

Şanlıurfa Balıklıgöl balıklarından *Aeromonas hydrophila* izolasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanması

O. Yaşar TEL¹, Gülşahen İRGARE², Murat KARAHAN³, Oktay KESKİN¹

¹ Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yenişehir, Şanlıurfa; ² Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi öğrencisi Yenişehir, Şanlıurfa; ³ Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Elazığ

Özet: Bu çalışmada, üzerinde deri lezyonu bulunan Balıklıgöl balıklarında *Aeromonas hydrophila* tespiti yapıp, antibiyotik duyarlılıkları araştırıldı. Çalışma kapsamında tesadüfi olarak seçilen 20 adet balık incelendi. İncelenen balıklardan alınan swapların yapılan laboratuvar muayenesi sonucunda üreyen kolonilerden *Aeromonas hydrophila* izole edildi. İzole edilen etkenlerin yapılan antibiyogramı sonucunda, genel olarak sefoperazon/sulbaktam, sefuroksim ve kanamisin/sefaleksine duyarlı bulunurken, kloksasilin, ampisilin, streptomisin, amoksisilin/kalvulanik asit, danofloksasin, ampisilin/sulbaktam, amikain, eritromisin ve oksitetrasikline dirençli olduğu saptandı.

Anahtar sözcükler: *Aeromonas hydrophila*, balık, antibiyotik dirençlilik

Aeromonas hydrophila isolation from Balıklıgöl fishes, Sanliurfa and determination of their antibiotic susceptibility

Summary: The objectives of this study were to identify the etiological agent of fishes with skin lesion and determine antibiotic susceptibility. For this purpose, twenty fishes were randomly selected. In the laboratory examination; *Aeromonas hydrophila* was isolated from the swab samples. According to antibiogram results; the agents were generally susceptible to cephoperazone/sulbactam, cefuroxime and kanamycine/cephalexine and resistant to cloxacillin, ampicilline, streptomycin, amoxicillin/clavulanic acid, danofloxacin, ampicilline/sulbactam, amikain, erythromycin and oxytetracycline.

Key words: *Aeromonas hydrophila*, fish, antibiotic resistance.

Giriş

Aeromonas hydrophila, Vibrionaceae familyasına ait, fakültatif anaerobik Gram negatif, çomak şeklinde, özellikle su ortamlarında bulunan bir bakteridir. *A. hydrophila*'nın genel özellikleri; polar flagellalı ve hareketli olması, glikozu fermentatif ve oksidatif olarak metabolize edebilmesi, oksidaz ve katalaz pozitif olması ve amilaz, proteaz, fosfolipaz ve DNase gibi ekzoenzimleri üretebilmesidir (1). *Aeromonas* cinsi sıcaklık gereksinimine ve hareketlilik özelliklerine göre *A. hydrophila* grubu (*A. hydrophila*, *A. caviae* ve *A. sobria*) ve *A. salmonicida* (*A. salmonicida* ve alt türleri) grubu olarak ikiye ayrılmaktadır. Buna göre *A. hydrophila* grubu hareketli olup 37°C 'da gelişebilirken; *A. salmonicida* grubu hareketsiz olup 37°C 'da gelişmemektedir. Bu nedenle *A. hydrophila* grubu genellikle "hareketli" veya "mezofilik" *Aeromonas* 'lar olarak da adlandırılmaktadır (9,22).

Hareketli *Aeromonas* 'lar, tatlı ve tuzlu su kaynaklarında, kanalizasyon sularında ve çevrede yaygın olarak bulunan, suda yaşayan canlılar ve balık-

larda hastalık oluşturan fırsatçı bakterilerdir (4, 5, 17). Etken, balıklarda, olumsuz çevre koşullarında hastalığa neden olmaktadır (15,17). *A. hydrophila*, balıklarda deri lezyonları, ülserasyonlar, hemorajiler ve doku yıkımlarıyla beraber, karaciğer ve böbrek nekrozları ile karakterize hemorajik septisemi hastalığına neden olur (12,16). *A. hydrophila*, insanlarda ise, gastroenteritis, septisemi, pnömoni ve menenjit gibi enfeksiyonlara neden olmaktadır (14,20). Özellikle su veya toprak ile direkt temasın söz konusu olduğu yaralanmalarda, sağlıklı bireylerde enfeksiyon sadece yaralanmış bölge ile sınırlı kalırken; bağışıklık sistemi zayıf veya hasta bireylerde septisemi şeklinde görülmekte, hatta bazen ölüme bile neden olabilmektedir (3,13).

Bu çalışmada Şanlıurfa'nın simgesi Balıklıgöl'de bulunan ve deri lezyonları saptanan balıklardan etken tespitinin yapılması ve bu etkenlere yönelik uygun antibiyotiklerin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada tesadüfi olarak seçilen, toplam 20 adet sazan balığı (*Cyprinus carpio*) incelendi. Deride toplu iğne başı şeklinde yaygın hemoraji alanları görülen balıklar kepçe yardımı ile yakalandıktan sonra, lezyonların bulunduğu yerlerden svaplar alınarak soğuk zincirde en kısa sürede laboratuvara ulaştırıldı.

Laboratuara getirilen svapların Triptic Soy Agar (TSA,), Kanlı Agar (KA) ve McConkey Agara (MCA) ekimleri yapıldı. İki seri halinde ekimi yapılan petrilere 37°C ve 21°C'de 48-72 saat süreyle inkubasyona bırakıldı. Ayrıca mikotik enfeksiyonlar için Sabouraud Dekstroz Agara (SDA) ekimleri gerçekleştirildi. Mikotik enfeksiyonlar için besiyerleri 25°C'lik etüvde 2 hafta süreyle inkube edildi.

İnkubasyon sonucunda saf üreyen şüpheli koloniler, morfolojik ve biyokimyasal özellikleri gözönüne alınarak identifikasyonları gerçekleştirildi. Saf kültürlerin Gram reaksiyonu, hareketlilik gibi özelliklerinin yanında, kolonilerin görünümü, pigmentasyonu, şekli büyüklüğü gibi kültürel özellikleri ve ayrıca oksidaz, katalaz, glikoz, O/F testi ve McConkey 'de üreme gibi biyokimyasal özellikleri tespit edildi (11). Ayrıca izole edilen *A. hydrophila* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle belirlendi (17).

Sonuç

Kültür sonucunda alınan tüm svaplardan gerek 37°C'de gerekse 21°C'de etken üremesi görüldü. Saf olarak üreyen şüpheli kolonilerin biyokimyasal ve morfolojik özellikleri dikkate alınarak yapılan değerlendirmede etkenin *A. hydrophila* olduğu belirlendi. Bakteriyskopide Gram negatif, tek ya da çiftler halinde, çomak bakteriler görüldü. Hareket muayenesinde etkenlerin hareketli olduğu saptandı. Etken TSA'da beyaz-krem renge yuvarlak koloniler oluştururken, kanlı agarda düz grimsi hemolitik koloniler oluşturdu. Kolonilerin biyokimyasal testleri Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'den yararlanılarak yapıldı (11) (Tablo 1). Mikolojik muayene sonucunda herhangi bir patojen mantar saptanmadı.

İzole edilen *A. hydrophila* suşlarının tamamı (%100) sefoperazon/sulbaktam, Sefuroksim ve kanamisin/sefaleksine duyarlı bulundu. Tüm

suşların ise kloksasilin, ampisilin, streptomisin, amoksisilin/klavulanik asit, danofloksasin, ampisilin/sulbaktam, amikain, eritromisin ve oksitetrasikline dirençli olduğu saptandı.

Tablo 1. *A. hydrophila*'nin biyokimyasal özellikleri
Table 1. *A. hydrophila*'s biochemical characteristics.

Test	Sonuç	Bergey's Manual
Gram boyama	(-)	(-)
Morfoloji	Çomak	Çomak
Hareket	+	+
Kanlı agarda hemoliz	+	+
Mc Conkey agarda üreme	+	+
Üre	-	-
İndol	+	+
Oksidaz	+	+
Katalaz	+	+
Metil Red	+	+
Voges-Proskauer	+	+
Sitrat testi	+	d
H ₂ S	+	+
Oksidasyon/fermantasyon	F	F
Gaz oluşumu	+	+
Jelatin hidrolizi	+	+
Glukoz	+	+
İnositol	-	-
Mannitol	+	+
Arabinoz	+	+
Mannoz	+	d
Raffinoz	-	-
Sorbitol	-	d
Sukroz	+	+
Maltoz	+	+

Tartışma

Son yıllarda *A. hydrophila* üzerinde yoğunlaşan ilgiyle beraber bu organizmanın potansiyel kaynakları da araştırılmaya başlanmıştır. Bu organizmanın tatlı sulardan, deniz sularından, klorlanmış ve klorlanmamış içme sularından, çeşitli deniz kabuklularından, balıklardan, etlerden, sebzelerden, çiğ süt ve süt ürünlerinden, gaitadan ve çeşitli hastalardan izole edilebildiğine dair raporlar mevcuttur (8). *A. hydrophila*, balıkların deri lezyon ve ülserlerinden

sıklıkla izole edilmektedir (2,16). Etken, genellikle sekonder olarak infeksiyonlara neden olan fakültatif fırsatçı bir patojendir. Kötü beslenme, oksijen yetersizliği gibi konakçı direncini azaltan faktörlerin bulunması durumunda etken infeksiyonlara neden olmaktadır (16). Balıklıgöl alan olarak incelendiğinde göldeki balıkların düzensiz beslendiği, göl suyunda kirlilik olduğu, birim alanda çok sayıda balık bulunduğu, bu nedenle stres ve oksijen yetersizliği şekillendiği ve bunun da hastalığa predispozisyon yarattığı saptandı.

Yapılan çalışmada deri lezyonu saptanan balıklardan izole edilen bakterilerin *A. hydrophila* olduğu saptandı. Filipinler’de yapılan bir çalışmada da, nekrotik ülser ve lezyon görülen balıklardan *A. hydrophila* izole edildiği bildirilmiştir (2). Son ve ark.(21), yaptıkları bir çalışmada deri lezyonu bulunan balıklardan *A. hydrophila* izole edildiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, yapılan pek çok çalışmada *A. hydrophila*’nın lokal ve sistemik hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir (10,16,19).

Bu çalışmada izole edilen *A. hydrophila* suşları genel olarak, sefoperazon/sulbaktam, sefuroksim ve kanamisin/sefaleksine’ye duyarlı bulundu. Kloksasilin, ampisilin, streptomisin, amoksisilin/kalvulanik asit, danofloksasin, ampisilin/sulbaktam, amikain, eritromisin ve oksitetrasiklin’e dirençli olduğu saptandı. Malezya’da yapılan bir çalışmada izole edilen *A. hydrophila* suşlarının 10 antibiyotiğe duyarlılıkları incelenmiştir. İzole edilen etkenlerin, kloramfenikol, eritromisin, kanamisin, nalidiksik asit, streptomycin, sulfametaksazol-trimetoprim ve tetrasikline dirençli olduğu saptanmıştır (21). Malezya’da yapılan başka bir çalışmada pek çok izolatan streptomisin, ampisilin ve eritromisine dirençli olduğu bulunmuş, ancak bütün izolatların seftazidime duyarlı olduğu saptanmıştır (18). Hatha ve ark. (10), yaptıkları çalışmada tatlı su balıklarından izole ettikleri bütün *A. hydrophila* suşlarının ampisiline, suşların büyük bölümünün ise amoksisilin, polymiksin-B ve novobiosine dirençli olduğunu göstermişlerdir. Bu bulgular çalışmada elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçları ile benzerlik göstermekte olup, yapılan farklı çalışmalarda, *A. hydrophila*’nın pek çok antibiyotiğe karşı dirençli olduğu belirlenmiştir (6, 7, 18).

Sonuç olarak, Şanlıurfa’nın turistik simgesi olan Balıklıgöl’de bulunan balıklarda sürekli olarak gözlemlenen deri lezyonlarının *A. hydrophila* tara-

findan oluşturulduğu saptandı ve uygun antibiyotik tedavisi önerildi.

Kaynaklar

1. **Abbott, S.L., Cheung, W.K.W., Janda, J.M.** (2003): The Genus *Aeromonas*: Biochemical Characteristics, atypical Reactions, and Phenotypic Identification Schemes. *J. Clin. Microbiol.* 41:2348-2357.
2. **Alcestis, T.L, Rogelio, Q.G.** (1987): *Aeromonas hydrophila* associated with ulcerative disease epizootic in Laguna de Bay, Philippines. *Aquaculture.* 67:273-278.
3. **Connie, R., Mahon, M.T.** (1988): *Aeromonas hydrophila* Bacteremia. *Clin. Microbiol. Newsl.* 10:78-79.
4. **Dierckens, K.R., Vandenberghe, J., Beladjal, L., Huys, G., Mertens, J., Swings, J.** (1998): *Aeromonas hydrophila* causes ‘Black disease’ in fairy shrimps (Anostraca;Crustacea). *J. Fish Dis.* 21:113-119
5. **Doukas, V., Athanassopoulou, F., Karagouni, E., Dotsika, E.** (1998): *Aeromonas hydrophila* infection in cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., and *Puntazzo puntazzo* Cuvier from the Aegean Sea. *J. Fish Dis.* 21:317-320.
6. **Fainstein, V., Weaver, S., Bodey, G.P.** (1982): In vitro Susceptibilities of *Aeromonas hydrophila* Against New antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 22:513-514.
7. **Fass, R.J., Barnishan, J.** (1981): In vitro susceptibilities of *Aeromonas Antimicrobial hydrophila* to 32 Antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 19:357-358.
8. **Handfield, M., Simard, P., Couillard, M., Letarte, R.** (1996): *Aeromonas hydrophila* Isolated from food and Drinking Water: Hemagglutination, Hemolysis, and Cytotoxicity for a human intestinal cell line (HT-29). *Appl. Environ. Microbiol.* 62:3459-3461.
9. **Harikrishnan, R., Balasundaram, C.** (2005): Modern trends in *Aeromonas hydrophila* Disease Management with fish. *Rev. fish. sci.* 13:281-320.
10. **Hatha, M., Vivekanandhan, A.A., Joice, G.J.** (2005): Antibiotic resistance pattern of motile aeromonads from raised fresh water fish. *Int. J Food Microbiol.* 98:131-134.
11. **Holt, J.G., Noel, R.K., Peter, H.A., James, T.S., Satanley, T.W.** (2000): *Bergey’s Manuel of Determinate Bacteriology.* 9. Ed. USA. Lioppincott Williams.
12. **Johnson, M.** (1993): The veterinary approach to channel catfish. In: L. Brown (ed.), *Aquaculture for Veterinarians: Fish Husbandry and Medicine,* Pergamon Press, Oxford, 249-270
13. **Lakshmanaperumalsamy, P., Thayumanavan, T., Subashkumar, R.** (2005): *Aeromonas Hydrophila*: A Re-Emerging Pathogen. In: *Marine Microbiology: Facets & Opportunities;* Ramaiah, N (Ed.), 115-119
14. **Nemetz, T.G., Shotts, E.B.** (1993): Zoonotic diseases. In: M.K. Stoskopf (ed.), *Fish Medicine,* W.B.Saunders, Philadelphia, 214-220

15. **Peters G., Faisal, M., Lang, T., Ahmed, I.** (1988): Stress caused by social interaction and its effect on susceptibility to *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Dis. Aquat. Org.* 4:83-89.
16. **Popovic, N.T., Teskeredzic, E., Strunjak-Perovic, I., Coz-Rakovac, R.** (2000): *Aeromonas Hydrophila* Isolated from Wild Freshwater fish in Croatia. *Vet. Res. Commun.* 24:371-377
17. **Quinn, P.J., Markey, B.K., Carter, M.E., Donnelly, W.J., Leonard, F.C.** (2002): *Veterinary Microbiology and microbial Disease*. Blackwell publishing company. United Kingdom.
18. **Radu, S, Ahmad, N., Ling, F.H., Reza, A.** (2003): Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail fish in Malaysia. *Int. J. Food Microbiol.* 81:261-266
19. **Rahim, Z., Sanyal, S.C., Aziz, K.M.S., Huq, M.I., Chowdhury, A.A.** (1984): Isolation of Enterotoxigenic, hemolytic, and antibiotic-resistant *Aeromonas hydrophila* strains from infected fish in Bangladesh. *Appl. Environ. Microbiol.* 48:865-867.
20. **Skoll, P.J., Hudson, D.A., Simpson, J.A.** (1998): *Aeromonas hydrophila* in burn patients. *Burns.* 24:350-353.
21. **Son, R., Gusul, G., Sahilah, A.M., Zainuri, A., Raha, A.R., Salmah, I.** (1997): Antibiotic resistance and plasmid profile of *aeromonas hydrophila* isolates from cultured fish, *Telepia* (*Telepia mossambica*). *Lett. Appl. Microbiol.* 24:479-482
22. **Woo, P.T.K., Bruno, D.W.** (1999): *Fish diseases and Disorders, volume 3: Viral, Bacterial and fungal infections*. In Aoki, T. *Motile aeromonads (Aeromonas hydrophila)*. 427-453 CAB International.