

Alabalık İşletmelerinden Motil Aeromonasların İzolasyonu ve Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Saptanması ^{[1] [2]}

Yüksel DURMAZ *  Necla TÜRK **

[1] Aynı adlı uzmanlık tezinden özetlenmiştir

[2] Bu çalışma T.K.B., Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü tarafından desteklenmiştir

* Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Samsun - TÜRKİYE

** Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Bornova, İzmir - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): 2008/121-A

Özet

Bu çalışmada; Mart - Mayıs 2000 ve Kasım 2000 - Mart 2001 tarihleri arasında, alabalık işletmelerinden toplanan 73 adet balık örneği ile 22 adet su örneği motil Aeromonas'lar yönünden incelendi. Suşların 18 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılıkları araştırıldı. Araştırmada 95 örnekten 52 motil Aeromonas (%41.0) izole edildi. Bu izolatlardan 21 suş (%40.3) *Aeromonas hydrophila*, 24 suş (%46.1) *Aeromonas caviae* ve 7 suş (%13.4) *Aeromonas sobria* olarak tanımlandı. Balık örneklerinden 34 izolasyon (%35.6) yapıldı. Bu izolatlardan 15 suş (%44.1) *Aeromonas hydrophila*, 14 suş (%41.1) *Aeromonas caviae* ve 5 suş (%14.7) *Aeromonas sobria* olarak tanımlandı. Su örneklerinden 18 izolasyon (%59.0) yapıldı. Bu izolatlardan 6 suş (%33.3) *Aeromonas hydrophila*, 10 suş (%55.5) *Aeromonas caviae* ve 2 suş (%11.1) *Aeromonas sobria* olarak tanımlandı. Araştırmada incelenen balık materyallerinin iç organlarından izolasyon yapılamazken, çalışmada tespit edilen motil Aeromonas suşlarının tamamı balıkların solungaçlarından ve sudan izole edildi. Antibiyotiklere duyarlılık testinde tüm izolatlar; Ciprofloksacin ve enrofloxacin'e şiddetli derecede (%96'nın üzerinde), amikacin'e yüksek derecede (%92.3), oxolinic acid, flumequin, cefoperazone+sulbactam, imipenem, mezlocillin, piperacillin ve cefotaxim'e orta derecede (%76.9 ile %84.6 arasında), neomycine, nalidixic acid, sulphonamide, nitrofurantoin ve trimethoprim'e az (%26.9 ile %61.5 arasında) duyarlı bulunmuştur. Oxytetracycline, streptomycin ve carbenicillin'e yüksek derecede direnç tespit edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Alabalık, Motil Aeromonas, İzolasyon, Antibiyogram

Isolation of Motil Aeromonases and to Determine Antimicrobial Susceptibility from Farms of Trout

Summary

In this study; a total of 73 trout and 22 water samples from provinces of Turkey against were investigated for motil Aeromonases and tested the susceptibility 18 antibiotics between March and May 2000 and between November 2000 and March 2001. In the study 52 motil Aeromonases (41.0%), from a total of 95 samples were isolated. From these isolates, 21 strains (40.3%), 24 strains (46.1%), and 7 strains (13.4%) were identified as *A. hydrophila*, *A. caviae*, and *A. sobria* respectively. A total of 34 isolation (%35.6) were made from fish samples. From these isolates, 15 strains (44.1%), 14 strains (41.1%) and 5 strains (14.7%) were identified as *A. hydrophila*, *A. caviae*, and *A. sobria*, respectively. A total of 18 isolation (59.0%) were made from water samples. From these isolates, 6 strains (33.3%), 10 strains (55.5%), and 2 strains (11.1%) were identified as *A. hydrophila*, *A. caviae*, and *A. sobria* respectively. Whereas no isolation was made from internal organs of fish samples, all motil Aeromonas strains identified in the study were isolated from gills of fish and water samples. All isolates have been found sensitive against antibiotics; ciprofloxacacin and enrofloxacin at intense degree (more than 96%), amikacin at high degree (92.3%), oxolinic acid, flumequin, cefoperazone+sulbactam, imipenem, mezlocillin, piperacillin and cefotaxim at medium degree (76.9%-84.6%) neomycine, sulphonamide, nitrofurantoin, and trimethoprim at little degree (26.9%-61.5%). Resistance was at high degree discovered for oxytetracycline, streptomycin, and carbenicillin.

Keywords: Trout, Motil Aeromonas, Isolation, Antibiogram



İletişim (Correspondence)



+90 362 4370836



samsunfishlab@hotmail.com

GİRİŞ

Aeromonas türleri tatlı su balıklarında hemorajik septisemi ile seyreden enfeksiyonlara neden olurlar¹⁻⁵. Özellikle organik atıklarla kirlili sularda bol miktarda bulunurlar⁶. Fırsatçı patojen olarak değerlendirilirler ve tuzlu sular da dahil olmak üzere her türlü suda bulunurlar^{7,8}. Aeromonas cinsi içinde *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas media*, *Aeromonas veronii*, *Aeromonas eucrenophila*, *Aeromonas schubertii*, *Aeromonas jandaei* ve *Aeromonas trota* olmak üzere 10 tür yer almaktadır⁹.

Balıkların dış yüzeyinde, solungaçlarında, mide ve barsaklarında Aeromonas, Pseudomonas ve Cytophaga türlerine ait birçok bakterinin bulunduğu saptanmıştır. Yapılan araştırmalarda tatlı su balıklarından izole edilen bakteriler arasında ilk sırayı Aeromonaslar'ın aldığı bildirilmektedir¹⁰. Motil Aeromonas'lardan *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae* ve *Aeromonas sobria* tatlı su balıklarında "Hemorajik Septisemi Hastalığı"nı oluştururlar¹¹. Kurbağa ve yılan türleri gibi soğukkanlı su hayvanlarında da enfeksiyon yaparlar. Bu bakteriler ayrıca sular içinde gömülmüş bulunan eşya parçaları gibi malzemeler ve drenaj borularında da ürerler⁹. Hareketli Aeromonas'lar soğukkanlılarda septisemi, çeşitli hayvan türlerinde ve insanlarda enterik, septisemik veya lokal enfeksiyonlara da neden olurlar. Sulardaki Aeromonas türleri mevsimlere göre değişiklik gösterir. Aeromonas'lar %3 oranında insanların, idrar, tükürük, orta kulak iltihaplarından, boğaz ve burun kültürlerinden de izole edilebilmektedirler¹². *Aeromonas hydrophila* ve *Aeromonas caviae* 5°C'de üreyebildiklerinden, depolanarak saklanan besin maddeleri, özellikle et ve et ürünleri için potansiyel yiyecek patojenidirler¹³.

Ülkemizde *Aeromonas hydrophila*'yı ilk olarak 1981 yılında Baran ve ark.¹⁴, Çifteler-Sakaryabaşı Alabalık Üretim ve Araştırma İstasyonu'nda kültürü yapılan alabalıklardan izole etmişler, ılımlı su kaynağına sahip işletmelerin periyodik olarak taranması ve önemli ekonomik kayıplara neden olan bu hastalığın, yurdu-muzdaki durumunu saptayarak, gereken korunma tedbirlerini belirlemek açısından daha detaylı çalışmalar yapılması gerektiğini bildirmişlerdir. Muz ve ark.¹⁰, Keban barajı gölünden yakaladıkları bazı balıkların solungaç ve iç organlarından, *Aeromonas caviae*'yi %7.4, *Aeromonas sobria*'yı, %42.0 oranında izole etmişlerdir. Bu çalışma ile *Aeromonas caviae* türlerinin Türkiye'de balıkların iç organlarından ilk defa izole edildiği bildirilmiştir.

MATERYAL ve METOT

Materyal: Çalışmada kullanılan araştırma materyallerini, Samsun, Sinop, Amasya, Ordu ve Giresun illerindeki ilaç (antibiyotik ve dezenfektan) kullanılmamış olan 22 ayrı işletmeden toplanan 22 adet su örneği ile 150-250 gr ağırlıktaki 73 adet alabalık örneği oluşturdu. İşletme suyu bir örnek ve işletmedeki her havuz bir örnek kabul edilmiştir. Araştırma materyali olan balık ve su örnekleri, klinik olarak hastalık belirtileri görülmeyen çiftliklerden toplandı. Araştırma materyali olan balık ve su örnekleri, Mart - Mayıs 2000 ve Kasım 2000 - Mart 2001 tarihleri arasında toplandı.

Metot: İşletme suyunun çiftliğe giriş yerinde ısı ve pH ölçüldükten sonra havuzlardan su yüzeyine 25-30 cm mesafeden steril bir pipet yardımıyla su örneği alındı. Alınan su örneklerinden 0.1 ml miktarında steril svapla Brain Hearth Infusion Agar, Tryptic Soy Agar ve Nutrient Agar'a ekimler yapıldı. Balık örneklerinin de Otopsilere yapıldıktan sonra karaciğer, dalak, böbrek ve solungaçlarından aynı besi yerlerine ekimler yapıldı. Ekimlerin tamamı çiftliklerde yapıldı.

Ekim yapılan besiyerleri laboratuara götürülerek 15-22°C'de (numunenin alındığı andaki su sıcaklığı göz önünde bulundurularak) 2-3 gün süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda sirküler, kabarık ve sarımsı-yarı şeffaf renkli Aeromonas şüpheli koloniler üredi. Su örnekleri ve solungaçlardan yapılan ekimlerdeki primer koloniler genellikle birkaç tür bakteriyi kapsadığından aynı vasatta subkültürleri yapılarak saflaştırıldılar. Bu kültürler daha sonra selektif besiyeri (litrede 0.005 gr novobiocin supplementi içeren) Rimmler-Shotts Medium'a ekilerek 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda kenarları yeşil-grimsi maltoz fermantasyonuna bağlı sarı renkli koloniler üredi.

Rimmler-Shotts mediumda üreyen şüpheli kolonilerin öncelikle oksidaz testleri yapıldı. Oksidaz pozitif oldukları belirlenen kültürlerden hazırlanan preparatlar, gram yöntemi ile boyandı. Muayene sonrası gram negatif ve basil oldukları belirlenen izolatların identifikasyonu, biyokimyasal testlerle ve klasik identifikasyon tabloları ve şemaları kullanılarak yapıldı^{3,4,11,15}. İdentifikasyon amacıyla hareket muayenesi ile beta galaktosidaz, oksidasyon/fermentasyon, O/129 vibriostat (150 µg)'a duyarlılık, KCN' de üreme, voges-proskauer, arjinin dihidrolaz, lizin dekarboksilaz, ornitin dekarboksilaz, jelatin hidroliz, indol oluşumu, ürenin hidrolizi, hidrojen sülfür üretimi,

Tablo 1. İzole edilen motil *Aeromonas* suşlarının antibiyotiklere olan duyarlılıklar
Table 1. Starins of isolated Motil *Aeromonas* to antimicrobial susceptibility

ANTİBİYOTİK ADI	<i>Aeromonas hydrophila</i>				<i>Aeromonas caviae</i>				<i>Aeromonas sobria</i>				<i>Motil Aeromonas spp.</i>			
	Duyarlı suş sayısı	Dirençli suş sayısı	Duyarlılık %	Dirençlilik %	Duyarlı suş sayısı	Dirençli suş sayısı	Duyarlılık %	Dirençlilik %	Duyarlı suş sayısı	Dirençli suş sayısı	Duyarlılık %	Dirençlilik %	Duyarlı suş sayısı	Dirençli suş sayısı	Duyarlılık %	Dirençlilik %
Amikacin	19	2	90.4	9.6	22	2	91.6	8.4	7	0	100	0.0	48	4	92.3	7.7
Carbenicillin	2	19	9.5	90.5	0	24	0.0	100	0	7	0.0	100	2	50	3.8	96.2
Cefoperazone + Sulbactam	21	0	100	0.0	18	6	75.0	25.0	5	2	71.4	28.6	44	8	84.6	15.4
Cefotaxim	19	2	90.4	9.6	15	9	62.5	37.5	6	1	85.7	14.3	40	12	76.9	23.1
Ciprofloxacın	21	0	100	0.0	24	0	100	0.0	7	0	100	0.0	52	0	100	0.0
Enrofloxacin	21	0	100	0.0	22	2	91.6	8.4	7	0	100	0.0	50	2	96.1	3.9
Flumequin	15	6	71.4	28.6	19	5	79.1	20.9	7	0	100	0.0	41	11	78.8	21.2
İmipenem	14	7	66.6	33.4	22	2	91.6	8.4	7	0	100	0.0	43	9	82.6	17.4
Mezlocillin	20	1	95.2	4.8	16	8	66.6	33.4	7	0	100	0.0	43	9	82.6	17.4
Nalidixic acid	12	9	57.1	42.9	14	10	58.3	41.7	2	5	28.5	71.5	28	24	53.8	42.2
Neomycine	14	7	66.6	33.4	14	10	58.3	41.7	4	3	57.1	42.9	32	20	61.5	38.5
Nitrofurantoin	6	15	28.5	71.5	4	20	16.6	83.4	5	2	71.4	28.6	15	37	28.8	71.2
Oxolinic acid	17	4	80.9	19.1	20	4	83.3	16.7	5	2	71.4	28.6	42	10	80.7	19.3
Oxytetracycline	2	19	9.5	90.5	6	18	25.0	75.0	2	5	28.5	71.5	10	42	19.2	80.8
Piperacillin	16	5	76.1	23.9	19	5	79.1	20.9	7	0	100	0.0	42	10	80.7	19.3
Streptomycin	2	19	9.5	90.5	2	22	8.3	91.7	0	7	0.0	100	4	48	7.6	92.4
Sulphonamide	10	11	47.6	52.4	10	14	41.6	58.4	5	2	71.4	28.6	25	27	48.0	52.0
Trimethoprim	5	16	23.8	76.2	3	21	12.5	87.5	6	1	85.7	14.3	14	38	26.9	73.1

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bakteriyel Hemorajik Septisemi Hastalığı alabalık, turna, sazan ve yılan balıklarında görülen polimikrobiyel etiyojolojiye sahip bir enfeksiyondur. Bu güne kadar hastalık semptomu gösteren balıklardan *Aeromonas*, *Pasteurella*, *Pseudomonas* ve *Vibrio* cinslerine ait çeşitli etkenler izole edilmiştir²⁰. *Aeromonas* genusuna ait balık patojenlerinden motil *Aeromonas*'lar; *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* ve *Aeromonas caviae* gibi etkenlerdir^{2,3,4,11}.

Diler ve Altun⁸, Isparta, Antalya ve Burdur yöresinde alabalık işletmelerinden izole ettikleri, *Aeromonas hydrophila* suşlarının genel olarak, cefotaxim sodyum ve cefoperazone karşı duyarlı, oxytetracycline, streptomycin, amikacin ve oxolinic acid'e ise dirençli olduklarını bildirmişlerdir. Kuijper ve ark.²¹, Hollanda'da yaptıkları çalışmada, izole ettikleri bütün *Aeromonas* suşlarını; imipenem, trimethoprim ve ciprofloxacın'e duyarlı, streptomycin'e dirençli bulduklarını belirtmişlerdir. Mascher⁷, Avusturya'da *Aeromonas spp.*'nin akuatik biyotiplerini izole ederek yaptıkları antibiyotik duyarlılık testinde, cefotaxim ve ciprofloxacın'e %100, mezlocillin ve amikacine %95'in üzerinde duyarlılık saptandığını, *Aeromonas*

spp. ile enfeksiyonların tedavisinde başarılı olabilmek için ciprofloxacın veya diğer quinolone'ların yeni generasyonlarının kullanılmasını önermiştir. Goni-Urriza ve ark.²², Fransa'da yaptıkları çalışmada *Aeromonas spp.* suşlarının %59 oranında nalidixic acid'e, %4 oranında da cefotaxim'e karşı dirençli olduklarını tespit etmişlerdir. Chang ve Bolton²³, izole ettikleri 75 adet motil *Aeromonas* suşunun antibiyotiklere olan duyarlılıklarını araştırmışlar, nalidixic acid'e karşı direnç gözlemlemişlerdir. *Aeromonas sobria* izolasyonlarında, carbenicillin ile streptomycin'e direncin sıklıkla meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda motil *Aeromonas*'la çalışan diğer araştırmacıların sonuçlarına benzer şekilde veriler elde edilmiştir. Bu araştırma sonuçlarına göre; Balık çiftliklerinde görülen "Bakteriyel hemorajik septisemi" salgınlarında motil *Aeromonas*'ın primer etkenler arasında olabileceği, etiyojolojik etkenler aranırken motil *Aeromonas*'ın da göz önünde bulundurulmalarının gerektiği kanaatine varılmıştır. Ülkemizde uzun süredir Veteriner Hekimlik alanında kullanılmakta olan, streptomycin, oxytetracycline, trimethoprim ve nitrofurantoin gibi antibiyotiklere karşı motil *Aeromonas*'ın oldukça direnç kazandıkları saptanmıştır. Ülkemizde Veteriner Hekimlik

alanında kullanılmaya uygun preparatları olmayan antibiyotiklerden; amikacin, mezlocillin, imipenem ve cefoperazone+sulbactam, araştırmada test edilen motil *Aeromonas* suşlarına karşı etkili bulunmuştur. Motil *Aeromonaslar*'ın araştırmada test edilen 18 antibiyotik içerisinde %96.2 oranında carbenicillin'e karşı dirençli oldukları belirlenmiştir. Araştırmada en yüksek seviyede; ciprofloksacin'e %100, enrofloxacin'e %96.1 oranında duyarlılık belirlenmiştir. Bu nedenle; ciprofloksacin ve enrofloxacin motil *Aeromonas*'larla enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Munro ALS:** The pathogenesis of bacterial diseases of fishes. In, Roberts JR (Ed): Microbial Diseases of Fish. pp. 131-151, Academic Pres, London, 1982.
- Post G:** Textbook of Fish Health. 1st ed. pp. 30-41, T.F.H. Publications, NJ, 1987.
- Austin B, Austin AD:** Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish. pp. 173-181, Ellis Horwood, Chichester, 1993.
- Inglis V, Roberts JR, Bromage RN: Motile aeromonad (*aeromonas*) septicaemia: Bacterial Diseases of Fish. pp. 143-278, Blackwell Science, Edinburgh, 1993.
- Diker KS:** *Aeromonas* ve *aeromonas* enfeksiyonları. In, Arda M, Mimbay A, Leloğlu N, Aydın N, Kahraman M, Akay Ö, Ilgaz A, İzgür M, Diker KS (Eds): Özel Mikrobiyoloji. s. 59-62, Medisan Yayın Serisi. No: 26, Ankara, 1999.
- Southage P:** Disease in aquaculture. In, Brown L (Ed): Aquaculture for Veterinarians. 1st ed. pp. 84-102, Pergamon Pres, New York, 1993.
- Mascher F:** Invitro-empfindlichkeit von *Aeromonas* spp. gegen antibiotika. *Wien Med Wochenschrift*, 3, 57-59, 1990.
- Diler Ö, Altun S:** Gökkuşluğu alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*) hemorajik septisemi etkeni olarak izole edilen bazı *Aeromonas hydrophila* suşlarının biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi. *SDÜ Eğirdir Su Ürün Fak Derg*, 4, 169-178, 1994.
- Cengiz AT:** *Aeromonas* ve *plesiomonas*. In, Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (Eds): Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. s. 527-531, Güneş Kitabevi, Ankara, 1999.
- Muz A, Sarıyüpoğlu M, Ertaş HB, Şimşek A:** Keban baraj gölünden yakalanan bazı balıkların serobik ve mikroaerofilik bakteriler yönünden incelenmesi. *Fırat Üniv Sağlık Bil Derg*, 9 (2): 212-219, 1995.
- Austin B, Austin AD:** Methods for The Microbiological Examination of Fish and Shellfish. 1st ed. pp. 164-186, Ellis Horwood, Chichester, 1989.
- Canonica PF, Pisano AM:** Identification of hydroxy fatty acids in *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* and *Aeromonas caviae*. *J Clin Microbiol*, 22 (6): 1061-1062, 1985.
- Callister MS, Agger AV:** Enumeration and characterization of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas caviae* isolated from grocery store produce. *App Environ Microbiol*, 53, 249-253, 1987.
- Baran İ, Timur M, Aydın N, İstanbulluoğlu E, Aydınтуğ MK:** Çifteler-Sakaryabaşı Balık Üretim ve Araştırma İstasyonu'nda alabalıklarda (*Salmo gairdneri irideus*) görülen bakteriyel hemorajik septisemi hastalığı üzerine incelemeler. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 30, 468-473, 1981.
- Frerichs NG, Millar DS:** Manual for The Isolation and Identification of Fish Bacterial Pathogens. pp. 1-61, Pisces Press, Stirling, 1993.
- Beşe M:** Mikrobiyolojide Kullanılan Biyokimyasal Testler ve Besiyerleri. pp. 535- 536, Ankara Üniv Vet Fak Yayınları, Yayın No: 298, Ankara, 1974.
- Bekâr M:** Enterobacteriaceae Familyası Mikroorganizmaların Genel Karakterleri ve Tanı Yöntemleri. 178-179, Etlik Vet Kont ve Araşt Enst Yayınları, Yayın No: 97 (1), 1997.
- Erdeğer J:** Antibiyotik duyarlılık testleri ve uygulama alanları. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 7 (1): 1-26, 1990.
- Gökçelik G:** Kirby-Bauer antimikrobial duyarlılık testi. Antimikrobiyal Kullanımda Temel İlkeler ve Duyarlılık Test Yöntemleri. pp. 57-59, Pfizer yayın, İstanbul, 1993.
- Timur G, Timur M:** Eğirdir gölü sudak (*Stizostedion lucioperca* L. 1758) balıklarında yüksek mortaliteye neden olan bakteriyel hemorajik septisemi hastalığı üzerine bir araştırma. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 32 (1): 33-41, 1985.
- Kuijper JE, Peeters MF, Schoenmakers BSC, Zanen HC:** Antimicrobial susceptibility of sixty human fecal isolated of *Aeromonas* species. *Eur J Clin Microbiol*, 8, 247-249, 1989.
- Goni-Urriza M, Pineau L, Capdepuay M, Roques C, Caumette P, Quentin C:** Antimicrobial resistance of mesophilic *Aeromonas* spp. isolated from two European rivers. *J Antimic Chem*, 46 (2): 297-301, 2000.
- Chang, JB, Bolton MS:** Plasmids and resistance to antimicrobial agents in *Aeromonas sobria* and *Aeromonas hydrophila* clinical isolates. *App Environ Microbiol*, 8, 1281-1282, 1987.