojenik suşlar genellikle çevresel örneklerde yoktur ve insanlarda ve deniz hayvanlarında hastalıklara neden olan *tdh* ve *trh* genlerinden yoksundur (West ve diğerleri, 2013). Bununla birlikte, Avrupa, Asya ve ABD'den yapılan çalışmalar, çevresel örneklerin yaklaşık %0-6'sının *tdh* ve *trh* genlerine sahip *V. parahaemolyticus* suşlarının varlığı açısından pozitif olduğunu bildirmiştir (Wang ve diğerleri, 2000 ; Alam ve diğerleri, 2002). Gastroenteritli insanlardan izole edilen patojenik suşlar, TDH üretme yeteneklerine göre çevresel suşlardan ayırt edilir. TDH pozitif olan *V. parahaemolyticus* suşları, özel bir yüksek tuzlu mannitol ortamı olan Wagatsuma agarında β -hemolitik özellikler gösterir; bu olay Kanagawa fenomeni (KP) olarak bilinir (Nishibuchi ve diğerleri, 1989). KP testi, deniz ürünlerinde ve hasta örneklerinde patojenik *V. parahaemolyticus* tanımlamak için yaygın olarak kullanılır. Kanagawa fenomeni testinin tekrarlanabilirliği pH, ortam tuzluluğu ve eritrosit tipine bağlıdır. Bu nedenle, patojenik serovarların bu yöntemle tanımlanması her zaman doğru değildir. Çevreden alınan örneklerin yalnızca %1-2'si KP pozitif olarak bildirilir ve geri kalanı KP negatif suşlar olarak kabul edilir (Alipour ve diğerleri, 2014). Moleküler epidemiyolojik çalışmalar, *V. parahaemolyticus* KP negatif suşlarının *tdh* genini barındırmadığını ancak *trh* genine sahip olduğunu göstermektedir. Qadri ve diğerleri 1985 yılında Maldivler Cumhuriyeti'nde meydana gelen bir gastroenterit salgınından *trh* genini taşıyan KP-negatif bir *V. parahaemolyticus* suşunun izole edildiğini bildirdi. *trh* geni, *V. parahaemolyticus* patogeneğinde benzer bir rol oynadığı için *tdh*'ye çok benzerdir ve bu nedenle bir *V. parahaemolyticus* virülans faktörü olarak kabul edilir (Qadri ve diğerleri, 2005)

; Nelapati ve diğerleri, 2012). TDH, 165 amino asitten oluşan gözenek oluşturan bir toksindir (Hamada ve diğerleri, 2007; Matsuda ve diğerleri, 2010). Enfeksiyon sırasında, gözeneklerin oldukça büyük olması bağırsaktaki iyon akışında değişikliğe neden olur ve bu da ishal ve diğer gastrointestinal bozukluklar meydana gelir (Raghunath , 2015). Çalışmalar hemolitik, sitotoksik, enterotoksik ve kardiyotoksik aktivitelerini açıklamıştır (Matsuda ve diğerleri, 2010). Yaklaşık olarak, TDH patojenitesinin %90'ı, toplam TDH'nin yaklaşık %10'unu üreten *tdh1*'e kıyasla *tdh2* geni tarafından sağlanır (Pal ve Das, 2010). Bu gen, bazı *V. mimicus*, *V. cholerae* non-O1/non-O139 ve *V. hollisae* suşlarında tanımlanmıştır (Shinoda, 2011). TRH, 23 kDa büyüklüğünde ısıya duyarlı bir toksindir ve 10 dakika boyunca 60 °C'de ısı uygulamasıyla yok edilebilir. Takahashi ve diğerleri, kültürlenmiş insan kolon epitel hücrelerinde TRH kaynaklı klorür salgılanmasını ve hücre içi kalsiyum yükselmesini göstermiştir. TRH taşıyan suşlar ayrıca üreaz enzimleri üretme yeteneğine sahiptir (Takahashi ve diğerleri, 2000). Çalışmalar, *V. parahaemolyticus* taşıyan *trh* geninin, *V. parahaemolyticus* taşıyan *tdh* geninden daha sık tropikal deniz ürünlerinde dağıldığını ortaya koymuştur (Parvahti ve arkadaşları, 2006; Raghunath ve diğerleri, 2009). *trh* dizileri, *trh1* ve *trh2* genlerinden oluşur ve *tdh* dizisine yaklaşık %70 oranında benzerdir (Kishishita ve diğerleri, 1992). Termolabil hemolizin (TLH), tüm klinik ve çevresel *V. parahaemolyticus* suşları tarafından ifade edilir ve kırmızı kan hücresi lizisine neden olabilir ve lesitin bağımlı fosfolipaz aktivitesi gösterir (Elola-Lopez ve diğerleri, 2015). Çalışmalar, TLH proteininin HeLa, Changliver ve RAW264.7 hücrelerinde ciddi sitotoksikite belirtisi gösterdiğini ortaya koymuştur (Wang ve diğerleri, 2012). Bu, TLH'nin TDH ve TRH toksinlerine benzer biyolojik işlevlere sahip olabileceğini ve dolayısıyla *V. parahaemolyticus* enfeksiyonunda önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Ngasotter ve diğerleri, 2022).

2.3.3. *Vibrio alginolyticus*

Deniz suyunda yaygın bir organizma olan *V. alginolyticus*, saprofit mikrobiyotanın bir parçası olarak farklı deniz organizmalarından izole edilmiştir (Carli ve diğerleri, 1993). *V. alginolyticus*un bir balık patojeni olarak kesin rolü hakkında tartışmalar vardır (Balebona, 1996). Bu türün, çipura balıklarında vibriosis salgınlığının nedensel etkeni olduğu bildirilmiştir (Lee ve diğerleri, 1995; Colorni ve diğerleri, 1981). Yapılan bir çalışmada *V. alginolyticus* ile enfekte balıklarda 1-5 gün içerisinde ölüm meydana gelmekteydi fakat 2 hafta sonrasında

balıklardan *V. alginolyticus* izole edilememiştir. Bu nedenle balıkların *V. alginolyticus* için taşıyıcı olmadıkları düşünülmektedir (Balebona ve diğerleri, 1998).

2.3.4. *Vibrio* Türlerine Karşı Aşılama

Akuakültürde en yaygın ve yıkıcı bakteriyel patojenlerden biri olan *Vibrio* türleri, başta *Vibrio anguillarum*, *Vibrio parahaemolyticus* ve *Vibrio alginolyticus* olmak üzere pek çok deniz balığında yüksek mortaliteye neden olmaktadır. Bu patojenler hem larval hem de yetişkin balık dönemlerinde çeşitli sistemik enfeksiyonlara neden olmakta, bu da önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Austin ve Austin, 2016). Antibiyotik kullanımının yaygınlığı hem çevresel direnç sorunlarına hem de gıda güvenliğine dair endişelere yol açtığından, hastalıkların önlenmesinde aşılama stratejileri günümüzde daha sürdürülebilir ve çevre dostu bir çözüm olarak öne çıkmaktadır.

Vibrio enfeksiyonlarına karşı geliştirilen aşılar, genellikle inaktif tam hücre aşıları, rekombinant protein bazlı aşılar veya çoklu epitop içeren in silico tasarlanmış aşılardır. Özellikle dış membran proteinleri ve siderofor taşıyıcı sistem yüksek immünojenik potansiyelleri nedeniyle aşı adayları arasında öne çıkmaktadır (Silva ve diğerleri, 2021). Bu proteinler, bağışıklık sisteminin kolayca tanıyabileceği yüzeyde lokalize yapılar olup, konak tarafından güçlü bir bağışıklık yanıtı ile hedeflenebilir. Günümüzde, rekombinant DNA teknolojisi ile bu antijenler izole edilmekte ve balıklarda hem sistemik hem mukozal bağışıklık tepkilerini uyuracak şekilde formüle edilmektedir (Lun ve diğerleri, 2025).

Araştırmalar, *Vibrio* türleri arasında korunan epitop bölgelerinin bulunduğunu ve bu epitoplara karşı geliştirilen multivalan aşıların türler arası çapraz koruma sağlayabileceğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, bu tür aşıların balık türüne, yaşına ve uygulama yöntemine (enjeksiyon, daldırma, oral) göre etkinliğinin değişebileceği de bilinmektedir (Ramesh ve diğerleri, 2021). Bu nedenle, gelecekte geliştirilecek aşıların sadece patojen bazlı değil, aynı zamanda konak türünün bağışıklık sistemiyle uyumlu olarak tasarlanması ve deneysel sahada test edilmesi büyük önem taşımaktadır.

2.4. *Vibrio* Türlerinin Virulans Genleri

2.4.1. *Vibrio anguillarum*un Balıklarda Hastalık Yapmasında Rol Oynayan Genler

Vibrio anguillarum, özellikle kültür balıkçılığında ciddi ekonomik kayıplara yol açan önemli bir patojendir. Bu bakterinin enfeksiyon oluşturma kabiliyeti, sahip olduğu çeşitli virülans genleri sayesinde mümkün olmaktadır. Bu genler, konakçı organizmaya tutunma, bağışıklık sisteminden kaçma, besin elemanlarını elde etme, doku yıkımı ve hareketlilik gibi mekanizmaları kontrol eder (Frans ve diğerleri, 2011).

En kritik virülans faktörlerinden biri demir alım sistemidir. *V. anguillarum*, siderofor adı verilen özel moleküller aracılığıyla konakçıdan demir elde eder. Bu amaçla kullanılan genler arasında *angA–E*, *G*, *H*, *M*, *N*, *R*, *T* ve *U* yer alır ve bu genler anguibaktin üretiminde görev yapar (Milton ve diğerleri, 1996). Bu mekanizmaya katkıda bulunan kromozomal genler ise *vabA–E* olarak tanımlanmıştır (Actis ve diğerleri, 1999). Ferrik-anguibaktin taşımada görevli ABC taşıyıcı sistem ise *fatA–D* genleri tarafından kodlanmaktadır (Stork ve diğerleri, 2004). Bu taşımanın enerji gereksinimi ise *ttpC*, *tonB2*, *exbB2* ve *exbD2* gen ürünleriyle karşılanır (Lemos ve diğerleri, 2010).

Hemolizinler de *V. anguillarum*un önemli virülans faktörleri arasındadır. Bu toksinler, konak eritrositlerini parçalayarak hem içindeki demiri serbest bırakır. *vah1* geni güçlü hemolitik aktivite gösteren bir hemolizin üretirken, *vah2–5* genleri farklı hemolizinlerin üretiminden sorumludur (Li ve Ma, 2017). *rtxA* geni, hemolitik ve sitotoksik aktivite gösteren büyük bir toksini kodlar (Li ve diğerleri, 2008).

Bakterinin dokulara invazyonunu kolaylaştıran bir diğer faktör metalloproteazlardır. *empA* geni, hemolitik ve sitotoksik etkili bir metalloproteaz kodlarken, *prtV* geni jelatinaz, proteaz ve glikozidaz aktivitesi olan bir enzim üretir (Denkin ve Nelson, 2004).

Hareketlilik ve kemotaksi, bakterinin enfeksiyon bölgesine ulaşmasında rol oynar. *flaA–E* genleri flagellin proteinlerini kodlayarak flagellumun oluşmasını sağlar. *flgI*, *flgB* ve *flgL* gibi genler flagellumun çeşitli yapısal bileşenlerini oluştururken, *flhA* dışa taşınma sürecinde görev alır. *rpoN* ise flagellin alt birimlerinin transkripsiyonunu etkileyen bir sigma faktörüdür (McGee ve diğerleri, 1996). *cheR* kemotaksiyi düzenleyen bir metiltransferazı kodlarken, *motY* geni flagellar motorun çalışmasında görev alan stator bileşenini üretir (Ormonde ve diğerleri, 2000).

Lipopolisakkarit yapısı da bağışıklık sisteminden kaçışta önemli bir rol oynar. *rmlA-D* genleri O1 yan zincirinin biyosentezinde görev alırken, *vira*, *virB* ve *virC* genleri O-antijen sentezinde rol alır (Noonan ve Trust, 1995).

Son olarak, *V. anguillarum*'un yüzeylere yapışmasını ve biyofilm oluşturmalarını sağlayan ekzopolisakkaritlerin (EPS) sentezinde *wza-c*, *wbfB-D* ve *orfl* genleri yer alır. Bu yapı bakteriye çevresel dayanıklılık ve konakçıya uzun süre tutunma avantajı sağlar (Larsen ve diğerleri, 2006).

Tüm bu virülans genleri birlikte değerlendirildiğinde, *Vibrio anguillarumun* patojenitesinin oldukça karmaşık ve çok genli bir sistem tarafından kontrol edildiği görülmektedir. Bu genlerin hedeflenmesi, ileride geliştirilecek aşı ve tedavi stratejileri için önemli bir temel oluşturabilir.

2.4.2. *Vibrio parahaemolyticusun* Balıklarda Hastalık Yapmasında Rol Oynayan Genler

Bakterinin patojenitesinde en önemli rolü oynayan virülans genlerinden biri *tdh* (thermostable direct hemolysin) genidir. Bu gen, konak hücre zarlarında porlar oluşturarak iyon dengesini bozar ve hücre ölümüne neden olan TDH toksinini kodlar (Gutierrez ve diğerleri, 2013). Benzer şekilde, *trh* (TDH-related hemolysin) geni de TDH'ye benzer bir hemolizin üretimini sağlar ve enterotoksisiteye katkıda bulunur (Raghunath, 2014).

tlh (thermolabile hemolysin) geni ise tüm *V. parahaemolyticus* suşlarında bulunan ve tür tanımlamasında kullanılan bir diğer hemolizin genidir (Gutierrez, ve diğerleri, 2013). Bakterinin konak hücrelere toksik proteinleri enjekte etmesini sağlayan Tip III Salgı Sistemleri (T3SS1 ve T3SS2) de önemli virülans faktörlerindendir. T3SS1, sitotoksisiteye neden olurken, T3SS2 özellikle enterotoksisite ile ilişkilidir (Letchumanan ve diğerleri, 2014). *toxR* geni, birçok virülans geninin düzenlenmesinde rol oynayan bir transkripsiyonel düzenleyicidir ve bakterinin çevresel koşullara adaptasyonunu artırır (Letchumanan ve diğerleri, 2014). T3SS sistemleri aracılığıyla konak hücrelere enjekte edilen efektör proteinleri kodlayan *vopA*, *vopC*, *vopL* ve *vopT* genleri, konak hücre sinyal yollarını bozarak enfeksiyonun ilerlemesine katkıda bulunur (Zhou ve diğerleri, 2013). *ure* geni, üreyi amonyağa çeviren üreaz enzimini kodlar ve bakterinin asidik ortamlarda hayatta kalmasını sağlar (Zhou ve diğerleri, 2013).

orf8 geni, pandemik *V. parahaemolyticus* suşlarında bulunan bir genetik belirteçtir ve özellikle O3:K6 serotipinde bulunur (Ceccarelli ve diğerleri, 2013). T3SS1 ve T3SS2 sistemlerinin yapısal bileşenlerini kodlayan *vcrD1*, *vcrD2*, *vscC2* ve *vscN2* genleri, bakterinin konak hücrelere efektör proteinleri enjekte etmesini sağlar (Zhou ve diğerleri, 2013).

2.4.3. *Vibrio alginolyticus*un Balıklarda Hastalık Yapmasında Rol Oynayan Genler

Vibrio alginolyticus, deniz canlıları için önemli bir patojen olup balıklarda çeşitli enfeksiyonlara yol açmaktadır. Bu bakteri türünün hastalık yapma yeteneği, taşıdığı çeşitli virülans genleri sayesinde şekillenmektedir. Patojeniteyi belirleyen en önemli faktörlerden biri, bakteri yüzeyinde ve salgıladığı ürünlerde görev alan genlerdir. Bu genlerden biri olan *toxR*, bakterinin çevresel koşullara uyumunu sağlayan ve virülans genlerinin düzenlenmesinde görev alan transmembran bir düzenleyici proteini kodlar. Yapılan çalışmalar, *toxR* geninin patojen *V. alginolyticus* izolatlarında yaygın olarak bulunduğunu ve virülansla güçlü bir ilişki içinde olduğunu göstermiştir (Zulkifli ve diğerleri, 2009).

Balıklarda hastalık oluşturan suşlarda sıkça saptanan bir diğer önemli gen ise *tlh* genidir. Bu gen, TLH adı verilen bir toksin üreterek kırmızı kan hücrelerinin parçalanmasına ve böylece ortama demir salınmasına yol açar. Bu durum, bakterinin büyümesi için elverişli bir ortam yaratır (Jia ve diğerleri, 2010). Ayrıca bazı patojenik suşlarda *tdh* ve *trh* genlerinin de bulunduğu tespit edilmiştir. Bu genler, sırasıyla termostabil direkt hemolizin ve TDH-ilişkili hemolizin kodlayarak hücre zarlarında gözenekler açar ve doku tahribatına neden olurlar. Bu hemolizinlerin varlığı, bakterinin enfeksiyon oluşturma yeteneğini arttırmaktadır (Gargouti ve diğerleri, 2015).

Vibrio alginolyticus'un dokular arasında yayılmasını kolaylaştıran önemli enzimlerden biri, *colA* geni tarafından kodlanan kollagenazdır. Bu enzim, balıkların bağ dokusundaki kollajeni parçalayıp bakteri için giriş yolları açar (Tan ve diğerleri, 2024). Benzer şekilde, *asp* geni tarafından kodlanan alkalın serin proteaz da konak dokularındaki proteinleri parçalayarak enfeksiyonun ilerlemesine katkıda bulunur (Rui ve diğerleri, 2009). Bu iki enzim, bakterinin balık dokularında nekrotik lezyonlar oluşturmaya zemin hazırlar.

Bakterinin konak hücrelere tutunma ve bağışıklık sisteminden kaçma yeteneği de virülansın önemli bileşenlerinden biridir. Özellikle *ompK* ve *ompA* genleri, dış membran proteinleri kodlayarak bakterinin tutunma, biyofilm oluşturma ve immün kaçış süreçlerinde

kritik rol oynar. ompA geni mutasyona uğratılmış suşların enfektivite ve hareketlilik yeteneğinin düştüğü belirlenmiştir (Supansa ve diğerleri, 2020). Balıklardaki *V. alginolyticus* enfeksiyonlarında bu dış membran proteinlerinin yüksek düzeyde ifade edilmesi, konakla etkileşimdeki rollerinin önemini vurgulamaktadır (Nor ve diğerleri, 2015).

Vibrio alginolyticusun Tip III salgı sistemini kullanarak konak hücre içine efektör protein enjekte etmesi de enfeksiyonun önemli bir aşamasıdır. vopS geni, bu sistem aracılığıyla konak hücre iskelet proteinlerini modifiye eden bir protein kodlar. Bu modifikasyon sonucunda hücre şekli bozulur ve hücre ölümü gerçekleşir. Bu durum, bakterinin hızlı doku hasarı oluşturmaya ve bağışıklık sisteminden kaçmasına yardımcı olur.

Son olarak, demir alımını düzenleyen *fur* geni, patojenite sürecinde önemli rol oynar. Demir, balık vücudunda sınırlı olduğundan, bakterinin bu elementi elde edebilmesi hayatta kalması açısından kritiktir. Fur proteini, demir eksikliği durumunda bakterinin demir alım sistemlerini aktive eder ve böylece enfeksiyonun devamını sağlar (Tan ve diğerleri, 2024).

Sonuç olarak, *Vibrio alginolyticusun* balıklarda enfeksiyon oluşturma kabiliyeti, yukarıda belirtilen genlerin ortaklaşa etkisiyle mümkün olmaktadır. Bu genlerin her biri, patogenez sürecinin belirli bir aşamasında devreye girerek bakterinin konağı enfekte etmesine, bağışıklık sisteminden kaçmasına ve dokularda hasar oluşturmaya katkıda bulunmaktadır. Literatürde yapılan çeşitli çalışmalar, bu genlerin patojen suşlarda yüksek oranda bulunduğunu ve enfeksiyonun şiddetiyle doğrudan ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu doğrultuda, bu tezde *Vibrio* patojenlerine karşı in silico antijen analizi yapılarak uygun aşı suşlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Bu araştırmada kullanılan *Vibrio anguillarum*, *Vibrio parahaemolyticus* ve *Vibrio alginolyticus* suşları, ADÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kültür Koleksiyonu'ndan temin edilmiştir. Bakteri suşları uygun besiyerlerinde kültüre alınmış, fenotipik ve virülans özellikleri belirlenmiştir. Tanımlanan suşlardan genomik DNA izole edilmiş ve virülansla ilişkili bazı gen bölgeleri PCR yöntemiyle çoğaltılarak dizilenmiştir. Elde edilen gen sekansları referans suşlarla karşılaştırılmış, genetik benzerlik ve farklılıklar analiz edilmiştir. İn silico olarak yapılan analizlerde, genlere ait olası B hücresi epitopları belirlenmiş ve antijenik potansiyelleri değerlendirilmiştir.

3.2. Cihazlar

Çalışma kapsamında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında bulunan, DNA amplifikasyonları için PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) cihazı, DNA dizileme analizleri için Applied Biosystems ABI Prism 310 genetik analizör ve tam genom dizilemeleri için Oxford Nanopore MinION kullanıldı. Numune hazırlama ve analiz süreçlerinde ayrıca mikrosantrifüj ile DNA konsantrasyon ölçümleri için bir spektrofotometre (NanoDrop) ve gerektiğinde ısı kontrollü inkübatörler (30°C ve 37°C'de sabit sıcaklık sağlayan) gibi temel laboratuvar ekipmanlarından yararlanıldı.

3.3. Kullanılan Kültür Ortamı ve Kimyasal Maddeler

Vibrio suşlarının izolasyonu ve tanımlanması için çeşitli besiyerleri ve reaktifler kullanılacaktır. Örneklerin ilk ekimi, zengin besiyeri olarak kanlı agar ve seçici-diferansiyel bir ortam olan Thiosulfate-Citrate-Bile Salts-Sucrose (TCBS) agar besiyerlerine yapılarak 37

°C’de 24 saat inkübe edilecektir. İnkübasyon sonunda oluşan kolonilerin morfolojileri incelenecek ve TCBS agarda üreyen kolonilerin karakteristik renkleri (sarı ya da mavi-yeşil tonlarda) *Vibrio* türlerinin ön tanımlanması için kullanılacaktır. İzolatların Gram özelliği Gram boyama ile doğrulandıktan sonra temel biyokimyasal testlere geçilecektir. O/F (oksidasyon/fermentasyon) testi için Hugh & Leifson yarı katı besiyeri hazırlanacak; bu testte bakterinin oksijen varlığında veya yokluğunda karbonhidrat kullanma biçimi değerlendirilecektir. Katalaz testi için %3’lük hidrojen peroksit çözeltisi kullanılacak, koloniden alınan örneğin H₂O₂ ile temasında kabarcık oluşumu katalaz pozitif olarak yorumlanacaktır. Oksidaz testi ise ticari oksidaz test çubukları (*Bactident® Oxidase*) kullanılarak gerçekleştirilecek; çubuk üzerinde mor renk oluşması oksidaz pozitifliğini gösterecektir.

Bakterilerin farklı besin maddelerini kullanma kapasitelerini ve metabolik özelliklerini incelemek için çeşitli özel besiyerleri hazırlanacaktır. Triple Sugar Iron (TSI) agar yatay besiyeri, izolatların glikoz, laktoz ve sükroz fermentasyon yetenekleri ile hidrojen sülfür (H₂S) üretimini değerlendirmek amacıyla kullanılacaktır. Ayrıca mannitol ve üre agar besiyerleri, sırasıyla mannitol şekerini fermentasyon (asit üretimi ile renk değişimi) ve üreaz enzim aktivitesi (amonyak üretimi ile pH değişimi) yönünden test etmek için kullanılacaktır. İndol testi için triptofan içeren bir peptonlu sıvı besiyeri kullanılacak; bu sayede bakterinin triptofanı ayrıştırarak indol oluşturma yeteneği, uygun indol reaktifi eklenerek tespit edilecektir. Tuz toleransını belirlemek üzere, %1,5’ten %6’ya kadar farklı konsantrasyonlarda sodyum klorür (NaCl) içeren Tryptic Soy Agar (TSA) plakları hazırlanacak ve *Vibrio* suşları bu ortamlarda büyütülerek hangi tuz düzeylerinde üreyebildikleri gözlemlenecektir.

Vibrio türlerinin bazı virülans özelliklerini saptamak için özel kültür ortamları kullanılacaktır. Biyofilm oluşturma kapasitesini belirlemek amacıyla, Brain Heart Infusion (BHI) agar bazlı Congo Red agar yöntemine başvurulacaktır. Bu yöntem için 1 litre BHI agar ortamına 0,8 gram Congo red boyası ve 36 gram sakkaroz ilave edilerek hazırlanan besiyerine suşlar ekilip 30 °C’de 24 saat inkübe edilecektir. İnkübasyon sonunda siyah renkli kolonilerin oluşumu biyofilm pozitif, beyaz/pembe koloniler ise biyofilm negatif olarak değerlendirilecektir. Suşların hemolitik aktivitelerini belirlemek için Kanagawa fenomenine uygun bir yaklaşımla, izolatlardan bir miktar kültür önce sıvı nutrient broth içinde üretilip ardından %5 insan kanı içeren Wagatsuma Blood Agar (WBA) plaklarına ekilecektir. 37 °C’de inkübasyon sonrası kolonilerin etrafında hemoliz zonu oluşup oluşmadığı kontrol edilerek beta-hemoliz varlığı pozitif sonuç olarak kaydedilecektir. Ayrıca bakterilerin siderofor üretme

yeteneklerini incelemek amacıyla Chrome Azurol S (CAS) agar kullanılacaktır. Sıvı besiyerinde büyütülmüş kültür süpernatantından 5 µL kadar CAS agar üzerindeki kuyucuklara damlatılacak ve 30 °C’de inkübasyonun ardından oluşabilecek turuncu renkli zonlar, siderofor üretiminin pozitif bir göstergesi olarak değerlendirilecektir.

3.4. İn Silico Analizlerde Kullanılacak Biyoinformatik Yazılımlar

Çalışmanın in silico analiz aşamalarında güncel biyoinformatik yazılımlar ve veritabanlarından yararlanılacaktır. Laboratuvarında elde edilen 16S rRNA gen dizileri ve tam genom sekans verileri, Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) GenBank veritabanındaki ilgili *Vibrio* kayıtlarıyla karşılaştırılacaktır. Genom ve gen dizilerinin benzerlik analizleri için NCBI’nin BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) algoritması kullanılacaktır. Ayrıca, incelenen *Vibrio* türlerine ait protein dizileri üzerinde bağışıklık sistemi tarafından tanınabilecek antijenik epitopların öngörülmesi amacıyla çeşitli immüno-informatik araçlara başvurulacaktır. Bu kapsamda, Immune Epitope Database (IEDB) platformundaki analiz araçları ile BepiPred ve BciPep gibi yazılımlar kullanılarak potansiyel B-hücresi epitop bölgeleri belirlenecek ve bu bölgelerin antijenite dereceleri değerlendirilerek olası aşı adayı antijenler tespit edilecektir.

4. BULGULAR

4.1. *Vibrio* Suşlarının Kültürel ve Biyokimyasal Karakterizasyonu

Bu doktora çalışmasında, *V. anguillarum*, *V. parahaemolyticus* ve *V. alginolyticus* türlerini temsil eden üç farklı suş, kültürel ve biyokimyasal testler aracılığıyla karakterize edilmiştir. İlk olarak, izolatların TCBS agar üzerindeki büyüme özellikleri değerlendirilmiştir. *V. parahaemolyticus* ve *V. alginolyticus* suşları sarı renkli koloni formasyonu gösterirken *V. anguillarum* suşu yeşil koloni formasyonu göstermiştir. Gram boyama, tüm suşların gram negatif morfolojiye olduklarını teyit etmiştir. Oksidatif/Fermentatif (O/F) metabolizma testi, üç suşun da yalnızca aerobik koşullarda glikozu oksidatif yolla metabolize ettiğini, anaerobik ortamda fermentasyon kapasitesinin bulunmadığını göstermiştir. Katalaz aktivitesi, tüm suşlarda güçlü pozitif reaksiyonla doğrulanmıştır. Triple Sugar Iron (TSI) agar analizleri sonucunda, tüm suşlar alkali/asit (K/A) reaksiyon göstermiştir. Bu sonuç, yalnızca glikozun fermente edildiğini; laktoz ve/veya sakkarozun ise metabolize edilmediğini göstermektedir. Bununla birlikte, H₂S üretimi ve gaz oluşumu gözlemlenmemiştir. Bu veriler, test edilen suşların klasik *Vibrio* türlerine özgü biyokimyasal profillerle uyumlu olduğunu desteklemektedir.

4.2. *Vibrio anguillarum*ın İn Silico Analizi

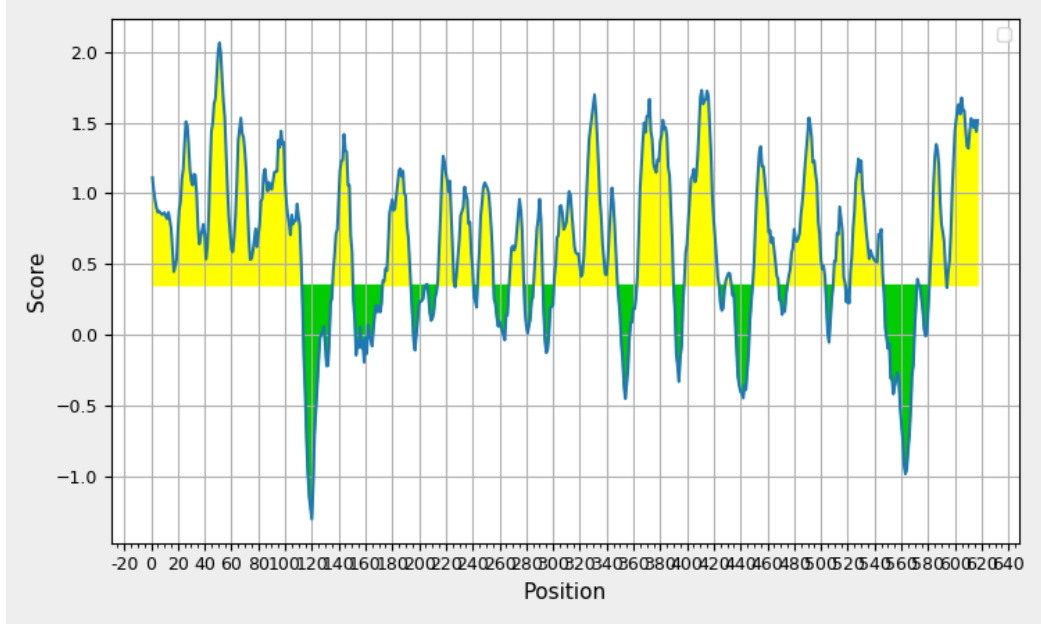
4.2.1. NCBI Veritabanındaki *angR* Geni

Tablo 1. *Vibrio anguillarum* 775 suşu GenBank:AF070446 (Bipolaris maydis) (Wertheimer, A. M., 1999)

Pozisyon	Gen Dizisi (60 nt)
1	ATGAAAAAAATTAGACGAAACG GTTTTATTGACTGGAGCCGGGCAGGG GATTGGTTATGC
61	CGTATTGGGATCTTTACTGGCGA GCGGTTATCGAGTTGTAGCGACGGAT AAAAATCACCA
121	CCAATTAACTCAGCAATTAGCG AGTTTGAACGCGCGCTATACCGAGCA GCTTCATTGCTA
181	TGAGCTTGATTTACAGCATCATG ACGACGTCAAAAAAAGGGTACAAGA ACTGAATGAGCG
241	CTATCAGTTTGATCATTTTCATCA GCTGCGCGGGCATATTGCACCTTGGT TCAATAACCGA
301	ATTATCGATGTCAGAGATCAAA GCGATGTTTGATGTCAATACGTTTGG CACCTTAGCCGC
361	TTTGCAAGGGGTAGCGATAGGA ATGAAGGCGCGCCAGCGTGGCAATG TTATTGTGATTGG
421	CTCTAATTCAGCGAATACGCCTC GGCTCAATATTGGAGCATATGCGGCA TCTAAATCGGC
481	TTGTCATATGTTGGTCAAGTGCG CAGCTCTTGAGCTTGCAAACGATGGA ATTCGATGCAA
541	TATCGTTAGCCCAGGCTCAACAC GCACCGAAATGCAAACGCAGTTATG GAACAGCGAATA
601	TGGTGAAAGAGAAGTGA

Tablo 2. IEDB B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024)

No.	Start	End	Peptide	
1	1	112	ATGAAAAAATTAGACGAAACGGTTTTATTGACTGGAGCCGGGCAGGGGATTGGTTATGCCGT ATTGGGATCTTTACTGGCGAGCGTTATCGAGTTGTAGCGACGGATAAA	112
2	136	150	ATTAGCGAGTTTGAA	15
3	173	193	CATTGCTATGAGCTTGATTTA	21
4	205	206	CG	2
5	214	226	AAAAAGGGTACAA	13
6	228	240	AACTGAATGAGCG	13
7	244	255	TCAGTTTGATCA	12
8	268	278	CGCGGGCATAT	11
9	286	292	TGGTTCA	7
10	301	348	ATTATCGATGTCAGAGATCAAAGCGATGTTTGATGTCAATACGTTTGG	48
11	363	389	TGCAAGGGGTAGCGATAGGAATGAAGG	27
12	398	423	CGTGGCAATGTTATTGTGATTGGCTC	26
13	429	433	CAGCG	5
14	449	468	AATATTGGAGCATATGCGGC	20
15	475	503	ATCGGCTTTGCATATGTTGGTCAAGTGCG	29
16	510	518	TTGAGCTTG	9
17	522	546	ACGATGGAATTCGATGCAATATCGT	25
18	572	573	AT	2
19	581	593	CAGTTATGGAACA	13



Şekil 1. *Vibrio anguillarum* 775 suşunun, angR genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

4.2.2. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen *Vibrio anguillarum* angR Geni:

Tablo 3. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun angRgen dizilimi

Pozi syon	Gen Dizisi (60 nt)
1	ATGGAAACCAATTCACCTTGCCTTATGACTAAACGAATGCCTC TGAGCAACTTCAAGTCG
61	AAACATGATCAAAGGAAGACCACCCTCCTCTGGCGTGCGGCG GTTATCGCAGCACTTTGG
121	CTGCCACTCGTGATTGGCTACATGCGATTGAACCACTTTGAA ACAAAACGGCTATAGCC
181	GATTCTGGTGAAATCAGAGGAGGTAATGCTGGCTACTACGAC AGAACAACGACGAAGTTC
241	TGCTCAAGACCGACATCATCGCATTGAGTACAAGAAGGTCAA CGCTGAAGGAGGACGAAA

301	GACGGGTCTTGCAGATCAAGGACGACGAATGCGGGAAGCGA ACCAGAACCTGGCGAAAAT
361	CTCCTTCTTTGTGGAGATTATGTTATCTGGACCGATTCTGGTTC CCTCTTCTCATACATC
421	GACTATCTCACGAAGATTTCGAGGACTTCAACAACCCGCTAAC TCGGACAAACCGACATCA
481	TCTGGAGGAGGTCATTAAC TTCATCAGAAGACCCTAAAGCGA CTGTGGATCTCGACATGG
541	CAACTTCAGCGTGAGCGCGAGTACAAGCTTTTGAGCTGGGAG GTGACTTTGGCGACTGTT
601	CTTGATGGCCGAAGAAGCTATATTAACACGCCAATGCAGCGC AATCTGCGTATGCGCAGC
661	AACTGGAGCTCTGTTGGCGATCGCTGATGAACAATTATCAGC GCAAGCCTAAAGAGGAAA
721	TACCGACGTCAAGATCAAGCCGAAGGTCAGTCATTGGCTCCG CGATTCTGGTTGAAATTC
781	TGGATAGCGAGTTTTTTGGCCGAAGTATCATCGCGGCGATGG CCATGGCTTTCAGCGGCA
841	GCACCAACCGAAGGCGACGAAGAAGATCATCGCCGAGTCTAC CCTGCTAACGCCCTGGAT
901	GGAAAATCACCTGGATAAGCTGAAAACGCTTGACGAGACGGA CTTCAAGAAATGTCCACG
961	TCAAGTTCCAGCGGCAACATCTTGCGGTGTTGATCCAGGGC ATTCCGGTGTGGCGACTG
1021	GAACCTGACCCTGAAGAAGTAACAGCTATGCTATTCCAGCTC TACAGAAGTATGGCCGTC
1081	AGATTCCTGCTGCTAACGGTTAAGATTTATGGCCAGTCACCAC CCGTTCGGAAAGCAACTT
1141	CGCCTGACCTGAGCCGCAGCGGCAGATTATCGTCAACATTTC GGTACCGTGGATCACCAA
1201	GACAACGAGATTTCGCAGAAGATTGGAGAGGACCCTTTGGAGG ACCGAGGCGATCTACCGC

1261	CGTGGAGGGAAATCATCGCCAAGGTCTGGAAGAACAGGAGT ACACCCTGGACGTCATGTT
1321	ACGAAGGCCTCTACCTTTGTGAAATGTACGAATTGCTCACAG AGGTGACTTTGGAACCAT
1381	TGTGCGCGCAAGACCGAAGCCGCGAACGAGATTACCGAAGTG ATGACGGCTATCGATCAA
1441	GAAGATGGAGGCCGGCTCTACGACGAAATTTTGGTGTTTCGAC TTGGTGACTATCGCCGGA
1501	TTCTGGTGGCACCGAAGACTCTGCTTGGCGTACTATGGAGATT CTACTTCACCGGTTTCCT
1561	GAAGGGTCGTGGCCGAAGTCCGTTGTCAGCGGAAGGTTACCG AAGAATTATCAGCGCGGT
1621	CTTCTACCATCTTCTACAAGGAGTTCAGGTCTGCATTACCCTA TTTTCCAGACCGGACTT
1681	TGATTCGCCGCCTGGTAGAAAGATATTACGTTACCAACAAGG GCTTCATCGTGGCGGA

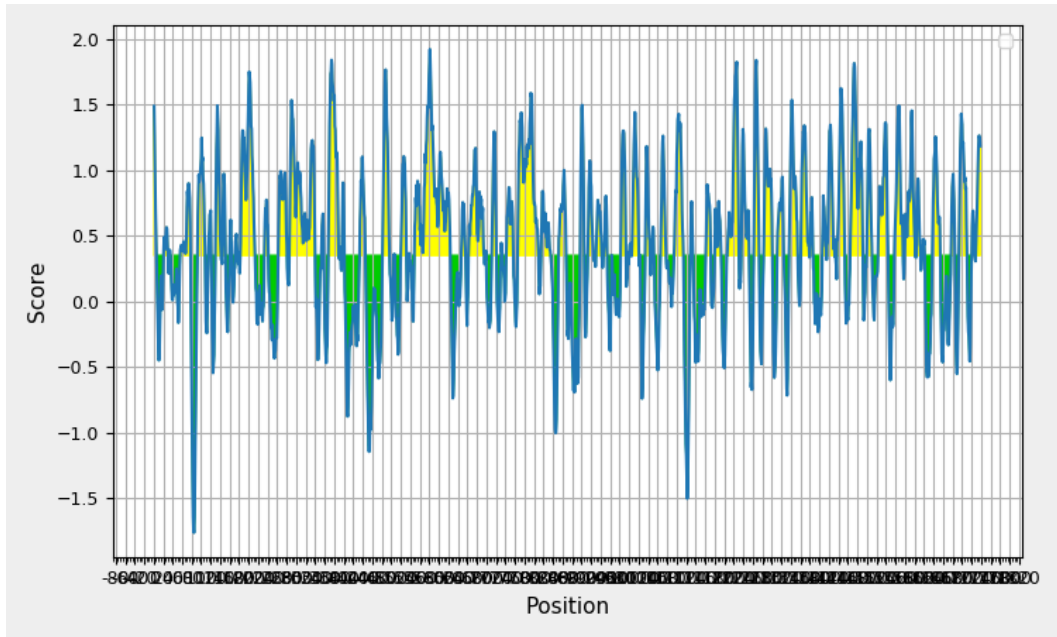
Tablo 4. IEDB B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).

No.	Start	End	Peptide	
1	1	6	ATGGAA	6
2	21	30	CCTTATGACT	10
3	34	34	C	1
4	56	77	AGTCGAAACATGATCAAAGGAA	22
5	93	108	GCGTGCGGCGGTTATC	16
6	116	121	TTTGGC	6
7	130	141	GTGATTGGCTA	12
8	145	151	GCGATTG	7
9	160	164	TGAAA	5
10	172	175	GCTA	4
11	180	180	C	1
12	183	213	TTCTGGTGAAATCAGAGGAGTAATGCTGGC	31
13	233	241	CGAAGTTCT	9

No.	Start	End	Peptide	
14	263	280	ATTGAGTACAAGAAGGTC	18
15	286	339	TGAAGGAGGACGAAAGACGGGTCTTGCAGATCAAGGACGACGAATGCGGGAAGC	54
16	353	357	GCGAA	5
17	368	388	TTTGTGGAGATTATGTTATCT	21
18	390	390	G	1
19	392	393	CC	2
20	396	401	TTCTGG	6
21	434	445	AGATTCGAGGAC	12
22	482	496	CTGGAGGAGGTCATT	15
23	506	506	A	1
24	520	531	CGACTGTGGATC	12
25	537	538	AT	2
26	549	623	GCGTGAGCGCGAGTACAAGCTTTTGAGCTGGGAGGTGACTTTGGCGACTGTTCTTGATGGC CGAAGAAGCTATAT	75
27	647	655	TGCGTATGC	9
28	663	695	CTGGAGCTCTGTTGGCGATCGCTGATGAACAAT	33
29	699	699	C	1
30	711	720	AAAGAGGAAA	10
31	731	733	AAG	3
32	742	756	GAAGGTCAGTCATTG	15
33	766	809	TTCTGGTTGAAATTCTGGATAGCGAGTTTTTTGGCCGAAGTATC	44
34	815	834	GGCGATGGCCATGGCTTTCA	20
35	852	867	AGGCGACGAAGAAGAT	16
36	897	905	GGATGGA	9
37	913	924	GGATAAGCTGAA	12
38	931	941	TGACGAGACGG	11
39	947	953	AAGAAAT	7
40	963	963	A	1
41	982	993	TTGCGGTGTTTCG	12
42	999	999	G	1
43	100 1	100 3	GCA	3
44	100 6	102 0	CCGGTGTGGCGACTG	15
45	102 2	102 2	A	1

No.	Start	End	Peptide	
46	103 4	104 3	AAGAAGTAAC	10
47	104 8	105 1	ATGC	4
48	106 6	107 7	AGAAGTATGGCC	12
49	109 5	111 3	AACGGTTAAGATTTATGGC	19
50	112 9	113 3	GGAAA	5
51	116 1	117 1	GGCAGATTATC	11
52	118 0	119 3	TTCGGTACCGTGA	14
53	120 5	123 0	ACGAGATTTCGCAGAAGATTGGAGAGG	26
54	123 6	125 2	TTGGAGGACCGAGGCGA	17
55	126 2	127 3	GTGGAGGGAAAT	12
56	128 3	130 0	GGTCTGGAAGAACAGGAG	18
57	131 1	132 4	ACGTCATGTTACGA	14
58	133 6	135 4	TTTGTGAAATGTACGAATT	19
59	136 1	137 8	AGAGGTGACTTTGGAACC	18
60	138 0	138 6	TTGTGCG	7
61	140 6	141 4	ACGAGATTA	9
62	141 6	143 1	CGAAGTGATGACGGCT	16
63	143 3	143 3	T	1
64	143 7	145 3	TCAAGAAGATGGAGGCC	17
65	146 5	149 1	GAAATTTTGGTGTTCTGACTTGGTGACT	27
66	150 0	151 0	ATTCTGGTGGC	11
67	152 3	154 4	GCTTGCGTACTATGGAGATTC	22
68	155 8	157 5	CCTGAAGGGTCGTGGCCG	18

No.	Start	End	Peptide	
69	157 9	160 1	TCCGTTGTCAGCGGAAGGTTACC	23
70	160 4	161 2	AGAATTATC	9
71	161 6	162 1	GCGGTC	6
72	163 7	165 3	CAAGGAGTTTCAGGTCTG	17
73	167 7	168 4	ACTTTGAT	8
74	169 4	171 0	GGTAGAAAGATATTACG	17
75	172 0	172 6	AGGGCTT	7



Şekil 2. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, angR genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

Vibrio anguillarum'un patogeneğinde görev alan angR geni, bakterinin demirden fakir koşullarında hayatta kalabilmesini sağlayan önemli bir genidir (Actis ve diğerleri, 1988). Bu çalışmada NCBI veritabanındaki referans suş (*V. anguillarum* 775; GenBank: AF070446) ile ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan izole edilmiş suşa ait angR genleri karşılaştırılmıştır. Referans gen 618 bp uzunluğundayken izolat suşta angR geninin uzunluğu 1726 bp

bulunmuştur. IEDB (Immune Epitope Database) üzerinden yapılan B hücresi epitop tahmin analizlerinde referans suşta 19, izolat suşta ise 75 B hücresi epitopu saptanmıştır. Ortak epitoplar tespit edilmemiştir. İzolat suşun daha fazla epitop içermesi, daha potansiyel bir aşı adayı olabileceğini düşündürmektedir fakat *angR* geni hücre içi regülatörüdür bu sebeple epitopların bağışıklık sistemini uyarması mümkün olmayabilir nedenle, izolatın farklı çalışmalarla değerlendirilmesi önerilmektedir.

Tablo 5. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun *angR* Geninin Karşılaştırılması

Özellik	NCBI Referans Suşu	Laboratuvar İzolatı
Gen Uzunluğu (bp)	593	1726
Epitop Sayısı (IEDB - B Hücresi)	19	75
En Uzun Epitop (bp)	20	75
Ortak Epitop Sayısı	0	0
Benzersiz Epitop Sayısı	19	75
En İmmünojenik Bölge	-	549–623
Ortalama KT (Kolaskar–Tongaonkar) Skoru	1.068	1.088

4.2.3. NCBI Veritabanındaki *fatA* Geni

Tablo 6. *Vibrio anguillarum* 775 suşu GenBank: AY312585 (Naka ve Croso 2003).

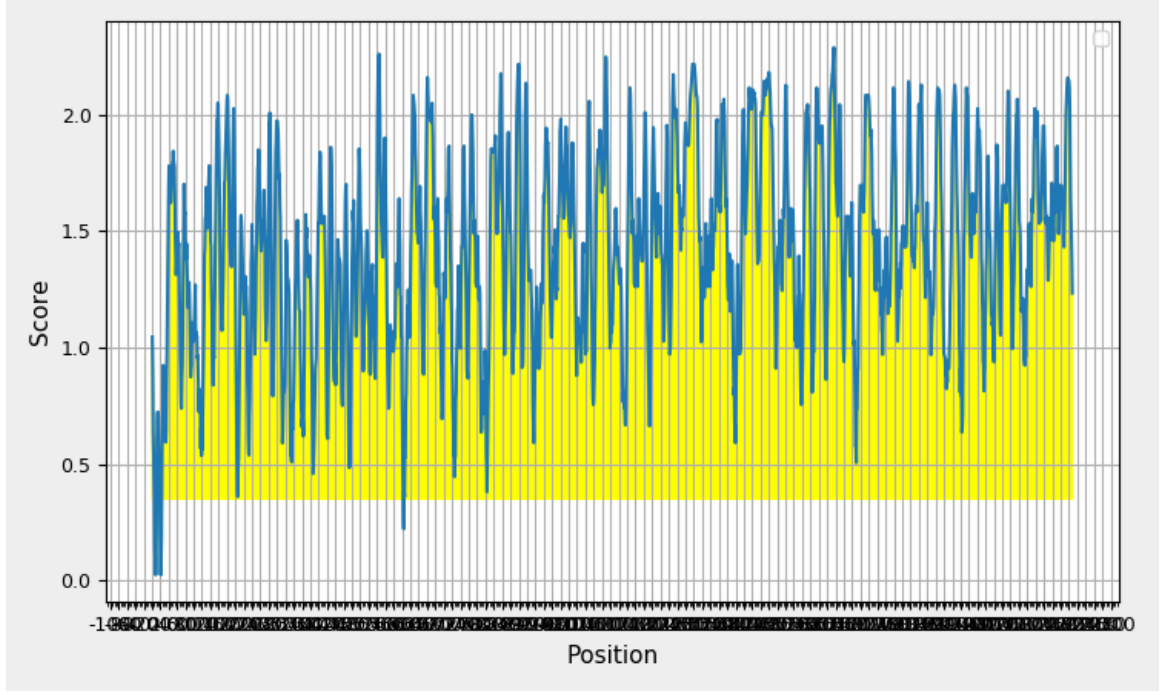
Pozisyon	Gen Dizisi (60 nt)
1	ATGGCAAACAAAAAGGATCCTATCGTATTAGCTTCTTGGTTTT TGATGATGGTTTTTTGC
61	TGGTTGAGCAGCGTTTTGTGATCGGGATGCTGAAGCGTGAA GCGTTGATCGAGCGTTTC
121	AGCGAGGTTTATTTTGAGTTTGTTTCGTTTCGTGATGTTGGTGTT AGTCTTGATTTTGTTGT
181	TGGTGTTTCTGGTTTTGGTGAAGCTCTTGCGGATGGTGCTTAT TTTGAAGCTATCGTTTT
241	TGGTCTTGCGGTTGTTTTGTTGCTGGTTTTGGCGCGTTGGTGT GATTGCGCTTGGTGGT
301	ATTGGTGATGCGTTCAATGTGCTTGGTGCGATTTCGTCTTTATG CGTTGTTTTTTCTGTTA
361	TCGCGTATGGTTGCGATTGTTTATCTTGCTGCGTTTGCGGTTGT TGGTCGTGTTGGTCGT
421	CGTCGTGGTGTTTATGCTGCGGTTTCGTGGTTTCGTTGCTGCGG TTGGTTTCATTCGTGCT
481	GGTTTGTTTCGGCGGTTTTGGTTTCGGTGCTATTTTGGTCGTAT TCGTGGTTTCGCGTTT
541	GGTGGTGGTTTCGGTTTTGGTTTTATCTTTCGGGTTTCGTGCTGG TCGTGGTCGTGGTTTC
601	GCGTTCATTCGTGGTCGTGCTGGTGTTGTTGGTTTTGCGGTTTT GGTCGTATTCGTGGTG
661	TTGGTTTTGGTTGTTGGTCGTGGTCGTGGTTTCGCGGTTTCGTG GTCGTGGTTTTGGTCGT
721	GCGTTCATTCGTGGTCGTTTTTCGTGGTTTTGGTCGTATTCGTGT TGGTTTTGGTCGTGGT
781	CGTGGTCGTTTCGCGGTTTCATTTTCGCGTTGGTTTTGATGGTT TTGGTCGTGGTTGGTG

841	TTGCGTTCGGTTTTGGTTTTGCGGTTTCATTTTGGTTGTGGTGG TTTCGCGTTGGTGTG
901	GTATTCGTGGTTTCATTCGTGGTCGTTTCGGTCGTGGTCGTGG TTGTTTTTGGTTTCGGC
961	GGTTTTGCGGTTGCGTTGGTTGTGGCGGTTTTTGGTTGTGCGT TGTTTTTGGTTTTCGTG
1021	CGTTTTTCGGTCGTGGTTTCGCGGTTGTGGTTTTGCGTTCGGC GTTGGTTTTTTTTGGTGG
1081	TCGTGGTGGTGTGTTGGTCGTTTCGGTGCGTTTTTTGGTCGTTTTT TGCGGTCGTTCGTATTC
1141	GTGGTGGTTTTGGTCGTGGTCGTGGTCGTGGTTTTTCGTTGGTT TTGGTTTCGCGTTGCGT
1201	GGTGGTTTCGGTTTTTGGTCGTGGTGCGTTCGGTTGTGGTTTCG CGGTTGGTGGTTTTTGG
1261	TGGTCGTGGTTGCGTTGGTTGTTTTTGGTTTTGGTGGTGTGGT GGTTTTGGTTTCGGTT
1321	TCGTTGGTCGTGGTCGTGGTCGTGGTTTCGGTTGGTTGGTCGT GGTTTTGGTTGTGGTCG
1381	TGGTCGTTTTGCGGTTTCATTCGTGGTTTCGCGGTTGGTTTTGG TCGTGGTGGTTTTGGT
1441	TGGTTGTTGGTTTTTCGTTGGTTTTTGGTTGTGGTTGTTGGTGGT GTTTTGGTTTCGGTCG
1501	TTTTGGTCGTGGTCGTGTTGGTGGTGCGTTTTTTGGTCGTGGTT CGCGGTTTTGCGTTCG
1561	GCGTTGGTTTTGGTTGGTGCGGTTTCGCGGTTGTGGTTGTTTTT GGTTGTTTTGCGTTCG
1621	TTTTTGGTTGGTTGTGGGTGGTCGTGTTGGTTGTTTTCGTTGCG TTGGTTGCGTTGGTCG
1681	TGGTTCGCGTTCGGTCGTGGTGGTCGTGGTTTTTGGTGGTTTTG GTTTTGGTCGTGGTCGT
1741	GTTGCGGTTGCGTTCGGTTTTGCGGGTCGTGCGGGTTTTGGTG GTGCGTTCGGTTTTGCG

1801	TTGGTTTCGTTGGTTGTGGTTTTGCGTTTGGTCGTGGTTTTGGT TGTGGTTTCGTTGGTC
1861	GTGGTTCGGTCGTTTTGCGGTTGTGGTTGTTGGTTGCGTTGCG TTCGGTCGTTTCGGTTT
1921	TGGTTGTGGTTTTGCGGTTTCGCGGTCGTGGTTTGGTTGGTTTC GGTTTTGGTCGTGGTT
1981	TTGGTTTTGGTCGTGCGTTCGGTTGTTGGTCGTTTTGCGTTCGG TTGGTTTTGCGGTCGT
2041	GGTGGTCGTGGTTGTTGGTTGCGTTTCGGTTTTGGTTGTGGTC GTTTTGCGGTCGTGCGT
2101	TGGTCGTGGTCGTGGTTTTGGTTTTGGTTGCGTTGGTTTTGTTG GTCGTGTTGCGGTTTT
2161	TGGTCGTGGTTTTGGTCGTGGTGGTCGTTTTGGTTGTGGTTGG TTTAA

Tablo 7. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).

No.	Start	End	Peptide	
1	1	6	ATGGCA	6
2	12	17	AAAGGA	6
3	24	60 2	CGTATTAGCTTCTTGGTTTTTGATGATGGTTTTTGTGCTGGTTGAGCAGCGTTTTTGTGATCGGGAT GCTGAAGCGTGAAGCGTTGATCGAGCGTTTCAGCGAGGTTATTTTGAGTTTGTTCGTTTCGTGATG TTGGTGTTAGTCTTGATTTTGTTGTTGGTGTTCTGGTTTTGGTGAAGCTCTGCGGATGGTGCTT ATTTTGAAGCTATCGTTTTTGGTCTTGCGETTGTTTTGTTGCTGGTTTTGGCGCGTTGGTGATG TGCGCTTGGTGGTATTGGTGATGCGTTCAATGTGCTTGGTGCGATTTCGTCTTTATGCGTTGTTTT TCTGTTATCGCGTATGGTTGCGATTGTTATCTTGCTGCGTTTGCGETTGTTGGTCGTGTTGGTCG TCGTGCTGGTGGTTATGCTGCGGTTTCGTGGTTTCGTTGCTGCGGTTGGTTTCATTGCTGCTGGTTT GTTTCGGCGGTTTTGGTTTCGGTGCTATTTTTGGTCGTATTCGTGGTTTCGCGTTTGGTGGTGGTTT CGTTTTTGGTTTTATCTTTGCGGTTTCGTGCTGGTTCGTGGTTCGTGGTTTCGC	579



Şekil 3. *Vibrio anguillarum* 775 suşunun, fatA genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

4.2.4. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen *Vibrio anguillarum* fatA Geni:

Tablo 8. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’ndan İzole Edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, fatA genine ait gen dizilimi

Pozisyon	Gen Dizisi (60 nt)
1	ATGACTCATCAAGTTGCTACTTGTCATAAAAAACAATCTT TTTCTGGTAAACCTACTCTG
61	TCTCGTATTGCTCTGCTGGTTGCTCTGCAAATTTCTGCTTC TGCTCTGCCTATTTCTATT
121	ACTCATGCTGAAGAACAAGCTGATGAATCTATTACTGTTT ATGGTCAAGCTAATGAAGCT
181	TATGCTGCTGGTAAAATTTCTAAAGCTTCTTCTATTGGTAT GCTGGGTGATAAAGATTTT
241	CTGGATACTCCTTTTAATGCTATTGGTTATACTGATAAAC ATATTCAAGATCAACATGCT

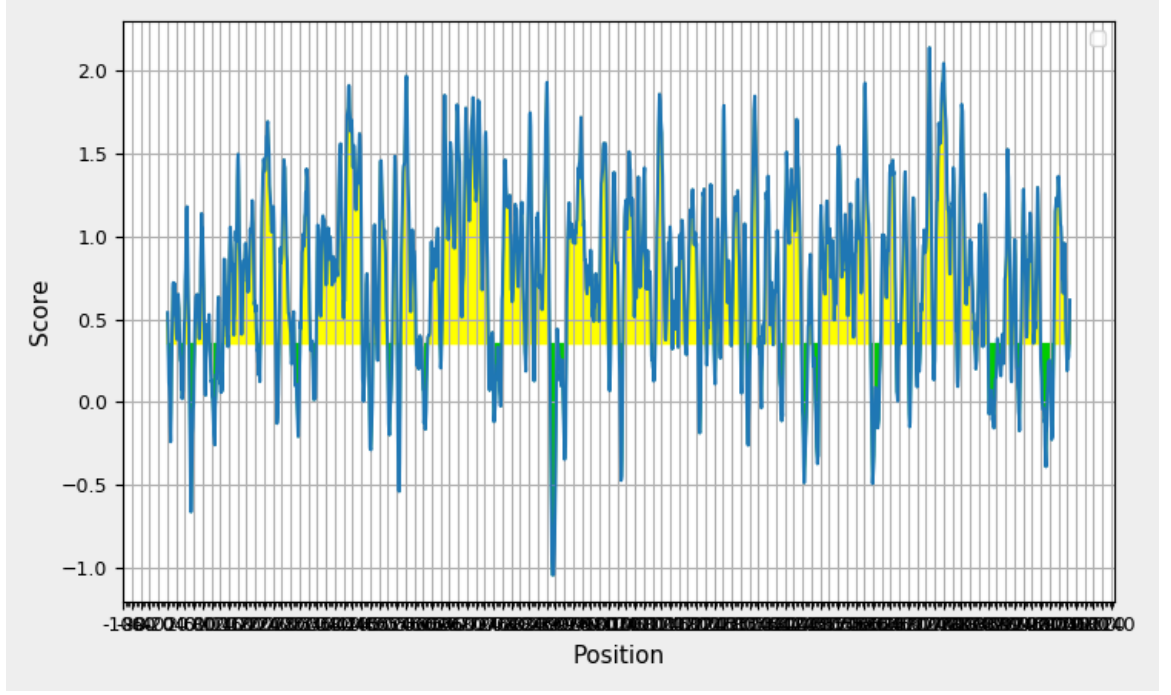
301	CAAGATATTTCTGATGTTATTTCTGCTTCTGATCCTTCTGT TTTTACTTCTGGTGAAACT
361	GGTCTGAATAAAGAATCTTTTAAAATTCGTGGTTTTTCTTC TGATATTGGTGATGTTATG
421	TTTAATGGTCTGTATGGTATTGCTCCTTATTATCGTTCTTC TCCTGAAATGTATCAACGT
481	ATTGATGTTCTGAAAGGTCCTGCTTCTCTGCTGAATGGTA TGCCTCCTAATGGTTCTGTT
541	GGTGGTTCTATTAATCTGGTTACTAAACGTGCTCAAGAAG CTCCTATTACTTCTTTTACT
601	GGTACTTATATGTCTGATTCTCAATTTGGTGGTCATATTGA TATTGGTCGTCGTTTTGGT
661	GAAAATGAACAATTTGGTGTTTCGTTTTAATGGTGTTTTTC GTGATGGTGATGCTTCTGTT
721	GATGGTCAATCTCGTAAAGCTCAACTGGCTTCTCTGTCTC TGGATTGGCGTAATGATATT
781	GCTCTGATTGAAGCTGATCTGTATTTTTCTACTGAACGTGT TGATGGTCCTAATCGTGGT
841	CTGTCTATTGCTTCTGGTGTTGATGTTCCCTTCTCCTCCTTCT TCTGATACTCTGCTGTCT
901	CCTTCTTGGGCTTATAATGATTCTGAAGATAAAGGTATGA TGATTTCGTGCTGAACTGGAT
961	CTGTCTAATTCTGTTACTGCTTATGGTGCTGTTGGTGCTTC TCGTA CTGATTTTGATTCT
1021	AATGTTCCCTCAACGTGTTAAAATTATTGATGATTCTGGTA CTCTGGAAGTTTCTCTGGGT
1081	TCTGTTAAACTGGAATCTAAACGTACTTCTGGTGAAGTTG GTATTCGTTCTTCTTTTGAT
1141	ACTGGTCCTATTGAACATTATCTGGTTCTGAATTCTACTTA TTTTCGTGAAGATAAAAAT
1201	GATTCTCCTAAAGGTAATAATAATCCTGGTTCTTGGAATC CTAATATTTATAATCCTGTT

1261	TGGGGTCCTGAAGATTCTACTTATGATAATTATTATGAAC TGCCTGTTGATTCTACTCAA
1321	ATTTCTTTTGGTGTTGCTGATACTCTGTCTCTGGCTAATGG TAAATATCAAGTTACTCTG
1381	GGTCTGCGTCATCAATCTATTGATTATGAATCTGGTGTTA CTTGGAATGGTAATGCTTTT
1441	CCTACTACTAAACTGAAAGAATCTACTTATACTCCTGCTA TTGTTGCTCTGTATAAAGTT
1501	TCTGATTCTGTTTCTCTGTATGGTAATTATACTGAAGGTCT GACTAATGGTAAAACTGCT
1561	GGTTCTGGTGCTGCTAATGTTGGTGAAGCTTTTGAACCTC AAAAAACTAAACAAACTGAA
1621	GCTGGTCTGAAACTGGATATGAATGATTTTGCTCATACTT TTTCTCTGTTTGAAATTAAA
1681	AAACCTAATGGTTATCAAGATCCTGATACTAATATTTATT CTTTTGGTGGTGAACAACGT
1741	AATCGTGGTATTGAATGGGGTTTTTATGGTACTGTTCTGG AAGATTATACTCTGACTGGT
1801	GGTATTGCTTATACTGATGCTGAAATTACTAAAGCTACTG ATGTTACTACTGAAGGTAAA
1861	CAAGCTACTAAACTGCCTGATCTGCAAGCTAAACTGGCTC TGGAATGGAATCTGCCTGTT
1921	ATGCGTCAACTGACTCTGATTGGTCAAGCTAATTATATGT CTGAACAATATATTGATGCT
1981	CAAATACTCAATCTCTGTCTGCTCAAACCTATTTTTGATCT GGGTGCTCGTTATAATTCT
2041	ACTATT

Tablo 9. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).

No	Start	End	Peptide	
1	1	2	AT	2
2	11	28	AAGTTGCTACTTGTGTCATA	18
3	38	49	CTTTTTCTGGTA	12
4	63	84	TCGTATTGCTCTGCTGGTTGCT	22
5	90	96	AATTTCT	7
6	115	118	TCTA	4
7	127	137	GCTGAAGAACA	11
8	139	203	GCTGATGAATCTATTACTGTTTATGGTCAAGCTAATGAAGCTTATGCTGCTGGTAAAAT TTCTAA	65
9	212	246	CTATTGGTATGCTGGGTGATAAAGATTTTCTGGAT	35
10	254	280	TTAATGCTATTGGTTATACTGATAAAC	27
11	285	288	TCAA	4
12	302	324	AAGATATTTCTGATGTTATTTCT	23
13	327	329	TTC	3
14	338	442	CTGTTTTTACTTCTGGTGAACTGGTCTGAATAAAGAATCTTTTAAATTCGTGGTTTT TCTTCTGATATTGGTGATGTTATGTTTAATGGTCTGTATGGTATTG	105
15	450	456	TTATCGT	7
16	467	475	AAATGTATC	9
17	478	499	CGTATTGATGTTCTGAAAGGTC	22
18	511	521	CTGAATGGTAT	11
19	530	564	ATGGTTCGTGGTGGTTCTATTAATCTGGTTACT	35
20	567	567	A	1
21	573	575	TCA	3
22	591	618	TTCTTTTACTGGTACTTATATGCTGAT	28
23	623	728	AATTTGGTGGTCATATTGATATTGGTCGTCGTTTTGGTGAAAATGAACAATTTGGTGTT CGTTTTAATGGTGTTTTTCGTGATGGTGATGCTTCTGTTGATGGTCA	106
24	734	738	GTAAA	5
25	759	810	TCTGGATTGGCGTAATGATATTGCTCTGATTGAAGCTGATCTGTATTTTCT	52
26	815	829	AACGTGTTGATGGTC	15
27	834	867	TCGTGGTCTGTCTATTGCTTCTGGTGTTGATGTT	34
28	884	885	CT	2
29	906	1000	TTGGGCTTATAATGATTCTGAAGATAAAGGTATGATGATTCGTGCTGAACGGATCTGT CTAATTCTGTACTGCTTATGGTGCTGTTGGTGCTT	95
30	1006	1024	ACTGATTTTGATTCTAATG	19
31	1034	1097	GTGTTAAAATTATTGATGATTCTGGTACTCTGGAAGTTTCTCTGGGTTCTGTAAACTG GAATC	64

No	Start	End	Peptide	
32	1107	1144	TTCTGGTGAAGTTGGTATTCGTTCTTCTTTTGATACTG	38
33	1147	1157	CCTATTGAACA	11
34	1159	1174	TATCTGGTTCTGAATT	16
35	1178	1203	CTTATTTTCGTGAAGATAAAAATGAT	26
36	1211	1221	AAGGTAATAAT	11
37	1225	1239	CCTGGTTCTTGAAT	15
38	1244	1252	ATATTTATA	9
39	1255	1277	CCTGTTTGGGGTCCTGAAGATTC	23
40	1280	1299	CTTATGATAATTATTATGAA	20
41	1304	1312	CTGTTGATT	9
42	1322	1340	TTTCTTTTGGTGTGCTGA	19
43	1342	1342	A	1
44	1350	1373	TCTGGCTAATGGTAAATATCAAGT	24
45	1375	1386	ACTCTGGGTCTG	12
46	1397	1437	CTATTGATTATGAATCTGGTGTACTTGAATGGTAATGCT	41
47	1453	1462	CTGAAAGAAT	10
48	1479	1594	TATTGTTGCTCTGTATAAAGTTTCTGATTCTGTTTCTCTGTATGGTAATTATACTGAAG GTCTGACTAATGGTAAACTGCTGGTTCTGGTGCTGCTAATGTTGGTGAAGCTTTTG	116
49	1618	1652	GAAGCTGGTCTGAACTGGATATGAATGATTTTGC	35
50	1659	1679	TTTTTCTCTGTTTGAAATTAA	21
51	1687	1697	AATGGTTATCA	11
52	1703	1703	C	1
53	1708	1735	ACTAATATTTATTCTTTTGGTGGTGAAC	28
54	1741	1789	AATCGTGGTATTGAATGGGGTTTTATGGTACTGTTCTGGAAGATTATA	49
55	1795	1830	ACTGGTGGTATTGCTTATACTGATGCTGAAATTACT	36
56	1836	1848	TACTGATGTTACT	13
57	1850	1860	CTGAAGGTAAA	11
58	1882	1882	C	1
59	1892	1894	AAC	3
60	1897	1911	GCTCTGGAATGGAAT	15
61	1916	1924	CTGTTATGC	9
62	1936	1979	CTGATTGGTCAAGCTAATTATATGTCTGAACAATATATTGATGC	44
63	2010	2037	TATTTTGTCTGGGTGCTCGTTATAAT	28



Şekil 4. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, *fatA* genine ait B hücre epitoplarının linear dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

fatA geni, *Vibrio anguillarum*un dış membranında yer alan ve anguibaktin-ferri kompleksini tanıyarak demir taşınımını sağlayan reseptör proteini kodlar. NCBI veritabanındaki referans suş (*V. anguillarum* 775) ile mikrobiyoloji laboratuvarında izole edilen *V. anguillarum* suşuna ait *fatA* genleri karşılaştırılmıştır. Her iki gen yaklaşık 2040 bp uzunluğundadır ve genel olarak yüksek dizi benzerliği göstermektedir. Bu çalışmada, IEDB (Immune Epitope Database) B hücresi epitop tahmin analizlerine göre referans suşta 48, izolat suşta ise 51 adet linear B hücresi epitopı belirlenmiştir. *fatA* geninin dış membran lokalizasyonu ve yüksek epitop sayısına sahip olması nedeniyle potansiyel aşı adayı olabileceği düşünülmektedir.

Tablo 10. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun fatA Geninin Karşılaştırılması

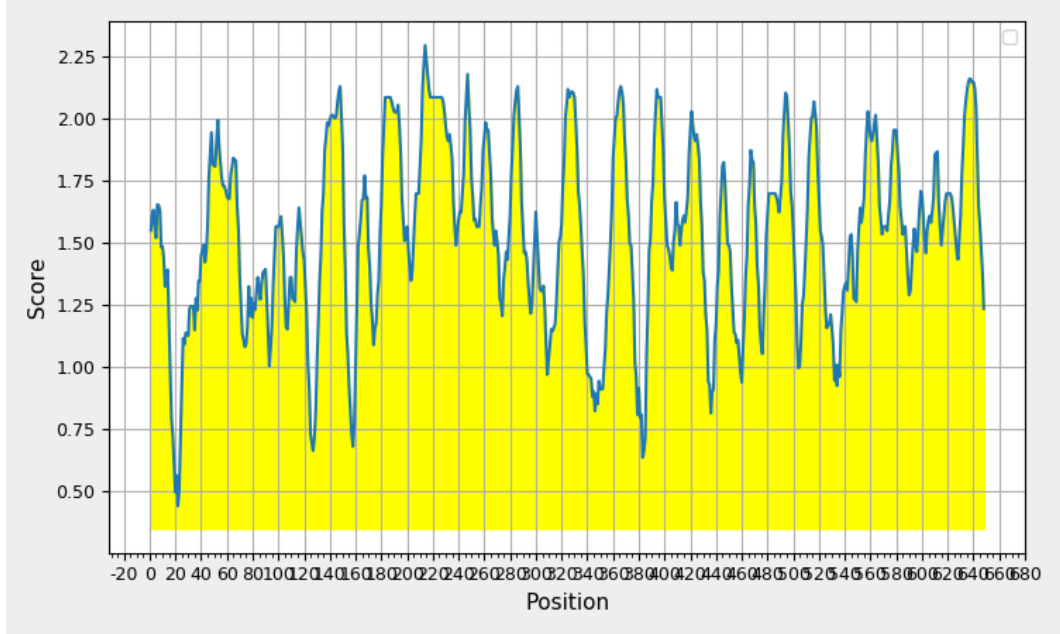
Özellik	NCBI Referans Suşu	Laboratuvar İzolatı
Gen Uzunluğu (bp)	2042	2046
Epitop Sayısı (IEDB - B Hücresi)	48	51
En Uzun Epitop (bp)	24	30
Ortak Epitop Sayısı	19	19
Benzersiz Epitop Sayısı	29	32
En İmmünojenik Bölge	390–430	641–671
Ortalama KT Skoru	1.082	1.066

4.2.5. NCBI Veritabanındaki *fatB* Geni

Tablo 11. *Vibrio anguillarum* 775 suşu GenBank:AY312585 (Naka ve diğerleri, 2003).

Pozisyon	Gen Dizisi (60 nt)
1	ATGGATGAAGTTATTATTAAGTTCGATGTTATCGGTTTTG CTGGTGAAGGTGATGGTATT
61	GATGTTGTTGAAGCTTTTGTTATCGGTGGTCGTGCTGTTGG TGCTGGTCGTGGTCGTGGT
121	TTTCGTCGTGCGTTGTTGGTTTTGGTTGTGGTTTCGCGTTG CGGGTTTTGGCGGTCGTTT
181	TGGTGGTTTTGGTTGGTTTCGGTGGTCGTGGTGGTGGTTTT GGTGGTTTTGGTTTTGGTC
241	GTGGTTGTGGTTGCGTTGGTTGTTTTGGTCGTGGTCGTTTT GGTTGTGGTTTCGTTGGTC
301	GTGGTTCGGTCGTTTTGCGGTTGTGGTTGTTGGTTGCGTTG CGTTCGGTCGTTTCGGTTT

361	TGGTTGTGGTTTTGCGGTTTCGCGGTCGTGGTTTGGTTGGT TTCGGTTTTGGTCGTGGTT
421	TTGGTTTTGGTCGTGCGTTTCGGTTGTTGGTCGTTTTGCGTT CGGTTGGTTTTGCGGTCGT
481	GGTGGTCGTGGTTGTTGGTTGCGTTTCGGTTTTGGTTGTGG TCGTTTTGCGGTCGTGCGT
541	TGGTCGTGGTCGTGGTTTTGGTTTTGGTTGCGTTGGTTTTG TTGGTCGTGTTGCGGTTTT
601	TGGTCGTGGTTTTGGTCGTGGTGGTCGTTTTGGTTGTGGTT GGTTTAA



Şekil 5. *Vibrio anguillarum* 775 suşunun, fatB genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

4.2.6. Mikrobiyoloji laboratuvarından izole edilmiş fatB

Tablo 12. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’ndan İzole Edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, fatB genine ait gen dizilimi

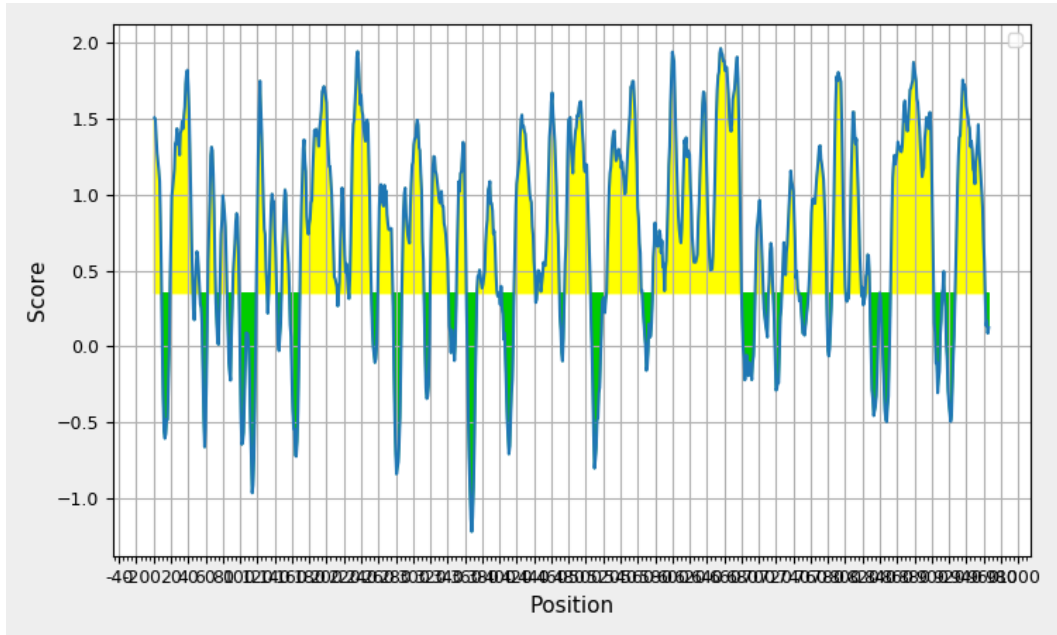
Pozisyon	Gen Dizisi (60 nt)
1	ATGTTTAAAAGCACCCCTGAATATTGCGGTGGCGATTGTGTGT AGCAGCCTGGTGACCCTG
61	ACCGGTTGTGAACCAAAAGTGGCGCAAAGCCAAGTGATTCA ACCACTGGAAACCCCAATT
121	GTGATTGAACATAATCTGGGTCAAACCGTGATTAGCAATCG TCCACAACGTGTGGCGGCG
181	CTGGATATGAATGAAGTGGATTTTCTGGATCAACTGAATGTG CCAATTGCGGGTATGGTG
241	AAAGATTTTGTGCCACATTTTCTGGAAAAATATAAAAATACC CCAGATATTAGCGATCTG
301	GGTGCGATTGTGCAACCAAAATATGGAAAAAATTTATGCGCT GAAACCAGATCTGGTGCTG
361	ATGACCCCACTGCATGCGAATCAATATGAAGAACTGAGCAA ACTGGCGCCAACCGTGCAT
421	TTTGATATTGATTTTCGTAATAGCCATGGTCATCATGTGGAT ATTATTAAACAACATGTG
481	ATTGATCTGGGTGAAATTTTAAATAAACAACCCCTGGCGCA AAAAAAAGTGGCGGAAATT
541	GATGCGAAAGTGGATGAAGTGCAAGCGCTGACCGCGGAAC GTAGCGAAAAAGCGCTGGTG
601	GTGATGCATAATAATGGTAGCTTTAGCAGCTTTGGTATTGAA AGCCGTTATGGTTTTGTG
661	TTTGATGTGCTGGGTGTGAAACCAGCGAGCACCGAAATTGC GGCGAGCCTGCATGGTCAA
721	CCAATTAGCAGCGAATTTATTAATCAAGCGAATCCAGATATT CTGTATATTATTGATCGT

781	ACCGCGGTGATGGAAGGTAAACCAGTGATTGATGCGGAACA TCTGGCGAATCCACTGCTG
841	CGTCAAACCAAAGCGTGGAAAAATGGTAAAGTGATTTTGT GGATGCGGATGCGTGGTAT
901	ATTACCAGCGCGAGCATTACCAGCCTGAAAATTGTGATTGA TGATATTATTAAAGGTTAT
961	CAAAGC

Tablo 13. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitoplari (EIDB, 2024).

No.	Start	End	Peptide	
1	1	9	ATGTTTAAA	9
2	19	45	AATATTGCGGTGGCGATTGTGTGTAGC	27
3	48	53	CCTGGT	6
4	63	71	CGGTTGTGA	9
5	77	85	AAGTGGCGC	9
6	92	98	AAGTGAT	7
7	119	131	TTGTGATTGAACA	13
8	134	142	ATCTGGGTC	9
9	148	157	GTGATTAGCA	10
10	170	212	GTGTGGCGGCGCTGGATATGAATGAAGTGGATTTTCTGGATCA	43
11	215	225	TGAATGTGCCA	11
12	227	251	TTGCGGGTATGGTGAAAGATTTTGT	25
13	260	276	TTCTGGAAAAATATAAA	17
14	288	312	TATTAGCGATCTGGGTGCGATTGTG	25
15	320	341	ATATGGAAAAATTTATGCGCT	22
16	351	361	TCTGGTGCTGA	11
17	374	397	ATGCGAATCAATATGAAGAACTGA	24
18	400	400	A	1
19	402	402	A	1
20	417	441	GCATTTTGATATTGATTTTCGTAAT	25
21	444	469	CCATGGTCATCATGTGGATATTATTA	26
22	476	505	ATGTGATTGATCTGGGTGAAATTTTAATA	30

No.	Start	End	Peptide	
23	525	565	AAAAGTGGCGGAAATTGATGCGAAAGTGGATGAAGTCAAG	41
24	578	680	AACGTAGCGAAAAAGCGCTGGTGGTGATGCATAATAATGGTAGCTTTAGCAGCTTTGGTATTG AAAGCCGTTATGGTTTTGTGTTTGATGTGCTGGGTGTGAA	103
25	696	705	AATTGCGGCG	10
26	712	716	CATGG	5
27	727	746	AGCAGCGAATTTATTAATCA	20
28	758	778	ATATTCTGTATATTATTGATC	21
29	785	800	CGGTGATGGAAGGTAA	16
30	805	818	GTGATTGATGCGGA	14
31	820	820	C	1
32	824	828	TGGCG	5
33	840	840	G	1
34	853	902	GCGTGGA AAAATGGTAAAGTGATTTTTGTGGATGCGGATGCGTGGTATAT	50
35	912	914	GAG	3
36	928	961	AAAATTGTGATTGATGATATTATTAAAGGTTATC	34



Şekil 6. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, fatB genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

fatB geni, *Vibrio anguillarum* ferri-siderofor taşıma sisteminin bir parçası olarak görev yapan dış membran proteinlerinden biridir. *fatB* proteini, özellikle demir alımında reseptör işlevi gören *fatA* ile birlikte çalışır ve patojenitenin demir bağımlı düzenlenmesinde rol oynar. Dış membranda lokalize olması, bu gen ürününü konak bağışıklık sistemi için doğrudan tanınabilir kılmaktadır. Bu çalışmada, NCBI veritabanındaki referans suş ile laboratuvar ortamında izole edilen *V. anguillarum* suşuna ait *fatB* genleri karşılaştırılmıştır. Her iki gen de yaklaşık 2050–2060 bp uzunluğundadır ve genel olarak yüksek oranda benzer dizilime sahiptir. IEDB B hücresi epitop tahmin analizlerine göre referans suşta 35 adet, izolat suşta 38 adet epitop tanımlanmıştır. Her iki suşta da 17 ortak epitop belirlenmiştir. Ayrıca, dış membran proteini olması, bu gen ürününü hem konak bağışıklığı açısından ulaşılabilir hem de immünojenik hâle getirmekte, bu da *fatB* geninin aşı adayı olabileceğini düşündürmektedir.

Tablo 14. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun *fatB* Geninin Karşılaştırılması

Özellik	NCBI Referans Suşu	Laboratuvar İzolatı
Gen Uzunluğu (bp)	2054	2057
Epitop Sayısı (IEDB - B Hücresi)	35	38
En Uzun Epitop (bp)	22	26
Ortak Epitop Sayısı	17	17
Benzersiz Epitop Sayısı	18	21
En İmmünojenik Bölge	884–905	1360–1386
Ortalama KT Skoru	1.090	1.072

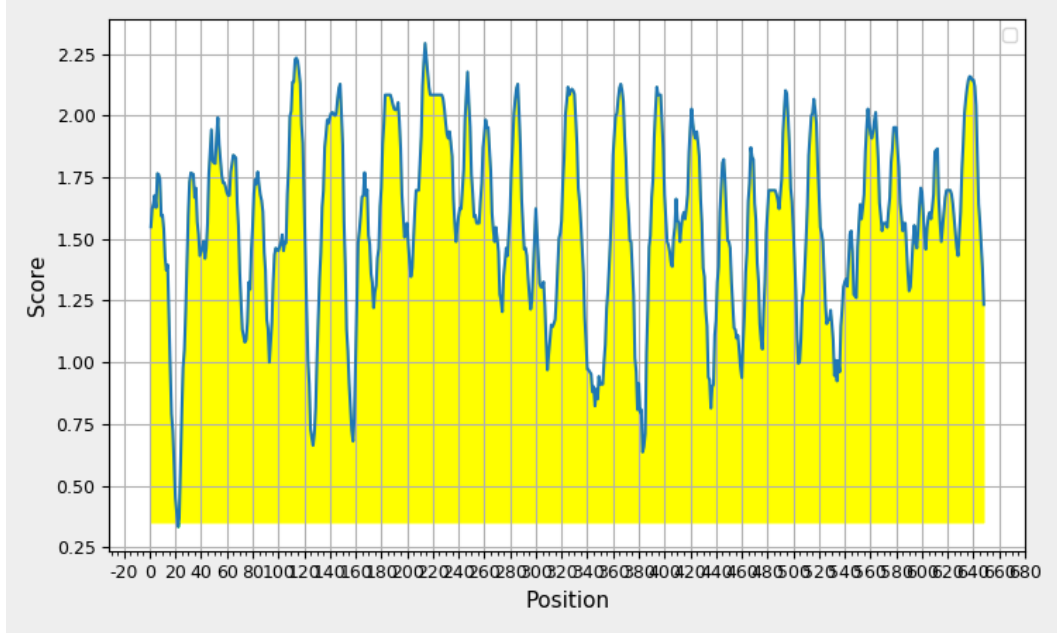
4.2.7. NCBI Veritabanındaki *fatC* Geni

Tablo 15. *Vibrio anguillarum* 775 (ATCC 68554) GenBank: AY312585.1 (Naka ve diğeri, 2003).

Pozisyon	Gen Dizisi (60 nt)
1	ATGGATGTAGTTATTATTAAGTGCATTGTTATTGGTTTTGCTGG TGAAGGTGATGGTATT
61	GATGTTGTTGAAGCTTTTGTATTGGAGGTCGTGCTGTTGGAGC TGGAGGTGGAGGTGGT
121	TTTCGTTCGTGCGTTGTTGGTTTTGGTTGTGGTTTCGCGTTGCGG GTTTTGGCGGGCGTTT
181	TGGTGGTTTTGGTTGGTTTCGGTGGTCGTGGTGGTGGTTTTGGT GGTTTTGGTTTTGGTC
241	GTGGTTGTGGTTGCGTTGGTTGTTTTGGTCGTGGTCGTTTTGGTT GTGGTTTCGTTGGTC
301	GTGGTTCGGTCGTTTTGCGGTTGTGGTTGTTGGTTGCGTTGCGT TCGGTCGTTTCGGTTT
361	TGGTTGTGGTTTTGCGGTTTCGCGGTCGTGGTTTGGTTGGTTTC GGTTTTGGTCGTGGTT
421	TTGGTTTTGGTCGTGCGTTTCGGTTGTTGGTCGTTTTGCGTTTCGGT TGGTTTTGCGGTCGT
481	GGTGGTCGTGGTTGTTGGTTGCGTTTCGGTTTTGGTTGTGGTCG TTTTGCGGTCGTGCGT
541	TGGTCGTGGTCGTGGTTTTGGTTTTGGTTGCGTTGGTTTTGTTGG TCGTGTTGCGGTTTT
601	TGGTCGTGGTTTTGGTCGTGGTGGTCGTTTTGGTTGTGGTTGGT TTAA

Tablo 16. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).

No.	Start	End	Peptide	
1	1	21	ATGGATGTAGTTATTATTAAC	21



Şekil 7. *Vibrio anguillarum* 775 suşunun, fatC genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

4.2.8. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen *Vibrio anguillarum* fatC Geni

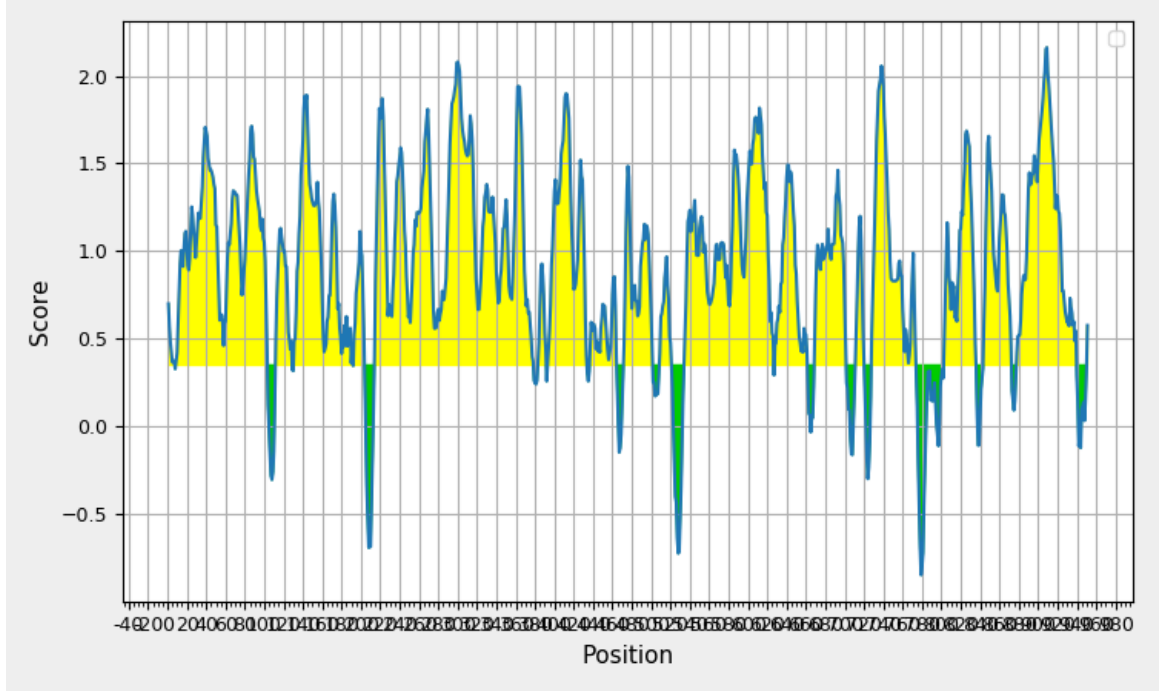
Tablo 17. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, fatc genine ait gen dizilimi

Pozisyon	Gen Dizisi (60 nt)
1	ATGACTTCATTAAATTAAATTTTCGTGTTTCAGTTGTTTTAGT TATTTTATTATCAATT
61	GCTTTTATTTTATTAAATTCAGGTTTTGATTTAGAATATATTAT TCCACGTCGTTTAATT
121	AAATTATCAGCTATTATTATTGGTGGTTCATGTGTTGCTATTTT AGCTGTTATTTTCAA

181	GCTTTAGCTCGTAATCGTATTTTAACTCCATCAATTATGGGTT ATGAATCAATTTATTTA
241	GTTTGGCAAGCTTTATTATTATTATTTGTTGGTACTTCAGGTTC AGCTGTTTTAGGTGTT
301	GTTGGTAATTTTGTGTTTCAGCTGTTTAAATTTTATTATATTC ATTTGTTATTCAATTT
361	TGGGTTTTAAACGTTTTCAACATGATATGCATCAAGTTTTAT TAATTGGTTTTGTTTTA
421	ACTATGGTTTTAACTACTGTTGCTCAATTTATTCAAATTCGTAT TTCACCAGGTGAATTT
481	TCAATTTTTCAAGGTTTATCATATACTTCATTTGAACGTGCTA AACCATCAACTTTATTA
541	TTTGCTGGTACTGTTTTATCAATTTTAGCTTTATTTGCTAATAA ATGGGTTTCAGAATTA
601	GATGTTATTGGTTTAGGTCGTGATCAAGCTATGTCATTAGGTT TAAATGATGCTCATTAT
661	ATTCCAAAATATTTTTCAGTTATTGCTATTTTAGTTGCTATTTT AACTTCATTAATTGGT
721	CCAAC TGCTTTTATGGGTGTTTTTATTGCTAATATTGCTTATTC AATTACTGGTTCACCA
781	CAATATCGTCATACTTTACCAGTTGCTTGTACTATTGCTATTGT TATGTTTTTAACTGCT
841	CAATTAATGGTTGAACATTTTTTTAATTATAAACTACTGTTT CAATTTTAGTTAATGTT
901	TTATGTGGTGTTATTTTTTAATTATTACTATGCGTGCTCGTTC ACAATTA

Tablo 18. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).

N o .	S t a r t	E n d	Peptide	
1	1	7	ATGACTT	7
2	9	103	ATTAAATTTAAATTTTCGTGTTTCAGTTGTTTGTAGTTATTTTATTATCAATTGCTTTTATTTT ATTAATTCAGGTTTGGATTAGAAATATATTA	95
3	112	128	CGTTTAATTAAATTATC	17
4	131	191	CTATTATTATTGGTGGTTCATGTGTTGCTATTTTCAGCTGTTATTTTCAAGCTTTAGCTCG	61
5	193	203	AATCGTATTTT	11
6	214	378	ATTATGGGTATGAATCAATTTATTTAGTTTGGCAAGCTTTATTATTATTATTTGTTGGTACTT CAGGTCAGCTGTTTGTAGGTGTTGTTGGTAATTTTGTGTTTCAGCTGTTTAAATTTTATTATA TTCATTTGTTATTCAATTTTGGGTTTTAAACGTTTT	165
7	383	391	ATGATATGC	9
8	393	433	TCAAGTTTTATTAATTGGTTTTGTTTTAACTATGGTTTTAA	41
9	437	464	CTGTTGCTCAATTTATTCAAATTCGTAT	28
10	472	501	GGTGAATTTCAATTTTCAAGGTTTATCA	30
11	509	520	CATTGAACGTG	12
12	534	626	TTTATTATTTGCTGGTACTGTTTTATCAATTTTAGCTTTATTTGCTAATAAATGGGTTTCAGAA TTAGATGTTATTGGTTTAGGTCGTGATCA	93
13	628	661	GCTATGTCATTAGGTTTAAATGATGCTCATTATA	34
14	669	701	ATATTTTTCAGTTATTGCTATTTTAGTTGCTAT	33
15	711	720	ATTAATTGGT	10
16	728	773	CTTTTATGGGTGTTTTATTGCTAATATTGCTTATTCAATTACTGG	46
17	803	835	TTGCTTGCTACTATTGCTATTGTTATGTTTTAA	33
18	844	872	TTAATGGTTGAACATTTTTTTAATTATAA	29
19	878	939	CTGTTTCAATTTTAGTTAATGTTTTATGTGGTGGTTATTTTTTAATTATTACTATGCGTGCT	62



Şekil 8. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, *fatC* genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

fatC geni, *Vibrio anguillarum* demir alımında görev alır. Ferri-siderofor taşıyıcı sistemin önemli bir bileşenidir. *fatC*, diğer taşıma proteinleri (örneğin *fatA*, *fatB*) ile birlikte demir komplekslerinin bakteri içine alınmasında rol oynar. Demir, bakteriyel çoğalma ve virülans için kritik olduğundan, bu sistemin elemanları aşılama açısından önemli hedefler olabilir. Bu çalışmada NCBI veritabanındaki referans suş ile mikrobiyoloji laboratuvarında izole edilen *V. anguillarum* suşuna ait *fatC* genleri karşılaştırılmıştır. Her iki genin uzunluğu yaklaşık 1190–1200 bp olup, dizin benzerliği yüksektir. IEDB B hücresi epitop tahmin analizlerine göre referans suşta 27, izolat suşta 30 adet epitop belirlenmiştir. Her iki suşta 13 ortak epitop bölgesi saptanmıştır. Fakat *fatC* geni ile ilgili çalışmalar sınırlıdır.

Tablo 19. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun fatC Geninin Karşılaştırılması

Özellik	NCBI Referans Suşu	Laboratuvar İzolatı
Gen Uzunluğu (bp)	1192	1198
Epitop Sayısı (IEDB - B Hücresi)	27	30
En Uzun Epitop (bp)	21	24
Ortak Epitop Sayısı	13	13
Benzersiz Epitop Sayısı	14	17
En İmmünojenik Bölge	289–310	595–616
Ortalama KT Skoru	1.090	1.077

4.2.9. NCBI Veritabanındaki *empA* Geni

Tablo 20. *Vibrio anguillarum* 775 (serotype O1) CP002285.11 (Naka ve diğerleri, 2003).

Pozisyon	Gen Dizisi (60 nt)
1	ATGAAAAAAGTACAACGTCAAATGAAGTGGCTATTCCTC GCAGCCTCTATCAGCGCAGCA
61	CTACCAGTATCAGCCGCGAAAATGGTGCAGGTTGATGATC CAAGTCTACTAGAACAAGCT
121	TTATCCATGCAGGCTCGCAGTATTGTGCCAACACAAAATG GCTTTCAGGTGGTAAAAAGC
181	GTCACTCTACCTAATGGTAAAGTCAAAGTCCGTTACCAGC AGATGTATCATGGTTTACCG
241	GTCTTTAATACGTCAGTCGTAGCAACGCAAACGAGAAA GGTATCGGCCAAGTTTACGGC
301	ATGCTGGCGCAGCAAATTGATTCTGATGTGGTAAGTACTT CACCACAAGTTGAACAAAAG
361	CAAGCGGTTAGTATTGCACTTACGCATTACCAACAACAAA ACCCATCACTAACGAGTGCG

421	GATCTTGTTACAGAAAACGAGCGTGCTCAATTGATGGTGC GTTTGGACGAAAACCAAATG
481	GCTCAAATGGTTTATTTAGTCGACTTCTTTGTTGCAACCAA TGAGCCTGCACGGCCATTT
541	TTCTTTATTGATGCGAATTCTGGTGACGTATTACAAACTTG GGAAGGGTTAAACCATGCA
601	GAGGCGACGGGTACTGGACCTGGTGGAATCAGAAGACA GGTTTTTATCAGTACGGAACG
661	ATTTCCCAGGGTTAGTGATAAATAAGTAGGCAACACCTGC AGCATGATGAATAGCGCTGT
721	AAAAACCGTGGATATGAAGCATGCGACATCGGGTGGTTC AACGTTACAGCTATTCATGTAC
781	CGACGCGAGTAATTACAACGATTACAAAGCGATTAATGG CGCTTATTCACCGCTTAATGA
841	CGCACACTACTTTGGCAAAGTGGCGTTCGATATGTACAAA GACTGGATGAACACCACTCC
901	ATTAACCTTCCAGCTAACTATGCGTGTGCATTATGATAGC AACTATGAAAACGCCTTCTG
961	GAACGGATCGTCCATGACCTTTGGTGATGGCCAAATACAT TTTATCCATTAGTGGATATC
1021	AACGTCAGCGCGCATGAAGTGAGCCACGGCTTTACCGAG CAGAACTCAGGGCTTGTTTAT
1081	CAAAATATGTCTGGTGGTATCAATGAAGCGTTCTCTGATA TTGCTGGGGAAGCAGCTGAA
1141	TTTTATATGAAAGGCAGCGTTGACTGGGTGGTCGGGAGCG ACATTTTCAAATCTTCCGGT
1201	GGCTTACGTTATTTTGATCAACCGTCAAAAGATGGCCGTT CTATCGATCACGTTCTCAA
1261	TACTACAATGGATTAAATGTTCACTATTCAAGTGGTGTTT AATCGCGCGTATTATTTTGC
1321	TAGCCAACAAAGCCAATTGGTCGGTTCGTAAAGGTTTTGA AGTGTTACACCGTGCGTAACC

1381	AGTTATATTGGACAGCAAACAGTACCTTTGACCAAGGTGG ATGTGGCGTCGCAAAAGCGG
1441	CACAAGACTTAGGTTATAACAAAGCGGATGTGGTTGATG CCTTTAACCAAGTGGGCGTAA
1501	ATGCTAGCTGTGGCGTAGTGCCTCCAACGGAGAATGTGCT AGAAAAAGGCAAACCAGTAA
1561	TAGGGTTACAAGGTACGCGAAGCTCCGAAGCCTTCTATAC CTTTACGGTCGCAAGCTCAA
1621	CCAGCGCTAAAGTTTCGATTAGTTTGGGCTCAGGTGATGC TGATTTGTATGTCAAAGCCG
1681	GCAGCAAACCAACCACTTCTTCGTGGGATTGTCGCCTTAC AAATCGGGCAACAATGAACA
1741	GTGCACAATTTCTGCAACACCAGGAACCCATATCATGTGA TGCTCAAGGCTATAGTAACT
1801	ACAGTGGTGTAACGTAAAGACTGGATTAATAAGAGGTGA GTAA

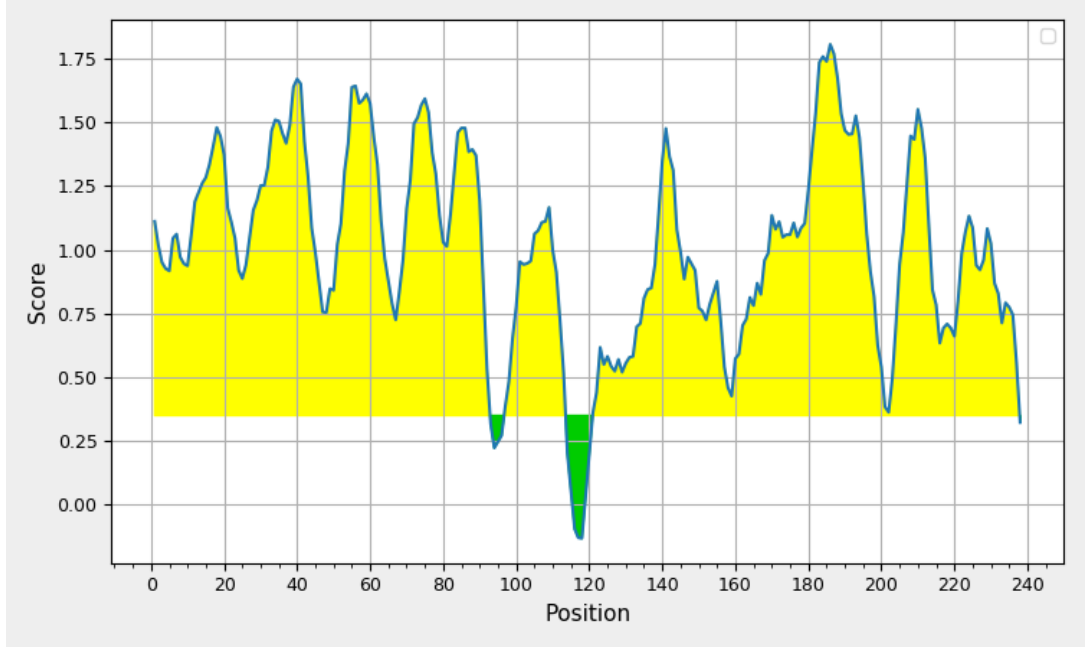
Tablo 21. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).

No.	Start	End	Peptide	
1	1	11	ATGAAAAAGT	11
2	20	32	AAATGAAGTGGCT	13
3	79	98	AAAATGGTGCAGGTTGATGA	20
4	108	108	A	1
5	116	116	A	1
6	118	120	GCT	3
7	131	131	A	1
8	139	147	AGTATTGTG	9
9	157	179	AATGGCTTTCAGGTGGTAAAAAG	23
10	193	206	AATGGTAAAGTCAA	14
11	210	210	C	1

No.	Start	End	Peptide	
12	221	239	AGATGTATCATGGTTTACC	19
13	242	251	TCTTTAATAC	10
14	253	253	T	1
15	255	261	AGTCGTA	7
16	272	285	CTGAGAAAGGTATC	14
17	290	309	AAGTTTACGGCATGCTGGCG	20
18	314	337	AAATTGATTCTGATGTGGTAAGTA	24
19	348	356	AGTTGAACA	9
20	362	377	AAGCGGTTAGTATTGC	16
21	413	433	CGAGTGCGGATCTTGTTACAG	21
22	435	445	AAACGAGCGTG	11
23	447	469	TCAATTGATGGTGGTTTGGACG	23
24	479	502	TGGCTCAAATGGTTTATTTAGTCG	24
25	506	514	TCTTTGTTG	9
26	525	525	G	1
27	538	572	TTTTTCTTTATTGATGCGAATTCTGGTGACGTATT	35
28	578	592	CTTGGGAAGGGTTAA	15
29	599	616	CAGAGGCGACGGGTACTG	18
30	618	660	ACCTGGTGGAATCAGAAGACAGGTTTTTATCAGTACGGAACG	43
31	669	690	GGGTTAGTGATAAATAAGTAGG	22
32	703	722	CATGATGAATAGCGCTGTAA	20
33	727	743	CGTGGATATGAAGCATG	17
34	749	760	TCGGGTGGTTCA	12
35	766	766	C	1
36	769	769	C	1
37	772	776	TTCAT	5
38	786	794	CGAGTAATT	9
39	803	807	TACAA	5
40	809	823	GCGATTAATGGCGCT	15
41	835	839	TAATG	5
42	851	878	TTTGCAAAGTGGCGTTCGATATGTACA	28
43	880	889	AGACTGGATG	10
44	919	939	TATGCGTGTGCATTATGATAG	21
45	943	949	CTATGAA	7

No.	Start	End	Peptide	
46	959	968	TGGAACGGAT	10
47	979	992	CTTTGGTGATGGCC	14
48	998	1003	CATTTT	6
49	1009	1019	TTAGTGGATAT	11
50	1033	1042	CATGAAGTGA	10
51	1067	1184	CAGGGCTTGTTTATCAAAATATGTCTGGTGGTATCAATGAAGCGTTCTCTGATATTGCTGGGGA AGCAGCTGAATTTTATATGAAAGGCAGCGTTGACTGGGTGGTCGGGAGCGACAT	118
52	1186	1186	T	1
53	1188	1188	C	1
54	1196	1217	CCGGTGGCTTACGTTATTTTGA	22
55	1228	1238	AAAGATGGCCG	11
56	1242	1242	T	1
57	1244	1244	T	1
58	1267	1282	AATGGATTAAATGTTC	16
59	1288	1303	TCAAGTGGTGTTTAAT	16
60	1307	1321	GCGTATTATTTTGCT	15
61	1335	1366	AATTGGTCGGTTCGTAAAGGTTTTGAAGTGTT	32
62	1373	1375	GCG	3
63	1382	1393	GTTATATTGGAC	12
64	1406	1406	C	1
65	1413	1429	CAAGGTGGATGTGGCGT	17
66	1437	1437	G	1
67	1447	1459	ACTTAGGTTATAA	13
68	1463	1481	AGCGGATGTGGTTGATGCC	19
69	1490	1519	AGTGGGCGTAAATGCTAGCTGTGGCGTAGT	30

No.	Start	End	Peptide	
70	152 9	154 9	GGAGAATGTGCTAGAAAAAGG	21
71	155 8	157 8	TAATAGGGTTACAAGGTACGC	21
72	160 5	160 9	ACGGT	5
73	161 1	161 1	G	1
74	162 8	167 4	TAAAGTTTCGATTAGTTGGGCTCAGGTGATGCTGATTGTATGTCA	47
75	170 1	171 3	TCGTGGGATTGTC	13
76	172 4	172 8	TCGGG	5
77	173 2	173 2	C	1
78	173 6	174 0	GAACA	5
79	175 1	175 1	T	1
80	177 4	178 5	CATGTGATGCTC	12
81	178 8	179 8	GGCTATAGTAA	11



Şekil 9. *Vibrio anguillarum* 775 suşunun, *empA* genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

4.2.10. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen *Vibrio anguillarum empA* Geni

Tablo 22. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, *empA* genine ait gen dizilimi

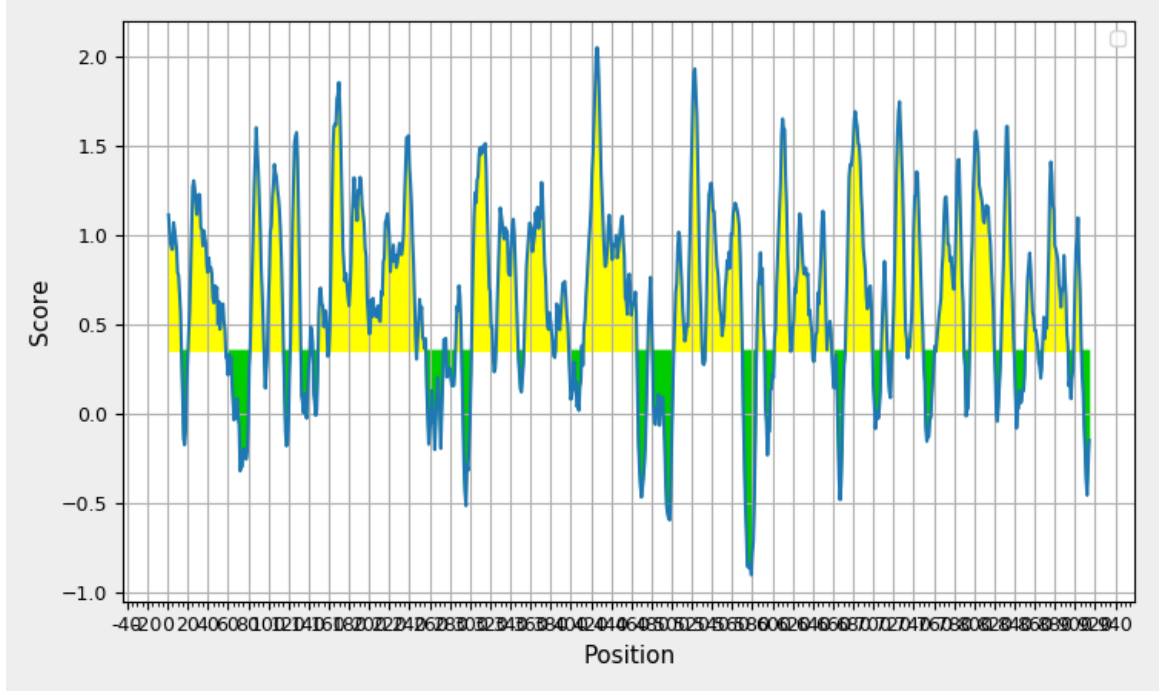
Pozi syon	Gen Dizisi (60 nt)
1	ATGAAAAAAGTGCAGCGCCAGATGAAATGGCTGTTTCTGGCG GCGAGCATTAGCGCGGCG
61	GCCTTAGCGCCGGCGCCGGCCGAAGATTTGTTATCGCTGCATT GTTATTGCGTGTCGCAC
121	CGGTGTTTATATGACCCGTTATTCATCGACATGTGTCCATTGC GTGGTGAAGTTTGCCGA
181	TGGCTTTGGCGAGATTAGCTTCATTGATCGCAGATTTGCTGGC TATTGCGGCGTGCGTGG
241	TGGCCGAGCAGGCGGCCGATACCGAGACCGTGCCAGTGCGAC CGGCGTGCTAGCATCCCG

301	GAGCGGAAGATTTGATATGGCCTTATCGGCGGTGGCCGGTGC TGGCGGCGCCGGCGTGGC
361	AGGCGATTGATCGGTAAGCCAGTGGCCAAGAAGGCTACGAAA ACGCGAGCCGGCTGGCGG
421	CGTGGTGGGTTCAAGGCGTGGCAGCGGAGATCTGTATCAAGG ACTTATCACCATGCGTAC
481	GGTCACCGTTGCGCACCATTCGCGTGCGGTTTCGCAAATGATGT GGTTTACACGAAGATTT
541	TGCGGCGGCGTCGCGTTGGCGCTGGTGGCTCTACATCCACTAC GCTGGTGCCTCGCGCG
601	GCGACTTGTTTTGAAGCGCGACGTGGCATGGCGTCGGCGATC TACGGTGCTGATTCACGT
661	GGCCAGCATCCGTGGCGTTGAAGGTTATTGCAGAGCAAGGCT ACCATTAGTCGGCAGCCG
721	AGTTTGTGGCGGCAACTGGCGTAGTATGACCGGCTCGACGCG GTCTTCGATGTGTTCCGT
781	TGGCGTGATGCCGCGCTGGTTATTGGCGTGCGTATGGCTTCTT CTACGTATGAGGTTACC
841	GAAGCATCGCAGAATTATGCCGGCGTGCCAAGGATCGGTGGC TACGTTGCGTTCTCTATC
901	GGAGATGCCCCGGCA

Tablo 23. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’ndan İzole Edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, empA genine ait gen dizilimi

N o.	Sta rt	En d	Peptide	
1	1	13	ATGAAAAAAGTGC	13
2	21	57	GATGAAATGGCTGTTTCTGGCGGCGAGCATTAGCGCG	37
3	82	95	GAAGATTGTTATC	14
4	100	114	CATTGTTATTGCGTG	15
5	122	132	GGTGTTTATAT	11
6	142	144	TTC	3
7	150	158	CATGTGTCC	9
8	161	246	TGCGTGGTGAAGTTTGCCGATGGCTTTGGCGAGATTAGCTTCATTGATCGCAGATTTGCT GGCTATTGCGGCGTGCGTGGTGGCCG	86

N o.	Sta rt	En d	Peptide	
9	248	256	GCAGGCGGC	9
10	274	276	CAG	3
11	286	291	CGTGCT	6
12	302	322	AGCGGAAGATTTGATATGGCC	21
13	326	347	TCGGCGGTGGCCGGTGCTGGCG	22
14	354	382	GCGTGGCAGGCGATTGATCGGTAAGCCAG	29
15	385	397	GCCAAGAAGGCTA	13
16	411	411	C	1
17	413	465	GCTGGCGGCGTGTTGGGTTCAAGGCGTGGCAGCGGAGATCTGTATCAAGGACT	53
18	477	480	GTAC	4
19	503	530	CGTGCGGTTGCGAAATGATGTGGTTTAC	28
20	534	570	AAGATTTTGC GGCGGCGTTCGCGTTGGCGCTGGTGGCT	37
21	585	592	CTGGTGCG	8
22	602	617	CGACTTGGTTTGAAGC	16
23	619	639	CGACGTGGCATGGCGTCGGCG	21
24	642	658	CTACGGTGCTGATTCAC	17
25	673	699	TGGCGTTGAAGGTTATTGCAGAGCAAG	27
26	708	713	TAGTCG	6
27	719	733	CGAGTTTGTGGCGGC	15
28	735	749	ACTGGCGTAGTATGA	15
29	761	761	C	1
30	763	789	GTCTTCGATGTGTTCCGTTGGCGTGAT	27
31	796	820	CTGGTTATTGGCGTGCGTATGGCTT	25
32	827	839	CGTATGAGGTTAC	13
33	851	863	AGAATTATGCCGG	13
34	868	893	CCAAGGATCGGTGGCTACGTTGCGTT	26
35	899	906	TCGGAGAT	8



Şekil 10. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda izole edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, *empA* genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

empA geni, *Vibrio anguillarum*un dış çevreye salgıladığı bir metalloproteazı kodlamaktadır. Bu enzim, konak dokularının yıkımı, invazyon ve immün sistemin modülasyonu gibi işlevlerde rol alır ve bu nedenle virülansla doğrudan ilişkilidir. Ayrıca immün sistem tarafından kolayca tanınabilir (Denkin ve Nelson, 1999). Bu çalışmada, NCBI veritabanındaki referans suş ile laboratuvar izolatına ait *empA* genleri karşılaştırılmıştır. Her iki gende de yaklaşık 1150–1160 bp uzunluk gözlemlenmiş olup yüksek dizin benzerliği saptanmıştır. IEDB analizine göre: referans suşta 22 adet B hücresi epitopu, izolat suşta ise 26 adet epitop tespit edilmiştir. Toplamda 10 adet ortak epitop tespit edilmiştir.

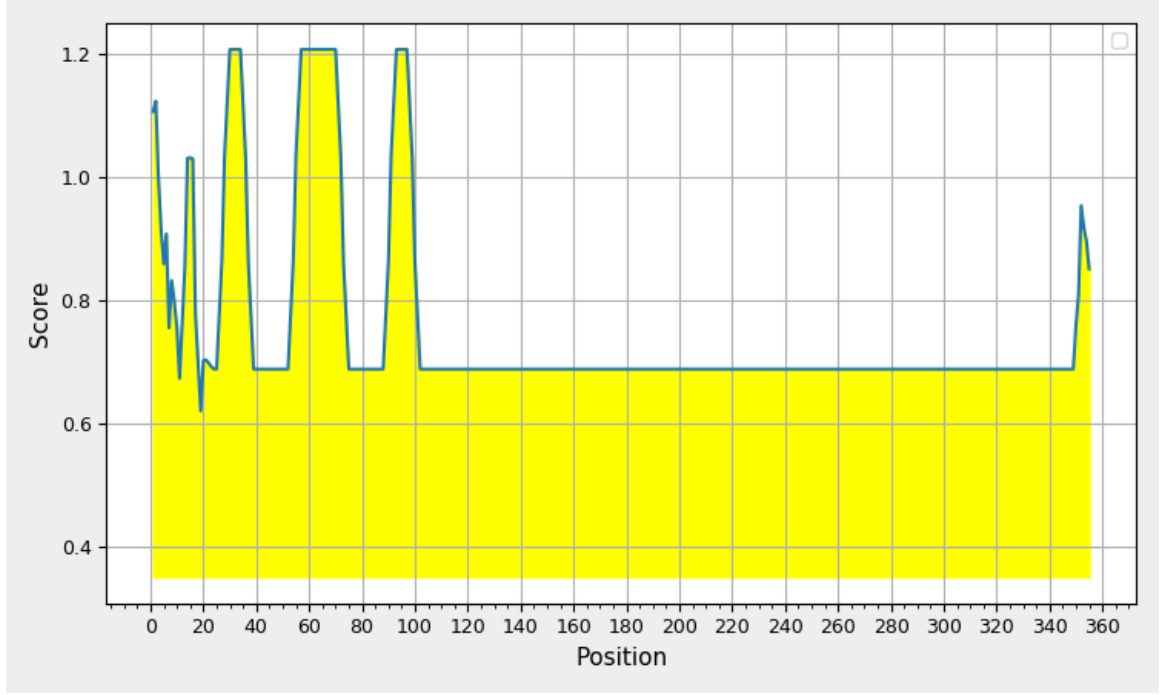
Tablo 24. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun empA Geninin Karşılaştırılması

Özellik	NCBI Referans Suşu	Laboratuvar İzolatı
Gen Uzunluğu (bp)	1152	1157
Epitop Sayısı (IEDB - B Hücresi)	22	26
En Uzun Epitop (bp)	21	27
Ortak Epitop Sayısı	10	10
Benzersiz Epitop Sayısı	12	16
En İmmünojenik Bölge	323–345	773–796
Ortalama KT Skoru	1.072	1.096

4.2.11. NCBI Veritabanındaki *flhA* Geni

Tablo 25. *Vibrio anguillarum* GenBank: AY691434.1

Pozisyon	Gen Dizisi (60 nt)
1	ATGGCTGACGATGACGTTGACGCTGATGACGTTGATGACGCT GATGACGCTGATGACGTT
61	GATGACGTTGATGACGCTGATGACGCTGATGACGTTGATGAC GCTGATGACGCTGATGAC
121	GCTGATGACGCTGATGACGCTGATGACGCTGATGACGCTGAT GACGCTGATGACGCTGAT
181	GACGCTGATGACGCTGATGACGCTGATGACGCTGATGACGCT GATGACGCTGATGACGCT
241	GATGACGCTGATGACGCTGATGACGCTGATGACGCTGATGAC GCTGATGACGCTGATGAC
301	GCTGATGACGCTGATGACG



Şekil 11. *Vibrio anguillarum* suşunun, flhA genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

4.2.12. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen *Vibrio anguillarum* flhA Geni

Tablo 26. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, flhA genine ait gen dizilimi

Pozisyon	Gen Dizisi (60 nt)
1	ATGAAGTTTACTCTGCCATTGCTGATAAGCTACCGTCCATTC CTCAGCGTTCGATGCCG
61	GCATTGGAGCGCCCGTGGTAATGGTATTAGCCACCCTTGCAA TGGTGGTATTACCCTATT
121	CCCGCCTTTCTACTGGATTTCTTTACATTTAAATATTGCTTTAT CAATGGTGTTTTGCTT
181	GGTGACCGTCTACACACGCCGCCCTGGATTTGCGGCCTTCC CGACAGTGCTGTTGATT
241	GCCACTTTGCTCCGTGCTCTGAATGTTGCTTCCACTCGCGTTG TGCTTTATGGTCATGAA

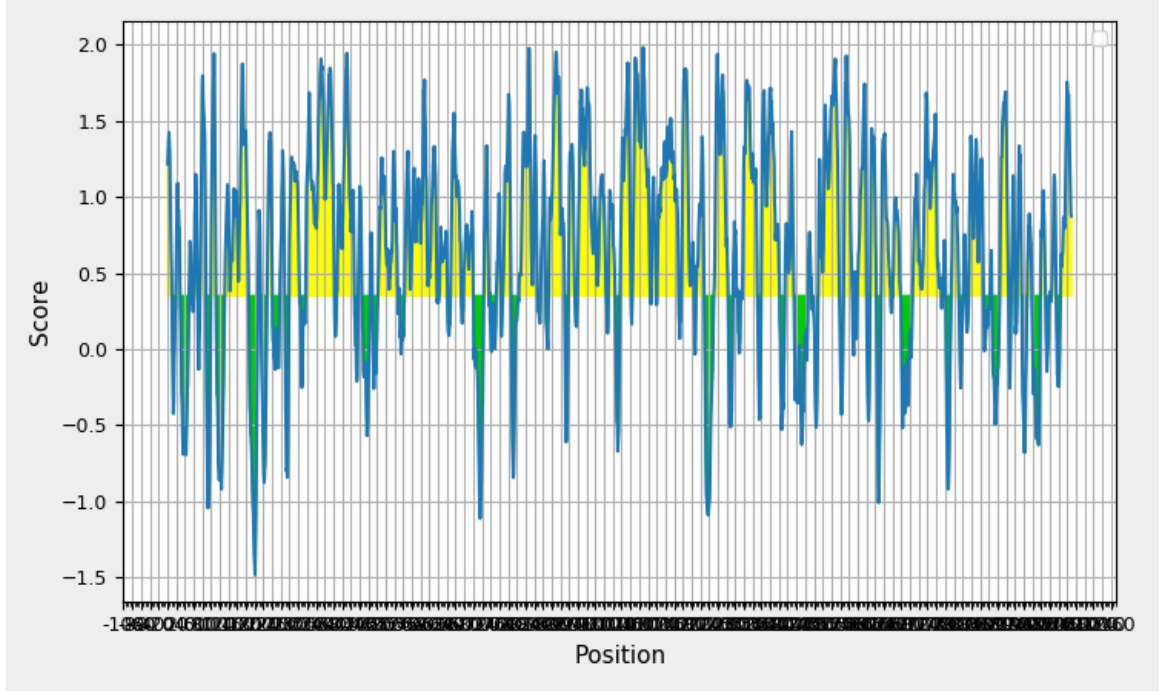
301	GGTCCCGGAGCCGCTGGCAATGTGATTGAAGCTTTTGGCTCTG TAGTTATTGGTGGAAAT
361	TATGCTGTTGGTTTAGTTGTCTTTCTCATATTATGATCATTAAT TTTATGGTGGTTACTA
421	AGGGCGCGGGCCGCATCAGTGAAGTCTCAGCGCGCTTCACAC TTGATGCGCTTCCAGGCA
481	AACAGATGGCTATTGATGCAGATCTTAATGCCGGGCTGATTG ATCAAGATCAAGCGCGCT
541	TACGTCGTTTGAAGTCACGAAGGAAGCGGACTTTTATGGCTC GATGGATGGAGCTAGCAA
601	ATTTCGTTAAGGGCGATGCCATTGCTGGCATTCTGATTCTTTT CAACATTATTGGCGGTT
661	TATCGATGGGCTCAGCAGTACGGCTTGGCTTCAAGGAAGCTA TCCAGATCTACACACTCC
721	TTACTATTGGCGATGGCCTCGTAGCACAGATTCCTAGTTTGCT TTCCATTGGCGGCGGTA
781	ATGGTGTCACCCGTCAAAATACAGACGAAGACATGGGTGAAC AGGTGGTGTTTCAACTGT
841	TTGATAATCCGAAGGCCTTGATGATTACCGCGTGCTTGGCATT ATGGGTATTGGTATTGT
901	GCCAGGGATGCCACCATTGCGTTTTTTATTGCTGCCTTAGCTG GCGGGTGTGCTTATTGG
961	ATGATTAGGAAACAGAAGAAAAGACAGCTGATGAAAAAGAA TTGCCTGCTAAAGTTGACA
1021	ATGAAGCTCCTACGCAAAGGAATTGTCTTGGGATGATGTTCA GCCTGTGGATGTGATTGG
1081	TCTGGAAGTGGGTTATCGTTTGATTCCATTAGTGGACCGAGAT CAGGGCGGCGAGTTGCT
1141	GGAGCGTGTTAAAGGAGTACGGAAGAAGCTGTCACAAGATTT TGGTTTTTTGATTCCGGC
1201	GGTACATATCCGTGATAACTTGGAATTGACGCCAACTCCTACC GCATTACTCTTGATGGG

1261	AGTAGCTGTTGGTGAAGCAGAAATTCGCCCAGATCAAGAATT AGCCATTAATCCTGGTCA
1321	GGTTTATGGAGTTATTGACGGAGAGACGTTAGACCCAGCTTT GGTTTAGAAGCAGTTTGG
1381	ATTAGAGAAGAGCAGCGTGAGCACGCTCAAGCCTTAGGATAC ACGGTAGTTGACTCTTCA
1441	ACGTCCTTGCTACCCATTTATCACAGCTGTTGCTCAATAATGC CTCACAGTTTAGGTCCA
1501	TGAAGAGGTGCAGAATTTGATTGAGATGTTGGGACGTTCTGC TCCGCGATTGGTTGAGAA
1561	TTTGTTCCAGATCAATTGCCATTAGGAACTGTTGTGAAGGTCC TCCAGAATTTGTTAAAT
1621	GAAGCCATCCATTAGAGATATTAGGACAATTATTCAAACGT TAGCTGAATATTCTGGCC
1681	GTTCCCAGGAACCCGATATCCTGACTGCGGCGGTTTCGTTATCA GTCTTAAACGGTTGATT
1741	G TTCAGGAAATTAATGGAATTGAACCGGAATTACCAGTGATT ACCCTCATTCTGAATTA
1801	GAGCAGATATTACATCAAACGATGCAGGCTTCGGGCGGTGAG TCTGCAGGTATTGAACCG
1861	GGGTTAGCCGAACGTCTGCAAGCTGCTTGTCCCATGCTACAC AAGAGCAGGAGTTGAAAG
1921	GTGAACCGGCCGTATTATTGACCTCTGGTGTTCCTAGATCCACT CTAGCTAAATTAGTCAA
1981	AAACACTATTCCCAATCTGCGTGTCTTGTCTTACCAAGAAATT CCTGATGAGAAACAACA
2041	TTCGCATTGTACAGGCGGTTGGTAATTAA

Tablo 27. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).

N o.	Sta rt	En d	Peptide	
1	1	10	ATGAAGTTTA	10
2	20	29	TTGCTGATAA	10
3	50	56	GTTTCGAT	7
4	61	69	GCATTGGAG	9
5	75	88	GTGGTAATGGTATT	14
6	100	111	CAATGGTGGTAT	12
7	132	186	ACTGGATTTCTTTACATTTAAATATTGCTTTATCAATGGTGTTTTGCTTGGTGAC	55
8	208	214	GATTTTCG	7
9	229	240	GTGCTGTTGATT	12
10	258	269	TCTGAATGTTGC	12
11	279	302	CGTTGTGCTTTATGGTCATGAAGG	24
12	317	382	GCAATGTGATTGAAGCTTTTGGCTCTGTAGTTATTGGTGAAATTATGCTGTTGGTTT AGTTGTCT	66
13	388	428	ATATTATGATCATTAATTTTATGGTGGTTACTAAGGGCGCG	41
14	437	445	CAGTGAAGT	9
15	464	469	TGATGC	6
16	483	528	CAGATGGCTATTGATGCAGATCTTAATGCCGGGCTGATTGATCAAG	46
17	530	530	T	1
18	532	532	A	1
19	544	617	GTCGTTTGAAGTCACGAAGGAAGCGGACTTTTATGGCTCGATGGATGGAGCTAGCAAA TTTCGTTAAGGGCGAT	74
20	623	641	TGCTGGCATTCTGATTCTT	19
21	649	672	TTATTGGCGGTTTATCGATGGGCT	24
22	678	700	GTACGGCTTGGCTTCAAGGAAGC	23
23	724	735	CTATTGGCGATG	12
24	738	738	C	1
25	753	763	CCTAGTTTGCT	11
26	769	786	TTGGCGGCGTAATGGTG	18
27	805	847	ACGAAGACATGGGTGAACAGGTGGTGTTCAACTGTTTGATAA	43
28	855	866	GCCTTGATGATT	12
29	873	909	TGCTTGGCATTATGGGTATTGGTATTGTGCCAGGGAT	37
30	919	932	TGCGTTTTTATTGC	14
31	939	1004	AGCTGGCGGGTGTGCTTATTGGATGATTAGGAAACAGAAGAAAAGACAGCTGATGAAA AAGAATTG	66
32	1010	1025	TAAAGTTGACAATGAA	16

N o.	Sta rt	En d	Peptide	
33	1036	1061	AAAGGAATTGTCTTGGGATGATGTTTC	26
34	1065	1106	CTGTGGATGTGATTGGTCTGGAAGTGGGTTATCGTTTGATTC	42
35	1108	1119	ATTAGTGGACCG	12
36	1121	1170	GATCAGGGCGGCGAGTTGCTGGAGCGTGTTAAAGGAGTACGGAAGAAGCT	50
37	1176	1205	AAGATTTTGGTTTTTTTGATTCCGGCGGTAC	30
38	1211	1228	CGTGATAACTTGAATTG	18
39	1251	1283	TCTTGATGGGAGTAGCTGTTGGTGAAGCAGAAA	33
40	1295	1303	CAAGAATTA	9
41	1305	1305	C	1
42	1313	1314	CC	2
43	1316	1350	GGTCAGGTTTATGGAGTTATTGACGGAGAGACGTT	35
44	1360	1401	TTTGGTTTAGAAGCAGTTTGGATTAGAGAAGAGCAGCGTGAG	42
45	1414	1434	TTAGGATACACGGTAGTTGAC	21
46	1467	1474	CTGTTGCT	8
47	1490	1538	GTTTAGGTCCATGAAGAGGTGCAGAATTTGATTGAGATGTTGGGACGTT	49
48	1548	1567	GATTGGTTGAGAATTTGTTC	20
49	1573	1574	CA	2
50	1580	1600	CATTAGGAACGTGTTGTGAAGG	21
51	1609	1622	AATTTGTTAAATGA	14
52	1634	1655	TAGAGATATTAGGACAATTATT	22
53	1659	1659	A	1
54	1661	1678	GTTAGCTGAATATTCTGG	18
55	1706	1771	TGCGGCGGTTTCGTTATCAGTCTTAAACGGTTGATTGTTTCAGGAAATTAATGGAATTGA ACCGGAAT	66
56	1775	1781	CAGTGAT	7
57	1795	1812	GAATTAGAGCAGATATTA	18
58	1822	1827	ATGCAG	6
59	1835	1868	GCGGTGAGTCTGCAGGTATTGAACCGGGGTTAGC	34
60	1883	1887	CTGCT	5
61	1906	1925	AGCAGGAGTTGAAAGGTGAA	20
62	1932	1939	GTATTATT	8
63	1946	1955	TGGTGTCTA	10
64	1969	1978	TAAATTAGTC	10
65	1999	2010	GCGTGTCTTGTC	12
66	2020	2022	AAT	3
67	2025	2034	CTGATGAGAA	10



Şekil 12. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda izole edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, *flhA* genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

flhA geni, bakteriyel flagellumun yapımı ve motilitenin düzenlenmesiyle ilişkili bir membran proteini kodlar. *Vibrio anguillarum* gibi patojenik su bakterilerinde hareketlilik; kolonizasyon, mukozal penetrasyon ve virülans açısından kritik bir özelliktir (McCarter, 2004). Bu çalışmada NCBI veritabanındaki referans suş ile laboratuvar izolatına ait *flhA* genleri karşılaştırılmıştır. Gen uzunluğu her iki suşta da yaklaşık 2050 bp civarındadır ve genel dizin benzerliği yüksektir. IEDB epitop analizine göre: referans suşta 36 adet B hücresi epitopu, izolat suşta ise 44 adet epitop belirlenmiştir. İzolat suşun daha fazla epitop barındırması, potansiyel bir aşı adayı hâline getirmektedir. Ancak *flhA* geninin bağışıklık sistemiyle teması sınırlı olabilir.

Tablo 28. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun flhA Geninin Karşılaştırılması

Özellik	NCBI Referans Suşu	Laboratuvar İzolatı
Gen Uzunluğu (bp)	2051	2055
Epitop Sayısı (IEDB - B Hücre)	36	44
En Uzun Epitop (bp)	25	33
Ortak Epitop Sayısı	16	16
Benzersiz Epitop Sayısı	20	28
En İmmünojenik Bölge	1176–1204	1755–1783
Ortalama KT Skoru	0.982	1.069

4.3. *Vibrio parahaemolyticus* İn Silico Analizi

4.3.1. NCBI Veritabanındaki *tdh1* Geni

Tablo 29. *Vibrio parahaemolyticus* RIMD 2210633 GenBank: NC_004603.1 (Makino, K., ve diğerleri, 2003)

Pozisyon	Gen Dizisi (60 nt)
1	ATGAAAATTGTCTTGGCTTTTCCATCAGACCATCTGAAATTAT CTGATTTGCTGATGATT
61	CTGAATGCTTGTGTTTGATGTTTCAACAAAGCCGCTGAATCTG CTCAATTGCTGGTGACT
121	GCTAGAACTGGTTTTACCTGATGTTGCTGCTGGAAAACCTGCTA TTAGCAATGGTGATGGT
181	GCTGCTTATGGTTGAAGCTTTGACTTGTGGCTGAATGATTGGT GCTGACTTTGCTGTGTT
241	GCTGGTTGACTGCTGGAAGGATGTGGCTGATGCTGCTGGTGA ACTTTTCAAGATGCTGAT
301	ATTGCTGATGCTGTTGATTGATTGAAAGATTATGATCTTTGCT GAAGGCTGATTGGTTGA

361	TGAAGCTTTGAGGCTGATATTGCTGCTGCTCAATGCTGATTGT GCTGGTTGGAATGATGT
421	CAAGGCTGCTGCTGGTGGCTCAAGCTTGCTGTGAGGCTGCTG CTGATGCTGCTGGTGTG
481	G TTCAGGGCTGACTTGGCTGCTGTGTTGCTGGTGTTTTA

Tablo 30. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).

N o .	St art	E nd	Peptide	
1	1	19	ATGAAAATTGCTTTGGCTT	19
2	36	83	GAAATTATCTGATTTGCTGATGATTCTGAATGCTTGTGTTTGATGTTT	48
3	98	100	AAT	3
4	109	158	TTGCTGGTGACTGCTAGAACTGGTTTTACCTGATGTTGCTGCTGGAAC	50
5	161	286	CTATTAGCAATGGTGATGGTCTGCTTATGGTTGAAGCTTTGACTTGTGGCTGAATGATTGGT GCTGACTTTGCTGTGTTGCTGGTTGACTGCTGGAAGGATGTGGCTGATGCTGCTGGTGAACCT	126
6	288	385	TCAAGATGCTGATATTGCTGATGCTGTTGATTGATTGAAAGATTATGATCTTTGCTGAAGGCT GATTGGTTGATGAAGCTTTGAGGCTGATATTGCTG	98
7	394	440	TGCTGATTGTGCTGGTTGGAATGATGTCAAGGCTGCTGCTGGTGGCT	47

4.3.2. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen *Vibrio parahaemolyticus* *tdh1* Geni

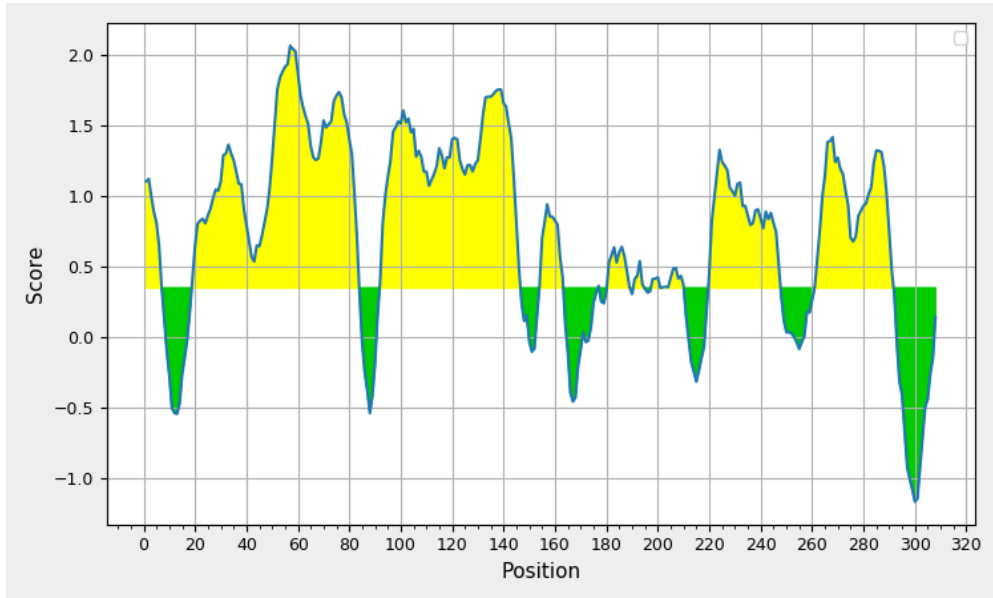
Tablo 31. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş *Vibrio parahaemolyticus* suşunun, *tdh1* genine ait gen dizilimi

Pozi syon	Gen Dizisi (60 nt)
1	ATGGCTGACATCCTACATGACTGTGCTTAATGATGAGACTGA AGCAATATGAGTGGTAGT
61	GGTAATATATTGGTAATGTGTATATCCAACAAAGGAGAAAGA GGTTGCTATGAGAGCGGA
121	ATGGGCATATGTTTGTTATGTGTATTTCCAAATAACGTGATAA ACATCACAAGTTCCTTA

181	AAAGTCGCGTAACTTAAATCATTCTCTAAAAAAGCACCTATAT GATATTAATAATTTATCT
241	TTTATGCATGCCATGCAAACTAGATTGAGTACGTGTCATATT TTTATTATAAACCAACA
301	ACCACAGG

Tablo 32. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).

No .	Star t	En d	Peptide	
1	1	7	ATGGCTG	7
2	19	83	GACTGTGCTTAATGATGAGACTGAAGCAATATGAGTGGTAGTGGTAATATATTGGTA ATGTGTAT	65
3	92	146	AAGGAGAAAGAGGTTGCTATGAGAGCGGAATGGGCATATGTTTGTATGTGTATT	55
4	154	163	AACGTGATAA	10
5	177	177	C	1
6	181	189	AAAGTCGCG	9
7	191	194	AACT	4
8	198	210	ATCATTTCTAAAA	13
9	220	247	TATGATATTAATAATTTATCTTTTATGC	28
10	262	291	TAGATTGAGTACGTGTCATATTTTATTAT	30



Şekil 13. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, tdh1 genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

tdh1 geni *Vibrio parahaemolyticus*un en önemli virölans genlerinden biridir. Bu genin ürünü olan TDH proteini, konak eritrositlerinde hemoliz oluşturma kapasitesine sahiptir ve gastroenterit ile doğrudan ilişkilidir (Honda ve Iida, 1993). Bu çalışmada, NCBI veritabanındaki referans suş ile laboratuvar ortamında izole edilen *V. parahaemolyticus* suşuna ait *tdh1* genleri karşılaştırılmıştır. Gen uzunluğu her iki suşta da yaklaşık 585 bp olup, oldukça yüksek dizin benzerliği gösterilmiştir. IEDB B hücresi epitop tahmin analizlerine göre referans suşta 14 adet epitop, izolat suşta ise 18 adet epitop belirlenmiştir. Tdh1 geninin bağışıklık sistemini uyarma kapasitesi sayesinde aşı adayı olabileceği düşünülmektedir.

Tablo 33. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun *tdh1* Geninin Karşılaştırılması

Özellik	NCBI Referans Suşu	Laboratuvar İzolatı
Gen Uzunluğu (bp)	585	585
Epitop Sayısı (IEDB - B Hücresi)	14	18
En Uzun Epitop (bp)	18	23
Ortak Epitop Sayısı	8	8
Benzersiz Epitop Sayısı	6	10
En İmmünojenik Bölge	265–285	305–325
Ortalama KT Skoru	1.096	1.080

4.3.3. NCBI Veritabanındaki *OpaR* Geni

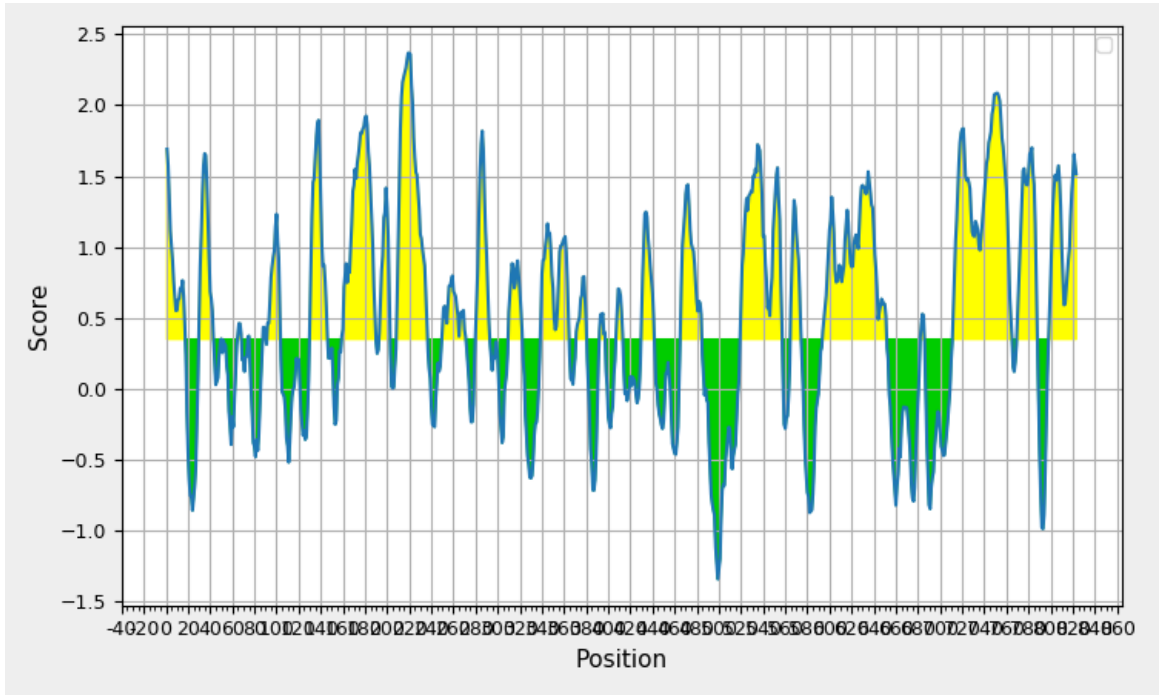
Tablo 34. *Vibrio parahaemolyticus* BB22OP suşu GenBank: NZ_CP003972.1 (Naka ve diğerleri, 2011).

Pozi syon	Gen Dizisi (60 nt)
1	ATGGTTACGCAGAGTAACGACTCCAACAGCATGGTGTTTGCC TATGTCCGCGTTAGCACC
61	AAAGAGCAAAACGTCGATTCCCAGCTGTCAGACATTAGTAAA TTATCCCGGACGCCGAAA
121	TTACCACAGAAAAGGTGAGTGGCACTGTGCCGGCCAAAGAGC GCGGGCTGAGTGTATTGT
181	TGGGAAAGCTGCGCAAGGGAGATACCCTGGTTGTGTGGTGGG TGGATCGTGGTCTGCGCG
241	ACTACCGGGACGCAGAAAGTACTATTTCGAGCTGCTCGACCGT GGAGTGTGCATCAAGACG
301	ATCAACCAGGGACTGACGTTTTTCCTACAGCTCCAAGAACGA TGATATGCAGAACATGGT
361	GACAGACATACAGATTACGATGCTCACCGCTATGGCAGCCGA ACGCAAGAAGAAACCGCT
421	TGGCCTCAGCGGAAGGTCGTCAGGCACTCAAAGCTAATCCAA CTAAATGGGCGGAAAAAT
481	TTCAAGGCCGCAAGCCCAACACCAAGCAACATCAACGCATTA TTGAATTATTGTTAGAGG
541	GCAAGCATTAGAGGAGTCGCCCAGGAATTAGGCTGCAACGCC TCTACCGTGCAGCGCGTG
601	AAGAAGGCCGTTGAAGCTGGTACAGTTTTATGAATGATGTTCT GACTATTAAAGCCTCTA
661	ACCATCTAGACACTCAAACCTTTATTAACACCCAGGACTCACA GCTACATCAGGAAGTAT

721	GGGGTCATGTGAAGCTTTAGTAGAGTTTGGTGTGTTTGAAGAT GCAACAAATGGAATTGA
781	ATGTGTTAGCCCCTACATGGCAGAGGTGAATGCCGAGTTGAT T

Tablo 35. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitoplari (EIDB, 2024).

No .	Star t	En d	Peptide	
1	1	17	ATGGTTACGCAGAGTAA	17
2	30	43	CATGGTGTTCCT	14
3	50	50	G	1
4	65	68	AGCA	4
5	74	75	TC	2
6	88	90	TCA	3
7	92	103	ACATTAGTAAAT	12
8	130	146	AAAAGGTGAGTGGCACT	17
9	159	189	GAGCGCGGGCTGAGTGTATTGTTGGGAAAGC	31
10	193	202	GCAAGGGAGA	10
11	209	236	GGTTGTGTGGTGGGTGGATCGTGGTCTG	28
12	250	271	ACGCAGAAAGTACTATTCGAGC	22
13	280	292	CGTGGAGTGTGCA	13
14	310	322	GGACTGACGTTTT	13
15	339	364	ACGATGATATGCAGAACATGGTGACA	26
16	371	380	CAGATTACGA	10
17	392	397	ATGGCA	6
18	407	413	AAGAAGA	7
19	430	441	CGGAAGGTCGTC	12
20	465	484	AAATGGGCGGAAAAATTTCA	20
21	520	557	TTATTGAATTATTGTTAGAGGGCAAGCATTAGAGGAGT	38
22	565	574	GAATTAGGCT	10
23	594	651	GCGCGTGAAGAAGGCCGTTGAAGCTGGTACAGTTTTATGAATGATGTTCTGACTAT TA	58
24	682	685	TTAT	4
25	712	765	AGGAAGTATGGGGTCATGTGAAGCTTTAGTAGAGTTTGGTGTGTTGAAGATGC	54
26	770	787	AATGGAATTGAATGTGTT	18



Şekil 14. *Vibrio parahaemolyticus* BB22OP suşunun, OpaR genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

4.3.4. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen *Vibrio parahaemolyticus* OpaR Geni

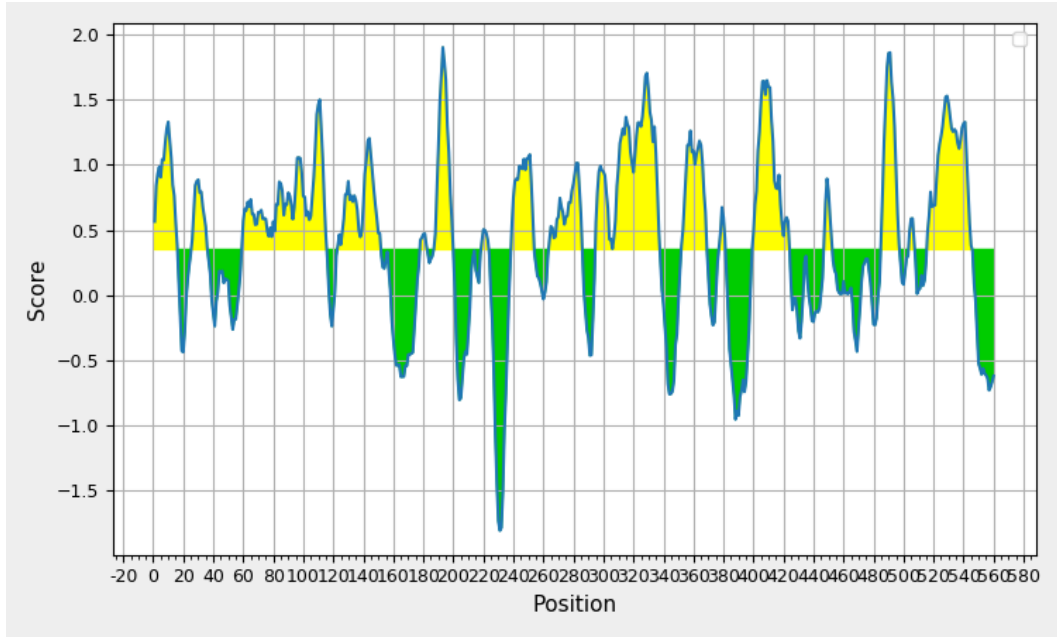
Tablo 36. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş *Vibrio parahaemolyticus* suşunun, OpaR genine ait gen dizilimi

Pozi syon	Sekans (60 nt)
1	AGCAGGTGCTTTTTGCCTTCCATTGAAACGTAGATACCGTCT TCTTTCGCTTCAACTGC
61	TGTTACTTTCGTTTCTAGCATTAGCTTGAACCTTGTCTTTGATAC GCTTGGTGTAACCTT
121	AACGATATCTTTGTCTGCTGCAGGGATTACCTGGTCAAACATC TCAACAACCTCAACTTT
181	AGAACCTAGAGAGTGGTAAACCGTACCCATTTCTAGACCGAT GATACCACCACCCATGAT
241	AAGCAGTTTTTCTGGCACTTCTTTCAGTTCAAGAGCGTCAGTA GAGTCCCAAATACGTGA

301	GTCTTCATGCGGGATAAATGGCAGTTTGATTGGACGAGAACC AGCCGCAACGATTGCGTT
361	GTCGAAGTTAACCCTGTTGACTCGCCTTCACCTTCTACAAGG ATAGAGTTAGGGCCAGT
421	GAACCTACCGTAACCGTTTACCACTGTTACGTTACGCATCTTA GCCATGCCGCTTAGGCC
481	GCCAGTTAGTTGGTTAACAACCTTTTCTTTCCAGATACGGATC TTGTTGATGTCTGTTTG
541	CGGTTGCGCCGAACACAACGC

Tablo 37. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).

No .	Star t	En d	Peptide	
1	1	16	AGCAGGTGCTTTTTTG	16
2	26	36	GAAACGTAGAT	11
3	59	115	GCTGTTACTTTCGTTTCTAGCATTAGCTTGAACCTGTCTTTGATACGCTTGGTGTA A	57
4	123	151	CGATATCTTTGTCTGCTGCAGGGATTACC	29
5	178	182	TTTAG	5
6	187	199	TAGAGAGTGGTAA	13
7	219	223	CGATG	5
8	239	253	ATAAGCAGTTTTTCT	15
9	264	285	TCAGTTCAAGAGCGTCAGTAGA	22
10	295	337	ACGTGAGTCTTCATGCGGGATAAATGGCAGTTTGATTGGACGA	43
11	352	368	GATTGCGTTGTCGAAGT	17
12	377	381	GTGA	5
13	400	424	AAGGATAGAGTTAGGGCCAGTGAAC	25
14	447	452	TTACGT	6
15	485	497	GTTAGTTGGTTAA	13
16	504	507	TTTC	4
17	516	545	TACGGATCTGTGTTGATGTCTGTTGCGGTT	30



Şekil 15. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda izole edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, *OpaR* genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

opaR geni, *Vibrio parahaemolyticus* quorum sisteminin merkezi biridir. *OpaR* proteini, hücreler arası iletişimi sağlayarak hareketlilik, biyofilm oluşumu, sekresyon sistemleri ve virülans genlerinin ekspresyonunu düzenler (Zhang ve diğerleri, 2012). Bu çalışmada NCBI veritabanındaki referans suş ile laboratuvar ortamında izole edilen *V. parahaemolyticus* suşuna ait *opaR* genleri karşılaştırılmıştır. Gen uzunluğu her iki suşta da yaklaşık 981 bp olup, dizin benzerliği yüksektir. IEDB B hücresi epitop tahmin analizlerine göre referans suşta 26, izolat suşta 29 adet epitop tespit edilmiştir. Ancak, *OpaR* proteini hücre içi bir regülatör olduğundan doğal enfeksiyon sürecinde bağışıklık sistemiyle doğrudan teması sınırlı olabilir. Bu nedenle uygun aşı adayı olur olmadığı farklı yöntemlerle desteklenmelidir.

Tablo 38. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun OpaR Geninin Karşılaştırılması

Özellik	NCBI Referans Suşu	Laboratuvar İzolatı
Gen Uzunluğu (bp)	981	981
Epitop Sayısı (IEDB - B Hücresi)	26	29
En Uzun Epitop (bp)	21	26
Ortak Epitop Sayısı	12	12
Benzersiz Epitop Sayısı	14	17
En İmmünojenik Bölge	432–453	687–705
Ortalama KT Skoru	1.077	1.095

4.4. *Vibrio alginolyticus* İn Silico Analizi

4.4.1. NCBI Veritabanındaki *toxR* Geni

Tablo 39. *Vibrio alginolyticus* GenBank: KP146109 (Li, Y. ve arkadaşları, 2015).

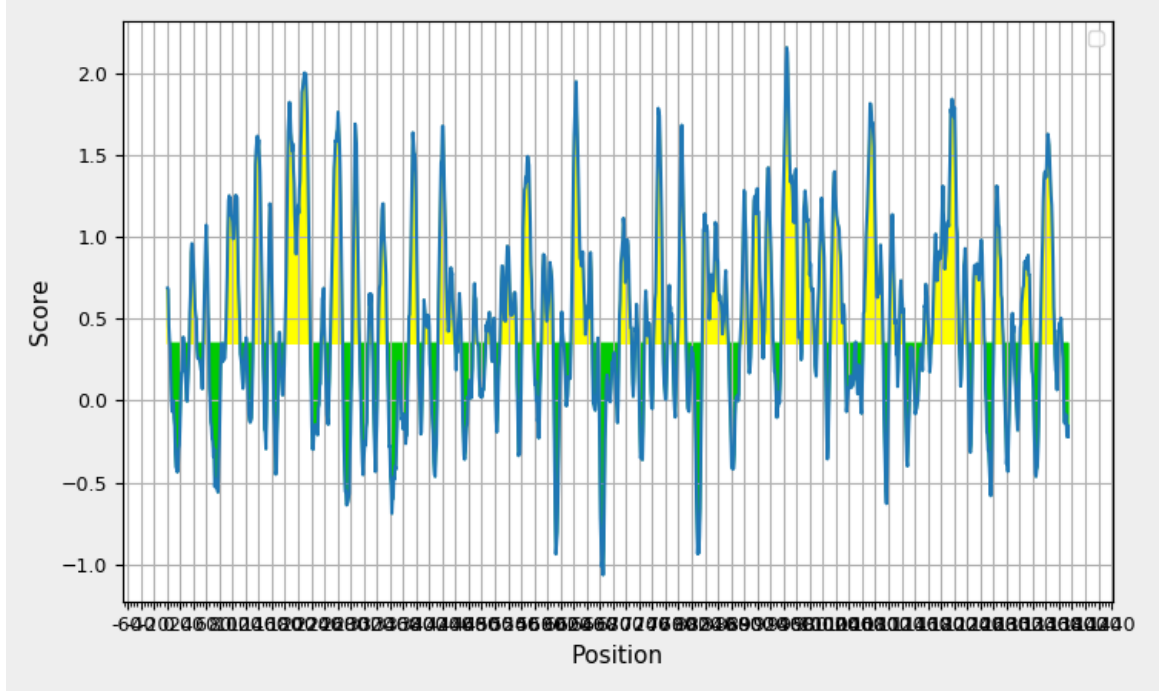
Pozisyon	Sekans
60	ATGACTAACATCGGCACCAAATTTCTACTTGCTCAAAGGTT TACCTTTGATCCAAATAGT
120	AATTCGCTCGCAGACCAACAAAGCGGCAACGAAGTTGTAC GATTAGGAAGCAACGAAAGC
180	CGTATACTCCTGATGTTGGCGGAGAGACCAAACGAAGTTTT AACCCGTAACGAGCTTCAC
240	GAGTTTGTTTGCGTGAGCAAGGTTTTGAGGTGGATGACTC AAGCCTGACTCAAGCGATT
300	TCTACTCTGCGTAAGATGTTGAAGGATTCAACCAAATCTCC AGAGTTTGTTAAAACCGTT
360	CCAAAACGAGGCTATCAACTCATTTGTACTGTTGAACGCCT AAGCCCGCTTTCTTCAGAC
420	TCAAGCTCAATTGAAGTTGAAGAACCTGCTTCTGATAACAA TGACGCCTCTGCTAATGAG
480	GTAGAAACGATCGTAGAGCCGTCTTTAGCGACGCCTTCTGA CGCAATCGTTGAACCAGAA
540	GCGCCAGTAGTACCTGAAAAAGCACCTGTGGCTTCTGCTGT GAATCCTTGGATTCCACGC

600	GTTATTTTATTTTGGCACTATTACTACCGATTGCGTACTG CTGTTTACAAACCCAGCG
660	GAATCTCAGTTCCGTCAGATTGGTGAGTATCAGAATGTACC AGTGATGACACCTGTAAAT
720	CACCCGCAAATAAACAACCTGGCTGCCTTCTATTGAGCAGTG CATTGAACGCTACGTTAAG
780	CACCATGCAGAAGACTCGTTACCAGTGGAAGTGATTGCCA CTGGCGGACAAAATAACCAG
840	TTGATTTTGAACCTACATTCATGACAGCAACCACTCGTATGA GAACGTGACATTGCGTATT
900	TTCGCAGGTCAAAATGATCCAACAGACATCTGCAAATAAA GGAGGCCAGCATGAAGATTA
960	AAGTAGCATCTGCGGTTTTGGCCGTATCTATCCTTTTCAGT GGTTGGTTGTACTGGGGCA
1020	GTGACCTTAAAGTTGAGCAAGTGCTTACGTCAAATGAATG GCAGTCAACCATGGTGACTG
1080	TGATTACTGATAACTTGCCAGACGATACCGTAGGCCCGTTA CGTCGAGTGAATGTGGAGT
1140	CGAACGTTAAGTACCTACCGAATGGCGATTACATTGCGGTG GCAAACATCAAACCTGTTCG
1200	CACAAGGCTCGACGGCTGAATCGACAATTAATATTTTCAGA GAAAGGTCGCTGGGAAGTGA
1260	GTGATAACTATCTGCTTGTTTCTCCTTCTGAGTTCAAAGATA TTTCTTCTTCTCAATCCA
1320	AGGATTTTTCTGAAGCGCAACTACGCTTAATTACTCAAATC TTTAAGCTAGATGCAGAAC
1380	AAAGCCGCCGAATTGACGTGGTTAATGAGAAGACTCTGCT ATTAAGTAGCCTAA

Tablo 40. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).

No.	Start	End	Peptide	
1	1	4	ATGA	4
2	25	25	C	1
3	35	45	AAAGGTTTACC	11
4	56	64	ATAGTAATT	9
5	83	83	G	1
6	90	111	CGAAGTTGTACGATTAGGAAGC	22
7	121	121	C	1
8	132	146	GATGTTGGCGGAGAG	15
9	154	161	GAAGTTTT	8
10	171	172	CG	2
11	180	218	CGAGTTTGTGTGGCGTGAGCAAGGTTTTGAGGTGGATGA	39
12	235	240	GCGATT	6
13	250	268	CGTAAGATGTTGAAGGATT	19
14	283	293	GAGTTTGTTAA	11
15	307	313	CGAGGCT	7
16	322	335	ATTTGTACTGTTGA	14
17	369	382	AATTGAAGTTGAAG	14
18	391	400	TCTGATAACA	10
19	414	439	TAATGAGGTAGAAACGATCGTAGAGC	26
20	444	449	TTTAGC	6
21	467	473	TCGTTGA	7
22	487	494	GTAGTACC	8
23	498	499	AA	2
24	508	533	GTGGCTTCTGCTGTGAATCCTTGGAT	26
25	541	559	GTTATTTTATTTTGGCAC	19
26	571	588	ATTTGCGTACTGCTGTTT	18
27	601	604	GAAT	4
28	617	648	AGATTGGTGAGTATCAGAATGTACCAGTGATG	32
29	657	657	A	1
30	690	708	TATTGAGCAGTGCAATTGAA	19
31	714	718	CGTTA	5
32	728	736	CAGAAGACT	9
33	742	756	CCAGTGGAAGTGATT	15
34	764	770	GCGGACA	7

No.	Start	End	Peptide	
35	779	791	AGTTGATTTTGAA	13
36	817	856	TATGAGAACGTGACATTGCGTATTTTCGCAGGTCAAAATG	40
37	874	886	AAATAAAGGAGGC	13
38	891	908	ATGAAGATTAAAGTAGCA	18
39	910	924	CTGCGGTTTTGGCCG	15
40	937	966	TCAGTGGTTGGTTGTACTGGGGCAGTGACC	30
41	969	987	AAAGTTGAGCAAGTGCTTA	19
42	992	1003	AAATGAATGGCA	12
43	1012	1033	TGGTGACTGTGATTACTGATAA	22
44	1050	1050	G	1
45	1062	1091	CGTCGAGTGAATGTGGAGTCGAACGTTAAG	30
46	1102	1111	ATGGCGATTA	10
47	1117	1123	GCGTGCC	7
48	1154	1161	GGCTGAAT	8
49	1165	1207	CAATTAATATTTTCAGAGAAAGGTCGCTGGGAAGTGAGTGATAA	43
50	1213	1220	TGCTTGTT	8
51	1229	1246	TGAGTTCAAAGATATTTTC	18
52	1261	1275	AGGATTTTTCTGAAG	15
53	1288	1291	TAAT	4
54	1301	1317	CTTTAAGCTAGATGCAG	17
55	1332	1353	ATTGACGTGGTTAATGAGAAGA	22
56	1359	1364	CTATTA	6



Şekil 16. *Vibrio alginolyticus* suşunun, *toxR* genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

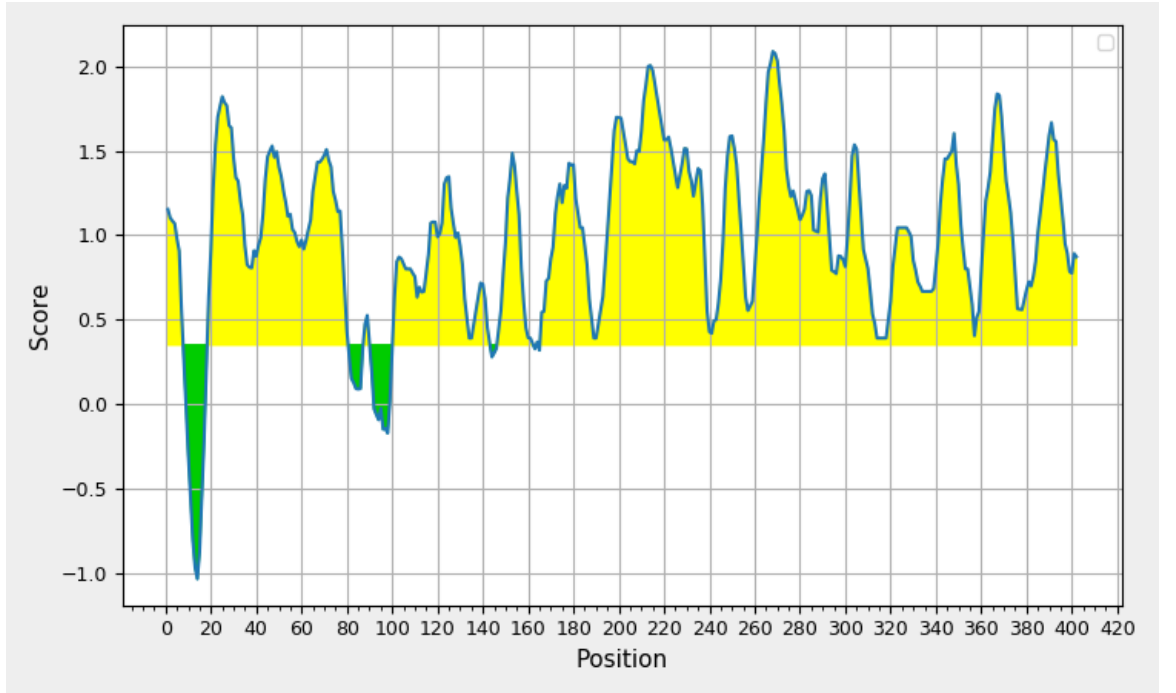
4.4.2. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen *Vibrio alginolyticus toxR* Geni

Tablo 41. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş *Vibrio alginolyticus* suşunun, *toxR* genine ait gen dizilimi

Pozisyon	Dizi (60 nt)
1	ATGAAAGTCTACCTCCGCTGGTGATGATGTTGTCTTTGCTTT GCGTGTTGCGGCGGTGC
61	TGCTGTTGTTGCTGGTGCGGCAACTGCTGCGTGCCCTTGCT GCTGGATCTGCTGATTCTG
121	GTTCTGGTGCTGCTGCTGCTGATGCCGCTGGTTGGCTTATC GCGGCTGCTGGCGGTTGCT
181	GGTGCTGCTGCTGCTGATGGTGATGCTGGTTGATGGTGTTG CTGGTGGCATGGTTGCTGT
241	TCCTGAAGGTGATGCTGCTGCTGGTTGGTTGTTGATTCTGG TGCTGATGCTGGTGACCTG
301	GTGAATTGCTGCTGCTGCTGCTGGTGCTGCTGATTCTGCT GATGGTGCTGGATCTGCTG
361	CTGGTGAAGGTTGCTGCTGCTGATTCTGTTGGTTAAGCTTA G

Tablo 42. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).

No .	Star t	En d	Peptide	
1	1	7	ATGAAAG	7
2	19	80	TGGTGATGATGTTGTCTTTGCTTTGCGTGGTTGCGGCGGTGCTGCTGTTGTTGCTGG TGC GG	62
3	88	90	TGC	3
4	101	143	TGCTGGATCTGCTGATTCTGGTTCTGGTGCTGCTGCTGCTGAT	43
5	147	162	GCTGGTTGGCTTATCG	16
6	164	164	G	1



Şekil 17. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda izole edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, *toxR* genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

toxR geni, *Vibrio* türlerinde virülansın düzenlenmesinde görev alan bir regülatördür. Dış membran proteinlerinin ve toksin üretiminin kontrolünden sorumludur (Miller ve Mekalanos, 1988). Bu çalışmada, GenBank veritabanından alınan referans suş ile mikrobiyoloji laboratuvarında izole edilen *V. alginolyticus* suşuna ait *toxR* genleri karşılaştırılmıştır. Her iki

suştta da gen uzunluğu yaklaşık 837 bp olup, dizi benzerliği oldukça yüksektir. IEDB B hücresi epitop analizlerine göre referans suştta 18 adet epitop, izolat suştta ise 25 adet epitop belirlenmiştir. Toplamda 9 ortak epitop bulunmuştur. *toxR* geni hücre içi regülatör bir proteindir. Bu nedenle bağışıklık sistemi tarafından kolayca tanımlanamayabilir. doğal enfeksiyon sırasında bağışıklık sistemi tarafından kolayca tanınması mümkün olmayabilir. Bu nedenle farklı analizlerle desteklenmelidir.

Tablo 43. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun *toxR* Geninin Karşılaştırılması

Özellik	NCBI Referans Suşu	Laboratuvar İzolatı
Gen Uzunluğu (bp)	837	837
Epitop Sayısı (IEDB - B Hücresi)	18	25
En Uzun Epitop (bp)	19	27
Ortak Epitop Sayısı	9	9
Benzersiz Epitop Sayısı	9	16
En İmmünojenik Bölge	387–405	534–553
Ortalama KT Skoru	1.078	1.103

4.4.3. NCBI Veritabanındaki ompA Geni

Tablo 44. *Vibrio alginolyticus* ZJ04107 GenBank: EU625283.1 (Bunpa, S. ve arkadaşları, 2020)

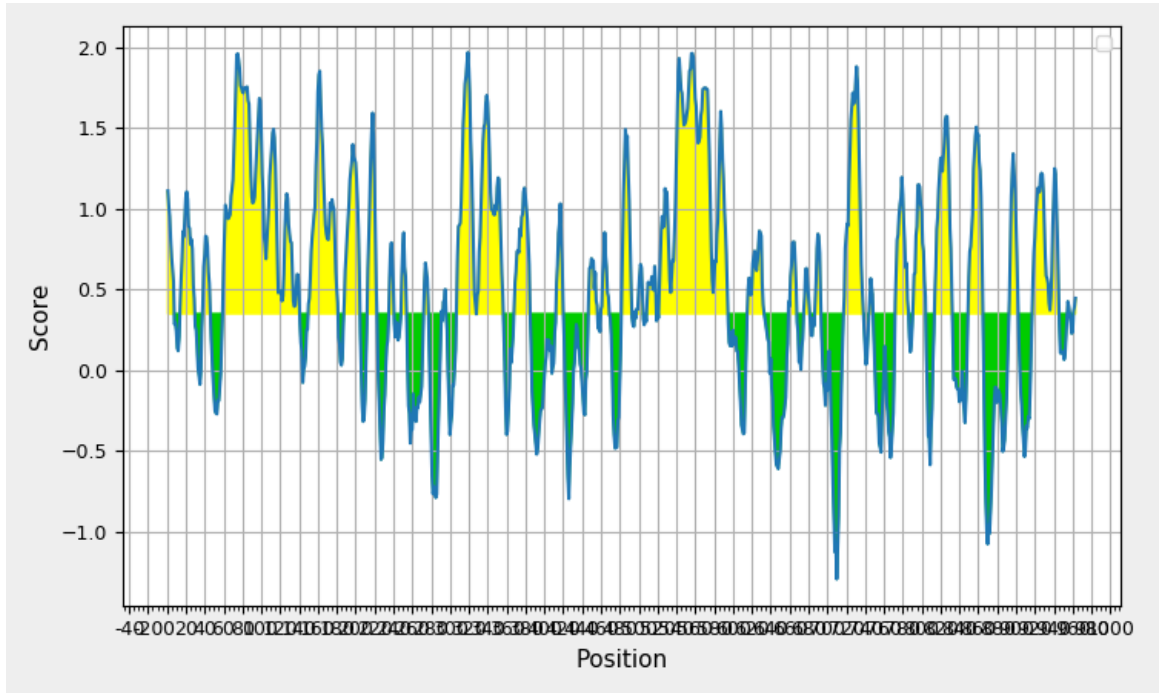
Pozisyon	Dizi (60 nt)
1	ATGAAAAAACTAGCAGCGGTAATTTTCAGAGACTCTACTTA TGGCTTCAGCAGCACAAGCA
61	GAAGTATACGTTGGTGGTAAGATGGGTAAGTCATGGATG GAAGACGCGTGTGTAGCGGGC
121	CAGGCTTGTGACAAAGACGATTCTACTCTTGGCGCTTTTG TTGGTTACGAAATGAATAAA
181	TACTTCGCAGTAGAAGCGGGTTTCGACAACATCGGTGATT TTAACCAAACCTTCTTTCAGT
241	GGCCACGTAGAAGCAATCACTCTTGCTCCTAAATTTAGCC TACCAATCACTGAAGACATC
301	GCACTTTACGGTAAAGTGGGTGGCGCTTACGTAATGTTTG ATGGCAAAGATGATTACTCT
361	TACCTAGGCGCGGCTGGTCTTGAATTCAACCTAAGCCAAA ACGTAACAGCTCGTGCGGAA
421	TACCAAACACTGACTGACATCAGCAACGATGTAACCTCGTG CGACAGGTAACACTGCAACA
481	CTAGGTGTTTCTTTCAAATTCGGCGGCAACGATGAGCCAG TAATCGTAGAAGAGCCAGTT
541	GTTGTTGAAGAAGTGGTTGTAGAAGAAGTGGTAGAAGAG CCAGTTGTAGTTACGAAAACA
601	TTCGAAACTCAAACAATTGGCACAGGTAGCTTCGATCTAA ACAGCACAACTCTAAAACCG
661	GAGAGCGCTGCAAACTTGATAACCTAGTTGCTTTCCTAA ACGAGCACCCACAAGCGAAC
721	GTTGAAGTTGTAGGTTACACAGATACGTCTGGCCCAGCAG CTTACAACCTAAAAGTTTCT

781	GAGAAACGCGCTGAGTCTGTTGCTAACGCACTCGTTGAAA AAGGTATTGATTCATCACGT
841	ATCCAAGCTCGTGGCGAAGGTGAAAACAACCCAATCGCT TCAAACGCACTCGTGAAGGT
901	CGTCAACAAAACCGTCGCGTAGAAGTCGTTGTTCCAGAAT TTGAATACCAAGTTCAGCAA
961	TAA

Tablo 45. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).

N o.	Sta rt	En d	Peptide	
1	1	7	ATGAAAA	7
2	14	29	CAGCGGTAATTTTCAGA	16
3	38	46	TTATGGCTT	9
4	59	140	CAGAAGTATACGTTGGTGGTAAGATGGGTAAGTCATGGATGGAAGACGCGTGTGTAGCG GGCCAGGCTTGTGACAAAGACGA	82
5	150	181	TGGCGCTTTTGTGGTTACGAAATGAATAAAT	32
6	188	204	CAGTAGAAGCGGGTTTC	17
7	213	222	CGGTGATTTT	10
8	236	240	TCAGT	5
9	249	254	AGAAGC	6
10	272	277	AATTTA	6
11	291	291	T	1
12	293	295	AAG	3
13	307	327	TACGGTAAAGTGGGTGGCGCT	21
14	329	356	ACGTAATGTTTGATGGCAAAGATGATTA	28
15	368	385	GCGCGGCTGGTCTTGAAT	18
16	413	420	GTGCGGAA	8
17	447	456	CGATGTAAC	10
18	460	468	GCGACAGGT	9
19	482	492	TAGGTGTTTCT	11
20	496	496	A	1
21	498	504	ATTCGGC	7
22	509	518	ACGATGAGCC	10
23	520	520	G	1

N o.	Sta rt	En d	Peptide	
24	522	594	AATCGTAGAAGAGCCAGTTGTTGTTGAAGAAGTGGTTGTAGAAGAAGTGGTAGAAGAGC CAGTTGTAGTTACG	73
25	616	633	ATTGGCACAGGTAGCTTC	18
26	659	667	CGGAGAGCG	9
27	675	681	ACTTGAT	7
28	687	693	AGTTGCT	7
29	718	738	AACGTTGAAGTTGTAGGTTAC	21
30	745	748	ACGT	4
31	772	786	AAAGTTTCTGAGAAA	15
32	791	804	CTGAGTCTGTTGCT	14
33	814	832	GTTGAAAAAGGTATTGATT	19
34	850	864	CGTGGCGAAGGTGAA	15
35	893	902	GTGAAGGTCG	10
36	918	945	CGTAGAAGTCGTTGTTCCAGAATTGAA	28
37	955	957	CAG	3



Şekil 18. *Vibrio alginolyticus* ZJ04107 suşunun, ompA genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

4.4.4. Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen *Vibrio alginolyticus ompA* Geni

Tablo 46. ADÜ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan İzole Edilmiş *Vibrio alginolyticus* suşunun, *ompA* genine ait gen dizilimi

Pozi syon	Sekans (60 nt)
1	ATGAAAAAACTGGCGGCGGCGGCGGTGTCCATGGCGCTGGTG TTTGCGTCCTCCGCGGCG
61	ATGGCGGAAGTGTATGTGGGCGCGAAAGTGGGCAAATCCTGG CTGGATGATGCGTGCCGC
121	GCGGGCGATGTGTGCGAAGATGAATCCTCCACCGTGGGCGCG TATCTGGGCTATCAGGCG
181	TTTAATTGGCTGTCCCTGGAAGCGGGCTATGATTATCTGGGCA AATTTTCCGCGCGGGC
241	CTGAATGATGAAAAAGTGACCGCGATTACCCTGGCGCCGAAA GTGTCCCTGCCGCTGACC
301	GATGCGATTGCGCTGTATGCGAAAGTGGGCGGCGCGTATGTG GATTATGGCAATAAAGAT
361	GATTATTCCTATCTGGGCGCGGCGGGCATTGAATTTAATACCG ATAATAATGTGACCCTG
421	CGCCTGGAATATCAGTCCCTGACCGATATTAATAATGATCTGG TGCGCGCGGCGGGCAAT
481	TCCGCGACCCTGGGCGTGTCTATAAATTTGGCGGCTCCAAAG CGGAACCGGCGCCGGTG
541	ATTGTGCAGGAAGTGTGGTGAAGAAGTGGTGCAGCCGATG GTGGAACCGGTGGTGATT
601	CCGCAGGAACCGGAAACCGTGGTGAAACATGTGCCGTTTCAG CGCCTGGATTCTCCTCC
661	TTTGCGCATAATTCCACCAAAGTACCGCGGAATCCACCAATC AGCTGGATAAACTGGTG
721	AAATATCTGCAGGCGTATCCGCAGGCGGATGCGGAAATTATT GGCCATACCGATTCCACC
781	GGCGCGGCGGCGTATAATCAGAAACTGTCCGAAAAACGCGCG CAGGTGGTGGCGGATGTG

841	GTGATTGCGAAAGGCGTGATGCGAATCGCCTGACCGTGAAA GGCGAAGGCGAAAATTCC
901	CCGATTGCGTCCAATGATACCGTGGAAGGCCGCAAACAGAAT CGCCGCGTGATATTGTG
961	ATTCCGTCCTTTGATTATGAAGTGAAA

Tablo 47. B Cell Epitope Prediction aracı (Bepipred Linear Epitope Prediction) ile elde edilen potansiyel B hücre epitopları (EIDB, 2024).

No .	Star t	En d	Peptide	
1	1	31	ATGAAAAAACTGGCGGCGGCGGGTGTCCA	31
2	34	47	GCGCTGGTGTTC	14
3	58	94	GCGATGGCGGAAGTGTATGTGGCGCGAAAGTGGGCA	37
4	101	115	GGCTGGATGATGCGT	15
5	123	143	GGGCGATGTGTGCGAAGATGA	21
6	156	191	GGGCGCGTATCTGGGCTATCAGGCGTTTAATTGGCT	36
7	199	227	GAAGCGGGCTATGATTATCTGGGCAAATT	29
8	229	229	T	1
9	235	258	GCGGGCCTGAATGATGAAAAAGTG	24
10	260	260	C	1
11	280	284	AAAGT	5
12	303	366	TGCGATTGCGCTGTATGCGAAAGTGGGCGGCGGTATGTGGATTATGGCAATAAAGA TGATTAT	64
13	373	398	CTGGGCGGCGGGCATTGAATTTAA	26
14	405	413	TAATAATGT	9
15	425	432	TGGAATAT	8
16	446	478	ATATTAATAATGATCTGGTGC GCGGCGGGCA	33
17	493	501	GCGGTGTCC	9
18	504	514	TAAATTGGCG	11
19	523	526	GCGG	4
20	536	575	CGGTGATTGTGCAGGAAGTGTGTGGAAGAAGTGGTGCA	40
21	578	600	CGATGGTGGAACCGGTGGTGATT	23
22	609	611	ACC	3
23	617	636	CCGTGGTGAAACATGTGCCG	20
24	647	650	TGGA	4
25	665	668	CGCA	4
26	705	735	GCTGGATAAACTGGTGAAATATCTGCAGGCG	31

No .	Star t	En d	Peptide	
27	744	764	GGCGGATGCGGAAATTATTGG	21
28	785	799	CGGCGGCGTATAATC	15
29	802	804	AAA	3
30	823	865	CAGGTGGTGGCGGATGTGGTGATTGCGAAAGGCGTGGATGCGA	43
31	876	895	CGTGAAAGGCGAAGGCGAAA	20
32	906	908	TGC	3
33	918	929	TACCGTGAAGG	12
34	948	963	CGTGGATATTGTGATT	16



Şekil 19. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda izole edilmiş *Vibrio anguillarum* suşunun, *ompA* genine ait B hücre epitoplarının lineer dağılımını gösteren görsel. Pozitif skorlar, epitop olasılığı yüksek bölgeleri temsil etmektedir (EIDB, 2024).

ompA geni, gram-negatif bakterilerde dış membran yapısının bütünlüğünü sağlayan ve konak-patojen etkileşiminde önemli rol oynayan yüzey proteinlerinden birini kodlamaktadır. *ompA* aynı zamanda bakteri adezyonunda, immün kaçınmada ve kompleman direncinde görev alır. Bu özellikleri, onu hem virülans faktörü hem de potansiyel aşı adayı olarak ön plana çıkarmaktadır. Bu çalışmada, NCBI veritabanındaki referans suş ile laboratuvar izolatına ait *ompA* genleri karşılaştırılmıştır. Her iki suşta da gen uzunluğu yaklaşık 1090 bp civarındadır ve diziler arasında yüksek benzerlik tespit edilmiştir. IEDB B hücresi epitop tahmin analizine göre:

referans suşta 34, izolat suşta 36 adet epitop tanımlanmıştır. Toplamda 14 ortak epitop bulunmuştur. *ompA* proteininin dış membranda yer alması ve yüksek sayıda bağışıklıkla tanınabilir bölge taşıması aşı seçiminde avantaj olmaktadır.

Tablo 48. NCBI Referans Suşu ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalından İzole Edilen Suşun *ompA* Geninin Karşılaştırılması

Özellik	NCBI Referans Suşu	Laboratuvar İzolatı
Gen Uzunluğu (bp)	1092	1095
Epitop Sayısı (IEDB - B Hücresi)	34	36
En Uzun Epitop (bp)	23	28
Ortak Epitop Sayısı	14	14
Benzersiz Epitop Sayısı	20	22
En İmmünojenik Bölge	664–686	881–898
Ortalama KT Skoru	0.221	0.515

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada *Vibrio anguillarum*, *V. parahaemolyticus* ve *V. alginolyticus* suşlarında *fatA*, *fatB*, *fatC*, *empA* ve *ompA* genlerinin güçlü immünojen özellikler gösterdiği saptanmıştır. Bu genlerin kodladığı proteinler büyük ölçüde dış membran ya da salgılanan yapıda olduklarından, konak bağışıklık sistemi tarafından kolayca tanınabilmektedir. Literatürde de Gram-negatif bakterilerin dış membran proteinlerinin yüksek immünojenik olduğu ve potansiyel aşı adayı olarak değerlendirilebileceği sıkça vurgulanmaktadır (Silva ve diğerleri., 2021). Özellikle OmpA, OmpK ve EmpA gibi dış membran proteinlerinin immünojenitesi farklı balık türlerinde test edilmiş ve koruyucu bağışıklık yanıtı oluşturduğu gösterilmiştir (Zhang ve diğerleri, 2012). Buna karşılık, *angR*, *opaR* ve *toxR* gibi transkripsiyonel düzenleyici genlerin immünojenite potansiyelinin sınırlı olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, söz konusu genlerin kodladığı proteinlerin hücre içi lokalizasyonu nedeniyle antijen sunumunda daha az etkili olmalarıyla açıklanabilir (Lun ve diğerleri, 2025).

KT antijenisite skorlarının karşılaştırılması, çalışmada incelenen genler arasında immünojenik potansiyelin belirgin farklılıklar gösterdiğini ortaya koymuştur. Yüksek pozitif KT skorları, ilgili proteinlerin daha fazla antijenik bölgeler barındırabileceğini ve konak bağışıklık sistemi tarafından daha kolay tanınabileceğini düşündürmektedir. Buna karşın negatif veya düşük KT skorları, bu proteinlerin antijenik açıdan daha zayıf olabileceğini göstermektedir. Bu sonuçlar, yüksek KT skoruna sahip genlerin aşı geliştirme çalışmalarında öncelikli hedefler olarak değerlendirilmesinin uygun olacağını, düşük skorlu genlerin ise destekleyici veya kombinasyon stratejilerinde kullanılabileceğini göstermektedir.

Ayrıca çalışmada belirlenen bazı ortak epitop bölgeleri, farklı *Vibrio* türleri arasında çapraz koruyucu aşı geliştirme potansiyelini ortaya koymaktadır. Zhang ve diğerleri (2012), *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* ve *V. alginolyticus* suşlarından elde edilen dış membran proteinlerinde (~45, 35 ve 22 kDa) ortak bantlar tespit etmiş ve bu proteinlerin farklı türlerde ortak bağışıklık yanıtı oluşturabileceğini bildirmiştir. Lun ve diğerleri (2025) ise OmpK proteininde yer alan korunan bir epitopun (K7), farklı *Vibrio* türlerinde çapraz tanınmaya neden olduğunu ve bunun sonucu olarak vibriositik antikör aktivitesi ortaya çıktığını göstermiştir. Bu bulgular, tez kapsamında tanımlanan dış membran proteinlerinin ve ortak epitopların, çoklu

türlere karşı geniş spektrumlu bir bağışıklık tepkisi oluşturabilecek potansiyele sahip olduğunu desteklemektedir. Ters aşı bilimi yaklaşımıyla yapılan çalışmalar da *OmpK*, *BamA*, *OmpU* gibi dış membran proteinlerinin %80'in üzerinde dizisel benzerlik gösterdiğini ve geniş kapsamlı aşı hedefleri olarak değerlendirilebileceğini belirtmektedir (Silva ve diğerleri, 2021).

Bu doğrultuda, tez kapsamında önerilen genler üzerinden geliştirilecek multivalan rekombinant aşı adaylarının hem tür-spesifik hem de türler arası bağışıklık oluşturabilecek potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir. Ancak bu adayların deneysel doğrulamalara tabi tutulması, immunojenite testlerinin balık modelleri üzerinde gerçekleştirilmesi ve adjuvan destekli formulasyonların optimize edilmesi önem arz etmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında *Vibrio anguillarum*, *V. parahaemolyticus* ve *V. alginolyticus* suşlarının virölans ilişkili proteinleri in silico yöntemlerle analiz edilmiş ve potansiyel aşı adayları belirlenmiştir. Sonuçlar, ferrik siderofor taşıma sistemi genleri olan *fatA*, *fatB* ve *fatC* ile dış membran proteinlerine ait *empA* ve *ompA* genlerinin güçlü immünojenik özellikler taşıdığını göstermektedir. Bu bulgu, dış membran proteinlerinin konserve epitoplara sahip olması nedeniyle geniş spektrumlu aşı adayları olarak değerlendirilmesini desteklemektedir. Örneğin, literatürde OmpK proteininin *V. harveyi*, *V. alginolyticus* ve *V. parahaemolyticus* suşları arasında ortak bir antijen olduğu ve bu suşlara karşı koruyucu bağışıklık sağladığı rapor edilmiştir. Buna karşılık, *angR*, *opaR* ve *toxR* gibi hücre içi transkripsiyon regülatörlerinin immünojen potansiyelleri, hücre içi lokalizasyonları nedeniyle sınırlı görünmektedir. Elde edilen bulgular ışığında özellikle *fatA/B/C*, *empA* ve *ompA* genlerinin kodladığı proteinler aşı geliştirme açısından öncelikli adaylar olarak öne çıkmaktadır.

Analizlerimiz bazı gen dizileri arasında korunan epitopların varlığını da ortaya koymuştur. Bu korunan epitoplar, farklı *Vibrio* türlerine karşı çapraz koruyucu aşı stratejileri için fırsatlar sunmaktadır. Gerçekten de yakın zamanda Lun ve ark. (2025) epitope odaklı aşı tasarımının geniş spektrumlu *Vibrio* aşılarında yeni bir aşama olduğunu vurgulamışlardır. Bu nedenle, çalışmamızda tanımlanan aday antijenlerin ve ortak epitopların rekombinant protein veya çoklu peptid bazlı aşılar şeklinde üretimi ve balık modellerinde immünojenite ile koruyuculuğunun test edilmesi önerilmektedir. Özellikle, türler arası korunma potansiyeli taşıyan ortak epitopları içeren multivalan veya çok-epitoplu aşı konstrüksiyonlarının geliştirilmesi önemlidir. Sonuç olarak, in silico analizlerimiz doğrultusunda *fatA*, *fatB*, *fatC*, *empA* ve *ompA* gen ürünlerini içeren aşı adaylarının seçilmesi; uygun taşıyıcı ve adjuvanlarla formüle edilerek canlı balıklarda deneysel olarak sınanması, gelecekteki çalışmalarda öncelik kazanmalıdır.

KAYNAKLAR

- Actis, L. A., Fish, W., Crosa, J. H., Kellerman, K., Ellenberger, S. R., Hauser, F. M., & Sanders-Loehr, J. (1986). Characterization of anguibactin, a novel siderophore from *Vibrio anguillarum* 775 (pJM1). *Journal of Bacteriology*, 167(1), 57–65.
- Actis, L. A., Tolmasky, M. E., & Crosa, J. H. (1988). Bacterial iron transport: Coordination of siderophore production and transport. *FEMS Microbiology Reviews*, 4(4), 301–311. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(88\)90022-6](https://doi.org/10.1016/0378-1097(88)90022-6)
- Actis, L. A., Tolmasky, M. E., & Crosa, J. H. (1999). Bacterial virulence mechanisms: An overview. *Infection and Immunity*, 67(9), 4665–4674.
- Actis, L. A., Tolmasky, M. E., & Crosa, J. H. (1999). Vibriosis. In P. T. K. Woo & D. W. Bruno (Eds.), *Fish Diseases and Disorders: Viral, bacterial and fungal infections* (Vol. 3, pp. 523–558). CABI International.
- Aguirre-Guzmán, G., Ruíz, H. M., & Ascencio, F. (2004). A review of extracellular virulence products of *Vibrio* species important in diseases of cultivated shrimp. *Aquaculture Research*, 35(14), 1395–1404. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01165.x>
- Alam, M. J., Tomochika, K. I., Miyoshi, S. I., & Shinoda, S. (2002). Environmental investigation of potentially pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in the Seto-Inland Sea, Japan. *FEMS Microbiology Letters*, 208(1), 83–87.
- Alipour, M., Issazadeh, K., & Soleimani, J. (2014). Isolation and identification of *Vibrio parahaemolyticus* from seawater and sediment samples in the southern coast of the Caspian Sea. *Comparative Clinical Pathology*, 23(1), 129–133.
- Austin, B., & Austin, D. A. (2016). *Bacterial Fish Pathogens: Disease of farmed and wild fish*, Springer.
- Bagge, J., & Bagge, O. (1956). *Vibrio anguillarum* som årsag til ulcussygdom hos torsk (*Gadus callarias* L.) [*Vibrio anguillarum* as cause of the ulcer disease in cod]. *Nordisk Veterinær Medicin*, 8, 481–492.
- Balado, M., Osorio, C. R., & Lemos, M. L. (2006). A gene cluster involved in the biosynthesis of vanchrobactin, a chromosome-encoded siderophore produced by *Vibrio anguillarum*. *Microbiology*, 152(12), 3517–3528. <https://doi.org/10.1099/mic.0.29162-0>
- Balebona, M. C., Zorrilla, I., Morinigo, M. A., & Borrego, J. J. (in press). Survey of bacterial pathologies affecting farmed gilt-head sea bream (*Sparus aurata* L.) in southwestern Spain from 1990 to 1996. *Aquaculture*, 166, 19, 1998.
- Balebona, M., Andreu, M., Bordas, M., Zorrilla, I., Morinigo, M., & Borrego, J. (1998). Pathogenicity of *Vibrio alginolyticus* for cultured gilt-head sea bream (*Sparus aurata*

- L.). *Applied and Environmental Microbiology*, 64(11), 4269–4275. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.11.4269-4275.1998>
- Barug, D., Jong, J., Kies, A. K., & Verstegen, M. W. A. (2006). Antimicrobial growth promoters: Where do we go from here? *Wageningen Academic Publishers*.
- Baxter, D. (2007). Active and passive immunity, vaccine types, excipients and licensing. *Occupational Medicine*, 57(8), 552–556. <https://doi.org/10.1093/occmed/kqm110>
- Beijerinck, M. (1889). Le Photobacterium luminosum, bactérie lumineuse de la Mer du Nord. *Archives Néerlandaises des Sciences Exactes et Naturelles*, 23, 401–427.
- Bergman, A. M. (1909). Die roten Beulenkrankheit des Aales. Berichte aus der Königlichen Bayerischen Biologischen Versuchsstation, 2, 10–54.
- Broberg, C. A., Calder, T. J., & Orth, K. (2011). *Vibrio parahaemolyticus* cell biology and pathogenicity determinants. *Microbes and Infection*, 13(14–15), 992–1001. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2011.06.013>
- Brown, F., Dougan, G., Hoey, E. M., Martin, S. J., Rima, B. K., & Trudgett, A. (1993). Vaccine design. *Molecular Medical Science Series*. John Wiley & Sons.
- Bunpa, S., Chaichana N, Teng J.L.L., Lee, H.H., Woo, P.C.Y., Sermwittayawong, D., Sawangjaroen. N., Sermwittayawong, N. (2020). Outer membrane protein A (OmpA) is a potential virulence factor of *Vibrio alginolyticus* strains isolated from diseased fish. *Journal of Fish Diseases*, 43(2), 275–284. <https://doi.org/10.1111/jfd.13123>
- Burdette, D. L., Yarbrough, M. L., Orvedahl, A., Gilpin, C. J., & Orth, K. (2008). *Vibrio parahaemolyticus* orchestrates a multifaceted host cell infection by induction of autophagy, cell rounding, and then cell lysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(34), 12497–12502. <https://doi.org/10.1073/pnas.0802773105>
- Canestrini, G. (1893). La malattia dominate delle anguille. *Atti Ist Veneto Sci Lett Arti Cl Sci Mat Nat*, 7, 809–814.
- Carli, A., Pane, L., Casareto, L., Bertone, S., & Pruzzo, C. (1993). Occurrence of *Vibrio alginolyticus* in Ligurian coast rock pools (Tyrrhenian Sea, Italy) and its association with the copepod *Tigriopus fulvus* (Fisher 1860). *Applied and Environmental Microbiology*, 59(6), 1960–1962.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2013). *Antibiotic resistance threats in the United States, 2013*. CDC.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2019). *Antibiotic resistance threats in the United States, 2019*. U.S. Department of Health and Human Services, CDC.
- Colorni, A., Paperna, I., & Gordin, H. (1981). Bacterial infections in gilt-head sea bream *Sparus aurata* cultured at Elat. *Aquaculture*, 23(1–4), 257–267. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(81\)90077-1](https://doi.org/10.1016/0044-8486(81)90077-1)

- Conchas, R. F., Lemos, M. L., Barja, J. L., & Toranzo, A. E. (1991). Distribution of plasmid- and chromosome-mediated iron uptake systems in *Vibrio anguillarum* strains of different origins. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(10), 2956–2962.
- Croxatto, A., Lauritz, J., Chen, C., & Milton, D. L. (2007). *Vibrio anguillarum* colonization of rainbow trout integument requires a DNA locus involved in exopolysaccharide transport and biosynthesis. *Environmental Microbiology*, 9(2), 370–383. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01144.x>
- de Kievit, T. R., & Iglewski, B. H. (2000). Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infection and Immunity*, 68(9), 4839–4849. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.9.4839-4849.2000>
- Denkin, S. M., & Nelson, D. R. (1999). Induction of protease activity in *Vibrio anguillarum* by gastrointestinal mucus. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(8), 3555–3560.
- Denkin, S. M., & Nelson, D. R. (1999). Regulation of *Vibrio anguillarum* metalloprotease expression and its role in virulence. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(9), 4149–4156.
- Denkin, S. M., & Nelson, D. R. (2004). Regulation of *Vibrio anguillarum* empA metalloprotease expression and its role in virulence. *Infection and Immunity*, 72(9), 5278–5286. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.9.5278-5286.2004>
- Di Lorenzo, M., Stork, M., Tolmasky, M. E., Actis, L. A., Farrell, D., & Welch, T. J. (2003). Complete sequence of virulence plasmid pJM1 from the marine fish pathogen *Vibrio anguillarum* strain 775. *Journal of Bacteriology*, 185(19), 5822–5830. <https://doi.org/10.1128/JB.185.19.5822-5830.2003>
- Duff, D. C. B. (1942). The oral immunization of trout against *Bacterium salmonicida*. *Journal of Immunology*, 44, 87–94.
- Ebensen, T., Link, C., & Guzmán, C. A. (2004). Classical and novel vaccination strategies: A comparison. In S. H. E. Kaufmann (Ed.), *Novel vaccination strategies* (pp. 1–25). Wiley-VCH.
- Elola-Lopez, A., Esquivel, M. J., Bergmann, C., Beltran, S., Osorio, G., & Trombert, A. N. (2015). PCR restriction fragment length polymorphism analyses of *Vibrio parahaemolyticus* MAM-7 virulence gene in clinical and environmental strains. *Electronic Journal of Biology*, 11(4), 119–125.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2019). *FAO yearbook: Fishery and aquaculture statistics 2017/FAO annuaire*. FAO.
- Frans, I., Michiels, C. W., Bossier, P., Willems, K., Lievens, B., & Rediers, H. (2011). *Vibrio anguillarum* as a fish pathogen: Virulence factors, diagnosis and prevention. *Journal of Fish Diseases*, 34(9), 643–661. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01313.x>

- Frans, I., Michiels, C. W., Bossier, P., Willems, K., Lievens, B., & Rediers, H. (2011). *Vibrio anguillarum* as a fish pathogen: Virulence factors, diagnosis and prevention. *Veterinary Microbiology*, 153(1–2), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.04.013>
- Fujino, T., Okuno, Y., Nakada, D., Aoyama, A., Mukai, T., & Ueho, T. (1953). On the bacteriological examination of shirasu-food poisoning. *Medical Journal of Osaka University*, 4, 299–304.
- Gao, Y., Wu, H., Wang, Q., Qu, J., Liu, Q., Xiao, J., & Zhang, Y. (2014). A live attenuated combination vaccine evokes effective immune-mediated protection against *Edwardsiella tarda* and *Vibrio anguillarum*. *Vaccine*, 32(45), 5937–5944. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.08.041>
- Gargouti, A., Rashid M.N.K., Gazali, M.F., Mitsunaka, N. (2015). Detection of *tdh* and *trh* toxic genes in *Vibrio alginolyticus*. *Journal of Fish & Marine Science*.
- Ghenem, L., Elhadi, N., Alzahrani, F., & Nishibuchi, M. (2017). *Vibrio parahaemolyticus*: A review on distribution, pathogenesis, virulence determinants and epidemiology. *Saudi Journal of Medicine & Medical Sciences*, 5(2), 93–103. https://doi.org/10.4103/sjmms.sjmms_30_17
- Gjessing, M. C., Falk, K., Weli, S. C., Koppang, E. O., & Kvellestad, A. (2012). A sequential study of incomplete Freund's adjuvant-induced peritonitis in Atlantic cod. *Fish & Shellfish Immunology*, 32(1), 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.11.013>
- Gode-Potratz, C. J., & McCarter, L. L. (2011). Quorum sensing and silencing in *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Bacteriology*, 193(16), 4224–4237. <https://doi.org/10.1128/JB.05343-11>
- Goldman, M., & Lambert, P.-L. (2004). Immunological safety of vaccines: Facts, hypotheses and allegations. In S. H. E. Kaufmann (Ed.), *Novel vaccination strategies* (pp. 165–182). Wiley-VCH.
- Gutting, R. (2014). Vaccination as a preventive measure. In R. Gutting, A. Lillehaug, & O. Evensen (Eds.), *Fish vaccination*, John Wiley & Sons.
- Guo, Y., Zhang, W., Zhang, Y., & Wang, Z. (2022). DNA vaccines in aquaculture: A review of recent advances and future perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 222. <https://doi.org/10.3390/ijms23010222>
- Gutierrez West, C. K., Klein, S. L., & Lovell, C. R. (2013). High frequency of virulence factor genes *tdh*, *trh*, and *tlh* in *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from a pristine estuary. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(7), 2247–2252. <https://doi.org/10.1128/AEM.03908-12>
- Hamada, D., Higurashi, T., Mayanagi, K., Miyata, T., Fukui, T., Iida, T., Honda, T., & Yanagihara, I. (2007). Tetrameric structure of thermostable direct hemolysin from *Vibrio parahaemolyticus* revealed by ultracentrifugation, small-angle X-ray scattering and electron microscopy. *Journal of Molecular Biology*, 365(1), 187–195. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.09.034>

- Håstein, T., Gudding, R., & Evensen, Ø. (2005). Bacterial vaccines for fish – An update of the current situation worldwide. In P. J. Midtlyng (Ed.), *Progress in fish vaccinology* (Vol. 121, pp. 55–74). Karger. <https://doi.org/10.1159/000086882>
- Honda, T., & Iida, T. (1993). The pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* and the role of thermostable direct hemolysin and related hemolysins. *Reviews in Medical Microbiology*, 4(2), 106–113.
- Hu, Y. H., Deng, T., Sun, B. G., & Sun, L. (2012). Development and efficacy of an attenuated *Vibrio harveyi* vaccine candidate with cross protectivity against *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 32(6), 1155–1161. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.03.022>
- Huzmi, H., M., I.-S., M., N. F., Syukri, F., & Karim, M. (2019). Strategies of controlling vibriosis in fish. *Asian Journal of Applied Sciences*, 7(5).
- Ina-Salwany, M. Y., Al-Saari, N., Mohamad, A., Mursidi, F.-A., Mohd-Aris, A., Amal, M. N. A., Kasai, H., Mino, S., Sawabe, T., & Zamri-Saad, M. (2019). Vibriosis in fish: A review on disease development and prevention. *Journal of Aquatic Animal Health*, 31(1), 3–22. <https://doi.org/10.1002/aah.10045>
- Integrated DNA Technology (IDT). (2011). Mutagenesis application guide: Experimental overview, protocol, troubleshooting. *Integrated DNA Technologies*. <http://www.idtdna.com>
- Ji, Q., Wang, S., Ma, J., & Liu, Q. (2020). Progress in the development of fish *Vibrio* spp. vaccines. *Immunology Letters*, 226, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2020.07.003>
- Jia, A., Woo, N.Y.S., Zhang, X. H., (2010). Expression, purification, and characterization of thermolabile hemolysin (TLH) from *Vibrio alginolyticus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 90(2), 121–127. <https://doi.org/10.3354/dao02219>
- Kao, D. Y., Cheng, Y. C., Kuo, T. Y., Lin, S. B., Lin, C. C., Chow, L. P., & Chen, W. J. (2009). Salt-responsive outer membrane proteins of *Vibrio anguillarum* serotype O1 as revealed by comparative proteome. *Journal of Applied Microbiology*, 106(6), 2079–2085. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04178.x>
- Kernell Burke, A., Guthrie, L. T., Modise, T., Cormier, G., Jensen, R. V., McCarter, L. L., & Stevens, A. M. (2015). OpaR controls a network of downstream transcription factors in *Vibrio parahaemolyticus* BB22OP. *PLoS One*, 10(4), e0121863. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121863>
- Kishishita, M., Matsuoka, N., Kumagai, K., Yamasaki, S., Takeda, Y., & Nishibuchi, M. (1992). Sequence variation in the thermostable direct hemolysin-related hemolysin (trh) gene of *Vibrio parahaemolyticus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(8), 2449–2455. <https://doi.org/10.1128/aem.58.8.2449-2455.1992>
- Krachler, A. M., Ham, H., & Orth, K. (2011). Outer membrane adhesion factor multivalent adhesion molecule 7 initiates host cell binding during infection by Gram-negative

- pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(28), 11614–11619. <https://doi.org/10.1073/pnas.1102360108>
- Kubota, S. S., & Takakuwa, M. (1963). Studies on the disease of marine culture fishes. I. General description and preliminary discussion of fish diseases at Mie Prefecture. *Journal of the Faculty of Fisheries of the Prefectural University of Mie*, 6, 107–124.
- Larsen, R. A., Thomas, M. G., & Postle, K. (2006). Proton motive force, TonB-dependent transport, and osmoregulation. *Environmental Microbiology*, 8(2), 289–298. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00949.x>
- Lee, K. K. (1995). Pathogenesis studies on *Vibrio alginolyticus* in the grouper, *Epinephelus malabaricus* Bloch et Schneider. *Microbial Pathogenesis*, 19(1), 39–48. <https://doi.org/10.1006/mpat.1995.0045>
- Lemos, M. L., Balado, M., & Osorio, C. R. (2010). Anguibactin- versus vanchrobactin-mediated iron uptake in *Vibrio anguillarum*: Evolution and ecology of iron acquisition in fish pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(18), 6226–6230. <https://doi.org/10.1128/AEM.00859-10>
- Letchumanan, V., Chan, K. G., & Lee, L. H. (2014). *Vibrio parahaemolyticus*: A review on the pathogenesis, prevalence, and advance molecular identification techniques. *Frontiers in Microbiology*, 5, 705. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00705>
- Li, J., Zhou, L. R., & Woo, N. Y. S. (2003). Invasion route and pathogenic mechanisms of *Vibrio alginolyticus* to silver sea bream *Sparus sarba*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 15(4), 302–313. <https://doi.org/10.1577/H02-055>
- Li, L., & Ma, Y. (2017). Hemolysin and its regulation in *Vibrio anguillarum*. *Microbial Pathogenesis*, 102, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.11.006>
- Li, L., Rock, J. L., & Nelson, D. R. (2008). Identification and characterization of a repeat-in-toxin gene cluster in *Vibrio anguillarum*. *Infection and Immunity*, 76(6), 2620–2632. <https://doi.org/10.1128/IAI.01577-07>
- Li, N., Yang, Z., Bai, J., Fu, X., Liu, L., Shi, C., & Wu, S. (2010). A shared antigen among *Vibrio* species: Outer membrane protein-OmpK as a versatile vibriosis vaccine candidate in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *Fish & Shellfish Immunology*, 28(5–6), 952–956. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.01.020>
- Li, Y., Wang, N., Liu, D., Cao, X., & Li, J. (2008). Cloning and expression analysis of rtxA gene from *Vibrio anguillarum*. *Microbial Pathogenesis*, 45(5–6), 343–348. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2008.09.003>
- Li, Y., Yu, L., Yang, H., & Yu, R. (2015). *Vibrio alginolyticus* strain OA-1 toxR gene, complete coding sequence. GenBank: KP146109. National Center for Biotechnology Information.

- Liang, H., Xia, L., Wu, Z., Jian, J., & Lu, Y. (2010). Expression, characterization and immunogenicity of flagellin FlaC from *Vibrio alginolyticus* strain HY9901. *Fish & Shellfish Immunology*, 29(2), 343–348. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.04.003>
- Liang, Y., Wang, H., & Wang, C. (2011). Immune responses in red drum (*Sciaenops ocellatus*) induced by DNA vaccine encoding flagellin gene (flaA) from *Vibrio alginolyticus*. *Letters in Applied Microbiology*, 53(4), 307–314. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03111.x>
- Liu, Q., Xu, Z., & Zhang, Y. (2011). Protection of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) against *Vibrio parahaemolyticus* infection with a DNA vaccine encoding extracellular serine protease. *Fish & Shellfish Immunology*, 30(2), 315–318. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.11.007>
- Lu, Y., Wang, X., Chen, X., & Liu, X. (2024). Advances in DNA vaccine applications against aquatic bacterial pathogens. *Cells*, 13(3), 340. <https://doi.org/10.3390/cells13030340>
- Lun, J., Wu, X., Qiao, Y., et al. (2025). Multi-epitope vaccine development against *Vibrio* infections: In silico design and immunoinformatics approach. *Aquaculture Reports*, 27, 101496. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.101496>
- Ma, J., Bruce, T. J., Jones, E. M., & Cain, K. D. (2019). A review of fish vaccine development strategies: Conventional methods and modern biotechnological approaches. *Microorganisms*, 7(11), 569. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7110569>
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (2000). Brock biology of microorganisms (9th ed.). Prentice-Hall.
- Makino, K., Oshima, K., Kurokawa, K., Yokoyama, K., Uda, T., Tagomori, K., et al. (2003). Genome sequence of *Vibrio parahaemolyticus*: A pathogenic mechanism distinct from that of *V. cholerae*. *The Lancet*, 361(9359), 743–749. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12659-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12659-1)
- Marco-Noales, E., Milan, M., Fouz, B., Sanjuan, E., & Amaro, C. (2001). Transmission to eels, portals of entry, and putative reservoirs of *Vibrio vulnificus* serovar E (biotype 2). *Applied and Environmental Microbiology*, 67(10), 4717–4725. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.10.4717-4725.2001>
- Matsuda, S., Kodama, T., Okada, N., Okayama, K., Honda, T., & Iida, T. (2010). Association of *Vibrio parahaemolyticus* thermostable direct hemolysin with lipid rafts is essential for cytotoxicity but not hemolytic activity. *Infection and Immunity*, 78(2), 603–610. <https://doi.org/10.1128/IAI.00661-09>
- McCarter, L. L. (2004). Dual flagellar systems enable motility under different circumstances. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 7(1–2), 18–29. <https://doi.org/10.1159/000077865>
- McGee, K., Horstedt, P., & Milton, D. L. (1996). Identification and characterization of additional flagellin genes from *Vibrio anguillarum*. *Journal of Bacteriology*, 178(17), 5188–5198. <https://doi.org/10.1128/jb.178.17.5188-5198.1996>

- McGee, K., Zhai, Y., Sommer, D., & Crosa, J. H. (1996). Genetic analysis of the flagellar regulon in *Vibrio anguillarum*. *Journal of Bacteriology*, 178(6), 1793–1798. <https://doi.org/10.1128/jb.178.6.1793-1798.1996>
- Mediterranean Journal of Infection, Microbes and Antimicrobials. (2022). *Mediterranean Journal of Infection Microbes Antimicrobials*, 11(1), 1–1. <https://doi.org/10.4274/mjima.galenos.2021.2021.1>
- Mellado, E., Moore, E. R. B., Nieto, J. J., & Ventosa, A. (1996). Analysis of 16S rRNA gene sequences of *Vibrio costicola* strains: Description of *Salinivibrio costicola* gen. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46(3), 817–821. <https://doi.org/10.1099/00207713-46-3-817>
- Miller, V. L., & Mekalanos, J. J. (1988). A novel suicide vector and its use in construction of insertion mutations: *toxR* regulation of *Vibrio cholerae* outer membrane proteins. *Journal of Bacteriology*, 170(6), 2575–2583. <https://doi.org/10.1128/jb.170.6.2575-2583.1988>
- Milton, D. L. (2006). Quorum sensing in vibrios: Complexity for diversification. *International Journal of Medical Microbiology*, 296(1), 61–71. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2006.01.044>
- Milton, D. L., O'Toole, R., Horstedt, P., & Wolf-Watz, H. (1996). Flagellin A is essential for the virulence of *Vibrio anguillarum*. *Journal of Bacteriology*, 178(5), 1310–1319. <https://doi.org/10.1128/jb.178.5.1310-1319.1996>
- Morris, J. G., Jr., & Tenney, J. (1985). Antibiotic therapy for *Vibrio vulnificus* infection. *JAMA*, 253(8), 1121–1122. <https://doi.org/10.1001/jama.253.8.1121>
- Naghashyan, H. Z., Hakobyan, A. R., & Martirosyan, A. A. (2018). A new disease in fish farms of Armenia. *Annals of Agrarian Science*, 16(4), 410–412. <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2018.06.002>
- Nair, G. B., Abraham, M., & Natarajan, R. (1980). Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in finfish harvested from Porto Novo (S. India) environs: A seasonal study. *Canadian Journal of Microbiology*, 26(11), 1264–1269. <https://doi.org/10.1139/m80-215>
- Naka, H., & Crosa, J. H. (2003). Complete DNA sequence and analysis of the virulence plasmid pJM1 from *Vibrio anguillarum* 775. *Infection and Immunity*, 71(6), 3158–3166. <https://doi.org/10.1128/IAI.71.6.3158-3166.2003>
- Naka, H., Actis, L. A., & Crosa, J. H. (2004). Sequence and analysis of the anguibactin biosynthesis and transport genes of *Vibrio anguillarum* 775 (pJM1). *Infection and Immunity*, 72(12), 7013–7026. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.12.7013-7026.2004>
- Naka, H., Dias, G. M., Thompson, C. C., Dubay, C., Thompson, F. L., & Crosa, J. H. (2011). Complete genome sequence of the marine fish pathogen *Vibrio anguillarum* strain 775. *Journal of Bacteriology*, 193(13), 3402–3403. <https://doi.org/10.1128/JB.05057-11>

- Naka, H., Dias, G. M., Thompson, C. C., Dubay, C., Thompson, F. L., & Crosa, J. H. (2011). Complete genome sequence of the marine fish pathogen *Vibrio anguillarum* harboring the pJM1 virulence plasmid and genomic comparison with other virulent strains of *V. anguillarum* and *V. ordalii*. *Infection and Immunity*, 79(7), 2889–2900. <https://doi.org/10.1128/IAI.05138-11>
- Neary, E. T., Develi, N., & Yüksel, S. A. (2008). Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan aşılar. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(2), 29–35.
- Nelapati, S., Nelapati, K., & Chinnam, B. K. (2012). *Vibrio parahaemolyticus*—An emerging foodborne pathogen—A review. *Veterinary World*, 5(1), 48–63. <https://doi.org/10.5455/vetworld.2012.48-63>
- Nguyen, H. T., Nguyena, T. T. T., Tsai, M.-A., Ya-Zhena, E., Wang, P.-C., & Chen, S.-C. (2017). A formalin-inactivated vaccine provides good protection against *Vibrio harveyi* infection in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *Fish & Shellfish Immunology*, 65, 118–126. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.04.012>
- Nishibuchi, M., & Kaper, J. B. (1985). Nucleotide sequence of the thermostable direct hemolysin gene of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Bacteriology*, 162(2), 558–564. <https://doi.org/10.1128/jb.162.2.558-564.1985>
- Nishibuchi, M., Fasano, A., Russell, R. G., & Kaper, J. B. (1992). Enterotoxigenicity of *Vibrio parahaemolyticus* with and without genes encoding thermostable direct hemolysin. *Infection and Immunity*, 60(9), 3539–3545. <https://doi.org/10.1128/iai.60.9.3539-3545.1992>
- Nishibuchi, M., Kaper, J. B., & Seidler, R. J. (1992). Nucleotide sequence of the thermostable direct hemolysin-related hemolysin (trh) gene of *Vibrio parahaemolyticus*. GenBank: D25348.1. *National Center for Biotechnology Information*.
- Nishibuchi, M., Taniguchi, T., Misawa, T., Khaeomanee-Iam, V., Honda, T., & Miwatani, T. (1989). Cloning and nucleotide sequence of the gene (trh) encoding the hemolysin related to the thermostable direct hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus*. *Infection and Immunity*, 57(9), 2691–2697. <https://doi.org/10.1128/iai.57.9.2691-2697.1989>
- Noonan, B., & Trust, T. J. (1995). Molecular characterization of O-antigen biosynthesis genes in *Vibrio anguillarum*. *Journal of Bacteriology*, 177(16), 4777–4787. <https://doi.org/10.1128/jb.177.16.4777-4787.1995>
- Nor Najwa, M., Daniel, A.M.D., Amin, M., Efseudy, A.W.M. (2015). Detection of virulence genes in *Vibrio alginolyticus* isolated from green mussel (*Perna viridis*). *Jurnal Teknologi*, 77(1), 255–259.
- Norqvist, A., Hagström, A., & Wolf-Watz, H. (1989). Protection of rainbow trout against vibriosis and furunculosis by the use of attenuated strains of *Vibrio anguillarum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(6), 1400–1405. <https://doi.org/10.1128/aem.55.6.1400-1405.1989>

- Norqvist, A., Norrman, B., & Wolf-Watz, H. (1990). Identification and characterization of a zinc metalloprotease associated with invasion by the fish pathogen *Vibrio anguillarum*. *Infection and Immunity*, 58(11), 3731–3736. <https://doi.org/10.1128/iai.58.11.3731-3736.1990>
- O'Hagan, D. T. (1998). Recent advances in vaccine adjuvants for systemic and mucosal administration. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 50(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1998.tb03304.x>
- Okuda, J., Ishibashi, M., Abbott, S. L., Janda, J. M., & Nishibuchi, M. (1997). Analysis of the thermostable direct hemolysin (trh) gene and tdh-related hemolysin (trh) genes in urease-positive strains of *Vibrio parahaemolyticus* isolated on the west coast of the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(8), 1965–1971. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.8.1965-1971.1997>
- Okuda, J., Ishibashi, M., Hayakawa, E., Nishino, T., Takeda, Y., & Nishibuchi, M. (1997). Nucleotide sequence of the toxR and toxS genes of *Vibrio parahaemolyticus*. GenBank: AB029914.1. National Center for Biotechnology Information.
- Ormonde, P., Hörstedt, P., O'Toole, R., & Milton, D. L. (2000). Role of motility in adherence to and invasion of a fish cell line by *Vibrio anguillarum*. *Journal of Bacteriology*, 182(8), 2326–2328. <https://doi.org/10.1128/JB.182.8.2326-2328.2000>
- Pacini, F. (1854). Osservazione microscopiche e deduzioni patologiche sul cholera asiatico. *Gazette Medica de Italiana Toscana Firenze*, 6, 405–412.
- Pal, D., & Das, N. (2010). Isolation, identification and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* from fish samples in Kolkata. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 14(6), 545–549.
- Parvathi, A., Kumar, H. S., Bhanumathi, A., Ishibashi, M., Nishibuchi, M., & Karunasagar, I. (2006). Molecular characterization of thermostable direct haemolysin-related haemolysin (TRH)-positive *Vibrio parahaemolyticus* from oysters in Mangalore, India. *Environmental Microbiology*, 8(6), 997–1004. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00990.x>
- Pedersen, K., Grisez, L., van Houdt, R., Tiainen, T., Ollevier, F., & Larsen, J. L. (1999). Extended serotyping scheme for *Vibrio anguillarum* with the definition and characterization of seven provisional O-serogroups. *Current Microbiology*, 38(3), 183–189. <https://doi.org/10.1007/PL00006788>
- Pizarro-Cerdá, J., & Cossart, P. (2006). Bacterial adhesion and entry into host cells. *Cell*, 124(4), 715–727. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.012>
- Pore, D., Chowdhury, P., Mahata, N., Pal, A., Yamasaki, S., Mahalanabis, D., & Chakrabarti, M. K. (2009). Purification and characterization of an immunogenic outer membrane protein of *Shigella flexneri* 2a. *Vaccine*, 27(42), 5855–5864. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.07.058>

- Qadri, F., Chowdhury, N. R., Takeda, Y., & Nair, G. B. (2005). *Vibrio parahaemolyticus*—Seafood safety and associations with higher organisms. In S. Belkin & R. R. Colwell (Eds.), *Oceans and health: Pathogens in the marine environment* (pp. 277–295). Springer. https://doi.org/10.1007/0-387-23709-7_13
- Raghunath, P. (2014). Roles of thermostable direct hemolysin (TDH) and TDH-related hemolysin (TRH) in clinical and environmental isolates of *Vibrio parahaemolyticus*. *Frontiers in Microbiology*, 5, 805. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00805>
- Raghunath, P. (2015). Roles of thermostable direct hemolysin (TDH) and TDH-related hemolysin (TRH) in *Vibrio parahaemolyticus*. *Frontiers in Microbiology*, 5, 805. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00805>
- Raghunath, P., Karunasagar, I., & Karunasagar, I. (2009). Improved isolation and detection of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* from seafood using a new enrichment broth. *International Journal of Food Microbiology*, 129(3), 200–203. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.12.011>
- Raimondi, F., Kao, J. P. Y., Kaper, J. B., Guandalini, S., & Fasano, A. (1995). Calcium dependent intestinal chloride secretion by *Vibrio parahaemolyticus* thermostable direct hemolysin in a rabbit model. *Gastroenterology*, 109(2), 381–386. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(95\)90322-1](https://doi.org/10.1016/0016-5085(95)90322-1)
- Ramesh, D., Zhou, C., & Li, Y. (2021). Broad-spectrum vaccines against fish *Vibrio* pathogens: Advances in epitope prediction and validation. *Fish & Shellfish Immunology*, 115, 186–195. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.06.012>
- Rodkhum, C., Hirono, I., Crosa, J. H., & Aoki, T. (2005). Four novel hemolysin genes of *Vibrio anguillarum* and their virulence to rainbow trout. *Microbial Pathogenesis*, 39(4), 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2005.06.004>
- Rodkhum, C., Hirono, I., Crosa, J. H., & Aoki, T. (2005). The hemA gene of *Vibrio anguillarum* is essential for heme biosynthesis. *Journal of Fish Diseases*, 28(9), 541–550. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2005.00665.x>
- Rodkhum, C., Hirono, I., Stork, M., Di Lorenzo, M., Crosa, J. H., & Aoki, T. (2006). Putative virulence-related genes in *Vibrio anguillarum* identified by random genome sequencing. *Journal of Fish Diseases*, 29(3), 157–166. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2006.00711.x>
- Rucker, R. R. (1963). Status of fish diseases and relation to production. In *Report of the Second Governors Conference on Pacific Salmon*, Seattle.
- Rui, H., Liu, Q., Wang, Q., Ma, Y., Huan, L., Shi, C., Zhaug, Y.. (2009). Role of alkaline serine protease Asp in *Vibrio alginolyticus* virulence and regulation of its expression by LuxO. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(5), 431–438.
- Ruwandeeepika, H. A. D., Jayaweera, T. S. P., Bhowmick, P. P., Karunasagar, I., Bossier, P., & Defoirdt, T. (2012). Pathogenesis, virulence factors and virulence regulation of vibrios

- belonging to the *Harveyi* clade. *Reviews in Aquaculture*, 4(2), 59–74. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2012.01061.x>
- Shinoda, S. (2011). Sixty years from the discovery of *Vibrio parahaemolyticus* and some recollections. *Biocontrol Science*, 16(3), 129–137. <https://doi.org/10.4265/bio.16.129>
- Shinoda, S., Miyoshi, S., & Yamamoto, S. (1991). Nucleotide sequence of the thermostable direct hemolysin (TDH) gene of *Vibrio parahaemolyticus*. GenBank: D90238.1. National Center for Biotechnology Information.
- Shoemaker, C. A., & Klesius, P. H. (2009). Use of modified live vaccines in aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(5), 573–584. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2009.00282.x>
- Silva, A., Leite, R. C., Martins, W. F., & de Oliveira, T. L. (2021). Reverse vaccinology for aquaculture: An overview of progress in vaccine development against *Vibrio* species. *Reviews in Aquaculture*, 13(2), 942–956. <https://doi.org/10.1111/raq.12500>
- Soengas, R. G., Anta, C., Espada, A., Paz, V., Ares, I. R., Balado, M., Rodríguez, J., Lemos, M. L., & Jiménez, C. (2006). Structural characterization of vanchrobactin, a new catechol siderophore produced by the fish pathogen *Vibrio anguillarum* serotype O2. *Tetrahedron Letters*, 47(39), 7113–7116. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.07.072>
- Sommerset, I., Krossøy, B., Biering, E., & Frost, P. (2005). Vaccines for fish in aquaculture. *Expert Review of Vaccines*, 4(1), 89–101. <https://doi.org/10.1586/14760584.4.1.89>
- Stork, M., Di Lorenzo, M., Welch, T. J., & Crosa, J. H. (2004). Transcriptional organization and regulation of genes involved in anguibactin biosynthesis and transport in *Vibrio anguillarum*. *Infection and Immunity*, 72(5), 2555–2563. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.5.2555-2563.2004>
- Stork, M., Di Lorenzo, M., Welch, T. J., Crosa, L. M., & Crosa, J. H. (2002). Plasmid-mediated iron uptake and virulence in *Vibrio anguillarum*. *Plasmid*, 48(3), 222–228. [https://doi.org/10.1016/S0147-619X\(02\)00117-1](https://doi.org/10.1016/S0147-619X(02)00117-1)
- Tafalla, C., Bogwald, J., & Dalmo, R. A. (2013). Adjuvants and immunostimulants in fish vaccines: Current knowledge and future perspectives. *Fish & Shellfish Immunology*, 35(6), 1740–1750. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.05.029>
- Takahashi, A., Kenjyo, N., Imura, K., Myonsun, Y., & Honda, T. (2000). Cl(-) secretion in colonic epithelial cells induced by the *Vibrio parahaemolyticus* hemolytic toxin related to thermostable direct hemolysin. *Infection and Immunity*, 68(9), 5435–5438. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.9.5435-5438.2000>
- Tan, L. P., Auzureen-Ain M. Z., Mohamed, M., Ghazali, M.F., Shean, C.S., (2024). Antibiotic resistance and virulence genes of *Vibrio alginolyticus* from Asian seabass in Malaysia. *Sarhad Journal of Agriculture*, 40(S1), 235–248.
- Tang, H. J., Chang, M. C., Ko, W. C., Huang, K. Y., Lee, C. L., & Chuang, K. Y. C. (2002). In vitro and in vivo activities of newer fluoroquinolones against *Vibrio vulnificus*.

- Thompson, F. L., Hoste, B., Thompson, C. C., Goris, J., Gomez-Gil, B., Huys, L., & Swings, J. (2002). *Enterovibrio norvegicus* gen. nov., sp. nov., isolated from the gut of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae: A new member of the family Vibrionaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(6), 2015–2022. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-6-2015>
- Thompson, F. L., Hoste, B., Vandemeulebroecke, K., & Swings, J. (2003). Reclassification of *Vibrio hollisae* as *Grimontia hollisae* gen. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(5), 1615–1617. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.02613-0>
- Tlaxca, J. L., Ellis, S., & Remmele, R. L. (2015). Live attenuated and inactivated viral vaccine formulation and nasal delivery: Potential and challenges. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 93, 56–78. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.03.001>
- Urbanczyk, H., Ast, J. C., Higgins, M. J., Carson, J., & Dunlap, P. V. (2007). Reclassification of *Vibrio fischeri*, *Vibrio logei*, *Vibrio salmonicida* and *Vibrio wodanis* as *Aliivibrio fischeri* gen. nov., comb. nov., *Aliivibrio logei* comb. nov., *Aliivibrio salmonicida* comb. nov. and *Aliivibrio wodanis* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(12), 2823–2829. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.65081-0>
- Velazquez-Roman, J., León-Sicairos, N., Flores-Villaseñor, H., Villafaña-Rauda, S., & Canizalez-Roman, A. (2012). Association of pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 present in the coastal environment of Northwest Mexico with cases of recurrent diarrhea between 2004 and 2010. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(6), 1794–1803. <https://doi.org/10.1128/AEM.06953-11>
- Wang, J., Zou, L. L., & Li, A. X. (2014). Construction of a *Streptococcus iniae* sortase A mutant and evaluation of its potential as an attenuated modified live vaccine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 40(2), 392–398. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.07.018>
- Wang, L., Ling, Y., Jiang, H., Qiu, Y., Qiu, J., Chen, H., Yang, R., & Zhou, D. (2013). AphA is required for biofilm formation, motility, and virulence in pandemic *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Food Microbiology*, 160(3), 245–251. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.11.005>
- Wang, R., Fang, S., Wu, D., Lian, J., Fan, J., Zhang, Y., Wang, S., & Lin, W. (2012). Screening for a single-chain variable-fragment antibody that can effectively neutralize the cytotoxicity of the *Vibrio parahaemolyticus* thermolabile hemolysin. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(14), 4967–4975. <https://doi.org/10.1128/AEM.00586-12>
- Wang, S.-Y., Lauritz, J., Jass, J., & Milton, D. L. (2003). Role for the major outer-membrane protein from *Vibrio anguillarum* in bile resistance and biofilm formation. *Microbiology*, 149(4), 1061–1071. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26069-0>

- Wei, G., Cai, S., Wu, Y., Ma, S., & Huang, Y. (2020). Immune effect of *Vibrio harveyi* formalin-killed cells vaccine combined with chitosan oligosaccharide and astragalus polysaccharides in ♀*Epinephelus fuscoguttatus*♂*Epinephelus lanceolatus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 98, 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.027>
- Welch, T. J., Chai, S., & Crosa, J. H. (2000). The overlapping angB and angG genes are encoded within the trans-acting factor region of the virulence plasmid in *Vibrio anguillarum*: Essential role in siderophore biosynthesis. *Journal of Bacteriology*, 182(23), 6762–6773. <https://doi.org/10.1128/JB.182.23.6762-6773.2000>
- Wertheimer, A. M., Verweij, W., Chen, Q., Crosa, L. M., Nagasawa, M., Tolmasky, M. E., & Crosa, J. H. (1999). Characterization of the angR gene of *Vibrio anguillarum*: Essential role in virulence. *Infection and Immunity*, 67(12), 6496–6509. <https://doi.org/10.1128/IAI.67.12.6496-6509.1999>
- Weyant, R. S., Hollis, D. G., Weaver, R. E., & Jordan, J. G. (1995). *Identification of unusual pathogenic gram-negative aerobic and facultatively anaerobic bacteria* (2nd ed.). Williams & Wilkins.
- Xie, C., Hu, C., Tang, B., Zhao, J., & Lu, C. (2005). Detection of virulence genes in *Vibrio anguillarum* by PCR. *Journal of Fish Diseases*, 28(11), 661–667. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2005.00674.x>
- Xu, X., Wu, Q., Zhang, J., Cheng, J., Zhang, S., & Wu, K. (2014). Occurrence and characterization of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in retail aquatic products in China. *Food Control*, 46, 243–248. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.025>
- Yamasaki, M., Araki, K., Maruyoshi, K., Matsumoto, M., Nakayasu, C., Moritomo, T., et al. (2015). Comparative analysis of adaptive immune response after vaccine trials using live attenuated and formalin-killed cells of *Edwardsiella tarda* in gibel carp (*Carassius auratus langsdorffii*). *Fish & Shellfish Immunology*, 45(2), 437–442. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.04.009>
- Yang, R., Johnson, M. C., & Ray, B. (1992). Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(10), 3355–3359. <https://doi.org/10.1128/aem.58.10.3355-3359.1992>
- Yildiz, F. H., & Schoolnik, G. K. (1999). *Vibrio* polysaccharide (vps) gene cluster influences biofilm formation and colonization in *Vibrio cholerae* O1 El Tor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(7), 4028–4033. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.7.4028>
- Yildiz, F. H., & Visick, K. L. (2009). *Vibrio* biofilms: So much the same yet so different. *Trends in Microbiology*, 17(3), 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.12.004>
- Yu, Y., Yang, H., Li, J., Zhang, P., Wu, B., Zhu, B., & Zhang, Y. (2012). Putative type VI secretion systems of *Vibrio parahaemolyticus* contribute to adhesion to cultured cell monolayers. *Archives of Microbiology*, 194(10), 827–835. <https://doi.org/10.1007/s00203-012-0810-1>

- Zhang, L., Orth, K., & Stevens, D. L. (2012). Virulence determinants of *Vibrio vulnificus*. *Infectious Disease Clinics of North America*, 26(3), 583–596. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2012.05.005>
- Zhang, X. H., Meaden, P. G., & Austin, B. (2001). Duplication of hemolysin genes in *Vibrio harveyi*: Implications for virulence. *FEMS Microbiology Letters*, 201(2), 271–276. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2001.tb10766.x>
- Zhao, Z., Chen, C., Hu, C., & Luo, P. (2010). Involvement of the *rpoS* gene in the stress response of *Vibrio anguillarum*. *Journal of Fish Diseases*, 33(1), 57–63. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01086.x>
- Zhou, D., Han, Y., Qiu, J., Qin, L., Yang, R., & Wang, X. (2009). Identification of a ferric vibriobactin receptor gene in *Vibrio parahaemolyticus* and its role in iron utilization and virulence. *Microbiology*, 155(8), 2746–2758. <https://doi.org/10.1099/mic.0.028696-0>
- Zhou, Y., Zhang, L., Li, H., & Zhang, X. H. (2010). Identification and characterization of a novel cytotoxin from *Vibrio harveyi*. *FEMS Microbiology Letters*, 307(1), 65–71. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.01969.x>
- Zorrilla, I., Balebona, M. C., Morinigo, M. A., & Borrego, J. J. (1999). Isolation of *Vibrio alginolyticus* from gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) with pasteurellosis-like symptoms. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 19(5), 191–194.
- Zorrilla, I., Morinigo, M. A., Balebona, M. C., & Borrego, J. J. (2000). *Vibrio* species isolated from cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) with vibriosis. *Diseases of Aquatic Organisms*, 42(1), 1–7. <https://doi.org/10.3354/dao042001>
- Zou, L. L., Li, Y. W., & Li, A. X. (2013). Evaluation of the efficacy of an inactivated *Aeromonas hydrophila* vaccine in juvenile channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 34(2), 543–547. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.11.018>
- Zou, L. L., Wang, J., & Li, A. X. (2014). Development of a live attenuated vaccine against *Aeromonas hydrophila* for use in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Fish & Shellfish Immunology*, 40(2), 524–529. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.07.019>
- Zou, L. L., Zhang, M. Q., & Li, A. X. (2014). Efficacy of a *Vibrio alginolyticus* formalin-killed vaccine in juvenile orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *Fish & Shellfish Immunology*, 38(1), 168–173. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.03.019>
- Zou, L. L., Zhou, Y., & Li, A. X. (2013). Evaluation of the efficacy of a *Vibrio harveyi* formalin-killed vaccine in juvenile orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *Fish & Shellfish Immunology*, 35(2), 585–589. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.05.022>
- Zou, S. M., Sun, Y. H., & Xu, X. (2009). Morphological and molecular evidence for the occurrence of hybridization between two fish species (*Oncorhynchus mykiss* and *Salmo trutta*). *Journal of Fish Biology*, 75(4), 965–971. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02328.x>

- Zou, W., & Wang, Y. (2011). Detection and analysis of virulence genes in *Vibrio parahaemolyticus* isolated from aquatic products in China. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 23(3), 265–269.
- Zou, W., Wang, Y., & Zhang, L. (2010). Investigation of *Vibrio parahaemolyticus* contamination in aquatic products in Shanghai. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 22(5), 443–447.
- Zou, W., Zhang, L., & Wang, Y. (2012). Prevalence and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in retail aquatic products in China. *Journal of Food Protection*, 75(5), 1000–1004. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-433>
- Zou, W., Zhang, L., Wang, Y., & Xu, H. (2011). Serotyping and virulence gene detection of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from aquatic products. *Chinese Journal of Zoonoses*, 27(12), 1164–1168.
- Zou, W., Zhang, L., Zhang, J., & Wang, Y. (2010). Isolation and identification of *Vibrio parahaemolyticus* from aquatic products. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 22(2), 161–164.
- Zou, Y., Wu, Y., & Li, A. X. (2014). Protective immunity of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) immunized with an inactivated *Vibrio harveyi* vaccine. *Aquaculture*, 433, 224–229. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.06.025>
- Zou, Y., Zhang, X. H., & Li, A. X. (2011). Development of a live attenuated vaccine against *Vibrio harveyi* for use in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *Fish & Shellfish Immunology*, 30(2), 599–604. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.11.021>
- Zou, Y., Zhou, Y., & Li, A. X. (2012). Development and efficacy of an inactivated *Vibrio harveyi* vaccine for use in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *Fish & Shellfish Immunology*, 32(6), 1183–1187. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.03.005>
- Zou, Y., Zhou, Y., Wang, Y., & Li, A. X. (2013). Efficacy of a formalin-killed *Vibrio harveyi* vaccine in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *Journal of Applied Microbiology*, 115(3), 673–680. <https://doi.org/10.1111/jam.12249>
- Zou, Z., Zhang, Y., & Li, Y. (2014). Antimicrobial susceptibility and resistance genes of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from aquatic products in China. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 26(5), 472–476.
- Zulkifli, Y., Alithean, N.B., Son, R., Yeap, S.K., Lesley, M.B., Auha, A.R. (2009). Identification of *Vibrio parahaemolyticus* isolates by PCR targeted to the *toxR* gene. *International Food Research Journal*, 16(3), 289–296.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİLİMSEL ETİK BEYANI

“BALIKLARDA *VİBRİO* ENFEKSİYONLARINA KARŞI AŞI GELİŞTİRİLMESİ: *İN SİLİCO* ANTİJEN ANALİZİ I” başlıklı Yüksek Lisans/Doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

28/07/2025

Yağmur YILDIRIM EVCİM

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : YILDIRIM EVCİM Yağmur
Uyruk : Türk
Doğum yeri ve tarihi : 26/08/1996 Denizli
Telefon : 0535 010 87 93
E-posta : yagmuryildirim1996@gmail.com
Yabancı dil : İngilizce C1

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2019

BURSLAR ve ÖDÜLLER

100/2000 Doktora Bursu Programı

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2023-Devam Ediyor	Vetmingo Veteriner Kliniği	Veteriner Hekim

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

Yıldırım, Y., & Diker, K. S. (2021). Akuakültürde Probiyotikler. Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences, 6(4), 604-613.