

Gökkuşaağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Görülen *Aeromonas schubertii* Enfeksiyonu Üzerine Bir Çalışma

Tülay AKAYLI*

Özgür ÇANAK

Buket BAŞARAN

İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, Hastalıklar Anabilim Dalı, Laleli, İSTANBUL

*Sorumlu Yazar

e-posta: takayli@istanbul.edu.tr

Geliş Tarihi : 29.07.2010

Kabul Tarihi : 30.09.2010

Özet

Hareketli *Aeromonas* türlerinin çoğu gökkuşaağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) hemorajik septisemi ile seyreden enfeksiyonlara neden olurlar. Bu çalışma 2009 yılı Temmuz ayında Akdeniz Bölgesi'ndeki farklı alabalık işletmelerinde görülen hastalığın teşhisi amacıyla yürütülmüştür.

Bu çalışmada, hastalık belirtileri gözlemlenen toplam 17 adet, ağırlıkları 2- 130 g arasında değişen yavru ve ergin balık örneği bakteriyolojik ve histopatolojik yöntemler kullanılarak incelendi. Ayrıca etkenin enzim profili ve antibiyogram duyarlılığı da araştırıldı. Hasta balıklarda klinik bulgu olarak vücut üzerinde hemorajiler ve ülserler, yüzgeç erimesi, karın kısmında şişkinlik, iç organlarda ve özellikle böbrekte erime, dalakta büyüme, bazı balıklarda ekzoftalmus ve bağırsakta sarı renkli sıvı birikmesi gözlemlendi. Hasta balıkların böbreklerinden hastalık etkeni olarak *Aeromonas schubertii* izole edildi. İzole edilen bu bakteriye karşı en etkili antibiyotiklerin chloramphenicol, ciprofloxacin ve flumequine olduğu tespit edildi. Yapılan histolojik incelemeler sonucunda dalak ve böbrek gibi iç organlar ve solungaçlara ait doku kesitlerinde hastalıkla ilgili patolojik bozukluklar dikkati çekti. Bu çalışma ile *A.schubertii* yurdumuzdaki alabalıklardan ilk kez izole ve identifiye edildi.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşaağı alabalığı, *Aeromonas schubertii*, Enzim profili, Antimikrobiyal duyarlılık

A Study on *Aeromonas schubertii* Infection in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)

Abstract

Most of the motile *Aeromonas* species cause infections with hemorrhagic septicemia in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). This study was performed for the diagnosis of disease problems occurred in different rainbow trout farms in the Mediterranean region of Turkey in July 2009.

In this study, a total of 17 moribund fry and adult fish samples between 2-130 g were examined using bacteriological and histopathological techniques. The enzyme profile and antimicrobial susceptibility of the causative agent were also investigated. Hemorrhages and ulcers on the body surface, fin rot, distention of the abdomen, liquefaction of the internal organs and especially the kidney and exophthalmia and accumulation of a yellowish fluid in the intestines in some samples were observed as the clinical symptoms of the disease. *Aeromonas schubertii* was recovered as the causative agent of the disease from the kidneys of the moribund fish samples. Chloramphenicol, ciprofloxacin and flumequine were determined to be the most effective antibiotics against this bacterium. With this study, *A. schubertii* was recovered and identified from the rainbow trout in Turkey for the first time.

Key words: Rainbow trout, *Aeromonas schubertii*, Enzyme profile, Antimicrobial susceptibility

GİRİŞ

Gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792), etinin lezzeti ve kültür koşullarına uygun olması nedeniyle yoğun olarak kültürü yapılan bir balık türüdür. Türkiye'de 1970'lerde başlayan alabalık üretimi özellikle 1990'larda hızlı bir artış göstermiş ve Türkiye önde gelen alabalık üreticilerinden biri olmuştur [1]. 2008 yılında Türkiye'de iç sulardaki gökkuşaağı alabalığı üretim miktarı 65.928 tona ulaşmıştır [2]. Alabalık kültüründeki en önemli hastalık problemlerinden biri, *Aeromonas* genusuna ait bakteri türlerinin oluşturduğu hastalıklardır [3, 4].

*Aeromonas*lar, toprak, göller ile atık sular da dâhil olmak üzere her türlü akuatik çevrede yaygın olarak bulunur ve başta balık, kurbağa ve sürüngenler olmak üzere birçok hayvan için patojeniktirler [5]. Aynı zamanda insanda da fırsatçı patojen olarak mide ve bağırsak iltihaplarına, bakteriyemi ve deride yaralara yol açarlar. Bu enfeksiyonların kaynağı genel olarak sudur [6]. Fırsatçı veya sekonder patojen hastalık etkeni olarak *Aeromonas* türleri özellikle tatlı su balıklarında hemorajik septisemi (Motile *Aeromonas* Septisemisi, MAS) ile seyreden ve ağır kayıplarla sonuçlanan enfeksiyonlara neden olurlar [3,4,7].

Hareketli *Aeromonas*lar sıklıkla akuatik çevreden

izole edilmekle birlikte balıkların sindirim kanalı mikroflorasının da normal bir parçasını oluşturmaktadır [6,8].

Fenotipik identifikasyon yöntemleri ile *Aeromonas* türlerinin tam olarak tanımlanması, epidemiyoloji ve antibiyotik dirençliliğindeki farklılıklar ve farklı türlerin virülens mekanizmasının anlaşılması açısından önemlidir [9]. Son yıllarda, filogenetik çalışmalar sonucu yeni türlerin tanımlanması ile *Aeromonas* genusunun taksonomisi revize edilmiş ve yeni türler ilave edilmiştir [10].

Hareketli *Aeromonas*lar; Gram-negatif, hareketli, sitokrom oksidaz ve katalaz pozitif, O/F glukoz testinde fermentatif reaksiyon veren ve Vibriostat (O/129) testine dirençli çomak şekilli bakteri türleridir. *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. jandaei*, *A. allosaccharophila*, *A. bestiarum* ve *A. veronii ssp. veronii* türlerinin başlıca balık patojenleri arasında yer aldığı bildirilirken *A. culicicola*, *A. encheleia*, *A. eucrenophila*, *A. media*, *A. popoffii*, *A. schubertii*, *A. trota*'nın ise balıklar için fırsatçı patojenler arasında yer aldığı rapor edilmiştir [3].

Akuatik çevrenin bir parçası olan *A. schubertii* önceleri *Vibrio damsela* (*Photobacterium damsela*) olarak adlandırılmıştır. *A. schubertii* büyümek için tuza ihtiyaç duymama, O/129 testine dirençli olma ve *Vibriolar* için selektif bir besiyeri olan TCBS' de ürememesi gibi özellikleri ile *Vibrio* genusuna ait türlerden ayrılırken, glukozdan gaz oluşturmaması ile diğer hareketli *Aeromonad*lardan farklılık göstermektedir [11].

Mikroorganizmaların hastalık yapabilme özelliklerinin (virülans), ürettikleri bir takım enzimlerle yakından ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Abbot ve diğ. [10]; Janda [12] ile Awan ve diğ. [13]'e göre hareketli *Aeromonas* türlerinin biyokimyasal ve enzimatik özelliklerinde farklılıklara rastlanmıştır. Balık patojeni olan bakterilerin enzimatik özelliklerinin belirlenmesinde rutin metodların yanı sıra API ZYM kiti de uzun bir süredir kullanılmaktadır. Bu kit ile genus içerisinde birçok testte benzerlikler bulunduğu, fakat türler arasında ayırt edici enzimatik aktiviteler ile birlikte identifikasyonda kullanılabileceği bildirilmiştir [9]. API ZYM, rutin biyokimyasal testler ile ayırt edilemeyen, birbiriyle yakından ilişkili olan mikroorganizmaların hızlı ve basit bir şekilde ayırt edilmesini sağlayan bir kittir [14].

Günümüze kadar dünyanın farklı coğrafik bölgelerinden diğer hareketli *Aeromonas* türlerinin balıklarda hastalık etkeni olduğu rapor edilmekle birlikte, *A. schubertii*, Alvarez ve diğ., [15] genç tilapya balıklarından izole edilmiştir.

Türkiye'de tatlı sudaki gökkuşağı alabalıklarında bu genusa ait hareketli türlerden *A. hydrophila* [16, 17, 18, 19], *A. caviae* ve *A. sobria*'nın [20, 21] enfeksiyonlara neden oldukları rapor edilmiştir.

Bu çalışma ile Akdeniz Bölgesi'nde bulunan 4 farklı

gökuşağı alabalığı işletmesinde bulunan hasta yavru ve ergin balıklarda ağır mortaliteye neden olan hastalık etkeninin saptanması ve hasta balıkların tedavisinde kullanılabilecek antibiyotiklerin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL METOT

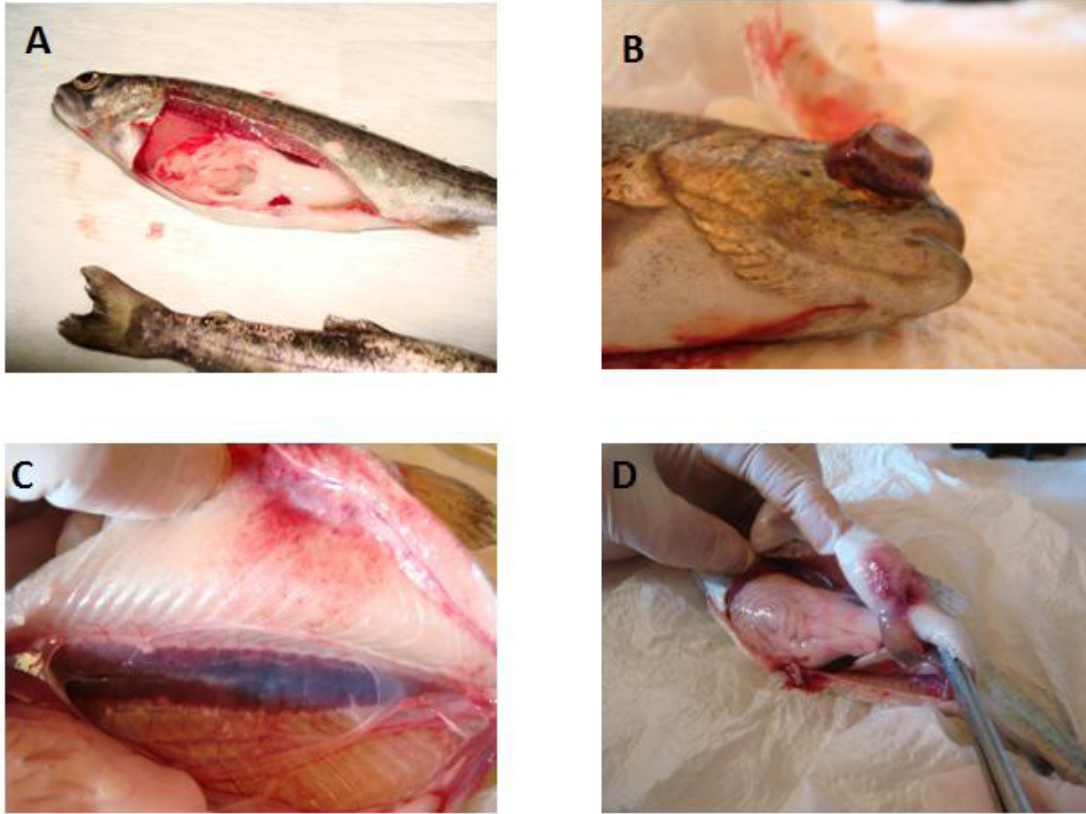
Bu çalışmada su sıcaklıkları 9–14 °C arasında değişen 3 adet besi işletmesi ve 1 adet kuluçkahaneden, ağırlıkları 2–130 g arasında değişen, toplam 17 adet hasta yavru ve ergin gökkuşağı alabalığı örneği incelendi. Hastalık belirtileri gösteren bu balık örnekleri 2-Phenoxyethanol ile anesteziye tabi tutuldu ve ventral insüzyonu yapıldıktan sonra karın boşluğu steril şartlarda açıldı. Otopsileri yapılan hasta balık örneklerinin karaciğer, böbrek ve dalak gibi iç organları yanı sıra solungaç, kan ve lezyonlarından Tryptic Soy Agar (TSA) ve Tiyo Sulfat Bile Salts Sukroz Sitrat (TCBS) besiyerlerine steril bir öze yardımıyla bakteriyolojik ekimler yapılarak 18 °C'de 24–48 saat süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda besiyerinde gelişen bakteri kültürlerinin koloni morfolojisi ile koloni rengi tespit edilerek bakteri izolatlarına ait saf kültürler üretildi. Saf kültürlerin morfolojik ve fizyolojik karakterlerinin belirlenmesi amacıyla biyokimyasal yöntemlerin yanı sıra API 20NE ve API 20E (BioMerieux, Fransa) kullanıldı ve daha önce rapor edilen sonuçlarla [3,4,13] karşılaştırılarak identifiye edildi. Bakteri izolatlarının enzimatik aktivitesinin tespiti için ise API ZYM (BioMerieux, Fransa) kiti kullanıldı. Hızlı tanı kitlerinin kullanımı sırasında üretici firmanın talimatları takip edildi.

İdentifiye edilen izolatların antibiyotik duyarlılıklarının tespiti için Nutrient Broth besiyerinde 18 °C'de 48 saat inkübe edilen bakterilerden alınıp Müller-Hinton besiyerine ekim yapıldı [22] ve antibiyotik diskleri besiyerlerine yerleştirilerek 18 °C 'de 48 saat inkübe edildi. Bu amaçla 13 adet antibiyotik kullanıldı. İnkübasyonun ardından antibiyotik disklerinin etrafında inhibisyon zonu oluşumlarına göre duyarlı veya dirençli olarak not edildi.

Bakteriyolojik ekimler sırasında hasta balıklardan alınan doku örnekleri, histopatolojik muayene için %10'luk formaldehit içerisinde fiske edildi. Bu doku örnekleri işlenerek parafin bloklara döküldü ve bu bloklardan alınan 5 µm'lik kesitler hematoxylen-eosin (H&E) ile boyanarak adi ışık mikroskopunda incelendi [23].

BULGULAR

Klinik bulgular: Hasta balıklarda klinik bulgu olarak vücut üzerinde hemorajiler ve ülserler, yüzgeç erimesi, karın kısmında şişkinlik, iç organlarda ve özellikle böbrekte erime, dalakta büyüme hastalığın genel klinik bulguları olarak gözlemlendi. Bunun yanı sıra 120 g'lık balıklarda ekzoftalmus ve 2 g'lık bireylerin

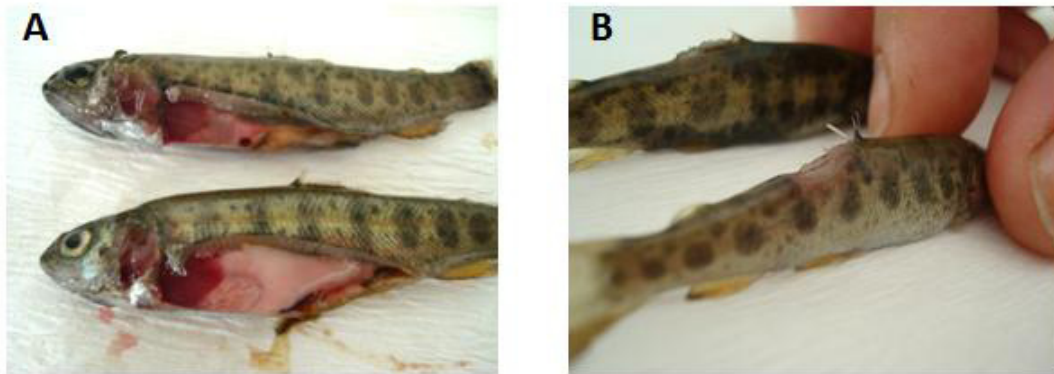


Şekil 1. A) *A. schubertii* ile enfekte gökkuşağı alabalıklarında karaciğerde hemorajiler ve dalakta büyüme B) *A. schubertii* enfeksiyonu sonucu oluşan ekzoftalmus C) *A. schubertii* ile enfekte bireyde ventral bölgede kas dokusunda hemorajiler D) *A. schubertii* ile enfekte balıkta anüs etrafında lezyon

bağırsaklarında sarı renkli sıvı birikmesi dikkati çekti. 100 g'ın üstündeki bireylerde ise ventral bölgede kızarıklık ve lezyon, renkte koyulaşma ve ekzoftalmus tespit edildi (Şekil 1.).

2 g'lık yavru balıklarda kuyruk ve yüzgeç erimesi, vücut üzerinde sonradan ülserlere dönüşeceği düşünülen

alacalı görüntü, iç organlarda erime, çoğu zaman dalakta küçülme, çoğu zaman karaciğerde hemorajiler hastalığın genel bulguları olup, bazı bireylerde karında kanlı sıvı birikmesi, ekzoftalmus, solungaçta ve yüzgeç dibinde hemorajiler ve bağırsakta sarımsı sıvı birikmesi gözlemlendi (Şekil 2).



Şekil 2. A) 2 g'lık hasta balık örneklerinin iç organlarının görünümü B) Hasta balık örneklerinde dorsal yüzgeçte erime

Bakteriyolojik bulgular: Hasta balıkların böbreklerinden TSA besiyerinde, 24-48 saatlik inkübasyonun ardından gerçekleştirilen azaltma ekimlerinde, krem renkli, Gram-negatif, hareketli, fermentatif, sitokrom oksidaz ve katalaz testleri pozitif, vibriostat (O/129)'a dirençli bakteriler izole edildi. *Aeromonas* genusuna ait olduğu anlaşılan bu izolatların tür düzeyindeki identifikasyonu için Tablo 1'de belirtilen biyokimyasal testler yapıldı. Bu çalışmada referans olarak hareketli *Aeromonas* türlerinden, daha önce Japon balıklarından (*Carrasius auratus*) izole ettiğimiz *Aeromonas hydrophila* suşu kullanıldı. Biyokimyasal testlerden elde edilen sonuçların ve identifikasyonun doğrulanması için API 20NE ve API 20E hızlı tanı

kitleri kullanıldı. Yapılan biyokimyasal testler ve API testlerinden elde edilen sonuçlara göre hasta balık örneklerinde izole edilen bakteri *Aeromonas schubertii* olarak identifiye edildi.

API ZYM test kiti ile; *A. schubertii* izolatlarının ve referans olarak kullanılan *A. hydrophila* suşunun enzimatik profili belirlendi. Referans suş, daha önceki raporlarla benzer sonuçlar verirken, aynı genusa ait bu iki tür, test kitinde bulunan 19 enzimin 14'ünde benzer bir profil çizdi. Bu çalışmada elde edilen *A. schubertii*, *A. hydrophila*'nın aksine esteraz (C4), sistin arilamidaz, naftol-AS-BI-fosfohidrolaz enzimlerini üretirken, esteraz lipaz (C8) ve β -glukosidaz enzimlerini üretmediği tespit edildi (Tablo 2).

Tablo 1. İzolatların fenotipik özellikleri (1,2: *A. schubertii*, 3: *A. hydrophila*, +: Pozitif reaksiyon, -: Negatif reaksiyon, F: Fermentatif, D: Değişken reaksiyon)

	1	2	3	<i>A. schubertii</i> Buller, 2004 [3]
Gram	-	-	-	-
Hareket	+	+	+	+
O/F	F	F	F	F
Sitokrom Oksidaz	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+
İndol	-	-	+	-
Metil Red	+	+	-	+
Voges - Proskauer	+	+	+	+
Sitrat	-	-	-	+
Üre	-	-	-	-
ONPG	+	D	+	+
TCBS	Üreme yok	Üreme yok	Sarı	Üreme yok
O/129 10	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Dirençli
O/129 150	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Dirençli
Arjinin	D	+	+	+
Lizin	+	+	+	+
Ornitin	-	-	+	-
Maltoz	+	+	+	+
Laktoz	-	-	-	-
Sukroz	-	+	+	-
Glukoz	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	-
Mannoz	+	+	+	+
Arabinoz	-	-	+	-
%0 NaCl	+	+	+	+
%1 NaCl	+	+	+	+
Glukozdan Gaz oluşumu	-	-	+	-
40 °C	+	+	+	+

Tablo 2. *A. schubertii* ve *A. hydrophila* izolatlarının API ZYM profilleri (1: *A. schubertii*, 2: *A. hydrophila*)

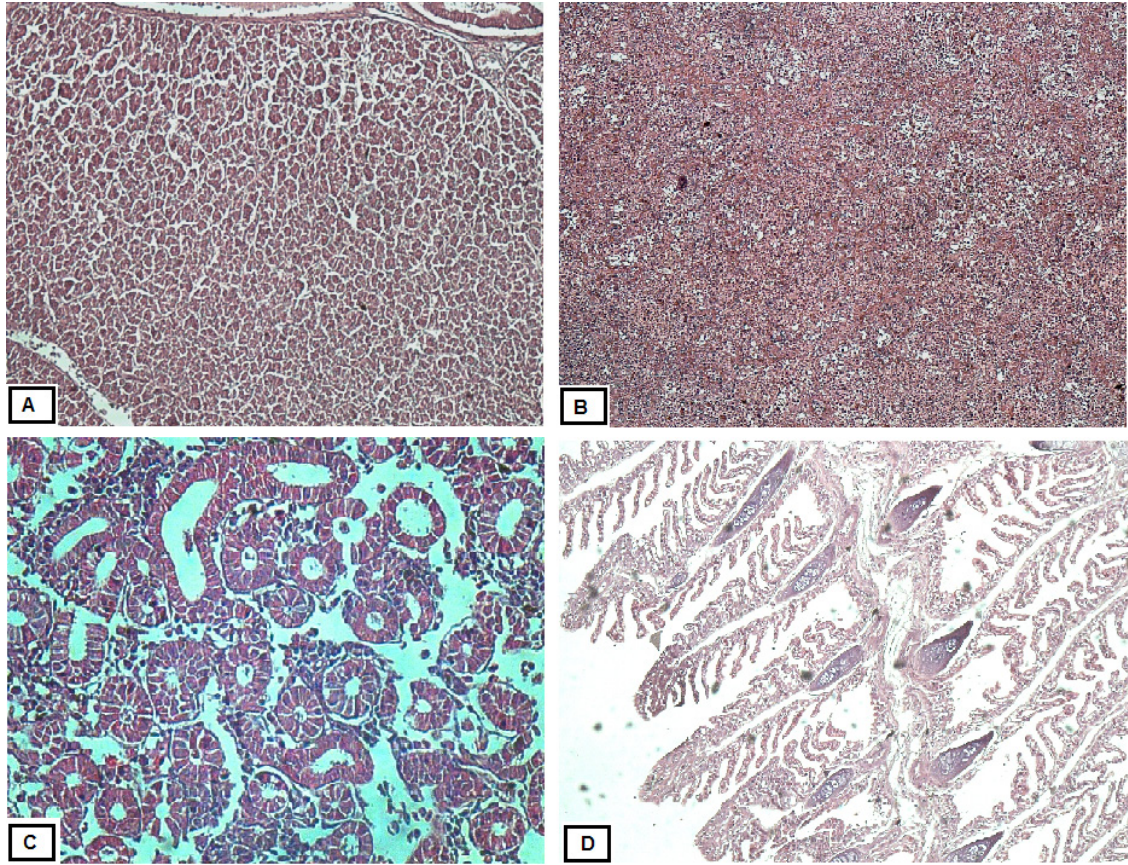
	1	2	<i>A. hydrophila</i> , Buller, 2004 [3]
Kontrol	-	-	-
Alkalın fosfataz	3	5	5
Esteraz (C 4)	3	1	-
Esteraz Lipaz (C 8)	1	4	4
Lipase (C 14)	3	3	2
Leusin arilamidaz	5	5	4
Valin arilamidaz	3	2	1
Sistin arilamidaz	3	1	0
Tripsin	4	5	3
α -kimotripsin	0	1	0
Asit fosfataz	5	5	5
Naftol-AS-BI-fosfohidrolaz	4	1	1
α -galaktosidaz	0	0	0
β -galaktosidaz	5	5	3
β -glukuronidaz	0	0	0
α -glukozidaz	5	3	1
β -glukozidaz	0	5	0
N-asetil- β -glukozaminidaz	5	5	4
α -mannozidaz	0	0	0
α -fukozidaz	0	0	0

Antibiyoqram bulguları: 4 farklı işletmeden temin edilen balıklardan izole edilen *A. schubertii* izolatlarının genel olarak hepsinin kloramfenikol ve siprofloksasin'e karşı duyarlı olup hastalığın tedavisinde kullanılabilecek en etkili antiyotikler olduğu tespit edildi. Bunların yanı

sıra kanamisin ve flumekuin'in de hastalığın tedavisinde kullanılabileceği, fakat yukarıda belirtilen antibiyotikler kadar etkili olmadığı belirlendi. İzolatların oksitetrasiklin, furazolidon, ampisilin, sulfametaksazol ve eritromisin'e karşı da dirençli oldukları tespit edildi (Tablo 3).

Tablo 3. *Aeromonas schubertii* izolatlarının antibiyoqram duyarlılık test sonuçları

Antibiyotik adı	1	2
Vibriostat 10 μ g	0	0
Vibriostat 150 μ g	0	0
Streptomisin 10 μ g	0,3	0,3
Siprofloksasin 1 μ g	1,0	0,9
Kanamisin 30 μ g	0,5	0,6
Sefatoxime 30 μ g	0,5	0,2
Sulfa Metaksozol 25 μ g	0	0
Kloramfenikol 30 μ g	1,5	0,2
Furazolidon 15 μ g	0,9	0,3
Furazolidon 100 μ g	0,9	0
Eritromisin 5 μ g	0	0,2
Flumekuin 30 μ g	1,4	1,1
Ampisilin 10 μ g	0,5	0
Oksitetrasiklin	0	0



Şekil 3. A) Hasta balığın karaciğer hücrelerinde nekroz ve vakuolasyon (H+E X10) B) Dalak dokusunda hemoraji ve haemopoietik dokuda boşalma (H+E X 20) C) Böbrek tübüllerinde nekroz ve interrenal haemopoietik dokuda boşalma (H+E X 20) D) Solungaç filamentlerinde hemoraji, hipertrofi ve nekrotik epitel hücrelerinde dökülme (H+E X 20)

Histolojik bulgular: Hasta balıkların iç organlarından hazırlanan doku kesitleri ışıklı mikroskop altında incelendiğinde, hastalık etkeninin dokularda genel bir bozukluğa yol açtığı tespit edildi. Karaciğer hücrelerinde nekroz ve vakuolasyon, dalak dokusunda hemoraji ve haemopoietik dokuda boşalma, böbrek tübüllerinde nekroz ve interrenal haemopoietik dokuda boşalma, solungaç filamentlerinde hemoraji, hipertrofi ve nekrotik epitel hücrelerinde dökülme hastalığın dokularda yarattığı genel patolojik bozukluklar olarak tespit edildi (Şekil 3,4,5,6).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Gökkuşáğı alabalığı üretimi ülkemizde başarıyla uygulanmaktadır ve ülkemiz dünyanın önde gelen alabalık üreticileri arasında yer almaktadır. Gökkuşáğı alabalığı üretimini sınırlayan faktörlerin başında özellikle hareketli *Aeromonas*lardan kaynaklanan hastalık problemleridir.

2009 yılı Temmuz ayında Akdeniz bölgesindeki 4 farklı ticari alabalık işletmesinde görülen hastalığın etkeninin tespiti amacıyla gerçekleştirilen bu çalışma kapsamında incelenen balıkların dış bakışında

ve otopsi sonucunda genel bakteriyel hemorajik sepsis tablosu gözlemlendi. Bu bulgular, gökkuşáğı alabalıklarında hareketli *Aeromonas* sepsislerinde Austin ve Austin [4] tarafından bildirilen klinik bulgularla benzerlik göstermektedir.

Gram boyama, asılı damla ile hareket muayenesi, O/F, gibi temel biyokimyasal testlerin sonucunda hastalık etkeninin hareketli bir *Aeromonas* türü olduğunun anlaşılmasının ardından tür düzeyinde identifikasyon çalışmalarına başlandı ve karşılaştırma yapmak amacıyla, daha önce İstanbul'daki bir akvaryum işletmesinden temin edilen bakteriyel hemorajik sepsisemili bir Japon balığından izole edilen bir *Aeromonas hydrophila* suşu çalışmaya dâhil edildi.

Daha önceleri *Vibrio damsela* (*Photobacterium damsela*) olarak identifiye edilen bir bakteri izolatının yeni bir *Aeromonas* türü olduğu ve adının *Aeromonas schubertii* olması gerektiği Hickman-Brenner ve diğ. [11] tarafından rapor edilmiştir. Bu tür O/129 testinde zon oluşturmaması ve *Vibriolar* için yarı selektif olan TCBS agarda ürememesi ile *Vibrio* türlerinden ayrılmaktadır. Arjinin dihidrolizi ve lizin dekarboksilasyonunu gerçekleştirebilmesi, indol üretmemesi, mannitol, sukroz, arabinoz gibi şekerlerden asit üretmemesi, glukozdan gaz

üretmemesi ile diğer hareketli *Aeromonas* türlerinden ayırt edilebilmektedir [11].

Bu çalışmada *A. schubertii* olarak tanımlanan izolatlar, fenotipik karakterler bakımından daha önceden rapor edilen sonuçlarla [3, 11] benzer bir tablo gösterirken farklı olarak sitrat kullanımı negatif, mannitolden asit üretiminde pozitif sonuç verdi ve bu sonuçlar hızlı tanı kitleri olan API 20E ve API 20NE ile doğrulandı. Bununla beraber Awan ve diğ. yapmış olduğu çalışmada [13] *A. schubertii* olarak tanımlanan izolatların, bu çalışmadaki sonuçlarla benzer şekilde mannitolden asit ürettiklerini rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada hastalık etkeni olan *A. schubertii*'nin virülans mekanizmasında rol oynayan enzimlerin aktivitelerini tespit etmek için *A. hydrophila* ile karşılaştırmalı olarak API ZYM test kiti, bu organizma için ilk defa kullanıldı. Buller'e [3] göre, aynı genusun üyeleri benzer bir enzimatik profil oluştururlar fakat türler arasında az sayıdaki enzimin üretimi bakımından farklılık görülebilmektedir. Benzer şekilde bu çalışmada enzimatik profilleri incelenen bu iki hareketli *Aeromonas* türü, test kitinde bulunan 19 enzimin 14'ünde aynı sonucu vermiştir.

API ZYM testi sonucunda bu bakterinin, virülens mekanizmasında rol oynayan tripsin ve esteraz gibi [24] enzim aktivitesinin yüksek olduğu dikkat çekti. Ayrıca, bu çalışmada kullanılan *A. hydrophila* suşu, Buller [3] tarafından bildirilen API ZYM profili ile β -glukosidaz enzimini üretmesi dışında tamamen benzer bir profil çizmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, API ZYM test kitinin, bu türün hızlı tanısında ve *A. hydrophila* ile ayırımında kullanılabileceğini göstermektedir.

Bakterilerin virulent ve avirulent suşları patojenite bakımından büyük farklılıklar göstermektedir [25, 26]. Aoki'ye göre [26] *A. hydrophila*'nın glukozdan gaz ve asit üretimi virulent ve avirulent suşların ayırımında rol oynamaktadır. Bu çalışmada da *A. schubertii* izolatlarının benzer şekilde glukozdan asit üretmedikleri tespit edildi. Fakat enzim profili, bu çalışmada elde edilen *A. schubertii* izolatlarının virülensinin yüksek olabileceğini gösterdi.

Histolojik inceleme sonucunda, genel olarak hasta balık örneklerinin böbrek ve kanlarından izole edilen *A. schubertii* izolatlarının, özellikle kan üreten dokularda tahribata yol açtığı görüldü. Dalak ve böbrekteki haemopoietik dokularda nekroz ve boşalma hastalığının önemli histopatolojik bulguları olarak bulundu. Ayrıca karaciğerde ve solungaçta hemorajik odaklar ve nekroz hastalığının diğer histopatolojik bulguları arasındadır. Bu bulgular, çeşitli balıklarda görülen *Aeromonas* enfeksiyonlarında daha önce diğer araştırmacılar tarafından rapor edilen histopatolojik bulgularla benzerlik göstermektedir [18, 27].

A. schubertii izolatları ile gerçekleştirilen antibiyotik duyarlılık testlerinde, kloramfenikol ve siprofloksasinin bu organizmaya karşı kullanılabilecek en etkili antibiyotikler olduğu tespit edilmiştir [11, 28, 29].

Fakat bu çalışmada *A. schubertii* izolatlarının ampisilin, sulfametaksazol trimetoprim ve sefatoksime karşı direnci farklı bulundu.

Sonuç olarak, bu çalışma ile gökkuşağı alabalıklarında hareketli *Aeromonas* septisemisi etkenlerine, *A. hydrophila*, *A. sobria* ve *A. caviae* gibi diğer hareketli *Aeromonas* türlerinin yanı sıra daha önce çevreden izole edilen *A. schubertii*'nin de neden olabileceği Türkiye'de ilk defa tespit edildi. Bu bakterinin tripsin ve esteraz gibi enzim profillerinin yüksek olması bu türün ülkemizdeki virülensinin yüksek olabileceğini göstermektedir ve bu nedenle gelecek dönemde oluşturabileceği hastalık problemlerinin önlenmesi için antibiyotik ve aşılama gibi tedbirlerin alınması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Okumuş, İ. 2002. Rainbow Trout Broodstock Management and Seed Production in Turkey: Present Practices, Constraints and the Future. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 2:41-56.
- [2] Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), 2009. http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=47&ust_id=13
- [3] Buller NB. 2004. Bacteria from Fish and Other Aquatic Animals, A Practical Identification Manual. CABI Publishing Wallington Oxfordshire, UK
- [4] Austin B, Austin A. 2007. Bacterial Fish Pathogens, Diseases of Farmed and Wild Fish., 4th edition. Springer-Praxis Publishing, Chichester.
- [5] Shotts EB, Gaines JL, Martin C, Prestwood AK. 1972. Aeromonas-induced deaths among fish and reptiles in an eutrophic inland lake. Journal of American Veterinary Medicine Association, 161:603-707.
- [6] Araujo RM, Arribas RM, Pares R. 1990. Distribution of Aeromonas species in waters with different levels of pollution. Journal of Applied Bacteriology, 71:182-186.
- [7] Timur G, Timur M. 2003. Balık Hastalıkları. İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Yayın No.5, İstanbul.
- [8] Leblanc D, Mittal KR, Olivier G, Lallier. Serogrouping of Motile Aeromonas Species Isolated from Healthy and Moribund Fish. Applied and Environmental Microbiology. 42(1):56-60.
- [9] Waltman II WD, Shotts EB, Hsu T. 1982. Enzymatic Characterization of Aeromonas hydrophila Complex by the API ZYM system. Journal of Clinical Microbiology. 16(4):692-696.
- [10] Abbott SL, Cheung WKW, Janda JM. 2003. The Genus Aeromonas: Biochemical Characteristics, Atypical Reactions and Phenotypic Identification Schemes. Journal of Clinical Microbiology. 41(6):2348-2357
- [11] Hickman-Brenner FW, Fanning GR, Arduino MJ, Brenner DJ, Farmer III JJ. 1988. Aeromonas

- schubertii*, a New Mannitol-Negative Species Found in Human Clinical Specimens. Journal of Clinical Microbiology. 26(8):1561-1564.
- [12] Janda JM. 1985. Biochemical and exoenzymatic properties of *Aeromonas* species. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 3(3):223-232.
- [13] Awan MB, Ahmed MM, Bari A, Saad AM. 2005. Biochemical Characterization of the *Aeromonas* Species Isolated from Food and Environment. Pakistan Journal of Physiology. 1(1-2):15-24.
- [14] Biosca EG, Amaro C. 1996. Toxic and Enzymatic Activities of *Vibrio vulnificus* Biotype 2 with Respect to Host Specificity. Applied and Environmental Microbiology. 62(7):2331-2337.
- [15] Alvarez RJD, Agurto CP, Alvarez AM, Obregon J. 2004. Resistencia Antimicrobiana en Bacterias Aisladas de Tilapias, Agua y Sedimento en Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ. 19(6):491-499.
- [16] Baran İ, Timur M, Aydın N, İstanbulluoğlu E, Aydınluğ MK. 1981. Çifteler-Sakaryabaşı Balık Üretim ve Araştırma İstasyonu'nda alabalıklarda (*Salmo gairdneri irideus*) görülen bakteriyel hemorajik sepsisemi hastalığı üzerine incelemeler. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 30, 468-473.
- [17] Diler Ö, Altun S. 1995. Gökkuşluğu alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*) hemorajik sepsisemi etkeni olarak izole edilen bazı *Aeromonas hydrophila* suşlarının biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi. SDÜ Eğirdir Su Ürünler Fakültesi Dergisi, 4: 169-178.
- [18] Köprücü S, Sarıeyyüpoğlu M. 2010. *Aeromonas hydrophila* ile Enfekte Edilen Gökkuşluğu Alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) Histopatolojik Bir Araştırma. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi. 22(1):11-17.
- [19] Mefut A, Y. Emre Y, Diler Ö, Altun S, İnce İ. 2007. Akdeniz bölgesindeki bazı gökkuşluğu alabalığı (*oncorhynchus mykiss*) işletmelerinde bakteriyel balık patojenlerinin tespiti ve kontrolü. Türk Sucul Yaşam Dergisi, Ulusal Su Günleri 2007. (Ed. Y. Emre ve U. Yılmaz), 5(8):9-18.
- [20] Özkök S. 2005. Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) görülen önemli bakteriyel etkenlerin tespiti ve antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi 16 (1-2):1-11.
- [21] Sağlam YS, Işık N, Arslan A, Erer H. 2006. Erzurum Bölgesindeki gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* W. 1792) *Aeromonas hydrophila* ve *Yersinia ruckerii* izolasyonu ve patolojik incelemeler. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi. 1(1-2):6-10.
- [22] Dalsgaard I. 2001. Selection of Media for Antimicrobial Susceptibility Testing of Fish Pathogenic Bacteria. Aquaculture. 196:267-275.
- [23] Bullock, AM. 1978. Laboratory Methods in Fish Pathology. (ed. Roberts RJ) Bailliere Tindall. London, pp:235-267.
- [24] Neurath H, Walsh KA. 1976. Role of proteolytic enzymes in biological regulation (a review). Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States. 73(11):3825-3832.
- [25] Santos Y, Toranzo AE, Barja JL, Nieto TP, Villa TG. 1988. Virulence properties and enterotoxin of *Aeromonas* strains isolated from fish. Infection and Immunity. 56:3285-3293.
- [26] Aoki T. 1999. Motile *Aeromonads* (*Aeromonas hydrophila*). Fish Diseases and Diseases and Disorders, Vol 3. Viral, Bacterial and Fungal Infections, Editör: Woo PTK, Bruno DW. CABI Publishing, New York. ISBN: 0-85199-194-7.
- [27] Karataş S, Candan A, Demircan D. 2005. Atypical *Aeromonas* infection in cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the Black Sea. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh. 57(4):255-263.
- [28] Overman T, Janda JM. 1999. Antimicrobial Susceptibility Patterns of *Aeromonas jandaei*, *A. schubertii*, *A. trota* and *A. veronii* Biotype *veronii*. Journal of Clinical Microbiology. 37(3):706-708.
- [29] Awan MB, Maqbool A, Bari A, Krovacek K. 2009. Antibiotic Susceptibility Profile of *Aeromonas* spp. Isolates from Food in Abu Dhabi. New Microbiologica. 32:17-23.