

AYNALI SAZANLARDA (*Cyprinus Carpio L.*) DENEYSEL AEROMONAS
HYDROPHILA ENFEKSİYONUNDA (*Bakteriyel Hemorajik Septisemi*)
OLUŞAN PATOLOJİK BULGULARIN İNCELENMESİ*

Hüdaverdi Erer**

The investigation of the pathologic findings of experimental *Aeromonas hydrophila* infection (*Bacterial Haemorrhagic Septicaemia*) in carp.

Summary: *The purpose of this study was to investigate the pathologic findings of experimental Aeromonas hydrophila infection (Bacterial Haemorrhagic Septicaemia) in carp.*

Twenty, 1 summer carp (C₁) were used in this study. Ten of the fish were infected intraperitoneally and ten of the fish were infected intramuscularly with Aeromonas hydrophila Ba5 strain.

By the second day post-inoculation, all infected fish appeared sluggish, had poor appetite, remained at the side of aquarium and some of them showed disturbance of equilibrium.

The gross pathology displayed by infected fish were fairly uniform. Diseased fish showed haemorrhagic and necrotic lesions on body surface, muscular necrosis, congestion and prolapsus of anus, congestion of liver and intestine, softening of kidney tissue were observed in infected fish.

The histopathology of the infected fish revealed hyperemia, oedema, necrosis and mononuclear cells infiltration of skin and subdermal muscular tissues. In addition to these observations hyperplasia of epidermis, hyperemia, haemorrhage, necrosis and lymphocytes infiltration in liver tissue, necrosis of pancreatic acinar cells, hyperemia, haemorrhage and mononuclear cells infiltration of peripancreatic tissue were seen. Haemorrhage in myocardial cortical layer and in epicardium, hyperemia, haemorrhage and necrosis in interstitiel haemopoietic tissue of kidney, hyperemia, haemorrhage and necrosis of spleen, hyperemia, haemorrhage, mononuclear cells infiltration and desquamation of epithelium of intestinal tissue, hyperemia, haemorrhage and mononuclear cells infiltration of the anal tissue were observed.

* Bu çalışma aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir (1981).

** Dr. med. vet. A.Ü. Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı. Ankara-Turkey.

Özet: Bu çalışmanın amacı, deneysel olarak aynalı sazanlarda oluşturulan *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonunda (Bakteriyel Hemorajik Septisemi) oluşan patolojik bulguları incelemektir.

Çalışmada, 20 adet 12 aylık aynalı sazan (C_1) *Aeromonas hydrophila* Ba5 suşu ile intraperitoneal (10 adet) ve intramüsküler (10 adet) enfekte edildi.

Enfeksiyondan 2 gün sonra, balıklarda durgunluk, akvaryum kenarında hareketsiz durma, yeme karşı isteksizlik ve bazen yan kenarı üzerinde yüzmeye dik-kati geçti.

Enfekte balıklarda makroskopik olarak; deride kanama ve nekroz, kasta nekroz, anüste hiperemi ve prolapsus, karaciğer ve barsalarda hiperemi, böbrekte yumuşak kıvam, mikroskopik olarak ise; deri ve kasta hiperemi, ödem, kanama, nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonu, epidermiste hiperplazi, karaciğerde hiperemi, kanama, nekroz ve lenfosit infiltrasyonu, pankreasta nekroz, peripankreatik dokuda hiperemi, kanama ve mononükleer hücre infiltrasyonu, kalpte kanama, böbrek ve dalakta hiperemi, kanama ve nekroz, barsakta hiperemi, kanama, mononükleer hücre infiltrasyonu ve villuslarda dökülme, anüste hiperemi, kanama ve mononükleer hücre infiltrasyonu olduğu gözlemlendi.

Giriş

Tatlı su balıklarında önemli ekonomik kayıplara neden olan Bakteriyel Hemorajik Septisemi hastalığının etkeni, ilk defa 1891 yılında Sanarelli tarafından izole edilmiş ve *Bacillus hydrophilus fuscus* olarak isimlendirilmiştir (5, 10, 15). Buchanan ve Gibbons (5)'un bildirdiğine göre Schubert, hastalığın etkenini *Aeromonas hydrophila* ve *A. punctata* olmak üzere 2 alt tür olarak klasifiye etmiştir.

A. hydrophila, doğal olarak dünyanın hemen her yerinde tatlı sularda bulunmakta ve tatlı su balıklarında yaygın olarak görülmektedir (15, 17, 19). Etken ayrıca, sürüngen (7), kurbağa, memeli ve insanlarda da (5, 15) enfeksiyon oluşturabilmektedir.

Doğal enfeksiyonların genellikle ilkbahar ve yaz aylarında ortaya çıktığı (6, 12, 17, 19), buna sebep olarak ta ilkbaharda su ısısının ani yükselmesi (6, 19) ve yaz aylarında düşük oksijen düzeyleri stresi (12, 17, 19) gösterilmektedir.

Makroskopik lezyonların sırası ve hastalığın şiddeti üzerinde çevresel koşulların önemi büyüktür. Bu stres faktörleri arasında, kalabalık, anormal olarak yüksek ya da alçak su ısısı, kıştan yaza geçiş durumları, açlık ve kötü beslenme, oksijen yetersizliği, kabaca elle yakalama sonu-

cu pulların kaybı ve aşınmalar, ektoparazitler tarafından meydana getirilen lezyonlar sayılmaktadır (6, 17).

Hastalığın inkübasyon periyodunun, balık türü ile direncine, ayrıca çevre koşulları ile mevsimlere bağlı olduğu bildirilmiştir (17). Bu süre doğal enfeksiyonlarda 2-4 gün olmakta (2), deneysel enfeksiyonlarda ise 8-48 saat arasında bir değişiklik göstermektedir (3, 6, 11).

Klinik muayenelerde, hasta balıkların genel olarak halsiz yüzmeleri ve havuzun kenarına yakın bulunmaları ile kolayca tanındıkları, ayrıca durgun ve iştahsız oldukları dikkati çekmiş ve suda sıklıkla barsak şeklinde bir barsak mukusu ve serbest parçalar gözlenmiştir (1,4).

Hasta balıkların bildirilen eksternal makroskobik lezyonları her olayda aynı olmamakla beraber genellikle, renkte koyulaşma (4, 8, 11, 15, 17), deride solgun lekeler, kanamalar ve yaygın ülserler (8, 10, 11, 15, 18, 19), karın şişkinliği (8,11,15,19), ekzoftalmus (1,4,16,17), pulların dikleşmesi (6, 8), ventral bölgenin hiperemisi (10), anüsün hiperemi, kanama ve prolapsusu (1, 8, 13, 17), bazı olaylarda yüzgeç kaybı (1, 19), ender olarak iskelet deformateleri (1, 8, 19) ve ağız çevresinde kırmızı renkte erozyonlar (15) göze çarpmaktadır.

Enfeksiyona yakalanan balıkların otopsilerinde, karın boşluğunda az veya çok asitik sıvı (1,4,6,8,19), periton ve barsak duvarında peteşiler (6, 10, 15, 17, 18), periton ve iç organlarda yapışmalar (1, 19), barsak ve anüste hiperemi ve kanamalar (1, 17, 19), böbrek ve dalakta şişkinlik ve yumumuşak kıvam (1,6,8,15,17,18,19), hava kesesinde hiperemi ve ender olarak peteşiler (8, 18), deride ödem, hiperemi ve nekrotik lezyonlar (6, 11), deri altında ve kaslarda kanamalar (11) görülmektedir.

Histopatolojik bulguların hastalığın sistemik yapısına uygun olduğu ve doğal ve deneysel enfeksiyonlarda bulguların birbirine benzer olduğu bildirilmiştir (11). Organ ve dokularda bildirilen histopatolojik bulgular şunlardır:

Deri ve Kas: Peteşi ve ekimozları takibeden ülserlerde epidermal ve dermal ödem, kanama ve nekroz (11, 15, 19), subdermal kaslarda hiperemi, ödem, kanama, mononükleer hücre infiltrasyonu ve yaygın nekroz (11, 15, 18) görülmektedir. Enfeksiyon kronik devreye geçerse lezyonların ortasındaki epidermis ve dermisin kaybolduğu ve subdermal kaslarda şiddetli bir nekrozun meydana geldiği saptanmakta (8,19), krater benzeri hal alan ülserlerin kenarlarındaki epidermiste hiperplazi (11) görülmektedir.

Karaciğer: Hiperemi ,yer yer kanama odakları, fokal nekroz ve nekrotik odakların çevresinde lökosit ve mononükleer hücre infiltrasyonları (1, 11, 14, 18, 19) görülmektedir. Asitik formda bazı olaylarda vaskulitis, küçük sirotik odaklar ve epitel hücrelerinde yağ vakuolleri saptanmaktadır (1).

Böbrek: Çoğu olaylarda ödem (8) ve kanama odakları (11) ile hemopoietik dokunun kısmen ya da tümüyle nekroze olarak azaldığı ve yerinde nekrotik bir kitlenin kaldığı (11, 15, 18) gözlenmektedir. Bazı olaylarda tubulus epitellerinin nekrotik hal aldığı ve çoğunlukla lümenlere döküldüğü (18, 19) dikkati çekmektedir.

Dalak: Doğal enfeksiyonlarda balıkların çoğunda karaciğer ve böbreğin lezyonlu olmasına rağmen dalağın normal yapıda olduğu göze çarpmaktadır (11). Bazı olaylarda hiperemi ve hemopoietik dokunun azalarak yerinde nekrotik hücrelerin kaldığı da görülmektedir (15, 18).

Deneysel enfeksiyonlarda ise, en göze çarpan lezyon olarak, hemopoietik kitle ve struktural bağ dokunun nekroze olduğu ve ezoinofilik bağ doku fibrilleri ile çevrelenen geniş nekrotik sahaların görüldüğü bildirilmektedir (11, 19).

Kaip: Deri, karaciğer ve böbreklerde şiddetli lezyonlar gösteren balıkların kalplerinde çoğunlukla lezyona rastlanılmamakta, ancak çok ender olaylarda ödem, fokal miyokarditis ve küçük nekrotik odaklar görülmektedir. (11, 15).

Barsak: Bazı olaylarda barsak mukozasının yaygın eksudatif yanığı (1, 19) ile müköz membranın nekrotik hal alarak lümen döküldüğü (15, 18, 19) ve muskularis mukozadaki ödemin barsağın şeffaf görünüm almasına neden olduğu (1) dikkati çekmektedir.

Pankreas: Çok ender olaylarda pankreasın asini hücrelerinde yer yer dejeneratif ve nekrotik lezyonların görüldüğü bildirilmektedir (1, 15).

Son yıllarda ülkemizde artan nüfusun protein gereksinmesini karşılamak için sığır, koyun, keçi ve tavuk yetiştiriciliği yanısıra kültür balıkçılığının da yardımcı olduğu bilinen bir gerçektir. Bu nedenle, kültür balıkçılığı konusu da gerek özel ve gerekse kamu sektöründe büyük önem kazanmıştır. Hatta bu amaçla birçok göl, gölet ve tarla balıkçılığı yapılmış ve bunların sayılarının giderek arttığı görülmüştür. Ancak, kültür balıkçılığı ile birlikte bazı hastalıkların ortaya çıktığı da dikkati çekmiştir (4,9). Bu arada, Türkiye'de ilk defa Baran ve

ark. (4) tarafından saptanan *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonunun (*Bakteriyel Hemorajik Septisemi*), özellikle sazan ve alabalıklarda ekonomik kayıplar oluşturduğu bilinmektedir.

Bu çalışmada, adı geçen hastalığı aynalı sazanlarda deneysel olarak oluşturma amaç edinildi ve hastalık etkeninin organlarda meydana getirdiği lezyonlar makroskopik ve mikroskopik olarak incelendi.

Materyal ve Metot

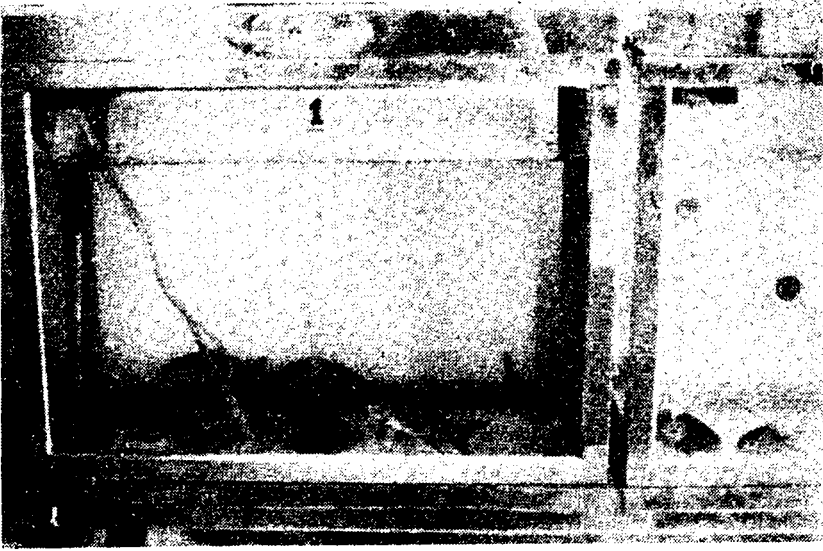
Aynalı sazanlarda (*Cyprinus carpio L.*) Bakteriyel Hemorajik Septisemi Hastalığını oluşturmak amacıyla kullanılan bakteri, deney balıklarının laboratuvar koşullarında tutulması ve bakteri inokülasyonunda ve hastalık bulgularının incelenmesinde izlenen yöntemler aşağıda açıklanmıştır.

Bakteri: Aynalı sazanlarda % 100 enfeksiyon (veya ölüm) oluşturan 3×10^8 / 0.2 ml *A. hydrophila* Ba5 suşu kullanılmıştır.

Deneye alınan balıklar: Deneyde kullanılan 12 aylık aynalı sazanlar, Fakültemiz Çifteler-Sakaryabaşı Balık Üretim ve Araştırma İstasyonundan alındı ve antibiyotiksiz kuru pelet sazan yemi ile beslendi.

Akvaryumlar ve su: Bu çalışmada, 2 adet balık stoku, 1 adet deney ve 1 adet te kontrol için olmak üzere 4 adet akvaryum kullanıldı (Resim 1). A. Ü. Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü'nden temin edilen bu akvaryumlara 90 lt şehir suyu konuldu. Ancak bu su, daha önce serbest klorünün giderilmesi için plastik bir bidon içinde bulunan temizlenmiş ince kum ve çakıl katlarından süzülükten sonra tanklarda dinlenmeye bırakıldı ve suyun serbest klordan arındığı saptandıktan sonra (HACH-Model CN-46A Chlorine Test Kit ile) akvaryumlara aktarıldı. Bu suyun aynalı sazanların yaşam koşullarına uygun olduğu (20) Fakültemiz Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında yapılan fiziksel ve kimyasal incelemeler sonu tayin edildi (Rapor: 7. 9. 1981 tarih ve 2/381 sayı).

Akvaryumlara kompresör, filtre, hava taşı ve hortumları, derece ve termostatlı ısıtıcılar konuldu. Suyun pH'sı (Beckman 3550 Digital pH Meter ile), oksijeni (YSI Model 51B Oxygene Meter ile) ve ısı (dereceleri ile) günlük olarak kaydedildi. Deneme süresinde balıkların yaşamaları için uygun olan pH-7.8, oksijen-6.4 mg / lt ve ısı 26°C olarak saptandı. Akvaryumlardaki durgun su, haftada iki kez olmak üzere temiz su ile değiştirildi. Kontrol ve deney balıkları ayrı akvaryumlarda tutuldu.



Resim 1. Çalışmada kullanılan akvaryumlardan bir örnek (An aquarium used in the experiment).

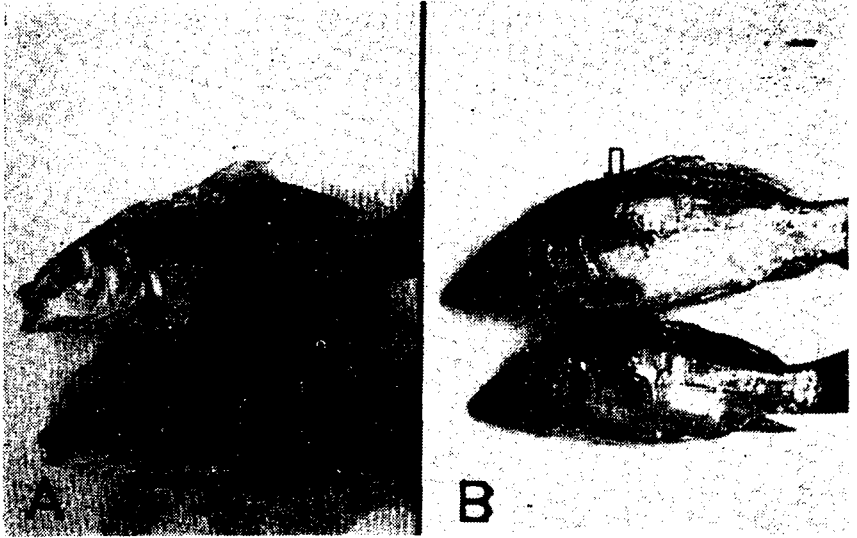
Patojenik A. hydrophila Ba5 suşunun balıklara verilmesi : Çalışmada, ortalama 36 gr ağırlığında ve 15 cm uzunluğunda, her grupta 2 kontrol ve 5 deney balığı olmak üzere 4 grup halinde (20 deney, 8 kontrol) ve toplam olarak 28 adet 12 aylık aynalı sazan kullanıldı. Birinci ve 2. deney grubuna (10 balık) intraperitoneal, 3. ve 4. deney grubuna da (10 balık) intramüsküler enjeksiyonlar yapıldı. Denemede steril malzemeler kullanıldı. Her balığa 0.2 ml dozda bakteri süspansiyonu (titresi $3 \times 10^8 / 0.2$ ml) enjekte edildi.

Patolojik incelemeler : Yukarıda kontrol ve deney gruplarına göre sayıları belirtilen deney balıklarına A hydrophila Ba5 suşu inokülasyonundan sonra ölenler ve klinik semptom gösterenler hemen, semptom göstermeyenler ise 7. günde başlarına mekanik olarak vurulmak suretiyle öldürüldü ve otopsileri yapıldı. Deri, kas, karaciğer (hepatopankreas), böbrek, dalak, kalp, barsak ve anüslerden alınan materyaller Bouin's solüsyonunda tespit edildi ve daha sonra parafin bloklardan 5-7 mikron kalınlığında kesitler alınarak H.E., PAS, Bröwn-Brenn, Masson'un trikrom ve Gomori'nin retikulin boyaları ile boyandı. Elde edilen preparatlar daha sonra ışık mikroskopunda incelendi.

Bulgular

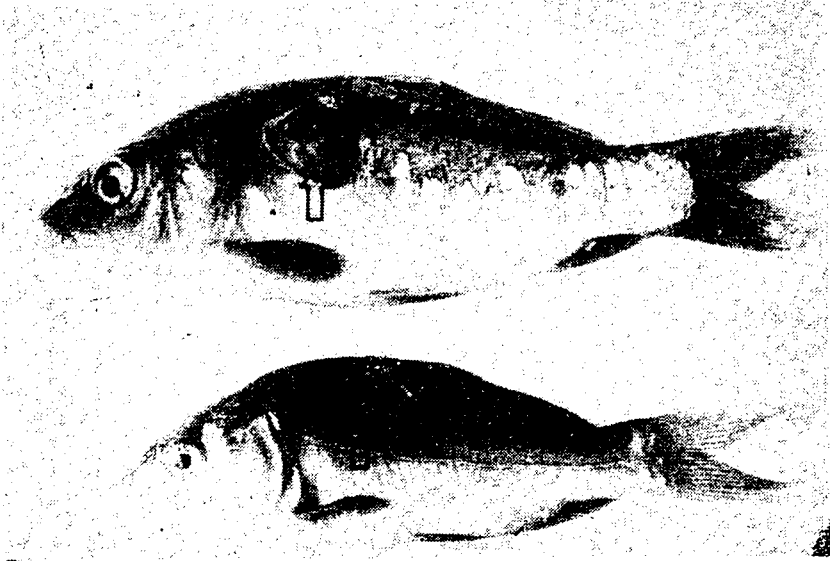
A. hydrophila Ba5 suşu ile deneysel olarak ikisi intraperitoneal (i.p) ve ikisi de intramüsküler (i.m) olmak üzere 4 grup halinde enfekte edilen balıklarda aşağıdaki klinik ve patolojik bulgular saptandı.

Klinik ve makroskopik bulgular : *A. hydrophila* enjeksiyonlarından 4-6 saat sonra tüm balıklarda, durgunluk ve 2 gün sonra da akvaryum kenarında hareketsiz durma, yeme karşı isteksizlik ve zaman zaman da bazı balıklarda yan kenarı üzerinde yüzme dikkati çıktı. İntraperitoneal enjeksiyondan sonraki günde, 2 balıkta enjeksiyon yerinde peteşiyel kanamalar göze çarptı. Enjeksiyonun 2. gününde ise, bu bölgenin ortasının gri-beyaz ve kenarlarının kanamalı bir lezyon halini aldığı görüldü (Resim 2A). Ayrıca bir balıkta da ventral yüzgecin tabanında peteşilere rastlandı.



Resim 2. A, İntraperitoneal enjeksiyon yerinde ortası gri-beyaz kenarları kanamaları lezyonlar (oklar). B, İntramüsküler enjeksiyon yerinde grimsi renkte lezyonlar (oklar) (The lesions in the areas of injection A, by i.p and B, by i.m, arrows).

İntramüsküler enjeksiyon yapılan deney balıklarında ise, enjeksiyondan 15 saat sonra balıkların hepsinde ve enjeksiyon yerinde yaklaşık 1 cm çapında grimsi renkte bir lezyon göze çarptı (Resim 2B). Bu lezyonun görülmesinden 12 saat sonra 2 balıkta aynı bölgenin daha genişleyerek ortasının çukurlaştığı ve krater benzeri bir görünüm aldığı dikkati çıktı (Resim 3). Bir balıkta da sağ yan çizgi üzerinde küçük bir kanama odağı görüldü.



Resim 3. İnamüsküler enjeksiyon yerinde krater şeklinde ülserler (oklar) (Crater-shaped ulcers, arrows).

Otopside ise, intraperitoneal enjeksiyon yapılan balıklarda genellikle iç organlarda bulgulara rastlandı. Dört balıkta karaciğerin hiperemik, 3 balıkta böbreğin yumuşak kıvamda olduğu ve 2 balıkta da barsakların hiperemik olduğu görüldü. Dört balıkta anüsün hiperemik olduğu ve bunlardan birinde prolapsus da şekillendiği dikkati çekti.

İnamüsküler enjeksiyon yapılan balıkların iç organlarında sadece 1 balıkta karaciğerin hiperemik ve böbreğin yumuşak kıvamda olduğu göze çarptı. En belirgin değişikliklere deri ve kaslarda rastlandı. Tüm balıklarda, enjeksiyon yerinde derinin nekrotik hal aldığı ve kasların kesilirken parçalandığı dikkati çekti. Ayrıca, 2 balıkta enjeksiyon yerinde derinin dökülmüş olduğu ve altındaki kasları da içine alan derin ve geniş bir ülserin oluştuğu görüldü.

Doku ve organlarda meydana gelen lezyonların makroskopik bulguları Tablo-1'de gösterilmiştir.

Histopatolojik bulgular: Doku ve organlarda meydana gelen histopatolojik bulgular Tablo-2'de gösterilmiştir.

Tablo 1- Aynalı Sazanlarda (Cyprinus carpio L.) Deneysel Hemorajik Septisemi Olgularında Gelişen Makroskopik Bulgular (20 Balık)

	Hiperemi		Peteşi		Nekroz		Prolapsus		Yumuşak kıvam	
	i.p 10	i.m 10	i.p 10	i.m 10	i.p 10	i.m 10	i.p 10	i.m 10	i.p 10	i.m 10
Deri	—	—	3	1	2	10	—	—	—	—
Kas	—	—	—	—	2	10	—	—	—	—
Karaciğer	4	1	—	—	—	—	—	—	—	—
Böbrek	—	—	—	—	—	—	—	—	3	1
Barsak	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Antis	4	—	—	—	—	—	1	—	—	—

i.p İntraperitoneal enjeksiyon

i.m İntramusküler enjeksiyon

Deri ve kas : İntraperitoneal enjeksiyon yapılan 2 balıkta ve i.m enjeksiyon yapılan tüm balıklarda, epidermiste ve subdermal kaslarda yer yer doku kaybı gözlemlendi. İntraperitoneal enjeksiyon yapılan 1 balıkta dermiste hiperemi ve 3 balıkta yine dermiste kanama odakları seçildi. İntramusküler enjeksiyon yapılan 2 balıkta epidermiste intersellüler ödem (spongiosis) (Resim 4B) ve doku kaybının olduğu bölgenin kenarındaki epidermiste hiperplazi dikkati çekti (Resim 4 A). Üç



Resim 4. A, Krater benzeri ülserin kenarındaki epidermiste hiperplazi (oklar). H.E. x35. B, Dermiste kanama (ok) ve epidermiste intersellüler ödem (2). H.E. x140 (A, Epidermal hyperplasia at margin of crater-shaped ulcer, arrows. B, Hemorrhage (arrow) in the dermis and intercellular oedema in the epidermis, 2).

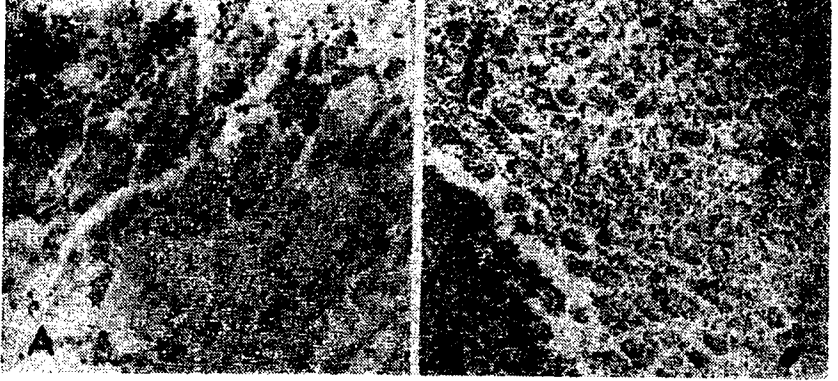
Tablo 2- Aynalı Sazanlarda (*Cyprinus carpio* L.) Deneysel Hemorajik Septisemi Olgularında Gelişen Histopatolojik Bulgular (20 Balık)

	Hiperemi		Kanama		Mononük. hüç. inf.		Nekroz		Ödem		Hiperplazi		Villuslarda dökülme	
	i.p 10	i.m 10	i.p 10	i.m 10	i.p 10	i.m 10	i.p 10	i.m 10	i.p 10	i.m 10	i.p 10	i.m 10	i.p 10	i.m 10
Deri	1	3	3	3	—	3	2	10	—	4	—	2	—	—
Kas	—	4	2	3	4	3	3	10	—	4	—	—	—	—
Karaciğer	8	7	1	3	6	1	9	4	—	—	—	—	—	—
Böbrek	2	2	8	6	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—
Dalak	2	1	1	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—
Pankreas ve Peripankreatik Doku	5	3	6	2	9	2	3	2	—	—	—	—	—	—
Kalp	—	—	2	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Barsak	1	—	1	1	1	1	—	—	—	—	—	—	5	5
Anüs	1	—	4	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—

i.p Intraperitoneal enjeksiyon

i.m Intramüsküler enjeksiyon

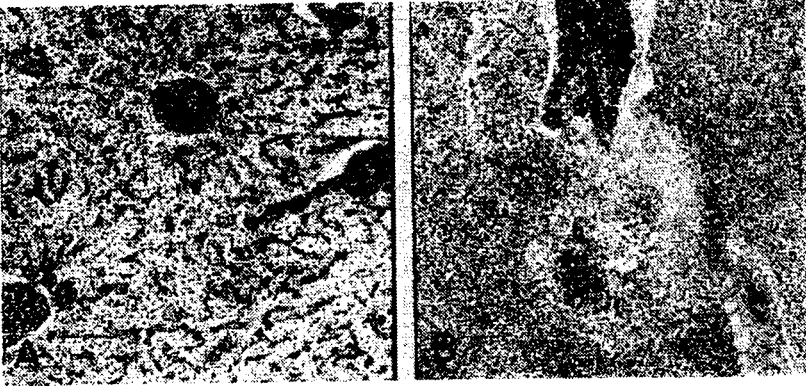
balıkta dermiste kanama odakları (Resim 4B), hiperemi ve mononükleer hücre infiltrasyonu; iki balıkta da ödem şekillendiği ve kas demetleri arasına kadar uzandığı görüldü. İntramüsküler enjeksiyonun yapıldığı 10 balıkta da, subdermal kas demetlerinin nekroza uğradığı görüldü. Dört balıkta yaygın ödem şekillendiği, nekrotik bölgenin çevresinde hiperemi ve 3 balıkta yer yer kanama odakları ile mononükleer hücre infiltrasyonu şekillendiği dikkati çekti (Resim 5A,B).



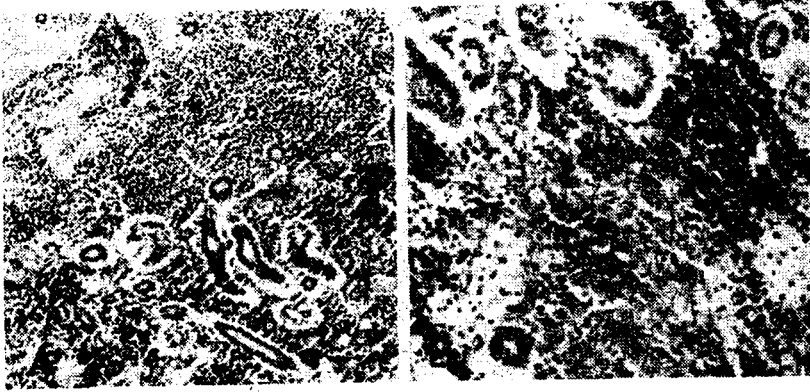
Resim 5. Subdermal kaslarda A, ödem (1) ve kanama (2) H.E. x220, B, nekroz (1), kanama (2) ve mononükleer hücre infiltrasyonu (oklar) H.E. x90 (A, Ödem (1), hemorhage (2) and B, necrosis (1), hemorrhage (2), mononuclear cells infiltration (arrows) in the subdermal muscles).

Karaciğer : İntraperitoneal enjeksiyon yapılan balıkların 9 adedinde epitel hücrelerinde yer yer nekrobiyotik olaylar ve bunların da 2 adedinde geniş nekrotik alanlar dikkati çekti (Resim 6 B). Sekiz balıkta hiperemi (Resim 6A), 1 balıkta küçük kanama odakları, 6 balıkta da portal damarlar çevresinde küçük odaklar halinde lenfosit toplulukları görüldü. İntramüsküler enjeksiyon yapılan balıklarda da, daha hafif şiddette olmak üzere aynı bulgulara rastlandı. Dört balıkta epitel hücrelerinde nekrobiyotik olaylar, 7 balıkta hiperemi, 3 balıkta kanama alanları, 1 balıkta da küçük bir lenfositler odak saptandı.

Böbrek : İntraperitoneal enjeksiyon yapılan balıkların 8 adedinde hemopoietik dokuda geniş kanama alanları (Resim 7A) ile bu balıkların 2 adedinde hiperemi ve 1 adedinde de intersitisyum da fokal nekrozlar saptandı (Resim 7B). İntramüsküler enjeksiyon yapılan balıkların 6 adedinde hemopoietik dokuda kanama alanları ile bu balıkların ikisinde hiperemi ve 1 adedinde de yine intersitisyumda küçük bir nekrotik odak dikkati çekti.



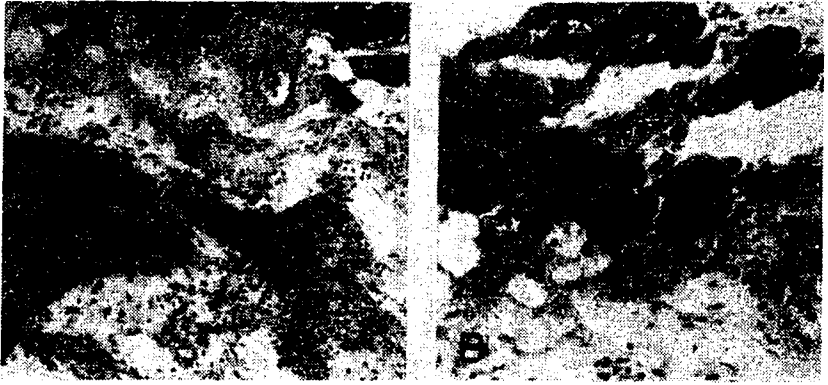
Resim 6. Karaciğerde A, hiperemi B, nekroz (n) H.E.x90 (Hyperemia and focal necrosis (n) in the liver).



Resim 7. Böbrekte A, kanama (k) H.E.x140, B, nekroz (n) H.E. x 350 (Hemorrhage (k) and focal necrosis (n) in the kidney).

Dalak: İntraperitoneal enjeksiyon yapılan balıkların 2 adedinde hiperemi, 1 adedinde kapsüla altında bir kanama odağı ve 1 adedinde de kapsüla ve altındaki lenfoid dokuda fokal bir nekroz görüldü. İntramüsküler enjeksiyon yapılan balıklardan sadece 1 adedinde hiperemi ile lenfoid dokuda küçük bir nekrotik odak dikkati çekti.

Pankreas ve peripankreatik doku: İntraperitoneal enjeksiyon yapılan balıkların 3 adedinde ve i.m enjeksiyon yapılan balıkların 2 adedinde pankreas asini hücrelerinde yer yer nekroza rastlandı (Resim 8A,B).



Resim 8. A, Pankreas asini hücrelerinde nekroz (ok) ve peripankreatik dokuda kanama (k) H.E. x 220. B, A'nın daha büyük büyültme ile görünümü, nekroz (n) H.E. x 350 (A, focal necrosis (arrow) in the pancreas acinar cells and hemorrhage (k) in the peripancreatic tissue. B, Higher magnification of A, necrosis (n)).

Peripankreatik dokuda ise, i.p enjeksiyon yapılan balıkların 5 adedinde hiperemi, 6 adedinde kanamalar şekillendiği (Resim 8A) ve 9 adedinde de yaygın olarak mononükleer hücre infiltrasyonu göze çarptı (Resim 9A). İnteramüsküler enjeksiyon yapılan balıkların ise, 3 adedinde hiperemi, 2 adedinde kanama alanları ve 2 adedinde de mononükleer hücre infiltrasyonu dikkati çekti.

Kalp: İnteraperitoneal enjeksiyon yapılan balıkların 2 adedinde miyokard'ın kortikal katında ve i.m enjeksiyon yapılan balıkların 1 adedinde epikard'da küçük kanama odakları seçildi.



Resim 9. A, Peripankreatik dokuda yaygın mononükleer hücre infiltrasyonu H.E. x 220. B, Anus submukozasında kanama (oklar) H.E. x 35 (A, The infiltration of mononuclear cells in the peripancreatic tissue. B, Submucosal hemorrhage in the anus, arrows).

Barsak : Her iki şekilde enjeksiyon yapılan balıklarda ve aynı sayıda olmak üzere, 1 er balıkta propriada kanamalar, 1 er balıkta barsağın tüm katlarında mononükleer hücre infiltrasyonları ve 5 er balıkta da villusların uç kısımlarının nekroze olarak lümeneye döküldüğü dikkati çekti. İntraperitoneal enjeksiyon yapılan balıkların 1 adedinde submukozada hiperemi görüldü.

Anüs : Sadece i.p enjeksiyon yapılan balıklarda histolojik bulgulara rastlandı. Dört balıkta submukozada kanama alanları (Resim 9B), 1 balıkta propria ve submukozada hiperemi ve 1 balıkta da submukozada mononükleer hücre infiltrasyonu görüldü.

Deney süresince, deney balıklarında enjeksiyonlardan sonra 15. saatte 1 adet (i.p), 18. saatte 7 adet (i.p) ve 40. saatte 1 adet (i.m) olmak üzere toplam 9 ölüm olayı meydana geldi. Buna karşın, kontrol grubundaki balıklarda ise herhangi bir ölüm olayı olmadığı gibi, yapılan otopsi ve histolojik incelemelerinde de bir bulguya rastlanmadı.

Tartışma ve Sonuç

Hemorajik Septisemi hastalığına yakalanan balıkların klinik olarak, halsiz yüzmeleri, havuzun kenarına yakın bulunmaları, durgun ve iştahsız olmaları ile kolayca tanındıkları, ayrıca suda sıklıkla barsak şeklinde barsak mukusu ve serbest parçalar bıraktıkları bildirildiği gibi (1, 4), çalışmada aynı bulgular saptandı ancak suda serbest parçalar ve barsak şeklinde barsak mukusu gözlenemedi.

Bu çalışmada, i.p enjeksiyon yapılan 10 balıktan 3 adedinde deride peteşiyel kanamalar ve ayrıca bunların 2 adedinde deride doku kaybı da gözlemlendi (Resim 2A). Bundan başka 4 balıkta anüste hiperemi ve bunların 1 adedinde prolapsus da saptandı. İntramusküler enjeksiyon yapılan balıklarda sadece 1 adedinde deride peteşiyel kanama saptanmasına karşın, tüm balıklarda enjeksiyon yerinde doku kaybı dikkati çekti (Resim 2B). Ayrıca, 2 balıkta doku kaybının olduğu bölgede krater benzeri ülserasyon saptandı (Resim 3). Bunların dışında bildirilen eksternal makroskobik lezyonlardan hiçbiri gözlenemedi.

Hastalığa yakalanan balıklarda bildirilen otopsi bulgularının çoğu deneme balıklarında da gözlemlendi. Ancak i.p enjeksiyon yapılan balıkların daha çok iç organlarında, i. m enjeksiyon yapılan balıkların ise, daha çok deri ve kaslarında bulgulara rastlandı. Bu çalışmada, araştırmacıların bildirdiği deri ve kaslardaki nekrotik lezyonlar, özellikle i.m enjeksiyon yapılan balıklarda, iç organlara ait bulgular ise,

daha çok i.p enjeksiyon yapılan balıklarda saptandı. Bunlar dışında bildirilen bulgular gözlenemedi.

Organ ve dokularda bildirilen histopatolojik bulgular ile denemede saptanan histopatolojik bulgular büyük ölçüde aynı idi. Dermiste hiperemi, mononükleer hücre infiltrasyonu ve kanamalar, epidermis ve dermiste ödem ve nekroz, subdermal kaslarda hiperemi, ödem, kanama, mononükleer hücre infiltrasyonu ve yaygın nekroz (11, 19), deney balıklarında da saptandı (Resim 5A,B). Ayrıca krater benzeri ülserlerin kenarındaki epidermiste bildirilen (11) hiperplaziye i.m enjeksiyon yapılan 2 balıkta rastlandı (Resim 4A).

Karaciğerde bildirilen hiperemi, kanama, nekroz ve lenfosit infiltrasyonları (1, 11, 14,18, 19) deneme balıklarında da görüldü (Resim 6A,B). Ancak, vaskulitis, siroz ve epitel hücrelerinde yağ vakuollerine ait bulgular (1) gözlenemedi. Böbreklerde çoğu olaylarda ödem ve kanama ile hemopoietik dokunun kısmen ya da tümüyle nekroze olduğu, bazı olaylarda tubulus epitellerinin de nekrotik hal aldığı ve lümenlere döküldüğü bildirilmesine (8, 11, 15, 18, 19), karşın, deney balıklarında hiperemi, intersitisyel dokuda kanama ve 2 balıkta da intersitisyel dokuda küçük nekrotik odaklara rastlandı (Resim 7A,B).

DeneySEL enfeksiyonlarda, dalakta lenfoid kitle ve intersitisyel bağ dokuda geniş nekrotik sahaların görülmesine (15, 18) karşın, sadece 2 balıkta ve fokal bir nekroza rastlandı. Ayrıca 1 balıkta kanama ve 3 balıkta da hiperemi saptandı.

Çok ender olaylarda pankreasın asini hücrelerinde dejeneratif ve nekrotik lezyonları saptayan araştırmacılar (1, 15) gibi, denemede i.p enjeksiyon yapılan 2 balıkta yer yer nekrotik bulgulara rastlandı (Resim 8A, B). Ancak incelenen literatür bilgilerine ek olarak peripankreatik dokuda hiperemi, yaygın kanamalar ve mononükleer hücre infiltrasyonu dikkati çekti (Resim 8A, 9A).

Doğal ve deneySEL enfeksiyonlarda karaciğer, böbrek ve dalakta şiddetli lezyonlar görülmesine karşın, kalpte çok ender olarak ödem, fokal miyokarditis ve küçük nekrotik odaklar bildirilmiştir (11, 15). Bu çalışmada, biri epikardiumda ve ikisi de miyokardiumun kortikal katında olmak üzere 3 balıkta kanama odakları seçildi. Bazı olaylarda barsaklarda bildirilen (1, 15, 18, 19) müköz membranın nekrotik hal alarak lümeneye dökülmesi ve barsak mukozasının eksudatif yangısı deneme balıklarında da gözlemlendi. Ayrıca 2 balıkta da propria kanamaları saptandı.

Anüste ise, sadece makroskopik olarak hiperemi, kanama ve prolapsus bildirilmiş (1,8,13,17), ancak incelenen literatürlerde histopatolojik bulguya ait bir kayda rastlanılmamıştır. Bu makroskopik bulguların yanısıra, histopatolojik olarak sadece i.p enjeksiyon yapılan 4 balıkta submukozada kanamalara (Resim 9B), 1 balıkta hiperemiye ve 1 balıkta da mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlandı.

Bu çalışmanın sonucuna göre, *Aeromonas hydrophila* ile deneysel olarak enfeksiyon meydana getirilmiş, makroskopik ve mikroskopik olarak incelenmiştir.

Literatür

- 1- **Amlacher, E.** (1976): *Taschenbuch der Fischkrankheiten*. 3. Ed., VEB Gustav Fischer Verlag, Jena. 121-144.
- 2- **Arda, M.** (1974): *Balıklarda Bakteriyel, Mantar, Viral ve Ekolojik Nedenlerden İleri Gelen Hastalıklar ve Tedavileri*. A.Ü. Vet. Fak. Yay. 300, Yrd. Ders Kitabı: 201, A.Ü. Basımevi, Ankara, 75-76.
- 3- **Bach, R., Chen, P.K. and Chapman, G.B.** (1978): *Changes in the spleen of the channel catfish *Ictalurus punctatus* Rafinesque induced by infection with *Aeromonas hydrophila**. J. Fish Dis., **1**: 205-217.
- 4- **Baran, İ., Timur, M., Aydın, N., İstanbulluoğlu, E. ve Aydınтуğ, M.K.** (1980): *Çifteler-Sakaryabaşı Balık Üretim ve Araştırma İstasyonunda Alabalıklarda (*Salmo gairdneri irideus*) Görülen Bakteriyel Hemorajik Septisemi Hastalığı Üzerinde İncelemeler*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., **27** (3-4): 467-473.
- 5- **Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E.** (1974): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8. Ed., The Williams and Wilkins Company, Baltimore. 345-348.
- 6- **Bullock, G.L., Conroy, D.A. and Snieszko, S.F.** (1971): "*Bacterial diseases of fishes*". Book 2A.S.F. Snieszko and H.R.Axelrod, editors. Diseases of Fishes. T.F.H. Publications, Inc., Jersey City, N.J. 21-41.
- 7- **Covert, J.E. and Reynolds, W.W.** (1977): *Survival value of fever in fish*. Nature, **267**: 43-45.
- 8- **Ghittino, P.** (1968): "*Hydropisie Infectieuse des Cyprinidés*". Les Maladies contagieuses des poissons incluses dans le Code Zoosanitaire International de l' O.I.E., Office International des Epizooties, Paris. 39-54.
- 9- **Halıcı, G., İstanbulluoğlu, E. ve Arda, M.** (1977): *Bayındır Barajı Alabalık Yetiştirme İstasyonunda Görülen Bakteriyel Böbrek Hastalığı ve Sağıtımı*. İ.Ü. Vet. Fak. Derg., **3** (1-2): 22-27.
- 10- **Heuschmann-Brunner, G.** (1978): *Die Aeromonaden der "Hydrophila-Punctata-Gruppe" bei Süßwasserfischen*. Arch. Hydrobiol., **83** (1): 99-125.
- 11- **Huizinga, H.W., Esch, G.W. and Hazen, T.C.** (1979): *Histopathology of red sore disease (*Aeromonas hydrophila*) in naturally and experimentally infected largemouth bass, *Micropterus salmoides* (Lacépède)*. J. Fish Dis., **2**: 263-277.

- 12- **Meyer, F.P.** (1978): *Incidence of disease in warmwater fish farms in the South-Central United States.* Marine Fisheries Review, **40**: (3): 38-41.
- 13- **Nechiporenko, Yu D. and Lhashchenko, P.S.** (1971): *Changes in the blood of carp after infection with Aeromonas hydrophila.* Veterinariya (Moscow), 5: 59-60. "Alınmıştır" Vet. Bull., **42**: 60 1972.
- 14- **Popoff, M. et de Kinkelin, P.** (1968): *Mise en evidence d'un agent pathogène non déterminé responsable d'un syndrome "Septicémie hémorragique des Cyprinidés".* Bull. Off. int. Epiz., **69** (7-8): 1073-1084.
- 15- **Richards, R.H. and Roberts, R.J.** (1978): *The bacteriology of teleost.* R. J. Roberts, ed., Fish Pathology. Baillière Tindall, London. 183-204.
- 16- **Rock, L.F. and Nelson, H.M.** (1965): *Channel catfish and gizzard shad mortality caused by Aeromonas liquefaciens.* Prog. Fish-Cult., **27**:138-141.
- 17- **Snieszko, S.F. and Bullock, G.L.** (1976): *Diseases of freshwater fishes caused by bacteria of genera Aeromonas, Pseudomonas, and Vibrio.* U.S. Fish Wildl. Serv. Fis. Dis. Leaflet, **40**. 10 s.
- 18- **Thorpe, J.E. and Roberts, R.J.** (1972): *An aeromonad epidemic in the brown trout (Salmo trutta L.).* J. Fish. Biol., **4**: 441-451.
- 19- **Wolke, R.E.** (1975): *"Pathology of bacterial and fungal diseases affecting fish".* W.E. Ribelin and G. Migaki, editors, The Pathology of Fishes. University of Wisconsin Press. Madison, Wisconsin. 33-116.
- 20- **Yılmaz, G.** (1975): *Su Ürünleri Kürsüsünün Akvaryum Sisteminde Kullanılacak Sızdırtı Suyun Özellikleri.* Uzm. Tezi, Ankara. 1-9.