

ENTERİK KIZIL AĞIZ HASTALIĞININ KONTROLÜ İÇİN ÇEŞİTLİ YERSİNIA RUCKERİ SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ TESPİTİ ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

**A study on Antibiotics Sensitivity of Yersinia ruckeri strains
for controlling Enteric Redmouth Disease**

Öznmur DİLER*

Soner ALTUN*

ÖZET

Çalışmada ülkemizde çeşitli alabalık işletmelerinden izole edilmiş *Y.ruckeri* suşlarının (8) antibiyotik duyarlılıkları araştırılmıştır. En fazla Sefalosporin ve Gentamisin'e duyarlı oldukları belirlenmiştir. Yurtdışından temin edilen diğer *Y.ruckeri* suşlarının (10) da antibiyotik duyarlılıkları incelenmiş ve sonuçta Trimethoprim -Sulfamet-hoxazole kombinasyonu ve Gentamisin'e duyarlı oldukları tespit edilmiştir. Sonuç olarak değişik ülkelerin suşları arasındaki antibiyotik duyarlılık değişimlerinin bilinmesinin yararlı olduğu belirlenmiştir.

SUMMARY

In this study *Y. ruckeri* strains (8) were isolated from various rainbow trout farms and antibiotics sensitivity were observed. Sefalosporin and Gentamycin were the most effective antibiotics for these (8) strains. Trimethoprim-Sulfamethoxazole and Gentamycin were effective antibiotics for other (10) strains. As a result obtained that to learn antibiotic sensitivity for different strains in different countries were usefull.

GİRİŞ

Enterik kızıl ağız hastalığı tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan işletmelerde özellikle yavru dönemde %60'a ulaşan mortalite ile önemli ekonomik kayıplara neden olan ve septisemi ile seyreden bulaşıcı bakteriyel bir hastalıktır (4). Söz konusu hastalık 1991 yılında denizli yöresinde gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan bir işletmede ilk kez tespit edilmiştir. (16). ERM hastalığı ilk görüldüğü tarihten itibaren çeşitli gökkuşağı alabalığı işletmelerinden izole edilerek hastalığın kısa sürede yaygın hale geldiği görülmüştür. Alabalık işletmelerinde özellikle 15-18 °C su sıcaklıklarında yüksek

* Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi

mortaliteye neden olan enterik kızıl ağız hastalığı etkeni Yersinia ruckeri'nin havuz suyu ve sedimentinden yılın her mevsiminde izole edilebilmesi (12) nedeniyle hastalığın kontrolü güç olmaktadır.

Enterik kızıl ağız hastalığının kontrol edilmesinde antimikrobiyal kemoterapötik maddelerden özellikle antibiyotikler geniş ölçüde kullanılmaktadır (2,14).

Bir enfeksiyonun sağıtımında uygun antibiyotiğin seçimi sırasında bakteri türüne ait suşların değişik ülkelerdeki ve zamanlardaki duyarlılık ilişkilerinin bilinmesi, düşünülmesi gereken önemli konulardan biridir. Zira uygun antibiyotiğin seçilememesi ekonomik kayıplara neden olacağı gibi uzun süreli ve düşük dozlarda antibiyotik kullanımı dirençli suşların gelişmesine neden olabilecektir (10).

Bu araştırmada disk diffüzyon yöntemi kullanılarak ülkemizdeki çeşitli alabalık işletmelerinden izole edilmiş Y.ruckeri suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması ve elde edilen sonuçların yurt dışından temin edilen suşlar ile mukayese edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Araştırmada çeşitli kaynaklardan temin edilmiş 18 Y.ruckeri suşu kullanılmıştır. (Tablo 1)

Disk diffüzyon metodu için Oxoid Firması (1-15 nolu diskler) ve Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü (16-21 nolu diskler)'nce hazırlanmış antibiyotik diskleri kullanılmıştır.

Gençleştirme amacı ile Yersinia ruckeri suşları, stok kültürden alınarak nütrient broth'a ekildi. 22°C de 24 saatlik kültürleri hazırlandı. Standart bulanıklıkta sulandırılmış sıvı kültür elde etmek için önce 0,5ml %1'lik BaCl₂ çözeltisine, 99,5 ml %1'lik sülfirik asit çözeltisi konarak standart bir solusyon hazırlandı. Daha sonra bu solusyonun standart bulanıklığında olacak şekilde sıvı kültürler tuzlu su ile dilue edildi (6,3). Disk diffüzyon metodunu uygulamak üzere Müeller-Hinton besiyeri hazırlandı ve 5-6 mm kalınlığında petri kutularına döküldü. Agar yüzeyi kuruduktan sonra standart bulanıklıkta hazırlanmış bakteri suşları steril pamuklu çubuklar yardımıyla Müeller-Hinton besi yerine yayıldı daha sonra antibiyotik diskleri steril bir pens yardımı ile 2,5 cm aralıklar ile petri kutularına yerleştirildi. Ters çevrilerek etüve yerleştirilen petri kutuları 22 °C de 15 saat inkübasyona bırakıldı. İnhibisyon zonları milimetrik olarak ölçülerek sonuçlar; Duyarlı, dirençli, orta derecede duyarlı şeklinde bildirildi (8,5).

BULGULAR

Y.ruckeri suşlarının tümünün genelde sefalosporin, mezocillin, trimethoprim+sulphamethoxazole, gentamisin antibiyotiklerine duyarlı oldukları tespit edildi. Streptomycin, Rifamycin, Penicillin, Nitrofurantoin antibiyotiklerine ise dirençli oldukları belirlendi. Aynı alabalık işletmesinden farklı zamanlarda izole edilen 18,61,72 nolu suşlar (Tablo 2) incelendiğinde duyarlılıklarının benzer olduğu tespit edildi. Ayrıca 18,61,72 nolu ve 1-5 nolu izolatların en fazla sefalosporin ve Gentamisine duyarlı oldukları belirlendi (Grafik 1).

Diğer Y.ruckeri suşlarının (6-15) antibiyotik duyarlılık özellikleri incelendiğinde, ülkemizden izole edilen suşlara göre antibiyotik duyarlılıkları bakımından bazı farklar gösterdikleri belirlendi (Tablo 3). Söz konusu suşların trime thoprim+sulfamet-hoxazole ve gentamisin'e duyarlılığının daha fazla olduğu görüldü (Grafik 2).

TARTIŞMA

Antimikrobiyal kemoterapötik maddelerden özellikle antibiyotikler, bakteriyel balık patojenlerinin kontrol edilmesinde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Enterik bir bakteri olan Y.ruckeri'nin neden olduğu enfeksiyonların sağıtımında çeşitli antimikrobiyal bileşiklerin etkili olarak kullanıldığı bildirilmektedir(2). Bununla birlikte %10-60 oranında mortaliteye neden olan ve ülkemizde alabalık yetiştiricileri için önemli ekonomik kayıplara neden olan ERM etkeni bakterinin hastalık vakalarından izolasyonunu takiben izole edilen suşun mutlaka antibiyotik duyarlılık testinin yapılması önerilmektedir. (14). zira Y.ruckeri'de R plazmidlerinin varlığının belirlenmiş olması, bakterinin bazı antibiyotiklere karşı hassasiyetinin zamanla azalabileceğini ortaya koymaktadır. Örneğin; A.B.D.'de Y.ruckeri suşlarının sülfamerazin ve oxytetra-cyclin'e direnç kazandıkları tespit edilmiştir (11). Bununla birlikte oxytetra-cyclin'e duyarlı Y. ruckeri suşlarının bulunduğu bildirilmektedir (1,13,15). Bu çalışmada ise kullandığımız suşların hiçbiri söz konusu antibiyotiğe duyarlı olmayıp orta derecede duyarlı oldukları belirlendi ayrıca chloramphenicol, Y.ruckeri'nin duyarlı olduğu bildirilen (11,15) bir diğer antibiyotik iken, çalışmamızda kullanılan suşların,söz konusu antibiyotiğe duyarlılıklarının yüksek olmadığı görüldü. Genellikle Peniciline dirençli olan Y. ruckeri suşlarının (13) bu çalışma sonucunda da benzer bir özellik gösterdikleri tespit edildi.

Çeşitli araştırmalarda Trimethoprim-Sülfamethaxazole kombinasyonu, enterik kızıl ağız hastalığının tedavisinde önerilmektedir (17). Ayrıca Y.ruckeri'nin Flumequin ve oxolinic asit'e de duyarlı olduğu bildirilmektedir (13,9,7). Ancak bu çalışmada Trimethoprim-Sülfamethaxazole kombinasyonuna İngiltere ve Danimarka suşları daha duyarlı iken ülkemizdeki çeşitli işletmelerden izole edilen

yerli suşların diğer bazı antibiyotiklere (Sefalosporin ve Gentamisini) daha yüksek oranda duyarlı oldukları tespit edilmiştir.

Bu çalışmada pratik ve kolay uygulanabilir olan disk diffüzyon metodu kullanılarak sonuçta farklı Y.ruckeri suşları arasında antibiyotik duyarlılık değişimlerinin bilinmesinin yararlı olduğu görüldü. Ayrıca sefalosporin ve Mezlocillin antibiyotiklerine ülkemizden izole edilen Y.ruckeri suşlarının daha duyarlı oldukları belirlendi.

KAYNAKLAR

1. **ALVAREZ, J. D., AUSTIN, B., CONROY, D. A.,** (1989) : First Outbreak of Enteric Redmouth in rainbow trout *Boncorhynchus mykiss*, Walbavm Cultured in venezuela. Bull. Evr. Ass. fish pathol.192 12(6) 189-190.
2. **AUSTIN, B., AUSTIN, D. A.,** (1987) : Bacterial fish pathogens disease in farmed and wild fish New York Ellis Horwood Lmt. 364.
3. **BİLGEHAN, H.,** (1981) : Genel mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. E.Ü.Tıp Fak. Yayın No : 84,372.
4. **BUSCH, R. A.,** (1982) : "Enteric Redmouth Disease" symposium international de Talloires 10-12 may., 1982 ,Les antigens Des Micro-organismes pathogènes de poissons. Collection Fondation Marcel Merieux.,201-224
5. **CAMBAZOĞLU, M.,** (1982) : Çeşitli Mikroorganizmalarda konsantrasyon ve Değişik besi yerlerinin antibiyotik duyarlılık testi üzerinde etkilerinin Araştırılması Etlik Vet. Arş. Derg. 1982-1983 5 (4-5) 79-109.
6. **COLLINS, C. H., LYNE, P.,** (1976) : Microbiological Methods Butterwoths, London, 521
7. **DE LA CRUZ, J. A., RODRIGUEZ, A., TEJEDOR, C., LUCAS, E. De, OROZCO, L. R.,** (1986) : Isolation and Identification of *Yersinia ruckeri*, causal agent of Enteric Redmouth Disease (ERM) for the first time in Spain Bull. Eur. Fish Pathol. 6 (2)43-44.
8. **ERDEĞER, J.,** (1990) : Antibiyotik Duyarlılık Testleri ve Uygulama Alanları . Etlik Vet. Mikrob. Derg. 7(1) 1-26.
9. **LEDO, A., DOPAZO, C. P., ROMALDE, J. L., TORANZO, A. E. BARJA J. L.,** (1987) : Effectiveness of different chemotherapeutic agents for controlling bacterial fish diseases. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 7(1) 20-21
10. **LEWIN, C. S.,** (1991) : Mechanisms of resistance development in aquatic microorganisms. In Michel. C. and Alderiman, D. J. (ed) Chemotherapy in Aquaculture. Symposium. DIE. 12-15 March 1991, Paris, 288-299.

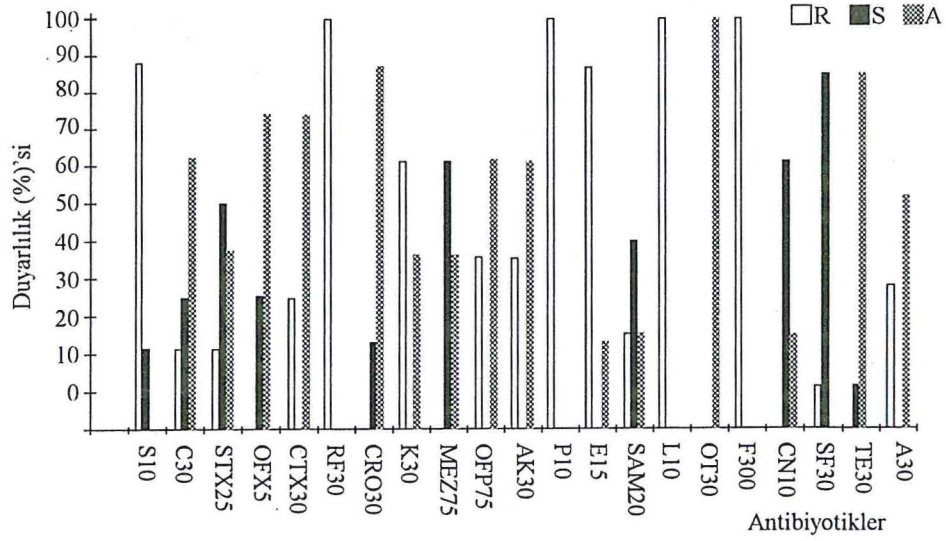
11. **POST, G.**, (1987) : Textbook of Fish Health T.F.H. Publications, 288.
12. **ROMALDE, J. L., MAGARINAS, B., PAZOS, F., SILVA, A. and TORANZO, A. E.**, (1994) : Incidence of *Yersinia ruckeri* in two farms in Galicia (NW Spain) during an one-year period. Journal of Fish Diseases. 17 : 533-540.
13. **SAVVİDİS, G. K.**, (1990) : First isolation of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout. *Oncorhynchus mykiss*, in Greece Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 10 (5) 131-132.
14. **SCHLOTFELDT, H. J., and ALDERMAN, D. J.**, (1995) : A Pratical Guide for the Fresh Water Fish Farmer European Association of Fish Pathologists. 15 (4), 14-15.
15. **SOUSA, A. J., NUNES, S., EIRAS, J. C., TORANZO, A. E.**, (1994): *Yersinia ruckeri* In Portugal : Characterization of the First isolates from fish and environment. Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol., 14(4) 113-116.
16. **TİMUR, G. and TİMUR, M.**, (1991) : "An outbreak of enteric Redmouth Disease in farmed Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 11 (5). 181-182.
17. **VUİLLAVME, A., BRUN, R., CHENE, P., SOCHON, E., LESEL, R.**, (1987) : First isolation of *Yersinia ruckeri* from sturgeon (*Acipencer lacri Brandt*)`in south west of France. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 7,1 18-19.

Tablo 1. Araştırmada kullanılan suşların temin edildiği kaynaklar.

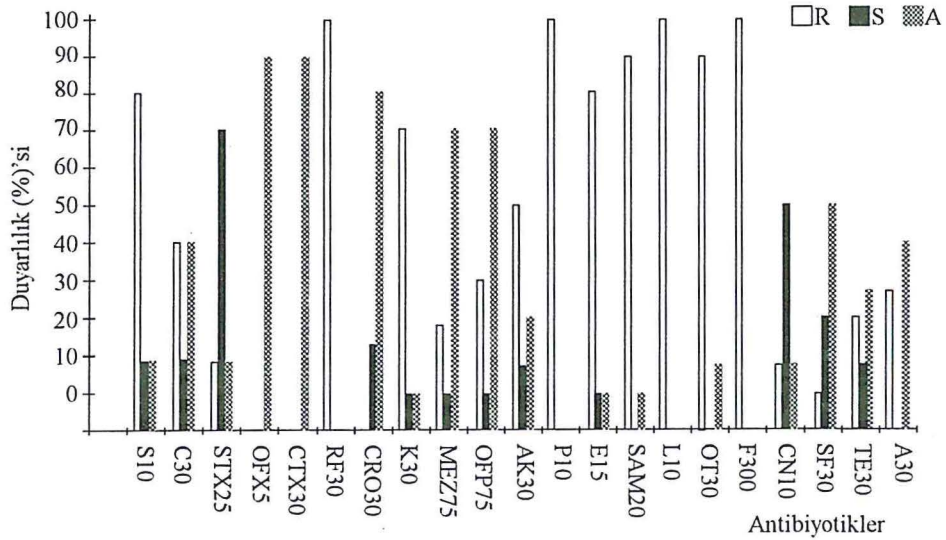
Patojen	Suş No'ları	İzolasyon Kaynağı	Yer
	18*61*72*	Gökkuşaağı alabalığı	S.D.Ü.Eğirdir Su Ürün. Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarı-İSPARTA
	1-5	Gökkuşaağı alabalığı	Ege Üniv. Su Ürünleri Fakültesi-İZMİR
	6-10	Yılan balığı(8) Gökkuşaağı alabalığı (6,7,9,10)	Balık Hastalıkları Laboratuvarı Weymount-İNGİLTERE
	11-15	Gökkuşaağı alabalığı	Balık Hastalıkları Laboratuvarı-DANİMARKA

* Aynı işletmelerden farklı zamanlarda izole edilen suşlar.

Enterik Kızıl Ağız Hastalığı - DİLER - ALTUN



Grafik 1. Ülkemizdeki bazı alabalık işletmelerinden izole edilmiş ERM etkeni Y.ruckeri suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılık (%)’si.



Grafik 2. İngiltere ve Danimarka’ dan izole edilmiş ERM etkeni Y.ruckeri suşlarının antibiyotik duyarlılık (%)’si.

Tablo 2. Ülkemizde bazı alabalık işletmelerinden izole edilmiş *Y. ruckeri* suşlarının antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

Antibiyotik İsmi	Sembol ve Konsantrasyon (ug)	İzolat No							
		72	61	18	1 ^a	2 ^b	3 ^c	4 ^d	5 ^e
1. Streptomycin	(S10)	R	R	R	S	R	R	R	R
2. Cholorampheniol	(C30)	S	S	A	R	A	A	A	A
3. Trimethoprim + Sulfamethoxazole	(STX25)	S	S	S	R	S	A	A	A
4. Ofloxacin	(OFX5)	A	A	A	A	S	S	A	A
5. Cefotaxim	(CTX30)	A	A	A	R	A	R	A	A
6. Rifamycin	(RF30)	R	R	R	R	R	R	R	R
7. Ceftriaxone	(CRO30)	A	A	A	A	S	A	A	A
8. Kanamycin	(K30)	R	R	R	R	A	A	R	A
9. Mezlocillin	(MEZ75)	S	S	A	A	S	A	S	S
10. Cefoperazone	(CPP75)	R	R	A	R	A	A	A	A
11. Amikacin	(AK30)	A	A	A	R	R	R	A	A
12. Penicillin	(P10)	R	R	R	R	R	R	R	R
13. Eritromycin	(E15)	R	R	R	R	R	R	A	R
14. Sülbactam + Ampicillin	(SAM20)	R	S	S	S	S	A	R	A
15. Lincomycin	(L10)	-	-	-	R	R	R	R	R
16. Oxytetracycline	(OT30)	A	A	A	A	A	A	A	A
17. Nitrofurantoin	(F300)	R	R	R	R	R	R	R	R
18. Gentamicin	(CN10)	S	S	S	A	S	S	S	R
19. Sefalosiporin	(SF30)	S	S	S	S	S	R	S	S
20. Tetracycline HCl	(TE30)	A	A	A	A	A	A	S	A
21. Auromycin (Chlortetracycline)	(A30)	A	A	R	A	A	A	R	R

1^a Özpət II4^d Özpət I

S : Duyarlı

2^b Adapazarı5^e Yavuz II

A : Orta Derecede Duyarlı

3^c Nif

R : Dirençli

Tablo 3. İngiltere ve Danimarka'dan izole edilmiş Y.ruckeri suşlarının antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.

Antibiyotik İsmi	Sembol ve Konsantrasyon (ug)	İzolat No									
		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. Streptomycin	(S10)	R	R	R	R	R	R	R	R	S	A
2. Cholorampheniol	(C30)	R	A	R	A	-	A	R	A	R	S
3. Trimethoprim + Sulfamethoxazole	(STX25)	S	S	S	S	-	S	S	A	R	S
4. Ofloxacin	(OFX5)	A	A	A	A	-	A	A	A	A	A
5. Cefotaxim	(CTX30)	A	A	A	A	-	A	A	A	A	A
6. Rifamycin	(RF30)	R	R	R	R	-	R	R	R	R	R
7. Ceftriaxone	(CRO30)	A	A	A	A	-	A	A	S	A	A
8. Kanamycin	(K30)	R	R	R	R	-	R	R	R	A	S
9. Mezlocillin	(MEZ75)	A	R	A	A	R	A	A	A	S	A
10. Cefoperazone	(CPP75)	A	A	A	R	R	A	R	A	A	S
11. Amikacin	(AK30)	A	A	A	R	R	R	R	R	S	S
12. Penicillin	(P10)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
13. Eritromycin	(E15)	R	R	R	R	R	R	R	R	S	A
14. Sülbactam + Ampicillin	(SAM20)	R	R	R	R	A	R	R	R	R	R
15. Lincomycin	(L10)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
16. Oxytetracycline	(OT30)	A	R	R	A	R	R	R	R	R	R
17. Nitrofurantoin	(F300)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
18. Gentamicin	(CN10)	A	R	S	R	S	S	S	S	A	S
19. Sefalosiporin	(SF30)	R	A	A	S	A	S	A	S	A	A
20. Tetracycline HCl	(TE30)	S	R	A	A	R	-	R	A	A	S
21. Auromycin (Cholortetracycline)	(A30)	A	R	A	R	R	-	R	A	A	A

6. 18/13: 10. 100/94 14. 107/10 C A : Orta Derecede Duyarlı
 7. 60/86 11. 950/9-4/1 15. 95/03-3/2
 8. 38/85 12. 85061 1/6 R : Dirençli
 9. 10/85 13. 107/10 B S : Duyarlı