

BALIKLARDA PSEUDOMONAS İNFEKSİYONLARI

Yüksel DURMAZ

Uzman Veteriner Hekim

Pseudomonas ailesi içinde sınıflandırılma yapılmış ve 25 tür kapsadığı görülmüştür. Patojen olan ve olmayan Pseudomonas türleri balıkların yumurtaları üzerinden, derisinden, solungaçlarından ve bağırsaklarından izole edilmişlerdir. Pseudomonas genusundan 5 tür, balıklarda hastalıklara neden olan etiyolojik etken olarak tanımlanmıştır. Bu türler; *Pseudomonas anguilliseptica*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes* ve *Pseudomonas putida*'dır. Bunlara ilaveten isimlendirilmemiş Pseudomonas türleri de bildirilmiştir(Bunlar *P. fluorescens*'e benzemektedirler). Bu türlerden *P. putida*'nın sadece tesadüfi infeksiyonlara neden olabildiği konusunda veriler elde edilmiş olup, bu durumun ileriki araştırmalarda gözden uzak tutulmaması gereklidir.

PSEUDOMONAS ANGUİLLİSEPTİCA

Bu etkenin oluşturduğu hastalık "**Kırmızı benek hastalığı**" olarak bilinir. Bu hastalık ilk olarak Japonya'da havuzlarda yetiştirilen yılan balıklarında 1972 yılında tanımlandı. O zamandan bugüne kadar hastalık Japonya'da yılan balığı çiftliklerinde tehlikeli bir boyutta yayılım göstermiştir. Hastalığın Avrupa'da ve İskoçya'da ise 1981 yılında tanımlanması yapılmıştır. Bu durum doğal ortamlarda yaşayan yılan balıklarının göçü ile hastalığın dünyanın diğer bölgelerine taşındığını düşündürmektedir.

Hastalığın epizootiyolojisiyle ilgili fazla yayın bulunmamaktadır. Hastalığın tanımlanmasıyla ilgili az tuzlu sularda, su ısısının 20-27 °C'ler arasında olduğu dönemlerde çalışmalar yapılmıştır. Elde edilen en son bilgilere göre ciddi salgınlar sıcaklığın yüksek olduğu dönemlerde ortaya çıkmaktadır. İskoçya'da oluşan böyle bir salgında 67.000 yılan balığı yavrusu ölmüştür. Araştırmacıların yaptıkları genel bir gözlemde; hastalık çıkan çiftliklerde büyük erişkin anaç balıkların, yetişkinlerden daha kötü durumda olduklarını gözlemledi. Yavru balıklarda ise daha büyük kayıplar gözlemlenmiştir. Bu hastalığın bir çiftlikte çıktıktan sonra kontrol altına alınmasına kadar, işletme balıklarının %14 'ü ölebilir. Yatırımcılar için bu durum potansiyel bir risk oluşturmaktadır.

Patojenin gram negatif basillerin oluşturduğu homojen grup içerisinde yer alan ve tek polar flagella ile hareket kabiliyetine sahip bir bakteri olduğu bildirilmiştir. TSA’da üreyen 18 saatlik kültürlerin elektron mikroskopik bakışında uzun çomaklar halinde görülürler. Bazı bakteriler ise eğri ve uç kısmı yuvarlak bir hal almış olarak görülür. Basilin büyüklüğü 1,5 – 5,0 x 0,8 µ dir. Bakterinin çok sayıda biçimsiz formları da vardır.

Geniş kapsamlı olarak yapılan bir çalışmada 96 izolasyon ile yapılan denemelerde bu bakterinin 2 farklı antijenik grubunun var olduğu gözlemlendi. Tip I’in antiserumu ısıtıldığında her ne kadar hücrelerde kümeleşme görülse de, 100 °C de 2 saat veya 121 °C 30 dakika ısıtmadan antiserumun aglutine olmadığı gözlemlendi. Tip II’de ise; ısı ile aglutinasyonun inhibe edilme özelliği yoktur. Isı ile aglutinasyonun değişkenliğine Koliformlarda bulunan K antijenine benzer bir yapının sebep olduğu düşünülmektedir. Etkenin fenotipik özellikleri 1972 yılında tespit edilerek *Pseudomonas* varietesi içerisinde 3. veya 4. gruba dahil oldukları açıklanmıştır.

Patojen gram negatif, çomak biçiminde, polar flagellası ile hareketli, O/129’a duyarlı, katalaz ve oksidaz pozitif olup, glukozdan asit üretmez. Fluorescent (yaygın) pigment oluşturur. C+G oranı ve içerisine şeker ilave edilmiş peptonlu suda asit üretme özelliklerindeki farklılıklardan, *Pseudomonas* ve *Alkaligenes* sınıfının birbirlerinden ayırımında faydalanılmaktadır. Hareket, 37 °C ‘de üreme, pigment oluşumu, H₂S, indol, oksidaz, jelatin kullanımı, O/129’a duyarlılık ve glikoz kullanımı gibi özelliklerin farklılıklarından yararlanarak *P. anguilliseptica*; *P. fluorescens*, *L. Anguillarum*, *A. Hydrophila*, *P. piscicida* ve *Haemophylus pisciumdan* ayırt edilirler.

Hastalıkta karakteristik olarak; deri, ağız çevresi, operkulum ve vücudun yan taraflarında tipik hemorajiler görülür. Birkaç haftada kan ve iltihap vücut yüzeyine yavaş yavaş yayılabilir. *Vibrio* ve *Aeromonas hydrophila* infeksiyonlarında olduğu kadar yüzgeçlerde ve anüste kızarıklık meydana gelmez. Karaciğer ve peritonda küçük peteşial hemorajiler meydana gelebilir. Karaciğer donuk ve solgun renktedir. Karaciğer damarlarındaki lezyonlar ve midedeki hafif şişkinlik hariç diğer iç organlarda gözle görülebilecek derecede patolojik bozukluklar her zaman şekillenmez. Böbrekler yumuşamış ve erime şekillenebilir.

Üç günlük kültürlerden hazırlanan süspansiyonun yılan balıklarına i.p olarak enjekte edilmesiyle hastalık oluşturuldu ve doğal infeksiyonlarda gözlemlenen semptomlar gözlemlendi. Enjeksiyondan sonra balıklar yavaş yavaş hareketsiz hale geldiler ve 6 -10 gün içerisinde öldüler. Ölümden önce peteşial hemorajiler meydana geldi. Bu durum kısa süreli bir periyodu göstermekte idi. Verilen etkenler belli dokulara yerleşti. Enjeksiyon sonrasında meydana gelen ölümlerin muhtemelen ekzotoksin ve ekzoenzimlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. *P. anguilliseptica*'nın metabolizması çok aktif değildir. Ancak bakterinin çoğu suyu protein ve yağları kullanmaktadır. Bakterinin protein ve yağ gereksinimi patojenik mekanizma hakkında bize bir fikir vermektedir. Eksrasellüler tabakada öldürücü etkenlerin tespiti bakterinin varlığına kanıt değildir. Yapılan en son araştırmalar *P. anguilliseptica*'nın lam aglutinasyon testiyle hızlı teşhis edilebileceğini göstermiştir. Ancak bu usülle teşhiste önemsiz derecede *P. putida* ve *L. anguillarum*'dan kaynaklanan kros reaksiyon görülebilir. Eğer antiserum dilue edilirse bu durum ortadan kaldırılır.

P. anguilliseptica % 10 At kanı ilave edilmiş NA'da veya içerisine % 0,5 NaCl ilave edilerek, pH 7,4'e ayarlanmış NA'da, kan, böbrek, dalak kalp ve karaciğer örneklerinden kolaylıkla izole edilebilir. 20-25 °C'de asgari 3-7 gün inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonunda çapı 1mm'den küçük, yuvarlak, kabarık, parlak açık gri renkli koloniler ürer. Etkenin formalinde inaktivasyonu sonucu aşı geliştirme çalışmaları yapılmıştır. Su ısısının 15-28 °C'ler arasında olduğu dönemde 2 haftalık bir süreçte yılan balıklarına deneysel enjeksiyonlar yapılarak oluşan immun yanıt değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada 7 haftalık bir periyotta maksimum titre 1/256 olarak bulunmuştur. Havuzların su ısısının 26-27' °C ye yükseltilmesiyle beraber hastalığın kontrol altına alınabileceği sonucuna varılmıştır. Bu sıcaklıkta balıklar 2 hafta süreyle tutulularak, 2 haftanın sonunda su ısısı 21 °C'ye düşürülür ve böylece 5 ay süreyle hastalıktan korunulmuş olunur. Nalidiksik asit ve okzolinik asit tedavide başarı ile kullanılabilir.

PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS

Bu bakterinin balık patojeni olduğuna dair yapılan çalışmalarda şu ana kadar sadece bir vaka bildirilmiştir. Bu vakada; *Onchornhycus rhedines* türü alabalıklarda Japonya' da ağır mortalite görülmüştür. İleriki çalışmalarda bu organizmanın balıklar için önemi ve

patojenitesinin kesin olarak kanıtlanması gereklidir. Şu an için bu bakterinin patojenitesi şüpheli ise hastalıklı çiftliklerde bizzat etken tespit edilmiş veya fırsatçı patojen olarak hastalıkların beklenenden daha hızlı seviyede ortaya çıkmasına neden olmuştur.

İzole edilen kültürlerin tanımlanması yapılarak, etkenlerin gram negatif, çomak şeklinde, kolaylıkla ayrılabilen spesifik koloniler oluşturdukları gözlemlenmiştir. Bakteri yeşil pigment oluşturan toplu iğne başı büyüklüğünde kristalize olmuş koloniler meydana getirmektedir. Diğer fenotipik özelliklerin belirlenmesiyle ilgili çalışmalar devam etmektedir. Bu bakteriler göllerde infeksiyon meydana getirmekte, alabalık, yılan balığı ve sazan balıklarında patojen oldukları bildirilmiştir.

Hasta ve zayıf balık yavrularının karnında şişme ve karın boşluğunda asidik bir sıvı birikimi ve vücut yüzeyinde hemorajiler görülür. Balık yüzeyindeki lezyonlardan nutrient agara ekim yapılarak 25 °C’de 5 gün inkübasyona bırakılarak izolasyon yapılabilir. Bu metodla saf kültürlerin elde edilmesi zordur. Çünkü vücut yüzeyindeki ve barsaklardaki kontamine etkenlerde üreyebilmektedirler.

İzole edilmiş saf kültürlerden klasik identifikasyon şema ve tabloları kullanılarak teşhis kolaylıkla yapılabilir. Hastalığın kontrolünde geniş spektrumlu antibiyotikler kullanılmalı, okzolinik asit, oksitetrasiklin ve sülfanomitlerin tedavide etkili olduğu bildirilmiştir. Kontrol amacıyla benzalkonyum klorür ve furanaz ile banyo uygulaması yaptırılır.

PSEUDOMONAS FLUORESCENS

P. fluorescens; ekosistemde tatlı sularda dominant olarak bulunan bir bakteridir. *P. fluorescens*’in balıklara kontaminasyon sonucu bulaştığı yada fırsatçı patojen olarak yerleştiği (istilacı patojen) balık dokularında primer patojenler kadar bozukluk yaptığı, fakat patojenitesi düşük olan bir etken olduğu yapılan araştırmalar sonucunda ortaya konmuştur. Bu bakteri balık türlerinden bir çoğunda hastalık etkeni olarak bildirilmiştir. *P. fluorescens* infeksiyonları genellikle su kalitesinin bozulması, yoğun balık stoklama sonucu meydana gelen fiziksel hasar ve yaralanmalarda yada diğer stres faktörleri sonucunda ortaya çıkmaktadır. Bu etkenler balıklarda “**Bakteriyel Hemorajik Septisemi**” hastalığına neden olurlar ve bu hastalık *Aeromonas septisemileri* ile beraber görülür.

Bakteri dünyanın her yerinde tatlı ve tuzlu sularda yaygın olarak bulunur. Etken infeksiyon oluştururken canlılara muhtemelen sulardan bulaşmaktadır. Bütün balık türleri bu etkene karşı duyarlıdırlar. Çevre koşulları ve stres faktörlerine bağlı olarak göl ve göletlerde yapılan kültür balıklarında infeksiyon sık sık görülür. Hastalığın kronik ve akut seyrettiği durumlarda klinik semptomlar ile deri ve iç organlarda lezyonlar genellikle görülür. Hemorajik ve septisemik bir klinik görünüm mevcuttur. Teşhis için spesifik ajanın laboratuvarında identifiye edilmesi gereklidir.

Hastalık genellikle su sıcaklığının düşük olduğu dönemlerde (10 °C civarında) ortaya çıkar. 1982 yılında yapılan bir deneme çalışmasında infeksiyona yakalanan yavru balıkların 10 gün içerisinde hemen hemen % 100'ünün öldükleri gözlemlendi. Hastalıkla ilgili ilk bilgileri bu araştırma sonucunda ortaya kondu. Bu çalışmada populasyonun % 30'unda deride hemoraji oluşumu gözlemlendi. 7 gün sonra bu balıklar laboratuvara götürüldü ve izlemeye alındı. Ölümler 14. günde başladı ve 2 hafta sonra balıkların % 90'ı öldü. Kışın su sıcaklığının sıfır dereceye yakın olduğu dönemlerde su ısısında oluşan inip-çıkma balıklar üzerinde stres yaratmaktadır. Sazan balıkları için bu streslerden sonra kış boyunca bu infeksiyonun ortaya çıkma ihtimali vardır. Bu durum bu balıklar için önemli bir risk oluşturmaktadır.

Gram negatif, oksidaz, ADH ve katalaz pozitif, oksidatif, çomak şeklinde bir basildir. Polar flagellası ile hareket eder. 4 °C'de ürer. 42 °C'de üremez. Flouresan pigment oluşturur. ONPG, H₂S, indol, adenitol, salisin, üre ve VP testi negatif; arabinoz, inositol, mannitol, sorbitol, sukroz, trehaloz ve ksiloz pozitifdir.

Bu bakteri balıklarda kuyruk ve yüzgeç çürümleri ile karakterize geniş bir alanı kapsayan lezyonlar görüldüğünde akla gelir. Yavru balıklarda % 90'a varan mortaliteye neden olabilmektedir. Makroskopik muayenede görülen hastalıkla ilgili esas belirtiler deri ve yüzgeçlerdeki hemorajilerdir. Periton boşluğunda asidik bir sıvı toplanır. Solungaç, karaciğer, böbrek ve ince bağırsakların lümeni ile submukozasında peteşiyal hemorajiler görülür. Balıklarda generalize ve tipik bakteriyel septisemi lezyonları mevcuttur. Bu etkenin Gökkuşığı alabalıklarının solungaç ve yüzgeçlerinde de hemorajik ülserler oluşturduğu saptanmıştır. *P. fluorescens*, iç organlardan genel besi yerlerine yapılan ekimlerle saf olarak

elde edilir. Fluorescens agar, Kanlı agar, TSA ve NA' ya ekim yapılarak 22 – 28 °C'de 24-28 saat inkübasyona bırakılır. Etken besiyeri yüzeyinde, diffusible kendine özgü karakteristik yeşil sarı bir pigment oluşturur.

Stres şartları ortadan kaldırılarak ve su kalitesi yükseltilerek balıkların direnci artırılır. Bu şekilde *Pseudomonas* infeksiyonlarından korunmaya çalışılır. Tedavide Benzalkonyum klorür ile banyo; 1-2 mg/lt 1 saat, furanaz; 0.5-1 mg/lt 5-10 dakika uygulamak suretiyle klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce hastalık kontrol altına alınabilir. Balıklara; kanamisin i.p yolla 25 mg/kg, nalidiksik asit ve oksitetrasiklin 55 mg/kg oranında yeme katılarak verilebilir. Çevre koşullarının iyileştirilmesi hastalığın kontrolünde çok önemlidir. Tedavide antibiyotik terapisinden faydalanılmalıdır. Stok yoğunluğu azaltılarak fiziksel hasar ortadan kaldırılmalıdır.

PSEUDOMONAS PSEUDOALCALİGENES

İngiltere'de 1992 yılında alabalıklar üzerinde yapılan kapsamlı bir çalışmada hasta balıkların vücut yüzeyinde geniş alana yayılmış deri lezyonları ve *Yersinia ruckeri* infeksiyonlarına benzer belirtiler görülmüştür. Bu balıklardan *P. pseudoalcaligenes* teşhis edilmiştir.

Bu bakterinin oluşturduğu koloniler yapışkan kıvamda ve krem renklidir. Hareketli, oksidatif, gram negatif kısa çomaklar halinde görülürler. ADH, ODC, Katalaz ve Oksidaz pozitif, ONPG, H₂S, İndol, LDC, TDA negatiftirler. Jelatin ve Tween 80'i kullanır, nişasta ve üreyi ayrıştırıramazlar. 15 - 25 °C'lerde ürer; 4 - 40 °C'de üreyemezler. Glikoz ve sorbitol'den asit üretmez. VP testi negatiftir.

Tüm vücut derisi üzerinde ve kuyruktan operkuluma kadar yayılan geniş alanlarda deri lezyonları görülür(Vücudun yan tarafları dahil). Deri ve karın kaslarında oluşan bu lezyonlar vücut dokusuna 1 mm kadar ilerleyebilir. *P. pseudoalcaligenes* karışık kültürleri izole edilebilir. Asidik sıvıdan ve yüzeysel lezyonlardan TSA'ya ekimler yapılarak 22 °C'de 3-4 gün inkübasyona bırakılır. Klasik identifikasyon tablo ve şemaları kullanılarak kolaylıkla teşhis edilebilir.