

**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VPT-YL-2005-0001**

***Aeromonas salmonicida* İLE ENFEKTE EDİLEN  
GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA  
(*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)  
PATOLOJİK BULGULARIN İNCELENMESİ**

**HAZIRLAYAN Arş. Gör. Ahmet AYDOĞAN**

**DANIŞMAN Prof. Dr. Nursal METİN**

**AYDIN - 2005**

## ÖZ.

### ***Aeromonas salmonicida* ile Enfekte Edilen Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Patolojik Bulguların İncelenmesi**

Bu araştırma *Aeromonas salmonicida* ile deneysel Furunkülozis'in intraperitoneal yol ve immersiyon yöntemiyle oluşturulması, makroskobik ve mikroskobik bulguların incelenmesi amacıyla yapıldı. Bu amaç için, 50 adet deneme grubu, 15 adet kontrol grubu olmak üzere toplam 65 adet,  $155 \pm 15$  g ağırlığında, 20-25 cm büyüklüğünde gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) kullanıldı. İntraperitoneal yolla oluşturulan enfeksiyonda (1. Grup) 25 adet balığa  $3 \times 10^5$  hücre/ml olacak şekilde 0,1 ml bakteri inokulatu verildi. İmmersiyon yöntemiyle uygulama yapılan diğer gruptaki (2. Grup) 25 adet balık,  $3 \times 10^5$  hücre/ml olacak şekilde 3 ml bakteri inokulatu verilen 30 l suda 1 saat bekletildi. Aynı uygulama 3 gün sonra tekrar edildi. Kontrol grubundaki 15 balığa ise 0,1 ml serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi. Her iki grupta ölen veya ötenazi edilen balıkların sistemik nekropsileri yapıldı, makroskobik ve mikroskobik bulgular değerlendirildi .

**Anahtar Kelimeler :** *Aeromonas salmonicida*, gökkuşığı alabalığı, deneysel enfeksiyon, patolojik bulgular.

## ABSTRACT

### **Investigation of pathologic findings infected with *Aeromonas salmonicida* in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792).**

This research was carried out to constitute experimental furunculosis with *Aeromonas salmonicida* using intraperitoneal route and immersion method, as well as to investigate macroscopic and microscopic findings. For this reason, a total of 65 (50 experimental and 15 control) rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) (weight  $155 \pm 15$  g and 20-25 cm in size) were used. *Aeromonas salmonicida* at a concentration of  $3 \times 10^5$  cfu/ml ( 0,1 ml per fish) was intraperitoneally injected to twenty five fish (first group). Another group (second group) were immersed into 30 l water inoculated with 3 ml of bacterial inoculum ( $3 \times 10^5$  cfu/ml) for one hour. The

same application was repeated after three days. Sterile saline solution (0,1ml/fish) was intraperitoneally injected to control group. In both group death and euthanasied fish were necropsied, macroscopic and microscopic findings were evaluated.

**Key Words:***Aeromonas salmonicida*, rainbow trout, experimental infection, pathologic findings.

## İÇİNDEKİLER

|                                             |            |
|---------------------------------------------|------------|
| <b>ÖZ.-ABSTRACT</b>                         | <b>I</b>   |
| <b>İÇİNDEKİLER</b>                          | <b>III</b> |
| <b>ÇİZELGELER LİSTESİ</b>                   | <b>V</b>   |
| <b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b>                     | <b>VI</b>  |
| <b>1. GİRİŞ</b>                             | <b>1</b>   |
| <b>2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR</b>                 | <b>3</b>   |
| <b>2.1. Tanım</b>                           | <b>3</b>   |
| <b>2.2. Tarihçe</b>                         | <b>3</b>   |
| <b>2.3. Etiyoloji</b>                       | <b>4</b>   |
| <b>2.4. Epizootiyoloji</b>                  | <b>6</b>   |
| <b>2.5. Patogenezis</b>                     | <b>8</b>   |
| <b>2.6. Bulgular</b>                        | <b>12</b>  |
| <b>2.6.1. Klinik Bulgular</b>               | <b>12</b>  |
| <b>2.6.2. Makroskopik Bulgular</b>          | <b>13</b>  |
| <b>2.6.3. Mikroskopik Bulgular</b>          | <b>14</b>  |
| <b>2.7. Tanı</b>                            | <b>16</b>  |
| <b>3. MATERYAL VE METOT</b>                 | <b>17</b>  |
| <b>3.1. Materyal</b>                        | <b>17</b>  |
| <b>3.2. Deneme Havuzlarının Özellikleri</b> | <b>17</b>  |
| <b>3.3. Kullanılan Suyun Özellikleri</b>    | <b>17</b>  |
| <b>3.4. Balıkların Temini</b>               | <b>18</b>  |
| <b>3.5. Deneysel İnokulasyon</b>            | <b>18</b>  |

|                                           |           |
|-------------------------------------------|-----------|
| <b>3.6. Histopatolojik İnceleme</b>       | <b>19</b> |
| <b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA</b> | <b>20</b> |
| <b>4.1. Bulgular</b>                      | <b>20</b> |
| <b>4.1.1. Klinik Bulgular</b>             | <b>21</b> |
| <b>4.1.2. Makroskopik Bulgular</b>        | <b>21</b> |
| <b>4.1.3. Mikroskopik Bulgular</b>        | <b>23</b> |
| <b>4.2. Tartışma</b>                      | <b>38</b> |
| <b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER</b>            | <b>42</b> |
| <b>ÖZET</b>                               | <b>43</b> |
| <b>SUMMARY</b>                            | <b>44</b> |
| <b>TEŞEKKÜR</b>                           | <b>45</b> |
| <b>KAYNAKLAR</b>                          | <b>46</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b>                           | <b>54</b> |

**ÇİZELGELER LİSTESİ**

| <b><u>Çizelge no.</u></b> | <b><u>Çizelge açıklaması</u></b>                          | <b><u>Sayfa</u></b><br><b><u>no</u></b> |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| Çizelge 1                 | Klinik ve makroskopik bulguların gruplara göre dağılımı   | 23                                      |
| Çizelge 2                 | Mikroskopik bulgular ve organlara göre dağılımı           | 26                                      |
| Çizelge 3                 | Mikroskopik bulgular, derecesi ve organlara göre dağılımı | 27                                      |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

| <u>Şekil no.</u> | <u>Şekil açıklaması</u>                                                        | <u>Sayfa</u> |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Şekil 1          | Furunkülozis'in coğrafi dağılımı                                               | 8            |
| Şekil 2          | Birinci grupta ölen balıkların ölüm günleri ve sayıları                        | 20           |
| Şekil 3          | İkinci grupta ölen balıkların ölüm günleri ve sayıları                         | 21           |
| Şekil 4          | Derinin renginde koyulaşma (2. grup)                                           | 28           |
| Şekil 5          | Deride yaygın pul dökülmeleri (2. grup)                                        | 28           |
| Şekil 6          | Pektoral yüzgeç tabanında kanama ve sağ gözde ekzoftalmus (1. grup)            | 29           |
| Şekil 7          | Sağ gözde perioküler kanama (2. grup)                                          | 29           |
| Şekil 8          | Genel anemi (1. grup)                                                          | 30           |
| Şekil 9          | Perivisserral dokuda peteşiyel kanamalar (1. grup)                             | 30           |
| Şekil 10         | Karaciğerin renginde açılma (2. grup)<br>Kontrol grubu karaciğeri              | 31           |
| Şekil 11         | Dorso-lateral kaslarda erime nekrozu (2.grup) HE.                              | 32           |
| Şekil 12         | Kas dokuda erime nekrozunun bulunduğu alanlarda bakteri kümeleri (2. grup) HE. | 32           |
| Şekil 13         | Böbrekte tubulus lümeninde bakteri kümesi (2. grup).<br>Brown-Brenn            | 33           |
| Şekil 14         | Sekonder lamellerde şiddetli hiperplazi (1. grup). HE.                         | 33           |
| Şekil 15         | Sekonder lamellerde ödem ve tabanlarında hafif hiperplazi (2. grup). HE.       | 34           |

|          |                                                                                                                                |    |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 16 | Sekonder lamel kapillarlarında telangiektazi (2. grup). HE.                                                                    | 34 |
| Şekil 17 | Midede submukozada EGC (Eozinofilik Granüler Hücre)'ler de degranülasyon ve serbest granüller ( 2. grup). HE.                  | 35 |
| Şekil 18 | Böbrekte tubul epitellerinde hidropik dejenerasyon, hematopoietik doku hücrelerinde azalma, glomerulusta atrofi (2. grup). HE. | 35 |
| Şekil 19 | Böbrekte hematopoietik doku (kontrol grubu). HE.                                                                               | 36 |
| Şekil 20 | Böbrekte hematopoietik doku hücrelerinde azalma (2. grup). HE.                                                                 | 36 |
| Şekil 21 | Karaciğerde subkapsüler erime nekrozları (2. grup). HE.                                                                        | 37 |
| Şekil 22 | Dalakta lenfoid dokuda nekroz (2. grup). HE.                                                                                   | 37 |



## 1. GİRİŞ

Dünya nüfusunda hızlı artışla birlikte besin kaynaklarının azalmaya başlaması su ürünlerinin insan beslenmesinde daha çok önem kazanmasına neden olmuştur (Geldiay ve Balık, 1999). Ayrıca insan beslenmesinde hayvansal proteinlere olan gereksinimle birlikte balık etinin besin değerin esansiyel aminoasitler, hayvansal proteinler, doymamış yağ asitleri, vitaminler ve mineraller bakımından yüksek oluşu da, kültür balıkçılığının gelişmesini ve balık eti tüketimini artırmıştır. Bu artış, hastalıkların teşhisi, tedavisi ve korunma yöntemlerinin de önem kazanmasını beraberinde getirmiştir (İnal, 1992). Buna ilaveten deniz ve iç suların kirliliğine bağlı olarak deniz balıkçılığı üretiminin azalması da gerek dünyada, gerekse ülkemizde kültür balıkçılığının önemli bir sektör haline gelmesinde etkili olmuştur (Geldiay ve Balık, 1999).

Ülkemizde kültür balığı üretiminde önemli gelişmeler kaydedilmekle birlikte henüz yeterli düzeye erişilememiştir. İstatistiklere göre ülkemizde kültür balığı üretimi, tüm su ürünleri üretimi içerisinde, %9,74'lük oranla, deniz balıkları üretiminden sonra 2. sırada yer almaktadır. Kültür balıkları içerisinde de alabalıklar 33707 tonluk üretimle birinci sırada bulunmaktadır. Aydın ve Muğla illerinde bulunan işletmeler bu üretimde 25760 tonluk üretimle ilk sırayı almaktadır (TC Başbakanlık İst. Enst., 2002).

Kültür balığı yetiştiriciliğinde, balıkların bulundukları ortam nedeniyle sürekli mikroorganizmalarla ve birbirleriyle çok yakın temasta bulunmaları, suların çabuk kirlenmesi ve su kalitesinin (fiziksel, kimyasal, biyolojik ve diğer fizyolojik parametrelerin) optimal değerlerin dışına çıkması gibi nedenlerle balık ile yaşadığı çevre arasındaki hassas dengenin bozulması, enfeksiyöz hastalıkların kolayca çıkmasına ve yayılmasına neden olmaktadır. Enfeksiyöz hastalıklar, tedavilerinin güç ve pahalı olması nedeniyle intensif balık yetiştiriciliğinde büyük ekonomik sorunlar yaratabilmekte ve işletme ekonomisinin olumsuz yönde etkilenmesine yol açmaktadır. Bu nedenle balık hastalıklarının erken teşhisi, etkili tedavisi ve gerekli

kontrol önlemlerinin alınması, kültür balığı yetiştiriciliğinde büyük önem taşımaktadır (Alpbaz, 1995; Tanrıkul et al., 1996; Rad, 1999; Arda et al., 2002).

Balıkların önemli patojenlerinden biri olan *Aeromonas salmonicida*'nın sebep olduğu furunkülozis, dünyada oldukça geniş bir yayılıma sahip olup çok değişik balık türlerinde görülebilmekte (Balows, 1991; Austin, 1997) ve bölgemizde alabalık işletmeleri için önemli bir potansiyel tehdit kaynağı oluşturmaktadır. Bu araştırma ile furunkülozis'in deneysel olarak oluşturulması, şekillenen lezyonların makroskopik ve mikroskopik incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2. 1. Tanım

Furunkülozis (furunculosis) başta alabalıklar olmak üzere çeşitli balık türlerinde *Aeromonas salmonicida* tarafından oluşturulan, sepsisemi ve deride furunküllerin oluşması ile karakterize, bulaşıcı ve öldürücü bir hastalıktır (Ribelin and Migaki, 1975; Roberts, 2001; Erer, 2002). Enfekte balıklarda, deride ve kaslarda, furunkül benzeri şişlikler ve ülseratif lezyonlar görüldüğü için hastalığa bu isim verilmiştir (Balows, 1991).

### 2. 2. Tarihçe

*Aeromonas salmonicida* balıkların bilinen en önemli ve en eski patojenlerinden biridir. Etken ilk defa Almanya’da, 1894 yılında, Bavyera bölgesinde, çiftliklerde yetiştirilen brown troutlarda Emmerich ve Weibel tarafından “*Bacillus der Forellenseuche*” ismiyle izole edilmiştir (Roberts, 2001; Balows, 1991; Woo and Bruno, 1999; Cipriano and Bullock, 2001; Austin, 2002).

*Aeromonas* genusuna dahil mikroorganizmalar zaman içinde *Bacillus*, *Bacterium*, *Aerobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Achromobacter*, *Necromonas*, *Vibrio* genuslarına dahil edilmiştir. Ancak 1920’den sonra yapılan çalışmalar sonucu bu mikroorganizmalar *Proteus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Achromobacter*, *Necromonas*, *Vibrio* gibi genuslarda klasifiye edilmişlerdir. *Aeromonas* ismi ilk defa Kluwyer ve Van Niel tarafından 1936’da kullanılmıştır. Daha sonra *Aeromonas* isminin “Bergey’in Bakteriyoloji Kitabında” ilk defa 1957 yılında kullanıldığı bildirilmiştir (Balows, 1991). Etken, *Aeromonas* genusunun zaman içinde aldığı farklı isimlere dayanarak, *Bacterium salmonicida*, *Bacillus truttae*, *Proteus truttae*, *Necromonas achromogenes*, *Necromonas salmonicida* gibi değişik isimler almıştır (Balows, 1991; Woo and Bruno, 1999). Ultrastruktürel

alışmalarla etkenin Aeromonadaceae familyasına dahil olduğu ortaya konulmuştur (Colwell et al., 1986).

Ülkemizde ise 2003 yılında Batı Ege Bölgesi'nde alabalık yetiştiriciliği yapılan 3 işletmeden *Aeromonas salmonicida* izole edildiği bildirilmiştir (Kırkan et al., 2003).

## 2. 3. Etiyoloji

Aeromonadaceae familyasının bir üyesi olan *Aeromonas salmonicida* (Colwell et al., 1986), aerobik, gram-negatif, spor oluşturmeyen, hareketsiz, fermantatif, psikrofilik, yaklaşık 1.0 µm x 2.0 µm boyutlarında bir basildir. Etken Aeromonadaceae ailesinin tek psikrofilik üyesidir. *Aeromonas salmonicida* obligat bir mikroorganizmadır ve konakçı dışında uzun süre yaşayamaz (Ribelin and Migaki, 1975; Austin, 1997; Woo and Bruno, 1999; Roberts, 2001; Dacanay et al., 2003).

Mikroorganizmanın optimum üreme ısı aralığı 18-22 C° arasında değişmektedir (Woo and Bruno, 1999). Kronik enfeksiyon 13 C°'nin altında da oluşabilmektedir (Bullock et al., 1983). Etkenin üremesi 4 C° 'nin altında yavaşlamakta, 37 C° ve üzerinde ise durmaktadır (Cipriano and Bullock, 2001).

Etken glikozu fermente eder. D-Glukoz fermantasyonu pozitif (+), D-Sorbitol fermantasyonu pozitif (+), indol üretimi negatif (-), H<sub>2</sub>S üretimi negatif (-), katalaz pozitif (+) (Dalsgaard and Madsen, 2000; Cipriano and Bullock, 2001; Abbot et al., 2003).

*Oncorhynchus kisutch* üzerinde yapılan bir araştırmada, *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, oksidaz negatif olarak belirlenmesine rağmen, etken oksidaz pozitif (+) (Chapman et al., 1991).

*Aeromonas salmonicida*, klinik semptom gösteren balıkların böbreklerinden, kanlarından, yüzey lezyonlarından ve diğer organlarından alınan örneklerin uygun besi yerlerinde (Tryptone Soya Agar ve Brain-Heart Infusion Agar) inkübe edilmesiyle izole edilebilmektedir. Etken bu besi yerlerinden Tryptone Soya Agar'da 20-25 C° 'de 1-4 günlük bir inkübasyon süresinden sonra yaygın, melanin benzeri, kahverengi, suda çözünebilen bir pigment üretir (Ishiguro et al., 1981; Fyfe et al., 1987a; Fyfe et al., 1987b; Shotts, 1991; Brocklebank, 1998; Woo and Bruno, 1999; Koppang et al., 2000). Mikroorganizma Brain-Heart Infusion Agar'da 3 farklı koloni tipi geliştirir. Bunlar Kaba (Rough), Düzgün (Smooth) ve G Fazdır (Austin, 1997). Kanlı agarda ise yuvarlak, düzgün kenarlı, konveks ve hemolitik koloniler oluşturur (Arda, 1997).

*Aeromonas salmonicida*'nın virulent suşları, hücre membranlarının dış yüzeyinde Additional Layer Protein (A-Layer Protein)'e sahiptirler (Garduno et al., 1993; Nomura et al., 1994; Ellis et al., 1997; Stensvag et al., 1999b; Garduno et al., 2000; Cipriano and Bullock, 2001). A-Layer Protein, Major Additional Envelope Protein (ACE)'den oluşmaktadır. Bu protein, suda çözünmez, enteropatojenik *Escherichia coli*'nin K88 adheziv fimbriasına benzer bir yapıdadır (Cipriano and Bullock, 2001). Tüm hücre yüzeyini örter ve etkenin hidrofobik yapısının da kaynağıdır (Stensvag et al., 1999a).

Mikroorganizmanın A-Layer protein dışında yine hücre yüzeyinde bulunan bir diğer ana hücre yüzey antijeni, tüm gram-negatif bakterilerde bulunan lipopolisakkariddir (LPS) (Ellis et al., 1997; Dalmo et al., 1998; Simko et al., 1999; Stensvag et al., 1999b).

Bakteriyel metabolizma esnasında etken tarafından hastalığın patogenezisinde önemli role sahip 2 major ekstrasellüler toksin salgılanmaktadır. Bu toksinler:

- 1) Gliserofosfolipid kolesterol asil transferaz (GCAT),
- 2) Ekstrasellüler proteaz (EP)' dir (Lee and Ellis, 1991; Ellis et al., 1997; Wagner et al., 1997; Vipond et al., 1998; Arnesen and Eggset, 1999).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, mikroorganizmanın beş alt türünün olduğunu ortaya koymuştur. Bu alt türlerin birbirlerinden ayırımı farklı balık türlerinde meydana getirdikleri lezyonlar ile fenotipik ve genotipik özelliklerine göre yapılmıştır(Woo and Bruno, 1999). Bu alt türler:

- 1) *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*,
- 2) *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes*,
- 3) *Aeromonas salmonicida* subsp. *pectinolytica*,
- 4) *Aeromonas salmonicida* subsp. *smithia*,
- 5) *Aeromonas salmonicida* subsp. *masoucida* olarak adlandırılırlar.

*Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* tipik furunkülozis'i oluşturur. Diğer alt türler ise salmonid balık türleri ve diğer balık türlerinde atipik furunkülozis'ten sorumludurlar (Gudmundsdottir, 1998; Woo and Bruno, 1999; Cipriano and Bullock, 2001; Austin, 2002; Magnadottir et al., 2002). Atipik furunkülozis'e neden olan etkenler balıklarda Trout Ulcer Disease (Alabalık Ülser Hastalığı), Goldfish Ulcer Disease ve Carp Eritrodermatitis (Sazan Eritrodermatitis)'e neden olurlar (Cipriano and Bullock, 2001).

## 2. 4. Epizootiyoloji

Furunkülozis daha çok tatlı su balıklarının hastalığı olarak bilinirse de, son yıllarda yapılan çalışmalar, hastalığın denizlerde ve göllerde yaşayan pekçok değişik balık türlerinde de görüldüğünü ortaya koymuştur (Woo and Bruno, 1999; Roberts, 2001). Hastalık, *Oncorhynchus mykiss* (gökkuşağı alabalığı), *Salmo salar* (atlantik salmonu), *Salmo trutta m. lacustris*, *Salvelinus fontinalis*, *Oncorhynchus rhodurus*, *Oncorhynchus tshawytscha*, *Oncorhynchus keta*, *Oncorhynchus kisutch*, *Salmo clarki*, *Salvelinus namaycush*, *Oncorhynchus nerka*, *Oncorhynchus masou*, *Salmo trutta m. trutta* gibi alabalık türleri başta olmak üzere Amerikan yılanbalığı (*Anguilla rostrata*), Avrupa yılanbalıkları (*Anguilla anguilla*), sazan balıkları (*Cyprinus carpio*), kedi balıkları (*Silurus glanis*), küçükağızlı levrek (*Micropterus dolomieu*),

atlantik morinası (*Gadus morhua*), kalkan balığı (*Psetta maxima*) gibi değişik balık familyaları içinde yer alan balık türlerinde de görülmektedir (Austin, 1997; Woo and Bruno, 1999; Erer, 2002; Perry et al., 2004).

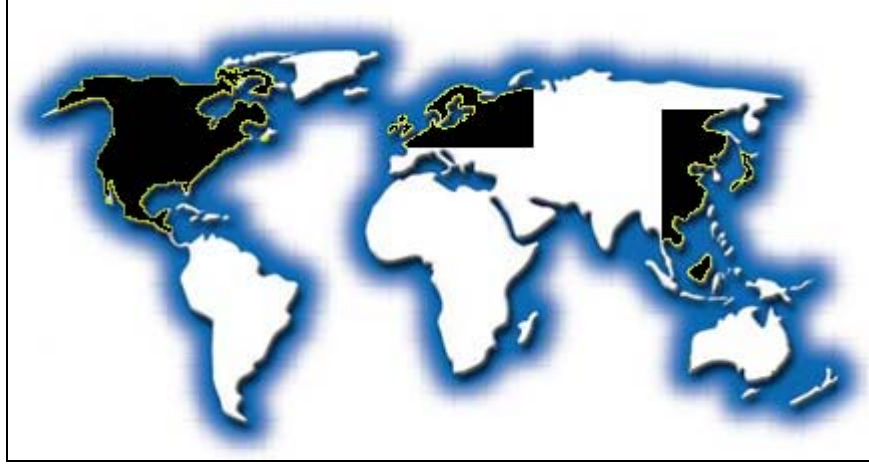
Balık familyaları içinde yılanbalıkları hastalığa karşı oldukça dirençli, alabalıklar ise oldukça duyarlıdır. Alabalık türleri içinde de gökkuşağı alabalığı hastalığa karşı diğer alabalık türlerine göre daha dirençli; Atlantik salmonu, *Oncorhynchus kisutch* ve Brown trout oldukça duyarlıdır (Woo and Bruno, 1999).

Hastalığın meydana gelmesinde etkili olan faktörler balığın yaşı, hastalığa karşı olan duyarlılığı, balıkların zedelenmesi, nakiller, endo ve ekto parazitlerin balıkların vücutlarında açmış oldukları portantreler, balıkların birarada kalabalık bir şekilde barındırılmaları, bakım ve beslenme yetersizlikleri, su ısısındaki ani değişimler, suyun oksijenden fakir olması, suların çok kirli ve algli olması, suyun fiziksel ve kimyasal kalitesinde bozulma şeklinde sıralanabilir (Woo and Bruno, 1999; Erer, 2002).

Deniz ve tatlı su balıklarında hastalığın görülme olasılığı, ilkbahar sonunda ve yaz mevsiminde suda meydana gelen ısı değişimleri ve su sıcaklığının yüksek oluşuna bağlı olarak artabilir. Bununla birlikte furunkülozis genç balıklarda 2-4 C° gibi düşük su sıcaklıklarında da görülebilmektedir (Woo and Bruno, 1999).

Hastalığın meydana gelmesinde yaş da önemli bir faktördür. Genç balıklar ve yumurtlama dönemindeki ergin balıklar hastalığa daha kolay yakalanmaktadır (Woo and Bruno, 1999).

Furunkülozis günümüzde tüm dünyaya yayılmış durumdadır. Özellikle Asya'da, Kuzey Amerika'da, İskandinav ülkeleri başta olmak üzere Avrupa'da hastalığa yaygın olarak rastlanmaktadır. Avustralya'da tipik furunkülozis bildirilmemiş olup atipik furunkülozis'e rastlanmaktadır. Son yıllarda Yeni Zellanda ve Güney Amerika'da etken izolasyonu bildirilmiştir (Woo and Bruno, 1999; Smith and Hiney, 2000).



Şekil 1. Furunkülozis'in coğrafi dağılımı

Hastalığın bulaşmasında değişik görüşler mevcuttur. Hastalık, klinik olarak semptom gösteren balıklar ile latent enfeksiyonun bulunduğu balıklardan sağlıklı balıklara bulaşabilir. Latent enfeksiyonun bulunduğu balıklarda mikroorganizmalar deride, müköz hücrelerde, solungaçlarda ve bağırsaklarda lokalize olurlar (Woo and Bruno, 1999). Latent enfeksiyonlu balıklar, bağırsaklarında bulunan etkenleri sağlam balıklara gaita yoluyla, derilerinde müköz hücrelerde bulunan etkenleri ise temas yoluyla bulaştırabilirler. Bu şekilde horizontal bulaşma yolları denizlerde ve tatlı sularda yaşayan balıklar için büyük tehlike oluşturmaktadır (Woo and Bruno, 1999; Cipriano and Bullock, 2001). Bunun dışında sağlam balıklar etkeni ağızdan direkt olarak veya bulaşık taze yemleri yemeleri suretiyle, endoparazitlerin ve ektoparazitlerin vücutlarında açmış oldukları portantreler yoluyla veya solungaçlarından alabilirler (Erer, 2002). Enfekte ebeveynden gelen *Aeromonas salmonicida* etkenlerinin balığın yumurta aşamasında yaşayamaması nedeniyle, vertikal bulaşmanın hastalığın aktarımında çok önemli olmadığı bildirilmiştir (Ribelin and Migaki, 1975; Cipriano and Bullock, 2001).

## 2. 5. Patogenezis

Vücuda giren mikroorganizmalar kana geçerler ve kan yolu ile bütün doku ve organlara yayılırlar (septisemi). Daha sonra damar duvarlarında zedelenmeler

oluşturarak subkutan dokularda ve kas fibrilleri arasında kanama odakları oluştururlar. Lezyonlar giderek büyür ve bazıları birleşerek geniş alanlara yayılırlar. İçleri koyu kırmızı irin ile dolu çok sayıda furunküller oluşur. Bunlar zamanla açılır ve yerlerinde kenarları kalkık ülserler şekillenir. Bu ülserlerden irinli ve içlerinde etkenlerinde bulunduğu akıntılar gelir ve bu yolla sular bulaştırılır. Suların bu şekilde bulaşması da enfeksiyonun devamına neden olur (Erer, 2002).

Furunkülozisin patogenezi yaklaşık 50 yıldan beri pekçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır. Yakın zamandaki araştırmalar, hastalığın patogenezinde bakteriyel metabolizma esnasında salgılanan ekzotoksinler (Gliserofosfolipid:kolesterol asiltransferaz ve Ekstrasellüler Proteaz) ile bakterinin yapısal komponentlerinin (Additional Layer Protein ve Lipopolisakkarid) önemli rol oynadığını ortaya koymuştur (Lee and Ellis, 1990; Lee and Ellis, 1991; Kay and Trust, 1991; Garduno and Kay, 1992; Ellis et al., 1997; Lund et al., 2003).

Bakterinin yapısal komponentlerinden ve aynı zamanda yüzey antiijenlerinden birincisi Additional Layer Protein (A-Layer Protein) dir. A-Layer Protein genel olarak S-Layer Protein olarak bilinirse de *Aeromonas salmonicida*'da A-Layer Protein terimi daha yaygın kullanılmaktadır. PAGE (SDS-Poliakilamid Jel Elektroferezis) analizi ve X-Ray ışın çalışmaları *Aeromonas salmonicida*'da bulunan A-Layer Proteinin yaklaşık 50 kDa'lık, iki boyutlu, tetragonal yapısal sıralı bir protein olduğunu ortaya koymuştur (Kay and Trust, 1991; Doig et al., 1992; Woo and Bruno, 1999; Sara and Sleytr, 2000). Sadece A-Layer pozitif *Aeromonas salmonicida* suşları virulent, A-Layer negatif *Aeromonas salmonicida* suşları ise avirulenttir (Ishiguro et al., 1981; Kay and Trust, 1991; Noonan and Trust, 1995; Woo and Bruno, 1999). Bunun nedeni, A-Layer pozitif *Aeromonas salmonicida* suşlarının makrofajlara bağlanma, makrofajların içerisine girme ve içinde gelişimine devam etme yeteneğine sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. Ayrıca A-Layer Protein, *Aeromonas salmonicida*'nın hücre membranında bulunan bakteriyofaj reseptörlerini bloke ederek etkenin virülensini artırır. Bu etkileriyle A-Layer protein özellikle enfeksiyonun erken devrelerinde önemli rol oynar (Garduno et al., 1993; Daly et al., 1996; Garduno et al., 2000; Cipriano and Bullock, 2001). In vitro

alışmalar, A-Layer Proteinin bir adhezin olduğunu ve bu özelliği sayesinde makrofajlara yapışabildiğini ortaya koymuştur. Bunların dışında A-Layer Protein proteazlara dirençlidir ve mikroorganizmayı serum komponentlerinin bakterisidal etkisinden, porfirinler, immunglobulinler, laminin ve fibrinolektin gibi değişik moleküllerin adhezyonundan korur (Munn et al., 1982; Kay et al., 1985; Chu et al., 1991; Doig et al., 1992; Garduno and Kay, 1992).

Hastalığın patogenezinde önemli olan, bakterinin bir diğer yapısal komponenti, tüm gram-negatif bakterilerde bulunan lipopolisakkaridtir (LPS). *Aeromonas salmonicida*'da LPS 2 tipten olmuştur. Birinci tip düşük moleküler ağırlıklı lipo-oligosakkarid (LOS) tir ve A-Layer Protein tabakasının altında bulunur. İkinci tip, yüksek moleküler ağırlıklı lipopolisakkarid olup O-polisakkarid zincirleri içerir (Ishiguro et al., 1983; Chart et al., 1984). LPS'nin *Aeromonas salmonicida*'nın virülensindeki rolü henüz tam olarak bilinmemekle birlikte Gliserofosfolipid:kolesterol asiltransferaz enzimi ile kompleks olmuş hali letal toksisitede önemli bir faktördür. Yapılan bir çalışmada, sadece A-Layer Protein ve LPS'nin her ikisini birden içeren *Aeromonas salmonicida* suşlarının *Oncorhynchus kisutch*'da virulent etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Woo and Bruno, 1999).

*Aeromonas salmonicida*'nın enzim aktivitesindeki bir takım ekstrasellüler ürünleri (toksin) etkenin virülensinde ve hastalığın patogenezinde önemli rol oynar (Woo and Bruno, 1999). Etkenin iki major ekstrasellüler toksini bulunmaktadır. Bunlar:

- 1- Gliserofosfolipid:kolesterol asiltransferaz (GCAT),
- 2- Ekstrasellüler Proteaz (70 kDa Proteaz veya EP) dır (Lee and Ellis, 1991; Ellis et al. ,1997; Wagner et al., 1997; Vipond et al., 1998; Arnesen and Eggset, 1999).

EP, konakçı proteinlerini küçük peptidlere hidrolize ederek bakteriye beslenme kaynağı oluşturur ve protrombin aktivasyonu gösterir (Sakai, 1985; Arnesen and Eggset, 1999). EP'de proteazın bulunması hastalıkta gözlenen kas erimeleri için

temel teşkil etmektedir. 70 kDa Proteaz'ın genç alabalıklara saf olarak enjekte edilmesinin, bu balıklarda hemorajilere ve kas erimelerine neden olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (Lee and Ellis, 1991). EP'nin protrombin olarak aktivasyon göstermesi ise alabalık kanında pıhtılaşma süresini kısaltmaktadır (Woo and Bruno, 1999).

Etkenin diğer major ekstrasellüler toksini olan GCAT, konakçı hücre membranlarına zarar vererek etkiyen bir enzimdir ve bu da hücre ölümüne neden olur (Lee and Ellis, 1991). GCAT'nin LPS ile kompleks olmuş hali GCAT/LPS kompleksidir ve bu kompleks lethal toksisitede önemli bir faktördür. İn vitro çalışmalar GCAT/LPS kompleksinin hemolitik, lökositolitik ve sitolitik olduğunu ortaya koymuştur. Fakat bu hemoliz EP'nin yokluğunda tamamlanamaz. GCAT/LPS kompleksi ısıya dayanıklıdır ve bu kompleks, letal toksisite ve hemolitik aktivite açısından GCAT ve LPS'nin her ikisinin tek başlarına yapacakları etkiden 8 kat daha güçlüdür (Lee and Ellis, 1990; Woo and Bruno, 1999; Cipriano and Bullock, 2001).

Bakteriyel metabolizma esnasında salgılanan bu ekstrasellüler ürünlerin saf hallerinin balıklara tekrar enjeksiyonu öldürücüdür ve hastalığın tipik semptomlarının (deride kararma, yüzgeçlerin diplerinde hemorajiler, iç organlarda erime nekrozları gibi) balıkta oluşmasına neden olurlar (Vipond et al., 1998).

Gökkuşuğu alabalıklarında yapılan deneysel enfeksiyon çalışmalarında, enfeksiyonun başlangıcında ilk 24 saat içinde hematopoietik dokuda makrofajlar, heterofiller ve lenfositlerde artış gözlenirken, 32. ve 40. saatler içinde böbrekteki lökopoietik ve eritropoietik komponentlerde belirgin bir azalma, 48-56. saatler içinde de ön ve orta böbrekteki hematopoiezisin tamamen durduğu saptanmıştır. Hematopoietik doku yıkımı ve fagositozis inhibisyonunun nedenleri olarak da yukarıda bahsedilen ekstrasellüler ürünler ile A-Layer Protein gibi bakterinin yapısal komponentleri gösterilmiştir (Ribelin and Migaki, 1975).

Yapılan çalışmalar, *Aeromonas salmonicida*'nın ekstrasellüler ürünlerinin letal dozlarda balıklara enjeksiyonunun solungaçlarda ve bağırsaklarda bulunan EGC

(Eozinofilik Granüler Hücre)'lerde şiddetli degranülasyona neden olduğu, bununda solungaçlar etrafındaki kan akımında düzensizliğe, dolaşım yetersizliğine ve sonuçta balığın ölümüne yol açtığını ortaya koymuştur ( Ellis, 1985; Lee and Ellis, 1991).

## **2. 6. Bulgular**

### **2. 6. 1. Klinik Bulgular**

Hastalığın inkübasyon süresi, çevresel koşullara, bakım ve besleme koşullarına, yaşa, türe, vücut direncine, balıkta başka bir enfeksiyon olup olmamasına, mikroorganizmaların virülensine, sayısına ve giriş yoluna bağlı olmak üzere değişiklik göstermektedir. Optimal koşullarda ve duyarlı balıklarda doğal enfeksiyon 6-10 günde oluşur. Hastalık klinik olarak perakut, akut, subakut, kronik ve latent formlarda oluşabilir (Erer, 2002).

Perakut form sıklıkla yavru balıklarda oluşur. Balığın renginde koyulaşma, belirli belirsiz bir ekzoftalmus dikkati çeker. Bazı olaylarda hiçbir semptom göstermeksizin ölümler görülür (Ribelin and Migaki, 1975; Lee and Ellis, 1991; Vipond et al., 1998; Woo and Bruno, 1999; Erer, 2002).

Akut form genellikle genç balıklarda görülür. İlk belirti anoreksidir. Balığın renginde koyulaşma oluşabilir. Yüzgeçlerin tabanında, vücudun yanlarında peteşiyel ve ekimotik kanamalara rastlanır. Enfekte balıklarda yüzme bozuklukları görülür, beslenme tamamen durur ve balıklar 2-3 gün içinde kitleler halinde ölürler (Lee and Ellis, 1991; Vipond et al., 1998; Woo and Bruno, 1999; Erer, 2002).

Subakut ve kronik formlar çoğunlukla yaşlı balıklarda ortaya çıkar, yavaş gelişir, ölümler yavaş başlar ve gittikçe artar. Hasta balıklarda durgunluk, anoreksi, yüzme bozuklukları, derinin renginde koyulaşma ve renk değişiklikleri, hafif ekzoftalmus, yüzgeç tabanlarında hemorajiler görülür. Dorsal ve karın

yüzgeçlerinin tabanında, vücudun yanlarında küçük ve çok sayıda furunküller meydana gelir (Lee and Ellis, 1991; Vipond et al., 1998; Tanrıkul et al., 1996; Woo and Bruno, 1999; Erer, 2002). Daha sonra açılan furunküllerin yerinde içlerinden irinli akıntı gelen, kenarları kalkık ülserler şekillenir. Hastalığı atlatan balıklarda bu ülserler kendiliğinden iyileşebilir ve yerlerinde koyu renkte nedbe dokusu kalır. Ayrıca bu balıklarda ağırlık kaybı ve deride fokal renk kayıpları meydana gelir (Erer, 2002).

Latent form düşük mortalite ile seyreder. Bu formda klinik belirti olarak sadece anüsün prolapsusu görülür (Woo and Bruno, 1999).

## **2. 6. 2. Makroskobik Bulgular**

Perakut Form: Kan damarlarında dilatasyon, pariyetal ve visseral peritonda, myokartta ve solungaçlarda hemorajiler görülür. Dalakta büyüme dikkati çekebilir (Woo and Bruno, 1999).

Akut Form: Serozal yüzeylerde hiperemi vardır. İç organlarda, kalpte ve abdominal duvarda hemorajiler görülür. Dalak büyümüştür. Karaciğer solgundur ve subkapsüler hemorajiler görülebilir. Mide ve bağırsaklarda genellikle içeriğe rastlanmaz. Lümeninde mukus ve kan bulunur. Bağırsaklarda şiddetli konjesyon vardır. Böbrekler yumuşak kıvamda, gevrek veya erimiş olabilir. Hava kesesi duvarı koyu renkte ve hiperemiktir. Genital organlarda hemorajilere rastlanabilir (Woo and Bruno, 1999; Cipriano and Bullock, 2001).

Subakut ve Kronik Form: Genel visseral konjesyon ve peritonitis ile pylorik keseler, kaslar ve karaciğerde hemorajiler görülür. Böbrekler yumuşak, gevrek kıvamda ve nekrotiktirler. Dalakta büyüme oluşabilir. Abdominal kavite, bağırsaklar ve içorganlar arasında yapışmalar ve enteritis oluşur. Nekrotik ve hemorajik kas lezyonlarına rastlanabilir. Kaslarda fokal şişlikler meydana gelir. Deri lezyonları sıklıkla hemorajik ve nekrotiktir. Furunküller iskelet kaslarını,

subkutisi ve deriyi kapsayan, koyu renkte, kabarmış şişlikler halindedir ve bu lezyonlar değişken büyüklükte, düzensiz, pürüzlü, keskin kenarlı ve musküler tabakaya kadar genişleyebilen ülserlere dönüşür. Ülserlerde mantarlar üreyebilir ve bu durumda balık sudan çıkarıldığında bu bölgenin ıslak pamuğa benzer bir hal aldığı görülür (Ribelin and Migaki, 1975; Woo and Bruno, 1999; Cipriano and Bullock, 2001).

Latent Form: Bağırsaklarda hemoraji ve enteritis görülür (Woo and Bruno, 1999).

## **2. 6. 3. Mikroskopik Bulgular**

Enfekte balıklarda en çok dikkat çeken özellik yangısal yanıt olmaksızın iç organlar, solungaçlar ve kaslarda bakteri kümelerinin görülmesidir (Ribelin and Migaki, 1975; Bricknell et al., 1996).

Furunküller, bakterilerin dermiste veya seyrek olarak epidermisteki fokal lokalizasyonları sonucunda oluşur. Lezyonun merkezinde erime nekrozu vardır ve bu nekrozla birlikte fibrin ağları, bakteri kümeleri ve makrofajlar, az miktarda eritrositler ve trombositlere rastlanır. Ayrıca dermis ve hipodermiste hiperemi, ödem, makrofaj ve granülosit infiltrasyonu gözlenir (Roberts, 2001; Lee and Ellis, 2001).

Ülserli deride epidermis tamamen kaybolmuş, hafif dermal yangısal reaksiyon oluşmuş ve ödem meydana gelmiştir (Ribelin and Migaki, 1975).

Kaslarda, myofibril dejenerasyonları ve parçalanma, tüm musküler dokuda hemorajiler ve erime nekrozu en yaygın bulgulardır ( Lee and Ellis, 1991; Bricknell et al., 1996; Vipond et al., 1998; Cipriano and Bullock, 2001).

Solungaç lamellerindeki damarlarda ve interlamellar epiteller çevresinde bakteri kümelerine rastlanır. Primer ve sekonder lamellerde bakteri kümelerinin damarlarda trombozlara yol açması sonucu ödem meydana gelir (Roberts, 2001). Solungaç epitel hücrelerinde proliferasyon gelişir. Ayrıca lenfositlerin intralamellar infiltrasyonu ve sekonder lamellerde yapışmalar görülür (Ribelin and Migaki, 1975; Bricknell et al., 1996; Cipriano and Bullock, 2001).

Kalpde myokarditis oluşabilir. Bakteri kümeleri stazise ve buna bağlı olarak da myokartta nekroza yol açarlar. Ventral epikardiyumda dejenerasyon dikkati çeker. Staz bölgesinin dış kısmında lenfosit infiltrasyonu görülebilir. Makrofajlara ventriküllerin her bölgesinde rastlanabilir. Özellikle perakut formda kalpte meydana gelen zedelenme ölüme yol açar (Ribelin and Migaki, 1975; Bricknell et al., 1996).

Böbrek ve dalakta erime nekrozları görülebilir. Özellikle böbreklerde hematopoietik interstisyel dokuda bu durum dikkati çeker. Ayrıca böbrekte tubuler dejenerasyon bir başka dikkat çeken bulgudur (Ribelin and Migaki, 1975).

Bakteri kümelerinin varlığı dışında karaciğer parenşiminde belirgin olarak fokal nekrozlara rastlanır (Ribelin and Migaki, 1975; Cipriano and Bullock, 2001).

Solungaçlarda, mide ve pilorik keselerde EGC (Eozinofilik Granüler Hücre) sayısında artış ve degranülasyon meydana gelebilir (Lee and Ellis, 1991; Bricknell et al., 1996).

Sekonder fungal enfeksiyonlar sıklıkla meydana gelir ve bu durumda lezyonlu bölgelerde mantar miselleri ve ödem görülebilir (Ribelin and Migaki, 1975).

## 2. 7. Tanı

Tanıda klinik semptomlar, nekropsi bulguları ve histopatolojik bulgular dikkatlice değerlendirilmelidir. Kesin tanı için uygun besi yerlerinde özellikle böbrek dokusundan ve kandan mikroorganizmanın izolasyonu ve identifikasyonu ile birlikte biyokimyasal ve serolojik testlerden de yararlanılması gerekmektedir (Austin, 1997; Woo and Bruno, 1999; Cipriano and Bullock, 2001).

Serolojik testlerden hastalığın teşhisi için lam agglutination, latex agglutination, immunofluorescence ve enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) gibi birçok teknik kullanılabilmektedir. DNA Polymerase Chain Reaction (PCR) tekniğide teşhis amacıyla uygulanabilmektedir (Austin, 1997; Woo and Bruno, 1999).

Hastalık Viral Hemorajik Septisemi, *Haemophilus piscium* tarafından meydana getirilen Ülser Hastalığı ile *Aeromonas liquefaciens*'in balıklarda meydana getirdiği lezyonlardan ayırd edilmelidir (Ribelin and Migaki, 1975; Tanrikul et al., 1996).

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3. 1. Materyal

Bu çalışmada,  $155 \pm 15$  g ağırlığında, 20-25 cm büyüklüğünde toplam 65 adet gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) kullanıldı. Bu balıklar aşağıdaki gibi gruplandırıldı:

- a- 1.Grup (intraperitoneal yolla uygulama yapılan deneme grubu - 25 adet).
- b- 2.Grup (immersiyon yöntemiyle uygulama yapılan deneme grubu - 25 adet).
- c- Kontrol grubu (15 adet).

#### 3. 2. Deneme Havuzlarının Özellikleri

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan, 138x60x40 cm boyutlarında üç adet metal, emaye kaplı havuzlar kullanıldı. Denemeye başlamadan önce bu havuzların dezenfeksiyonu yapıldı.

Deneme süresince her bir havuzda saatte 600 l suyu filtre edebilen eksternal akvaryum filtresi ile akvaryum hava pompası kullanıldı.

#### 3. 3. Kullanılan Suyun Özellikleri

Çalışmada kullanılan suyun mikrobiyolojik ve kimyasal analizleri ile sudaki çözünmüş oksijen miktarı tayin edildi. Bu analizler sonucunda, su içindeki çözünmüş oksijen miktarı 9,1-9,4 mg/l, sertlik derecesi 34 fransız sertlik derecesi, pH'ı 7.25, suyun sıcaklığı ise  $15-18 \pm 1$  C° olarak belirlendi. Mikrobiyolojik analizler sonucunda herhangi bir patojen bakteri izole edilmediği bildirildi.

Deneme süresince her bir havuzda bulunan artezyen suyunun %20'si günlük olarak dinlendirilmiş ve su motoru ile havalandırılmış su ile değiştirildi.

### 3. 4. Balıkların Temini

Denemede kullanılan balıklar, Bağcı Balık Gıda ve Enerji Üretimi San. Tic. A.Ş. alabalık işletmesinden (Bozdoğan/AYDIN), oksijen takviyeli taşıma tankları ile getirildi ve daha önce hazırlanmış olan 3 ayrı havuza 1. grupta 25, 2. grupta 25, kontrol grubunda 15 balık olacak şekilde konuldu. İlk iki gün ortam değişikliği nedeniyle yemleme yapılmadı. Daha sonraki günlerde Bağcı Balık Gıda ve Enerji Üretimi San. Tic. A.Ş.'e ait 2 numaralı pelet yem ile hergün yemleme yapıldı.

### 3. 5. Deneysel İnokulasyon

Deneysel inokulasyondan önce, balıkların ortama adapte olmaları için 14 gün beklendi. Çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında hazırlanan *Aeromonas salmonicida* saha suşu kullanıldı.

Intraperitoneal uygulamadan önce, 1. grup ve kontrol grubu balıklar ayrı plastik küvetlerde % 0,25'lik fenoksietanol solüsyonu ile anesteziye alındı ( Dunier, 1986; Özer et al, 1985; Avcı, 2004). Birinci grup balıklara insülin enjektörleri ile  $3 \times 10^5$  hücre/ml olacak şekilde 0,1 ml bakteri inokulatu, kontrol grubu balıklara ise aynı dozda serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi.

İmmersiyon yöntemiyle yapılan uygulamada, ayrı bir plastik kapta bulunan 30 l suya  $3 \times 10^5$  hücre/ml olacak şekilde 3 ml bakteri inokulatu verildi ve ilk 10 balık 1 saat bu suda bekletildi. İkinci 10 balık için de yeniden hazırlanan suda aynı uygulama tekrarlandı. Geriye kalan 5 balık için 15 l lik suya yine  $3 \times 10^5$  hücre/ml olacak şekilde 1,5 ml bakteri inokulatu verilerek, balıklar 1 saat suda bekletildi. Aynı

uygulamalar 3 gün sonra tekrar edildi. Uygulama işleminden 21 gün sonra mikrobiyolojik incelemeler ile deneme grubu balıklarda *Aeromonas salmonicida* enfeksiyonunun olduğu teyit edildi. Kontrol grubu balıklardan yapılan izolasyonlarda ise herhangi bir patojen bakteriye rastlanmadı.

### 3. 6. Histopatolojik İnceleme

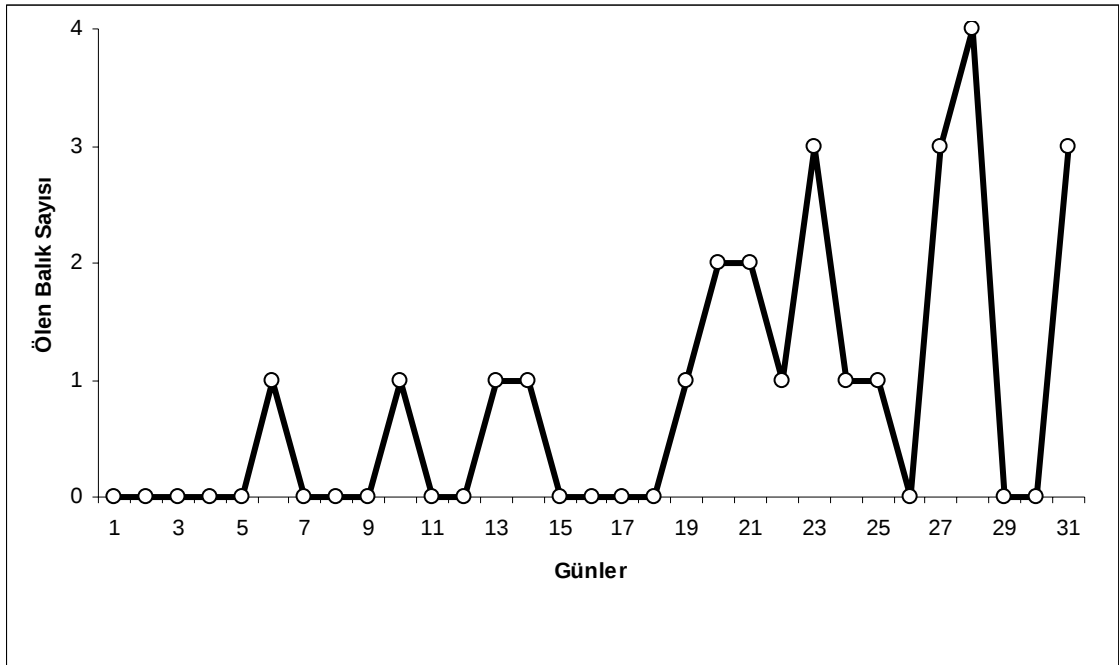
Ölen veya öldürülen balıkların sistemik nekropsileri yapıldı. Tüm organlardan alınan örnekler %10'luk formalin solüsyonunda tespit edildi. Doku örnekleri bilinen yöntemlerle takip edildikten sonra parafinde bloklandı. Daha sonra bu bloklardan Leica RM-2135 marka mikrotomda 5 µ kalınlığında doku kesitleri alındı. Bu kesitlerin tamamı Hematoksilen-Eozin (HE), gerekli görülenler ise bakteri için Brown-Brenn, yağ için Oil Red O boyama tekniklerine göre boyanarak (Luna, 1968) Olympus B X 51 ışık mikroskopunda incelendi. Uygun görülen histopatolojik bulgular ışık mikroskopuna bağlı Olympus C-5050 dijital fotoğraf makinesi ile bilgisayar ortamına aktarıldı.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

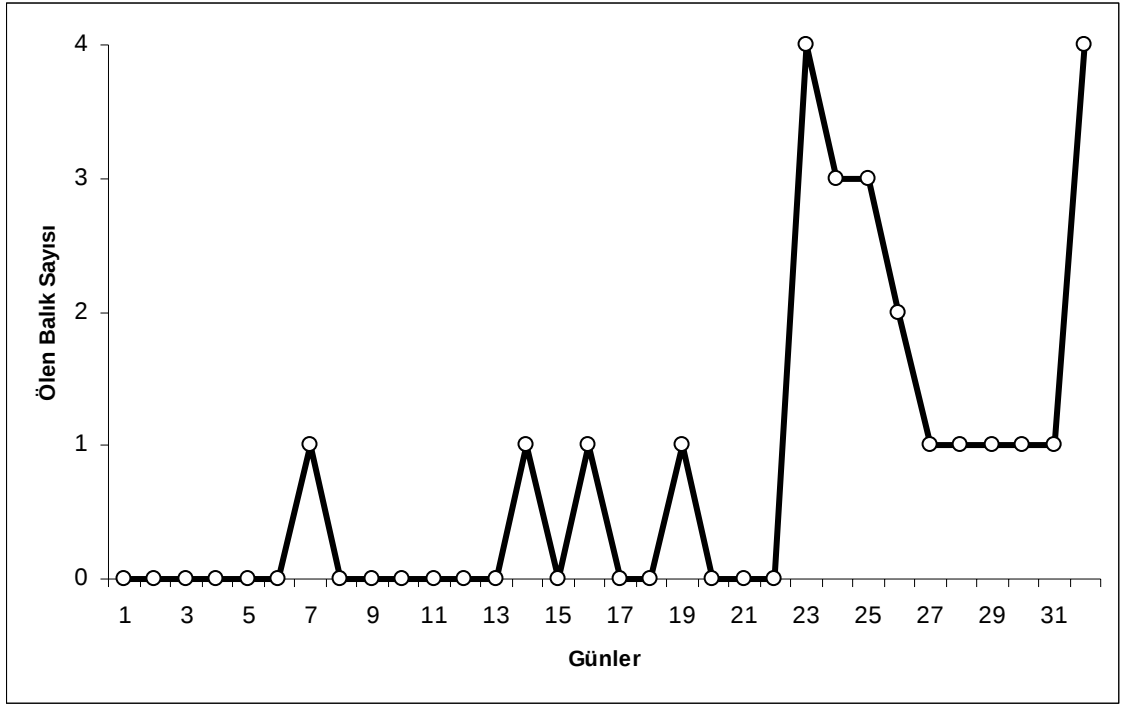
### 4. 1. BULGULAR

İki deneme ve bir kontrol olmak üzere üç grup halinde yürütülen çalışmada hastalığın kronik formu şekillendi ve ölümler 1. grupta 6. günde, 2. grupta ise 7. günde başladı ve 1. grupta 27 ve 28. günlerde, 2. grupta ise 23- 25. günler arası en yüksek seviyesine ulaştı. Birinci grupta kalan 3 balık ile 2. grupta kalan 4 balık 31. günde ötenazi edildi. Gruplar ile şekillenen ölümlere ilişkin bilgiler Şekil 2 ve Şekil 3’de verilmiştir.

Kontrol grubunda bulunan 15 balık ise deneme grubundaki ölümlerle eş zamanlı olarak ötenazi edilerek karşılaştırmalı olarak incelendi.



Şekil 2. Birinci grupta ölen balıkların ölüm günleri ve sayıları.



Şekil 3. İkinci grupta ölen balıkların ölüm günleri ve sayıları.

#### 4. 1. 1. Klinik Bulgular

Klinik olarak, her iki gruptaki balıklarda iştahsızlık, derinin renginde koyulaşma (Şekil 4) ve belirli bölgelerde renk değişiklikleri ile yüzme bozuklukları (yan yüzme, ters yüzme ve dik yüzme) görüldü. İkinci grupta klinik bulguların daha şiddetli olduğu gözlemlendi.

#### 4. 1. 2. Makroskopik Bulgular

Her iki grupta da benzer makroskopik lezyonlar gözlenmiş olup bunların gruplara göre dağılımı Çizelge 1’de verilmiştir. Bu lezyonlar :

Dorsal, ventral ve pektoral yüzgeçlerin tabanında kanamalar (Şekil 6), operkulumundan kuyruk yüzgecine kadar uzanan bölgede; bazı balıklarda yaygın, bazı balıklarda ise yer yer olmak üzere pullarda dökülmeler dikkati çekti (Şekil 5). Mide ve bağırsakların boş ve hiperemik olduğu gözlemlendi. Bağırsaklarda ise kanama görüldü.

Bunların dışında 1. grupta 1 balıkta sol gözde, 1 balıkta sağ gözde ekzoftalmus (Şekil 6) ve perioküler kanamalar dikkati çekti. Altı balıkta genel anemi (Şekil 8), 3 balıkta sadece solungaçlarda anemi, 5 balıkta solungaçlarda hiperemi görüldü. Ayrıca 4 balıkta karında şişkinlik, bunlardan birisinde de karın boşluğunda bol miktarda kanlı sıvı gözlemlendi. Beş balıkta dalak, 4 balıkta da karaciğer normalden büyüktü. İki balıkta karaciğer normalden küçük ve rengi normalden daha açıktı. İki balıkta böbreklerde kanama, 5 balıkta böbrek dokusunda yer yer incelmeler dikkati çekti. İki balıkta perivisseral dokuda peteşiyel kanama odaklarına rastlandı (Şekil 9).

İkinci grupta ise; 1 balıkta sol gözde, 1 balıkta da sağ gözde perioküler kanama (Şekil 7) ve hafif ekzoftalmus, 2 balıkta genel anemi, 4 balıkta ise sadece solungaçlarda anemi dikkati çekti. Altı balıkta karaciğerin renginde açılma gözlemlendi (Şekil 10). Dört balıkta da dalak daha büyüktü. Üç balıkta böbrek dokusunda yer yer incelmeler belirgindi.

Çizelge 1. Klinik ve makroskopik bulguların gruplara göre dağılımı.

| <b>Klinik ve Makroskopik Bulgular</b> | <b>1. Grup<br/>(n: Balık Sayısı)</b> | <b>2. Grup<br/>(n: Balık Sayısı)</b> |
|---------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| İştahsızlık                           | 25                                   | 25                                   |
| Düzensiz yüzme                        | 16                                   | 18                                   |
| Anemi                                 | 6                                    | 2                                    |
| Derinin renginde koyulaşma            | 14                                   | 16                                   |
| Yüzgeç tabanında kanama               | 9                                    | 10                                   |
| Pullarda dökülme                      | 15                                   | 18                                   |
| Ekzoftalmus ve perioküler kanama      | 2                                    | 2                                    |

#### 4. 1. 3. Mikroskopik Bulgular

Genel olarak her iki grupta da birbirine benzer mikroskopik lezyonlar gözlemlendi. İkinci grupta mikroskopik bulguların daha şiddetli olduğu dikkati çekti. Mikroskopik olarak en dikkat çekici bulgu, kas, solungaç, kalp, karaciğer, dalak, böbrekler, mide, pilorik keseler ve bağırsaklarda yangısal yanıt olmaksızın bakteri kümelerinin görülmesiydi. Nitekim bakteri için yapılan Brown Bren tekniğiyle boyamada pozitif sonuçlar alındı (Şekil 13). Lezyonların organlara göre sayısal dağılımları Çizelge 2’de; dereceleri ise Çizelge 3’te gösterilmiştir.

Solungaçlarda ödem, hiperplazi, telangiektazi ve bakteri kümeleri gözlenen başlıca mikroskopik bulgulardır. Ödeme bağlı olarak genişlemiş sekonder lamellerin kapillarları boşluklu ve zincir oluşturmuş halkalar şeklinde görüldü (Şekil 15). Sekonder lamellerin kapillarlarında telangiektazi dikkati çekti (Şekil 16). Ayrıca bu lamellerin çevresinde yangısal yanıt olmaksızın bakteri kümelerine rastlandı. İnterlamellar epitel hücre hiperplazilerine bağlı sekonder lamellerde kalınlaşmalar ve yapışmalar özellikle taban bölgelerinde gözlemlendi (Şekil 14, 15).

Kaslarda erime nekrozları saptandı (Şekil 11). Bu nekroz alanlarının büyüklüğü ve lokalizasyon bölgeleri balıklar arasında farklılıklar gösteriyordu. Bazı myositlerin hücre sınırları belirli kalarak içlerinin tamamen boşaldığı, bazılarında da yine hücre sınırları belli olmak koşuluyla içlerinin yıkımlanma ürünleriyle dolu olduğu gözlemlendi. Bazı olaylarda bu yıkımlanma ürünlerine serbest halde de rastlandı. Erime nekrozlarının olduğu alanlarda yangısal yanıt olmaksızın bakteri kümelerinin varlığı dikkat çekiciydi (Şekil 12).

Kalpte ventriküler boşluklarda yangısal yanıt olmaksızın bakteri kümeleri görüldü.

Karaciğerde subkapsüler erime nekrozları gözlemlendi (Şekil 21). Ayrıca hepatositlerde keskin kenarlı, değişen büyüklüklerde vakuoller şeklinde yağlanmaya rastlandı. Yapılan Oil Red O boyamada pozitif sonuçlar alındı. Benzeri vakuoller kontrol grubunda da gözlemlendi.

Böbrekte kapsüla yüzeyinde ve daha seyrek olarak da tubul lümenlerinde yangısal yanıt olmaksızın bakteri kümelerine rastlandı. Proksimal ve distal tubuller ile akıtıcı kanal epitellerinde hidropik dejenerasyon, hematopoietik doku hücrelerinde azalma ve glomeruluslarda atrofi gözlenen diğer bulgular (Şekil 18, 20).

Mide ve pilorik keselerde serozal yüzeyde ve lümende yangısal yanıt olmaksızın bakteri kümeleri görüldü. Epitel tabakada dökülmeler saptandı. Submukozada EGC (Eozinofilik Granüler Hücreler) sayılarında artışa ve degranülasyona rastlandı (Şekil 17)

Bağırsaklarda serozal yüzeylerde ve lümende yangısal yanıt olmaksızın bakteri kümelerine rastlandı.

Dalakta kapsüla yüzeyinde yangısal yanıt olmaksızın bakteri kümeleri ve lenfoid dokuda nekrozlar dikkati çekti (Şekil 22).

Bunların dışında 1. grupta; 4 balıkta solungaçlarda primer ve sekonder lamellerde kanamalar; 3 balıkta perikarditis ile 1 balıkta ventrikulusta kanamalar; 4 balıkta karaciğerde vena sentralislerde ve kapsüler yüzeyde yangısal yanıt olmaksızın bakteri kümeleri; 8 balıkta böbrekte subkapsüler kanama ile 4 balıkta intertubuler bölgede mononükleer hücre infiltrasyonları; 5 balıkta mide ve pilorik keselerde epitel tabakada ve submukozada hiperemi ve orta derecede kanamalar; 3 balıkta bağırsaklarda submukoza ve epitel tabakasında orta derecede kanamalar; 1 balıkta da pankreas serozasında bakteri kümeleri, gözlenen diğer bulgulardı.

İkinci grupta ise solungaçlarda 1 balıkta EGC sayısında artış ve degranülasyon, 2 balıkta solungaç epitellerinde dökülmeler; 1 balıkta kas demetleri arasında kanamalar; 1 balıkta kalpte ventrikulusta kanamalar; 3 balıkta böbreklerde subkapsüler kanamalar; 6 balıkta mide ve pilorik keselerde epitel tabakası ve submukozada kanamalar; bağırsaklarda 1 balıkta submukozada ödem, 5 balıkta epitel tabakası ve submukozada kanamalar, 1 balıkta mezenteriumda bakteri kümeleri; dalakta 2 balıkta damar çevrelerinde mononükleer hücre infiltrasyonları göze çarpan diğer bulgulardı.

Çizelge 2. Mikroskopik bulgular ve organlara göre dağılımı

| 1. Grup<br>(n: Balık sayısı) | Kaslar | Solung | Kalp | K.ciğer | Böbrek | Mide | Pilorik<br>kese | Bağırs. | Dalak |
|------------------------------|--------|--------|------|---------|--------|------|-----------------|---------|-------|
| Bakteri kümeleri             | 7      | 6      | 10   | 4       | 6      | 4    | 4               | 4       | 12    |
| Kanama                       |        | 4      | 1    |         | 8      | 5    | 5               | 3       |       |
| Ödem                         |        | 15     |      |         |        |      |                 |         |       |
| Hiperemi                     |        |        |      |         |        | 5    | 5               |         |       |
| Hiperplazi                   |        | 15     |      |         |        |      |                 |         |       |
| Dejenerasyon                 |        |        |      |         | 7      |      |                 |         |       |
| Erime nekrozu                | 8      |        |      |         |        |      |                 |         | 6     |
| Yağlanma                     |        |        |      | 6       |        |      |                 |         |       |
| Epitel dökülmesi             |        |        |      |         |        | 7    | 7               | 2       |       |
| EGC sayısında artış          |        |        |      |         |        | 15   | 15              | 6       |       |
| Telangiektazi                |        | 8      |      |         |        |      |                 |         |       |
| Lenfoid dokuda azalma        |        |        |      |         | 8      |      |                 |         |       |
| 2. Grup<br>(n: Balık sayısı) | Kaslar | Solung | Kalp | K.ciğer | Böbrek | Mide | Pilorik<br>kese | Bağırs. | Dalak |
| Bakteri kümeleri             | 15     | 11     | 8    | 6       | 12     | 8    | 8               | 2       | 10    |
| Kanama                       | 1      |        | 1    |         | 3      | 6    | 6               | 5       |       |
| Ödem                         |        | 16     |      |         |        |      |                 | 1       |       |
| Hiperemi                     |        |        |      |         |        |      |                 |         |       |
| Hiperplazi                   |        | 10     |      |         |        |      |                 |         |       |
| Dejenerasyon                 |        |        |      |         | 10     |      |                 |         |       |
| Erime nekrozu                | 15     |        |      |         |        |      |                 |         | 11    |
| Yağlanma                     |        |        |      | 7       |        |      |                 |         |       |
| Epitel dökülmesi             |        | 2      |      |         |        | 6    | 6               | 4       |       |
| EGC sayısında artış          |        | 1      |      |         |        | 15   | 15              | 7       |       |
| Telangiektazi                |        | 4      |      |         |        |      |                 |         |       |
| Lenfoid dokuda azalma        |        |        |      |         | 10     |      |                 |         |       |

Çizelge 3. Mikroskopik bulgular, derecesi ve organlara göre dağılımı

| 1. Grup               | Kaslar | Solung | Kalp | K.ciğer | Böbrek | Mide | Pilorik kese | Bağırs. | Dalak |
|-----------------------|--------|--------|------|---------|--------|------|--------------|---------|-------|
| Bakteri kümeleri      | ++     | ++     | +++  | +       | ++     | +    | +            | +       | +++   |
| Kanama                |        | +      | +    |         | ++     | +    | +            | +       |       |
| Ödem                  |        | +++    |      |         |        |      |              |         |       |
| Hiperemi              |        |        |      |         |        | +    | +            |         |       |
| Hiperplazi            |        | +++    |      |         |        |      |              |         |       |
| Dejenerasyon          |        |        |      |         | ++     |      |              |         |       |
| Erime nekrozu         | ++     |        |      |         |        |      |              |         | ++    |
| Yağlanma              |        |        |      | ++      |        |      |              |         |       |
| Epitel dökülmesi      |        |        |      |         |        | ++   | ++           | +       |       |
| EGC sayısında artış   |        |        |      |         |        | +++  | +++          | ++      |       |
| Telangiektazi         |        | ++     |      |         |        |      |              |         |       |
| Lenfoid dokuda azalma |        |        |      |         | ++     |      |              |         |       |
| 2. Grup               | Kaslar | Solung | Kalp | K.ciğer | Böbrek | Mide | Pilorik kese | Bağırs. | Dalak |
| Bakteri kümeleri      | +++    | +++    | ++   | ++      | +++    | ++   | ++           | +       | +++   |
| Kanama                |        |        | +    |         | +      | ++   | ++           | ++      |       |
| Ödem                  |        | +++    |      |         |        |      |              | +       |       |
| Hiperemi              |        |        |      |         |        |      |              |         |       |
| Hiperplazi            |        | +++    |      |         |        |      |              |         |       |
| Dejenerasyon          |        |        |      |         | +++    |      |              |         |       |
| Erime nekrozu         | +++    |        |      |         |        |      |              |         | +++   |
| Yağlanma              |        |        |      | ++      |        |      |              |         |       |
| Epitel dökülmesi      |        | +      |      |         |        | ++   | ++           | +       |       |
| EGC sayısında artış   |        | +      |      |         |        | +++  | +++          | ++      |       |
| Telangiektazi         |        | +      |      |         |        |      |              |         |       |
| Lenfoid dokuda azalma |        |        |      |         | +++    |      |              |         |       |

(+) Hafif Derecede; (++) Orta Derecede; (+++) Şiddetli



Şekil 4. Derinin renginde koyulaşma (2. grup).



Şekil 5. Deride yaygın pul dökülmeleri (2. grup).



Şekil 6. Pektoral yüzgeç tabanında kanama ve sağ gözde ekzoftalmus (1. grup).



Şekil 7. Sağ gözde perioküler kanama (2. grup).



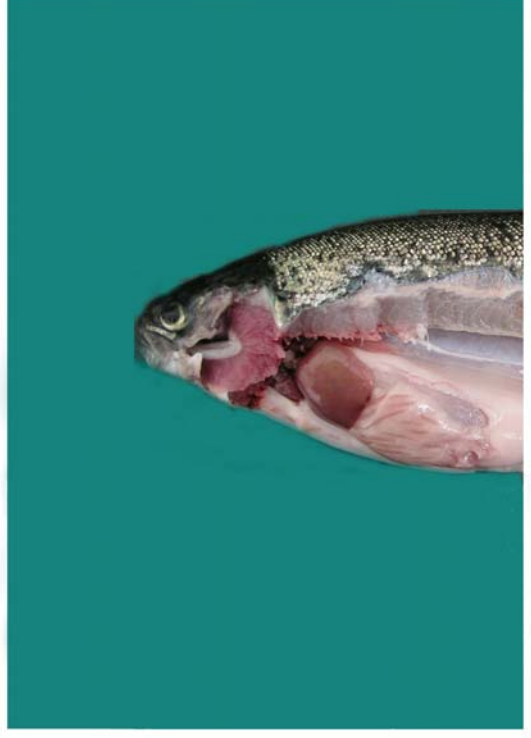
Şekil 8. Genel anemi (1. grup).



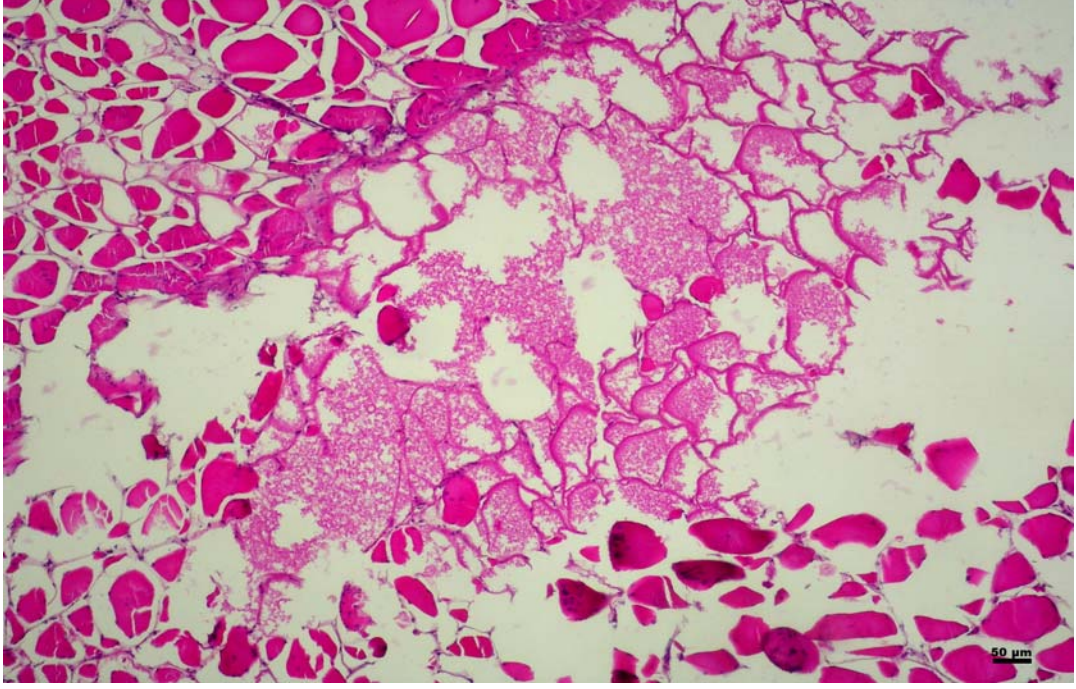
Şekil 9. Perivisserral dokuda peteşiyel kanamalar (1. grup).



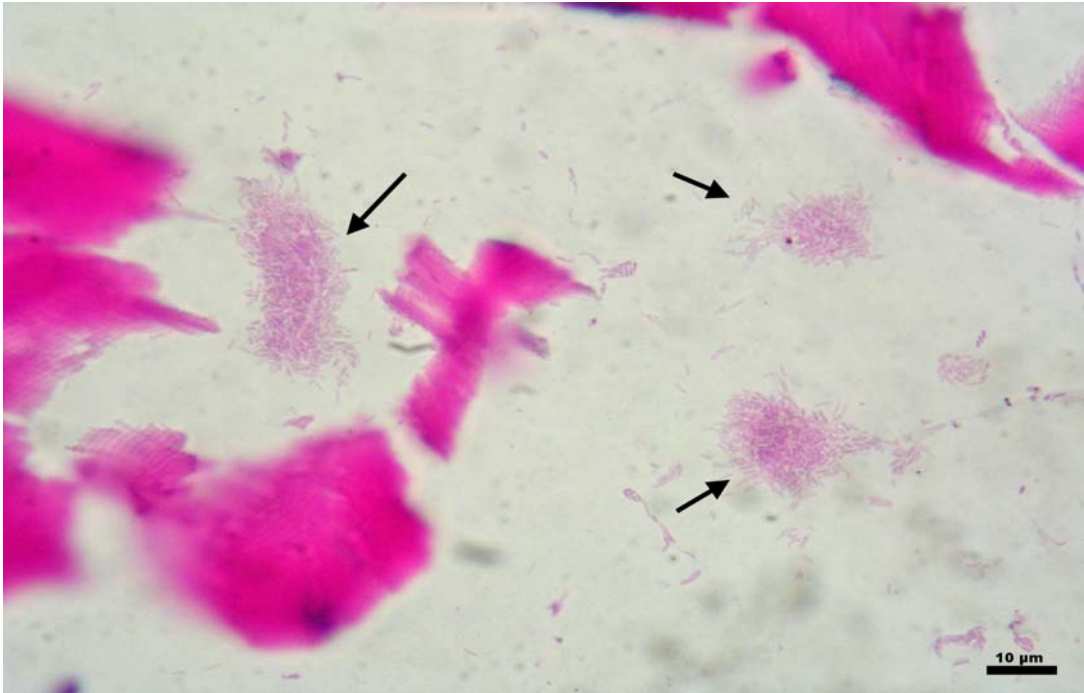
Şekil 10. Karaciğerin renginde açılma (2. grup)



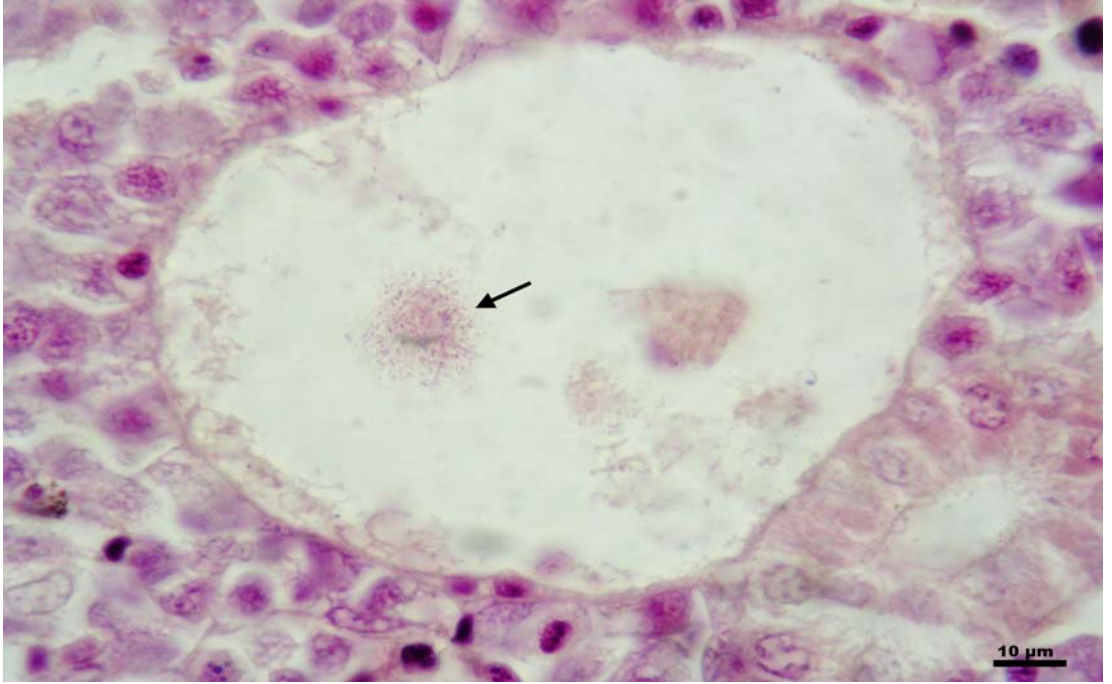
Kontrol grubu karaciğeri



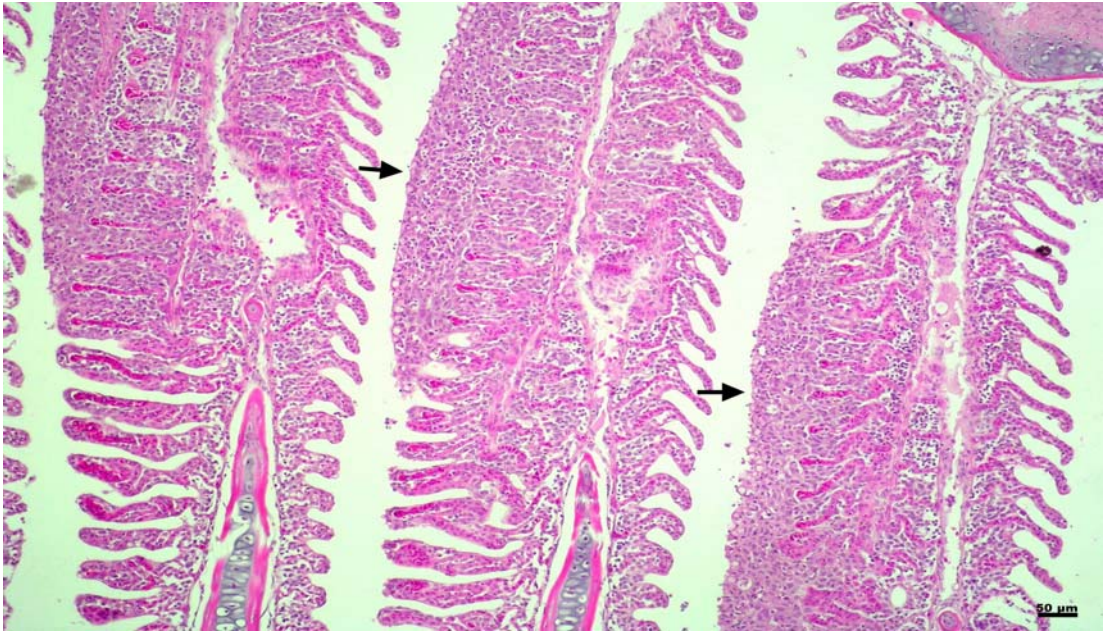
Şekil 11. Dorso-lateral kaslarda erime nekrozu (2. grup). HE.



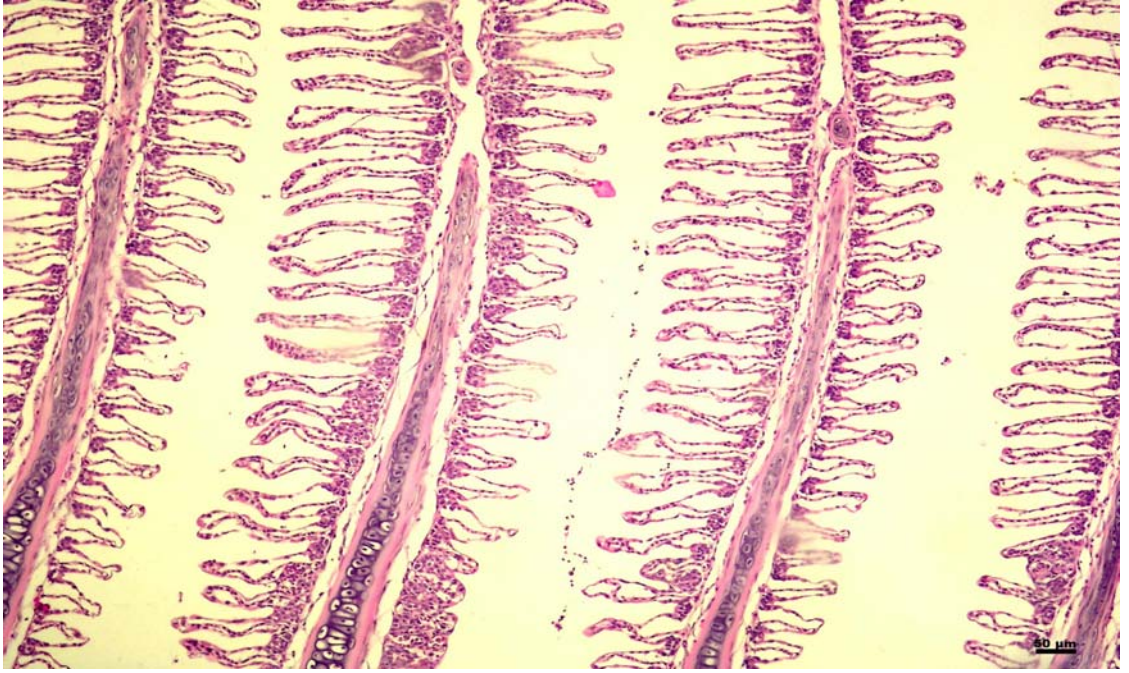
Şekil 12. Kas dokuda erime nekrozunun bulunduğu alanlarda bakteri kümeleri (2. grup - oklar ). HE.



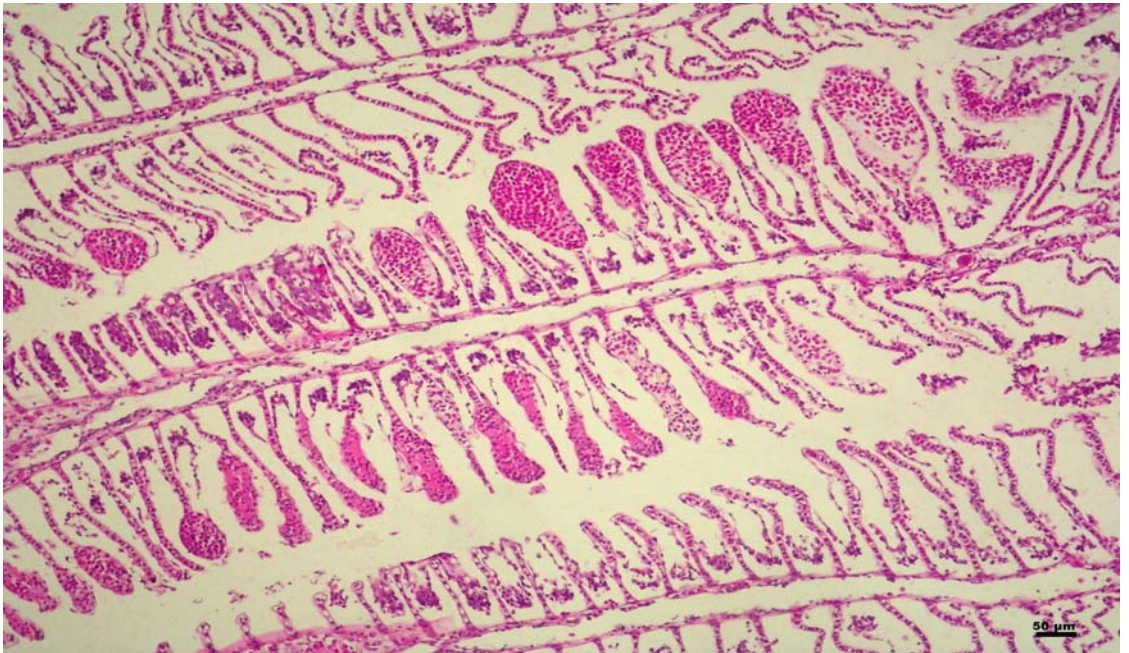
Şekil 13. Böbrekte tubulus lümeninde bakteri kümesi (2. grup – ok). Brown-Brenn.



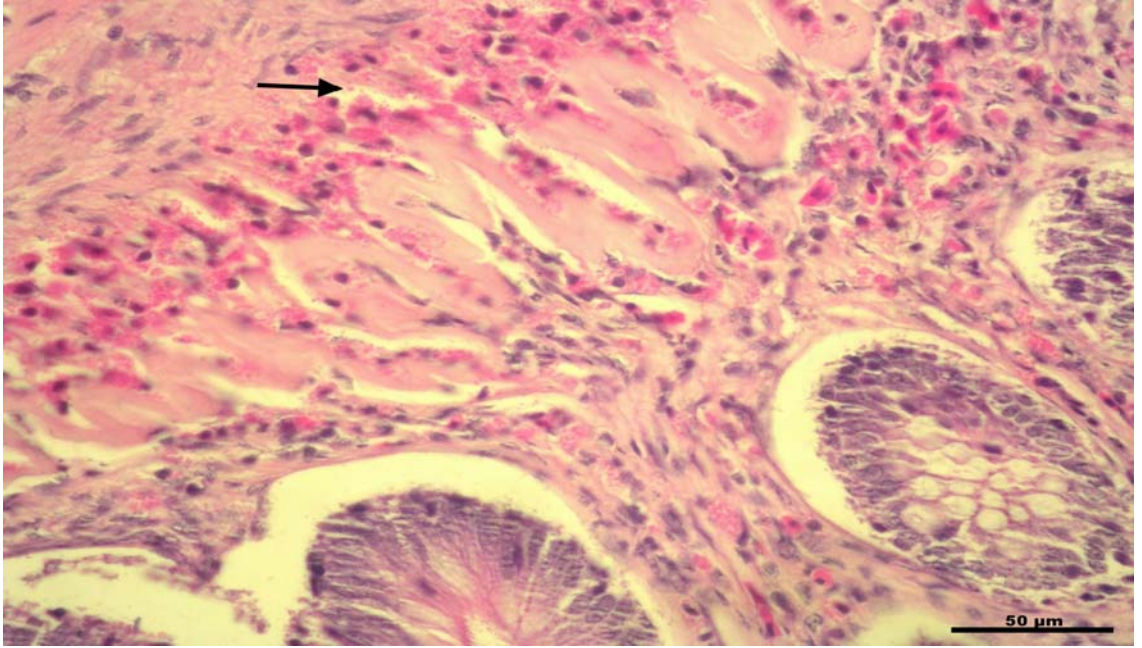
Şekil 14. Sekonder lamellerde şiddetli hiperplazi (1. grup - oklar). HE.



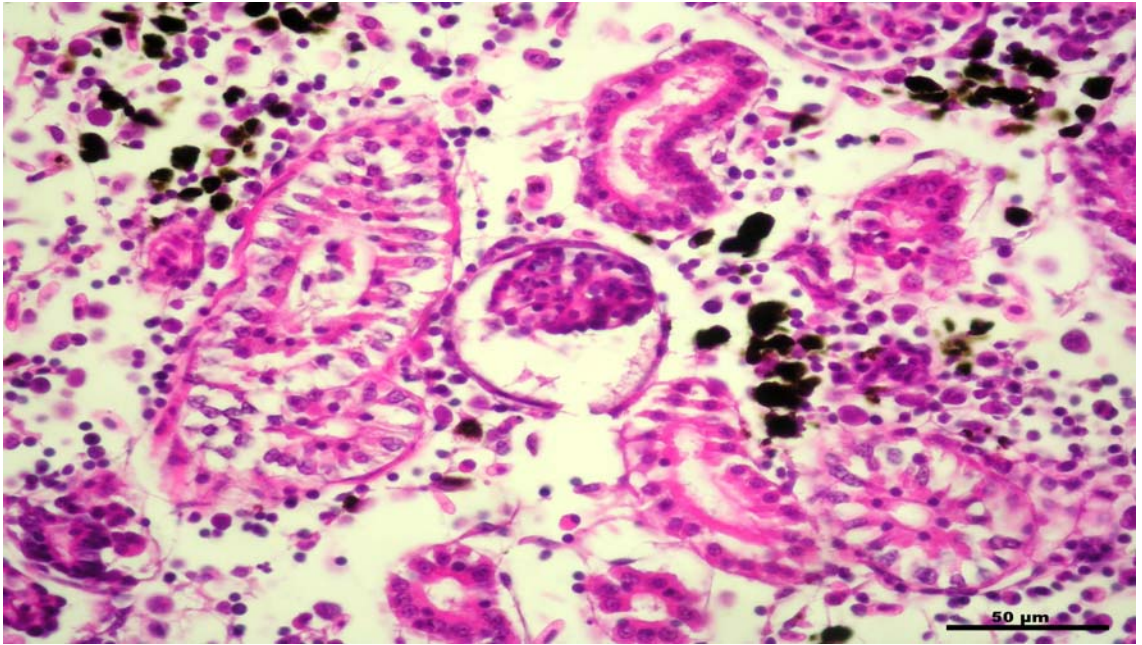
Şekil 15. Sekonder lamellerde ödem ve tabanlarında hafif hiperplazi (2. grup). HE.



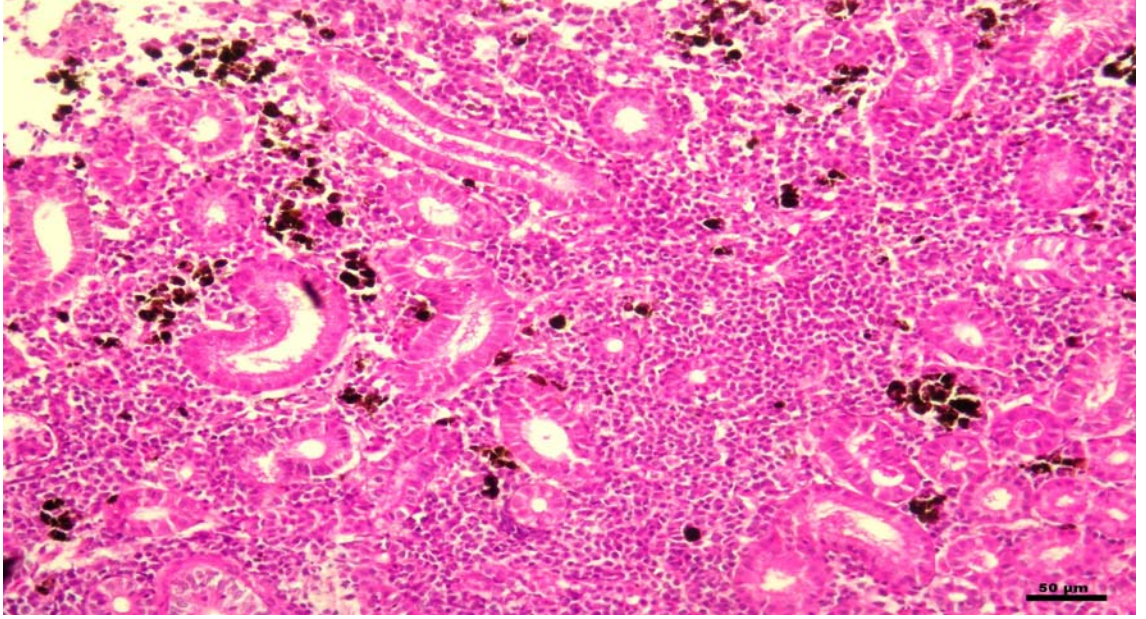
Şekil 16. Sekonder lamel kapıllarlarında telangiektazi (2. grup). HE



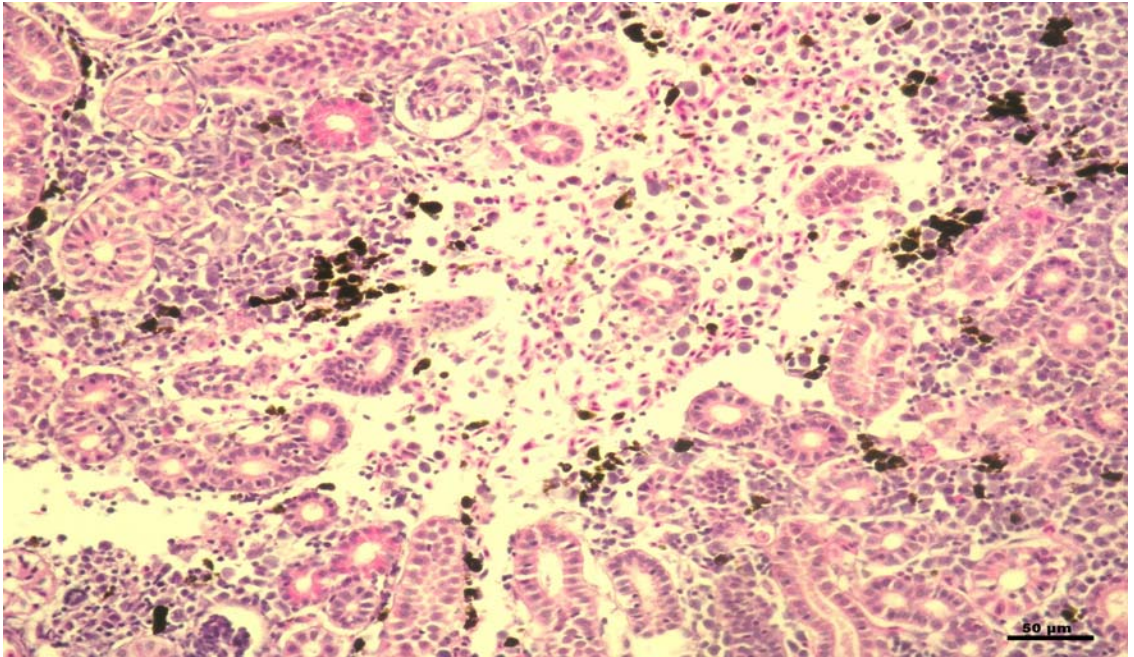
Şekil 17. Midede submukozada EGC (Eozinofilik Granüler Hücre)'ler de degranülasyon ve serbest granüller (ok - 2. grup). HE.



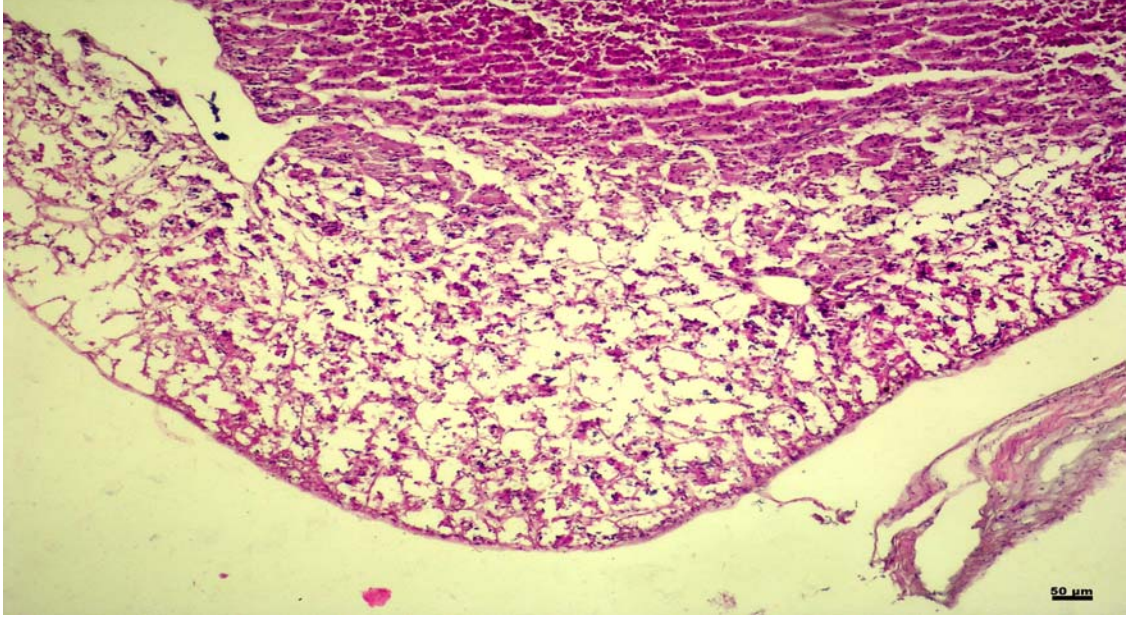
Şekil 18. Böbrekte tubul epitellerinde hidropik dejenerasyon, hematopoitik doku hücrelerinde azalma, glomerulusta atrofi (2. grup). HE.



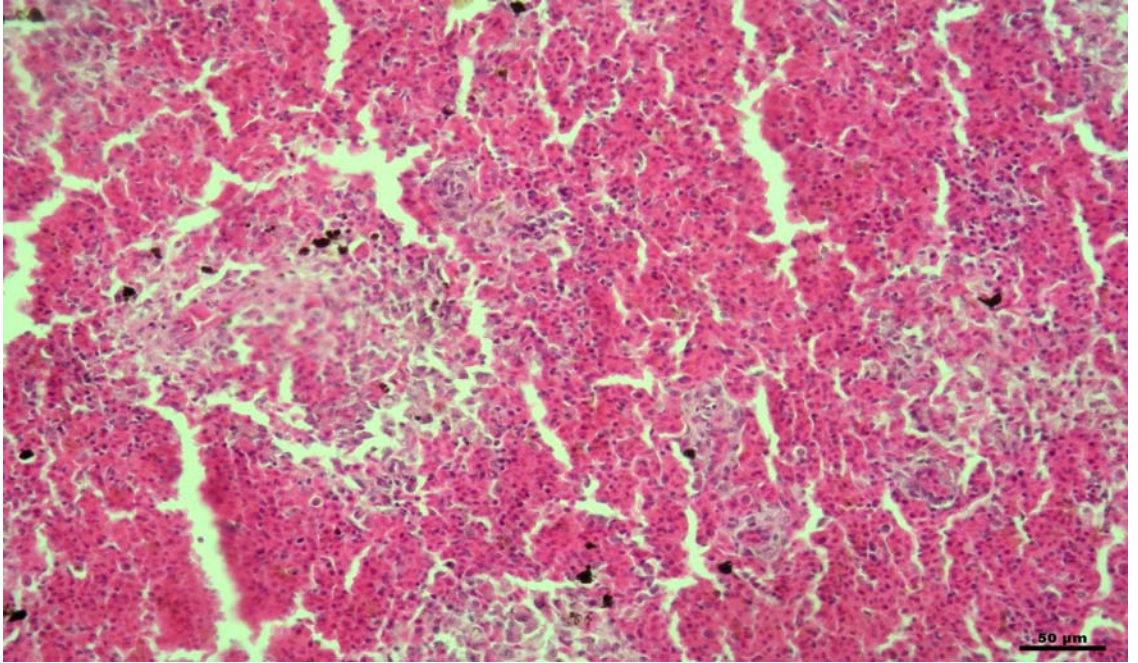
Şekil 19. Böbrekte hematopoietik doku (kontrol grubu). HE.



Şekil 20. Böbrekte hematopoietik doku hücrelerinde azalma (2. grup). HE.



Şekil 21. Karaciğerde subkapsüler erime nekrozları (2. grup). HE.



Şekil 22. Dalakta lenfoid dokuda nekroz (2. grup). HE.

## 4. 2. TARTIŞMA

Furunkülozis, başta alabalıklar olmak üzere çeşitli balık familyalarına ait türlerde *Aeromonas salmonicida*'nın oluşturduğu, perakut, akut veya kronik seyirli bir hastalıktır (Ribelin and Migaki, 1975; Roberts, 2001; Erer, 2002). Hastalığa en duyarlı balık familyası alabalıklardır (Woo and Bruno, 1999). Bu çalışmada, bölgemizde yoğun bir şekilde yetiştiriciliği yapılan, gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792), *Aeromonas salmonicida* ile intraperitoneal yol ve immersiyon yöntemiyle enfekte edilmiş, deneysel Furunkülozis oluşturularak klinik, makroskobik ve mikroskobik bulgular incelenmiştir.

Hastalıkta perakut formun sıklıkla yavru balıklarda görüldüğü, hiçbir semptom göstermeksizin ani ölümlerle seyrettiği; akut formun genellikle genç balıklarda görüldüğü ve balıkların 2-3 gün içerisinde kitleler halinde öldüğü; subakut ve kronik formların ise daha çok yaşlı balıklarda görüldüğü, ölümlerin yavaş başladığı ve gittikçe arttığı bildirilmiştir (Lee and Ellis, 1991; Tanrıkul et al., 1996; Vipond et al., 1998; Woo and Bruno, 1999; Erer, 2002). Bu çalışmada da  $155 \pm 15$  g ağırlığında, 20-25 cm büyüklüğünde, gökkuşağı alabalıkları kullanılmış ve hastalığın kronik formu oluşturulmuştur. Şekil 2 ve 3'te de görüldüğü gibi, literatürlerle uyumlu bir şekilde, oluşturulan kronik enfeksiyonda ölümler yavaş başlamış ve gittikçe artmıştır. Ölümler 1. grupta 6. günde başlamış, 27 – 28. günde en yüksek seviyesine ulaşmışken; 2. grupta 7. günde başlamış ve 23 - 25. günlerde en yüksek seviyesine ulaşmıştır.

Hastalığa adını veren furunkül oluşumunun genellikle yaşlı balıklarda ve hastalığın kronik formunda meydana geldiği bildirilmiştir (Lee and Ellis, 1991; Tanrıkul et al., 1996; Vipond et al., 1998; Woo and Bruno, 1999; Erer, 2002). Çalışmamızda da kronik enfeksiyon oluşturulmasına rağmen furunkül oluşumu gözlenmemiştir. Buna ilaveten, yapılan çalışmalarda enfeksiyon oluşumunda ortam ısısının önemli bir role sahip olduğu, optimum ısı aralığının 18-22 C° olması gerektiği, 13 C°'nin altında da kronik enfeksiyonun meydana gelebildiği bildirilmiştir (Bullock et al., 1983; Woo and Bruno, 1999). Bu çalışmada da deneme süresince su

sıcaklığı  $15-18\pm 1$  C° arasında değişmiş, optimum ısı aralığının alt sınırının 3 C° altında gerçekleşmiştir. Enfeksiyonun oluşmasında bir diğer etkili faktör, suyun oksijenden fakir olmasıdır (Woo and Bruno, 1999; Erer, 2002). Normal koşullarda alabalıklar için oksijen miktarının 6-7 mg/l'nin altına düşmemesi gerektiği belirtilmiş (Alpbaz, 1995), bu araştırmada kullanılan suda, çözülmüş oksijen miktarı 9,1-9,4 mg/l olarak belirlenmiştir.

Hastalığın kronik formunda klinik ve makroskopik olarak iştahsızlık, yüzme bozuklukları, balığın renginde koyulaşma ve deride renk değişiklikleri, hafif ekzoftalmus, yüzgeç tabanlarında kanamalar, vücudun yanlarında ve yüzgeç tabanlarında küçük ve çok sayıda furunküllerin görüldüğü belirtilmiş, bütün bunlardan etkenin ekstrasellüler ürünleri sorumlu tutulmuştur (Ribelin and Migaki, 1975; Vipond et al., 1998; Woo and Bruno, 1999; Cipriano and Bullock, 2001). Bu çalışmada ise uygulamaların yapıldığı günden itibaren; 1. grupta 5. günden, 2. grupta 7. günden sonra iştahsızlık; 1. grupta 9. günden , 2. grupta 12. günden sonra balıkların renginde koyulaşma; 1. grupta 4. günden, 2. grupta 9. günden sonra deride renk değişiklikleri; 1. grupta 10. günden, 2. grupta 14. günden sonra yüzgeç diplerinde kanamalar; 1. grupta 6. günden, 2. grupta 12. günden sonra yüzme bozuklukları; 1. ve 2. grupta 14. günden sonra pullarda dökülmeler görülmüş; fakat furunküller görülmemiştir. Klinik ve makroskopik bulgular ile gruplara göre sayısal dağılımı Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Mikroskopik olarak enfekte balıklarda en çok dikkat çeken özellik yangısal yanıt olmaksızın bakteri kümelerinin görülmesidir (Ribelin and Migaki, 1975; Bricknell et al., 1996). Etkenin salgıladığı major ekstrasellüler toksinlerden biri olan GCAT'nin yine etkenin yapısal komponentlerinden biri olan LPS ile yaptığı GCAT/LPS kompleksi hemolitik, lökositolitik ve sitolitik etkilidir (Lee and Ellis, 1990; Woo and Bruno, 1999; Cipriano and Bullock, 2001). Bu etkilere bağlı olarak hematopoietik doku yıkımı meydana gelmekte, bu da böbrekte interstisyel hematopoietik doku hücrelerinde azalma ve dalakta nekrozlara yol açmaktadır. Ayrıca bakterinin bir diğer yapısal komponenti olan A-Layer Protein, bir adhezin olarak etkenin makrofajlara bağlanma, içerisine girme ve içinde gelişimine devam

etmesini sağlayarak fagositozisin önlenmesine yol açmaktadır (Garduno et al., 1993; Daly et al., 1996; Garduno et al., 2000; Cipriano and Bullock, 2001). Meydana gelen hematopoietik doku yıkımı ve fagositozis önlenmesi, iç organlarda yangısal bir yanıt görülmeksizin bakteri kümelerinin oluşmasına neden olmaktadır. Bu çalışmada da kaslarda, solungaçlarda, kalpte, midede, pilorik keselerde, bağırsaklarda, böbreklerde ve dalakta yangısal bir yanıt görülmeksizin bakteri kümeleri görülmüştür. Nitekim Brown-Brenn boyama yöntemi ile yapılan boyamada da bakteri kümelerine ilişkin pozitif sonuçlar alınmıştır. Deneme grubu balıkların büyük çoğunluğunda hematopoietik doku yıkımı meydana gelmesine rağmen aynı oranda bir anemi tablosu görülmemiştir. Bu da aneminin meydana gelmesi için yeterli zamanın olmayışı şeklinde yorumlanmıştır. Nitekim uygulamaların yapıldığı günden itibaren 1. grupta 27. günde, 2. grupta da 29. günlerde anemi görülmeye başlanmıştır. Balıklarda aneminin görüldüğü günlerin, denemenin son günleri olması da bu yorumu destekler bulgular olarak değerlendirilmiştir.

Kaslarda gözlenen erime nekrozları özellikle bakterilerin yoğun olarak lokalize oldukları bölgelerde meydana gelmektedir. Bakterinin salgıladığı bir ekstrasellüler toksin olan EP' de bulunan proteazın özellikle kaslarda gözlenen erime nekrozlarının temel nedeni olduğu bildirilmiş (Lee and Ellis, 1991), sunulan bu çalışmada da yukarıda bildirilenlerle uyumlu olarak 1. grupta 8, 2. grupta ise 15 balıkta kaslarda erime nekrozları gözlenmiştir.

Solungaçlarda primer ve sekonder lamellerde bakteri kümelerinin damarlarda trombozlara yol açması sonucu ödem görüldüğü bildirilmiştir (Roberts, 2001). Bu çalışmada ise özellikle sekonder lameller çevresinde yoğun bakteri kümeleri görülmesine rağmen, damarlarda aynı yoğunlukta bakteri kümelerine ve buna bağlı olarak da trombozlara rastlanmamıştır. Ancak yaygın bir biçimde ödem gözlenmiştir. Ayrıca çalışmada, sekonder lamellerin özellikle taban bölgelerinde kalınlaşma ve birbirine yapışmalar ile hiperplaziler dikkati çekmiştir. Nitekim sekonder lamellerdeki yapışmaların şiddetli lamellar hiperplazilere bağlı olarak şekillendiği bildirilmiş (Hibiya, 1982), bu çalışmada gözlenen sekonder lamellerdeki yapışmaların da lamellar hiperplazilerden kaynaklandığı görüşünü destekler bulgular

olarak değerlendirilmiştir. Bunların dışında solungaçlarda fiziksel travmalar sonucu olduğu bildirilen telangiektaziler (Hibiya, 1982), bu çalışmada da 1. grupta 8, 2. grupta ise 4 balıkta dikkati çekmiş ve nakiller sırasında meydana gelen fiziksel travmalara yorumlanmıştır.

*Aeromonas salmonicida*'nın ekstrasellüler ürünlerinin letal dozlarda balıklara enjeksiyonunun hastalığın tipik klinik semptomlarının ve makroskopik bulgularının oluşmasına, solungaçlarda ve bağırsaklarda bulunan EGC'ler de şiddetli degranülasyona neden olduğu, bununda solungaçlar etrafındaki kan akımında düzensizliğe, dolaşım yetersizliğine ve sonuçta balığın ölümüne yolaçtığı bildirilmiş (Ellis, 1985; Lee and Ellis, 1991; Vipond et al., 1998), sunulan bu çalışmada da mide ve pilorik keselerin submukozalarında ve sadece bir balıkta solungaçlarda EGC sayısında artışa ve degranülasyona rastlanmıştır. Meydana gelen bu degranülasyonun yol açtığı dolaşım bozukluğunun solungaçlarda gözlenen yaygın ödemin nedeni olabileceği düşünülmüştür.

Hastalıkta önemli bir bulgu olarak göze çarpan bakteri kümelerinin kalpte stazise ve buna bağlı olarak myokartta nekroza yol açtığı bildirilmiştir ( Ribelin and Migaki, 1975; Bricknell et al., 1996). Bu araştırmada kalpte ventriküler boşluklarda bakteri kümelerine rastlanmış fakat myokartta nekroz görülmemiştir.

Karaciğerde hepatositlerde yağlanma saptanmış, hem kontrol hem de deneme gruplarında görülmesi nedeniyle hastalığa spesifik bir bulgu olmayıp başka nedenlerden meydana gelebileceği düşünülmüştür.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sonuç olarak; intraperitoneal yol ve immersiyon yöntemi kullanılarak *Aeromonas salmonicida* ile enfekte edilen gökkuşağı alabalıklarında deneysel olarak kronik Furunkülozis oluşturulmuş, lezyonlar makroskopik ve mikroskopik olarak incelenmiştir. Her iki grupta da makroskopik olarak dorsal, ventral ve pektoral yüzgeçlerin tabanında kanamalar, operkulumdan kuyruk yüzgecine kadar uzanan bölgede; bazı balıklarda yaygın, bazı balıklarda ise yer yer olmak üzere pullarda dökülmeler; mikroskopik olarak solungaçlarda, kaslarda ve iç organlarda yangısal yanıt olmaksızın bakteri kümeleri ile kaslarda ve dalakta erime nekrozları, böbreklerde hematopoietik doku hücrelerinde azalma gibi bulgular şekillenmiştir. Ayrıca immersiyon yönteminin uygulandığı 2. grupta klinik ve mikroskopik bulguların daha şiddetli meydana geldiği gözlenmiş, deneysel çalışmalarda immersiyon yönteminin kullanılmasının intraperitoneal yola göre daha uygun olduğu kanısına varılmıştır.

## ÖZET

Bu araştırma *Aeromonas salmonicida* ile deneysel Furunkülozis'in intraperitoneal yol ve immersiyon yöntemiyle oluşturulması, makroskopik ve mikroskopik bulguların incelenmesi amacıyla yapıldı. Bu amaç için, 50 adet deneme grubu, 15 adet kontrol grubu olmak üzere toplam 65 adet,  $155 \pm 15$  g ağırlığında, 20-25 cm büyüklüğünde gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) kullanıldı. İntraperitoneal yolla oluşturulan enfeksiyonda (1. Grup) 25 adet balığa  $3 \times 10^5$  hücre/ml olacak şekilde 0,1 ml bakteri inokulatu verildi. İmmersiyon yöntemiyle uygulama yapılan diğer gruptaki (2. Grup) 25 adet balık,  $3 \times 10^5$  hücre/ml olacak şekilde 3 ml bakteri inokulatu verilen 30 l suda 1 saat bekletildi. Aynı uygulama 3 gün sonra tekrar edildi. Kontrol grubundaki 15 balığa ise 0,1 ml serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi. Birinci grupta ilk ölüm, uygulamanın 6. gününde, 2. grupta ise 7. gününde meydana geldi ve kalan 7 balık (3 adet 1. grup, 4 adet 2. grup) uygulamanın 31. gününde ötenazi edildi. Bu balıkların sistemik nekropsileri yapıldı, makroskopik ve mikroskopik bulgular değerlendirildi .

Her iki deneme grubunda da hastalığın kronik formu şekillendi. Balıklarda klinik ve makroskopik olarak, iştahsızlık, derinin renginde koyulaşma, yüzme bozuklukları, dorsal, ventral ve pektoral yüzgeçlerin tabanında kanamalar, operkulumundan kuyruk yüzgecine kadar uzanan bölgede; bazı balıklarda yaygın, bazı balıklarda ise yer yer olmak üzere pullarda dökülmeler dikkati çekti.

Her iki deneme grubunda, mikroskopik olarak, kaslarda, solungaçlarda, kalpte, midede, pilorik keselerde, bağırsaklarda, böbreklerde ve dalakta yangısal bir yanıt görülmeksizin bakteri kümeleri; kaslarda erime nekrozları; dalakta lenfoid dokuda nekrozlar; böbrekte hematopoietik doku hücrelerinde azalma; solungaçlarda ödem, hiperplazi ve telangiektazi saptandı.

## SUMMARY

This research was carried out to constitute experimental furunculosis with *Aeromonas salmonicida* using intraperitoneal route and immersion method, as well as to investigate macroscopic and microscopic findings. For this reason, a total of 65 (50 experimental and 15 control) rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) (weight  $155 \pm 15$  g and 20-25 cm in size) were used. *Aeromonas salmonicida* at a concentration of  $3 \times 10^5$  cfu/ml (0,1 ml per fish) was intraperitoneally injected to twenty five fish (first group). Another group (second group) were immersed into 30 l water inoculated with 3 ml of bacterial inoculum ( $3 \times 10^5$  cfu/ml) for one hour. The same application was repeated after three days. Sterile saline solution (0,1ml/fish) was intraperitoneally injected to control group. The first deaths were observed on the 6<sup>th</sup> day of application in the first group and on the 7<sup>th</sup> day of the second group. The remaining alive fish were killed on the 31<sup>st</sup> day of application (7 fish- 3 fish first group, 4 fish second group). The death and euthanasied fish were necropsied, macroscopic and microscopic findings were evaluated.

The chronic form of disease was observed in both groups. Anorexie, darkening in the skin, irregular swimming, hemorrhage at the dorsal, ventral and pectoral base of fins were the main clinic and macroscopic findings. However, in some fish, diffused or focal scale eruption on the dermis from operculum to caudal fin were observed.

Microscopically, foci of bacteria with no inflammatory response were observed especially in the muscles, gills, heart, stomach, pyloric caeca, intestines, kidney and spleen, in both of experimental groups. In addition, liquefactive necrosis in the muscles, reduction in the lymphoid cells of hematopoietic tissue of kidney, oedema, hyperplasia and telangiectasi in the gills were determined.

## TEŞEKKÜR

Tezimin tüm aşamalarında benden yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Nursal Metin ile Sayın Hocalarım Prof. Dr. Serap Birincioğlu ve Doç. Dr. Nihat Toplu'ya; yardım ve desteklerinden dolayı Arş. Gör. Hamdi Avcı'ya içtenlikle teşekkür ederim.

Bu çalışmada; Bağcı Balık Gıda ve Enerji Üretimi San. Tic. A.Ş. yetkililerine ve çalışanlarına, Yrd. Doç. Dr. Şükrü Kırcan'a, Ahmet Bayraktar'a ve tüm emeği geçenlere sağladıkları destek nedeniyle teşekkür ederim.

## 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 of Clin Microbiol. 41(6):2348-2357
2. ALPBAZ, A., 1995. Pratik Alabalık Yetiştiriciliği. E.Ü. Basımevi, İzmir.
3. ARDA, M., 1997. Özel Mikrobiyoloji. Dördüncü Baskı. Medisan Yayınl. No:26, Konya. 62s.
4. ARDA, M., SEÇER, S., SARIEYYÜPOĞLU, M., 2002. Balık Hastalıkları. Medisan Yayın Serisi, Ankara.
5. ARNESEN, J., A., EGGSET, G., 1999. Isolation and characterisation of two extracellular metalloproteases from *Aeromonas salmonicida ssp. salmonicida*. J. Fish Dis. 22, 35-43.
6. AUSTİN, B., 1997. Progress in understanding the fish pathogen *Aeromonas salmonicida*. Marine Biotechnology, 15:131-134.
7. AUSTİN, B., 2002. Fish need doctoring too. Microbiol. Today, 29:171-173.
8. AVCI, H., 2004. Deneyisel olarak *Yersinia ruckeri* ile enfekte edilmiş gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) patolojik bulgular. ADÜ Sağlık Bil. Ens., Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
9. BALOWS, A., TRÜPER, G., H., DWORKİN, M., HARDER, W., SCHLEİFER, K., H., 1991. The Prokaryotes. Second Ed., Springer-Verlag, New York, 3012-3020 s.

10. BRICKNELL, I., R., BRUNO, D., W., STONE, J., 1996. *Aeromonas salmonicida* infectivity studies in goldsinny wrasse, *Ctenolabrus rupertis* (L.). J. Fish Dis. 19, 469-474.
11. BROCKLEBANK, J., R., 1998. Ulcerative dermatitis caused by *Aeromonas salmonicida* spp. *salmonicida* in farmed Atlantic salmon in British Columbia. Can. Vet. J. 39:110.
12. BULLOCK, G., L., CIPRIANO, R., C., SNIESZKO, S., F., 1983. Furunculosis and other diseases caused by *Aeromonas salmonicida*. Fish Disease Leaflet 66, USDOI, Fish and Wildlife Service, Div. Fish Res., Wash. D.C. 20240.
13. CHAPMAN, P., F., CIPRIANO, R., C., TESKA, J., D., 1991. Isolation and phenotypic characterization of an oxidase-negative *Aeromonas salmonicida* causing Furunculosis in Coho salmon(*Oncorhynchus kisutch*). Journal of Wildlife Diseases. 27(1):61-67.
14. CHART, H., SHAW, D., H., ISHIGURO, E., E., TRUST, T., J., 1984. Structural and immunochemical homogeneity of *Aeromonas salmonicida* lipopolysaccharide. J Bacteriol. 158(1): 16–22.
15. CHU, S., CAVAGNAC, S., FEUTRIER, J., PHIPPS, B., M., KOSTRZYNSKA, M., KAY, W., W., TRUST, T., J., 1991. Structure of the tetragonal surface virulence array protein and gene of *Aeromonas salmonicida*. J. Biol Chem. 266(23):15258-15265.
16. CIPRIANO, R., C. Ve BULLOCK, G., L., 2001. Furunculosis and other diseases caused by *Aeromonas salmonicida*. Fish Dis. Leaflet 66, 1-19.
17. COLWELL, R., R., MAC DONELL, M., T., DE LEY, J., 1986. Proposal to recognize the family Aeromonadaceae. Int. J. Syst. Bacteriol. 36:473-477.

18. DACANAY, A., JOHNSON, S., C., BJORNSDOTTIR, R., EBANKS, R., O., ROSS, N., W., REITH, M., SINGH, R., K., HIU, J., BROWN, L., L., 2003. Molecular characterization and quantitative analysis of superoxide dismutases in virulent and avirulent strains of *Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida*. J. of Bacteriol. 185(15):4336-4344.
  
19. DALMO, R., A., SETERNES, T., ARNESEN, S., M., JORGENSEN, T., O., BOGWALD, J., 1998. Tissue distribution and cellular uptake of *Aeromonas salmonicida* lipopolysaccharide (LPS) in some marine fish species. J. Fish Dis. 21,321 -334.
  
20. DALSGAARD, I. VE MADSEN, L., 2000. Bacterial pathogens in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), reared at Danish freshwater farms. J. Fish Dis. 23, 199-209.
  
21. DALY, J., G., KEW, A., K., MOORE, A., R., OLIVIER, G., 1996. The cell surface of *Aeromonas salmonicida* determines in vitro survival in cultured brook trout (*Salvelinus fontinalis*) peritoneal macrophages. Microb Pathog. 21(6):447-461.
  
22. DOIG, P., EMÖDY, L., TRUST, T., J., 1992. Binding of laminin and fibronectin by the trypsin-resistant major structural domain of the crystalline virulence surface array protein of *Aeromonas salmonicida*. J. Biol. Chem. 267(1): 43-49.
  
23. DUNIER, C., M., 1986. Secondary response of Rainbow trout to Dnp-Haemocyanin and *Yersinia ruckeri*. Aquaculture. 52:81-86
  
24. ELLIS, A., E., 1985. Eosinophilic granular cells (EGC) and histamine responses to *Aeromonas salmonicida* toxins in Rainbow trout. Developmental and Comparative Immunology. 9: 251-260.

25. ELLIS, A., E., VALE, A., D., BOWDEN, T., J., THOMPSON, K., HASTINGS, T., S., 1997. In vivo production of A-protein, lipopolysaccharide, iron-regulated outer membrane proteins and 70-kDa serine protease by *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*. FEMS Microbiol. Letters. 149, 157-163.
26. ERER, H., 2002. Balık Hastalıkları. İkinci Baskı. S. Ü. Basımevi, Konya, 41-48s.
27. FYFE, L., COLEMAN, G., MUNRO, A., L., S., 1987a. Identification of major common extracellular proteins secreted by *Aeromonas salmonicida* strains isolated from diseased fish. Applied and Environmental Microbiol. 53(4):722-726.
28. FYFE, L., COLEMAN, G., MUNRO, A., L., S., 1987b. A comparative study of the formation of extracellular proteins by *Aeromonas salmonicida* at two different temperatures. Journal of Applied Bacteriol. 62, 367-370.
29. GARDUNO, R., A. Ve KAY, W., W., 1992. Interaction of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* with rainbow trout macrophages. Infection and Immunity. 60(11): 4612-4620.
30. GARDUNO, R., A., THORNTON, J., C., KAY, W., W., 1993. *Aeromonas salmonicida* grown in vivo. Infection and Immunity. 61(9):3854-3862.
31. GARDUNO, R., A., MOORE, A., R., OLIVIER, G., LIZAMA, A., L., GARDUNO, E., KAY, W., W., 2000. Host cell invasion and intracellular residence by *Aeromonas salmonicida*: Role of the S-layer. Can. J. Microbiol. 46:660-668.
32. GELDİAY, R. ve S. BALIK, 1999. Türkiye’de Tatlı Su Balıkları. E.Ü. Su Ürünleri Fak., III. Baskı, İzmir.
33. GUDMUNDSDOTTIR, B., K., 1998. Infections by atypical strains of the bacterium *Aeromonas salmonicida*. Icel. Agr. Sci. 12, 61-72.

34. HIBIYA, T., 1982. An Atlas of Histology-Normal and Pathological Features. Kodansha Ltd. Tokyo
35. ISHIGURO, E., E., KAY, W., W., AINSWORTH, T., CHAMBERLAIN, J., B., AUSTEN, R., A., BUCKLEY, J., T., TRUST, T., J., 1981. Loss of virulence during culture of *Aeromonas salmonicida* at high temperature. J Bacteriol. 148(1): 333–340.
36. ISHIGURO, E., E., AINSWORTH, T., SHAW, D., H., KAY, W., W., TRUST, T., J., 1983. A lipopolysaccharide-specific bacteriophage for *Aeromonas salmonicida*. Can J Microbiol. 29(10):1458-1461.
37. İNAL, T., 1992. Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü. Final Ofset, İstanbul, 345-350 s.
38. KAY, W., W., PHIPPS, B., M., ISHIGURO, E., E., TRUST, T., J., 1985. Porphyrin binding by the surface array virulence protein of *Aeromonas salmonicida*. J Bacteriol. 164(3): 1332–1336.
39. KAY, W. Ve TRUST, T., J., 1991. Form and functions of the regular surface array (S-layer) of *Aeromonas salmonicida*. Experientia. 47(5):412-414.
40. KIRKAN, Ş., GÖKSOY, E., Ö., KAYA, O., 2003. Isolation and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas salmonicida* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey hatchery farms. J. Vet. Med., B50, 339-342.
41. KOPPANG, E., O., FJOLSTAD, M., MELGARD, B., VIGERUST, M., SORUM, H., 2000. Non pigment producing isolates of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*. J. Fish Dis. 23:39-48.
42. LEE, K., K. Ve ELLIS, A., E., 1990. Glycerophospholipid:Cholesterol Acyltransferase complexed with Lipopolysaccharide (LPS) is a major lethal exotoxin

and cytolysin of *Aeromonas salmonicida*: LPS stabilizes and enhances toxicity of the enzyme. J. of Bacteriol. 172(9):5382-5393.

43. LEE, K., K. Ve ELLIS, A., E., 1991. The role of the lethal extracellular cytolysin of *Aeromonas salmonicida* in the pathology of furunculosis. J. Fish Dis. 14, 453-460.

44. LUNA, G., L., 1968. Histologic Staining Methods of The Armed Forces Institute of Pathology. 3 rd ed. Mcgraw Hill Book Company. U.S.

45. LUND, V., ARNESEN, J., A., COUCHERON, D., MODALSLI, K., SYVERTSEN, C., 2003. The *Aeromonas salmonicida* A-layer protein is an important protective antigen in oil-adjuvanted vaccines. Fish and Shellfish Immunology. 00:1-6.

46. MAGNADOTTIR, B., BAMBIR, S., H., GUDMUNDSDOTTIR, B., K., PILSTROM, L., HELGASON, S., 2002. Atypical *Aeromonas salmonicida* infection in naturally and experimentally infected cod, *Gadus morhua* L. J. Fish Dis. 25, 583-597.

47. MUNN, C., B., ISHIGURO, E., E., KAY, W., W., TRUST, T., J., 1982. Role of surface components in serum resistance of virulent *Aeromonas salmonicida*. Infect Immun. 36(3): 1069–1075.

48. NOMURA, T., YOSHIMIZU, M., MOKI, S., EZURA, Y., 1994. Existence of non-agglutinating *Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida* in strains isolated from salmonids in Yamagata Prefecture, Japan. Scientific Reports of the Hokkaido Salmon Hatchery. 48:23-29.

49. NOONAN, B. Ve TRUST, T., J., 1995. Molecular characterization of an *Aeromonas salmonicida* mutant with altered surface morphology and increased systemic virulence. Mol Microbiol. 15(1):65-75.

50. ÖZER, H., BEYTUT, E., ERBUCAN, S., EKINGEN, G., 1995. Pathology in the viscera of scaly carp induced by some anaesthetics (Benzocaine, Chlorobutanol, Phenoxyethanol). Turk J. Vet. Anim. Sci. 19:97-100.
51. PERRY, G., M., L., TARTE, P., CROISETIERE, S., BELHUMEUR, P., BERNATCHEZ, L., 2004. Genetic variance and covariance for 0+ brook charr (*Salvelinus fontinalis*) weight and survival time of furunculosis (*Aeromonas salmonicida*) exposure. Aquaculture. 235:263-271.
52. RAD, F., 1999. Türkiye’de gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) işletmelerinin teknik ve ekonomik analizi. Su Ürünleri A.B.D., Ankara, Doktora tezi.
53. RİBELİN, W., E. Ve G. MİGAKİ, 1975. The Pathology of Fishes. First Ed., The University of Wisconsin Press, Wisconsin, 58-63, 331-333, 369 s.
54. ROBERTS, R., J., 2001. Fish Pathology. Thirdh Ed., W. B. Saunders, Toronto, 318-321 s.
55. SAKAI, D., K., 1985. Loss of virulence in a protease-deficient mutant of *Aeromonas salmonicida*. Infect Immun. 48(1): 146–152.
56. SARA, M. Ve SLEYTR, U., B., 2000. S-Layer Proteins. J. of Bacteriol. 182(4):859-868.
57. SHOTTS, E., B., 1991. Selective isolation methods for fish pathogens. Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement. 70, 75-80.
58. SIMKO, E., KOCAL, T., E., QUINN, B., A., OSTLAND, V., E., FERGUSON, H., W., HAYES, M., A., 1999. Influences of *Aeromonas salmonicida* lipopolysaccharide, prednisolone and water temperature on plasma protein composition in salmonids. J. Fish Dis. 22,91-100.

59. SMITH, P., HINEY, M., 2000. Oil-adjuvanted furunculosis vaccines in commercial fish farms: a preliminary epizootiological investigation. *Aquaculture*. 190:1-9.
60. STENSVAG, K., BOGWALD, J., SMEDSROD, B., JORGENSEN, T., O., 1999a. Distribution of intravenously injected A-layer protein and lipopolysaccharide (LPS) from *Aeromonas salmonicida* in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Fish and Shellfish Immunology*. 9, 591-607.
61. STENSVAG, K., ARNESEN, S., M., BOGWALD, J., JORGENSEN, T., O., 1999b. Localization of purified surface molecules (lipopolysaccharide and A-protein) from *Aeromonas salmonicida* in the kidney and spleen from Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Dis.* 22,337-349.
62. TANRIKUL, T., T., ÇAĞIRGAN, H., TOKŞEN, E., 1996. Bakteriyel Balık Hastalıkları. *Vet. Kontr. Ve Araşt. Enst. Md. Derg.*, 20:34.
63. T.C. BAŞBAKANLIK İSTATİSTİK ENSTİTÜSÜ, 2002. Su Ürünleri İstatistikleri (Fisheries Statistics).
64. VIPOND, R., BRICKNELL, I., R., DURANT, E., BOWDEN, T., J., ELLIS, A., E., SMITH, M., MACINTYRE, S., 1998. Defined deletion mutants demonstrate that the major secreted toxins are not essential for the virulence of *Aeromonas salmonicida*. *Infection and Immunity*. 66(5):1990-1998.
65. WAGNER, U., LACHMANN, I., HADGE, D., DRÖSSLER, K., 1997. Development and characterization of monoclonal antibodies specific for two different exoproteases of *Aeromonas salmonicida*. *J Fish Dis.* 20, 223-235.
66. WOO, P., T., K. Ve BRUNO, D., W., 1999. *Fish Diseases and Disorders: Viral, Bacterial and Fungal Infections*. First Ed., CABI Publishing, New York, 341-385 s.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1979 yılında İskenderun’da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi 1995 yılında İskenderun’da tamamladım. 1996 yılında girdiğim Akdeniz Üniversitesi Veteriner Fakültesi’nden 2001 yılında mezun oldum. 2002 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Patoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisansa başladım. Yabancı dilim İngilizcedir.