

Amerikan yavru çürüklüğünde bakteriyofaj kullanımı

Alper METE¹
Deniz KESEN²
Kemal METİNER^{*3}

Geliş tarihi / Received: 11.02.2026

Düzeltilerek geliş tarihi / Received in revised form: 14.04.2026

Kabul tarihi / Accepted: 14.04.2026

DOI: 10.17932/IAU.ABMYOD.2006.005/abmyod_v21i73003

Öz

Bal arısı (Apis mellifera L.), ekonomik açıdan bitkisel tarım ürünlerinin dünyadaki en önemli tozlaştırıcısıdır. Bal arılarını olumsuz etkileyen etkenler, onların yaşama gücünü ve verimini düşürebilmektedir.

Bu tehditlerden biri de Paenibacillus larvae'nın neden olduğu Amerikan Yavru Çürüklüğü (AYÇ) enfeksiyonudur. P. larvae Gram pozitif, sporlu, mortalite oranı yüksek, dünya genelinde yayılmış olan epizootik nitelikte enfeksiyona neden olmaktadır.

AYÇ, özellikle larva döneminde %100'e varan ölümlere neden olarak küresel arıcılık sektöründe önemli ekonomik kayıplara yol açan ciddi bir enfeksiyondur. Özellikle ERIC I suşu ile enfekte larvaların 12 gün içinde %100 öldüğü, ERIC II suşu ile enfekte larvaların ise yaklaşık 7 gün içinde öldüğü görülmüştür.

Günümüzde antibiyotik kullanımının yasaklanması, AYÇ tedavisinde alternatif yaklaşımlara olan ihtiyacı artırmıştır. Bu kapsamda bakteriyofajlar, özgül etkileri, çevresel güvenlik profilleri ve bal arılarının mikrobiyotasına minimal etkileri sayesinde umut vadeden biyolojik ajanlar olarak ön plana çıkmaktadır.

¹ İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimleri Bölümü, Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı, alpermete@ogr.iuc.edu.tr, ORCID:0009-0005-5039-433X

² İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimleri Bölümü, Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı, dnzksn@gmail.com, ORCID: 0009-0006-8104-8138

^{*3} Sorumlu Yazar/ Corresponding Author: İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimleri Bölümü, Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı, kmetiner@iuc.edu.tr, ORCID:0000-0003-4105-5852

Bu derlemede, AYÇ'nin etkeni olan P. larvae'nın biyolojisi, yayılımı, mevcut teşhis yöntemleri ve bakteriyofaj temelli biyokontrol yaklaşımları güncel literatür ışığında ele alınmıştır.

AYÇ'nün kontrolünde bakteriyofajlarla yapılan mücadele yöntemleri henüz yaygın olarak uygulanmamasına rağmen, yapılan araştırmalar bakteriyofajların bal arılarını bu enfeksiyondan koruma ve tedavide potansiyelinin yüksek düzeyde olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: *Apis mellifera L., Amerikan yavru çürüklüğü, Bal arısı, Bakteriyofaj, Paenibacillus larvae.*

Use of bacteriophages in american foulbrood

Abstract

The honey bee (Apis mellifera L.) is the world's most important pollinator of plant-based agricultural products in terms of economics. Factors that negatively affect honey bees can reduce their vitality and productivity.

One of these threats, American Foulbrood (AFB), is a globally widespread, high-mortality, spore-forming, epizootic bacterial infection caused by the Gram-positive bacterium Paenibacillus larvae. AFB is a serious infection that can cause up to 100% mortality, especially in the larval stage, leading to significant economic losses in the global beekeeping industry.

Specifically, ERIC I strain cause 100% mortality in infected larvae within 12 days, while ERIC II strain kills infected larvae in about 7 days.

The contemporary ban on antibiotic use has increased the demand for alternative approaches in the treatment of AFB. In this context, bacteriophages (phages) stand out as promising biological agents due to their specific effects; environmental safety profiles, and minimal impact on the honey bee microbiota.

This review examines the biology, spread, current diagnostic methods, and bacteriophage-based biocontrol approaches for P. larvae, the causative agent of AFB, in light of current literature.

Although control methods using bacteriophages against AFB are not yet widely implemented, research demonstrates the potential of this method.

Keywords: Honey bee, *Apis mellifera* L., American foulbrood, *Paenibacillus larvae*, Bacteriophage

Giriş

Bal arısı (*Apis mellifera* L.) yetiştiriciliğinin ekonomik önemi büyüktür. Bal arıcılığı, sadece bal üretimiyle sınırlı olmayan, bitkisel üretimi artırarak gıda güvenliği ve biyoçeşitliliğe katkı sağlayan önemli bir tarımsal ve hayvancılık faaliyetidir.

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü “Food and Agriculture Organization” (FAO, 2021) istatistiklerine göre; Çin, 472.100 ton ile 2021 yılında en çok bal üretimini gerçekleştiren ülke olmuştur. Türkiye, 96.344 ton ile Çin’i takip etmektedir. 2021 yılında dünya genelinde yaklaşık olarak 1,8 milyon ton bal üretimi gerçekleşmiştir. Sahip olduğu arı koloni sayısı bakımından Türkiye, Çin’e yakın miktarda koloniye sahip olmasına karşın (Çin’de 9,2 milyon koloni, Türkiye’de 8,7 milyon koloni), bal verimi değerlendirildiğinde karşılaştırılamayacak seviyede düşük üretim verilerine sahiptir. Koloni başına 51 kg bal üretimiyle Çin, arı kolonilerinden en yüksek miktarda ürün alan ülke konumundadır. Koloni başına 11 kg bal üretimi gibi düşük bir seviyede kalan Türkiye ise Çin’i takip etmektedir (FAO, 2022; Türkiye İstatistik Kurumu [TÜİK] 2024). Bu durum, Türkiye’de yüksek arıcılık potansiyeline sahip olunmasına rağmen, verimliliğin artırılması gerektiğine işaretler (Sancak ve ark., 2013). Ayrıca, 95 bin 492 ton ile, Türkiye’nin bal üretiminin 2024 yılında bir önceki yıla göre %16,9 azaldığı görülmektedir (TÜİK, 2024).

Amerikan Yavru Çürüklüğü (AYÇ), *Paenibacillus larvae* tarafından oluşturulan ve özellikle larva döneminde ölümcül seyreden bulaşıcı bir bakteriyel hastalıktır. 1906 yılında Amerikalı Dr. G.F. White, *P. larvae*’yı ilk defa tanımlamayı başarmıştır. *P. larvae* sporları, 1-2 µ boyunda ve 0.5 µ genişliğindedir (Ashiralieva ve Genersch, 2006). *P. larvae* sporları yavru arılar için patojen olduğundan yetişkin bal arılarında enfeksiyon oluşturmaz. Larvaların beslenmesi sırasında bakteri sporları bulaşabilir ve enfeksiyona neden olabilir (Zeybek, 1991).

P. larvae Gram pozitif, sporlu, mortalite oranı yüksek enfeksiyona neden olmaktadır. *P. larvae* sporlarının, enfektif formda yıllarca çevresel

dayanıklılıklarını koruyabildiği belirtilmektedir (Heyndrickx ve ark., 1996). Sporlar, arı larvalarının sindirim sistemine girdikten sonra çimlenerek vejetatif forma dönüşerek bağırsak duvarını delip hemolenfe ulaşır. *P. larvae*, Hemolenfe ulaştığında burada çoğalmakta ve larvanın ölümüne neden olmaktadır (Gregorc ve Bowen, 1998; Hansen ve Brødsgaard, 1999). AYÇ enfeksiyonu teşhisinde klinik bulgular önemli olsa da enfeksiyonun kesin teşhisi amacıyla, laboratuvarında marazi madde muayenelerinin yapılması şarttır (Tutkun ve Boşgelmez, 2003).

P. larvae genotipleri ve karakteristik özellikleri aşağıdaki **Tablo 1**'de sunulmuştur (Genersch, 2010; Beims ve ark., 2020; Jończyk-Matysiak ve ark., 2020).

Tablo 1. *P. larvae* genotipleri ve karakteristik özellikleri

Genotip	*ERIC I	ERIC II	ERIC III – ERIC IV	ERIC V
Tür	<i>P. larvae</i>	<i>P. larvae</i>	<i>P. larvae</i> subsp. <i>pulvificiens</i>	<i>P. larvae</i>
Virülans sıklığı	Larvayı 12 gün içerisinde öldürür. En fazla görülen genotiptir. Dünyanın her yerinde bulunur.	Dünyanın genelinde, özellikle de Avrupa'da izole edilen ve en yüksek letaliteye sahip türdür.	Larvayı 7 günde öldürür. Son yıllarda identifiye edilmemiştir.	3 gün sonrasında dahi ölümlere yol açar. İspanya'da identifiye edilmiştir.
Frekans	Frekansı en yüksek genotiptir. Dünyanın her yerinde bulunur.	Dünya genelinde özellikle de Avrupa'da izole edilmiştir.	Son on yılda identifiye edilmemiştir.	İspanya'da identifiye edilmiştir.

(*) ERIC: Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (tekrarlayan enterobakteriyel intergenik konsensus diziler).

ERIC primerleri kullanılarak *P. larvae* 4 farklı genotipe ayrılmıştır. Bu genotipler değişken derecede patojenite göstererek enfeksiyona neden olduğu raporlanmıştır (Genersch ve Otten, 2003; Ashiralieva ve

Genersch, 2006). Son yıllarda yeni bir ERIC gentotipi (*P. larvae* ERIC V) tanımlanmıştır (Beims ve ark., 2020).

Amerikan Yavru Çürüklüğü (AYÇ) hastalığının etkeni olan *P. larvae*'nın virülens mekanizmaları, son yıllarda yapılan genomik ve moleküler çalışmalarla büyük ölçüde aydınlatılmıştır. Öne çıkan temel virülens faktörleri şunlardır:

i) Kitin parçalayıcı enzimler (PICBP49)

P. larvae'nın (ERIC I-IV) genotiplerinde bulunan ve türün en temel virülens faktörü olarak kabul edilen proteindir.

Kitin Parçalayıcı Enzimler (PICBP49), Larva orta bağırsağını koruyan peritrofik matriksi (PM) parçalayarak bakterinin epitel hücrelerine ulaşmasını sağlar (Djukic ve ark., 2014; Fünfhaus ve ark., 2017).

ii) Genotipe özgü toksinler (Plx1 ve Plx2)

Bakterinin epitel dokusunu istila etmesine ve hemosele (vücut boşluğu) geçmesine yardımcı olan güçlü toksinlerdir.

Plx1 ve Plx2: Özellikle ERIC I genotipinde bulunan, hücre iskeletini ve sinyal iletimini bozarak larval ölüme yol açan ikili (binary) toksinlerdir (Fünfhaus ve ark., 2017; Garcia-Gonzalez & Genersch, 2020).

iii) Proteazlar ve kollajenazlar

Bakteri, larva dokularını sıvılaştırmak ve besin sağlamak için çeşitli enzimler salgılar.

Kollajenazlar (ColA), özellikle daha hızlı ölüme neden olan ERIC II, III ve IV genotiplerinde doku yıkımını hızlandırır (Beims ve ark., 2020; Djukic ve ark., 2014).

iv) S-Tabakası proteinleri (SplA)

SplA: Özellikle ERIC II genotipinde bulunan bir yüzey proteindir.

SplA bakterinin larva bağırsak epitel hücrelerine yapışmasını (adhezyon) sağlar. ERIC I'in toksin odaklı stratejisinin aksine, ERIC II bu protein aracılığıyla daha çok fiziksel tutunma stratejisi izler (Fünfhaus ve ark., 2017; Garcia-Gonzalez & Genersch, 2020).

v) İmmün inhibitör A (InhA) ve enolaz

İmmün İnhibitör A (InhA): Arı larvasının bağışıklık sistemine karşı

savunma mekanizması olarak işlev görür ve plazminojen sistemini kullanarak doku yıkımına yardımcı olur. (Beims ve ark., 2020; Garcia-Gonzalez & Genersch, 2020).

Tablo 2. *P. larvae virülens faktörü, İşlevi ve Bulunduğu Genotipler*

Virülens Faktörü	İşlevi	Bulunduğu Genotipler
PICBP49	Peritrofik matriks yıkımı	Tüm genotipler (Anahtar faktör)
Plx1 / Plx2	Epitel istilası ve hücre ölümü	Genelde ERIC I
SplA (S-layer)	Adhezyon (Yapışma)	Genelde ERIC II
ColA	Doku sıvılaştırma	ERIC II, III, IV

İlk 48 saatlik dönem larvaların en duyarlı olduğu dönemdir. Enfeksiyona direnç yaş arttıkça artmaktadır. Hastalık, arıların bağışıklık sistemini etkilemeden ilerler. Çünkü bakteri sporları esas olarak larvaları hedef alır. Ergin arılar taşıyıcı rol üstlenirken klinik belirti göstermezler (Woodrow, 1942).

Günümüzde antibiyotik kullanımının yasaklanması, AYÇ tedavisinde alternatif yaklaşımlara olan ihtiyacı artırmıştır. Bu kapsamda bakteriyofajlar, özgül etkileri, çevresel güvenlik profilleri ve bal arılarının mikrobiyotasına minimal etkileri sayesinde umut vadeden biyolojik ajanlar olarak ön plana çıkmaktadır.

Bu derlemede, AYÇ'nin etkeni olan *P. larvae*'nin biyolojisi, yayılımı, mevcut teşhis yöntemleri ve bakteriyofaj temelli biyokontrol yaklaşımları güncel literatür ışığında ele alınmıştır.

Amerikan yavru çürüklüğü enfeksiyonu ve türkiyedeki güncel durumu

Türkiyede yapılan çalışmalar incelendiğinde *P. larvae* ile ilgili çalışmaların daha çok varlığına yönelik olduğu görülmektedir. 2020-2023 yılları arasında Orta ve Doğu Karadeniz bölgelerindeki 207 arıcılık işletmelerinden örnekler alınmış ve AYÇ varlığı araştırılmıştır. Çalışmada toplanan örneklerde *P. Larvae*'nin varlığı kültür ve PCR ile araştırılmıştır. Çalışma sonucunda 207 bal arısı işletmesinin 10'unun (%4,83) *P. larvae* ile enfekte olduğu belirlenmiştir (Akpınar ve ark., 2023). Hatay yöresinde 110 arıcılık işletmesinde bulunan 5730 bal arısı kolonisinden örnek toplanmıştır.

Örnek alınan bal arısı kolonilerinin %0.22'sinde AYÇ ve Avrupa Yavru Çürüklüğü (AvYÇ) birlikte bulunduğu tespit edilmiştir (Şahinler ve Gül, 2005). Karadeniz bölgesinde bulunan bal arısı kolonilerinin %13,11 oranında AYÇ ile enfekte olduğu, Türkiye'nin diğer bölgelerine göre enfeksiyonun daha düşük oranda saptandığı belirtilmiştir (Kekeçoğlu ve ark., 2013). 2001 yılında yayımlanan çalışmaya göre; 1999 – 2000 yılları arasında Elazığ'da bulunan 125 arı işletmesinden 335 petek örneği alınmış ve AYÇ yönünden incelenmiştir. 335 örneğin 32 (%9.55)'sinden ve 125 işletmenin 18 (%14.40)'inden *P. larvae* izole ettiklerini rapor etmişlerdir (Simsek ve Kalender, 2001).

"Sonuç olarak, Türkiye genelinde yapılan çalışmaların kronolojik ve bölgesel dağılımı incelendiğinde; *P. larvae* prevalansının yıllara ve bölgelere göre değişkenlik gösterdiği, enfeksiyon oranlarının yaklaşık %0,22 ile %14,40 arasında seyrettiği görülmektedir. Karadeniz Bölgesi özelinde yapılan araştırmalar, enfeksiyonun varlığını %4,83 ile %13,11 bandında tutarlı bir şekilde ortaya koyarken; Doğu Anadolu gibi bölgelerde işletme bazlı yaygınlığın daha yüksek seyredebileceği dikkat çekmektedir. Bu veriler, Amerikan Yavru Çürüklüğü'nün Türkiye arıcılığı için süregelen bir tehdit olduğunu ve hastalıkla mücadelede bölgesel dinamiklerin yanı sıra, güncel moleküler tanı yöntemleriyle desteklenen sürekli bir sürveyans stratejisinin gerekliliğini özetlemektedir."

Arı hastalıklarının teşhisi amacıyla kullanılan yöntemler

"Bal arısı hastalıklarının kontrolü ve eradikasyonunda doğru teşhis hayati bir öneme sahip olup, etkenlerin identifikasyonu ve karakterizasyonunda konvansiyonel yöntemlerin yanı sıra yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip çeşitli ileri laboratuvar tekniklerinden yararlanılmaktadır. Bu kapsamda günümüzde kullanılan test ve teknikler aşağıda sıralanmıştır;

1. Moleküler teknikler PCR (Polymerase Chain Reaction) çeşitleri; REP-PCR (Repetitive Extragenic Palindromic), ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus), BOX elements (BOX-A1R-based Repetitive Extragenic Palindromic), SDS-PAGE
2. Gas Chromatography (Etkenin biyokimyasal karakterini belirlemede kullanılır)
3. Epidemiyolojik ve taksonomik amaçlı çeşitli DNA parmak izi teknikleri; RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis), RAPD (Random Amplified

Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), PGFE (Pulsed Gel Field Electrophoresis).

4. Bakteriyofaj duyarlılığı, İmmuno teknikler, İmmunodifüzyon testi, İmmunoflouresan testi, ELISA testi.

Yukarıda sıralanan bu test ve teknikler arı hastalıklarının tanısı amacıyla günümüzde kullanılmaktadır (World Organisation for Animal Health [WOAH], 2023).

Bakteriyolojik kültür amacıyla kullanılan besiyerleri ve kültür koşulları

P. larvae 'yı üretmek amacıyla kullanılan birçok özel besiyeri vardır (De Graaf ve ark. 2013);

i) *P. larvae* agar (PLA): *Bacillus cereus* selektif agar bazı, triptikaz soya agar ve takviyeli besin agarı (SNA) içermektedir (Schuch ve ark., 2001).

ii) MYPGP agar: Mueller-Hinton broth, maya ekstraktı, potasyum fosfat, glikoz, pirüvat ve agar içermektedir (Dingman ve Stahly, 1983).

iii) J-Agar: Tripton, maya ekstraktı, K_2HPO_4 , glikoz, agar, nalidiksik asit ve pipemidik asit içermektedir (Hornitzky ve Karlovskis, 1989).

iv) CSA agar (Columbia sheep-blood agar): Columbia koyun kanlı agar baz ve % 5 steril defibrine koyun kanı, nalidiksik asit ve pipemidik asit içermektedir (Hornitzky ve Karlovskis, 1989).

v) BHIT agar (brain–heart infusion medium supplemented with thiamine): Tiamin HCl eklenmiş BHIT içermektedir (Hornitzky ve Karlovskis, 1989).

AYÇ sağaltımında antibiyotik kullanımı ve yasal sınırlamalar

Bal arılarının önemli ve ihbarı mecburi enfeksiyonu olan AYÇ'nde antibiyotik kullanımı yasak olmasına karşın bazı arıcılar tarafından kullanılmaktadır. Bu kuralınsızca kullanımın doğal bir sonucu olarak da balda antibiyotik kalıntısı sorunları oluşabilmektedir. Avrupa regülasyonlarına (EEC 2377/90) göre de arı ürünlerinin (bal, propolis, polen ve arı sütü) antibiyotik ile kontamine olması durumunda tüketime sunulması kesinlikle yasaktır (Pasupuleti ve ark., 2017).

Faj tabanlı tedavi yaklaşımları ve araştırmalar

AYÇ'ne karşı tedavide antibiyotik kullanılmasının yasak olması nedeniyle, AYÇ'nün bal arıları arasında yayılmasını önlemek ve tedavisi amacıyla bakteriyofajların kullanılması umut verici bir çözüm olabilir (Tsourkas, 2020). Fajlar konak özgüllüğü yüksek, doğal ve güvenli ajanlardır. Litik fajlar, sadece hedef bakteriyi lizis ederken doğal mikrobiyotaya zarar vermediği belirtilmektedir (Clokie ve ark., 2011; Tsourkas, 2020). Bu

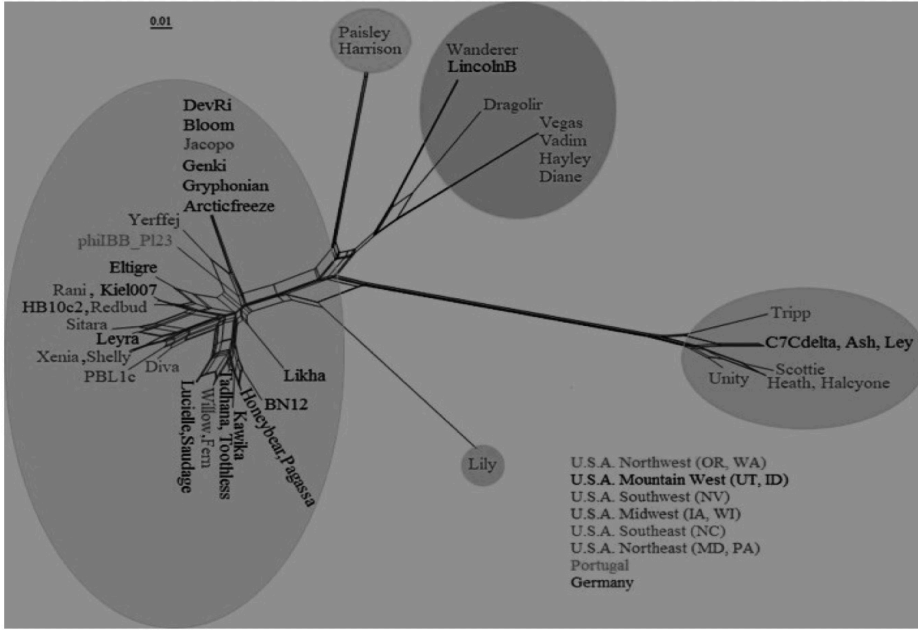
bakteriyel virüsler biyosferde sıklıkla bulunmaktadır (Clokier ve ark., 2011). Yakın zamanda yapılan bir çalışma fajların (hem litik hem de ılımlı olanlar) bal arısı barsak mikrobiyal topluluğunun bir parçası olabileceğini göstermiştir (Bonilla-Rosso ve ark., 2020). Fajlar, güvenli ve insanlar da dahil olmak üzere yüksek mikroorganizmalar tarafından iyi tolere edilen ve aynı zamanda arılar için de güvenli olan doğal yapılardır. Litik aktivite gösteren fajlar, doğal barsak mikrobiyotasının bileşimi üzerinde olumsuz etki göstermeden sadece bakteriyel konağın tahribatına ve çürümesine neden olduğu rapor edilmiştir (Cieplak ve ark., 2018). Fajların ökaryotik hücreleri enfekte edemediği bilinmektedir ve ayrıca insan, hayvan ve bitkiler üzerinde herhangi bir toksik etkisi bulunmamaktadır (Atterbury, 2009).

Bu avantajlarından dolayı bakteriyofajlar arılarda da terapötik olarak kullanılabilir. Fajların enfeksiyon yerinde amplifiye olması diğer bir avantajlı özelliklerindendir ki bu nedenle “kendi kendilerine dozlanan” olarak nitelendirilmektedirler. Daha fazlası, fajların gıda endüstrisinde, patojen bakterilerin yayılmasını, gıda ürünlerinin bozulmasını önlemek ve ayrıca hayvansal ve bitkisel gıda üretiminin daha güvenli olması amacıyla kullanılması önerilmektedir (Sillankorva ve ark., 2012).

2018 yılında yayımlanan bir çalışmaya göre; *P. larvae*’ya karşı sekanslanan 48 faj incelenmiş ve geniş bir yelpazeyi içeren 5 kümede bu fajlar gruplandırılmıştır. Bu gruplandırma arasında; Fern, Harisson, Vegas, Lily ve Halcyone fajları Fern kümesi içlerinde en kapsamlı olanıdır ve 48 *P. larvae* faj genomunun 30’unu içermektedir. Bu fajların; Pagassa, Honeybear, Toothless, Tadhana, Fern, Willow, Lucielle, Saudage, BN12, Kawika, Kiel007, Redbud, Rani, Eltigre, HB10c2, Arcticfreeze, DevRi, Bloom, Jacopo, Likha, phiIBB_PI23, Yerffej, Sitara, Diva, Shelly, Xenia, Leyra, PBL1c, Genki ve Gryphonian olduğu rapor edilmiştir (Stamereilers ve ark., 2018).

İkinci sırada Halcyone kümesi yer almaktadır ve 8 faj içermektedir. Bu fajlar; Ash, Ley, C7Cdelta, Halcyone, Heath, Tripp, Scottie ve Unity’dir. Vegas kümesi 7 faj içermektedir; Diane, Vadim, Vegas Hayley, Dragolir, LincolnB ve Wanderer adlı fajlarıdır. Harrison kümesi ise sade 2 faj içermektedir; Harrison ve Paisley adlı fajlarıdır. Faj Lily ise herhangi bir kümede değildir. Halcyone kümesinde yer alan fajlar diğer fajların tümünden çok farklıdır. Günümüzde, GenBankasında 56 *Paenibacillus* fajı bulunmaktadır. Yukarıda *P. larvae*’ya karşı sınıflandırılmış olan

ve Siphovirüsler altında belirtilen kümelerde yer alan fajlar haricinde Stamereilers ve ark., (2018) ve Tsourkas, (2020) myovirüsler (Abouo, Davies, Emery, Jimmer1 ve Jimmer2 fajları) altında gruplandırıdıkları fajlar bulunmaktadır. Detaylar **Şekil 1.**'de verilmiştir. *P. larvae* fajlarının profilaktik ve küratif etkilerinin olduğu belirtilmiştir (Tsourkas, 2020).



Şekil 1. *P. larvae* fajları aşağıdaki tabloda sınıflandırılmıştır (Stamereilers ve ark., 2018; Tsourkas, 2020).

Antibiyotiklerin kullanımının yasaklanması, *P. larvae* ile mücadelede bakteriyofajları öne çıkarmıştır. Birçok çalışmada, *P. larvae*'ye karşı etkili olan fajların genom dizilemeleri yapılmış, HB10c2, T7, Jimmer1 gibi fajların hem profilaktik hem de tedavi edici potansiyelleri test edilmiştir (Beims ve ark., 2015; Ribeiro ve ark., 2019). Ancak bazı fajların larvalardaki etkisinin sınırlı olduğu ve faj direnç gelişiminin olası bir tehdit olduğu belirtilmiştir (Van Leuven ve ark., 2024).

Son yıllarda geliştirilen modifiye Appelmans ve RAMP-UP protokolleri, yüksek titerli ve geniş konak spektrumuna sahip fajların hızlı izolasyonunu mümkün kılmıştır (Van Leuven ve ark., 2024). Yeni Zelanda'da yürütülen bir topluluk temelli çalışmada, 26 yeni faj tanımlanmış ve bunların faj kokteyllerinde kullanılabilirliği gösterilmiştir (Kok ve ark., 2023).

Faj kokteyli kullanımı hem etkinliği artırmak hem de direnç gelişimini önlemek açısından önerilmektedir. Yeni Zelanda ve Suudi Arabistan'da yapılan çalışmalarda, enfekte kolonilerde faj kokteyli uygulamasının yüksek etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (El-Meihy ve ark., 2024; Kok ve ark., 2023).

2016 yayımlanan bir çalışmada; topraktan, arı kovani materyallerinden, kozmetiklerden alınan örnekler incelenmiş ve *P. larvae* suşlarının lizojenik özelliği değerlendirilmiştir. Buna göre toplam 157 örneğin en az 28'inde bir *P. larvae* bakteriyofajı pozitif olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlara göre, faj tedavisinin AYÇ'yi kontrol etmek için etkili bir yöntem olduğu gösterilmiştir (Yost ve ark., 2016). 2025'te yayımlanan başka bir çalışmada ise; Yeni Zelanda'da yakın zamanda izole edilen 26 yeni *P. larvae* fajının dizilenmesi yapılmış ve açıklamalı genomlarını sunulmuştur. Bu çalışmayla dizilenmiş ve açıklamalı *P. larvae* fajlarının toplam sayısı 96'ya çıkmıştır (Kok ve ark., 2025). 2019'da yayımlanan bir çalışmaya göre, *P. larvae*'yı enfekte eden ve yüksek düzeyde spesifiteye sahip olan ilk podovirüs olarak bildirilmiş olan API480 (vB_PlaP_API480) fajı, kovan koşullarında geniş litik aktivitesi ve stabilitesi ile, AYÇ'nin biyolojik kontrolünde potansiyel olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır (Ribeiro ve ark., 2019).

2021 yılında yayımlanmış bir araştırmada; 2500 'den fazla numune incelenmiş, 35 adet *Paenibacillus* spp. suşu elde edilmiş ve faj araştırmaları için kullanılmıştır. *Paenibacillus*'a özgü beş adet faj izole edilerek (ultrastrüktür, morfoloji, biyolojik özellikler, stabilitesi ve genom dizilimine göre) karakterize edilmiştir. Bu karakterizasyonlar, fajların litik potansiyelleri hakkında bilgi edinmek ve gelecekteki saha uygulamalarında kullanılmak üzere yüksek antibakteriyel potansiyele sahip etkili bir faj kokteyli oluşturmak için yapılmıştır. Ayrıca sağlıklı arılar üzerinde de ön güvenlik çalışmaları yapılmış olup, uygulanan faj preparatı zararsız olarak değerlendirilmiştir (Jończyk-Matysiak ve ark., 2021). 2017'de yayımlanan çalışmaya göre, *P. larvae* bakterisine karşı bakteriyofajlar izole edilmiş ve 59 saha izolat suşu, her bir bakteriyofaj konakçı aralığının belirlenmesi için test edilmiştir. *P. larvae* suşlarını lize etme yeteneğine göre ve AYÇ enfeksiyonlarında tedavisi için bakteriyofaj kokteyli oluşturmak amacıyla üç (Bakteriyofaj 1, 5 ve 9) seçilmiştir (Brady ve ark., 2017).

Bakteriyofaj kokteyli güvenlik ve etkinlik yönünden AYÇ enfeksiyonlarının önlenmesi ve aktif enfeksiyonların tedavisinde geleneksel antibiyotiklerin

yerini alabileceğini göstermek için yapılmıştır. Güvenlik doğrulama çalışmaları, bakteriyofaj kokteylinin aşırı dozda uygulansa bile arı ölüm oranını olumsuz etkilemediğini doğrulamıştır (Brady ve ark., 2017).

Sağlıklı kovanlar üzerinde yapılan karşılaştırmalı bir çalışmaya göre; geleneksel profilaktik antibiyotik tedavisinin genel kovan sağlığı üzerindeki etkisi 38 ± 0.7 'lik bir azalmayla kontrol kovanlarında gözlemlenen kovan sağlığıyla karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak daha düşük olarak bulunmuştur. Bakteriyofaj kokteyli ile tedavi edilen kovanlarda ise, 19 ± 0.8 'lik bir azalma gözlemlenmiş ve bu etki kontrol kovanlarıyla elde edilen 10 ± 1.0 'lik azalmaya göre istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır (Brady ve ark., 2017). Doğal enfeksiyon riski altındaki kovanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, bakteriyofaj ile tedavi edilen kovanlar 100 ± 0.5 'i AYÇ enfeksiyonuna karşı korunurken, tedavi edilmeyen kontrol gruplarının 80 ± 0.5 'i enfekte olmuştur. AYÇ ile enfekte olan kovanlar, 4 üzerinden ortalama 2.25 Hitchcock skoru ile başlamış ve bakteriyofaj kokteyli ile tedavi edilen kovanların 100 ± 0.5 'i iki hafta içinde tamamen iyileştiği bildirilmiştir. Bu çalışmalar AYÇ enfeksiyonunda bakteriyofaj ile tedavinin güvenliği ve etkinliğini göstermesi yönüyle önem taşımaktadır (Brady ve ark., 2017). Ayrıca 2024'de yayımlanan çalışmaya göre, çalışmada Appelmans protokolü modifiye edilmiştir ve buna göre gözlemlenen yeni faj türlerinin oranı veya sayısı önemli ölçüde değişmemesine rağmen, faj popülasyonunun hızla artma eğiliminde olan bir faj tarafından baskın hale gelmesi engellenmiştir. Bu bulgular, Appelmans protokolündeki küçük bir değişikliğin faj tedavisi için fajların gelişimini nasıl etkilediğini göstermiştir. Yöntem ayrıca, bal arılarındaki bakteriyel enfeksiyonların tedavisi için geliştirilmiş fajların elde edilmesi yönüyle de dikkati çekmektedir (Paull ve ark., 2024).

Appelmans protokolünde yapılan modifikasyon ile faj izolatları elde edilmesi

Bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılması amaçlanan bakteriyofajlar, günümüzde genetik mühendisliği veya deneysel yöntemlerle geliştirilmektedir. "Appelmans" adlı bu protokolde modifikasyon yapılarak, mikrotitre plakalarının kullanılmasıyla geçirgen yapıya sahip olmayan konakçıları enfekte edebilen fajların geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla bal arısı patojeni *P. larvae* kullanılarak standart Appelmans protokolünün bir modifikasyonu test edilmiştir. Çalışmada; Standart Appelmans protokolü kullanılarak, 4 *P. larvae* suşu üzerinde 3 faj

gelişimi sağlanmıştır. Ardından Appelmans protokolünün modifikasyonu ile de elde edilen fajların 10 kez pasajlanmasıyla faj çeşitliliği sağlanmaya çalışılmıştır. Çalışma sonucuna göre 360 plaktan oluşan konakçı yelpazesi karakterize edilmiş ve altı yeni faj lizis paterni tanımlanmıştır (Paull ve ark., 2024).

2024’de yayımlanan çalışmaya göre, *P. larvae*’nın farklı bakteriyofajlara karşı direnç geliştirme yeteneği incelenmiştir. Bakteriyofaj dirençli izolatlardaki mutasyonların, potansiyel yüzey reseptörlerini kodlayan genlerde yoğunlaştığı tespit edilmiştir. Bu izolatlardan biri arı larvalarında test edilmiş ve parental *P. larvae* suşuna kıyasla daha düşük virülansa sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca, bakteriyofajların direnç evrimine karşı koyabileceği de tespit edilmiştir. Araştırmacılar, bakteriyofaj direncinin ortaya çıkabileceğini, ancak etkisinin muhtemelen patojenitenin azalması ve bu direncin ikincil bakteriyofaj mutasyonları ile aşılabileceğini belirtmişlerdir (Van Leuven ve ark., 2024).

AYÇ’nde uygulanan fajlar

P. larvae’ya karşı aktif olan fajların ilk izolasyonundan bu yana, pek çok faj izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Ancak AYÇ’nün kontrol edilmesi yönüyle sadece bir kısmının aktivitesi analiz edilmiştir. Aşağıda sunulan verilerde, arılarda *P. larvae* karşı faj uygulaması çeşitli çalışmalardan alıntılanmıştır.

-HB10c2 faj uygulaması

HB10c2 bakteriyofajı, *P. larvae* ERIC I’in neden olduğu klinik semptomlara bağlı olarak kovanın tutkal benzeri sıvısından izole edilmiştir (Beims ve ark., 2015).

2015’de yayımlanan çalışmaya göre, çalışmada; *Siphoviridae* ailesinde yer alan ve oldukça litik bir faj olan HB10c2’nin tam genom analizi yapılmış ve bu fajın ayrıntılı bir güvenlik profiline sahip olduğu gösterilmiştir. HB10c2 fajının lizojenik doğasının olasılıkla beta-laktamaz benzeri proteinine bağlı olarak ortaya çıktığı değerlendirilmektedir. Yine çalışmada hedeflenen patojenlere karşı antagonistik aktivitesini değerlendirmek ve arı popülasyonu ile çevre üzerindeki potansiyel zararlı etkilerini belirlemek amacıyla, *P. larvae* genotipleri ERIC I’den IV’e, arı bağırsak mikrobiyotasının temsilcileri ve Bacillales takımında ait geniş bir üye paneli, HB10c2 fajı ile indüklenen lizis için analiz edilmiştir. Besleme sırasında enfeksiyon 500 cfu/larva konsantrasyonunda *P. larvae* ERIC I DSM 7030 veya ERIC II DSM 25430 suşu sporları ile beslenen arılara,

faj 50,000 pfu/larva konsantrasyonunda uygulanmıştır. HB10c2 fajı arılarda mortaliteye ve barsak mikrobiota kompozisyonunda değişikliğe neden olmamıştır. Ancak HB10c2 faj tedavisinin AYÇ’nde enfekte larvada etkili olmadığı gösterilmiştir. Ayrıca hedef patojende direnç gelişimi potansiyeli riskine bağlı olarak özellikle koruyucu uygulama amacıyla faj kokteyllerinin gerekli olabileceği sonucuna varılmıştır (Beims ve ark., 2015).

-T7 faj uygulaması

2019’da yayımlanan çalışmaya göre; kovan yönetimi yönüyle, işçi arıların beslenmesi yoluyla fajın larvalara dolaylı yoldan uygulanması, en pratik yöntemlerden biri olarak öne çıkmaktadır. Bu çalışmada, enfektif süreçte bulunan larvalar üzerinde, fajın bal arılarına oral yolla verildikten sonra ne kadar etkili olabildiği değerlendirilmiştir. Arıların organlarındaki ve larvaların yuttuğu faj miktarının direk tarama (direk Faj Oluşturan Birim “PFU” sayımı yoluyla) ve kantifikasyon (kantitatif PCR) yoluyla tespitine göre; arıların organlarında tespit edilen miktar 10^4 iken larvalara ulaşan faj ortalaması 32 adet olduğu belirtilmiştir. Enfeksiyonun yayılmasının önlenmesinde etki göstermesi beklenen dozun 32 olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak arı sütünde hızla inaktif hale geçen bu düşük terapötik miktarın enfeksiyonun kontrolünde hangi oranda etkili olacağı, tedavi imkanını sınırlandırıcı bir faktör olarak ortaya çıktığı vurgulanmıştır (Ribeiro ve ark., 2019).

T7 fajı, arıların beslenmesi amacıyla rutinde kullanılan %50 sükröz solüsyonu ile invivo uygulanması öncesinde 24 saat süresince stabilitesi yönüyle değerlendirilmiştir. Sonuçlar göstermiştir ki, en azından bu süre içerisinde fajın canlılığı etkilenmemektedir. Ayrıca sprey ile uygulama metodu ile fajın arının beslendiği solüsyon aracılığıyla uygulanması karşılaştırılmış; iş gücü yönüyle fajın daha efektif uygulanmasını sağlayan bu metodun daha avantajlı olduğu sonucuna varılmıştır (Ribeiro ve ark., 2019).

-Jimmer1-KC595515, Jimmer2-KC595514, Emery-KC595516, Abouo-KC595517, Davies-KC595518, Osiris-KT151956, Powder-KT151958, SecTim467-KT151957, Sundance-KT151959, Jenst-KT151955 faj uygulamaları

2018 yılında yayımlanan çalışmada, arıların barsaklarında ve kovanlarda bulunan ve *Brevibacillus laterosporus* adlı bir başka bakterinin fajları

ile enfekte edilmesi sonucunda ürettiği bakterisidallerin *P. larvae* ile enfekte olan arılarda tedavi etkinliğinin %75 olduğunu gösterilmiştir. *B. laterosporus* adlı Bystander (seyirci) bakteriyi enfekte etmek için kullanılan fajlar: Jimmer1-KC595515, Jimmer2-KC595514, Emery-KC595516, Abouo-KC595517, Davies-KC595518, Osiris-KT151956, Powder-KT151958, SecTim467-KT151957, Sundance-KT151959, Jenst-KT151955 olduğu rapor edilmiştir (Brady ve ark., 2018).

-Hb2, Hb3, Hb10 ve SS faj uygulamaları

2024'de yayımlanan bir çalışmaya göre, sekiz arı yetiştiricisinin kovanları AYÇ enfeksiyonları açısından incelenmiştir. Geleneksel teknikler kullanılarak 16SrRNA genine özgü 452 bp'lik PCR ürününün bakteri 16S rRNA genine spesifikliğı ile üç *P. larvae* izolatu belirlenmiş ve *Paenibacillus* izolatları arasında karşılaştırma yapılmıştır. Ek olarak, *P. larvae* suşlarının özel fajları arıcılık koşulları altında enfeksiyon oranını azaltma etkinlikleri açısından incelenmiştir. Enfeksiyon oranı, her bir faj ayrı ayrı uygulandığında %20 ila %85,7 veya antibiyotik tedavisinin uygulandığı durumlarda %78,6 ila %88,9 iken faj kokteyli uygulanmasıyla yaklaşık %94,6 ila %100'e kadar azaldığı rapor edilmiştir (El-Meihy ve ark., 2024).

-PL. Ph-1 faj uygulamaları

2021'de yayımlanan bir çalışmaya göre, fajların sadece vejetatif *P. larvae* 'ya bağlanmakla kalmayıp aynı zamanda *P. larvae* sporlarına da bağlandığını kanıtlayan bulgular sunulmuştur. Spor bağlanması üç belirli deneyin sonuçlarına göre belirlenmiştir.

1- FITC-ile işaretlenmiş fajların miktarını ölçen akış sitometrisi sayesinde, vejetatif bakterilere bağlanmış olan fajlar yanında sporlara da bağlanmış olan fajlar ile ilgili nicel veriler elde edilmiştir.

2- Elektron mikroskopi de hem yatay pozisyonda hem de dikey pozisyonda spor yüzeyine bağlanmış olan fajların görüntüleri saptanmıştır.

3- *P. larvae* sporları ile inkube edilen fajların sporlara bağlandığı, koşulların spor aktivasyonu için uygun olmadığı şartlarda bulunan vejetatif bakterilerde plaklar oluşturduğu belirlenmiş, bu sonuca göre sporlara bağlanan fajların geri dönüşümlü olduğu ve fajların hala aktif olduğu gösterilmiştir. Faj ile tedavi için geri dönüşebilen spor-bağlama yeteneğı olan fajların tanımlanmasının, sporlu bakteriyel enfeksiyon tedavisinde kullanılabileceğı değerlendirilmektedir (Brady ve ark., 2021).

-Yeni Zelanda’da faj uygulamaları

Daha önce de belirtildiği gibi, 2023’de yayımlanan çalışmaya göre, 26 adet faj izole edilmiş ve elde edilen bu fajlar Vegas ve Harrison kümesinde sınıflandırılmıştır. Bu çalışma sonucuna göre Yeni Zelanda’ya özgü ve yeni olan sekiz *P. larvae* bakteri izolatının ve 26 *P. larvae* bakteriyofajının keşfi ve izolasyonu yapılmıştır. Faj genomları dizilenmiş ve Gen Annotasyonu yapılmıştır. Genomları mevcut dizilenmiş *P. larvae* faj genomlarıyla karşılaştırılmıştır. Bakteriyofajların konak aralıkları test edilmiş ve bir dizi temsilci bakteri suşunda in vitro testler yapılmak üzere kokteyller formüle edilmiştir.

Bu çalışmanın sonucuna göre; AYÇ'den korunmak amacıyla hazırlanan faj kokteyl formülasyonlarının kullanılması, umut verici bir çözüm olarak değerlendirilmiştir (Kok ve ark., 2023).

Türkiye’de yapılan bakteriyofaj çalışmaları

Türkiye’de AYÇ enfeksiyonunda bakteriyofaj kullanımı ile ilgili yapılan literatür taramasına göre, BAP Araştırma Projesi kapsamında “Amerikan Yavru Çürüklüğü etkeni *P. larvae* suşlarında bakteriyofaj izolasyon ve karakterizasyonu” adlı proje yayımlanmıştır (Karali ve ark., 2022). Ayrıca 2021’de yayımlanan diğer çalışmaya göre; *Paenibacillus* faj SV21, *Paenibacillus* faj Pd22F adlı iki bakteriyofaja ait konak aralığı ve özgüllüğü, patlama boyutu, litik aktivitesi ve morfolojik özellikleri, yeni nesil dizilemeyle tüm genom analizi, fonksiyonel gen bölgeleri ve karşılaştırılmalı genomik analizi yapılarak filogenetik ağaçların oluşturulduğu belirtilmiştir. (Bozdeveci, 2021).

Koruma ve kontrol

11/6/2010 tarihli ve 5996 sayılı Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanununun 4 üncü maddesi ile 3/6/2011 tarihli ve 639 sayılı Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının Teşkilat ve Görevleri Hakkında Kanun Hükmünde Kararnamenin 7 nci maddesi hükümlerine dayanılarak hazırlanan yönetmeliğe göre; Bal arılarının AYÇ hastalığına karşı korunma ve mücadelesinde, Hastalığın yayılmasını engellemek için temel petek üretimi yapan petek üreticileri, bal mumlarını 120 °C’de 1 atmosfer basınç altında 10-15 dakika süreyle sterilize ettikten sonra piyasaya sürer (T.C. Resmî Gazete, 2011).

Türkiye’de ihbarı zorunlu olan bu hastalıkla en kesin ve etkili mücadele yöntemi, enfekte kolonilerin tümüyle yakılarak yok edilmesidir (Gülpınar,

2005). Kovan gövdesi pürmüzle iyice alevden geçirilerek yakılmalı ve körük, maske, el demiri yemlik, ana arı ızgarası gibi bulaşık olan malzemeler dezenfekte edilmelidir. Böylece hastalığın diğer kolonilere bulaşması önlenmiş olur (Genç ve Dodoloğlu, 2002).

Sonuç

Bu derlemede, AYÇ enfeksiyonunun tedavisinde ve kontrolünde bakteriyofajların potansiyel kullanımını incelemiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, bakteriyofajların *P. larvae* ile mücadelede etkili, güvenilir ve çevre dostu biyolojik ajanlar olduğunu ortaya koymuştur. Fajlar, özellikle antibiyotik kullanımının yasaklandığı ülkelerde, kalıntı bırakmama avantajı ve mikrobiyotaya zarar vermemesi nedeniyle ön plana çıkmaktadır.

Çeşitli çalışmalarda farklı faj türleri AYÇ'nün tedavisinde test edilmiştir. Örneğin HB10c2 fajının litik etkisi araştırılmış ancak enfekte larvalarda etkili olmadığı görülmüştür. Benzer şekilde T7 fajının da düşük terapötik miktarlarda etkili olduğu ancak hastalığın kontrolünde tam olarak tatmin edici sonuçlar vermediği belirlenmiştir.

Diğer bir çalışmada ise *B. laterosporus* adlı bir başka bakterinin ürettiği bakterisidallerin *P. larvae* ile enfekte olan arılarda tedavi etkinliği %75 olarak raporlanmıştır. Ayrıca Yeni Zelanda'da yapılan bir çalışmada ise Yeni Zelanda'ya özgü sekiz *P. larvae* izolatının tanımlanması ve 26 fajın izolasyonu üzerine gerçekleştirilen analizlerde umut verici sonuçlara ulaşılmıştır. AYÇ'nün kontrolünde bakteriyofajlarla yapılan mücadele yöntemleri henüz yaygın olarak uygulanmamaktadır. Ancak yapılan araştırmalar bu yöntemin potansiyelini göstermesine rağmen tedavideki etkinliğini ortaya koyan daha fazla kanıtı ihtiyacı duyulmaktadır.

Uygulamalı çalışmalar, fajların hem profilaktik hem de tedavi edici amaçla kullanılabileceğini ve özellikle kokteyl formülasyonlarının daha yüksek başarı oranı sağladığını göstermektedir. Bununla birlikte, faj direnci gelişimi olasılığı ve sahada etkili olacak formülasyonların geliştirilmesindeki zorluklar hâlen çözülmesi gereken konular arasındadır. Bu derlemenin bulguları, özellikle Avrupa ve ABD'de yapılan çalışmaların sıklığı dikkate alındığında AYÇ'nün kontrolünde bakteriyofajların potansiyel kullanımına dair umut verici sonuçları içermektedir. Türkiye gibi AYÇ'nin yaygın olduğu ülkelerde yerel faj izolasyonu, genomik karakterizasyonu ve saha uygulamalarını kapsayan projeler, uzun vadede ulusal arıcılığın sürdürülebilirliği için hayati rol oynayacaktır.

Fajların konak özgüllüğü, çevresel stabiliteleri ve antibiyotiklere direnç geliştirmeme özellikleri bu biyolojik ajanları güçlü bir alternatif haline getirmektedir. Türkiye’de konuya yönelik araştırmalar artmakla birlikte, sahaya uygulanabilir faj kokteyllerinin geliştirilmesine ve ulusal bir "Faj Bankası" oluşturulmasına ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, bakteriyofajlar AYÇ ile mücadelede umut verici bir alternatif sunmakta olup, bu alandaki araştırmaların artırılması, yasal düzenlemelerle desteklenmesi ve uygulamaya entegrasyonu büyük önem taşımaktadır.

Çıkar çatışması beyanı

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Etik Kurul Beyanı: Bu çalışma, insan veya hayvan denekleri üzerinde herhangi bir deneysel uygulama içermemektedir. Araştırma yalnızca literatür taraması ve mevcut bilimsel verilerin derlenmesi yoluyla gerçekleştirilmiştir. Bu nedenle etik kurul onayı gerekmemektedir. Çalışma, bilimsel araştırma ve yayın etiği ilkelerine uygun olarak yürütülmüştür.

Kaynaklar

- [1] Akpınar, R., Bozdeveci, A. & Çelik, S. (2023). Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesindeki bal arılarında ve temel petekte Amerikan yavru çürüklüğünün teşhisi. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 15(1), 1–10.
- [2] Ashiralieva, A. & Genersch, E. (2006). Reclassification, genotypes and virulence of *Paenibacillus larvae*, the etiological agent of American foulbrood in honeybees—A review. *Apidologie*, 37(4), 411–420. <https://doi.org/10.1051/apido:2006025>
- [3] Atterbury, R. J. (2009). Bacteriophage biocontrol in animals and meat products. *Microbial Biotechnology*, 2(6), 601–612. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2009.00114.x>
- [4] Beims, H., Bunk, B., Erler, S., Mohr, K. I., Spröer, C., Pradella, S., Günther, G. et al. (2020). Discovery of *Paenibacillus larvae* ERIC V: Phenotypic and genomic comparison to genotypes ERIC I-IV reveal different inventories of virulence factors which correlate with epidemiological prevalences of American foulbrood. *International Journal of Medical Microbiology*, 310(2), Article 151394. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2020.151394>
- [5] Beims, H., Wittmann, J., Bunk, B., Overmann, J., Rohde, C., Rohde,

- M., Günther, G., Hölzle, L. E., von der Ohe, W., & Steinert, M. (2020). *Paenibacillus larvae* virulence and spore production: A comparative study of European-American foulbrood genotypes. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1460. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01460>
- [6] Beims, H., Wittmann, J., Bunk, B., Spröer, C., Rohde, C., Günther, G., Rohde, M. et al. (2015). *Paenibacillus larvae*-directed bacteriophage HB10c2 and its application in American foulbrood-affected honey bee larvae. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(16), 5411–5419. <https://doi.org/10.1128/AEM.01457-15>
- [7] Bonilla-Rosso, G., Steiner, T., Wichmann, F., Bexkens, E. & Engel, P. (2020). Honey bees harbor a diverse gut virome engaging in nested strain-level interactions with the microbiota. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(13), 7355–7362. <https://doi.org/10.1073/pnas.1914655117>
- [8] Bozdeveci, A. (2021). *Paenibacillus larvae* bakteriyofajlarının izolasyonu, moleküler karakterizasyonu ve farklı suşlarına karşı etkinliğin belirlenmesi (Tez No. 691713) [Doktora tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi]. YÖK Ulusal Tez Merkezi.
- [9] Brady, T. S., Fajardo, C. P., Merrill, B. D., Hilton, J. A., Graves, K. A., Eggett, D. L. & Hope, S. (2018). Bystander phage therapy: Inducing host-associated bacteria to produce antimicrobial toxins against the pathogen using phages. *Antibiotics*, 7(4), Article 105. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7040105>
- [10] Brady, T. S., Merrill, B. D., Hilton, J. A., Payne, A. M., Stephenson, M. B. & Hope, S. (2017). Bacteriophages as an alternative to conventional antibiotic use for the prevention or treatment of *Paenibacillus larvae* in honeybee hives. *Journal of Invertebrate Pathology*, 150, 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2017.09.010>
- [11] Brady, T. S., Roll, C. R., Walker, J. K., Fajardo, C. P., Breakwell, D. P., Eggett, D. L. & Hope, S. (2021). Phages bind to vegetative and spore forms of *Paenibacillus larvae* and to vegetative *Brevibacillus laterosporus*. *Frontiers in Microbiology*, 12, Article 588035. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.588035>
- [12] Cieplak, T., Soffer, N., Sulakvelidze, A. & Nielsen, D. S. (2018). A bacteriophage cocktail targeting *Escherichia coli* reduces *E. coli* in

- simulated gut conditions, while preserving a non-targeted representative commensal normal microbiota. *Gut Microbes*, 9(5), 391–399. <https://doi.org/10.1080/19490976.2018.1447293>
- [13] Clokie, M. R., Millard, A. D., Letarov, A. V. & Heaphy, S. (2011). Phages in nature. *Bacteriophage*, 1(1), 31–45. <https://doi.org/10.4161/bact.1.1.14942>
- [14] De Graaf, D. C., Alippi, A. M., Antúnez, K., Aronstein, K. A., Budge, G., De Koker, D., De Smet, L. et al. (2013). Standard methods for American foulbrood research. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1–28. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.14>
- [15] Dingman, D. W. & Stahly, D. P. (1983). Medium promoting sporulation of *Bacillus larvae* and metabolism of medium components. *Applied and Environmental Microbiology*, 46(4), 860–869. <https://doi.org/10.1128/aem.46.4.860-869.1983>
- [16] Djukic, M., Becker, D., Fünfhaus, A., Papadometrio, C., Pauli, E. B., Hierlmeier, T., Genersch, E., & Daniel, R. (2014). Genomic analysis of *Paenibacillus larvae* and survey of its virulence factors. *PLOS ONE*, 9(7), e103022. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103022>
- [17] El-Meihy, R. M., Hassan, E. O., Alamoudi, S. A., Negm, S., Al-Hoshani, N., Al-Ghamdi, M. S. & Nowar, E. E. (2024). Probing the interaction of *Paenibacillus larvae* bacteriophage as a biological agent to control the American foulbrood disease in honeybee. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 31(6), Article 104002. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2024.104002>
- [18] Food and Agriculture Organization. (2022, December). *Tarım ve hayvancılık ürünleri, 2022*. <https://www.fao.org/faostat/en/#data>
- [19] Fünfhaus, A., Ebeling, J., & Genersch, E. (2017). Bacterial toxins relevant for pathogenesis of American Foulbrood of honey bees (*Apis mellifera*). *Toxins*, 9(12), 397. <https://doi.org/10.3390/toxins9120397>
- [20] Garcia-Gonzalez, E., & Genersch, E. (2020). *Paenibacillus larvae* and American Foulbrood: A review of a deadly core pathogen of honey bees. *Environmental Microbiology*, 22(11), 4501–4513. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15166>
- [21] Genç, F., & Dodoloğlu, A. (2002). *Arıcılığın temel esasları*. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları.

- [22] Genersch, E. (2010). American foulbrood in honeybees and its causative agent, *Paenibacillus larvae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(Supplement 1), S10–S19. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.06.015>
- [23] Genersch, E. & Otten, C. (2003). The use of repetitive element PCR fingerprinting (rep-PCR) for genetic subtyping of German field isolates of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*. *Apidologie*, 34(3), 195–206. <https://doi.org/10.1051/apido:2003010>
- [24] Gregorc, A. & Bowen, I. D. (1998). Histopathological and histochemical changes in honeybee larvae (*Apis mellifera* L.) after infection with *Bacillus larvae*, the causative agent of American foulbrood disease. *Cell Biology International*, 22(2), 137–144. <https://doi.org/10.1006/cbir.1997.0232>
- [25] Gülpınar, V. (2005). Bal arısı hastalık ve zararlıları. *Teknik Arıcılık*, 87, 2–7.
- [26] Hansen, H. & Brødsgaard, C. J. (1999). American foulbrood: A review of its biology, diagnosis and control. *Bee World*, 80(1), 5–23. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1999.11099415>
- [27] Heyndrickx, M., Vandemeulebroecke, K., Hoste, B., Janssen, P., Kersters, K., De Vos, P., Logan, N. A. et al. (1996). Reclassification of *Paenibacillus* (formerly *Bacillus*) *pulvifaciens* (Nakamura 1984) Ash et al. 1994, a later subjective synonym of *Paenibacillus* (formerly *Bacillus*) *larvae* (White 1906) Ash et al. 1994, as a subspecies of *P. larvae*, with emended descriptions of *P. larvae* as *P. larvae* subsp. *larvae* and *P. larvae* subsp. *pulvifaciens*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46(1), 270–279. <https://doi.org/10.1099/00207713-46-1-270>
- [28] Hornitzky, M. & Karlovskis, S. (1989). A culture technique for the detection of *Bacillus larvae* in honeybees. *Journal of Apicultural Research*, 28(2), 118–120. <https://doi.org/10.1080/00218839.1989.11100832>
- [29] Jończyk-Matysiak, E., Popiela, E., Owczarek, B., Hodyra-Stefaniak, K., Świtła-Jeleń, K., Łodej, N., Orwat, F. et al. (2020). Phages in therapy and prophylaxis of American foulbrood—Recent implications from practical applications. *Frontiers in Microbiology*, 11, Article 1913. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01913>

- [30] Karali, M., Akpınar, R., Sevim, E., Bozdeveci, A. & Alpay Karaoğlu, Ş. (2022). *Amerikan Yavru Çürüklüğü etkeni P. larvae suşlarında bakteriyofaj izolasyon ve karakterizasyonu* [BAP Araştırma Projesi Sonuç Raporu]. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi.
- [31] Kekeçoğlu, M., Rasgele, P. G., Acar, F. & Kaya, S. T. (2013). Düzce ilinde bulunan arıcılık işletmelerinde görülen koloni kayıplarının, bal arısı hastalık ve zararlılarının ve mücadele yöntemlerinin araştırılması. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(3), 620–633.
- [32] Kok, D. N., Gosselin, S. P., Howard, B., Cresawn, S. G., Tsourkas, P. K. & Hendrickson, H. L. (2025). Genomic analysis of 96 *Paenibacillus larvae* bacteriophages including 26 from Aotearoa, New Zealand. *Viruses*, 17(2), Article 137. <https://doi.org/10.3390/v17020137>
- [33] Kok, D. N., Zhou, D., Tsourkas, P. K. & Hendrickson, H. L. (2023). *Paenibacillus larvae* and their phages; a community science approach to discovery and initial testing of prophylactic phage cocktails against American foulbrood in New Zealand. *Microbiome Research Reports*, 2(4), Article 32. <https://doi.org/10.20517/mrr.2023.36>
- [34] Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N. & Gan, S. H. (2017). Honey, propolis, and royal jelly: A comprehensive review of their biological actions and health benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, Article 1259510. <https://doi.org/10.1155/2017/1259510>
- [35] Paull, K., Spencer, E., Miller, C. R. & Van Leuven, J. T. (2024). Viral adaptations to alternative hosts in the honey bee pathogen *Paenibacillus larvae*. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2024.01.22.576711>
- [36] Ribeiro, H. G., Correia, R., Moreira, T., Vilas Boas, D., Azeredo, J. & Oliveira, A. (2019). Bacteriophage biodistribution and infectivity from honeybee to bee larvae using a T7 phage model. *Scientific Reports*, 9(1), Article 620. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37034-w>
- [37] Sancak, K., Zan Sancak, A. & Aygören, E. (2013). Dünya ve Türkiye’de arıcılık. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 5(10), 7–13.
- [38] Schuch, D. M. T., Madden, R. H. & Sattler, A. (2001). An improved method for the detection and presumptive identification of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* spores in honey. *Journal of Apicultural Research*, 40(2), 59–64. <https://doi.org/10.1080/00218839.2001.11101052>

- [39] Sillankorva, S. M., Oliveira, H. & Azeredo, J. (2012). Bacteriophages and their role in food safety. *International Journal of Microbiology*, 2012, Article 863958. <https://doi.org/10.1155/2012/863958>
- [40] Simsek, H. & Kalender, H. (2001). Elazığ'daki arı işletmelerinde Amerikan Yavru Çürüklüğü Hastalığının araştırılması. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 33(1-2), 27–32.
- [41] Stamereilers, C., Fajardo, C. P., Walker, J. K., Mendez, K. N., Castro-Nallar, E., Grose, J. H., Hope, S. et al. (2018). Genomic analysis of 48 *Paenibacillus larvae* bacteriophages. *Viruses*, 10(7), Article 377. <https://doi.org/10.3390/v10070377>
- [42] Şahinler, N. & Gül, A. (2005). Hatay yöresinde bulunan arıcılık işletmelerinde arı hastalıklarının araştırılması. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 5, 27–31.
- [43] T.C. Resmî Gazete. (2011, 21 Aralık). *Bal arılarının Amerikan yavru çürüklüğü hastalığına karşı korunma ve mücadele yönetmeliği* (Sayı: 28149). <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111221-5.htm>
- [44] Tsourkas, P. K. (2020). *Paenibacillus larvae* bacteriophages: Obscure past, promising future. *Microbial Genomics*, 6(2), Article e000330. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000330>
- [45] Tutkun, E. & Boşgelmez, A. (2003). *Bal arısı zararlıları ve hastalıkları teşhis ve tedavi yöntemleri*. Bizim Büro Basımevi.
- [46] Türkiye İstatistik Kurumu. (2024). *Hayvansal üretim istatistikleri, 2023*. <https://data.tuik.gov.tr>
- [47] Van Leuven, J., Miller, C., Peters, T., Spencer, E., Eline, Y., Paull, K. ... & Linzan, K. (2024). Bacteriophage resistance evolution in a honey bee pathogen. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2024.07.15.603584>
- [48] Woodrow, A. W. (1942). Susceptibility of honeybee larvae to individual inoculations with spores of *Bacillus larvae*. *Journal of Economic Entomology*, 35(6), 892–895. <https://doi.org/10.1093/jee/35.6.892>
- [49] World Organisation for Animal Health. (2023). American foulbrood of honey bees (infection of honey bees with *Paenibacillus larvae*). In *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial*

animals 2023 (12th ed., Vol. 1, pp. 888–903). https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.02.02_AMERICAN_FOULBROOD.pdf

- [50] Yost, D. G., Tsourkas, P. & Amy, P. S. (2016). Experimental bacteriophage treatment of honeybees (*Apis mellifera*) infected with *Paenibacillus larvae*, the causative agent of American foulbrood disease. *Bacteriophage*, 6(1), Article e1122698. <https://doi.org/10.1080/21597081.2015.1122698>
- [51] Zeybek, H. (1991). *Arı hastalıkları ve zararlıları*. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü.