

164 652

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VPT-YL-2004-0001

**DENEYSEL OLARAK *Yersinia ruckeri* İLE ENFEKTE
EDİLMİŞ GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA
(*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)
PATOLOJİK BULGULAR**

HAZIRLAYAN Arş. Gör. Hamdi AVCI

DANIŞMAN Doç. Dr. Serap BİRİNCİOĞLU

AYDIN - 2004

T.C
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Patoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Hamdi AVCI' nın hazırlamış olduğu Yüksek Lisans tezi aşağıda isimleri bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir. **23.08.2004**

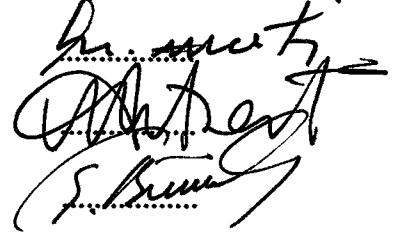
ADI VE SOYADI : **ÜNİVERSİTESİ** ;

Prof. Dr. Nursal METİN Adnan Menderes Üniversitesi

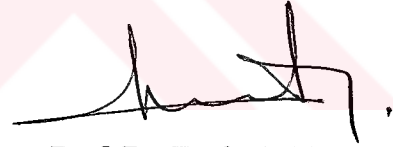
Prof. Dr. Hüdaverdi ERER Selçuk Üniversitesi

Doç. Dr. Serap BİRİNCİOĞLU Adnan Menderes Üniversitesi

İMZASI:



Jüri Üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nun...06.09.2004...tarih ve 2004/11...sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Prof. Dr. Ferda AKAR
Enstitü Müdürü

ÖZ.

Deneyisel Olarak *Yersinia ruckeri* ile Enfekte Edilmiş Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss walbaum*, 1792) Patolojik Bulgular

Bu araştırmada 32 adeti deneme grubu, 10 adeti kontrol grubu olmak üzere toplam 42 adet gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*, 1792) kullanıldı. Deneme grubundaki balıklara 3×10^6 cfu/ml *Yersinia ruckeri* içeren 0,1 ml'lik bakteri inokulumu, kontrol grubuna ise aynı dozda serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi. Uygulamadan sonra 4. ve 21. günler arasında ölen ya da öldürülen balıkların sistematik nekropsileri yapılarak makroskopik ve mikroskopik bulguları incelendi.

Anahtar Kelimeler: *Yersinia ruckeri*, gökkuşığı alabalığı, patolojik bulgular.

ABSTRACT

Pathological Findings Experimentally Infected with *Yersinia ruckeri* In Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss walbaum*, 1792)

In this study, a total of 42 (10 control and 32 experimental) rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*, 1792) were used. *Yersinia ruckeri* at a concentration of 3×10^6 cfu/ml (0.1ml per fish) was intraperitoneally injected to experimental group, whilst control group was subjected to the same volume of sterile saline. After injection, between 4 and 21 days, dead or killed fish were necropsied, microscopical and macroscopical findings were investigated.

KEY WORDS: *Yersinia ruckeri*, rainbow trout, pathological findings

İÇİNDEKİLER

ÖZ.ABSTRACT	I
İÇİNDEKİLER	II
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
1. GİRİŞ	1
1.1. Tanım	3
1.2. Tarihçe	3
1.3. Etiyoloji	4
1.4. Epizootiyoloji	8
1.5. Patogenezis	10
1.6. Bulgular	12
1.6.1. Makroskopik Bulgular	12
1.6.2. Mikroskopik Bulgular	13
1.7. Tanı	13
2. MATERYAL VE YÖNTEM	15
2.1. Materyal	15
2.2. Yöntem	15
2.2.1. Deneme havuzlarının özellikleri	15
2.2.2. Kullanılan suyun özellikleri	15
2.2.3. Balıkların temini	16
2.2.4. Deneysel inokulasyon	16
2.2.5. Histopatolojik incelemeler	16
3. BULGULAR	18
3.1. Makroskopik Bulgular	19
3.2. Mikroskopik Bulgular	20
4. TARTIŞMA	31
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	36
ÖZET	37
SUMMARY	38

TEŞEKKÜR	39
KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	48



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil numarası	Şekil açıklaması	Sayfa no
Tablo 1	Deneme grubunda ölen balıkların ölüm günleri ve sayıları	18
Şekil 1	Pektoral yüzgeç tabanlarında ve anüs çevresinde kanama (oklar)	23
Şekil 2	Karaciğer ve dalakta büyüme	23
Şekil 3	Hava kesesinde peteşiyel kanama (oklar)	24
Şekil 4	Gözde, pilorik kese ve bağırsakta kanama (ok) ve dalakta büyüme	24
Şekil 5	Normal karaciğer (a). Karaciğerlerde sarımsı (a) ve gri (b) renk değişiklikleri.	25
Şekil 6	Gözde kanama. HE.	25
Şekil 7	Sekonder lamellerde ödem (oklar). HE.	26
Şekil 8	Primer lamellerde kanama ve hiperemi. HE	26
Şekil 9	Kalpde ventrikülüs endotelyal makrofajlarda aktivasyon ve proliferasyon (oklar). HE.	27
Şekil 10	Böbrekte hemopoetik dokusunda kanama ve makrofaj benzeri mononükleer hücre proliferasyonu. HE.	27
Şekil 11	Dalakta fokal nekrozlar. HE .	28
Şekil 12	Pilorik kesede villuslarda kanama. HE .	28
Şekil 13	Ovaryumda interstisyel nötrofil lökosit infiltrasyonu. HE.	29
Şekil 14	Karaciğerde diffuz yağlanma. (Şekil 5 - b deki karaciğerin mikroskopik görünümü) HE.	29
Şekil 15	Karaciğerde diffuz yağlanma. Sudan Black B.	30
Şekil 16	Böbrekte çok sayıda iri, çentikli mononükleer hücre infiltrasyonu. HE.	30

I. GİRİŞ

Türkiye, üç tarafı denizlerle çevrili bir ülke olmasının yanı sıra göl, akarsu ve gölet alanları ile tatlı su balıkçılığı açısından da zengin doğal kaynaklara sahiptir. Deniz balıkları başta olmak üzere diğer su ürünleri ile kültür balıkçılığında 1991 yılında 364.661 ton olan üretim kapasitesi 2002 yılında 627.847 tona ulaşmıştır. Kültür balıkçılığında özellikle alabalık yetiştiriciliği önemli bir yer tutmakta, Ülkemizde 61.165 ton olan tatlı su balık üretiminin 33.707 tonunu alabalık üretimi oluşturmaktadır. Bu üretimde ilk sıralarda yer alan Ege Bölgesi'ndeki 25.760 ton üretimde Aydın ve Muğla illerinde bulunan işletmeler önemli paya sahiptir (TC Başbakanlık İst. Enst. 2002).

Artan nüfus ile birlikte sağlıklı ve ucuz beslenmede balık etine olan talep artışı, denizlerin ve iç suların kirliliği, deniz balıkçılığının azalması, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de kültür balıkçılığını önemli bir sektör haline getirmiştir (Geldiay ve Balık, 1999). Balık etinin esansiyel aminoasitler yönünden diğer et türlerine göre biyolojik değerinin daha üstün oluşu, ayrıca hayvansal proteinler başta olmak üzere vitamin ve mineral maddeler bakımından zengin öğeler içermesi, son yıllarda balık etinin önemini ve tüketimini artırmıştır (İnal, 1992).

Tatlı su balığı yetiştiriciliğinde, balık ve yaşadığı çevre arasında oldukça hassas bir denge (su ısısı, pH, oksijen, amonyak vs.) bulunmaktadır. Bu dengenin bozulması balık hastalıkları açısından önemli yer tutmakta ve özellikle balıkları enfeksiyöz hastalıklara karşı duyarlı kılmaktadır. Enfeksiyöz hastalıklar hızlı bir şekilde yayılmaları, tedavilerinin güç ve pahalı olması nedeni ile intensif balık yetiştiriciliğinde büyük ekonomik sorunlar yaratabilmektedir. Bu nedenle hastalıkların erken teşhisi ve gerekli kontrol önlemlerinin alınması, balık yetiştiriciliğinde büyük önem taşımaktadır (Alpbaz, 1995; Rad, 1999).

Son yıllarda bakteriyel alabalık hastalıkları içerisinde ilk sıralarda yer alan *Yersinia ruckeri*'nin sebep olduğu “*Enterik Kızıl Ağız Hastalığı*” dünyanın bir çok bölgesinden bildirilmiş (Rucker,1966; Ewing et al...,1978; Llewellyn,1980

Fuhrmann, et al...,1983; Bragg and Henton, 1986; Austin et al.,2003), ülkemizde de ilk kez 1991 yılında Denizli Bölgesi'ndeki bir işletmeden izole edilmiştir (Timur ve Timur, 1991). Daha sonra başta Marmara Bölgesi ve Ege Bölgesi olmak üzere yurdumuzun çeşitli yerlerinden hastalık olgusu rapor edilmiştir (Tanrıkul et al...,1996, Ateşoğlu, 1999; Kırcan et al...,2000).

Yersinia ruckeri ile ilgili çalışmaların büyük çoğunluğunun etkenin mikrobiyolojisine yönelik olduğu dikkati çekmiş, bu araştırmada ise yoğun alabalık işletmelerinin bulunduğu bölgemizde ilk kez *Yersinia ruckeri* enfeksiyonunun deneysel olarak oluşturulması ve lezyonların makroskopik ve mikroskopik incelenmesi amaçlanmıştır.



1.1. Tanım

Ağız ve baş bölgesinde meydana gelen hemorajiler nedeniyle “*Enterik Kızıl Ağız Hastalığı*” olarak tanımlanan (Rucker,1966) yersiniozis; ağız çevresi, operkulum, yüzgeç tabanları ve anüs etrafında hemorajiler (Fuhrmann,1983; Ateşoğlu,1999); karaciğer, böbrek, dalak, bağırsak ve diğer iç organlarda peteşiyel kanamalarla karakterize (Roberts,1983; Sparboe et al...,1986; Rodgers, 1992); akut septisemik formdan kronik forma kadar değişen (Busch,1982) ve özellikle salmon ve trout türlerinde büyük ekonomik kayıplara neden olan bakteriyel bir enfeksiyondur (Austin et al...,1982; Secades and Guijarro, 1999; Rigos and Stevenson, 2001; Kubilay ve Timur,1999; Arda, 2002).

1.2. Tarihçe

Yersinia ruckeri ilk kez, 1950’ li yılların başında ABD’nin Idaho Eyaleti’ nin Hagerman vadisinde, gökkuşağı alabalığı işletmelerinden Rucker ve Ross tarafından izole edilmiş ve hastalığa *Kızıl Ağız* (Redmouth) veya *Kızıl Boğaz* (Redthroat) adı verilmiştir. Başlangıçta *Kızıl ağız* (Redmouth) bakterisi olarak tanımlanan etkenin, *Enterobacteriaceae* familyasının bir üyesi olabileceği düşünülmüş fakat ilk araştırmalarda bu familyadaki diğer türlerle etken arasında bir benzerlik bulunamamıştır (Rucker, 1966; Ross et al...,1966). Daha sonraki yıllarda etkenin *Enterobacteriaceae* familyasına bağlı *Serratia*, *Yersinia*, *Hafnia*, *Salmonella*, *Klebsiella* cinslerine ait türlerle benzerlik durumları araştırılmış, önce *Yersinia ruckeri*’ nin ayrı bir cins olabileceği ileri sürülmesine rağmen etkenin DNA’sı üzerinde yapılan incelemeler ve biyokimyasal özellikleri sonucu *Yersinia ruckeri*’nin *Enterobacteriaceae* familyasının bir üyesi olduğu ve *Yersinia* cinsi ile yakın bir benzerlik gösterdiği tespit edilmiş ve etkeni ilk kez izole eden “ *Rucker* ” adlı araştırmacının isminin verilmesi önerilmiştir (Ewing et al...,1978).

Hastalığın ortaya çıkışıyla birlikte terminolojisinde, *Kızıl Ağız Hastalığı*, *Kızıl Boğaz Hastalığı*, *Kızıl Karın Hastalığı*, *Hagerman Kızıl Ağız Hastalığı* ve *Bakteriyel Hemorajik Septisemi* gibi farklı isimler kullanılmıştır (Busch and Lingg, 1975;

Busch,1982). Son bilimsel adlandırma ise; 1975 yılında “ The Fish Health Section of The American Fisheries Society ” tarafından “ *Enterik Kızıl Ağız Hastalığı* ” şeklinde yapılmıştır (Busch, 1982).

Yersinia ruckeri, daha sonra Alaska, Arizona, California, Ohio, Tennessee ve Washington olmak üzere Amerika'nın farklı bölgelerinden izole edilmiş ve hastalığın ortaya çıktığı bölgelerde salmon ve trout yetiştiriciliği yapılan çiftliklerde büyük ekonomik kayıplara neden olmuştur (Ross et al...,1966; Rucker, 1966; Dear, 1988). Ancak hastalık hakkında bilgilerin yetersizliği ve gerekli kontrol önlemlerinin alınamaması sonucu, hastalık Amerika'dan dünyanın diğer bölgelerine kolayca taşınmıştır (Valtonen et al...,1992). Günümüzde ise İngiltere (Roberts, 1983), Batı Almanya (Fuhrmann, 1983), Fransa (Vuilaume et al...,1987), Norveç (Sparboe et al...,1986), İtalya (Giorgetti et al...,1985), Portekiz (Sousa et al...,1994), Çekoslovakya (Vladik and Prouza, 1990), Finlandiya (Rintamaki et al...,1986), İskoçya (Dear,1988; Frerichs and Collins,1984), Güney Afrika (Bragg and Henton, 1986) ve Avustralya'da (Llewellyn, 1980) olmak üzere dünyanın pek çok bölgesinde yersiniozise rastlandığı bildirilmiştir.

Ülkemizde ilk kez 1991 yılında, Denizli Bölgesi'nde gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği yapılan bir işletmeden *Yersinia ruckeri* izole edilmiş (Timur ve Timur, 1991), daha sonra başta Marmara Bölgesi ve Ege Bölgesi olmak üzere Yurdumuzun çeşitli bölgelerinden hastalık olgusu rapor edilmiştir (Kırkan et al...,2000).

1.3. Etiyoloji

Enterobacteriaceace familyasının yeni bir alt türü olarak bildirilen *Yersinia ruckeri*, gram - negatif, kokobasil (0.5 x 0.5-1.0 µm) veya basil (0.5 x 1.0-2.0 µm) formlarında, fermentatif, oksidaz-negatif, kapsülsüz ve sporsuz bir bakteridir (Ewing. et al...,1978; Fuhrmann et al...,1983; Davies and Frerichs, 1989). Yapılan incelemelerde etkenin peritirik flagellalı olduğu ve hareket etme özelliği gösterdiği ortaya konulmuştur (Rucker, 1966). Elektronmikroskopik incelemelerde

flagellaların ve hareketliliğin sıcaklık ile de ilgisi olduğu, 9 C°'lik üreme ısısında flagellalı-hareketsiz, 20 - 25 C°'de flagellalı-hareketli, 35 C°'lik inkübasyon ısısında ise flagellalı – hareketsiz olduğu saptanmıştır (Ewing et al...,1978; Austin et al...,1982). Ancak Norveç, İngiltere ve Kanada'dan izole edilen bazı suşların ise oda ısısında hareket özelliklerinin olmadığı ortaya konulmuştur (Austin et al..., 1982).

Yersinia ruckeri'nin Triptik Soy Agar ve Beyin Kalp İnfüzyon Agar gibi besi yerlerinde hem aerobik hem de anaerobik şartlarda kolayca üreyebilmektedir (Busch and Lingg, 1975; Davies and Frerichs, 1989; Kırkan et al...,2000). Etkenin bu besi yerlerinden TSA'da 22 C° de 48 saatlik bir inkübasyon süresinden sonra 1-2 mm çaplı, yuvarlak, kenarları düz veya hafif konveks görünümde, beyazdan krem renge kadar değişen koloniler şekillendirdiği, ayrıca 48 saatlik inkübasyon süresinden sonra ise filamentöz yapılı hücrelerin de olduğu gözlenmiştir (Austin et al...,1982).

Bakterinin selektif izolasyonu için Shotts-Waltman (Waltman and Shotts, 1984), Riboz Ornitin Deoksikolat Agar (ROD) gibi özel besi yerleri geliştirildiği ancak ROD'un bazı suşların elde edilmesinde yetersiz kaldığı belirtilmiştir (Rodgers, 1992).

Etken ile yapılan biyokimyasal çalışmalarda, optimum inkübasyon sıcaklığının 22-25 C°'ler arasında olması gerektiği, bu değerlerden farklı sıcaklıklarda yapılan testlerde ise hatalı negatif yada pozitif sonuçların elde edileceği bildirilmiştir (Rintamaki et al...,1986).

Karbonhidrat testleri ile ilgi olarak, galaktoz, glikoz, gliserol, maltoz ve mannitolu ise fermente eder fakat sakroz, laktoz, ksiloz, arabinoz, selibiyoz, dulsitol, salisin, erithritol, sodyum melanat, inositol, rafinoz, ramnoz, melliboz ve eskulini fermente etmediği (Ewing et al...,1978; Fuhrmann et al...,1983; Sparboe et al...,1986; Shoots,1991; Vladik and Prouza, 1990), fakat bu şekerlerden bazılarının fermantasyonunda etkenin suşları arasında farklılıklar olabileceği ileri sürülmüştür (Fuhrmann et al...,1983). Suşlar arasındaki bu farklılık Tween 80'nin hidrolizinde de belirlenmiş ve İngiltere, Norveç ile Almanya'da gökkuşağı alabalıklarından

hareketsiz ve Tween 80'i hidrolize etmeyen suşları izole edilmiştir (Davies and Frerichs, 1989).

Bakteri diğer biyokimyasal testlerden katalaz, indol, metil kırmızısı, sitrat kullanımı, voges proskaver, ornitin ve dekarboksilaz testlerinin pozitif (+), sitokrom oksidaz, indol, hidrojen sülfür, üreaz ve glikozdan gaz üretimi testlerinin negatif (-) sonuç verdiği tespit edilmiştir (Austin et al.,1982; Sousa et al.,1994; Ateşoğlu, 1999).

Yersinia ruckeri'nin balık hücre kültürlerine invazyon yeteneğinin oldukça fazla olduğu etkenin yüksek oranda Fatheaded Minnow Epithelial, Salmon Cell Line, hücre kültürleri ile birlikte Rainbow Trout Kidney ve Rainbow Trout Gonad hücre kültürlerinde invaze olduğu, fakat Human Epithelial hücre kültürüne ise invaze olmadığı ortaya konulmuştur (Shoots, 1991; Romalde and Toranzo, 1993; Kawula et al.,1996).

Bakterinin izole edildiği ilk yıllarda etken, tek serotip ve suş olarak düşünülmüş, (Rucker, 1966; Ross et al.,1966) sonraki yıllarda ise farklı özellikler göstermesi nedeniyle serotip I, II, III, IV, V, VI şeklinde sınıflandırılmıştır (Busch, 1982; Austin et al.,2003).

Enfekte balıklardan en sık izole edilen ve en yüksek virülense sahip Serotip I suşu (Hagerman suşu) Amerika başta olmak üzere dünyanın pek çok bölgesinde geniş bir coğrafik dağılım göstermektedir (Rucker, 1966; Stevenson and Airdrie, 1984). Serotip II (Big creek) suşu; ilk olarak pasifik salmonlarında saptanmıştır. Bu suş Serotip I suşundan daha az virülente olup, gökkuşağı alabalıkları dışında, diğer salmonid grubu balıklar ile *Coregonus artedii* gibi farklı balık türlerinden de izole edilmiştir (Bullock et al.,1981). Bu suşun Amerika dışında Kanada ve bazı Avrupa ülkelerinden de izole edildiğine dair bilgiler bulunmaktadır (Davies and Frerichs, 1989). Ayrıca Big creek suşunun sorbitolu fermente etme özelliği gösterdiği tespit edilmiştir (Busch, 1982). Serotip III (Avustralya suşu) ise Avustralya'da gökkuşağı alabalıklarından izole edilen ve avirulent olduğu

düşünülen bu suşun, Norveç'te de izole edildiği bildirilmiştir (Busch, 1982; Willumsen, 1989).

Yersinia ruckeri'nin diğer suşlarından Serotip IV'ün L-arabinos, D-ksiloz, L-rhamnoz'dan asit ürettiği, Serotip V' in ise sorbitolu fermente etmediği ve virülensinin diğer serotiplere göre daha düşük olduğu saptanmıştır (Austin et al...,2003). Serotip VI hakkında ise yeterli literatür bilgiye rastlanmamıştır.

Isıya dayanıklı O antijeni kullanılarak yapılan sınıflandırmada *Yersinia ruckeri* izolatları O₁, O₂, O₅, O₆, O₇ şeklinde suşlara ayrılmıştır. Serotip III' ün serotip I' in mutanlığı olması ve serotip IV' ün de *Yersinia ruckeri* olarak tanımlanmaması nedeniyle bu sınıflandırmada O₃ ve O₄ serotipleri kullanılmamıştır. Bu suşlardan O₁ Avrupa'da en fazla izole edilen serotip olduğu, O₂ tipinin Fransa, Büyük Britanya, Norveç, ve Batı Almanya gibi farklı Avrupa ülkelerinden izole edildiği ve O₅, O₆, O₇ serotiplerinden daha fazla görüldüğü belirtilmiştir. O₅, O₇ serotiplerinin Büyük Britanya ve Danimarka'dan, O₆ serotipinin ise Finlandiya ve Batı Almanya'dan izole edildiği; ve Avrupadaki serotip dağılımının Amerika'da da benzer olduğu, ayrıca O₁ suşunun Güney Afrika ve Avustralya'dan da izole edildiği bildirilmiştir (Davies and Frerichs, 1989; Davies, 1990).

Etkenin dış membran proteinlerine (ısı ile değişebilen ve peptidoglikan ilişkili proteinler) (OMP-tipi) göre yapılan sınıflandırmada (Davies, 1990,1991a, 1991b), Fransa, Norveç, Danimarka, Bulgaristan, İtalya, Almanya gibi Avrupa ülkeleri ile Kuzey Amerika, Güney Afrika ve Avustralya olmak üzere dünyanın farklı coğrafik bölgelerinden izole edilen *Yersinia ruckeri* izolatları OMP tip I, II, III, IV, V şeklinde klasifiye edilmiştir. Bu sınıflandırmada, Avrupa orijinli suşların % 75,3' nün OMP-tip III, ancak İngiltere'den elde edilen izolatların % 92,6' sının OMP-tip I' olduğu, OMP-tip II-IV' ün ise Avrupa'da çok az izole edildiği, OMP-tip V' in ise izolasyonunun yapılamadığı bildirilmiştir. OMP-tip I, II, III, IV' ün Kuzey Amerika'da da izole edildiği, Güney Afrika kökenli suşun OMP-tip III olduğu, Avustralya'da izole edilen bütün suşların (tek bir OMP-tip II suşu dışında) OMP-tip

I olduğu, ayrıca Amerika'da ilk izole edilen *Yersinia ruckeri* suşunun ise (Hagerman tipi) OMP-tip III'e ait olduğu ileri sürülmüştür.

Yine farklı coğrafik bölgelerden izole edilen *Yersina ruckeri* suşların; O_{1a}, O_{1b}, O_{2a}, O_{2b}, O_{2c}, O₃, O₄ şeklinde serolojik ve moleküler özellikleri dikkate alınarak grup ve alt grupları şeklinde sınıflandırmaları yapılmıştır (Romalde and Toranzo, 1993).

1.4. Epizootiyoloji

Enfeksiyonun, ilk olarak Amerika'da ortaya çıkışından sonra Avrupa, Avustralya ve Afrika kıtalarından da bildirilmesi hastalığın epidemiyolojik yayılımının büyüklüğünü açıkça göstermektedir. Özellikle asemptomatik veya portör balık nakilleri hastalığın dağılımında büyük rol oynamaktadır (Valtonen et al...,2002).

Etken başta gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) olmak üzere (Rucker, 1966; Ross et...,1966), atlantik salmonu (*Salmo salar*), kahverengi ala (*Salmo trutta*), cut-throat (*Salmo clark*), brook trout (*Salve linus fontinalis*), coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*), dağ alası (*Salvelinus alpinus*) (Petrie et al...,1996; Austin and Cross, 1998; Hietala et al...,1995) gibi salmon grubu balıklar ile kedi balığı (*Ictalurus punctatus*) (Danley et al...,1999), japon balığı (*Carassius auratus*) (Mcardle and Martin, 1985), sazan balıkları (*Cyprinus carpio*, *Aristichyts nobilis*) (Berc et al.,1999), yılan balıkları (*Anguilla anguilla*), mersin balıkları (*Acipenser baeri* Brandt) (Vuilaume et al..., 1987) ve deniz levreğinde de (*Dicentrarcus labrax*) (Valtonen et al.,1992) saptanmıştır. Ayrıca *Yersinia ruckeri*'nin su samuru, kerkenes, hindi, martı (Rintamaki et al.,1986; Willumsen, 1989), fare gibi değişik hayvan türleri için de patojen olduğu (Ribelin and Migaki, 1975) ve insan safrasında da bulunduğu ifade edilmiştir (Balows et al...,1991).

Yersinia ruckeri, canlılığını çamurda 2 ay, % 0 - 0,2'lik tuzlu suda 3-4 ay kadar devam ettirebilmektedir (Thorsen et al...,1992). Bir araştırmada da (Altınok and Grizzle, 2001) % 1 - 9' luk tuz içeren sularda dahi *Yersinia ruckeri*'nin gökkuşağı

alabalıklarında enfeksiyon oluşturduğu saptanmıştır. Etkenin polivinilklorid, beton, ağaç, fiber glas gibi dış çevre materyallerin yüzeylerine kolay tutunabilir özellikte olması, hastalığın epidemiyolojisi açısından önemli varsayılmaktadır (Coquet et al..., 2003).

Hastalığın oluşumunda etkili su sıcaklığının 15-20 C° (Rodgers,1992; Danley et al...,1999), pH'nın ise 6,5-7,5 arasında değiştiği saptanmıştır (Amend et al...,1983). Epidemilerin daha çok 15 C° de meydana geldiği, 20 C°'lerdeki sıcaklıklarda ise kayıpların daha fazla olduğu (Ewing et al...,1978; Busch, 1982), 8-12 C°' lerde de hastalığın olduğu, fakat mortalitenin daha az olduğu görülmüştür (Roberts, 1983; Rodgers, 1992).

Hastalıkta epidemilerin şiddeti, su sıcaklığına ve balığın yaşına bağlı olarak değişmektedir. Su ısısının yükselmeye başladığı ilkbahar- yaz aylarında ve genç balıklarda hastalık perakut ve akut formlarda, su ısısının düşmeye başladığı sonbahar aylarında ise daha çok kronik formda seyretmekte ve ölümler daha az olmaktadır (Frerichs and Collins, 1984; Good et al...,2001). Akut epizootilerde mortalite % 60-70 oranında seyretmektedir. Hastalığın kronik formunda ölümlerin daha az meydana gelmesine karşın, aşırı stres koşullarının etkisi ile büyük kayıpların da görüldüğü bildirilmiştir (Waltman and Shotts, 1984; Rodgers, 1991).

Aşırı kalabalık havuzlar, su ısısındaki mevsimsel dalgalanma (özellikle bahar ve yaz aylarında artan sıcaklık değerleri), su içindeki düşük oksijen miktarı ve yüksek amonyak miktarı ve sularda meydana gelen organik kirlenmeler gibi balıklarda strese neden olan faktörlerin hastalığın ortaya çıkmasında ve kısa sürede yayılmasında etkili olduğu belirtilmiştir (Giorgetti et al...,1985; Rodgers, 1991; Sousa et al...,1994; Austin, 1999).

Yersinozide inkubasyon süresi, enfeksiyonun balık popülasyonlarında ilk defa yakalanma durumuna ve stres koşullarına bağlı olarak 5-10 gün arasında değişmektedir (Bullock and Cipriano, 1990). Fakat önceden *Yersinia ruckeri* enfeksiyonun görüldüğü veya latent enfeksiyonun mevcudiyetine bağlı olarak, iç ve

dış stres faktörlerinin etkisi ile 3-5 gün içinde de hastalığın ortaya çıktığı ve ölümlerin meydana geldiği ifade edilmiştir (Busch and Lingg, 1975).

Yersinia ruckeri ile yapılan deneysel çalışmada (Busch and Lingg, 1975), etkenin intraperitoneal inokulasyonundan sonra ölümlerin 6. günde başladığı, 9. günde maksimum seviyeye çıktığı ve 15. günde sona erdiği; oral uygulamalarda ise ilk ölümlerin 7. günde başladığı bildirilmiştir. Bakterinin patogenezi ile ilgili olarak *Yersinia ruckeri*'den elde edilen ekstraselüler ürünlerin yavru gökkuşağı alabalıklarına intraperitoneal verilmesinde ölümlerin daha hızlı (6-36 saat) meydana geldiği belirlenmiştir (Shoots, 1991). Hastalıkta bulaşmanın daha çok oral yolla meydana geldiği ancak kontakt yolla da enfeksiyonun oluşabildiği bildirilmiştir (Busch, 1982).

Hasta ve portör balıkların hastalığın yayılmasında büyük rol oynadığı, hastalıktan kurtulan balıkların portör kaldıkları ve dışkıları ile etkenleri dışarı saçtıkları, (Rodgers, 1992; Valtonen et al.,1992) bakterinin, balıkların kalın bağırsaklarından enfeksiyondan 40- 65 gün sonra dahi izole edildiği bildirilmiştir (Busch and Lingg, 1975). Bakterinin oral yolla aşılmasından 4 gün sonra etkenin hem bağırsaklardan hem de böbreklerden izole edildiği, ancak bu balıkların portör kalmadıkları (Bruno and Munro, 1989), enjeksiyon şeklinde yapılan bir aşılama uygulamasında ise 7. günden sonra *Yersinia ruckeri*'nin organlarda bulunmadığı belirtilmiştir (Secades and Guijarro, 1999).

Bazı su kuşlarının balık çiftliklerinden beslenmek amacıyla yakaladıkları enfekte balıkları yiyerek feçesleri ile etkenin uzak bölgelere taşınmasında rol aldıkları kaydedilmiştir (Willumsen, 1989; Bangert et al...1988).

1.5. Patogenezi

Balık popülasyonlarında hastalıkların oluşumunda stres faktörleri önemli bir rol oynamaktadır (Rodgers, 1991; Valtonen et al...,1992). Biyolojik ve çevresel faktörlerin etkisi ile bir organizmada meydana gelebilecek kompleks fizyolojik ve

biyokimyasal değişikliklerin tüm hemopoetik sistemle bağlantılı olduğu, stres faktörlerinin ortaya çıkışı ile bazı hormonal faaliyetlerin etkisi sonucunda (kanda kortizol seviyesinin artması gibi) balıkların immun sistemlerinin baskılandığı ve hastalıklara karşı daha duyarlı olduğu belirtilmiştir (Hietala et al...,1995; Altun ve Diler, 1999).

Hastalıkla ilgili epidemiyolojik ve serolojik çok sayıda araştırma yapılmış olmasına rağmen, patogenezi hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. *Yersinia ruckeri*'nin patojenik aktivitesinin hemaglitünasyon ve hidrofobisite gibi klasik virulens faktörleri ile ilgili olmadığı, bu konuda daha çok ekstraselüler ürünlerin önemli olduğu ileri sürülmüştür (Romalde and Toranzo, 1993; Fernandez et al...,2002; Secades and Guijarro, 1999). Yavru gökkuşaağı alabalıkları üzerinde farklı *Yersinia ruckeri* suşları kullanılarak yapılan bir çalışmada (Romalde and Toranzo, 1993), bakterinin yavru balıklar için toksik etkili ekstraselüler ürünlere sahip olduğu bildirilmiştir. Bu ekstraselüler ürünlerin kazeinaz, jelatinaz, amilaz, lipaz, fosfolipaz aktivite gösterdiği ve esculini hidrolize ettiği belirlenmiştir. Bu ürünlerin trout, salmon, koyun ve insan eritrositlerine hemolitik etkili olduğu, intraperitoneal inokulasyondan sonra 6-36 saat içinde balıkları öldürdüğü saptanmıştır. Ayrıca tüm *Yersinia ruckeri* suşlarındaki ekstraselüler ürünlerin termolabil fosfolipaz aktiviteli olduğu ve bu ürünlerin tavşan derisi içerisine inokule edildiğinde dermatoksik etkisi tespit edilmiştir.

Farklı orijinli *Yersinia ruckeri* suşlarından, kazeinolitik aktiviteli ekstraselüler proteaz tespit edilmiştir. Bu enzim üretiminin 28 C°'de inhibe olduğu ve regulasyonunun sıcaklığa bağlı olarak değiştii belirlenmiş ve toksik etkisi nedeniyle hastalığın patogenezisinde önemli bir role sahip olabileceği düşünülmüştür (Secades and Guijarro, 1999).

Patogeneze yönelik etkenin Serotip I suşu kullanılarak yapılan bir çalışmada (Furones et al...,1990); lipid yapıda olduğu düşünülen ve bu suşta varsayılan Isıya Duyarlı Faktör'ün, etkenin virulensinde etkili olabileceği, bu suş ile yapılan

intraperitoneal ve immersiyon şeklindeki uygulamalardan sonra meydana gelen ölümlerin de bu faktörle ilgili olduğu ileri sürülmüştür

1.6. BULGULAR

Yersiniozisin, balığın yaşı ve çevresel stres faktörlerinin etkisine bağlı olarak akut formdan kronik forma kadar değişen bir seyir gösterebileceği (Busch, 1982; Fuhrmann et al.,1983), akut enfeksiyonlarda mortalitenin % 30 - 70 oranında değişebileceği, kronik formda ise kayıpların daha az olabileceği, stres faktörlerinin etkisi altında büyük kayıpların meydana gelebileceği belirtilmiştir (Waltman and Shotts, 1984, Rodgers, 1991).

1.6.1. Makroskopik Bulgular

Enfeksiyonda klinik olarak; anoreksi, lokomotor ataksi, letarji (Giorgetti et al...,1985, Furones et al...,1993) ile su yüzüne yakın kısımlarda zayıf ve düzensiz yüzmelerin (Roberts, 1983; Frerichs et al...,1985) görüldüğü saptanmıştır. Uzun süren anoreksi sonucu balıklarda zayıflama ve yer yer deride depigmentasyonun olduğu gözlenmiştir (Giorgetti et al...,1985; Noga et al...,1998). Gözde, oküler kavitede ve iriste kanamaların görüldüğü, daha çok tek taraflı, hastalığın ilerlemesiyle her iki gözde de ekzoftalmusun şekillendiği, kornea boyunca oluşan yırtılmaların ise göz rupturları ile sonuçlandığı bildirilmiştir (Ewing et al...,1978; Busch, 1982).

Yersinia ruckeri enfeksiyonunda ağız boşluğu ve etrafı, operkulum, gözler ve anüs çevresi ile yüzgeç tabanlarında gözlenen kanamaların hastalık için spesifik olabileceği vurgulanmıştır (Rucker, 1966; Busch and Lingg, 1975; Vuilaume et al...,1987; Danley et al...,1999). Yersiniozise dair birçok araştırmada tanımlanan kanamalar; karın bölgesinde subkutan (Fuhrmann et al.,1983; Rintamaki et al..., 1993), solungaçlarda (Roberts, 1983; Bullock and Cipriano, 1990), karaciğer, böbrek, dalak, kalp, pankreas, yüzme kesesi, gonadlar, periton, adipoz doku, mesenteriyum ve kaslarda (Rintamaki et al...,1986; Hietala et al...,1995; Rigos and

Stevenson, 2001) görülmüştür. Bu hastalıkta kanamaların dışında karaciğer, böbrek ve dalakta büyüme (Roberts, 1983), böbrek ve dalağın renginde koyulaşma (Dalsgaard and Madsen, 2000), mide ve pilorik keselerde renksiz müköz, bağırsaklarda ise kanlı ve yer yer sarımtırak renkte müköz veya irinli bir eksudatın bulunduğu görülmüştür (Fuhrmann et al...,1983; Sparboe et al...,1986).

1.6.2. Mikroskopik Bulgular

Bu hastalığın mikroskopik bulguları arasında; böbrek, karaciğer, dalak, kalp, solungaç ve kaslarda hiperemi ve kanama ile dalak, böbrek ve karaciğerde fokal nekrozlar bildirilmiştir (Fuhrmann et al...,1983; Roberts, 1983; Dear, 1988; Berc et al...,1999; Soltani et al...,1999). Karaciğerde periportal alanlarda yer yer mononükleer hücre infiltrasyonları (Busch, 1982), böbrekte fokal intertubuler kanamalar görülmüştür (Busch, 1982; Roberts, 1983).

Ağız ve operkulum etrafı ile diğer organ ve dokularda kanamaların görülmediği, histopatolojik incelemede, böbrek, karaciğer ve dalakta nekrozların şekillendiği bildirilen atipik form ise Frerichs et al. (1985) tarafından Yersiniozis septisemisi olarak isimlendirilmiştir.

Yapılan deneysel çalışmalarda (Afonso et al. (1998a, 1998b, 1999), *Yersinia ruckeri*'nin intraperitoneal verilmesinden sonra toplanan peritoneal eksudat içerisinde nötrofil lökosit ve makrofajların (peritoneal makrofajların) sayılarında belirgin artışlar ortaya konulmuştur .

1.7. Tanı

Hasta balıkların böbrek, karaciğer ve dalak gibi iç organlarından TSA, BHIA, MAC (Sousa et al...,1994; Kawula et al...,1996; Petrie et al...,1996) gibi genel besi yerleri ile *Yersinia ruckeri*'nin selektif izolasyonu için geliştirilmiş olan Shotts-Waltman (Waltman and Shotts,1984) ve Riboz Ornitin Deoksikolat

Agar (Rodgers,1992) özel besi yerleri kullanılarak etkenin izolasyonu ve identifikasyonuna dayalı hastalığın kesin tanısının yapıldığı belirtilmiştir.

Shotts-Waltman özel besi yerinde Tween 80'i hidrolize eden ve sukrozu fermente etmeyen bakterinin, yeşil renkte bir koloni oluşturduğu ve 3-4 mm büyüklüğünde etraflarında meydana getirdikleri zon ile aynı klinik ve makroskopik bulguları gösteren *Aeromonas hydrophila* ve *Edwardsiella tarda* gibi diğer hastalık etkenlerinden kolayca ayrıldığı bildirilmiştir (Waltman and Shotts, 1984). Riboz Ornitin Deoksikolat Agar, *Yersinia ruckeri* suşlarının izolasyonlarında sukroz fermentasyonu ile Tween 80'in hidrolizinin önemli olmadığı ve besi yerinde suşların soluk sarı renkli koloniler oluşturduğu ortaya konulmuştur. Bu besi yerinin bağırsak ve su örneklerinden etkenin izolasyonunda önemli olduğu, fakat *Yersinia ruckeri*'nin bazı suşlarının izolasyonlarında yetersiz kaldığı belirlenmiştir (Rodgers, 1992).

Enfekte balıkların dalak ve böbreklerin parafin kesitlerinden yapılan peroksidaz-antiperoksidaz testleri (Janson et al...,1991), IFT (Ateşoğlu, 1999) ELİSA (Kubilay ve Timur, 1999) ve PCR (Altınok et al...,2001; Gibello et al...,1991) testleri de hastalığın tanısında kullanılmaktadır.

Canlı balıkların böbreklerinden alınan biopsi örneklerinden de *Yersinia ruckeri*'nin izolasyonunun yapılabildiği bildirilmiştir(Noga et al..., 1998).

Hastalıkta *Furunkulosis*, *Vibriosis* ve *Bakteriyel Hemorajik Septisemi* gibi bakteriyel septisemik hastalıklardakine benzer lezyonların meydana geldiği (Busch and Lingg, 1975; Noga et al...,1998), fakat ağız boşluğu ve etrafında, operkulum, dorsal ve ventral yüzgeç tabanları ile anüs ve gözler etrafında görülen kanamaların hastalık için spesifik olabileceği belirtilmiştir (Giorgetti et al...,1985; Vuilaum et al...,1987; Noga et al...,1998). Ayrıca balıklarda dalakta, böbrek ve karaciğerde oluşan fokal nekrozların hastalığın histopatolojik tanısında önemli olduğu düşünülmüştür (Busch, 1982 ; Ateşoğlu, 1999; Berc et al...,1999).

2. MATERİYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Bu çalışmada, 3,5-4 aylık, 10-12 cm büyüklüğünde ve $85 - 95 \pm 10$ gr ağırlığında 32 adeti deneme grubu ve 10 adeti kontrol grubu olmak üzere toplam 42 adet gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum,1792) kullanıldı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Deneme havuzlarının özellikleri

İncirliova ilçesinde bulunan havuzlar, 3.5 m x 2.75 m x 1 m ve 3.10 m x 2.50 m x 1 m boyutlarında, 5 tonluk su tankı ile desteklenmiş ve üstleri teneke çatı ile kaplıydı. Havuzlara artezyen kuyusundan (mekanik olarak havalandırılmış) 7 litre/dakika olacak şekilde su giriş ve çıkışı sağlandı. Havuzlar, alabalıklar yerleştirilmeden önce sönmemiş kireç ve % 10' luk formalin solüsyonu ile dezenfekte edildi (Erer, 2002).

2.2.2. Kullanılan suyun özellikleri

Suyun mikrobiyolojik ve kimyasal analizleri ADÜ. Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda; sudaki çözünmüş oksijen miktarı Aydın DSİ Bölge Müdürlüğü Laboratuvarı' nda yapıldı. Bu analizler sonucunda, su içindeki çözünmüş oksijen miktarı 7,5-7,9 gr/ lt, sertlik derecesi 23,2 fransız sertlik derecesi, pH'ı 7,5, suyun sıcaklığı ise $19 - 20 \pm 0,5$ C° de belirlendi. Mikrobiyolojik analizler sonucunda herhangi bir patojen bakteri izole edilmedi.

2.2.3. Balıkların temini

Denemede kullanılan balıklar, Bağcı Balık Gıda ve Enerji Üretimi San. Tic. A.Ş. alabalık işletmesinden (Beyovası Köyü, Köyceğiz / MUĞLA), oksijen takviyeli taşıma tankları ile deneme havuzlarına getirildi. Balıklar deneme ve kontrol grubu olarak iki havuza ayrıldı ve ilk gün ortam değişikliği nedeniyle yemleme yapılmadı. Daha sonraki günlerde Bağcı Su Ürünleri A.Ş.'e ait 2 numaralı pelet yem ile her gün yemleme yapıldı.

2.2.4. Deneysel inokulasyon

Deneysel inokulasyondan önce, balıkların ortama adapte olmaları amacı ile 28 gün beklendi. Çalışmada ADÜ. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında hazırlanan ve Danimarka'dan temin edilen *Yersinia ruckeri* Serotip I (R0072) suşu kullanıldı.

İnokulasyon işleminden önce, deneme ve kontrol grubu balıklar plastik kaplardaki su içerisinde % 0.25' lik fenoksietanol ile anesteziye alındı (Özer et al...,1985; Quentel et Aldrin,1986; Dunier,1986). Daha sonra deneme grubu balıklara insülin enjektörleri ile 3×10^6 cfu/ml olacak şekilde 0,1 ml bakteri inokulatu, kontrol grubuna ise aynı dozda serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi (Kubilay ve Timur...,1999; Danley et al...,1999). Enjeksiyon işleminden sonraki 4. günde yapılan mikrobiyolojik incelemeler ile deneme grubu balıklarda *Yersinia ruckeri* enfeksiyonunun olduğu teyit edildi. Kontrol grubu balıklardan yapılan izolasyonlarda ise herhangi bir patojen bakteriye rastlanmadı.

2.2. Histopatolojik inceleme

Ölen veya öldürülen balıkların sistematik nekropsileri yapıldıktan sonra tüm organlarından alınan parçalar % 10' luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi. Alınan doku örnekleri bilinen yöntemlerle takip edildikten sonra sert parafinde bloklandı. Daha sonra bu bloklardan Leica RM - 2135 mikrotomda 5 µ

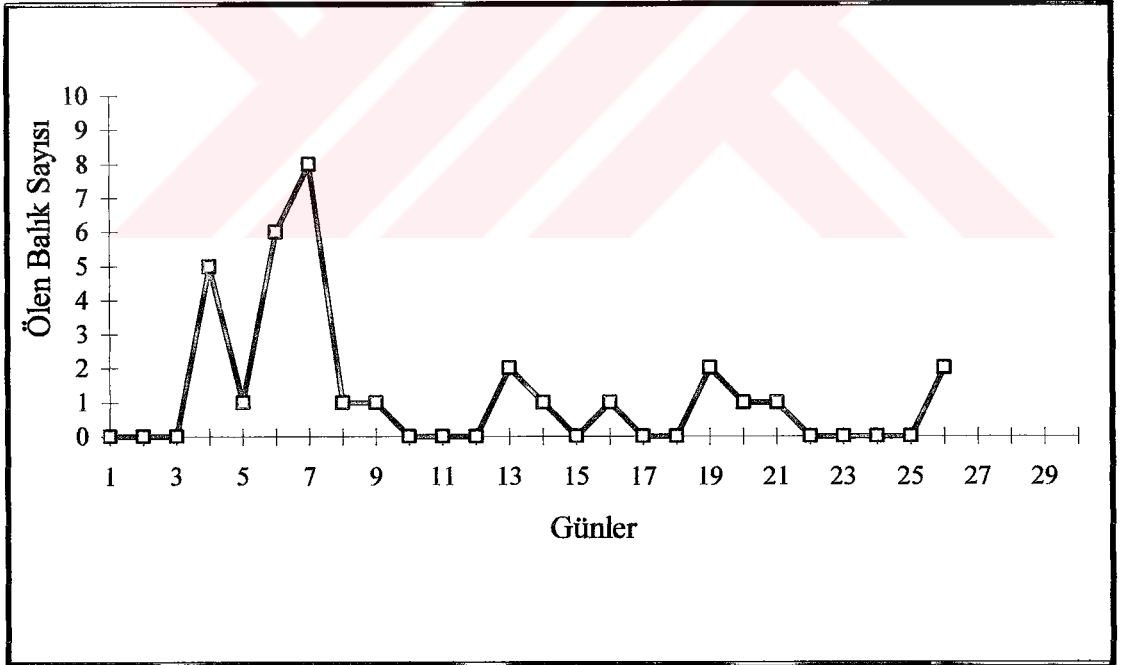
kalınlığında doku kesitleri alındı. Bu kesitlerin tamamı Hematoksilen–Eozin (HE), gerekli görülenler ise retikulum fibrilleri için Gomori ve, bakteri için Brown-Brenn boyama tekniği ile (Luna, 1968) yağ boyası için parafin kesitlerden modifiye McManus metoduna göre Sudan Black B ile boyanarak (Culling et al...,1985) Olympus B X 51 ışık mikroskopunda incelendi. Uygun görülen histopatolojik bulgular ışık mikroskopuna bağlı Olympus C-5050 dijital fotoğraf makinesi ile bilgisayar ortamına aktarıldı



3. BULGULAR

Bu araştırma, 32 adeti deneme grubu ve 10 adeti kontrol grubu olmak üzere toplam 42 adet gökkuşuğu alabalığı üzerinde yürütüldü. İntraperitoneal enjeksiyonu takiben ölümler 4. günde başladı, 7. günde ise en yüksek seviyesine ulaştı. Sekizinci ve 9. günlerindeki ölümden sonra, 13. güne kadar kayıp görülmedi ve bu güne kadar ölen balıklar (toplam 22 balık) akut form, 13. günden başlayan ve 21. güne kadar ölen balıklar ise kronik formda (toplam 10 balık) değerlendirildi. Yirmibirinci günden sonra kalan iki adet balık ise 26. güne kadar beklendikten sonra öldürüldü (Tablo 1).

Kontrol grubunda bulunan 10 balık ise deneme grubundaki ölümlere eş zamanlı olarak öldürüldü ve karşılaştırmalı olarak incelendi.



Tablo 1. Deneme grubunda ölen balıkların ölüm günleri ve sayıları

3.1. Makroskobik Bulgular

Akut form: Klinik olarak; balıkların hareketlerinin azaldığı, su yüzeyine yakın yüzdükleri ve ağızlarını sık sık açıp kapattıkları görüldü.

Nekropside; anüs etrafında, dorsal-, ventral- ve anal yüzgeçlerin taban kısımlarında (Şekil 1), solungaçlarda ve gözlerde kanamalar dikkati çekti. Sadece bir balıkta ise sağ gözde ekzoftalmus gözlemlendi. Karaciğer (Şekil 2) ve dalakta (Şekil 2, 4) büyüme gözlemlendi. Karın boşluğu açıldığında, peteşiyel kanamalar yaygın olarak, hava kesesi (Şekil 3), karaciğer, mezenteriyum, daha az olarak da mide ve kaslarda görüldü. Mide ve pilorik keseler genelde şeffaf, bazen de kanlı bir içerikle doluydu. Bu kanlı içeriğe bağırsaklarda mide ve pilorise göre daha sıklıkla rastlandı (Şekil 4).

Uygulamadan sonra iki balıkta ise enjeksiyon yerinde yuvarlak yaklaşık 2-4 mm çapında ülserlerin oluştuğu görüldü.

Kronik form: Bu formdaki balıklarda hareketlerde azalma, özellikle yemleme sırasında yeme karşı isteksizlik belirgindi. Agoni halinde olan balıkların yüzeye ve havuz kenarlarına yakın yüzdükleri görüldü.

Nekropside; balıkların bazılarında sırt derisinde, boylu boyunca renkte açılmalar, bazılarında da koyulaşmalar gözlemlendi. Gözlerde az sayıda kanama ve üç olguda unilateral ekzoftalmus görüldü. Solungaçlar soluk renkli ve bol miktarda mukoid salgı ile kaplıydı.

Karaciğerler hafif şişkin, pembeden, sarı-griye kadar değişen renkteydi (Şekil 5) Bu karaciğerlerle birlikte birçok olguda safra keselerinin dolgunluğu dikkat çekiciydi. Kronik formdaki balıkların böbrek ve dalaklarının kontrol grubu balıklarınkine oranla küçük oldukları ve renklerinin koyulaştıkları gözlemlendi. Mide, pilorik kese ve bağırsaklarda sarımsak renkli ve koyu kıvamlı içerik dışında bir bulguya rastlanmadı.

3.2. Mikroskopik Bulgular

Akut form: Akut formun şekillendiği balıklarda, gözdeki histopatolojik bulgular kanama (Şekil 6) ve hiperemiden ibaretti.

Solungaçlarda yaygın olarak ilk dikkati çeken bulgu primer lamellerde hiperemi ile sekonder lamellerdeki ödemler oldu (Şekil 7). Bu ödemin ilerlemiş şeklinde ise epitellerde dökülmeler gözlemlendi. Sekonder lamellerin genişlemiş olan kapillerleri bazen eritrositlerle dolu bazen de boşluklu zincir halkaları şeklinde idi. Hem primer hem de sekonder lamellerde ve solungaç kemerlerindeki kanamalar da yoğun şekilde dikkati çekti (Şekil 8). Bu bulguların yanı sıra primer lameller arasında siliatalı parazit kesiti (iki balık) ile sekonder lamellerin kapillerlerinde (birer balık) tromboz-telangiyektazi ve interlameller epitellerde hiperplaziye rastlandı.

Kalpde, akut formda ölen balıklarda daha çok ventriküldeki endotelial makrofajların aktive oldukları bazı olgularda da sayıca arttıkları gözlemlendi (Şekil 9). Ayrıca bu formda dört balıkta perimizyum da ödem dikkati çekti. Üç balıkta belirlenen perikarditisde, mononükleer hücre infiltrasyonu ve az miktarda fibrin gözlemlendi. Bu kesitler Brown-Brenn tekniğine göre boyandığında bakteriye rastlanmadı.

Karaciğerde tüm olgularda vasküler değişiklikler ön plandaydı. En çok hiperemi daha az oranda da kanamalar görüldü. Distrofik değişiklikler sadece birkaç olgudaki akut hücre şişkinliği ve bir olgudaki hafif yağlanmadan ibaretti. Sadece bir balıkta ise perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi.

Böbreklerde tubuluslarda dikkati çeken önemli bulgulara rastlanmadı. Birkaç olguda dejenerasyona bağlı tubulus epitellerinde şişkinlik ve lumenlerde daralma, proksimal tubuluslarda normalde kontrol grubunda da görülen koyu- eozinofilik hiyalin damlalarında artış saptandı. Dört balıkta ise glomeruluslarda hücresel artış görüldü. Deneme gruplarında, kontrol gruplarına göre hemopoetik dokunun lenfoid hücrelerinde azalma vardı. Bu hücrelerdeki azalmanın yanında, özellikle böbreklerin kaudalinde iri, yuvarlak, makrofaj benzeri mononükleer hücre proliferasyonları

hemen hemen tüm akut olgularda saptandı (Şekil 10). Ayrıca böbreklerden de yapılan Brown-Brenn boyamada da bakteriye rastlanmadı.

Makroskopik olarak normalin birkaç katı büyük görülen dalakların mikroskopik olarak, tamamının kontrol gruplarına göre daha kanlı oldukları tespit edildi. Bu organda dikkati çeken ve akut formdaki balıkların yarısında görülen en önemli bulgu lenfoid dokudaki fokal nekrozlardı. Tüm dalak dokusuna yeknesak dağılmış haldeki nekroz alanlarında bol miktarda karyoreksis de gözlemlendi (Şekil 11).

Pilorik kese ile bağırsaklarda submukozada hiperemi ve kanama (Şekil 12) ile birlikte yer yer epitel tabakada dökülmeler görüldü. Aynı lezyonlara daha az oranda midelerde de rastlandı.

Yedi olguda pankreasın ekzokrin bölümünde dejeneratif değişiklikler seçildi. Bu dokuda bulunan adenoid yapılar bozulmuş, asiner hücrelerin bazıları zimojen granüllerini kaybetmiş, bazofilik sitoplazmalı ve hiperkromatik çekirdekliydi. Aynı kesitlerde pankreasın ve yağ dokusunun bulunduğu mezenteriyumda hiperemi ve kanamalar görüldü

Ovaryum kesitlerinde sıklıkla hiperemi, sadece dört olguda ise intersitisyumda nötrofil lökosit infiltrasyonu belirlendi (Şekil 13).

Kronik form: Hastalığın kronik formunda, akut forma göre kanamalar daha az şekillenmişti. Solungaçlarda akut formda görülen sekonder lamellerde ödem ve epitellerde dökülmelere bu formda daha az rastlandı. Akut formdan farklı olarak solungaçlarda interlameller epitel hücre hiperplazilerine bağlı kalınlaşmalar dikkat çekiciydi.

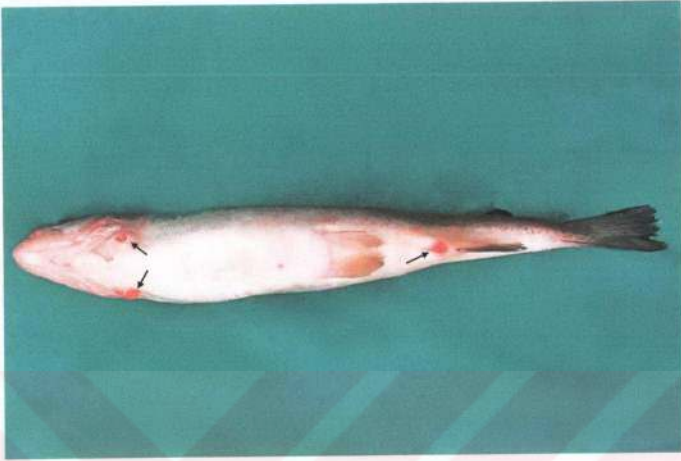
Karaciğerde, hepatositlerde değişen derecelerde yağlanma görüldü (Şekil 14). Hafif olgularda küçük damlalar halinde görülen yağ birikimlerinin, şiddetli olgularda hepatositlerin sitoplazmalarını tamamen doldurduğu ve yer yer sinuzoidlerin kaybolduğu gözlemlendi. Sudan Black B ile yapılan boyama ile de yağlanma teyit edildi (Şekil 15). Yağlanma dışında iki olguda hepatositlerde akut hücre şişkinliği, dört

olguda ise safra kanalları ve vena centralis'ler çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonları saptandı.

Böbreklerde nefronlarda bir değişiklik izlenmezken, hemapoetik dokuda beş olguda yoğun mononükleer hücre infiltrasyonları (Şekil 16) görüldü. Çok sayıda görülen bu hücreler, iri, çentikli çekirdekli ve az sitoplazmalıydı. Dalakta ise akut formun şekillendiği balıklarda görülen nekrozların bu formda oluşmadığı dikkati çekti.

Yukarıda belirtilen organlar dışında kalp, mide, pilorik kese, bağırsak, pankreas ve hava kesesinin incelenen kesitlerinde dikkat çekici bulgular belirlenemedi.

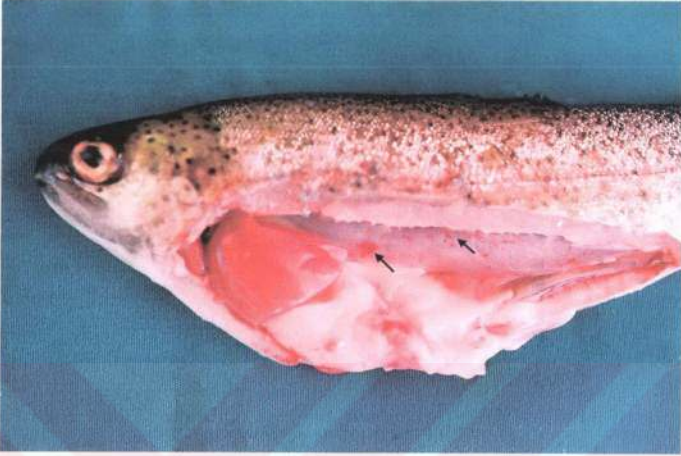




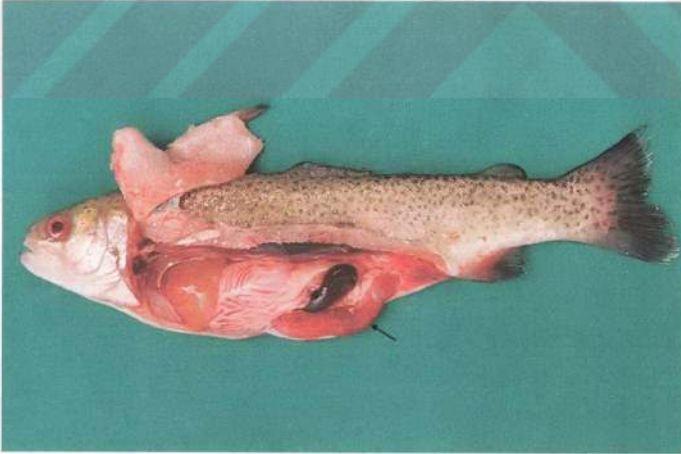
Şekil 1. Pektoral yüzgeç tabanlarında ve anüs çevresinde kanama (oklar).



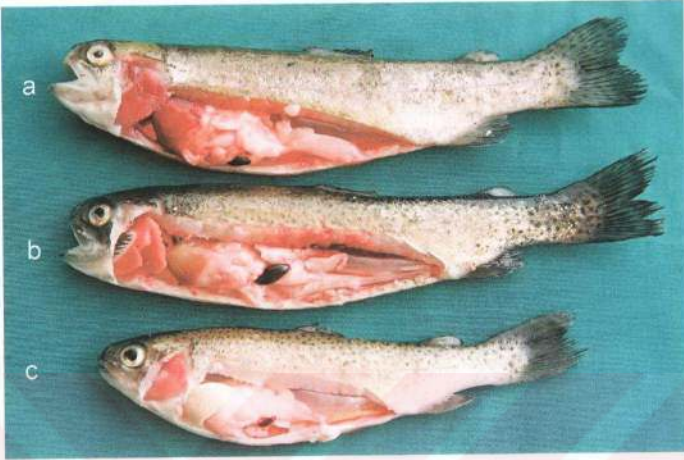
Şekil 2. Karaciğer ve dalakta büyüme.



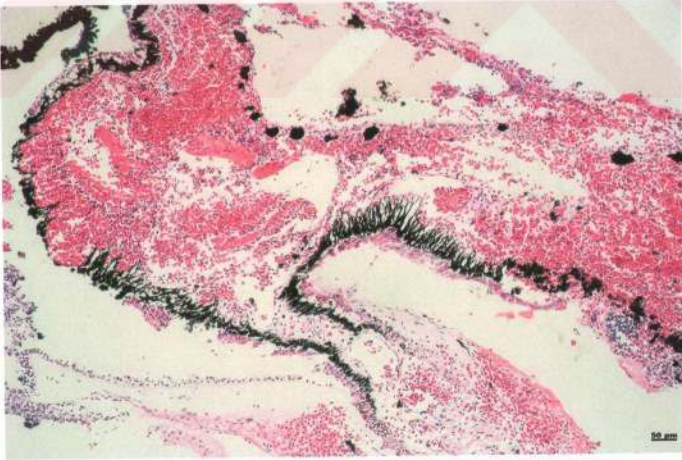
Şekil 3. Hava kesesinde peteşivel kanama (oklar).



Şekil 4. Gözde, pilorik kese ve bağırsakta kanama (ok) ve dalakta büyüme.



Şekil 5. Normal karaciğer (a). Karaciğerlerde sarımsı (a) ve gri (b) renk değişiklikleri



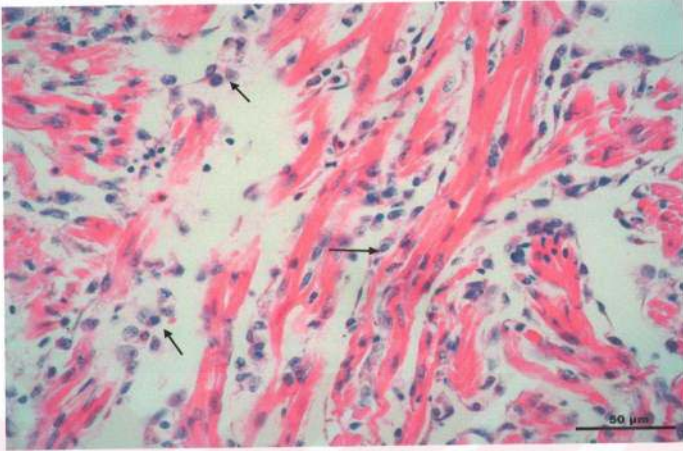
Şekil 6. Gözde kanama. HE



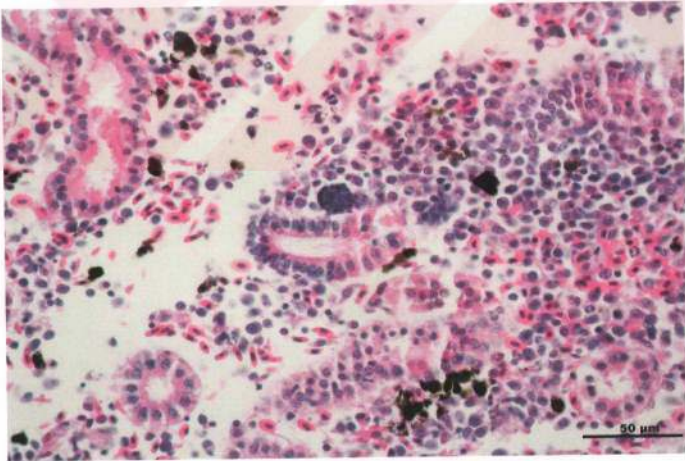
Şekil 7. Sekunder lamellerde ödem (oklar). HE.



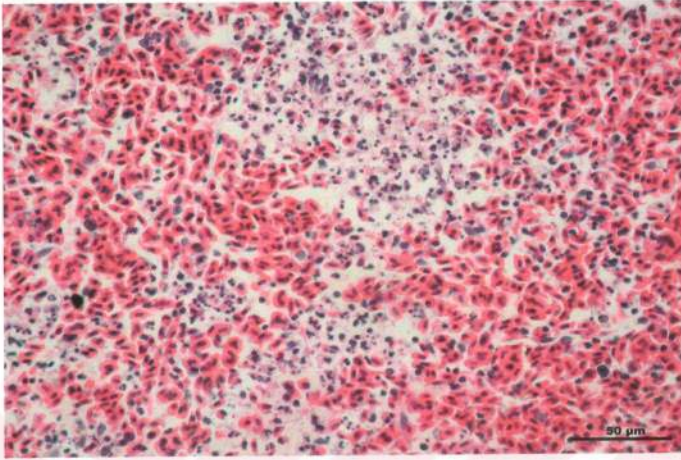
Şekil 8. Primer lamellerde kanama ve hiperemi. HE.



Şekil 9. Kalpte ventrikülüs endotelyal makrofajlarda aktivasyon ve proliferasyon (oklar). HE.



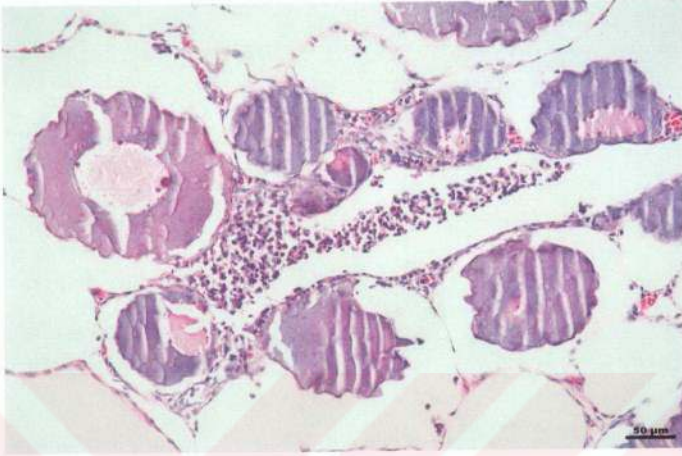
Şekil 10. Böbrekte hemopoetik dokusunda kanama ve makrofaj benzeri mononükleer hücre proliferasyonu. HE.



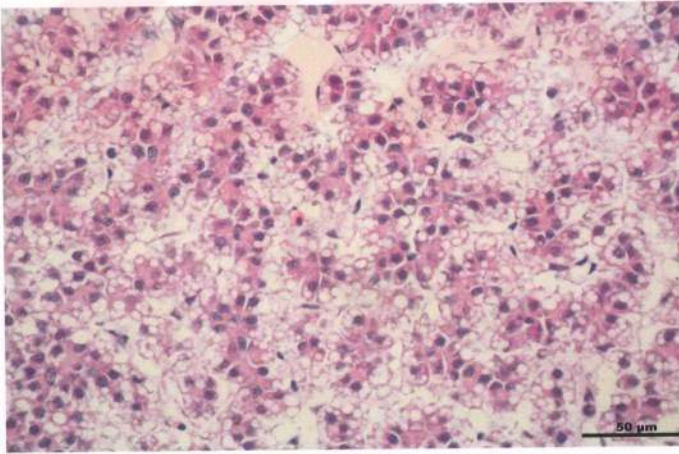
Şekil 11. Dalakta fokal nekrozlar. HE.



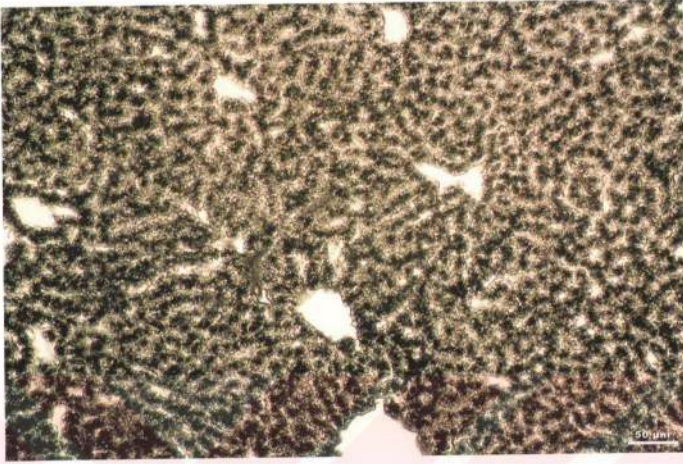
Şekil 12. Pilorik kesede villuslarda kanama. HE.



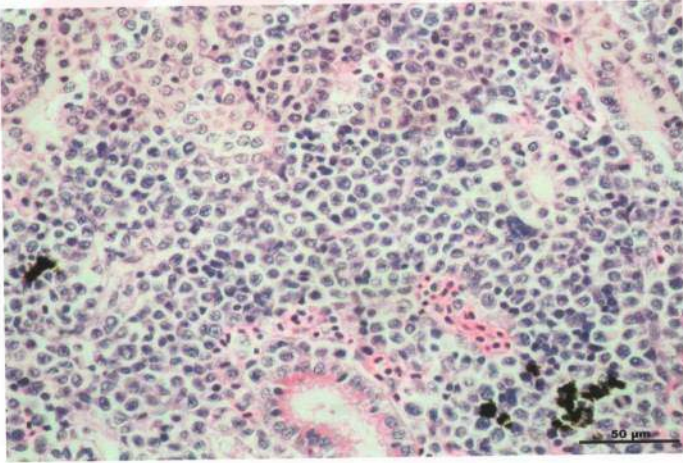
Şekil 13. Ovaryumda interstisyel nötrofil lökosit infiltrasyonu. HE.



Şekil 14. Karaciğerde diffüz yağlanma (Şekil 5 – c' deki karaciğerin mikroskopik görünümü). HE.



Şekil 15. Karaciğerde diffuz yağlanma. Sudan Black B.



Şekil 16. Böbrekte çok sayıda iri, çentikli çekirdekli mononükleer hücre infiltrasyonu. HE.

4. TARTIŞMA

Enfeksiyonda kullanılan *Yersinia ruckeri* serotip I suşunun, optimum inkubasyon sıcaklığının 22-25 C° ler arasında değiştiği (Ewing et al...,1978; Rintamaki et al...,1986), ayrıca bakterinin elektronmikroskopik incelemelerinde 20-25 C° lerde flagellalı ve hareketli bir yapıya sahip olması nedeniyle de hastalığın meydana geldiği etkili olan su sıcaklığının 15-20 C° ler arasında olduğu belirtilmiş (Rodgers, 1992; Danley et al...,1999), bu araştırmada kullanılan su sıcaklığı da 19-20 ± 0,5 C° olup, bakterinin etkili olduğu sıcaklık sınırları içerisinde yer almıştır.

Yersinia ruckeri ile yapılan deneysel çalışmalarda hem immersiyon (Bruno and Munro, 1989; Altınok et.al...,2001) hem de intraperitoneal (Altun ve Diler, 1999; Kubilay ve Timur, 1999; Danley et al...,1999; Hietala et al...,1995) uygulamaların yapıldığı bildirilmiştir. Bu çalışmada daha yaygın bir yol olarak tercih edildiği dikkate alınarak inokulasyonlar intraperitoneal olarak yapılmıştır.

Hastalıkta mortalitenin; enfeksiyonun balık popülasyonlarında ilk defa yakalanma durumuna, stres faktörlerinin etkisine, balıkların yaş ve büyüklüklerine bağlı olarak 5-10 gün arasında değiştiği, ancak önceden *Yersinia ruckeri* görülen veya latent enfeksiyonun bulunduğu popülasyonlarda ise ölümlerin 3-5 gün içinde de görülebildiği bildirilmiştir (Busch, 1982; Bullock and Cipriano, 1990). Gökkuşaklı alabalıklarında yapılan deneysel çalışmada (Busch and Lingg, 1975) *Yersinia ruckeri*'nin intraperitoneal ve oral uygulamalarından sonra; intraperitoneal uygulamada ölümlerin 6. günde başladığı, 9. günde maksimum seviyeye ulaştığı, oral yolla verildiğinde ise ölümlerin 7. günde başladığı, 15. günden sonrada azaldığı gözlenmiştir. Bakterinin antikor üretiminin saptanması için yapılan deneysel çalışmada da (Ateşoğlu, 1999) balıklarda ölümlerin intraperitoneal enjeksiyondan 3 gün sonra başladığı ve 9 gün sonra da görülmediği bildirilmiştir. Bu çalışmada da literatürlerle (Busch and Lingg, 1975; Ateşoğlu, 1999) uyumlu olarak ilk ölümler 4. günde görülmeye başlamış ve 6 – 8. günler arasında en yüksek seviyeye ulaşmıştır.

Çalışmada enfeksiyonun akut formunda, balıklarda anoreksi, su yüzüne yakın yüzme, ağızlarını sık sık açıp kapatma ve hareketlerinde yavaşlama gözlenmiştir. Yersiniozis ile ilgili benzer klinik semptomlar birçok araştırmacı (Roberts, 1983; Frerichs et al...,1985; Roberts, 1985; Soltani et al...,1999) tarafından da saptanmıştır. Ayrıca Giorgetti et al.(1985) ise bu semptomlara ilaveten balıklarda lokomotor ataksilerin de görüldüğünü bildirmiş, bu çalışmada ise bu yönde bir semptom izlenmemiştir.

Deneyisel çalışmaların çoğunda enfeksiyonun seyrinde zamana göre akut ve kronik form olmak üzere bir ayırım yapılmamıştır. Bu çalışmada ise, süre ile birlikte makroskopik ve mikroskopik bulgular dikkate alınarak akut ve kronik formda değerlendirilmiş ve tartışılmıştır.

Akut epizootilerde, ağız boşluğunda, ağız-, göz ve anus çevresinde, operkulumda, yüzgeçlerin tabanında, karın bölgesinde görülen subkutan kanamalar en önemli makroskopik bulgular olarak ifade edilmektedir (Busch and Lingg, 1975; Fuhrmann et al...,1983; Vuillaume et al...,1987; Bullock and Cipriano,1990; Danley, 1998; Austin et al...,2003). Bu çalışmada ise kanamalar daha çok yüzgeç tabanlarında, anüs ve gözler çevresinde görülmüş, karın bölgesi ve operkulumda ise görülmemiştir. Ayrıca hastalık için önemli bir bulgu sayılan, hatta hastalığa adını veren ağız boşluğu ve çevresindeki kanamalara rastlanmamış olması dikkati çekmiştir. Frerich et al.(1985) da gökkuşağı alabalıklarında *Yersinia ruckeri*'nin oluşturduğu atipik enfeksiyonda ağız boşluğu ve çevresinde, operkulumda kanamaların görülmediğini, Rigos and Stevenson (2001) da kanamaların sadece yüzgeç tabanlarında bulunduğunu belirtirken, Robert (1985) ise bu hastalıkta kanamanın şekillenmeyebileceğini ileri sürmüştür.

Hastalığın akut formunda balıklarda herhangi bir renk değişikliğine rastlanmazken kronik formda deride açılmalar ile beraber koyulaşmalar görülmüş, bu bulgu *Yersinia ruckeri* enfeksiyonunda akut- ve kronik form ayırımı yapılmaksızın birçok araştırmacı tarafından da (Roberts, 1983; Valtonen et al...,1992; Soltani et al..., 1999) belirtilmiştir.

Yersiniozisde sırt bölgesinde görülen, vertebralara kadar ilerlediği belirtilen (Petrie et al...,1996 ve Rintamaki et al...,1986) derin deri ülserine bazı araştırmacıların (Roberts, 1983; Fuhrmann et al...,1983; Vuilaume et al...,1987) sonuçlarına paralel olarak bu çalışmada da rastlanmamıştır. Romalde et al. (1991) tarafından da enjeksiyon bölgesinde küçük ülserlerin şekillendiği belirtilmiştir. Benzeri olarak bu çalışmada da iki balıkta enjeksiyon yerinde ülserler gözlenmiş ve bunların maniplasyon ile ilgili oldukları düşünülmüştür.

Kimi araştırmacılar tarafından (Busch and Lingg, 1975, Giorgetti et al...,1985, Rigos and Stevenson, 2001), hastalıkta ekzoftalmusun şekillendiği bildirilmiştir. Genel olarak balıkların pek çok bakteriyal ve viral hastalıklarında ekzoftalmusun meydana geldiği (Ribelin and Migaki, 1975; Arda, 2002; Erer 2002) bununda gözde şekillenen kanama ve ödemle ilişkili olarak göz içi basıncının artması sonucu zamanla gözde yırtılmalara neden olduğu ileri sürülmüştür (Busch, 1982, Roberts, 1978). Sunulan çalışmada kronik formda sadece üç balıkta unilateral ekzoftalmus belirlenmiş, ancak bu semptomla birlikte tanımlanan göz rupturlarına rastlanmamıştır.

Hastalıkta asitesin şekillenmesi konusunda farklı görüşler söz konusudur. Bazı araştırmacılar (Roberts, 1983; Vuillaume et al...,1987; Rodgers, 1992; Petrie et al...,1996) asitesin meydana geldiğini bildirirlerken, bazıları ise (Sparboe et al...,1986; Danley et al...,1999; Austin et al...,2003) şekillenmediğini belirtmişlerdir. Bu son görüşe uygun olarak gerek akut gerek kronik formda balıklarda asites görülmemiştir.

Araştırmada hastalığın akut formunda balıkların solungaçlarında görülen hiperemi ve kanamalar, birçok araştırmacı (Busch and Lingg, 1975 ve Busch, 1982 Rigos and Stevenson, 2001) tarafından belirtilmiş; mikroskopik olarak Bush (1982)' un da bildirdiği gibi, akut formda hiperemi, kanama ve sekonder lamellerdeki ödemlere sıkça, kronik formda ise birkaç olguda rastlanmıştır. Ayrıca literatür bilgilerinden farklı olarak daha çok akut formda olmak üzere sekonder lamellerin epitellerinde dökülmeler gözlenmiştir. Sekunder lamellerin epitellerindeki

bu dökülmeler ödemle ilişkilendirilmiş ve solungaçlardaki bu yaygın ödem ve dökülmeler ölümlere neden olabilecek faktör olarak değerlendirilmiştir. Hastalığın kronik formunda balıklarda görülen interlameller epitel hiperplazisi ile ilgili literatürde herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Aynı bulguların eş zamanlı kontrol gruplarında da görüldüğü göz önüne alındığında epitel hiperplazisinin, klasik bilgilerle (Ribelin and Migaki, 1978; Roberts, 1978) uyumlu olarak sudaki olumsuzluklardan kaynaklanabileceği ve hastalıkla ilgili olmadığı kanısına varılmıştır.

Bu çalışmada nekropsi bulguları içerisinde özellikle akut formunda ölen balıkların parankim organlarında ve serozalarında görülen kanamalar birçok araştırmada da (Roberts, 1983; Sparboe et al...,1986; Danley et al...,1999; Rintamaki et al...,1986; Austin et al...,2003; Dalsgard and Madsen...,2001; Giergotti et al...,1985; Rodgers, 1992; Hietala et al...,1995) ortak bulgu olarak tanımlanmış, hastalığın kronik formunda ise Bullock and Cipriano (1990) ve Busch (1982)' un da belirttikleri gibi kanamalara daha az rastlanmıştır. Yapılan deneysel çalışmanın daha çok akut formunda olmak üzere balıklarda görülen hiperemi ve kanamaların oluşumu konusunda açıklayıcı bir literatür bilgiye rastlanmamıştır. Ancak meydana gelen bu vasküler değişikliklerin *Yersinia ruckeri*'nin sahip olduğu ekstraselüler ürünlerle ilgili olabileceğini düşündürmektedir.

Karaciğerde, mikroskopik bulgular ile karşılaştırıldığında akut formda ölen balıklarda, makroskopik olarak gözlenen kırmızılığın mikroskopik olarak vasküler değişikliklerle, kronik formda ise gri-sarı renkte gözlenen renk değişikliğinin ise hepatositlerde diffuz olarak görülen yağ damlaları ile ilgili olduğu saptanmıştır. Bu araştırmada toplam dört karaciğerde gözlenen ve sadece Busch (1982) tarafından bildirilen mononükleer hücre infiltrasyonları, *Yersinia ruckeri*'nin nonpurulent hepatitis oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Bu hastalığın mikroskopik bulguları arasında; böbrek, karaciğer ve dalakta bildirilen (Fuhrmann et al...,1983; Roberts, 1983; Dear, 1988; Berc et al...,1999; Soltani et al...,1999) fokal nekrozlara çalışmamızda sadece akut formunda ölen

balıkların dalaklarında rastlanmıştır. Böbreklerde akut ve kronik formlarda rastlanan, ancak morfolojik farklılıklar gösteren mononükleer hücreler bu araştırmanın önemli bulgularından birisi olarak değerlendirilmiş, ancak bu yönde bir bilgiye rastlanmamıştır. Akut formda makrofaja benzetilen hücrelerin bakteri varlığı ile ilgili olabileceği düşünülerek, kesitler Brown – Brenn ile, kronik formda görülen hücreler ise retikulum hücresi şüphesiyle Gomori ile boyanmış ancak pozitif sonuç alınmamıştır.

Kalp ventriküllerinin endotelial makrofajlardaki aktivasyon (Roberts,1978), perikarditis, pankreaslardaki distrofik değişiklikler, glomeruluslardaki hücre artışı, safra kanalları ve vena centralis'lerin çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonları gibi önemli fakat yaygın olmayan yangısel ve distrofik değişikliklerin hastalığa karşı oluşan bireysel duyarlılıklarla ilgili olabileceğini düşündürmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada bölgemizdeki alabalık işletmelerinde önemli bir hastalık olan yersiniozis deneysel olarak çalışılmış ve ülkemizde bu hastalığın patolojik bulguları ilk kez tanımlanmıştır. Bu bulgular içerisinde elde edilen yabancı kaynaklarda da bulunmayan birçok histopatolojik bulgu saptanmıştır.

Sunulan çalışma, Anabilim Dalımızda balık hastalıkları üzerine gelecekte planlanan araştırmalara ışık tutması açısından ilk olma özelliğindedir. Diğer hayvan hastalıklarının teşhisinde olduğu gibi balık hastalıklarının teşhisinde de histopatoloji, önemli bir metot olmasına karşın, henüz bu alanda değerini tam bulamamıştır. Bu güne kadar bölgemizde bulunan bir çok balık işletmelerinden Anabilim Dalımıza ulaşan hasta balıklarda, nekropsi ve histopatolojik bulgulara dayalı teşhisler yapılmıştır. Balık hastalıklarının teşhisinde mikrobiyoloji laboratuvarlarının yanında patoloji laboratuvarlarının da aktif ve yaygın olarak konuya yönelmesinin, giderek artan kültür balıkçılığında yararlı olacağı kanaatindeyiz.

ÖZET

Bu araştırmada 32 adeti deneme grubu, 10 adeti kontrol grubu olmak üzere toplam 42 adet, 85 - 95 ± 10 gr ağırlığında gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum,1792) kullanıldı. Deneme grubundaki balıklara 3x10⁶ cfu/ml *Yersinia ruckeri* içeren 0,1 ml' lik bakteri inokulumu, kontrol grubuna ise aynı dozda serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi. Uygulamadan sonra 4. ve 21. günler arasında ölen ya da öldürölen balıkların sistematik nekropsileri yapılarak makroskopik ve mikroskopik bulguları incelendi.

Akut formun şekillendiğı balıklarda makroskopik olarak, yüzgeçlerin tabanında, gözlerde, solungaçlarda ve anüsün çevresinde, hava kesesi, pilorik kese, karaciğer bağırsak ve mezenteriyumda hiperemi ve kanama ile karaciğer, dalak ve böbrekte büyüme gözlendi. Mikroskopik incelemede kanamalar dışında, solungaçların sekonder lamellerinde yaygın ödem, epitellerde dökölmeler, kalpte endotelial makrofajlarda aktivasyon, böbrekte lenfoid hücrelerde azalma, dalakta fokal nekrozlar belirlendi.

Kronik formunda makroskopik olarak, deride depigmentasyon, solungaçlarda solgunluk ve musinöz eksudat, karaciğerde sarı-griye varan renk değışiklikleri; mikroskopik olarak da solungaçlarda yer yer interlameller epitellerde hiperplazi, karaciğerde yağlanma ve vena centralis'ler çevresinde mononökleer hücre infiltrasyonu ile böbrekte lenfoid hücrelerde artışların meydana geldiğı dikkati çekti.

Yersinia ruckeri ile yapılan deneysel çalışmaların büyük çoğunluğunun bakteriyolojik incelemelere dayalı olduğı gözlenmiş, bu araştırma ile yurdumuzda ilk kez bu hastalığın patolojik bulguları kapsamlı olarak incelenmiştir.

SUMMARY

In this study, a total of 42 (10 control and 32 experimental) rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum,1792) (weight $85 - 95 \pm 10$ g) were used. *Yersinia ruckeri* at a concentration of 3×10^6 cfu/ml (0.1ml per fish) was intraperitoneally injected to experimental group, whilst control group was subjected to the same volume of sterile saline. After injection, between 4 and 21 days, dead or killed fish were necropsied, microscopical and macroscopical findings were investigated.

At the macroscopical examination, fish in the acut form of the disease showed hyperemia and haemorrhage, at the base of fins, eyes, around the rectum, liver, swim-bladder, pyloric caeca, intestine and mesenterium. Liver, spleen and kidney were enlarged. Microscopically, diffuse oedema and exfoliated epithelial cells as well as haemorrhage were described at the secondary lamellae. Activation of the endothelial macrophages was present in the heart. In addition, a reduction in the numbers of lymphoid cells of kidney and focal necrosis of spleen were observed.

In the chronic form, macroscopically, darkening or depigmentation in the skin, paled in the gills, yellow-grayish discoloration in the liver were seen. At the microscopical examination, there was hyperplasia of the interlameller cells in the gills. In liver, fat droplets in the hepatocytes and perivascular mononuclear cells infiltration of the vena centralis were detected. In the number of mononuclear cells in the haemopoietic tissue of the kidney were recognized.

It was reported that previous studies were generally based on bacteriological investigation of *Yersinia ruckeri*. However, in this study was firstly examined with extensive pathological findings in Turkey.

TEŞEKKÜR

Tezimin tüm aşamalarında bana destek olan, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Serap BİRİNCİOĞLU'na, laboratuvarımızdaki tüm imkanları kullanmama olanak sağlayan Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Hocam Prof. Dr. Nursal METİN'e, manevi desteklerinden dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Nihat TOPLU'ya ve Arş. Gör. Ahmet AYDOĞAN'a, içtenlikle teşekkür ederim.

Bu çalışmada ; Bağcı Balık Gıda ve Enerji Üretimi San Tic. A.Ş. yetkililerine ve çalışanlarına, Doç. Dr. Soner ALTUN'a Dr. Şükrü KIRKAN'a, Ahmet BAYRAKTAR' ve tüm emeği geçenlere sağladıkları destek nedeniyle de teşekkür ederim

KAYNAKLAR

1. AFONSO. A., OLIVERA. C., ELLIS. E. A., SILVA. T. M. 1999. Peroxidase activity as a measure of neutrophil populations in inflammatory peritoneal exudates of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). J Fish Dis. 22: 133 - 142
2. AFONSO. A., SILVA. J., LOUSADA. S., ELLIS. E. A., SILVA. T. M. 1998a. Uptake of neutrophils and neutrophilic components by macrophages in the inflamed peritoneal cavity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Shellfish Immun. 8: 319 - 338
3. AFONSO. A., LOUSADA. S., SILVA. J., SILVA. T. M., ELLIS. E. A. 1998b. Neutrophil and macrophage responses to inflammation in the peritoneal cavity of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A light and electron microscopic cytochemical study. Dis Aquat Organ. 34: 27-37
4. ALPBAZ. A. 1995. Pratik Alabalık Yetiştiriciliği. Ege Üniversitesi basımevi. İzmir.
5. ALTINOK. İ., GRIZZLE. M. J., LUI. Z. 2001. Detection of *Yersinia ruckeri* in rainbow trout blood by use of the polymerase chain reaction. Dis Aquat Organ. 44: 29 - 34
6. ALTINOK. İ., and J. M. GRIZZLE. 2001. Effects of salinity on *Yersinia ruckeri* infection of rainbow trout and brown trout. J Aquat Anim Health. 13: 334 - 339
7. ALTUN. S. ve Ö. DİLER. 1999. *Yersinia ruckeri* ile infekte edilmiş gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) hematolojik incelemeler. Turk J Vet Anim Sci. 23: 301 - 309
8. AMEND. F. D., JOHNSON. A. K., CROY. R. T., MCCARTHY. H. D. 1983. Some factors affecting the potency of *Yersinia ruckeri* bacterins. J Fish Dis. 6: 337 - 344.
9. ARDA. M., SEÇER. S., SARIEYYÜBOĞLU. M. 2002. Balık Hastalıkları. Medisan Yayın Serisi. Ankara. 60-62 s.
10. ATEŞOĞLU. A. 1999. Gökkuşağı alabalıklarından *Yersinia ruckeri* izolasyonu identifikasyonu ve dokularda indirekt floresan antikor testi ile antijen aranması. Pendik Vet Mikrobiyol Derg. 30 (2): 43 - 53

11. AUSTIN. B., GREEN. M., RODGERS. J. C. 1982. Morphological diversity among strains of *Yersinia ruckeri*. *Aquaculture*. 27: 73 - 78
12. AUSTIN.B. and N. CROSS 1998. Infection of pronephros cell cultures derived from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) with bacterial fish pathogens: a comparison with whole fish infectivity studies. *Method Cell Biol*. 19: 317 - 324
13. AUSTIN.B. 1999. The effects of pollution on fish health. *J Appl Microbiol*. 85: 234 - 242
14. AUSTIN. A. D., ROBERTSON.W. A. P., AUSTIN. B. 2003. Recovery of a new biogroup of *Yersinia ruckeri* from diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Syst Appl Microbiol*. 26: 127 - 131
15. BALOWS. A., TRUPER. G. H., DWORKIN. M., HARDER.W., HLEIFER. H. K. 1991. *The Prokaryotes*. 2nd. Edition.. NEWYORK, pp.2687 – 2689
16. BANGERT. R.L., WARD. A.C., STAUBER. E.H., CHO. B.R., WIDDERS. P.R. 1988. A survey of the aerobic bacteria in the feces of captive raptors. *Avian Dis*. 32(1):53-62.
17. BEREC. A., PETRINEC. Z., MATASIN. Z., KOZARIC. Z. 1999. *Yersinia ruckeri* septicemia in experimentally infected Carp (*Cyprinus caprio* L.) fingerlings. *Acta Vet Hunga*. 47 (2): 161 - 172
18. BRAGG. R. R. and M. M. HENTON. 1986. Isolation of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout in South Africa. *Bull.Eur.Ass.Fish Pathol*. 6: 5 - 7
19. BRUNO. W. D. and A. L. S. MUNRO. 1989. Immunity in Atlantic Salmon *salmo salar* L., fry following vaccination against *Yersinia ruckeri* and influence of body weight and Infectious Pancreatic Virus (IPNV) on the detection of carriers. 81: 205 - 211.
20. BULLOCK. G. L., SHOTTS. B. E., STARLIPER. C. 1981. Biochemical, serological and virulence studies with *Yersinia ruckeri*. *Procc.Fifth Ann.FHS/AFS Workshop*, Starkville, MS, pp: 53 - 54.
21. BULLOCK. L. G. and R. C. CIPRIANO. 1990. Enteric redmouth disease of Salmonids. *Fish and Wildlife Service*. U.S.

22. BUSCH. A. R. and A. J. LINGG. 1975. Establishment of an asymptomatic carrier state infection of enteric redmouth disease in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J Fish Res Board Can. 32 (12) : 2429 - 2432
23. BUSCH. A. R. 1982. Enteric red mouth disease (*Yersinia ruckeri*). Symposium international de Talloires 10-12 May.1982 Les Antigenes Des Micro-organismes Pathogens de Poissons. Collection Fondation Marcel Mereux, pp: 201- 224.
24. CIPRIANO. C. R. and J. B. PYLE. 1985. Development of a culture medium for determination of sorbitol utilization among strains of *Yersinia ruckeri*. Microbios Lett. 28: 79 - 82
25. COQUET. L., COSETTE. P., JENTER. A. G., BEUCHER. E., SAITER. M. J., JOUENNE. T. 2003. Adhesion of *Yersinia ruckeri* to fish farm materials: influence of cell and material surface properties. Colloid Surface B. 26: 373 – 378
26. CULLING. A. F., ALLISON. T. R., BARR. T. W. 1985. Cellular Pathology Technique. 4th Ed. Mid-County Press, London.
27. DALSGAARD. I. and L. MADSEN. 2000. Bacterial pathogens in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), reared at Danish freshwater farms. J Fish Dis. 23: 199 - 209
28. DANLEY. L. M., GOODWIN. E. A., KILIAN. S. H. 1999. Epizootics in farm-raised channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), caused by the enteric redmouth bacterium *Yersinia ruckeri*. J Fish Dis. 22: 451 - 456
29. DAVIES. L. R. and G. N. FRERICHS. 1989. Morphological and biochemical differences among isolates of *Yersinia ruckeri* obtained from wide geographical areas. J Fish Dis. 12: 357 - 365
30. DAVIES. L. R. 1990. O-Serotyping of *Yersinia ruckeri* with special emphasis on European isolates. Vet Microbiol. 22: 299 - 307
31. DAVIES. L. R. 1991a. Outer membrane protein profiles of *Yersinia ruckeri*. Vet Microbiol. 26: 125 – 140
32. DAVIES. L. R. 1991b. Clonal analysis of *Yersinia ruckeri* based on biotypes, serotypes and outer membrane protein-types. J Fish Dis. 14: 221 - 228
33. DEAR. G. 1988. *Yersinia ruckeri* isolated from Atlantic salmon Scotland. Bull.Eur.Ass.Fish Pathol. 8 (2): 18

34. DUNIER. C. M. 1986. Secondary response of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) to Dnp-Haemocyanin and *Yersinia ruckeri*. *Aquaculture*. 52: 81 - 86
35. ERER. H. 2002. Balık Hastalıkları 2. Baskı. Selçuk Üniversitesi Basımevi. Konya.
36. EWING. H. W., ROSS. J. A., BRENNER. J. D., FANNING. R. G. 1978. *Yersinia ruckeri* sp. nov., the Redmouth (RM) Bacterium. *Int J Syst Bacteriol*. 28 (1): 37 - 44
37. FERNANDEZ. L., SECADES. P., LOPEZ. R. J., MARQUEZ. I., GUIJARRO. A. J. 2002. Isolation and analysis of a protease gene with an ABC transport system in the fish pathogen *Yersinia ruckeri*: insertional mutagenesis and involvement in virulence. *Microbiology*. 148: 2233 - 2243
38. FRERICHS. N. G. and R. O. COLLINS. 1984. Enteric redmouth disease in Scotland. *Vet Rec*. 14: 45 - 47
39. FRERICHS. N. G., STEWART. A. J., COLLINS. O. 1985. Atypical infection of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, with *Yersinia ruckeri*. *J Fish Dis*. 8: 383 - 387
40. FUHRMANN. H., BÖHM. H. K., SCHLOTFELDT. J. H. 1983. An outbreak of enteric redmouth disease in West Germany. *J Fish Dis*. 6: 309 - 311
41. FURONES. D. M., GILPIN. J. M., ALDERMAN. J. D., MUNN. B. C. 1990. Virulence of *Yersinia ruckeri* serotype I strains is associated with a heat sensitive factor (HSF) in cell extracts. *FMS Microbiol Lett*. 66: 339 - 344
42. FURONES. D. M., GILPIN. L. M., MUNN. B. C. 1993. Culture media for the differentiation of isolates of *Yersinia ruckeri*, based on detection of a virulence factor. *J Bacteriol* 74: 360 - 366
43. GELDİAY.R. ve S. BALIK. 1999. Türkiyede Tatlısu Balıkları. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi. İzmir. III. Baskı.
44. GIBELLO. A., BLANCO. M. M., MORENO. A. M. CUTULI. T. M., DOMENECH. A., DOMINGUEZ. L., GARAYZABAL. F. J. 1999. Development of a PCR assay for detection of *Yersinia ruckeri* of inoculated and naturally infected trout. *Appl Environ Microb*. 65 (1): 346 - 350

45. GIORGETTI. G., CESCHIA. G., BOVO. G. 1985. First isolation of *Yersinia ruckeri* in farmed rainbow trout in Italy. *Fish and Shellfish Pathology*. Academic Pres London pp: 161 - 166
46. GOOD. M. C., THORBURN. A. M., STEVENSON. W. M. 2001. Host factors associated with the detection of *Aeromonas salmonicida* and *Yersinia ruckeri* in Ontario, Canada government fish hatcheries. *Prev Vet Med*. 49: 165 - 173
47. HIETALA. J., VALTONEN. T. E., AALTONEN. T. 1995. Experimental infection of brown trout, *Salmo trutta* L., using a Finnish *Yersinia ruckeri* isolate. *Aquaculture*. 136: 11 - 20
48. İNAL. T. 1992. Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü. Final Ofset. İstanbul. 345 - 350 s.
49. JANSON. E., HONGSLO. T., LINDERBERG. R., LJUNGBERG. O., SVENSSON. M. B. 1991. Detection of *Renibacterium salmoninarum* and *Yersinia ruckeri* by the peroxidase-antiperoxidase immunohistochemical technique in melanin-containing cells of fish tissues. *J Fish Dis*. 14: 689 - 692
50. KAWULA. H. T., LELIVEIT. J. M. ORNDORFF. E. P. 1996. Using a new inbred fish model and cultured fish tissue cells to study *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia ruckeri* pathogenesis. *Microb Pathogenesis*. 20: 119 - 125
51. KIRKAN. Ş., GÖKSOY. Ö. E., KAYA. O. 2000. Aydın bölgesinde gökkuşağı alabalıklarından *Yersinia ruckeri* izolasyonu. *Pendik Vet Mikrobiyol Derg*. 31 (2): 57: 23-30
52. KUBİLAY.A. ve G. TİMUR. 1999. *Yersinia ruckeri* bakterini ile immunize edilen gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) antikor üretiminin IFAT ve ELISA teknikleri ile saptanması. *Turk J Vet Anim SCI*. 25: 437 - 445
53. LLEWELLYN. L. C. 1980. A bacterium with similarities to the redmouth bacterium and *Serratia liquifaciens* causing mortalities in hatchery reared salmonids in Australia . *J Fish Dis*. 3: 29 - 39
54. LUNA.G.L. 1968. *Histologic Staining Methods of The Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd ed. Mcgraw Hill Book Company. U.S.

55. MCARDLE J.F. and C. D. MARTIN. 1985. Isolation of *Yersinia ruckeri* Type I (Hagerman strain) from Gold fish *Carassius auratus*. Bull.Eur.Ass.Fish Pathol. 5: 10 - 11
56. NOGA. J. E., LEVINE. F. J., TOWNSEND. K., BULLIS. A. R., CARLSON. P.C., CORBETT. T. W. 1998. Kidney biopsy: A nonlethal method for diagnosing *Yersinia ruckeri* infection (enteric redmouth disease) in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Am J Vet Res. 49 (3): 363 - 365
57. ÖZER. H., BEYTUT. E., ERBUCAN. S., EKİNGEN. G. 1995. Pathology in the viscera of scaly carp induced by some anaesthetics (Benzocaine, Chlorobutanol, Phenoxyethanol). Türk J Vet Anim Sci. 19 : 97 - 100
58. PETRIE. J., BRUNO. W. D., HASTINGS. S. T. 1996. Isolation of *Yersinia ruckeri* from wild Atlantic salmon, *Salmo salar*., In Scotland. Bull.Eur.Ass.Fish Pathol. 16 (3): 83 - 84
59. QUENTEL. C. and F. J. ALDRIN. 1986. Modifications sanguines consecutives alinoculation intraperitoneale de *Yersinia ruckeri* chez des truites arc-en-ciel, *Salmo gairdneri*, Catheterisees. Aquaculture. 53: 169 - 185
60. RAD. F. 1999. Türkiyede gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum. 1972) işletmelerinin teknik ve ekonomik analizi. Su Ürünleri Anabilim Dalı. Ankara. Doktora tezi.
61. RIBELIN. E. W. and G. MIGAKI. 1975. The pathology of Fish Fishes The Universty of Wisconsin Press. London.
62. RIGOS. G. and R. STEVENSON. 2001. The effect of antibiotic treatment on the establishment of persistent infection with *Yersinia ruckeri* serovar II in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture. 9: 247 - 253
63. RINTAMAKI. P., VALTONEN. T. E., FRERİCHS. N. G. 1986. Occurence of *Yersinia ruckeri* infection in farmed whitefish, *Coregonus peled* Gmelin and *Coregonus muksun* Pallas, and Atlantic salmon, *salar* L., in northern Finland. J Fish Dis. 9: 137 - 140
64. ROBERTS. J. R. 1978. Fish Patholgy. First ed. Bailliere T0indall. London.

65. ROBERTS. S. M. 1983. A report of an epizootic in hatchery reared rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, at an English trout farm, caused by *Yersinia ruckeri*. J Fish Dis. 6: 551 – 552
66. ROBERTS. S. M. 1985. Why ERM gives cause for concern. Fish Farmer. 2:27-33
- 67 . RODGERS. J. C. 1991. The usage of vaccination and antimicrobial agents for control of *Yersinia ruckeri*. J Fish Dis. 14: 291 - 301.
68. RODGERS. J. C. 1992. Development of a selective-differential medium for the isolation of *Yersinia ruckeri* and its application in epidomilogical studies. J Fish Dis. 15: 243 – 254
- 69 ROMALDE. L. J., CONCHAS. F. R., TORANZO. E. A. 1991. Evidence that *Yersinia ruckeri* possesses a high affinity iron uptake system. FEMS Microbiol Lett. 80: 121-126
70. ROMALDE. L. J. and A. E. TORANZO. 1993. Pathological activities of *Yersinia ruckeri*, the Enteric Red Mouth (ERM) bacterium. FMS Microbiol Lett. 112: 291 - 300
- 71 ROSS. A. J., RUCKER. R. R., EWING. W. 1966. Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Can. J Microbiol. 12: 763 - 770
72. RUCKER. R. R. 1966. Redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Bull. Off. Int. Epizot. 65: 825 - 830
73. SECADES. P. and J. A. GUIJARRO. 1999. Purification and characterization of an extracellular protease from the fish pathogen *Yersinia ruckeri* and effect of culture conditions on production. Appl Environ Microb. 65 (9): 3969 - 3975
74. SHOOTS. B. E. 1991. Selective isolation methods for fish pathogens. J Bacteriol Symposium Supplement. 70:75 - 80
75. SOLTANI. M., FARD. F., MEHRABI. M. 1999. First report a isolation of a Yersiniosis-like infection in Iranian farmed rainbow trout. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol 19 (4): 173 - 176

76. SOUSA. A. J., NUNEZ. S., EIRAS. C. J., TORANZO. E. A. 1994. *Yersinia ruckeri* in Portugal: characterization of the first isolates from fish and enviroment. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 14 (4): 113
77. SPARBOE. O., KOREN. C., HASTEIN. T., POPPE. T., STENWING. H. 1986. The first isolation of *Yersinia ruckeri* from farmed Norwegian Salmon. Bull.Eur.Ass.Fish Pathol. 6 (2): 41
78. STEVENSON. R. M. and W. D. AIRDRIE. 1984. Serological variation among *Yersinia ruckeri* strains. J Fish Dis. 7: 247 - 254
79. TANRIKUL. T. T., ÇAĞIRAN. H., TOKŞEN. E. 1996. Bakteriyel balık hastalıkları. Vet Kontr ve Araşt Enst Md Derg. 20: 34 - 38
80. T.C. BAŞBAKANLIK İSTATİSTİK ENSTİTÜSÜ. 2002. Su Ürünleri İstatistikleri (Fisheries Statistics).
81. THORSEN. B. K. NORLAND. S. E., HOFF. A. K. 1992. Long-term starvation survival of *Yersinia ruckeri* at different salinities studied by microscopical and flow cytometric methods. Appl Environ Microb. 58: 1624 - 1628
82. TİMUR. G. ve M. TİMUR. 1991. An outbreak of enteric redmouth disease in farmed rainbow trout (*O. mykiss*) in Turkey. Bull.Eur.Ass.Fish Pathol. 11 (5): 182 – 183
83. VALTONEN T. E., RINTAMAKI. P., KOSKIVAARA. M. 1992. Occurrence and pathogenicity of *Yersinia ruckeri* at fish farms in northern and central Finland. J Fish Dis. 15: 163 - 171
84. VLADIK. P. and A. PROUZA. 1990. Detection of *Yersinia ruckeri* in rainbow trout in Czechoslovakia. Vet Med (Praha) 35 (7): 437 - 442
85. VUILAUME. A., BRUN. R., CHENE. P., SOCHON. LESEL. R. 1987. First isolation of *Yersinia ruckeri* from sturgeon, *Acipenser baeri* Brandt, In South West of France. Bull.Eur.Ass.Fish Pathol. 7 (1): 18
86. WALTMAN. D. W. and E. B. SHOTTS. 1984. A Medium for the isolation and differentiation of *Yersinia ruckeri*. Can J Fish Aquat Sci. 41: 804 - 806
87. WILLUMSEN. B. 1989. Birds and wild fish as potential vectors of *Yersinia ruckeri*. J Fish Dis. 12: 275 -277

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Yatağan'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi 1994 yılında Yatağan'da tamamladım. Aynı yıl girdiğim Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 1999 yılında mezun oldum. Askerlik görevimi 2000-2001 tarihleri arasında yedek subay olarak yaptım. 2001 yılında ADÜ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün kadrosunda Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladım. 2004 yılında ise aynı Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi kadrosuna atandım. Yabancı dilim İngilizcedir. Evli ve bir erkek çocuk sahibiyim

