

Levreklerde (*Dicentrarchus labrax*) *Vibrio anguillarum*'a Bağlı Vibriosis Olgusu

Mehmet AKAN¹ Hijran YILDIZ² Müjgan İZGÜR¹ Doğan ATAY²

ÖZET

Bu çalışmada levreklerde *Vibrio anguillarum*'a bağlı vibriosis olgusu tanımlandı. Makroskopik olarak incelenen 4 balığın tümünde, pektoral ve pelvik yüzgeçlerin altında, abdominal kaslarda, ağız ve anüs çevresinde hemorajiler gözlemlendi. İç organlardan, dalakta büyüme ve karaciğerde anemi saptandı. Mikrobiyolojik yoklama için ekim yapılan besiverlerinde saf olarak *V.anguillarum* üredi. Hematolojik muayenelerde lökosit sayısında artma, eritrosit ve hematokrit değerinde ise azalma saptandı.

Anahtar kelimeler: *Vibrio anguillarum*, *Dicentrarchus labrax*.

SUMMARY

A case of vibriosis caused by *Vibrio anguillarum* in Sea bass (*Dicentrarchus labrax*)

In this study, a case of vibriosis caused by *Vibrio anguillarum* reported in *Dicentrarchus labrax*. In macroscopic examinations of 4 fishes, haemorrhages at the base of the pectoral and pelvic fins, abdominal muscle, around the anus, and within the mouth have been observed. On cultured media for microbiological examinations, pure *V.anguillarum* growth was obtained. In haematological examinations, increased leucocyte counts and decreased erythrocytes counts, haemoglobine and haematocrit values were detected.

Key words: *Vibrio anguillarum*, *Dicentrarchus labrax*.

GİRİŞ

Vibriosis (kızıl hastalığı, red-pest), tatlı ve tuzlu su balıklarında önemli ekonomik kayıplara neden olan bir enfeksiyondur. Hastalığın etkeni *Vibrio anguillarum* (=Listonella *anguillarum*)'dur. Ayrıca hastalığa *Vibrio parahaemolyticus*'un da neden olduğu bildirilmektedir (1).

Hastalık etkeni ilk olarak Canestrini (1893) tarafından *Bacterium anguillarum* olarak yılan balıklarında bildirilmiş ve daha sonra Bergmann (1909) bu bakteriyi *Vibrio anguillarum* olarak tanımlamıştır (2). Kızıl hastalığı önceleri, tuzlu su furunculosisi, ülser hastalığı, kaynama hastalığı ve Hitra hastalığı gibi farklı isimlerle anılmasına karşın son yıllarda genel olarak vibriosis olarak bilinmektedir (1).

Hastalık dünyada oldukça yaygındır ve şimdiye kadar 48 balık türünde bildirilmiştir(1,3). Hastalığın klinik ve otopsi bulguları oldukça belirgindir. İnfekte balıklarda, deri renginin solması,

abdominal kaslarda kırmızı nekrotik lezyonlar, ağızda, yüzgeç tabanlarında, solungaçların üzerinde ve solungaçlar çevresinde eritemler gözlenir (4,5). Otopside, karaciğerde anemi, dalakta büyüme ve bazı vakalarda ise ekzoftalmi görülür (1,5,6). Ayrıca hasta balıkların hematolojik parametrelerinde değişiklikler saptanır(1,4). Balıklarda normal hematolojik parametreler tür, cinsiyet, mevsim, yaş gibi faktörlere bağlı olarak önemli değişimler göstermektedir, ancak genel olarak sağlıklı balıklarda, hematokrit değeri %29-32, lökosit sayısı $7.08-20.9 \times 10^3 / \text{mm}^3$ (7), hemoglobin 8-10 g/100 ml ve eritrosit sayısı $1-1.5 \times 10^6 / \text{mm}^3$ (8) olarak bildirilmektedir.

Vibriosis görülen populasyonlarda sağaltım amacıyla antibiyotikler kullanılmaktadır. Bu antibiyotikler arasında kloramfenikol, oksitetrasiklin, nitrofurazone ve sulfamerazin bulunmaktadır (1,3). Ancak hastalığın genellikle akut seyretmesi nedeniyle,

¹ Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA.

² Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü, ANKARA.

hastalıkla mücadelede antibiyotik ile sağaltımdan çok aşı uygulamaları tercih edilmektedir. Bu amaçla hastalık görülen bölgelerde balıklara canlı veya değişik yöntemlerle inaktive edilmiş aşılardan uygulanmaktadır (9,10,11). Aşılamalar, işletmenin yetiştirme şekline ve hayvanların yaşlarına bağlı olarak intraperitoneal enjeksiyon, direkt aşı solusyonuna batırma, oral veya sprey tarzında yapılmaktadır (12,13)

Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na kaslarda kanama ve yüksek ölüm görülen özel bir işletmeden getirilen dört adet levrek balığının mikrobiyolojik muayeneleri yapılarak hastalık etkeninin ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Örnekler: Bu çalışmada, kafes balık yetiştiriciliği yapan özel bir işletmeye ait 12 aylık iki canlı ve iki ölü olmak üzere toplam dört adet levrek (*Dicentrarchus labrax*) izolasyon materyali olarak kullanıldı. Balıkların 20-25 cm boyutlarında ve 200 gram ağırlığında olduğu saptandı. Kan örnekleri, in situ olarak balıklar canlı iken heparinize enjektörlere alındı ve balıkların otopsileri yapılarak makroskopik lezyonlar incelendi. Mikrobiyolojik muayeneler için kas, karaciğer ve dalaktan materyal alındı.

Besiyerleri: Bakteriyel etkenlerin üretilmesi amacıyla genel besiyeri olarak tripticase soy agar (TSA), mantar etkenlerinin üretilmesi için Saboroud dextrose agar (SDA) kullanıldı. Üreyen mikroorganizmaların pasajlarının yapılmasında ve biyokimyasal aktivitelerinin belirlenmesinde sıvı besiyeri olarak tripticase soy buyyondan (TSB) yararlanıldı.

İzolasyon ve identifikasyon: Steril koşullarda alınan kas, karaciğer ve dalaktan, iki seri olarak TSA ve SDA'a ekim yapıldı. Ekim yapılan besiyerleri aerobik koşullarda bir serisi 20 °C ve diğer serisi 37 °C'de olmak 10 gün süre ile inkubasyona bırakıldı. Besiyerinde üreyen mikroorganizmalar, koloni morfolojisi, bireysel morfoloji ve biyokimyasal özellikleri incelenerek tanımlanmıştır (2).

Hematolojik muayene: Heparinize kan örneklerinde eritrosit ve toplam lökosit sayıları Natt-Herrick solusyonu kullanılarak Thoma lamında (14), hemoglobin değeri Cyanmethemoglobin metodu (15), hematokrit seviyesi ise mikrohematokrit yöntem (5) ile saptandı.

BULGULAR

Otopsi bulguları: Yapılan makroskopik muayenede, incelenen balıklarının tümünde pektoral

ve pelvik yüzgeçlerin altında, abdominal kaslarda, ağız ve anüs çevresinde hemorajiler gözlemlendi. İç organlardan, dalakta büyüme ve karaciğerde anemi saptandı. Bir hayvanın karın boşluğunda kanamalar belirlendi.

İzolasyon ve identifikasyon bulguları: Ekim yapılan besiyerlerinden sadece 20 °C'de inkube edilen TSA'da canlı ve ölü hayvanlardan alınan tüm materyallerde üreme saptanırken diğer besiyerlerinde herhangi bir üreme gözlemlenmedi. TSA üzerinde 48 saatte oluşan kolonilerin S-tipli, konveks, gri renkli ve parlak koloniler olduğu ve bekleme süresi uzadıkça kolonilerin sarı ve daha sonraları gri-kahverengine dönüşen bir renk aldığı belirlendi. Bu koloniler Gram yöntemi ile boyandı ve Gram negatif, düz veya hafif kıvrımlı çomaklar görüldü. TSB'de 24 saatte homojen bulanıklık oluşturarak üreyen mikroorganizmaların aktif hareketli olduğu saptandı. İzole edilen mikroorganizma, biyokimyasal özellikleri incelenerek *V.anguillarum* olarak tanımlandı (Tablo 1).

Tablo 1. İzole edilen *V.anguillarum*'un bazı özellikleri

Testler	<i>V.anguillarum</i>
Oksidasyon-fermentasyon	Fermentatif
Oksidaz	+
H ₂ S	-
Metil red	-
İndol	+
O-129* duyarlılık	Duyarlı
%5 NaCl üreme	+
Nitrat	+
Glukoz	+
Mannitol	+
İnositol	-

* 2-4 diamino 6-7 diisoprophyl pteridine

Hematolojik muayene bulguları: İncelenen örneklerde toplam lökosit sayısının $32 \times 10^3 / \text{mm}^3$, hemoglobin değerinin 6.02 g/100 ml, eritrosit sayısının $0.6 \times 10^6 / \text{mm}^3$ ve hematokrit değerinin %19.5 olduğu belirlendi.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Vibriosis, dünyada yoğun balık üreticiliği yapılan işletmelerde önemli ekonomik kayıplara neden olan bir enfeksiyondur (16). Bu çalışmada, Türkiye'de levrek üretimi yapan bir işletmede yüksek ölüm ile seyreden *V.anguillarum*'a bağlı vibriosis olgusu belirlendi. Literatür incelemesine göre,

Türkiye'de levreklerden *V.anguillarum* izolasyonu ile ilgili herhangi bir vaka bildirimine rastlanmamıştır.

Vibriosisde otopsi bulguları oldukça belirgindir. Konu ile ilgili olarak, Lewis (17), yayın balıklarında kaslarda ülserasyon, peteşiler, solungaçlar, arka yüzgeçler, karaciğer ve böbreklerde kanamalar saptamıştır. Ayrıca balıkların sindirim kanalında berrak, vizköz bir sıvı birikiminin olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada, infekte balıkların yapılan makroskopik muayenesinde, balıklarının tümünde pectoral ve pelvik yüzgeçlerin altında, abdominal kaslarda, ağız ve anüs çevresinde hemorajiler gözlemlendi. İç organlardan, dalakta büyüme ve karaciğerde anemi saptandı. Bir hayvanın karın boşluğunda kanamalar belirlendi. Hastalıkta belirlenen makroskopik bulgular ile klasik kitaplarda bildirilen bulgular benzerlik göstermektedir.

Hastalıkta kan parametrelerinde önemli değişiklikler olduğu farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (6,18,19). Lamas ve ark.(6), alabalıklara virulent *V.anguillarum* ve bu suşun ekstrasellüler ürünlerini intraperitoneal olarak inokule ettiklerinde, eritrosit, hematokrit ve hemoglobin değerlerinin azaldığını saptamışlardır. Cruz ve Muroga'da (18), yılan balıklarında *V.anguillarum*'un etkilerini inceledikleri çalışmada hematokrit ve hemoglobin değerlerinin düştüğünü bildirmişlerdir. Bu çalışmada yapılan hematolojik muayenelerde, lökosit sayısının arttığı, eritrosit sayısının ve hematokrit değerinin düştüğü saptandı. Bu çalışmada elde edilen kan parametreleri ile diğer çalışmalarda elde edilen değerler arasında herhangi bir fark bulunamamıştır.

Vibriosisde aşı ve aşılama programları ile ilgili olarak günümüzde birçok uygulama yapılmaktadır. Agius ve ark.(20), *V.anguillarum*'a karşı formol ve otoklav işlemi uygulanarak inaktive edilerek hazırlanmış aşılama ile perklorik asit ile hazırladıkları ekstrakt aşısını alabalıklara intraperitoneal ve oral yolla uygulamışlardır. Sonuçta, ekstrakt aşının intraperitoneal uygulamalarda %100 korunma sağlarken oral yolla %50-70 oranında korunma sağladığını bulmuşlardır. Ekstrakt aşının intraperitoneal uygulamalarda formol ve otoklav işlemi ile inaktive edilmiş aşılara göre daha iyi korunma sağladığı fakat oral uygulamada ise inaktive aşılamanın daha iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Braaten ve Hodgins (9), *V.anguillarum*'un düşük virulense sahip suşunu aşı olarak oral ve enjeksiyon tarzında balıklara uygulamışlar ve sonuçta balıkların virulent *V.anguillarum* suşlarına karşı yüksek derecede koruma sağladığını saptamışlardır. Vibriosisten korunmada, aşılama programları hastalığın görüldüğü diğer ülkelerde

uygulanmasına karşın henüz Türkiye'de aşı uygulaması bulunmamaktadır.

Sonuç olarak, tüm dünyada olduğu gibi kültür balıkçılığında büyük ekonomik kayıplara neden olan vibriosisin, Türkiye'de de kafes yetiştiriciliği yapan işletmelerde önemli kayıplara neden olduğu belirlendi. Bu durum hastalıkla mücadele programlarına aşı uygulamalarının alınmasını gündeme getirmektedir.

KAYNAKLAR

- 1.Austin B, Austin DA: Bacterial fish pathogens, Second ed. Ellis Horwood Ltd., New York (1993).
- 2.Baumann P, Furniss AL, Lee JV: *Vibrio*. Krieg NR and Holt JG. (eds): *Bergey's Manual of Systematics Bacteriology*, Vol.1, p:518, Baltimore, Williams and Wilkins (1984).
- 3.Bullock LG, Conroy DA, Sneszko SF: *Vibrio* diseases. Sneszko SF and Axelrod HR (eds): *Diseases of Fishes*. p.42, T.F.H. Publication, New York (1971).
- 4.Arda M : Balıklarda bakteriyel, mantar, viral ve ekolojik nedenlerden ileri gelen hastalıklar ve tedavileri. A.Ü.Veteriner Fakültesi Yayınları No:300, A.Ü.Basımevi, Ankara (1974).
- 5.Richards RH, Roberts RJ: *The bacteriology of teleosts*. Roberts RJ (ed): *Fish Pathology*. p.191, Bailliere Tindal, New York (1978).
- 6.Lamas J, Santos Y, Bruno D, Toranzo AE, Anadan R: A comparison of pathological changes caused by *Vibrio anguillarum* and its extracellular products in rainbow trout, *Fish Pathol.* 29:79-89 (1994).
- 7.Smith LS: *Applied physiology*. Smith LS (ed): *Introduction to fish physiology*. p.281. Argent Lab, USA (1993).
- 8.Blaughall PC, Daisley KW: Routine haematological parameters for use with fish blood, *J Fish Biol.* 5:771-781 (1973).
- 9.Braaten BA, Hodgins HO: Protection of steelhead trout (*Salmo gairdneri*) against *Vibriosis* with a living low-virulence strains of *Vibrio anguillarum*, *J.Fish.Res.Board Can.* 33:845-847 (1975).
- 10.Harrell LW, Etlinger HM, Hodgins OH: Humoral factors important in resistance of salmonid fish to bacterial disease. I.Serum antibody protection of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) against *vibriosis*, *Aquaculture* 6:211-219 (1975).
- 11.Schiewe MH, Hodgins OH: Specificity of protection induced in Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) by heat-treated components of two pathogenic *vibriosis*, *J Fish Res Board Can.* 34:1026-1028 (1977).
- 12.Antipa K: Field testing of injected *Vibrio anguillarum* bacterins in pen-reared pasific salmon, *J Fish Res Board Can.* 33:1291-1296 (1976).
- 13.Lillehaug A: Oral immunization of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, against *vibriosis* with vaccines protected against digestive degradation, *J Fish Dis.* 12:579-584 (1989).
- 14.Kocabatmaz M, Ekingen G: Değişik tür balıklarda kan örneği alınması ve hematolojik metodların standardizasyonu, *Doğa Bilim Derg. Seri D1*, 8:149-159 (1984).
- 15.Stoskopf MK: *Clinical Pathology*. Stoskopf MK (ed): *Fish Medicine*, p:113, W.B. Saunders Company, London (1993).

16- Picket GD, Pawson MG: Causes of mortality and disease. Picket GD and Pawson MG (eds): Sea Bass, p.70, MAFF Fisheries Laboratory Lowestoft, UK (1984).

17- Lewis DH: Vibriosis in Channel catfish, *Ictalus punctatus*, J Fish Dis 8:539-545 (1985).

18- Cruz MC, Muroga K: The effects of *Vibrio anguillarum* extracellular product on Japanese eels, Aquaculture 80:201-210 (1989).

19- Ransom DP, Lannan CN, Rohovec JS, Fryer JL.: Comparison of histopathology caused by *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii* in three species of Pacific salmon, J Fish Dis. 7:107-115 (1984).

20- Agius C, Home MT, Ward PD: Immunization of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, against vibriosis: comparison of an extract antigen with whole cell bacterins by oral and intraperitoneal routes, J Fish Dis. 6:129-134 (1983).