Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.
36 (1), 39-43, 2005
ISSN 1300-9036

Çanakkale İlindeki Bir Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) İşletmesinde *Pseudomonas* sp. Enfeksiyonu

Seyit AYDIN
Gazi Üniversitesi, Kastamonu Eğitim Fakültesi, 37100 Kastamonu

Nejdet GÜLTEPE
Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 35100 Bornova/İzmir

Abdülkadir ÇİLTAŞ
Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, 25240 Erzurum (akciltas@atauni.edu.tr)

Geliş Tarihi : 04.04.2004

ÖZET: Çanakkale ilinde bulunan bir işletmede; ortalama 91.659 ± 4.1203 g canlı ağırlığındaki gökkuşağı alabalıklarında ortaya çıkan ve ölümlere neden olan enfeksiyon araştırıldı. İncelenen balıklarda klinik olarak; vücut renginde koyulaşma ve deride peteşiyal hemoraji, gözlerde katarakt, yüzgeçlerde, operkulumda ve solungaçlarda dejenerasyon, visseral yağ artışı, bağırsaklarda seröz sıvı, dalakta büyüme, büyümüş karaciğerde soluk ve hiperemik bölgeler, safra kesesinde iltihap, böbrekte sulanma gözlendi. Hasta balıkların hepatosomatik indeksi ortalama 1.8094 ± 0.1198, splenosomatik indeksi ise 0.2149 ± 0.0173 olarak hesaplandı. Yapılan bakteriyel inceleme sonunda hastalığın *Pseudomonas* sp. enfeksiyonu olduğu belirlendi. Günlük olarak kg canlı ağırlığa 50 mg dozundaki Enrofloksasinin oral yolla ve 7 gün süre ile uygulandığı tedavi, enfeksiyonun kontrolünde başarılı oldu.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşağı Alabalığı, Hastalık, *Pseudomonas* sp., Tedavi, Enrofloksasin

Pseudomonas sp. Infection in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) Farm in Çanakkale

ABSTRACT: In this study, infection appeared in rainbow trout, average 91.659 ± 4.1203 g body weight, was investigated in a farm in Çanakkale. Natural infection caused mortalities in rainbow trout with gross clinical abnormalities such as petechial haemorrhages in darkened skin, cataract in eyes, degenerations in opercula, fins and gills, an increase of visceral fat, serous fluid in intestine, swollen spleen and necrotic liver, inflammation in gall bladder, bloody kidney. Hepatosomatic index was average1.8094 ± 0.1198 in the diseased fish. Also, splenosomatic index was 0.2149 ± 0.0173. Disease was diagnosed *Pseudomonas* sp infection. 50 mg/kg fish dosage of enrofloxacin per day used for 7 d controlled the natural infection.

Key Words: Rainbow trout, Disease, *Pseudomonas* sp., Treatment, Enrofloxacin

GİRİŞ

Balık kültürünün hızla yayılıp gelişmesiyle birlikte balık hastalıklarının da önemi artmaktadır. Önceleri 5-20 bakteri (Popp, 1980), 25 kadar virus (Håstein, 1994) türünün balıklar için patojen olduğu bilinirken; bugün 110 kadar bakteri (Austin ve Austin, 1999), 50 kadar virus (Håstein, 1994) türünün patojen olduğu tespit edilmiştir. Bu arada yüzlerce parazit (Yokoyama vd. 1996) ve fungus türünün de (Håstein, 1994) balıklar için patojen olduğu bilinmektedir.

Pseudomonaceae familyasına mensup patojen türlerin sebep oldukları enfeksiyonların; karakteristik semptomları, enfekte ettikleri balık türleri ve enfeksiyonların coğrafik olarak dağılımları Tablo 1'de verilmiştir.

Bu çalışmada; Çanakkale ilindeki bir gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) işletmesinde görülen ve ölümlere sebep olan *Pseudomonas* sp. enfeksiyonunun bakteriyolojik inceleme ile teşhisi yapılmıştır. Pratik, ucuza mal olabilecek ve uygulanabilir bir kemoterapi tespit edilmesi çalışılmıştır. Laboratuvarda elde edilen bulguların da yardımı ile; enfeksiyonun tedavisine yönelik olarak aynı işletmede uygun bulunan kemoterapi uygulanmaya çalışılmıştır.

Tablo 1. Tatlı Su ve Deniz Balıkları İçin Patojen Olan *Pseudomonaceae* Familyasına Mensup Bakteri Türleri

PATOJEN TÜRÜ	SEMPTOM	BALIK TÜRÜ	COĞRAFİK DAĞILIM
Pseudomonas anguilliseptica	Kırmızı benek; ağız çevresinde, poerkulumda ve vücudun ventral kısımlarında peteşiyal hemoraji, gözde kanama (Lönnström vd. 1994), yüzgeç kaidelerinde kızarıklık, peritonda küçük peteşiyal hemorajiler, karaciğer ve dalak kanamalı, böbrekte yumuşama ve sulanma (Wiklund ve Bylund, 1990; Austin ve Austin 1999)	Gökkuşağı alabalığı, çeşitli deniz balıkları, yılan balıkları	Finlandiya, Fransa, Japonya, İskoçya, İspanya
Pseudomonas chlororaphis	Vücut yüzeyinde hemorajiler, ascitik sıvı ile dolu ve şiş abdomen (Austin ve Austin, 1999)	Alabalıklar	Japonya
Pseudomonas fluorescens	Septisemi; yüzgeç ve kuyruk erozyonu, deri ve yüzgeç kaidelerinde hemorajik lezyonlar, peritonda ascites, solungaçlar, böbrek, karaciğer ile sindirim sisteminin lümeni ve submukozasında peteşiyal hemoraji (Markovic vd., 1996; Colquhoun vd., 1998)	Gümüş sazanı, büyükbaş sazan, altın balık, ot sazanı, siyah sazan, adi sazan, gökkuşağı alabalığı	Bir çok ülkede
Pseudomonas pseudoalcaligenes	Kasın 1 mm kadar derinliğine kadar işleyen deri ülserleri (Austin ve Stobie, 1992)	Gökkuşağı alabalığı	İskoçya
Pseudomonas putida	Vücudun kıvrılıp bükülmesi, peritonal boşlukta fena kokulu eksudat, şişmiş ve yer yer kırmızı benekler oluşmuş karaciğer, (Aydın vd., 1998), iç organlarda hemorajiler (Muroga, 1990)	Ayu balığı, altın balık, aynalı sazan	Japonya, Türkiye

MATERYAL ve METOT

Çanakkale ilinde bulunan 25 ton/yıl kapasiteli gökkuşağı alabalığı işletmesinde yetiştirilen ortalama 91.6592 ± 4.1203 g ağırlığındaki 30 adet hasta gökkuşağı alabalığında eksternal klinik belirtiler, daha sonra bu balıkların otopsisi yapılarak organlarda gözlenen klinik belirtiler not edilip, balıkların böbrek, karaciğer ve dalağından besiyerlerine pasaj yapılmıştır (Plumb and Bowser, 1983; Austin ve Austin, 1999). Bakterinin geliştirilmesi ve izolasyonunda; GSP (*Pseudomonas – Aeromonas* selective) agar, CASO (Tyriptic soy; TS) agar, Baird-Parker agar, MacConkey agar, SS (*Salmonella Shigella*) agar, tio sitrat salt bile sukroz (TCBS) agar, *Yersinia* selective agar kullanılmıştır. *Campylobacter* selective agara ekimi yapılan örnekler ise, Anaerocult® C kullanılarak gerekli O_2 azlığı sağlanmış Anaerobic jar içinde inkube edilmiştir (Anonim 1996).

Mueller-Hinton broth'da zenginleştirilmiş kültür kullanılarak, disk-difüzyon metodu ile Mueller-Hinton agarda antibiyogram testi yapılmıştır (Bauer et al., 1966). Patojenin antibiyotiklere hassasiyeti, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 1992)'e göre değerlendirilmiştir. Bakteri identifikasyonu; bilinen standart biyokimyasal testlerle gerçekleştirilmiştir (Plumb ve Bowser, 1983; Austin ve Austin, 1999).

Hasta balık örneklerinin karaciğer ve dalak ağırlıkları alındıktan sonra hepatosomatik ve splenosomatik indeksleri hesaplanmıştır (Popp, 1980; Aydın vd. 2000).

Antibiyogram testi sonucunda etkili bulunan antibiyotiklerden Enrofloksasin, enfeksiyonun tedavisi amacı ile kullanılmıştır. Günlük olarak kg balık canlı ağırlığına yaklaşık 20 mg Enrofloksasin yeme katılarak, 7 gün süre ile oral yolla tedavi uygulanmıştır.

BULGULAR

Bakteriyel inceleme: Yapılan identifikasyon test sonuçlarına (Tablo 2) göre enfeksiyonun etkeni; *Pseudomonas* sp olarak tanımlanmıştır.

Tablo 2. Hasta balıklardan izole edilen bakterinin bazı fenotipik ve biyokimyasal özellikleri

TEST	SONUÇ
GSP agarda koloni morfolojisi	Yuvarlak, konveks, pembe renkte
McConkey agarda üreme	+
TS agarda üreme	+
TCBS agarda üreme	-
Yersinia selective agarda üreme	-
Campylobacter selective agarda üreme	-
SS agarda üreme	-
Baird-Parker agarda üreme	-
Gram boyama	-
Hücre morfolojisi	Çomak
Hareket (oda sıcaklığında)	+
Oksidaz	+
Katalaz	+
O/F	O
Jelatinaz	+
Nişasta hidrolizi	-
VP	-
MR	-
Glukozdan asit	+
Üreaz	-
NO_3 indirgeme	+

Klinik Belirtiler: İncelenen balıklarda klinik olarak; vücut renginde koyulaşma ve peteşiyal hemoraji, gözlerde katarakt, yüzgeçlerde ve operkulumda erozyon (Şekil 1), solungaçta solukluk ve dejenerasyon, karın içinde yağlanma, bağırsakta seröz sıvı, dalakta büyüme, karaciğerde sararma, büyüme ve hiperemik bölgeler, safra kesesinde iltihap ve böbrekte renk koyulaşması ile birlikte sulanma dikkati çekmiştir.

Otopsi yapılan balıkların ortalama hepatosomatik indeksi 1.8094 ± 0.1198 ve ortalama splenosomatik indeksi 0.2149 ± 0.0173 olarak hesaplanmıştır.

Antibiyogram testi: *Pseudomonas* sp.'in antibiyotiklere karşı hassasiyeti araştırılmış, yapılan antibiyogram test sonuçları Tablo 3'de verilmiştir.

Tedavi: Hastalığın görüldüğü işletmede 7 gün süreyle Enrofloksasin uygulanması sonunda ölümler durmuş, enfeksiyonun semptomları ortadan kalkmıştır.



Şekil 1. Hasta balığın dejenere kuyruk yüzgeci dibindeki kanama, pektoral yüzgeç kaidesinde kızarıklık.

TARTIŞMA

İzole edilen bakteri morfolojik ve biyokimyasal karakterlerine göre; *Pseudomonas* sp. olarak tanımlanmıştır. Bulunan sonuçlar literatür ile de uyum içindedir (Holmes vd. 1986; Holt vd., 1994; Austin ve Austin, 1999). Pseudomonas'lar balıkların intestinal

mikroflorasında dominant olarak bulunabilen bakterilerdendir (Tanasomwang ve Muroga, 1989; Muroga, 1990; Muz vd., 1994; Aydın vd., 1998). *Saprolegnia*'ya karşı *P. fluorescens*'ın (Bly vd., 1997), IHNV (infeksiyoz hematopoetik nekrosis virus)' a karşı *Pseudomonas* sp.'in (Kamei et al., 1988) biyolojik kontrol ajanı olarak başarılı bir şekilde kullanılabildiği araştırmalar mevcut ise de; *P. fluorescens*, *P. chlororaphis*, *P. anguilliseptica* ve *P. pseudoalcaligenes*'in alabalık türleri için patojen olduğu bilinmektedir (Muroga, 1990; Wiklund ve Bylund, 1990; Colquhoun vd., 1998; Austin ve Austin, 1999). Bu araştırmada; patojenin türünü tespit edebilecek kadar testler yapılamadığı için genus bazında kalınmıştır.

Enfeksiyonun klinik belirtilerinden, vücut yüzeyindeki peteşiyal hemorajiler, yüzgeç ve solungaç deformasyonları; *P. anguilliseptica* (Wiklund ve Bylund, 1990; Lönnström vd., 1994), *P. fluorescens* (Colquhoun vd., 1998; Austin ve Austin, 1999), *P. alcaligenes* (Austin ve Stobie, 1992) ve *P. chlororaphis* (Austin ve Austin, 1999) enfeksiyonlarındaki belirtilerle benzerlik göstermektedir. Bu hastalıkta gözlenen karaciğer ve böbrek dejenerasyonları; *P. anguilliseptica* (Wiklund ve Bylund, 1990; Lönnström vd., 1994), *P. fluorescens* (Markovic vd., 1996; Colquhoun vd., 1998; Austin ve Austin, 1999) enfeksiyonlarında da görülmektedir. Hastalık, genel septisemik karakteri ile *P. fluorescens* enfeksiyonuna daha fazla uymaktadır. Balıkların gözlerinde kataraktın varlığı ile diğer *Pseudomonas* enfeksiyonlarından ayrılmaktadır. Çünkü diğer bazı *Pseudomonas* enfeksiyonlarında göz kanaması rapor edilse de (Lönnström vd., 1994) katarakt olgusuna rastlanmamıştır.

Hasta balıkların hepatosomatik indeks ortalaması, literatürde verilen normal değer (1.5-2.5) sınırları içinde bulunmuştur (Popp, 1980; Aydın vd., 1997, 2000). Karaciğerde enfeksiyonla birlikte bir büyüme gözlenmemiştir. Splenosomatik indeks ise, alabalık için verilen normal değer (0.1-0.2) aralığından (Aydın vd., 2000) yüksektir. Ancak bu enfeksiyonun splenosomatik indeks üzerine etkili olduğu kanaatine varabilmek için yeni ve daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

Antibiyogram test sonuçlarına göre izolat; Ofloksasin, Kloramfenikol, Pefloksasin, Doksisiklin, Sulfametoksazol+Trimetoprim, Netilmisin, Tetrasiklin, Seftizoksim, Nalidiksik asit, Gentamisin, Sefradin, Klaritromisin, Piperasilin, Mezlosilin, Azitromisin, İmipenem, Seftriakson, Aztreonam, Kanamisin, Norfloksasin, Enoksasin, Enrofloksasin ve Amikasin'e karşı duyarlı bulunmuştur. Diğer antibiyotiklerden; Tobramisin, Novobiosin, Eritromisin ve Sefotaksime karşı orta derecede duyarlı; Vankomisin, Azidosilin, Amoksisilin, Metisilin, Sefaleksin, Sefaklor, Sefalotin, Ampisilin, Linkomisin, Rifamisin SV, Karbenisilin, Tiamfenikol, Sulbaktam+Ampisilin, Seftazidim, Klindamisin, Sefuroksim, Sefoksitin, Penisilin G, Sefadroksil, Sefazolin, Sefiksim ve Sefoperazon'a karşı dayanıklı olduğu tesbit edilmiştir. Enrofloksasin ve Sulfametoksazol+Trimetoprime *Pseudomonadas* sp.'in hassas, sefalotine dayanıklı bulunması Plumb vd. (1995)'ın bulguları ile uyum içindedir. Ayrıca Nalidiksik asit, Ofloksasin, Enoksasin, Enrofloksasin'e karşı *P. putida, P. fluorescens* (Palmer vd., 1992), oksolinik asite *P. fluorescens* (Barker vd., 1990) ve kloramfenikol ile tetrasikline *Pseudomonas* sp'i (Aoki vd., 1980) duyarlı bulan araştırma sonuçları ile benzer bulgular elde edilmiştir.

Pseudomonadaceae familyasına mensup patojenlerin oluşturduğu enfeksiyonlardan *Pseudomonas anguilliseptica* enfeksiyonunun; Nalidiksik asit, Oksolonik asit veya Piromidik asit ile (Jo, 1978), *Pseudomonas fluorescens* enfeksiyonunun; erken teşhis edildiğinde Benzalkonium hidroklorit, Furanase veya malaşit yeşili banyosu (Austin, 1984), Kanamisin, Nalidiksik asit ve Tetrasiklin (Sakai vd., 1989), Gentamisin, Kanamisin ve Neomisin (Markovic vd., 1996) ile, *Pseudomonas pseudoalcaligenes* enfeksiyonunun ise Oksitetrasiklin, Oksolinik asit ve Sulfanomidlerle (Austin and Stobie, 1992) tedavi edilebildiğine dair literatür bilgileri vardır. Bu çalışmada *Pseudomonas* sp. enfeksiyonunu kontrol etmek için; Enrofloksasin 50 mg/kg canlı ağırlık dozunda 7 gün süreyle oral olarak uygulanmış ve tedavi başarılı olabilmiştir.

KAYNAKLAR

Anonymous, 1996. Microbiology Manual. Merck, Darmstad, p. 405.

Aokı, T., Y. Jo ve S. Egusa, 1980. Frequent occurrence of drug resistant bacteria in ayu (*Plecoglossus altivelis*) culture. *Fish Pathology*, 15, 1-6.

Austin, B., 1984. The future of bacterial fish vaccines. *Vaccine*, 2, 249-254.

Austin, B. ve M. Stobie, 1992. Recovery of *Serratia plymuthica* and presumptive *Pseudomonas pseudoalcaligenes* from skin lesions in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), otherwise infected with enteric redmouth. *J. Fish Dis*., 15, 541-543.

Austin, B. ve D. A. Austin, 1999. Bacterial Fish Pathogens: Disease of Farmed and Wild Fish. Third (Revised) Edition, London, UK, p. 457.

Aydın, S., S. Çelebi ve I. Akyurt, 1997. Clinical, haematological and pathological investigations of *Eschericha vulneris* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Pathology*, 32: 29-34.

Aydın, S., A. Çiltaş ve Z. Erman, 1998. *Pseudomonas putida* infections in scattered mirror carp (*Cyprinus carpio* L.) and gold fish (*Carassius auratus* L.). Fisheco-98 First International Symposium on Fisheries and Ecology, September 2-4,1998, Trabzon, TÜRKİYE, pp. 259-266.

Aydın, S., N. Gültepe ve H. Yıldız, 2000. Natural and experimental infections of *Campylobacter cryearophila* in rainbow trout: gross pathology, bacteriology, clinical pathology, and chemotherapy. *Fish Pathology*, 35, 117-123.

Barker, G. A., S. N. Smith ve N. R. Bromage, 1990. Effect of oxolinic acid on bacterial flora and hatching success rate of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, eggs. *Aquaculture*, 91, 205-222.

Bauer, A. W., W. M. Kirby, J. C. Sherris ve M. Truck, 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Amer. J. Clin. Pathol*., 45, 493-496.

Bly, J. E., M.-A. Quiniou, L. A. Lawson ve L.W. Clem, 1997. Inhibition of *Saprolegnia* pathogenic for by *Pseudomonas fluorescens*. *J. Fish Dis*., 20, 35-40.

Colquhoun, D. J., E. Skjerve ve T. T. Poppa, 1998. *Pseudomonas fluorescens*, infectious pancreatic necrosis virus ans environmental stress as potential factors in the development of vaccine related adhesions in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Dis*., 21, 355-364.

Håstein, T., 1994. Balık Hastalıkları Semineri. 2-5 Şubat, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Ankara (Basılmamış).

Holmes, B., A. C. Dawson ve C. Pinning, 1986. A revised probability matrix for the identification of Gram-negative, aerobic, rod-shaped, fermentative bacteria. *J. Generally Microb*., 132, 3113-3135.

Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley ve S.T. Willams, 1994. Bergey's manual of Determinative Bacteriology. Ninth Edition, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA, pp. 235-356.

Jo, Y., 1978. Therapeutic experiments on red spot disease. *Fish Pathology*, 13, 41-42.

Kamei, Y., M. Yoshimizu, Y. Ezura ve T. Kimura, 1988. Identification of *Pseudomonas* sp. 46 NW-04 which produces antiviral agent against fish viruses. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ*., 39, 124-132.

Lönnström, L., T. Wiklund ve G. Bylund, 1994. *pseudomonas anguilliseptica* isolated from Baltic herring *Clupea harengus membras* with eye lesions. *Dis. Aquat. Org*., 18, 143-147.

Markovic, M., M. Radojicic, S. Cosic ve D. Levnaic, 1996. Massive death of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) and bid head (*Aristichthys nobilis* Rich.) caused by *Pseudomonas fluorescens* bacteria. *Veterinarski Glasnik*, 50, 761-765.

Muroga, K., 1990. Bacterial infections of cultured fishes in Japan. The Second Asian Fisheries Forum, Ed.by R. Hirano and I. Hanyu, *Asian Fish. Soc*., Manila, Philippines, p. 991.

Muz, A., M. Sarıeyyüpoğlu H.B. Ertaş ve A. Şimşek, 1994. Keban baraj gölünden yakalanan bazı balıkların çeşitli organlarının aerob ve mikroaerofilik bakteriler yönünden incelenmesi. I. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi (27-29 Eylül 1994), Ankara.

NCCLS (National Clinical Committee for Clinical Laboratory Standards), 1992. Fourth international supplements. 12, 20.

Palmer, R., K. Kawai ve R. Kusuda, 1992. *In vitro* activity of quinolone antibacterials against selected fish pathogens. *Gyobyo Kenkyu*, 27, 131-142.

Plumb, J.A. ve P.R. Bowser, 1983. Microbial Fish Disease Laboratory Manual. Brown Printing Company, Montgomery, Alabama, USA, p. 83

Plumb, J.A., C.C. Sheıfınger, T.R. Shryock, ve T. Goldsby, 1995. Susceptibility of six bacterial pathogenes of channel catfish to six antibiotics. *J. Aquat. Anim. Health*, 7, 211-217

Popp, W., 1980. Bakterien Als Erreger Infekiöser Fischkrankhetien. Krankheiten und Schadigungen der Fische. Ed. By H.-H. Reichebach-Klinke, 2. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, pp. 105-161.

Sakai, M., S. Atsuta ve M. Kobayashi, 1989. *Pseudomonas fluorescens* isolated from the diseased rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Kitasato Archives of Experimental Medicine*, 62, 157-162.

Tanasomwang, V. ve K. Muroga, 1989. Intestinal microflora od rockfish *Sebastes schlegeli*, tiger puffer *Takifugu rubripes* and red grouper *Epineohelus akaara* at their larval and juvenile stages. *Nippon suisan Gakkaishi*, 55, 1371-1377.

Wiklund, T. ve G. Bylund, 1990. *Pseudomonas anguilliseptica* as a pathogen of salmonid fish in Finland. *Aquaculture*, 8, 13-19.

Yokoyama, H., T. Danjo, K. Ogawa, T. Arima ve H. Wakabayashi, 1996. Hemorrhagic anemia of carp associated with spore discharge of *Myxobolus artus* (Myxozoa: Myxosporea). *Fish Pathology*, 31: 19-23.