

LEBISTES (POECILIA RETICULATA) BALIKLARINDA SAPTANAN TÜBERKULOZ OLGUSU

Ömer AKAY (*) Müjgan İZGÜR (**) Selçuk SEÇER (***)
Ayhan ÖZKUL (****)

G İ R İ Ő

Balık tüberkulozu, özellikle akvaryum balıklarının tehlikeli bir hastalığıdır. Literatür kayıtlarına göre; enfeksiyon ilk olarak Amerika'da tatlısu ve akvaryum balıklarında, daha sonra Avrupa'da tüm balık türlerinde görülmüş (3, 13, 15) ve bu konu ile ilgili ayrıntılı çalışmalar yapılmıştır (1, 2, 7, 11).

Balıklar için patojen olan Mikobakteri türü, *Mycobacterium marinum*'dur. Daha önceleri *Myco.piscium*, *Myco.anabanti* ve *Myco.salmoniphilum*'un hastalığa neden olduğu bildirilmiş ise de (12, 25) bu bakterilerin son klasifikasyonda yer almadıkları görülmektedir (16).

Balık tüberkulozu üzerinde değişik amaçlı araştırmalar yapılmıştır. Amlacher (2), 45 tür kemikli balığı incelediğinde bu balıklar arasından bazılarında bakteriyoskopik ve histopatolojik muayenelerde spontan tüberkuloz olgusuna rastladığını, Besse (6) incelediği 463 balıktan 243 tanesinin iç organlarında; asido-rezistant

(*) Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Bakteriyoloji Bilim Dalı, Ankara.
(**) Yrd. Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Bakteriyoloji Bilim Dalı, Ankara.
(***) Yrd. Doç. Dr., A.Ü. Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü, Ankara.
(****) Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilmi Dalı, Ankara.

etkeni gördüğünü ,ayrıca, *Lebistes reticulatus*'ların karaciğer, böbrek, dalak ve lezyonlu kılçıklarından Loewenstein-Jensen besi yerine ekimler sonu R- formunda portakal sarısı renkte, karnıbahar benzeri üreyen etkenler izole ettiğini, aynı araştırmacı (5) Anabantide grubundaki bazı balıkların organlarında beyaz-sarı renkte toplu iğne başı büyüklüğünde lezyonları gördüğünü ve bu lezyonlardan yapılan ekimlerde, Loewenstein-Jensen besi yerinde çok yavaş üreyen (3 hafta) etkene, *Mycobacterium anabanti* adını verdiğini açıklamışlardır. Csaba ve ark. (8), Cennet balıklarında (*Macropodus opercularis*) gözledikleri kitle halindeki ölümlerin mikobakteri etkenlerinden ileri geldiğini ve bu mikroorganizmanın morfolojik, kültürel yönden bilinen mikobakteriere oranla farklı türde olmasına rağmen, bu etkene ilişkin oluşan lezyonların histopatolojik muayenelerinde; diğer mikobakterilerinki gibi aynı özellikte bozukluklar oluşturduğunu açıklamışlardır.

Bu çalışmanın amacı, bir akvaryumda ortaya çıkan kitle halindeki ölümlerin nedenini araştırmaktır.

MATERYAL ve METOD

Patolojik materyal : Ankara'da akvaryum balığı üretimi yapan özel bir işletmeden sağlanan 50 adet ölü ve hasta *Lebistes (Poecilia reticulata)* balıkları çalışma materyalini oluşturmuştur. Bu balıkların dış bakı muayeneleri sonunda otopsileri yapılarak, gerekli olan iç organları histopatolojik ve bakteriyolojik yoklamalar için alınmıştır.

Besi yerleri : Hastalıklı materyallerden etken izolasyon ve identifikasyonu için Loewenstein-Jensen, Ogawa, Sauton agar, Picric asit-Sauton agar, nitrit-Sauton agar, PAS, NH₂OH, Salisilat, p-nitrobenzoik asit (PNB), Tween 80 ortamlarından yararlanılmıştır (23).

Standart suşlar : Denemede, izole edilen etkenin identifikasyonunda kontrol suşlar olarak *Myco.tuberculosis*, *Myco.bovis*, *Myco.avium* ve *Myco.kansasii* kullanılmıştır.

Histopatolojik yoklamalar : Bu amaçla, hasta balıkların karaciğer, dalak ve peritonlarından tekniğine uygun olarak alınan doku örnekleri % 10'luk formaldehitte tesbit edilerek, hazırlanan parafin bloklarından 5-10 mikron kalınlığında kesitler yapılmıştır. Bu kesitlerden hazırlanan preparatlar hematoksilin-eosin ve Ziehl-Neelsen ile boyanarak incelenmiştir (14, 15).

İzolasyon çalışmaları : Steril koşullarda açılan balıkların karaciğer ve dalaklarından yapılan preparatlar Ziehl-Neelsen boyama yöntemi ile incelenmiştir. Asido-rezistans etkenlerin rastlandığı balıkların organlarından, tekniğine uygun olarak hazırlanan inokulum, Loewenstein-Jensen ve Ogawa besi yerlerine ekilmiş (4), 25°C ve 37°C'lerde 2 ay süre ile inkube edilen besi yerlerinin, üreme yönünden belirli aralıklarla muayeneleri yapılmıştır.

İdentifikasyon çalışmaları : İzole edilen asido-rezistans etkenin identifikasyonunda kromojenite özelliği (18), Pikrik asit-Sauton (19), Nitrit-Sauton agarda (24), PAS (21), NH₂OH (20), Salisilat (17), PNB (9) ortamlarında üreme ile Tween hidroliz (26), Katalaz (10) ve Nitrat redüksiyon (22) testlerinden yararlanılmıştır. Bu testler, pozitif ve negatif oldukları bilinen standart suşarlarda tekrarlanmıştır.

B U L G U L A R

Araştırmada, incelenen balıkların dış bakılarında karınlarının içe çekilmiş, zayıflamış oldukları, bazılarının su yüzeyine yakın, oblik, bazılarının akvaryum tabanında yüzdükleri ve aktivitelerini kaybettikleri gözlenmiştir. Ölen ve hasta balıkların yapılan otopsilernde; iç organlarında gözle görülebilen makroskopik bir lezyona rastlanılamamıştır.

Histopatolojik yoklama sonuçları : Karaciğer, dalak ve peritonun histolojik incelemesinde, bu organların belirli bölgelerinde epiteloid histiositlerin oluşturduğu çok sayıda tüberküller ve tüberküllern bir kısmının çevresinde fibrosit, fibroblast ve kollagen demetlerden ibaret çok ince fibröz bir kapsül gözlenmiştir (Resim 1 ve 2).

İzolasyon çalışma sonuçları : Otopsi yapılan balıkların organlarından yapılan bakteriyoskopide, Ziehl-Neelsen ile boyanmış preparatlarda, kümeler halinde asido-rezistant etkenler görülmüş ve bu organlardan Loewenstein-Jensen, Ogawa besi yerlerine yapılan ekimler sonucu 21 günde kirli-sarı renkte R- tipli, kuru karakterde kolonilerin ürediği saptanmıştır. İzole edilen mikobakteri etkenlerinin 25°C ve 37°C'lerde üremelerine rağmen, 25°C'de üremenin çok daha yoğun olduğu gözlenmiştir.

İdentifikasyon çalışma sonuçları : İzole edilen mikobakteri etkeninin kromojenik özellikte olduğu, PAS, NH₂OH (25 mg/ml), PNB, Salisilat ortamlarında ürediği, Tween hidroliz testinde pozitif, Katalaz, Nitrat testlerinde negatif ve Nitrit-Sauton ve Pikrik asit-Sauton agarda üremediği saptanmış ve bu sonuçlara göre izole edilen etken, *Mycobacterium marinum* olarak identifiye edilmiştir.

T A R T I Ş M A

Memeli ve kanatlı hayvanlarda olduğu gibi, balıklarda da tüberküloz ölgüsü (12), daha sonraları Avrupa devletlerinde de görülmüştür (5, 6, 11). Araştırmacılar Mikobakterilerden *Myco.piscium*, *Myco.plathypoecilus*, *Myco.anabanti*, *Myco.marinum* gibi etkenleri balık tüberkülozundan izole ettiklerini çeşitli araştırmalarda belirtmişlerdir (3, 13, 15).

Histopatolojik yoklamalar sonu balıkların organlarında oluşan tüberküllerin epiteloid hücrelerden oluştuğu ve tüberküllerin merkezlerinin bazen nekrozlu ve bu nekrozun periferine doğru ilerlediği, bazı deneysel çalışmalarda araya da olsa dev hücrelerine rastlandığı açıklanmıştır (1, 2). Çalışmada hasta ve ölü balıkların organlarından yapılan histopatolojik muayenelerde tüberküllerde nekrozun olmayışı, Langans dev hücrelerine rastlanamaması, tüberküllerin hepsinde fibröz kapsülün olması önemli bulgular arasındadır.

Besse (5), balıklardan izole edilen asido-rezistans etkenin morfolojik ve kültürel karakterlerine bakarak, mikobakterilerin yeni bir türü olduğunu düşünmüş, zira bu etken yavaş üreyen, Loewen-

stein-Jensen besi yerinde memeli tüberküloz basilleri ile avian tip arasında intermedier görünüme sahip, aynı sığır tüberküloz basili gibi gliserinsiz besi yerinde üreyen, optimal ısı 25°C olan bu bakteriyi *Mycobacterium anabanti* olarak isimlendirmiştir. Çalışmada, hasta ve ölü akvaryum balıklarından izole edilen asido-rezistans etken, *Mycobacterium marinum* olarak tanımlanmıştır. Bu bulguya dayanarak bu etkenin akvaryum balıklarında ölümlere neden olabileceği ortaya konulmuştur.

Ö Z E T

Bu çalışmada *Lebistes* balıklarında görülen tüberküloz olgusu incelenmiştir. Hasta balıkların yapılan histopatolojik yoklamasında, karaciğer, dalak ve periton'un belirli bölgelerinde epitelooid histiositlerin oluşturduğu tüberküllere rastlanmıştır.

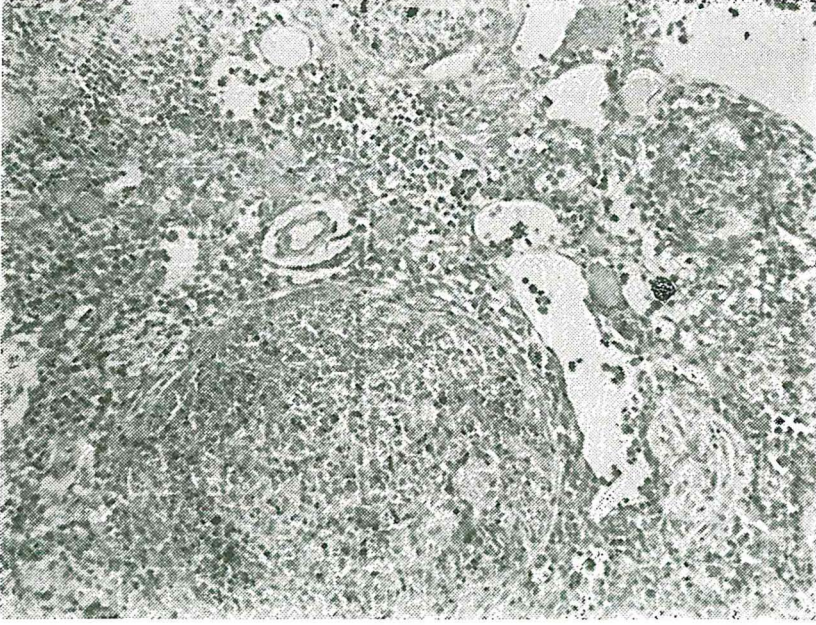
Organlardan izole edilen *Mycobacterium marinum*'un PAS, NH₂OH (25 mg/ml), PNB, Salisilat ortamlarında ürediği, Tween hidroliz testinde pozitif, Katalaz, Nitrat testlerinde negatif, Nitrit-Sauton agar ve Pikrik asi-Sauton agarda üremediği saptanmıştır.

S U M M A R Y

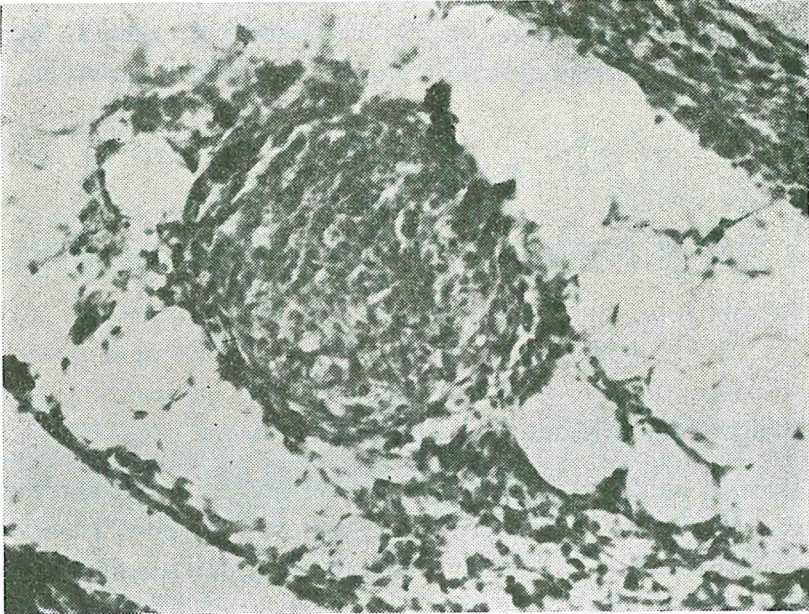
A CASE OF TUBERCULOSIS FOUND IN LEBISTES FISHES.

In this study, tuberculosis found in *lebistes* fishes was investigated. In histological examination, the tubercles were observed in the definite areas of the liver, spleen and peritoneum of the diseased and dead fishes.

Isolated microorganism, *Mycobacterium marinum* showed a positive hydrolysis in Tween hydrolysis test but showed negative reaction in catalase and nitrate tests. Isolated microorganism did not grow on Nitrite-Sauton agar and Picric acide-Sauton agar but growth on PAS, NH₂OH (2 mg/ml), PNB and Salicylate medium.



RESİM 1. Karaciğerde tüberkülün görünümü. HE x 100



RESİM 2. Peritonda tüberkülün görünümü. HE x 100

K A Y N A K L A R

- 1 — AMLACHER, E. (1967) : Fischtuberkulose. Aqu. Terr., 14(4): 122-126.
- 2 — AMLACHER, E. (1968) : Experimentella Befunde zur pathologie und Bakteriologie der Fischtuberkulose. Z. Fischerei. 16: 1-30.
- 3 — AMLACHER, E. (1981) : Taschenbuch der Fischkrankheiten. 4 Aufl. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- 4 — ANONIM. (1985) : Laboratory methods in Veterinary Microbiology for the isolation and identification of Mycobacteria. Ames.
- 5 — BESSE, P. (1949) : Epizootia a bacilles acido-resistants chez des poissons exotiques. Bull. Acad. Vet. France. 22; 151-154.
- 6 — BESSE, P (1949) Quelques affections a bacilles acido-resistants chez les poecilothermes vivant en equarium. Bull. Acad. Vet. France. 22: 425-431.
- 7 — CORAY, D.A. (1965) : Tuberculosis in pearfish. Aqu. J., 36: 22-24.
- 8 — CSABA, G.J., KOVACS, L., BEKESI, S., TUBOLY, S., BANKI, M. und KORMENDI, B. (1982) : Mycobacteriose der Fische. Massenerkrankung in einer Macropodus opercularis. Zucht. Riv It. Piscic. Ittiop, 17(2): 84-87.
- 9 -- GANQADHARAM, P.R. and DRAUBI, A.J. (1973) : Susceptibility of mycobacteria to p-nitrobenzoic acid in relation to their niacin production. Amer. Rev. Resp. Dis., 108: 143-146.
- 10 -- KUBICA, G.P., 'ONES, W.D., ABDOTT, V.D., BEOM, R.E., KILBURN, J.O. and CATER, J.C. (1966) : Differential identification of mycobacteria. Tests on catalase activity. Amer. Rev. Res. Dis., 94: 400-405.
- 11 -- NIGRELLI, R.F. and VOGEL, H. (1963) : Spontaneous tuberculosis in fishes and in other cold-blooded vertebrates with special reference to Mycobacterium fortuitum CRUZ from fish and human lesions. Zoologica. 48: 131-144.
- 12 — PARISOT, P.J. (1958) : Tuberculosis in fish. A relew of the literature with discription of the disease in salmonid fish. Bacteriol. Rev., 22: 240-245.
- 13 — REICHANBACH-KLINKE, H.H. (1980) : Kranheiten und Schadiggungen de Fische. 2. Aulf. Gustav Fischer, Verlag, Stuttgart.
- 14 — ROMEIS, B. (1968) : Mikroskopische Technik. 16 Aulf. Oldenburg, Verlag, Munchen-Wien.
- 15 — SCHLOTFFELD, H.J. (1985) : Grundlagen der Fischpathologie. Verlag Parey. Berlin, Hamburg.
- 16 — SNEATH, P.H.A., MAIR, N.S., SHARPE, M.E. and HOLT, 'G. (1986) : Bergey's Manual Systematic Bacteriology. Vol. 2. Williams and Wilkins Baltimore.

- 17 — TOMASOVIC, A.A. (1964) : Sodium salicylate-Ogawa medium. Amer. Rev. Resp. Dis., 89: 592-593.
- 18 — TSUKAMURA, M. (1962) Carotenoid of photochromogen of «unclassified mycobacteria». J. Biochem., 51: 169-171.
- 19 — TSUKAMURA, M. (1965) : Differentiation of mycobacteria by picric acid tolerance. Amer. Rev. Resp. Dis., 92: 491-492.
- 20 — TSUKAMURA, M. (1965) : Differentiation of mycobacteria. by susceptibility to hydroxyamine and 8-azo-quinoline. J. Bact., 9: 556-557.
- 21 — TSUKAMURA, M. (1965) : Salicylate degradation test for differentiation of Mycobacterium fortuitum from other mycobacteria. J. Gen. Microbiol., 41: 309-315.
- 22 — TSUKAMURA, M. (1967) : Identification of mycobacteria. Tubercle (London). 48: 311-338.
- 23 — TSUKAMURA, M. (1975) : Identification of mycobacteria. Research Laboratory of the National Sanatorium, Chubu chest Hospital. Obu, Aichi-ken, Japan.
- 24 — TSUKAMURA, M. and TSUKAMURA, A.S. (1968) : Differentiation of mycobacteria by susceptibility to nitrite and propylenglycol. Amer. Rev. Res. Dis., 98: 505-506.
- 25 — VOGEL, H. (1958) : Mycobacteria from cold-blooded animals. Amer. Rev. Tubl. Pul. Dis., 77: 283-338.
- 26 — WAYNE, L.G., DOUBEK, C.V. and RUSSELL, R.L. (1964) : Classification and identification of mycobacteria. I. Tests employing Tween 80 as substrate. Amer. Rev. Res. Dis., 90: 588-597.