

Gökkuşuğu Alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)'nda Sık Görülen Patojen Mikroorganizmaların Tespiti ve Antibiyotik Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi *

Dilek AKŞİT¹, Cavit KUM¹

¹Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

Makale Geliş ve Kabul Tarihi:21.11.2007-07.02.2008 Sorumlu Araştırmacı: daksit@adu.edu.tr

Özet: Çalışmada gökkuşuğu alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)'nda ekonomik kayıplara sebep olan önemli bakteriyel hastalık etkenlerinin tespit edilerek, ilaç kullanımına bağlı sorunların ve tedavi maliyetinin azaltılabilmesi için çeşitli antibakteriyel ilaçlara karşı gösterdikleri duyarlılık derecelerinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla her ay 8 adet olmak üzere 12 ay boyunca toplam 96 adet balığın iç organları (karaciğer, dalak, böbrek) ve solungaçlarından uygun besi yerlerine ekimler yapılarak 22 ve 37 °C'de inkübasyonları gerçekleştirildi. Elde edilen izolatların antibakteriyel ilaçlara karşı duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Bakterilerin morfolojik ve biyokimyasal testleri sonucunda belirlenen 37 adet izolatın 6'sını (%16,22) *A. salmonicida*, 13'ünü (%35,13) *L. garvieae*, 7'sini (%18,92) *V. anguillarum* ve 11'ini (%29,73) *Y. ruckeri* oluşturdu. Su sıcaklıklarının arttığı (Mayıs-Ağustos arası) dönemlerde *L. garvieae* ve *Y. ruckeri*'nin, mevsimsel geçiş (Şubat-Nisan arası) dönemlerinde ise *A. salmonicida* ve *V. anguillarum*'un daha yüksek oranda izole edildiği görüldü. Etkenlerinin tümünün enrofloksasin, florfenikol ve siprofloksasine duyarlı oldukları tespit edildi. Diğer yandan bazı etkenlerin amoksisilin, ampisilin, basitrasin, eritromisin, fusidik asit, gentamisin, kloramfenikol, linkomisin, nalidiksik asit, neomisin, novobiosin, oksitetraiklin, sefoksitin ve sulfametoksazol-trimetoprim'e karşı değişen oranlarda dirençli oldukları belirlendi.

Anahtar kelimeler: Gökkuşuğu alabalığı, patojen mikroorganizmalar, antibakteriyel duyarlılık.

Determination of Antibiotics Susceptibility of Frequently Isolated Pathogen Microorganisms from Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)

Summary: Aims of the present study were to determine some important bacterial agents that cause significant economic losses in cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) and to determine their antibiotic susceptibility in an effort to reduce treatment costs and to avoid unnecessary drug usage. To this end, a total of 96 rainbow trouts (8 fish per month for period of 12 months) were included in the study and swaps obtained from visceral organs (liver, spleen and kidney) and gill samples were streaked onto appropriate agar plates under sterile conditions. Cultures were incubated at 22 and 37 °C. Disc diffusion method was used to determine antibacterial susceptibility. A total of 37 strains were isolated on the basis of morphological and biochemical tests were obtained. The strains were: 6 (16,22%) *A. salmonicida*, 13 (35,13%) *L. garvieae*, 7 (18,92%) *V. anguillarum* and 11 (29,73%) *Y. ruckeri* strains. It was determined that *L. garvieae* and *Y. ruckeri* strains were isolated more frequently at times when water temperature was high (May to August), whereas *A. salmonicida* and *V. anguillarum* strains were isolated more often at seasonal transition periods (February to April). Antibiotic susceptibility tests revealed that all of the pathogen strains were susceptible to enrofloxacin, florfenicol, and ciprofloxacin. On the other hand, some of the pathogen strains were found to be resistant to amoxicillin, ampicillin, bacitracin, erythromycin, fusidic acid, gentamycin, chloramphenicol, lincomycin, nalidixic acid, neomycin, novobiocin, oxytetracycline, cefoxitin and sulphamethoxazole-trimethoprim.

Key words: Rainbow trout, pathogen microorganisms, antibacterial susceptibility.

GİRİŞ

Ülkemizin birçok bölgesinin iklimsel, ekolojik ve teknik özellikleri bakımından büyük bir potansiyele sahip olması çeşitli üretim alanlarını geliştirme kapsamında balık üretimine de büyük önem verilmeye çalışılmaktadır (5). Tüm çevrede olduğu gibi sularda meydana gelen kirlilik, yüksek

yoğunlukta yetiştirme, su kalitesinde azalma, dengesiz besleme gibi nedenler hastalık problemlerini yoğun olarak ortaya çıkarmaktadır. Çeşitli nedenlerle ortaya çıkan bu hastalıklarla etkin mücadelede, sınırlı da olsa antibakteriyel ilaç uygulamalarının göz ardı edilemeyeceği bir gerçektir (8,21)..

* Bu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (Proje no: VTF-06017) desteklenmiştir.

Zaman içinde bakteriyel patojenlerin antibakteriyellere karşı direnç göstermesi, farklı coğrafik bölgelerde doğru teşhis ve uygun ilaç uygulamaları, koruyucu önlem stratejileri ile pratik uygulamalar geliştirmenin önemini bir kez daha ön plana çıkarmıştır (21)

Yakın geçmişe kadar balıklar için 15-20 bakteri türü patojen etki gösterirken (24), sonraki yıllarda enfekte olmuş balıklarda 70'e yakın bakteri türü izole edilmiştir (38).

Gökkuşuğu alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*)'nda farklı coğrafik bölgelerde enfeksiyona neden olan bakteriyel patojenler yoğun olarak araştırılmış ve *Aeromonas spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Flexibacter spp.*, *Vibrio spp.*, *Yersinia spp.*, *Renibacterium spp.*, *Streptococcus spp.* gibi etkenler rapor edilmekle birlikte, özellikle *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum*, *Lactococcus garvieae* ve *Yersinia ruckeri* enfeksiyonlarının ciddi kayıplara yol açtığı vurgulanmaktadır (1, 8, 21, 32). *A. salmonicida*'nın neden olduğu furunkulozis tüm akuatik ortamlarda %90 mortalite gösterebilen akut (ani ölüm, yüzgeçlerin tabanı ve derialtı dokularda kanama odakları), subakut ve kronik formları (kan çıbanları, ülserasyon ve skatriks alanları) yanında asemptomatik (portör) bir seyir gösterebilen bir hastalıktır (17, 38). *L. garvieae* tarafından oluşturulan streptokokkozis balıklarda ekzoftalmus, korneal opasite, deride kararma ve ülserasyon, operkulum ve yüzgeç tabanında hemoraji, bağırsak, dalak, karaciğer ve böbrekte konjesyon, asites ve hemorajik enteritis ile karakterize sporadik bir enfeksiyon olarak tanımlanmaktadır (14). *V. anguillarum*'un neden olduğu vibriozis %50'yi aşan mortalite, letarji, iştah kaybı, yüzeysel yüzme, deride matlık, kırmızı ve ölü nekrotik alanlar ile yüzgeç ve ağız çevresinde eritemlerin şekillendiği, sistemik seyrettiğinde ise ekzoftalmus, sıvı (kanlı) dolu bağırsak, hemorojik ve şişkin karaciğerin gözlemlendiği bir hastalıktır (28, 38). *Y. ruckeri* tarafından oluşturulan yersinioziste septisemi, balıklarda durgunluk, deride kararma, yüzgeç tabanı ve anüste kanamalar, ekzoftalmus ve basınçlı kan damarları dikkati çeker (11, 38).

Bakteriyel balık hastalıklarında öncelikli olarak kinolon (oksolinik asit, flumekuim gibi), tetrasiklin (oksitetrasiklin gibi) veya sulfonamid-diaminoprimidin grubu (sulfadiazin-trimetoprim gibi) ilaçlar tercih edilmektedir (8). Son zamanlarda spesifik olarak fenikol grubundan olan florfenikol *Aeromonas salmonicida* tarafından oluşturulan furunkulozisin ve *Flavobacterium psychrophilum* tarafından oluşturulan gökkuşuğu alabalığı fry sendromu (Rainbow Trout Fry Syndrome (RTFS)) hastalıklarının sağaltımında

kullanım alanı bulmaktadır (30, 32). Balıkçılığın önem verildiği bazı ülkelerde artan direnç sorunları karşısında ilaç kullanımının sınırlandırılması ve uygulamalardaki düzenli kontrollerin güçlendirilmesi sağlanarak, üretimde hastalığın tedavisinden çok korunma üzerinde yoğunlaşılması gerektiği önemle vurgulanmaktadır (2, 8, 9, 22). Tüm kısıtlamalara rağmen akuakültür kullanımı için ruhsatlı olmadığı halde birçok antibakteriyel ilacın veteriner reçetesi altında halen kullanıldığı da belirtilmektedir (38). Son 20-25 yılda balık ve diğer hayvansal üretimde antibakteriyel ilaçların aşırı ve bilinçsiz kullanımı sonucu ciddi bir artış gösteren dirençli mikroorganizmaların insan halk sağlığı açısından istenmeyen kalıntı ve dirençli genlerin transferi gibi ciddi sorunlar yaratabileceği de açıkça ifade edilmektedir (1, 2, 8, 9).

Bu çalışmada, gökkuşuğu alabalıklarında sık görülen ve ekonomik kayıplara sebep olan önemli patojen mikroorganizmaların tespit edilerek, çeşitli antibiyotiklere karşı gösterdikleri duyarlılık derecelerinin belirlenmesi ve enfeksiyonlara karşı bilinçsiz ilaç kullanımına bağlı oluşan bazı sorunların (kalıntı, direnç, üretim ve ilaç maliyeti gibi) önlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Balık örnekleri: Çalışmada Muğla (2 adet), Aydın ve Denizli'de bulunan 4 farklı işletmeden 15-25 cm boyunda, ortalama 108 ± 11.75 g canlı ağırlığında ayda 8'er adet olmak üzere 12 ay boyunca rasgele seçilen 96 adet gökkuşuğu alabalığının iç organ (karaciğer, dalak ve böbrek) ve solungaçlarından toplam 384 adet numune incelendi. İşletmelerdeki suyun sıcaklığının yıl içerisinde 11-18 °C, pH'nın 7.6-8.1 ve çözünmüş oksijen miktarının 7.2-10.2 mg/L arasında değişkenlik gösterdiği tespit edildi. Balıklar laboratuara işletme suyu içinde canlı olarak getirildi ve aynı gün örnekleme çalışmaları yapıldı.

Bakteri izolasyonu: Çalışmada her balıktan alınan 96 adet solungaç numunesi vücut yüzeyi %70'lik etil alkolle silindikten sonra aseptik bir şekilde Cytophaga ve Tryptic Soy Agar (TSA)'a; karaciğer, dalak ve böbreklerden alınan toplam 288 numune ise Tryptic Soy Agar (TSA)'a ekilerek 22 ve 37 °C'de 48-72 saat inkübe edildi.

Bakteri identifikasyonu: İzole edilen şüpheli kolonilere; gram boyama reaksiyonu, üçlü tüp yöntemine göre hareketlilik, hidrojen sülfür (H₂S), gaz, üre, nitrat, indol, glikoz, laktoz ve mannitol testleri ile katalaz, oksidaz, oksidasyon-fermentasyon (O/F), metil red (MR), voges proskauer (VP), jelatin, vibriostatik ajan (0/129) duyarlılığı, simon sitrat, 30 ve 37 °C'de üreme testleri uygulanarak elde edilen sonuçlarına göre identifikasyonları yapıldı (Tablo 1) (3, 4, 20, 38).

Tablo 1. İzole edilen bakteri suşlarının fenotipik ve biyokimyasal özellikleri.

Bakterilerin Fenotipik ve Biyokimyasal Özellikleri	<i>A. salmonicida</i>	<i>L. garvieae</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>Y. ruckeri</i>
Gram reaksiyonu	-	+	-	-
Hareketlilik	-	-	+	+
Katalaz	+	-	+	+
Oksidaz	+	-	+	-
H ₂ S	D	-	-	+
Gaz	+	-	-	-
Üre	-	-	-	-
Nitrat	+	-	+	+
İndol	-	-	+	-
Glikoz	+	+	-	+
Laktöz	-	-	-	-
Mannitol	+	+	+	+
O/F	F	+	F	-
MR	-	+	-	+
VP	-	+	+	D
Jelatin	+	-	+	+
Vibriostat (O/129)	-	-	+	-
Simmon sitrat	-	-	+	+
30 °C'de üreme	+	+	+	+
37 °C'de üreme	-	+	+	+

F: Fermentatif, D: Değişken

Antibiyotik duyarlılık testi: Suşlara ait duyarlılık tespitinde 13 antibiyotik içeren [amoksisilin (25 µg), ampisilin (10 µg), basitrasin (10 U), enrofloksasin (5µg), eritromisin (15 µg), florfenikol (30 µg), fusidik asit (10 µg), gentamisin (10 µg), kloramfenikol (10 µg), linkomisin (15 µg), nalidiksik asit (30 µg), neomisin (10 µg), novobiosin (5 µg), oksitetrasiklin (30 µg), sefoksitin (30 µg), siprofloksasin (5 µg) ve sulfametaksazol-trimetoprim (25 µg)] multodisk kullanıldı (Oxoid, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, UK). Antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde disk difüzyon yönteminden yararlanıldı (7, 20). Bu amaçla bakteri suşları 4 ml Cytophaga Broth ve Tryptic Soy Broth bulunan tüplere ekilerek 22 ve 37 °C'de inkübe edildi. Tüplerin yoğunluğu 0,5 McFarland standart (bioMerieux sa, 69280, Marcy l'Etoile, Fransa) yoğunluğa ulaştığında Müeller-Hinton agara 0,1 ml aktarıldı. Daha sonra petrilere multodiskler yerleştirilerek 22 ve 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında inhibisyon zon çapları milimetrik olarak ölçüldü ve standart zon çapları ile karşılaştırıldı (20, 25, 26) ve National Committee for Clinical Laboratory Standarts (NCCLS)'ın (25, 26) belirlediği standartlara göre değerlendirildi. Değerlendirmede ortaya çıkabilecek olan uygulama hatalarını en aza indirebilmek için her bir antibiyogram testi 3'er kez tekrarlanarak, değerlerin aritmetik ortalaması alındı.

BULGULAR

Çalışmada identifikasyon testleri sonucunda izole edilen bakteri türleri (*A. salmonicida*, *L. garvieae*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri*)'nin fenotipik ve biyokimyasal test sonuçlarına ait bulguları Tablo 1'de gösterildi. Bu etkenlerin izole edildiği aylardaki su sıcaklık değerleri ile izole edildikleri organlar ve incelenen örnek sayıları Tablo 2'de belirtildi. Su sıcaklıklarının düşük olarak seyrettiği kış aylarında daha az bakteriyel hastalık etkeni izole edilirken, su sıcaklıklarının arttığı (Mayıs-Ağustos arası) dönemlerde *L. garvieae* ve *Y. ruckeri*'nin, mevsimsel geçiş (Şubat-Nisan arası) dönemlerinde ise *A. salmonicida* ve *V. anguillarum*'un daha yüksek oranda izole edildiği görüldü.

İzolatların antibakteriyel ilaçlara karşı duyarlılıkları değişmekle birlikte hastalık etkenlerinin tümünün enrofloksasin (>%80), florfenikol (>%81) ve siprofloksasine (>%63) duyarlı oldukları tespit edildi. Diğer yandan *A. salmonicida*'nın basitrasin ve linkomisin'e, *L. garvieae*'nin gentamisin, nalidiksik asit ve neomisin'e, *V. anguillarum*'un fusidik asit, linkomisin ve sefoksitin'e, *Y. ruckeri*'nin ise amoksisilin, ampisilin, basitrasin, eritromisin, fusidik asit, linkomisin, neomisin, novobiosin ve sefoksitin'e karşı yüksek oranda (%100) dirençli oldukları belirlendi. NCCLS (25, 26) standartlarına göre yapılan değerlendirme sonucunda mikroorganizmaların belirtilen antibakteriyel ilaçlara karşı gösterdikleri duyarlılık derecelerine ait yüzde değerleri ise Tablo 3'de verildi.

Tablo 2. Aylara göre su sıcaklık değeri, izole edilen mikroorganizmalar ve izole edildikleri organlar ile örnek sayıları.

Aylar	Su Sıcaklığı (°C)	İzole edilen mikroorganizmalar ve izole edildiği organlar				Balık sayısı (n)	Örnek sayısı (n)
		<i>A. salmonicida</i>	<i>L. garvieae</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>Y. ruckeri</i>		
Haziran	15-17	-	2 B, D	-	3 B,K,S	8	32
Temmuz	15-17	-	3 B,D,S	-	4 2B,D,K	8	32
Ağustos	16-18	-	1 K	-	1 S	8	32
Eylül	16-18	-	2 D,K	-	1 S	8	32
Ekim	14-15	-	-	-	-	8	32
Kasım	13-14	-	2 D,K	-	-	8	32
Aralık	12-13	-	-	-	-	8	32
Ocak	11-13	-	-	-	-	8	32
Şubat	11-12	2 B,D	-	3 D,K,S	-	8	32
Mart	11-13	3 D,K,S	1 S	2 K	-	8	32
Nisan	12-14	1 S	-	2 B,D	-	8	32
Mayıs	15-16	-	2 K, S	-	2 B,S	8	32
TOPLAM		6	13	7	11	96	384

B: Böbrek, D: Dalak, K: Karaciğer, S: Solungaç.

Tablo 3. İzole edilen mikroorganizmaların antibakteriyel ilaçlara karşı gösterdikleri duyarlılık dereceleri.

Antibakteriyel İlaçlar	İzole edilen mikroorganizmalar ve duyarlılık dereceleri (%)											
	<i>A. salmonicida</i> (n=6)			<i>L. garvieae</i> (n=13)			<i>V. anguillarum</i> (n=7)			<i>Y. ruckeri</i> (n=11)		
	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S	R	İ	S
Amoksisilin	66,7	33,3		7,7	7,7	84,6	71,4	14,3	14,3	100		
Ampicilin	83,3	16,7		53,9	7,7	38,4	85,7	14,3		100		
Basitrasin	100				23,1	76,9	85,7	14,3		100		
Enrofloksasin		16,7	83,3		53,9	46,1		14,3	85,7		18,2	81,8
Eritromisin		83,3	16,7		23,1	76,9	28,6	71,4		100		
Florfenikol			100			100			100	9,1	9,1	81,8
Fusidik asit			100	76,9	23,1		100			100		
Gentamisin			100	100					100	18,2	9,1	72,7
Kloramfenikol			100			100			100	72,7		27,3
Linkomisin	100			46,1	15,4	38,5	100			100		
Nalidiksik asit	16,7		83,3	100					100		9,1	90,9
Neomisin	33,3	66,7		100				71,4	28,6	100		
Novobiosin			100			100			100	100		
Oksitetrasiklin	33,3	16,7	50	23,1	23,1	53,8			100	63,6	9,1	27,3
Sefoksitin	83,3	16,7		30,8	46,1	23,1	100			100		
Siprofloksasin	16,7	16,7	66,6		76,9	23,1			100	27,3	9,1	63,6
Sulfametaksazol-Trimetoprim	33,3	16,7	50	53,9	7,7	38,4			100	63,6	9,1	27,3

R: Dirençli, İ: Orta derecede duyarlı, S: Duyarlı.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kültür balıkçılığında bakteriyel hastalıkların sağaltımı veya kontrolünün temelinde hijyenin önemi vurgulanmakla birlikte (29, 38), aşılama ve immün sistemi uyarıcı ilaç uygulamalarının da kullanılabileceği (9, 27), ancak; hastalıklarla etkin bir şekilde mücadelede sınırlı da olsa antibakteriyel ilaç uygulamalarının göz ardı edilemeyeceği

belirtilmektedir (8, 21, 38).

Yakın geçmişe kadar balıklar için 15-20 bakteri türünün patojenik etki gösterdiğinin bilinmesine rağmen (24), günümüzde doğal olarak enfekte balıklarda 70'e yakın bakteri türü izole edilmiştir (38).

İzole edilen bakteriyel etkenlerin su sıcaklıklarındaki ani veya mevsimsel değişiklikler yanında, stresi arttıran

durumlarda (yoğun stoklama gibi) daha sık görülebileceği vurgulanmaktadır (4, 9). Kirkan ve ark (17) yüksek su sıcaklıklarının furunkulozisin gelişmesinde etkili bir faktör olduğunu, Scallan ve Smith (31) ise bakteriyel salgınlara su sıcaklıklarının artması veya ani değişikliklerinde strese bağlı olarak meydana geldiğini belirtmişlerdir. Genel bir kural olarak klinik veya subklinik balık hastalıklarına su sıcaklıklarının yüksek olduğu ya da ani sıcaklık değişimlerinin yaşandığı dönemlerde daha yüksek oranda rastlandığı belirtilmektedir (29, 38). Ayrıca Diler ve ark (12) sulara bakteri yükünün çeşitli nedenlerle yükselmesinin balık derisindeki bakteri yükünün artmasına, dolayısıyla bunun doğrudan balık sağlığını etkileyebilecek bir risk faktörü olduğunu ortaya koymaktadır. Çalışmamızda etkenlerin gelişme özelliğine göre *L. garvieae* ve *Y. ruckeri*'nin su sıcaklıklarının arttığı (Mayıs-Ağustos arası) dönemlerde, *A. salmonicida* ve *V. anguillarum*'un mevsimsel geçiş (Şubat-Nisan arası) dönemlerinde daha yüksek oranda izole edilmesi (Tablo 2) su sıcaklığı ile hastalıkların görülme sıklığı arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. Çeşitli çalışmalarda balıkların öncelikle yaşadıkları suyun bakteriyel florasını yansıtmakla birlikte, sudaki akuatik çevrenin kompleks yapıda olması, üreme ortamlarının farklılığına bağlı olarak patojen etkenlerin tespitinin güç olduğu ve yoğun antibakteriyel kullanıma bağlı akuatik florada direnç gelişebileceği vurgulanmaktadır (11, 32). Bunun sonucu olarak sudaki mikroorganizmaların antibakteriyel duyarlılığına göre yapılan hastalık sağaltımlarının sonuçsuz kalabileceği, bu yüzden balıklardan yapılacak olan izolasyon ve identifikasyon sonucu yapılan antibakteriyel duyarlılığın sağaltımda daha etkin olduğu belirtilmektedir (32). Bu nedenle çalışmamızda herhangi bir hastalık gelişmesi durumunda balık patojenlere karşı sağaltımın ön planda olduğu düşünülerek akuatik flora için izolasyon ve identifikasyon yapılmadı.

Özellikle yetiştiricilik koşullarında balıkların sürekli olarak stres faktörlerinden olumsuz etkilendiği ve bağışıklık sisteminin zayıfladığı durumlarda bazı iç organlarda bakteriyel üremelerin meydana gelebileceği belirtilmektedir (12). Kılıç ve ark (16)'nın alabalık işletmelerinin pek çoğunda kızılbaş hastalığına özgü klinik bulgulara rastlamadan *Y. ruckeri* izole etmesi, benzer şekilde Diler ve ark (11)'nin de klinik belirti göstermeyen balıkların iç organlarından *Y. ruckeri* izole etmesi, hastalığın latent olarak taşınabileceğini göstermiştir. Çalışmamızda *A. Salmonicida* ve *V. anguillarum* etkenlerinin özellikle kış aylarında izole edilmesi (Tablo 2) hastalığın yıl içerisinde latent olarak seyrettiğini ve olumsuz şartlarda (su sıcaklığı, pH, stres gibi) etkenlerin görülebileceğini destekler niteliktedir.

Çeşitli çalışmalarda *Aeromonas sp.*'nin tetrasiklinlere, kinolonlara ve fenikollere duyarlı olduğu bildirilirken (8, 30), bazılarının ise 50 ppm'den fazla tetrasiklin konsantrasyonlarına karşı direnç gösterebileceği bildirilmektedir (35). Gordon ve ark

(15) oksitetrasiklinin tatlı sulara hidroliz ve hafif bozulması yüzünden kalitesiz stabilite sergilediğini, ancak; florfenikolün böyle bir etkisinin olmaması nedeniyle balıklarda daha etkin ve daha düşük miktarlarda kullanıldığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde çalışmamızda oksitetrasiklinin izole edilen etkenlere karşı farklı düzeylerde duyarlılık gösterdiği, florfenikolün ise daha etkili (%100 ve %81.8) olduğu görüldü (Tablo 3). Ayrıca çalışmada *A. salmonicida*'nın eritromisine duyarlı olduğu tespit edildi. Ancak, ilaç daha çok furunkulozis enfeksiyonlarında tercih edilse de, balık yemlerine hoş gitmeyen lezzet kattığı için balıklar tarafından alınımının oldukça kısıtlandığı belirtilmektedir (21). Akinbowale ve ark (1) 22 adet izolatta *Aeromonas sp.*'lerinin %86'sının ampicilin ve amoksisiline, %23'ünün nalidiksik asite, %45,5'inin oksitetrasikline karşı dirençli; siprofloksasin ve gentamisin ise duyarlı olduklarını belirtirken; Schmidt ve ark (32) ise oksitetrasikline %72 ve sulfametaksazol-trimetoprim %44 direnç gösterdiklerini belirlemişlerdir. Kirkan ve ark (18) ise *A. salmonicida*'nın siprofloksasine duyarlı, tetrasiklin ve eritromisine karşı dirençli; sulfametaksazol-trimetoprim'e karşı ise kullanılan yöntem farklılığına göre duyarlı veya dirençli olabildiklerini tespit etmişlerdir. Bizim verilerimize göre *A. salmonicida*'nın oksitetrasiklin ve sulfametaksazol-trimetoprim %50, eritromisine ise %83,3 düzeyinde orta derecede duyarlı olduğu belirlenmiştir. Dünyanın çeşitli bölgelerinde çeşitli antibakteriyel ilaçlara karşı dirençlerin sık sık meydana geldiği ve balıklardan izole edilen *Aeromonas sp.*'lerinde benzer direnç farklılıkları rapor edilmiştir (19, 23, 37).

Baek ve ark (6) *L. garvieae* türlerinin çoğunlukla trimetoprim antibiyotiklerine duyarlı olduğunu belirtirken, Diler ve ark (13) Türkiye'de izole edilen *L. garvieae* türünün eritromisin, kloramfenikol ve ampiciline duyarlı olduklarını göstermişlerdir. Çalışmamızda ise *L. garvieae*'nin ampicilin, fusidik asit, gentamisin, linkomisin, nalidiksik asit, neomisin ve sulfametaksazol-trimetoprim'e karşı dirençli, amoksisilin, basitrasin, eritromisin, florfenikol, kloramfenikol, ve novobiosine duyarlı (Tablo 3) oldukları belirlenmiştir.

Akinbowale ve ark (1) izole edilen 62 adet *Vibrio sp.*'nin ampicilin, amoksisilin ve eritromisine düşük oranda direnç gösterdiğini belirlerken, Vaseharan ve ark (36) ise aynı etkenin ampiciline yüksek (%100), kloramfenikol, siprofloksasin, eritromisin, gentamisin, nalidiksik asit ve oksitetrasikline düşük oranlarda dirençli olduğunu gözlemişlerdir. Çalışmamızda benzer sonuçlar elde edilmekle birlikte izole edilen *V. anguillarum*'un %85,7 ampiciline ve basitrasine, %71,4 amoksisiline ve %100 fusidik asit, linkomisin ve sefoksitine dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Kirkan ve ark (18) *Y. ruckeri* etkeninin siprofloksasin, eritromisin ve tetrasikline karşı duyarlı olduğunu belirtirken, çalışmamızda bu etkenin bunlardan yalnızca siprofloksasine ve ayrıca enrofloksasin, florfenikol, gentamisin ile nalidiksik asite karşı da duyarlı oldukları gözlenmiştir. DeGrandis ve Stevenson (10) çalışmamız ile uyumlu olarak *Y. ruckeri*'nin sulfonamidlere ve oksitetrasikline dirençli olduğunu belirtmişlerdir. Bu durum, söz konusu antibakteriyellere karşı daha önceleri

duyarlı olan *Y. ruckeri*'nin bu antibakteriyellerin yoğun kullanımına bağlı olarak zamanla direnç kazanabildiğini göstermektedir.

Bazı çalışmalarda bakteriyel etkenlere karşı düzensiz antibakteriyel ilaç kullanımının kısa sürede direnç gelişimine neden olduğu, bunun da bakteriyel hastalıkların kontrolünde önemli bir limit faktörü oluşturduğu vurgulanmıştır (33, 34). Bu durum direnç dağılımı, antibakteriyel dirençliliğin ve yoğun antibakteriyel ilaç kullanımının sıkı gözlem altında tutulmasının gerekliliğini ortaya koymuştur (2). Son yıllarda yapılan çalışmalarda direnç gelişiminde artışların gözlenmesi, ilaç kullanımında doğru teşhisin yapılması, sadece gerekli olduğu zaman ilaç

uygulanması, koruyucu önlem stratejileri ile hastalık kontrollerinin etkili bir şekilde değerlendirilmesi için standart pratik uygulamalar geliştirilmesinin önemi bir kez daha ön plana çıkmıştır (18, 21).

Sonuç olarak izole edilen bakteriyel patojenlerin (*A. salmonicida*, *L. garvieae*, *V. anguillarum* ve *Y. ruckeri*) alabalıklarda latent olarak seyredebileceği ve zaman içinde antibakteriyellere karşı farklı duyarlılık veya direnç gösterdikleri göz önüne bulundurulurken işletmedeki hijyenik koşulların sağlanması yanında stok fazlalığından ve bilinçsiz antibakteriyel ilaç kullanımından kaçınarak bakteriyel hastalıklarla mücadele çalışmalarını yıl boyunca yapmaları önerilebilir.

KAYNAKLAR

- Akinbowale OL, Peng H, Barton MD (2006):** Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. *J. Appl. Microbiol.*, 100: 1103-1113.
- Aoki T (1992):** Present and future problems concerning the development resistance in aquaculture. (in) *Chemotherapy in Aquaculture: From Theory to Reality*. C Michel, D Alderman (Editors), 254-262, Office International des Epizooties, Paris, France.
- Austin B, Austin DA (1989):** Methods for the microbiological examination of fish and shellfish. Ellis Horwood Series in Aquaculture and Fisheries Support, Wiley and Sons, Chichester, UK.
- Austin B, Austin DA (1999):** Bacterial fish pathogens: Disease in farmed and wild fish. 3rd (Revised) Edition, Praxis Publishing, Chichester, UK.
- Aydın F, Köksal G, Demir N, Bekcan S, Kırkağaç M, Gözğözoğlu E, Erbaş S, Deniz H, Maltaş Ö, Arpa H (2005):** Su ürünleri yetiştiriciliği ve politikalar. Erişim adresi ve tarihi: <http://www.zmo.org.tr/etkinlikler/6tk05/039fikriaydin.pdf>, 15.12.2006.
- Baek GW, Kim HJ, Gomez DK, Park SC (2006):** Isolation and characterization of *Streptococcus sp.* from diseased flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Jeju Island. *J. Vet. Sci.*, 7: 53-58.
- Bauer AU, Kirby WM, Sherris JC, Track M (1966):** Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. *J. Clin. Pathol.*, 45: 493-494.
- Burka JF, Hammell KL, Horsberg TE, Johnson GR, Rainnie DJ, Speare DJ (1997):** Drugs in salmonid culture - a review. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 20: 333-349.
- Cabello FC (2006):** Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ. Microbiol.*, 8: 1137-1144.
- DeGrandis SA, Stevenson RM (1985):** Antimicrobial susceptibility patterns and R plasmid-mediated resistance of the fish pathogen *Yersinia ruckeri*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 27: 938-942.
- Diler Ö, Demirkan T, Altun S, Çalkıuşu F (1998):** Fethiye bölgesindeki bazı alabalık işletmelerinde görülen yersiniosis'in mevsimsel dağılımı üzerine bir araştırma. *Doğu Anadolu III. Su Ürünleri Sempozyumu*, 207-220, 10-12 Haziran 1998, Erzurum.
- Diler Ö, Altun S, Çalkıuşu F, Diler A, (2000):** Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nin yaşadığı ortam ile ilişkili kalitatif ve kantitatif bakteriyel florası üzerine bir araştırma. *Türk. J. Vet. Anim. Sci.*, 24: 251-259.
- Diler O, Altun S, Adiloglu AK, Işıklı B (2002):** First occurrence of streptococcosis affecting farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 22: 21-26.
- Eldar A, Gorla M, Ghittino C, Zlotkin A, Bercovier H (1999):** Biodiversity of *Lactococcus garvieae* strains isolated from fish in Europe, Asia and Australia. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65: 1005-1008.
- Gordon L, Giraud E, Ganiere JP, Armand F, Bouju-Albert A, de la Cotte N, Mangion C, Le Bris H (2007):** Antimicrobial resistance survey in a river receiving effluents from freshwater fish farms. *J. Appl. Microbiol.*, 102: 1167-1176.
- Kılıç A, Şeker E, Özcan M, İspir Ü (2007):** Elazığ'daki gökkuşuğu alabalığı (*O. mykiss*) işletmelerinin bakteriyel yünden incelenmesi. *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi*, 19: 129-132.
- Kirkan S, Goksoy OE, Kaya O (2003):** Isolation and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas salmonicida* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey hatchery farms. *J. Vet. Med. B*, 50: 339-342.
- Kirkan S, Goksoy OE, Kaya O, Tekbiyik S (2006):** In-vitro antimicrobial susceptibility of pathogenic bacteria in rainbow trout (*O. mykiss*, Walbaum). *Türk. J. Vet. Anim. Sci.*, 30: 337-341.
- Ko CW, Yu KW, Lui CY, Huang CT, Leu SH, Chuang YC (1996):** Increasing antibiotic resistance in clinical isolates of *Aeromonas* strains in Taiwan. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 40: 1260-1262.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC (1997):** Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 5th Edition, Lippincott, New York, USA.

- 21. Kum C, Gökbulut C, Akar F, Kırcan Ş, Sekkin S (2004):** Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Enterococcus seriolicida* izolasyonu ve etkili antibakteriyel sağaltım seçeneğinin belirlenmesi. Vet. Hek. Dern. Derg., 75: 47-53.
- 22. Lillehaug A, Lunestad BT, Grave K (2003):** Epidemiology of bacterial diseases in Norwegian aquaculture—a description based on antibiotic prescription data for the ten-year period 1991 to 2000. Dis. Aquat. Organ., 53: 115-125.
- 23. Mirand CD, Zemelman R (2002):** Antimicrobial multiresistance in bacteria isolated from freshwater Chilean salmon farms. Sci Total Environ., 293: 207-218.
- 24. Munro ALS (1982):** The pathogenesis of bacterial diseases of fish. (in) Microbial Disease of Fish. RJ Roberts (Editor), 131-149, Academic Press, London, UK.
- 25. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standarts) (1993):** Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 5th Edition, Approved Standard, M2-A5, Volume 13, No: 24, Villanova, PA.
- 26. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standarts) (1994):** Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 5th Informational Supplement, M100-S5, Volume 14, No:16, Villanova, PA.
- 27. Ortega C, Ruiz I, De Blas I, Musquiz JL, Fernandez A, Alonso JL (1996):** Furunculosis control using using a paraimmunization stimulant (Baypamun) in rainbow trout. Vet. Rec., 27: 561-568.
- 28. Reed PA, Francis-Floyd R (1996):** Vibrio infections of fish. Erişim adresi ve tarihi: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/FA/FA03600.pdf>, 10.05.2007.
- 29. Roberts RJ, Shepherd JC (2001):** Handbook of trout and salmon disease. 3rd Edition, Blackwell Science, London, UK.
- 30. Samuelsen OB, Hjeltnes B, Glette J (1998):** Efficacy of orally administered florfenicol in the treatment of furunculosis in Atlantic salmon. J. Aquat. Anim. Health, 10: 56-61.
- 31. Scallan A, Smith P (1993):** Importance of sampling time in detecting stress inducible furunculosis in Atlantic salmon smolts. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 13: 77-78.
- 32. Schmidt AS, Bruun MS, Dalsgaard I, Pedersone K, Larsen JL (2000):** Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms. Appl. Environ. Microbiol., 66: 4908-4915.
- 33. Sorum H (1998):** Mobile drug resistance genes among fish bacteria. APMIS 106 (Suppl. 84): 74-76.
- 34. Sorum H (1999):** Antibiotic resistance in aquaculture. Acta Vet. Scand. Suppl., 92: 29-36.
- 35. Supriyadi H, Rukyani A (1992):** The use of antibiotics and drug for the treatment of bacterial disease of fish and shrimp in Indonesia. (in) Disease in Asian Aquaculture I. M Sharrif, RP Subasinghe, JR Arthur (Editors), 515-517, Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- 36. Vaseeharan B, Ramasamy P, Murugan T, Chen JC (2005):** In vitro susceptibility of antibiotics against *Vibrio spp.* and *Aeromonas spp.* isolated from *Penaeus monodon* hatcheries and ponds. Int. J. Antimicrob. Agents, 26: 285-291.
- 37. Vivekanandhan G, Savithamani K, Hatha AAM, Lakshmanaperumalsamy P (2002):** Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from marketed fish and prawn of South India. Int. J. Food Microbiol., 76: 165-168.
- 38. Woo PTK, Bruno DW (2003):** Fish disease and disorders, Volume 3: Viral, bacterial and fungal infections. CABI Publishing, Oxfordshire, UK.