

## Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda *Yersinia ruckeri*'ye Karşı Enrofloksasinin Etkisi

Cebrahil TÜRK<sup>1</sup> H. Bayram GÖKHAN<sup>2</sup> Mikail ÖZCAN<sup>2</sup> Ünal İSPİR<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bingöl Üniversitesi MYO, Su Ürünleri Programı, BİNGÖL

<sup>2</sup>Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, ELAZIĞ

<sup>3</sup>Bingöl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü, BİNGÖL

cturk@firat.edu.tr

### ÖZET

Bu çalışmada, gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yavrularına banyo şeklindeki uygulanan enrofloksasin'in yersiniosis'e karşı etkisi araştırıldı. Çalışmada ağırlıkları yaklaşık 0,606 g olan toplam 240 adet balık kullanıldı. Balıklar öncelikle 2 dakika süre ile,  $9,8 \times 10^6$  hücre  $ml^{-1}$  canlı *Yersinia ruckeri* bakterisi ile banyo yaptırılarak infekte edildi. Daha sonra enfekte balıklara 2,5 mg/L enrofloksasin dozu ile uygulamanın 1, 3 ve 5. günlerinde; 30, 60 ve 180 dk.'lık farklı banyolar yaptırıldı. Ölüm oranları 21 gün boyunca gözlemlendi. Deneysel ve kontrol grubu balıklarının ölüm yüzdeleri ve nisbi hayatta kalma oranları (RPS) tespit edildi. *Y. ruckeri*'ye karşı grupların sırasıyla % 77.44, % 71.43 ve % 60.33 RPS gösterdiği kaydedildi. Kontrol grubunda ise balıkların % 93,33'ünün öldüğü tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** Gökkuşluğu alabalığı, enrofloksasin, *Yersinia ruckeri*

## The Effect of Enrofloxacin Against *Yersinia ruckeri* on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

28

### ABSTRACT

In this study, the protection of fry rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against Yersiniosis was evaluated following the enrofloxacin administered by the immersion route. The weight of the 240 fish used in this study was 0.606 g. Fish were infected by dip (2 min) with  $1 \times 10^7$  cells  $ml^{-1}$  live *Y. ruckeri*. After, bath concentration of 2.5 mg/L enrofloxacin dose were tested for up to 30, 60 and 180 minute on 1, 3 and 5 days of experiment. Mortalities were monitored over 21 days. The results were evaluated by determined the percentage mortality in the control and experimental groups and the relative percentage of survival (RPS) was calculated. Upon challenge with *Y. ruckeri*, RPS as 77.44%, 71.43% and 60.23% was recorded. The mortality in the control group was 93.33%.

**Key Words:** Rainbow trout, enrofloxacin, *Yersinia ruckeri*

## GİRİŞ

Balık yetiştiriciliğinde önemli ekonomik problemleri de beraberinde getiren infeksiyöz hastalıklara karşı antibiyotikler ve sentetik antibakteriyel ilaçlar çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Enrofloksasin florokinolon sınıfının sentetik antibakteriyel bir üyesidir. Florokinolonlar DNA-giraz'ın inhibisyonunu sağlamaktadırlar. Geniş spektrumlu bir antimikrobiyal olup  $\beta$ -laktam grubu antibiyotikler ile sulfanamidlere karşı dirençli olan Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı oldukça etkilidir (Scheer ve ark., 1987). Bu etkisi nedeniyle balık hastalıklarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Alderman, 1988; O'Grady ve ark., 1988; Burka ve ark., 1997; Lewbort ve ark., 1997). Enrofloksasin'in *Yersinia ruckeri* (Oraic ve ark., 2002), *Aeromonas salmonicida* (Bowser ve ark., 1992; Stofregen ve ark., 1993); *Vibrio anguillarum* (Dalsgaard ve Bjeregaard, 1991) ve *Renibacterium salmoninarum* (Hsu ve ark., 1994) gibi balık patojenlerine karşı etkili olduğu tespit edilmiştir.

Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda yaygın olarak yersiniosis, balık üretim tesislerinde ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Ülkemizdeki balık üretim tesislerinde 1991 yılında gözlenmiştir (Timur ve Timur, 1991; Çağırğan ve Yüreklitürk, 1991). Bu tarihten sonra farklı coğrafik bölgelerde de hastalığın görüldüğü tespit edilmiştir (Karataş-Düğenci ve Candan, 1997; Diler ve ark., 1998; 2000; Karataş-Düğenci ve ark., 2004; Şeker ve ark., 2006; Kılıç ve ark., 2007).

Bu çalışmada; *Y. ruckeri* ile enfekte edilen gökkuşuğu alabalığı yavrularında banyo şeklinde uygulanan enrofloksasinin etkisi araştırılmıştır.

## MATERYAL ve METOD

**Balık ve deneysel düzenek:** Çalışmada kullanılan ortalama ağırlığı 0,606 g olan gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Devlet Su İşleri IX. Bölge Müdürlüğü Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'nden temin edildi. Balıklar, her grupta 30 adet olacak ve biri kontrol 3'ü deneysel olmak üzere 4 gruba

ayrılarak 40 L'lik akvaryumlara alındı. Balıkların yeni yerlerine alışmalarını sağlamak için 2 hafta beklendikten sonra deneysel aşamalara geçildi. Balıklar çalışma boyunca ticari bir alabalık yemi ile beslendi.

**Bakteri:** Doğu Anadolu'daki bir gökkuşuğu alabalığı işletmesindeki balıklardan izole edilmiş ve *Y. ruckeri* olduğu Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile ortaya konulmuş olan saf bakteri suşu, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarı'ndan temin edildi. Bakterinin LD<sub>70</sub> dozunu belirlemek için fosfat tamponlu tuzlu suda (PBS, pH: 7,2) hazırlanan 10<sup>4</sup> – 10<sup>10</sup> hücre/ml *Y. ruckeri* bakterisi 20'şer balığa (yaklaşık 6g) intraperitoneal olarak enjekte edildi. Balıklar 14 gün boyunca gözlenerek mortalite oranları belirlendi ve Probit analizi ile LD<sub>70</sub> değeri hesaplandı.

**Patojen uygulaması:** Balıklar 2 L'lik plastik kaplarda, *Y. ruckeri* suşunun LD<sub>70</sub> /ml dozu olacak şekilde 2 dakika için banyo yaptırıldı.

**Enrofloksasin uygulaması:** Daha sonra 2.5 mg/L enrofloksasin şeklinde ayarlanan 2 L plastik kaplara alınarak gruplara göre 30, 60 ve 180 dakika banyo yaptırıldı. Bu uygulama çalışmanın 1, 3 ve 5. günlerinde de devam ettirildi. İlk işlemten sonra 21 gün boyunca kontrol ve deneme grubundaki balıklarda mortalite miktarı gözlemlendi ve aşağıdaki formül kullanılarak nisbi hayatta kalma oranı tespit edildi (Amend, 1981).

Nisbi hayatta kalma oranı (relative percent survival, RPS):  $[1 - (\text{enrofloksasin uygulanan gruptaki \% mortalite} / \text{kontrol grubu balıkların \% mortalitesi})] \times 100$

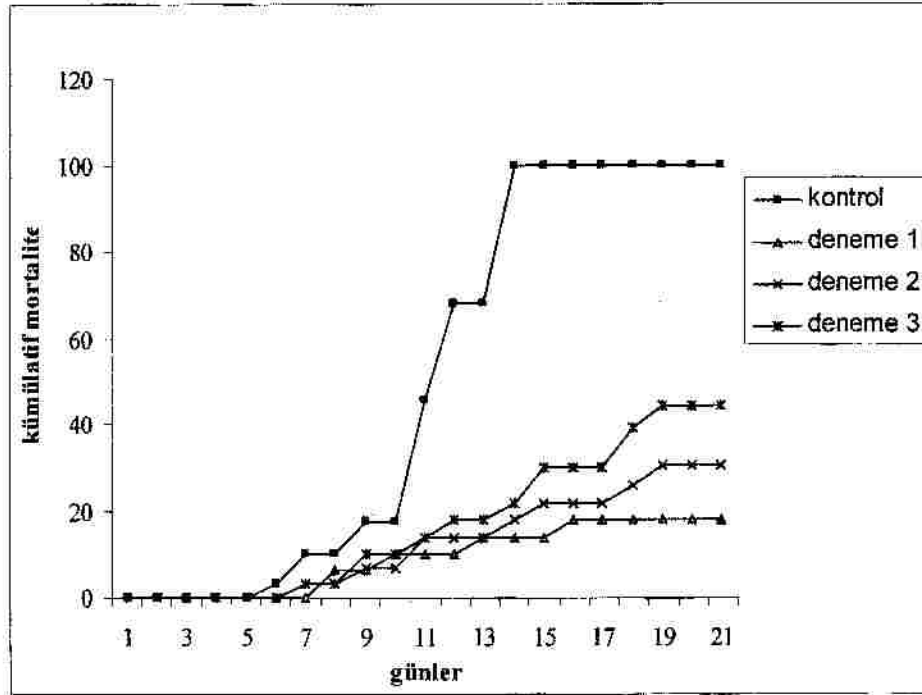
**İstatistik uygulaması:** Gruplar arasında istatistiki farklılığın olup olmadığı Minitab istatistik programı kullanarak *t-student* testi ile tespit edildi.

## BULGULAR

Balıkların bırakıldığı suyun sıcaklığı ortalama  $15 \pm 1$  °C, pH  $7,5 \pm 0,1$  ve çözünmüş oksijen miktarının  $8,1 \pm 0,7$  ppm olduğu tespit edildi. Kontrol grubu ile enrofloksasin'in uygulandığı deneysel gruplar arasındaki

kümülatif mortalite oranları Şekil 1'de verilmiştir. Çalışmada kullanılan suşun LD<sub>70</sub> dozunun göre  $9.8 \times 10^6$  hücre ml<sup>-1</sup> olduğu tespit edildi. Bu dozda canlı *Y. ruckeri* ile maruz kalan deneysel gruplarda RPS oranı sırasıyla %77.44, %71.43 ve % 60.33 olarak bulundu. Kontrol grubunda ise % 93.33 mortalite gözlemlendi. Kontrol grubunda ölümler uygulamanın 6. günü başlayıp denemenin 17.

gününe kadar sürerken I. deneysel grupta 8. günde, II. ve III. deneysel gruplardaki ölümler ise 7. günde görüldü. Kontrol grubunda 28, deneysel gruplarda ise sırasıyla 7, 8 ve 11 adet balık öldü. Kontrol ve deneysel gruplar arasında istatistiksel olarak fark tespit edildi. Balıklarda durgunluk ve iştahsızlık belirlendi ancak dış bakışta yersiniozis'e özgü herhangi bir belirtiye rastlanmadı.



Şekil 1. *Yersinia ruckeri* ile enfekte edilen gökkuşağı alabalığında kontrol grubu ile enrofloksasin'in uygulandığı deneysel gruplar arasındaki kümülatif ölüm oranları

## TARTIŞMA

Balık üretim tesislerinde enfeksiyonlardan kaynaklanan ölümlerin azaltılmasında, banyo şeklindeki ilk uygulamalar, formalin ve malaşit yeşili gibi kimyasalların kullanılmasıyla başlamıştır (Herwig, 1979). Eritromisin (Swarz, 1982), oksitetrasiklin (Herwig, 1979), nifurpirazin (Herwig, 1979) ve oksolonik asit (Endo ve ark., 1973) gibi antibiyotikler çeşitli balık türlerinde görülen hastalıklara karşı banyo şeklinde uygulanmıştır. Enrofloksasin, Gram negatif bakterilere karşı yaygın olarak kullanılan ve florokinolon grubundan olan çok etkili bir antibiyotiktir. Ülkemizdeki balık üretim tesislerinden izole edilen *Y. ruckeri* izolatlarının enrofloksasine karşı duyarlı

olduğu tespit edilmiştir (Aydın ve ark., 1998; Kirkan ve ark., 2006; Akşit ve Kum, 2008).

Balıklarda banyo şeklinde uygulanan enrofloksasinin, tedavinin başlangıç kısmında hızla emildiği ve ilacın vücuttan kısa sürede atıldığı tespit edilmiştir (Bowser ve ark., 1992; Lewbort ve ark., 1997; Stoffregen ve ark., 1997). Enrofloksasin ile banyo yaptırılan balıkların ilk uygulamadan 72 saat sonrası plazmadaki yoğunluğunun, pek çok balık patojeni için öldürücü etkiye sahip olduğu da bildirilmiştir (Lewbort ve ark., 1997).

Antibiyotiklerin yemlere katılıp oral olarak uygulanması standart olarak 7 – 10 gün arasında değişmektedir. Oral uygulamada; uygulanan maddenin mide ve ön bağırsakta; immun sistemin hassas olduğu arka bağırsağa

geçmeden önce tahrip edildiği bildirilmektedir (Rombout ve Joosten, 1997). Ayrıca hastalık etkeninin vücutta oluşturduğu stres de göz önüne alınırsa balığın yem alımında bir azalmanın olabileceği açıktır. Bu nedenle özellikle yavru balıklarda görülebilecek enfeksiyonlara karşı, koruyucu etkenin banyo şeklinde uygulanması daha akılcı görülmektedir. Bu çalışmada da, *Y. ruckeri* enfeksiyonuna karşı banyo şeklinde uygulanan enrofloksasinin koruyucu ve tedavi edici bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada kontrol grubunda tesbit edilen ölüm oranına bakıldığında LD<sub>70</sub> dozundan daha yüksek bir ölüm oranının gerçekleştiği görülmektedir. Bunun nedeni çalışmada kullanılan balık büyüklüğü ile ilgili olduğu düşünülebilir.

*Y. ruckeri* enfeksiyonuna karşı farklı antibiyotikler kullanarak başarılı sağıtım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Kinolon grubundan bir antibiyotik olan oksolonik asit, yersiniosisun tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Rodgers ve Austin, 1983). Florokinolon grubu antibiyotikler gökkuşluğu alabalığının spesifik ve non-spesifik bağışıklık sisteminde olumsuz bir etkiye neden olmazken, balıkçılıkta yaygın olarak kullanılan oksitetrasiklinin her iki sistemi de baskıladığı bildirilmiştir (Furones ve ark., 1993). Florokinolon grubu ilaçlardan flumequine ve nalidik asidin de *Y. ruckeri*'ye karşı etkili olduğu tespit edilmiştir (Ceschia ve ark., 1987). Bu çalışmada ise aynı gruptan bir antibiyotik olan enrofloksasin ile yersiniosis'e karşı başarılı bir sonuç alınmıştır. Enrofloksasin ve *Y. ruckeri* kullanılarak yapılan bir çalışmada da, antibiyotiğin bu hastalığa karşı etkili olduğuna dair benzer sonuçlar elde edilmiştir (Bowser ve House, 1990).

Sonuç olarak bu çalışmada, enrofloksasin kullanarak banyo yaptırılan gökkuşluğu alabalığının yersiniosis'e karşı koruyucu bir etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmayla, balık hastalıklarının tedavisinde banyo uygulamasının oral uygulamalara (Johnson ve Amend, 1983) nazaran daha pratik ve kısa sürede etkili olduğu tekrar teyit edilmiştir.

## KAYNAKLAR

- Akşit, D., Kum, C. 2008. Gökkuşluğu Alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)'nda Sık Görülen Patojen Mikroorganizmaların Tespiti ve Antibiyotik Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi. *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 19(1): 1-7.
- Alderman, D. J. 1988. Fisheries Chemotherapy: a Review, In J. F. Muir and R. J. Roberts (ed.), *Recent Advances in Aquaculture*. Timber Press, Portland, Oreg. 28-33.
- Amend, D.F. 1981. Potency Testing of Fish Vaccines. *Developments in Biological Standardization*, 49: 447-454.
- Aydın, S., Şentürk, A., Güre, H., Bulut, M., Engin, M. 1998. Inhibitory Activities of Antimicrobial Compounds Against Bacterial Fish Pathogens. *The Proceeding of the First International Symposium on Fisheries and Ecology*. 2-4 Sep. Trabzon. 242-249.
- Bowser, P.R., House, M. 1990. In Vitro Sensitivity of Some Fish Pathogens to the Quinolones Naladixic Acid and Oxolinic Acid and the Fluroquinolone Enrofloxacine. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 10: 48-49.
- Bowser, P.R., Wooster, G.A., Stleger, J., Babish, J.G. 1992. Pharmacokinetics of Enrofloxacine in Fingerling Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 15: 62-71.
- Burka, J. F., Hammel, K. L., Horsberg, T. E., Johnson, G. R., Rainnie, D. J., Spear, D. J. 1997. Drugs in Salmonid Aquaculture a Review. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 20:333-349.
- Ceschia, G., Giorgetti, G., Bertoldini, G., Fontebasso, S. 1987. The In Vitro Sensitivity of *Yersinia ruckeri* to Specific Antibiotics. *Journal of Fish Diseases*, 10: 65-67.
- Çağırğan, H., Yürekli Türk O. 1991. First Isolation of *Yersinia ruckeri* from Rainbow Trout Farm in Turkey. In: *The Fifth Conference of EAAP, Disease of Fish and Shellfish*. August, Book of Abstracts, 131: 24-29

- Dalsgaard, I., Bjerregaard, J. 1991. Enrofloxacin as an Antibiotic in Fish. Acta Vet. Scand. Suppl. 87:300-302.
- Diler, Ö., Altun, S., Diler, A., Işıklı, B. I., Gürcan, Ö. C. 2000. Bazı Balık Çiftliklerindeki Gökkuşuğu Alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) Mikroflorasının Tesbiti ve Kontrolü Üzerinde Bir Araştırma. S.D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4(1): 58-69.
- Diler, Ö., Demirkan, T., Altun, S., Çalığışu, F. 1998. Fethiye Bölgesindeki Alabalık İşletmelerinde Yersiniozisin Mevsimsel Dağılımı Üzerine Bir Araştırma. Doğu Anadolu Bölgesi III. Su Ürünleri Sempozyumu, Erzurum. 207-220.
- Endo, T., Ogishima, K., Hayasaka, H., Kaneko, S., Oshima, S. 1973. Application of Oxolinic Acid as a Chemotherapeutic Agent Against Infections Diseases in Fishes. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish. 39: 165-171
- Furones, M.D., Rodgers, C.J., Munn, C.B. 1993. *Yersinia ruckeri*, The Causal Agent of Enteric Redmouth Disease (ERM) in Fish. Annual Review of Fish Diseases. 105 - 125.
- Herwig, N. 1979. Handbook of Drugs and Chemicals Used in the Treatment of Fish Diseases. Thomas Books. Springfield, Illinois
- Hsu, H.M., Wooster, G.A., Bowser, P.R. 1994. Efficacy of Enrofloxacin for the Treatment of Salmonids with Bacterial Kidney Disease Caused by *Renibacterium salmoninarum*. Journal of Aquatic Animal Health, 6: 220- 223.
- Johnson, K. A. and Amend, D.F., 1983, Efficacy of *Vibrio anguillarum* and *Yersinia ruckeri* bacterins applied by oral and anal incubation of salmonids. Journal of Fish Diseases, 6: 473-476.
- Karataş-Düğenci, S., Candan, A., 1997. Marmara Bölgesindeki Bir Gökkuşuğu Alabalığı (*O. mykiss*) İşletmesinde Yersiniozisin Vakası. IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 782-786. Eğirdir, Isparta.
- Karataş-Düğenci, S., Candan, A., Demirkan, D. 2004. Enteric Red Mouth Disease in Cultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) on the Black Sea Coast of Turkey. The Israeli Journal of Aquaculture, 56(3): 226-231.
- Kılıç, A., Şeker, E., Özcan, M., İspir, Ü. 2007. Elazığ'daki Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) İşletmelerinin Bakteriyel Yönden İncelenmesi. F.Ü. Fen ve Müh. Bil. Derg., 19 (2): 129-132.
- Kirkan, S., Göksoy, O.E., Kaya, O., Tekbıyık, S. 2006. In-vitro Antimicrobial Susceptibility of Pathogenic Bacteria in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Turk. J. Vet. Anim. Sci., 30: 337-341.
- Lewbart, G., Vaden, S., Deen, J., Manaugh, C., Whitt, D., Doi, A., Smith, T., Flammer, K. 1997. Pharmacokinetics of Enrofloxacin in the Red Pacu (*Colossoma brachypomum*) After Intramuscular, Oral and Bath Administration. J. Vet. Pharmacol. Ther. 20:124-128.
- O'Grady P., Moloney M., Smith, P.R. 1988. Bath Administration of the Quinolone Antibiotic Flumequine to Brown Trout *Salmo Trutta* and Atlantic Salmon *Salmo salar*. Dis Aquat Org 4:27-33
- Oraić, D., Zrncić, S., Sostarić, B., Bazulić, D., Lipej, Z. 2002. Occurrence of Enteric Redmouth Disease in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) on Farms in Croatia. Acta Vet Hung., 50: 283 - 291.
- Rodgers, C.J., Austin, B. 1983. Oxolinic Acid for Control of Enteric Redmouth Disease in Rainbow Trout. Vet Rec 112.83
- Rombout, J.H.W.M., Joosten, E.H.M. 1997. Mucosal Immunity and Oral Vaccination of Fish. Cell Biology and Immunology Group, Wageningen Agricultural University. 1 - 4.
- Scheer, M. 1987. Studies on the Antibacterial activity of Baytril. Vet Med Review 2:90-98, Stoffregen, D.A., Wooster, G.A., Bustos, P.S., Bowser, P.R., Babish, J.G. 1997. Multiple Route and Dose Pharmacokinetics of Enrofloxacin in Juvenile Atlantic salmon. J. Vet. Pharmacol. Ther. 20: 111-123.
- Swarz, A. 1982. The Uptake and Distribution of Erythromycin Phosphate in a Drug-Surfactant Bath with Several Species of Salmonids M. Sc. thesis, University of Idaho

Şeker, E., Kılıç, A., Özcan, M., İspir, Ü. 2006. Malatya'daki Bazı Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) İşletmelerinin Bakteriyel Florası. Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları (DAUM) Dergisi. 5 (1): 15-18.

Timur, G., Timur, M. 1991. An Outbreak of Enteric Redmouth Disease in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists. 11, 182-183.