

KAHRAMANMARAŞ BÖLGESİNDEKİ BAZI GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*) İŞLETMELERİNDE GÖRÜLEN *Acinetobacter* sp. ENFEKSİYONUNUN ARAŞTIRILMASI

M. Enis Yonar^{*1}, Murat Karahan², N. İlker Kan¹, Serpil Yonar¹, Naim Sağlam¹

¹Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Balık Hastalıkları Abd., Elazığ

²Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Abd., Elazığ

Özet:

Kahramanmaraş Bölgesinde bulunan bazı alabalık işletmelerinde 2008 yılının Mart-Mayıs aylarında 0.5-1 g ağırlığındaki gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W., 1792) yavrularında yüksek mortalite ile seyreden bir enfeksiyona rastlandı. Balıklar, buldukları işletmede sistematik olarak hastalıklar yönünden incelendi. Daha sonra Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarına canlı olarak getirilen balıklardan uygun besi yerlerine steril şartlarda ekimler yapılarak 24 °C'de inkübasyonları gerçekleştirildi. Hasta balıklarda ekzozoftalmus ve deride kararmalar ile birlikte iştahsızlık ve durgunluk, vücutta çarpıklıklar, sırt kısmında yaralar ile dorsal ve kuyruk yüzgecinin tabanında kanamalar tespit edildi. Otopside karaciğer ve böbrekte lezyonlar gözlemlendi. Su kaynaklarının sıcaklık, çözülmüş oksijen ve pH değerleri ölçüldü. Bakterilerin morfolojik ve biyokimyasal testleri sonucunda belirlenen 3 farklı suşun *Acinetobacter* sp. olduğu belirlendi. Elde edilen izolatların antibakteriyel ilaçlara karşı duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile incelendi. Suşların gentamisin ve norfloksasin antibiyotiklerine karşı duyarlı, oksitetrasiklin, sulfametoksazol, kloramfenikol ve amoksisilin antibiyotiklerine ise dirençli olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Alabalık, *Oncorhynchus mykiss*, *Acinetobacter*, Tedavi, Antibakteriyel duyarlılık

* Correspondence to:

Muhammet Enis YONAR, Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Anabilim Dalı 23119 Elazığ-TÜRKİYE

Tel: (+90 424) 237 00 00 - 4570 Fax: (+90 424) 2386287

E-mail: mevonar@gmail.com

Abstract: A study of *Acinetobacter* sp. infection in some cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Kahramanmaraş

An outbreak has appeared affecting rainbow trout weighting 0.5-1 g from different fish management units in Kahramanmaraş region in 2008 year. The fish were examined systematically in terms of fish diseases. Fish samples were brought Firat University Fisheries Faculty. For this goal, isolation was made onto appropriate agar plates under sterile conditions from fish. Cultures were incubated at 24 °C. Clinical signs at fish were observed as dark skin, exophthalmia, injured on dorsal zone, disorders on the fish body, bleeding in the base of the dorsal and tail fin. As autopsy signs in liver and kidney of fish were observed lesions. Water quality parameters such as temperature, dissolved oxygen and pH were measured. According to morphological and biochemical tests, three different bacteria isolated at farms were identified as *Acinetobacter* sp. Antibiotic susceptibility tests revealed that strains were sensitive to norfloxacin and gentamicin. On the other hand, some of the pathogen strains were found to be resistant to oxytetracycline, sulfamethoxazole, chloramphenicol and amoxicillin.

Keywords: Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Acinetobacter*, Treatment, Antibacterial susceptibility

Giriş

Kültür balıkçılığının gelişmesiyle birlikte bakteriyel kökenli balık hastalıkları da, ekonomik kayıplara neden olan etkenlerin en önemlilerinden birini oluşturmaktadır. Balıkların içinde yaşadığı su ortamı coğrafi, fiziksel, kimyasal ve biyotik özelliklerine bağlı olarak çok sayıda ve türde patojenik veya nonpatojenik mikroorganizmaların barınmasına ve gelişmesine uygun bir ortam oluşturmaktadır. Bu nedenle balıklar çeşitli mikrobiyal ajanlarla her zaman direkt temasa maruz kalmakta ve bu etkenlerden ileri gelen hastalıklara yakalanmaktadırlar. Eğer çevresel yaşam ortamında optimal değerlerde olumsuz değişiklikler oluşursa ve bu olumsuz koşullar kısa süre içerisinde değişmez veya düzeltilmez ise balıklar arasında ölümler başlar ve giderek artar.

Moraxellaceae familyasında bulunan *Acinetobacter* sp. hareketsiz, non-fermantatif, su, toprak, atık su, insan derisi ve bazı besinlerden kolayca izole edilebilen gram negatif kokobasillerdir (Towner, 1996; Guardabassi ve ark., 2000; Austin ve Austin, 2007). Balıkların mikrobiyal florası içinde yer alan bu grup bakteriler solungaç, sindirim kanalı ve deride normal olarak yerleşmiş durumdadır. Bu nedenle hastalığın başlamasına kolay bir şekilde neden olabilirler (Horsley, 1973; Roald, 1977; Austin ve Austin, 2007).

Acinetobacter sp. Norveç'te 1978 yılında olgun atlantik salmonlardan izole edilmiştir (Roald ve Hastein, 1980; Austin ve Austin, 2007). Hastalığın beşinci haftasında kümülatif mortalite oranı oldukça yüksek olmuştur fakat balıkların yalnızca çok azı hastalığın belirtilerini göstermi-

ştir. Hastalığın belirtileri dermal kan damarlarında hiperemi, deride hemoraji, yüzgeçlerin tabanlarında ödem, böbrek, karaciğer ve dalakta lezyon, hava kesesi ve peritonda küçük hemorajiler sayılabilir (Roald ve Hastein, 1980; Austin ve Austin, 2007).

Bu araştırmada Türkiye'nin Kahramanmaraş yöresindeki alabalık işletmelerinde yavru balıklarda toplu ölümlere neden olan etkenin ortaya çıkarılması ve gerekli tedavi şeklinin önerilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Kahramanmaraş yöresinde bulunan üç farklı gökkuşağı alabalığı işletmesinde su sıcaklığının yükselmesiyle birlikte 2008 yılının Mart-Mayıs aylarında 0.5-1 g ağırlığındaki yavrularda toplu ölümlerin olduğunun bildirilmesi üzerine belirtilen tesislere gidildi. İşletmelerde gerekli incelemeler yapıldı ve sorumlu kişilerden gerekli bilgiler alındı. Su kaynaklarının sıcaklık, çözünmüş oksijen ve pH değerleri ölçüldü.

Balıkların öncelikle ölüm sebebinin ortaya çıkarılabilmesi için sistematik olarak balık hastalıkları yönünden muayenesi yapıldı (Arda ve ark., 2002). Gerekli muayene ve incelemelerden sonra, yeteri kadar balık örneği hijyen kurallarına uygun ve soğuk zincirle Firat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları laboratuvarına işletme suyu içerisinde canlı olarak getirildi. Sistematik muayene laboratuvarında da tekrarlandı ve iç organlardan hazırlanan preparatlar native olarak incelendi.

İç organları tam olarak ayırt edilemediğinden balıkların sadece karaciğer ve böbreği bakteriyolojik yönden incelendi. İncelenen I. işletmeden 33, II. işletmeden 38 ve III. işletmeden 36 adet hastalık belirtilerini gösteren balığın karaciğer, böbrek, solungaç ve vücut yüzeyindeki lezyonlarından aseptik koşullarda Tryptic Soy Agar, Kanlı Agar ve MacConkey Agar'a ekimler yapıldı. Agarlar 24 °C' de 48 saat boyunca inkübasyona bırakıldı.

İzole edilen 3 suşun fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal karakterleri Plump ve Bowser (1983), Austin ve Austin (1993) ile Towner (2006)'e göre belirlendi. Bakteri suşlarının morfolojik karakterleri native muayene ve gram boyama ile yapıldı. Oksidaz, katalaz, pigment üre-

timi, glukozdan asit oksidasyonu, MacConkey Agarda üreme, hemoliz oluşumu kullanılarak suşların bazı biyokimyasal özellikleri belirlendi (Tablo 1). Mikroorganizmaların tanımlanması Holt ve ark., (1994)' nin bildirdiği şekilde yapıldı.

Elde edilen izolata Kanlı Agar kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile antibiyogram testi uygulandı. Bunun için 5 farklı antibiyotik içeren diskler kullanıldı. Diskler petrilere yerleştirilerek 24 °C' de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Oluşan inhibisyon zonları milimetrik olarak ölçülüp, sonuçlar dirençli ve duyarlı olarak tanımlandı. Değerlendirmede ortaya çıkabilecek olan uygulama hatalarını en aza indirebilmek için antibiyogram testi 3'er kez tekrarlandı.

Tablo 1. Kahramanmaraş Bölgesindeki gökkuşağı alabalıklarından izole edilen *Acinetobacter sp.*' nin fenotipik ve biyokimyasal karakterleri.

Table 1. Phenotypic ve biochemical characters of *Acinetobacter sp.* isolated from rainbow trout in the Kahramanmaraş region.

Biyokimyasal Testler	I. İşletme	II. İşletme	III. İşletme
Gram Boyama	-	-	-
Morfoloji	Çomak ve diplokok	Çomak ve diplokok	Çomak ve diplokok
Hareket	-	-	-
MacConkey agarda üreme	+	+	+
Pigmentasyon	-	-	-
Oksidaz	-	-	-
Katalaz	+	+	+
Hemoliz karakteri	-	-	-
Nitrat redüksiyon testi	-	-	-
β-Galaktosidaz	-	-	-
Metil red testi	-	-	-
Voges-Proskauer reaksiyonu	-	-	-
H ₂ S üretimi	-	-	-
Nitrat üretimi	-	-	-
İndol üretimi	-	-	-
Lizin dekarboksilaz	-	-	-
Arginin dihidrolaz	-	-	-
Ornitin dekarboksilaz	-	-	-
Gelatin hidrolizi	-	-	-
Üre hidrolizi	-	-	-
Galaktoz	+	+	+
Maltoz	+	+	+
Mannoz	+	+	+
Glukoz	-	-	-
Arabinoz	-	-	-
Laktoz	-	-	-
Sorbitol	-	-	-

Bulgular ve Tartışma

İşletmelerdeki ortalama su sıcaklığı 11 °C, pH 7.68 ve oksijen düzeyi 7.91 mg/L O₂ olarak tespit edildi. Hasta balıkların klinik muayenesinde; ölümlerin yavrularda meydana geldiği, balıkların durgun olduğu, iştahsız ve yem almadığı, renklerinin karardığı, hastalığın inkübasyon süresinin uzun olduğu saptandı. Ayrıca balıklarda aşırı

mukus salgısı belirlendi. Balıkların dış bakışında, özellikle dorsal ve adipöz yüzgeçlerin ön kısmında omurgaya kadar inmiş yaralar gözlemlendi (Şekil 1). Tüm balıklarda olmamakla birlikte vücutta çarpıklıklar (Şekil 2), yüzgeç tabanlarında ve göz etrafında kanamalar tespit edildi (Şekil 3). Otopside, karaciğer ve böbrekte lezyonlar gözlemlendi. İşletmelerdeki mortalite oranı % 50-55 arasında belirlendi.



Şekil 1. Balıkların sırt kısmında oluşmuş yara.
Figure 1. Fish injured from its back.



Şekil 2. Balıkların vücudunda gözlenen çarpıklıklar.
Figure 2. Disorders observed on the fish body.



Şekil 3. Dorsal ve kuyruk yüzgecinin tabanındaki kanamalar.
Figure 3. Bleeding in the base of the dorsal and tail fin.

Native olarak yapılan bakteriyolojik incelemede, iç organlarda herhangi bir bakteri tespit edilemedi. Yapılan ekimler sonucu besi yerlerinde yuvarlak, açık sarı, yarı şeffaf mukoid kolonilerin oluştuğu görüldü. İzolatlara uygulanan biyokimyasal testler sonucunda (Tablo 1) izole edilen üç suşunda aynı ve *Acinetobacter* sp. olduğu belirlendi.

Yapılan antibiyogram testi sonucunda izole bakterilerin gentamisin ve norfloksasin antibiyotiklerine karşı duyarlı, oksitetrasiklin, sulfametoksazol, kloramfenikol ve amoksisilin antibiyotiklerine ise dirençli olduğu tespit edildi (Tablo 2).

Tablo 2. İzole bakterinin bazı kemoterapötik maddelere karşı duyarlılığı. R: Resistant (Dirençli), S: Sensitive (Duyarlı).

Table 2. Sensitivity of isolated bacteria against chemotherapeutic substances. R: Resistant, S: Sensitive

Kemoterapötik Madde	Duyarlılık
Oksitetrasiklin	R
Sulfametoksazol	R
Kloramfenikol	R
Amoksisilin	R
Gentamisin	S
Norfloksasin	S

Son yıllarda balık yetiştiriciliği ve endüstrisi hızla gelişmekte ve buna bağlı olarak da balık hastalıkları büyük sorunlar oluşturmaya başlamaktadır. Yakın geçmişe kadar balıklar için 15-20 bakteri türünün patojenik etki gösterdiği (Munro, 1982) sanılırken günümüzde doğal olarak enfekte balıklardan 70' e yakın bakteri türü izole edilmiştir (Austin ve Austin, 1993).

Balıkların içinde yaşadığı su ortamının besleyici, fiziksel, kimyasal, biyotik ve abiyotik optimal yaşam koşullarının olumsuz yönde değişmesi balıkların immunitésinin zayıflamasına dolayısıyla birçok enfeksiyöz hastalığın çıkmasına neden olmaktadır. *Acinetobacter* sp balıkların ve suyun mikrobiyal florası içinde yer almaktadır ve balıklar için potansiyel bir hastalık etkenidir (Austin ve Austin, 2007). Özellikle salmonların deri ve solungaçları (Horsley, 1973) ile sindirim kanalında (Roald, 1977) bulunmaktadır. Vücut yüzeyinde bulunan her türlü mikroskobik ve makroskobik lezyonlar hastalığın çıkmasına ve

yayılmasına yol açabilir (Austin ve Austin, 2007).

Austin ve Austin (1993) *Acinetobacter* grubu bakterilerin 1.5 mm çapında yuvarlak, şeffaf, mukoid koloniler oluşturduğunu ifade etmiştir. Bu çalışmada da izole edilen bakterilerin koloni morfolojisi araştırmacılarla benzer bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmadaki *Acinetobacter* sp izolatlarının identifikasyon test sonuçları önceki bilgileri (Holt ve ark., 1994; Austin ve Austin 1993; Guardabassi ve ark., 2000; Towner, 2006; Austin ve Austin, 2007) doğrulamaktadır.

Roald ve Hastein (1980), *Acinetobacter* sp' nin neden olduğu enfeksiyonun anaç balıklarda meydana geldiğini ve hastalığın inkübasyon süresinin uzun olduğunu ifade etmiştir. Ayrıca hastalığın 5. haftasında kümülatif mortalite oranının % 92 olduğunu fakat balıkların yalnızca % 40'nın hastalığın belirtilerini gösterdiğini bildirmiştir. Bu çalışmada ise enfeksiyon ortalama 0.5-1 gr ağırlığındaki alabalıklarda görülmüştür. Fakat hastalığın inkübasyon süresinin uzun olduğu tespit edilmiştir. Mortalite oranı % 50-55 olarak belirlenmiştir.

Acinetobacter sp ile enfekte balıkların otopsinde; dermal kan damarlarında hiperemi, deride hemoraji, yüzgeçlerin tabanlarında ödem, karaciğer, böbrek ve dalakta lezyonlar, hava kesesi ve peritonda küçük hemorajilerin oluşabileceği bildirilmiştir (Roald ve Hastein, 1980; Austin ve Austin, 2007). Bu çalışmada karaciğer ve böbrekte gözlemlenen lezyonlar araştırmacıların bulgularını destekler niteliktedir. Fakat araştırmacıların ifade ettiği diğer semptomlara bu çalışmada rastlanılmamıştır.

Bulaşıcı ve öldürücü bir bakteri olan *Acinetobacter* sp' nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde oksitetrasiklinin etkili olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Austin ve Austin, 1993; Austin ve Austin, 2007). Guardabassi ve ark., (1999) *Acinetobacter* izolatlarına karşı oksitetrasiklin, kloramfenikol, amoksisilin, sulfametoksazol, gentamisin ve ciprofloksasin antibiyotiklerinin duyarlılıklarını araştırmışlardır. Sonuçta *Acinetobacter* türlerinin bu antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının değiştiğini belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise bakterinin gentamisin ve norfloksasine duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle özellikle balıklar için patojen olan bu bakterinin izolasyonunu takiben suşun mutlaka

antibiyotik duyarlılık testinin yapılması gerekmektedir.

Yetiştiriciliğin yapıldığı farklı bölgelerde aynı tür bakterinin neden olduğu enfeksiyonlarda, bakterinin kazanmış olduğu direnç nedeniyle kullanılan antibiyotikler genellikle farklıdır (Post, 1987; Schmidt ve ark., 2000). Birçok bakteride olduğu gibi *Acinetobacter*'lerinde antibiyotiklere karşı direncinin zamanla azalacağı bir gerçektir. Zira bu gruptaki bakterilerde plazmidlerin varlığı, bakterinin bazı antibiyotiklere karşı hassasiyetinin zamanla azalabileceğini göstermektedir (Guardabassi ve ark., 1999).

Sonuç

Kültür balıkçılığında hastalığın işletmeye girişine engel olmak hastalığı tedavi etmekten daha kolaydır. Hastalığın girişine engel olmak için, genel hijyen kurallarına özen gösterilmeli, yoğun stoklamadan kaçınılmalı, optimum su kalitesi değerleri sağlanmalı, balıklar kaliteli yemlerle düzenli olarak beslenmeli, suyun sediment, çamur ve herhangi bir tortu içermemesine dikkat edilmeli, bilinçsiz antibakteriyel ilaç kullanımından kaçınılmalıdır. Şayet hastalık işletmeye girmiş ise derhal hasta balıklar sağlamlardan ayrılarak tedaviye başlanmalıdır. Hastalık giren işletmelerde balıklar sürekli kontrol edilmeli aksi takdirde belli dönemden sonra hastalık latent forma dönüşeceği için enfeksiyonun tekrar ortaya çıkmasının mümkün olacağı unutulmamalıdır. Araştırma sonucu olarak elde edilen bulgulara göre *Acinetobacter* sp. mortalitelere ve açık yaraların oluşmasıyla balıklarda ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle; hastalıktan korunmak için işletmede yıl boyunca hastalık ile ilgili mücadele çalışmalarının sürekli yapılması önerilebilir.

Kaynaklar

- Arda, M., Seçer, S., Sarıyüpeoğlu, M., (2002). Balık Hastalıkları, Medisan Yayın Serisi 56, Ankara.
- Austin, B., Austin, D.A., (1993). Bacterial Fish Pathogens Disease in Farmed and Wild Fish, 2 th edition, Ellis Horwood Ltd, London, 376 p.
- Austin, B., Austin, D.A., (2007). Bacterial Fish Pathogens Disease in Farmed and Wild Fish, 4 th edition, Praxis Publishing, Chichester, 594 p.
- Guardabassi, L., Dalsgaard, A., Olsen, J.E., (1999). Phenotypic characterisation and antibiotic resistance of *Acinetobacter* spp. isolated from aquatic sources, *Journal of Applied Microbiology*, **87**: 659-667. [doi:10.1046/j.1365-2672.1999.00905.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00905.x)
- Guardabassi, L., Dijkshoorn, L., Collard, J.M., Olsen, J.E., Dalsgaard, A., (2000). Distribution and in-vitro transfer of tetracycline resistance determinants in clinical and aquatic *Acinetobacter* strains, *Journal of Medical Microbiology*, **49**: 929-936.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sueath, P.H.A., Satley, J.T., Williams, S.T., (1994). Bargey's Manual of Determinative Bacteriology, 9 th edition, Williams and Witkins, A Waverly Company, 787 p.
- Horsley, R.W., (1973). The bacterial flora of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in relation to its environment, *Journal of Applied Bacteriology*, **36**: 377-386. [doi:10.1111/j.1365-2672.1973.tb04119.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1973.tb04119.x)
- Munro, A.L.S., (1982). The pathogenesis of bacterial diseases of fish, in Roberts, R. J. eds. *Microbial disease of fish*. Academic Press, London, pp 131-149.
- Plump, J.A., Bowser, P.R., (1983). Microbial Fish Disease Laboratory Manual, Brown Printing Company Montgomery, Alabama, USA, 95 pp.
- Post, G., (1987). Bacterial diseases of fish, in Post G. eds. Textbook of fish health. T.F.H. Publications, Neptune City, NJ, pp 44-47.
- Roald, S.O., Hastein, T., (1980). Infection with an acinetobacter-like bacterium in Atlantic salmon (*Salmo salar*) broodfish, in Ahne, W. eds. *Fish Disease*. Third COPRAQ Session, Berlin, Springer-Verlag, pp 154-156.
- Roald, S.O., (1977). Effects of sublethal concentrations of lignosulphonates on growth, intestinal microflora and some digestive enzymes of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, **12**: 327-335. [doi:10.1016/0044-8486\(77\)90211-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(77)90211-3)
- Schmidt, A.S., Bruun, M.S., Dalsgaard, I., Pedersen, K., Larsen, J.L., (2000). Occurrence of antimicrobial resistance in fish pathogenic and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms, *Applied and Environmental Microbiology*, **66**: 4908-4915.

Towner, K.J. (1996). Biology of *Acinetobacter* spp. in *Bergogne-Bérézin, E., Joly-Guillou, M. L., Towner, K. J. eds. Acinetobacter: Microbiology, Epidemiology, Infections, Management, CRC Press, Boca Raton, FL, pp 13-36.*

Towner, K.J. (2006). The Genus *Acinetobacter*, *Prokaryotes*, 6: 746-758. [doi:10.1007/0-387-30746-x_25](https://doi.org/10.1007/0-387-30746-x_25)