

JAPON BALIĞINDA (*Carassius auratus*) *Ichthyophonus hoferi* ENFEKSİYONU

Türkay Öztürk*, Ahmet Özer, Gökay Taşkaya, Meryem Öz, Orhan Aral

Sinop Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Sinop

Özet:

Bu çalışmada, japon balığının (*Carassius auratus* L., 1758) bazı iç organlarında tespit edilen *Ichthyophonus hoferi* enfeksiyonu incelenmiştir. Patojen, sporadik ölümlerin görüldüğü özel bir akvaryumda ölümlerin nedenini araştırmak amacıyla incelenen *C. auratus* balığında tespit edilmiştir. Kalp, karaciğer, dalak ve böbreklerden hazırlanan ezme preparatlarda etrafı kalın fibröz bir zarla çevrelenmiş, ortalama 200-250 µm çapında, küre şekilli ve çok çekirdekli bir morfolojik özellik gösteren etken *Ichthyophonus hoferi* olarak tanımlanmıştır. *Ichthyophonus hoferi* patojenine karşı konak reaksiyonu olarak belirlenen granülom gelişim aşamaları detaylı olarak verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Ichthyophonus hoferi*, *Carassius auratus*, histopatoloji

Abstract: *Ichthyophonus hoferi* infection in goldfish (*Carassius auratus*)

In the present study, *Ichthyophonus hoferi* infection determined from some internal organs of goldfish, *Carassius auratus* L., 1758 were examined. Pathogen was detected in the fish *C. auratus* that were examined in order to investigate the causes of sporadic deaths seen at a private aquarium. According to spherical shaped and multinucleated morphological features surrounded by a thick fibrous membrane at average of 200-250 µm in diameter seen in squash preparations made from heart, liver, spleen and kidney, agent was described as *Ichthyophonus hoferi*. The developmental stages concerning granuloma formation created by the host against pathogen *I. hoferi* were described on pictures in detail.

Keywords: *Ichthyophonus hoferi*, *Carassius auratus*, histopathology

* Correspondence to: Türkay ÖZTÜRK, Sinop Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 57000 Sinop-TÜRKİYE

Tel: (+90 368) 287 62 54/199 Fax: (+90 368) 287 62 55

E-mail: turkay.ozturk@gmail.com

Giriş

Ichthyophonus hoferi çok sayıda balık türünü enfekte eden, özel bir coğrafik alan ve konak tercihi olmayan, kozmopolit bir endoparazit (Sitja-Bobadilla ve Alvarez-Pellitero, 1990; Criscione ve ark., 2002; Whipps ve ark., 2006). İlk önce bir mantar türü olarak tanımlanan *Ichthyophonus hoferi*, günümüzde hem protozoa hem de mantar özelliği gösteren organizmaların bulunduğu Mesomycetozoa sınıfı, Ichthyophonida ordosu, Ichthyophonae ailesinin bir türü olarak sınıflandırılmıştır (Mendoza ve ark., 2002; Arkush ve ark., 2003; Gavryuseva, 2007).

Ichthyophoniasis hastalığına neden olan etkenin morfolojisi ve oluşturduğu patoloji farklı balık türlerinde pek çok araştırmacı tarafından incelenmiştir (Timur ve Timur, 1984; Paperna, 1986; Spanggaard ve ark., 1995; Rahimian, 1998; McVicar, 1999). Hastalığın enfekte ve ölü balıkların tüketilmesi, spor taşıyan yemlerin veya suda bulunan kistlerin oral yol ile alınması sonucu balıklara bulaştığı, özellikle kalp, böbrek, dalak, karaciğer gibi kan bakımından oldukça zengin hematopoietik organlar başta olmak üzere enfekte balığın hemen hemen her organında granulatöz enfeksiyonlara neden olduğu rapor edilmiştir (Timur ve Timur, 1984; Møllergaard ve Spanggaard, 1997). Ichthyophoniasis enfeksiyonları deniz, tatlısu ve akvaryum balıklarının kronik bir mantar hastalığı olarak 1954-1970 yılları arasında rapor edilmeye başlanmış (Bendele ve Klontz, 1975) ve günümüze kadar Amerika'dan (Kocan ve ark., 1999; 2004) Japonya'ya (Miyazaki ve Jo, 1985; Okamoto ve ark., 1987), Kuzey Avrupa ve Asya ülkelerinden (Rahimian ve Thulin, 1996; Gavryuseva, 2007) Güney Afrika'ya (Paperna, 1986) kadar dünyanın farklı pek çok bölgesindeki çeşitli deniz ve tatlısu balıklarında, kültürü yapılan balıklarda ve akvaryum balıklarında kronik, sistemik enfeksiyonlara ve epizootiklere neden olduğu rapor edilmiştir. Etkenin patojenitesi enfeksiyonun bildirildiği balık türleri arasında değişiklik göstermektedir. Özellikle ciddi kayıpların ve salgınların görüldüğü *Clupea harengus* ve *Pleuronectes platessa* türlerinin doğal ve deneysel *I. hoferi* enfeksiyonlarına oldukça duyarlı oldukları bildirilirken (Rahimian ve Thulin, 1996), *Salmo salar* ve bazı alabalık türlerinin orta derece duyarlı, japon, lepistes gibi bazı balık türlerinin ise dirençli olduğu rapor edilmiştir (Schmidt-Posthaus ve Wahli, 2002). Ayrıca deneysel

olarak japon balıkları (*Carassius auratus*) kurbağalarda *Ichthyophonus*-benzeri bir etkenin patojenitesini belirlemek üzere kullanılmış ancak enfeksiyonun kurbağalarda oluşmasına karşın japon balıklarında oluşmadığı ve buna bağlı bir patojenite gelişiminin belirlenmediği de not edilmiştir (Mikaelian ve ark., 2000).

Özel bir coğrafik alan ve konak tercihi bulunmaksızın 100'den fazla balık türünü enfekte eden *I. hoferi* enfeksiyonu ile ilgili ülkemizde bir kayıt mevcut değildir. Ancak, bu çalışma ile *I. hoferi* patojeni, sporadik ölümlerin görüldüğü özel bir akvaryumda ölümlerin nedenini araştırmak amacıyla morfolojik ve histopatolojik olarak incelenen *Carassius auratus* balığında tespit edilmiş ve bu balık türünde *Ichthyophonus hoferi* olgusu ilk kez tanımlanmıştır.

Materyal ve Metot

Enfekte balık otopsi tekniğine uygun olarak açılmış ve incelenmiştir. Balık vücut yüzeyi, yüzgeçler ve solungaç boşluğu makroskobik olarak ve bu bölgelerden alınan materyal de lam-lamel arasına alınıp ezildikten sonra ışık mikroskopunda incelenmiştir. Ardından kalp, beyin, karaciğer, dalak ve böbreklerden ezme preparatlar hazırlanarak; mide barsak içeriği bir lam üzerine alınarak ışık mikroskopunda incelenmiştir. Etkenin görüldüğü organlar histolojik ve yapısal inceleme için %10'luk tamponlanmış formol ile tespit edilmiştir. 4-5 µm kalınlıkta seri kesitleri alınan örnekler H&E ile boyandıktan sonra histopatolojik açıdan incelenmiştir. Hastalık etkenine ait fotoğraflar Nikon Eclipse E600 marka mikroskoba takılı Pixelink marka dijital bir kamera ile çekilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Klinik olarak enfekte balıklarda durgunluk, renkte solgunluk, pullarda düzensizlik ve vücut yüzeyinde yoğun pul kayıpları, kuyruk ve göğüs yüzgeçlerinde erozyonlar, nekropside iç organlarda özellikle kalp ve böbrekte kremi-beyaz renkte granüler oluşumların bulunduğu gözlenmiştir. Benzer dış bulgular *Plecoglossus altivelis* (Miyazaki ve Jo, 1985) ile *Salmo salar* (Zubchenko ve Karaseva, 2002) balıklarında da bildirilmiştir. *Ichthyophonus* enfeksiyonunun belirtileri farklı balık türleri ile karşılaştırmalı olarak pek çok araştırmacı tarafından tanımlanmasına rağmen hastalığın ana belirtileri genellikle iç or-

ganlarda, deri altında ya da bağ dokuda geliştiği için rapor edilmiştir.

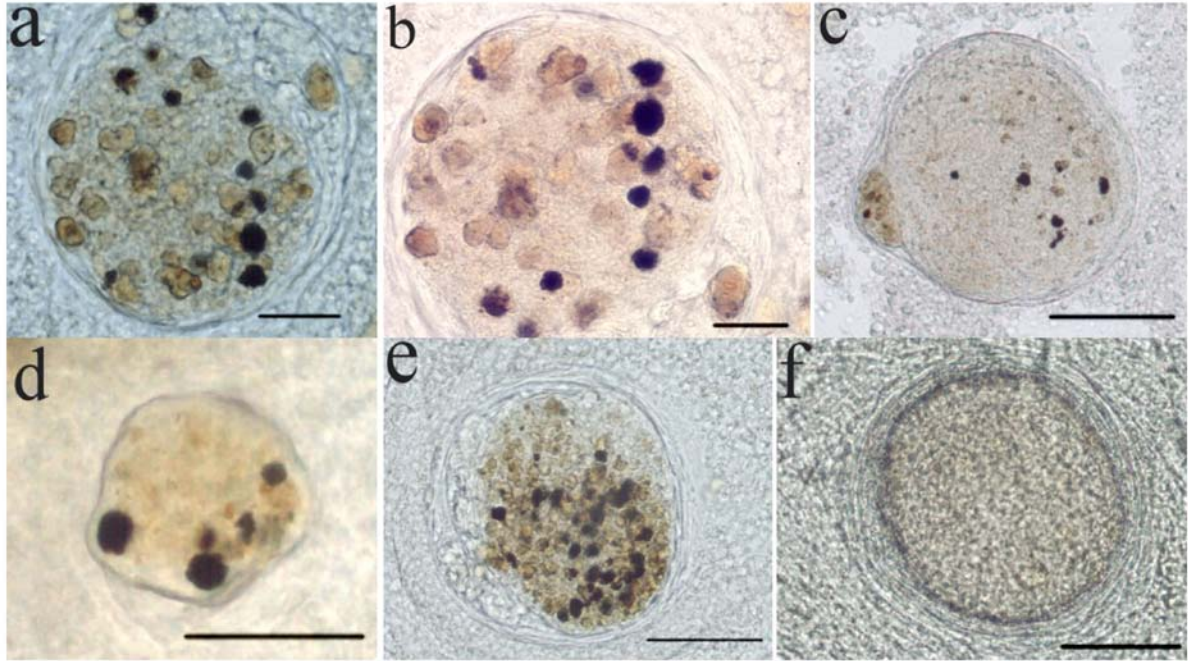
Kalp, karaciğer, dalak ve böbreklerden hazırlanan ezme preparatlarda etrafı kalın duvarlı fibröz bir zarla çevrelenmiş, boyutları oldukça değişken (10 - 250 µm çapında), küre şekilli ve çok çekirdekli bir morfolojik özellik gösteren etken *Ichthyophonus hoferi* olarak tanımlanmıştır (Şekil 1-2). Patojen, *Carassius auratus* balığının kalp, dalak ve böbrek gibi iç organlarında yoğun olarak bulunmuştur. Enfekte balığın karaciğer dokusunda ve mide-barsak duvarında daha düşük yoğunlukta tespit edilen etkene beyin ve kas dokusunda rastlanılmamıştır. Etkenin mikroskopik yapısı etken üzerinde ayrıntılı çalışmalarda bulunmuş Spanggaard ve ark. (1995) ve Rahimian (1998) bulgularıyla benzerlik göstermekte olup spor hücre duvarının nispeten ince olduğu “aktif evre” ile spor hücre duvarının oldukça kalın olduğu ve uygun koşullarda aktif evreye dönüşebilen “pasif evre” olarak isimlendirilen iki farklı yaşam evresine rastlanılmıştır.

Histopatolojik incelemede etkenin granülom oluşumuna dair gelişim aşamaları ve granülomatöz lezyonlara neden olduğu gözlenmiştir. İncelenen dokularda *I. hoferi* patojeninin her iki aktif ve pasif evreleri de belirlenmiştir. Etkenin gelişim evrelerine bağlı olarak konakta meydana gelen değişimlerde de farklılıklar saptanmıştır. Çoğunluğu kalp dokusunda bulunan aktif evredeki bazı bireylerde germinasyon oluşumu gözlenmiş ve bu bireylere konağın belirgin bir hücresel reaksiyon göstermediği ya da minimum düzeyde bir reaksiyon gösterdiği saptanmıştır. Pasif evredeki kistlerin etrafında makrofaj infiltrasyonu ile oluşan epitelooid hücreler ve bağ doku hücreleri ile kalın bir membran ve fibroz dokunun varlığı belirlenmiştir. Konak balığın *Ichthyophonus hoferi* patojenine karşı geliştirdiği makrofajlı inflamasyon, çok çekirdekli dev hücre oluşumu ve granülom reaksiyonları oldukça yaygın gözlenen durumlar arasındadır. Bu araştırma esnasında tespit edilen *I. hoferi* etkeninin enfekte balıklarda yaptığı histopatolojik bulguları, *Pleuronectes platessa* (Timur ve Timur, 1984), *Leptocottus armatus* (Olson, 1986), *Dicentrarchus labrax* (Sitja-Bo-

badilla ve Alvarez-Pellitero, 1990), *Limanda ferruginea* (Rand, 1994), *Clupea harengus* (Møllergaard ve Spanggaard, 1997; Rahimian, 1998), *Salmo salar* (Zubchenko ve Karaseva, 2002), *Oncorhynchus kisutch* (Gavryuseva, 2006) gibi farklı balık türlerinde çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilen bulgularla benzerlik göstermektedir.

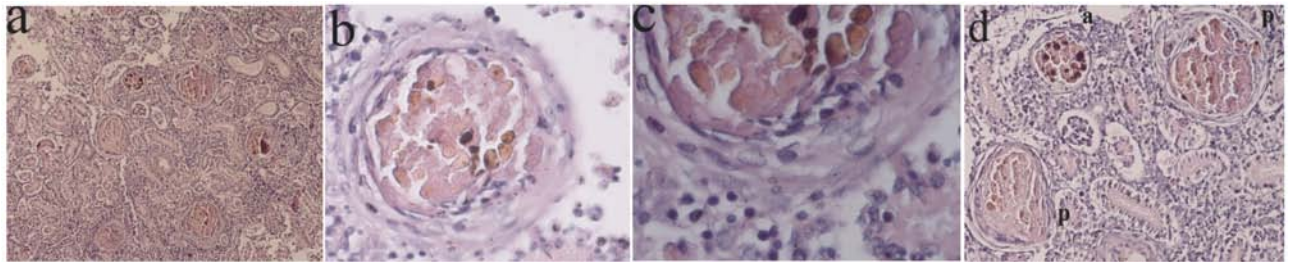
Hastalığın seyri ve belirtileri etkenin hangi organ ve dokularda bulunduğu, yoğunluğuna ve konak balığın durumuna bağlı olarak sporadik ölümler ya da epizootik salgınlar halinde farklılık sergilemektedir. Her ne kadar sistemik *Ichthyophonus* enfeksiyonlarının ölümcül olduğu bildirilse de konak balık türleri arasında görülen ölüm oranı hastalığın akut veya kronik seyrine bağlı olarak değişmektedir. Kronik seyir izleyen durumlarda düşük ölüm oranı ile enfekte balığın aylarca yaşadığı, etkenin pasif formda balığın tüm organlarında yaygın olarak bulunduğu bildirilmiştir (Rahimian, 1998; Sitja-Boadilla ve Alvarez-Pellitero, 1990). Hastalığın akut seyrinde ise yüksek ölüm oranı görülürken etkenin özellikle genç formlarının kalpte yoğun olarak bulunduğu tespit edilmiştir (Gavryuseva, 2007). Ayrıca, konak balığın genel durumuna ve kötü çevre koşullarına bağlı olarak pasif formdaki etken aktif hale geçebilir ve hastalığın kronik seyrini akut yöne değiştirebilir. Bu çalışmada saptanan granülomatöz lezyonların varlığı, etkenin çoğunluğu aktif evredeki bireyler olmak üzere her iki evrenin yaygın olarak enfekte japon balığında bulunması enfeksiyonun balıkta daha önce var olduğunu, ancak olumsuz çevre koşulları ve ölümlerin görülmesiyle enfeksiyonun kronik seyrinin subakut yönde değiştiğini destekler niteliktedir.

Ichthyophonus enfeksiyonlarının ortaya çıkışı ile su sıcaklığı arasında pozitif bir ilişkinin varlığı bilinmektedir. Özellikle su sıcaklığının 15 °C'nin üzerine çıktığı durumlarda etkenin patojenik etkisinin ve ölüm oranının arttığı atlantik salmону ve gökkuşuğu alabalıklarında bildirilmiştir (Okamoto ve ark, 1987) Bu çalışmada, japon balıklarının yaşadığı su sıcaklığının 22-24 °C olduğu düşünüldüğünde, sıcaklığın patojenin etkisini arttırdığı ve ölümlere neden olduğu söylenebilir.



Şekil 1. *Ichthyophonus hoferi* sporları, **a-b.** Kalp ve böbrekteki çok nükleuslu aktif sporlar, **c.** Germinasyon oluşumu, **d.** Genç birey, **e.** Aktif spor, **f.** Pasif spor (Bar 50 µm).

Figure 1. The spores of *Ichthyophonus hoferi*, **a-b.** Multi-nucleated active spores in the heart and kidney of infected gold fish, **c.** Germinating spore, **d.** Plasmodia, **e.** Active spore, **f.** Passive spore. (Bar 50 µm).



Şekil 2. **a.** *Ichthyophonus hoferi* sporları böbrek dokusundan (H&E, x100), **b-c.** Etrafı fibröz doku ile çevrelenmiş *I. hoferi* sporları (H&E, x400, x1000), **d.** Böbrek dokusundaki aktif (a) ve pasif (p) spora konağın hücresel reaksiyonu (H&E, x400)

Figure 2. **a.** The spores of *Ichthyophonus hoferi* in kidney tissue (H&E, x100), **b-c.** *I. hoferi* surrounded by a thick fibrous membrane (H&E, x400, x1000) **d.** Cellular reaction of the host against active (a) and passive (p) spores in kidney tissue (H&E, x400)

Bu hastalığın kontrolü ve tedavisi için yapılan az sayıda da olsa birkaç çalışma mevcuttur. *Azadirachta indica* bitkisinin balıklardaki Ichthyophoniasis hastalığına karşı etkili olduğu ve güvenle kullanılabilmesi için tilapia balıklarında yapılan bir çalışmada bildirilmiştir (El-Ghany ve Alla, 2008). Ayrıca Hershberger ve ark. (2008) in vitro olarak kullandıkları klor ve iyot solüsyonlarının *Ichthyophonus* sporlarını inaktive etmede etkili olduğunu, özellikle *Ichthyophonus* üzerine canlı kültürlerin ya da enfekte balıkların kullanıldığı araştırma laboratuvarlarında biokontaminasyonun önlenmesinde ve laboratuvar malzemelerin dezenfeksiyonunda kullanılabilmesini bildirmiştir.

Sonuç

Konak balığın türü, büyüklüğü ve cinsiyeti enfeksiyon oranını etkileyen faktörler arasında yer almaktadır. Farklı balık türlerindeki enfeksiyonun seyriindeki değişimler ve *Ichthyophonus* enfeksiyonlarını etkileyen biyotik ve abiyotik faktörlerdeki çeşitlilik bu etken üzerine daha ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiğini ortaya koymaktadır. Günümüze kadar japon balığında (*Carassius auratus*) bildirilmemiş *Ichthyophonus hoferi* patojeninin bu araştırma ile ilk defa bildirilmesi literatüre katkı sağlaması bakımından önemlidir. Ayrıca Türkiye'ye yurtdışından ithal edilen japon balıklarında bulunan ve zaman içerisinde diğer balık populasyonları üzerinde de yayılım gösterebilme potansiyeline sahip hastalık etkenlerinin kapsamlı bir şekilde incelenmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

- Arkush, K. D., Mendoza, L., Adkison, M. A., Hedrick, R. P., (2003). Observations on the life stages of *Sphaerothecum destruens* n.g., a mesomycetozoen fish pathogen formally referred to as the rosette agent, *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **50**(6): 430-438. [doi:10.1111/j.1550-7408.2003.tb00269.x](https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2003.tb00269.x)
- Bendele, R.A., Klontz, G.W., (1975). Histopathology of teleost kidney disease. in: The Pathology of Fishes, Eds. W.E. Ribelin y G. Migaki, Univ. Wisconsin Press (Madison, Wisconsin): 365-382.
- Criscione, C.D., Watral, V., Whipps, C.M., Blouin, M.S., Jones, S.R.M., Kent, M.L., (2002). Ribosomal DNA sequences indicate isolated populations of *Ichthyophonus hoferi* in geographic sympatry in the north-eastern Pacific Ocean, *Journal of Fish Disease*, **25**(10): 575-582. [doi:10.1046/j.1365-2761.2002.00404.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2002.00404.x)
- El-Ghany, N.A.A., Alla, H.M.L.A., (2008). A trial for treatment of Ichthyophonosis in cultured *Oreochromis niloticus* using fucus and neem plants. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Egypt, October 12-14, 2008, 1329-1349 pp.
- Gavryuseva, T.V., (2007). First report of *Ichthyophonus hoferi* infection in young Coho Salmon *Oncorhynchus kisuth* (Walbaum) at a fish hatchery in Kamchatka, *Russian Journal of Marine Biology*, **33**(1): 43-48. [doi:10.1134/S106307400701004X](https://doi.org/10.1134/S106307400701004X)
- Hershberger, P.K., Pacheco, C.A., Gregg, J.L., (2008). Inactivation of *Ichthyophonus* spores using sodium hypochlorite and polyvinyl pyrrolidone iodine, *Journal of Fish Disease*, **31**(11): 853-858. [doi:10.1111/j.1365-2761.2008.00959.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2008.00959.x)
- Kocan, R.M., Mehl, T., Elder, N., Bradley, M., Wildermuth, D., Stick, K., (1999). Pathogenicity of *Ichthyophonus hoferi* for laboratory-reared Pacific herring *Clupea pallasii* and its early appearance in wild Puget Sound herring, *Disease of Aquatic Organisms*, **35**(1): 23-29. [doi:10.3354/dao035023](https://doi.org/10.3354/dao035023)
- Kocan, R.M., Hershberger, P., Winton, J. (2004). Ichthyophoniasis: An Emerging Disease of Chinook Salmon in the Yukon River, *Journal of Aquatic Animal Health*, **16**(2): 58-72. [doi:10.1577/H03-068.1](https://doi.org/10.1577/H03-068.1)
- McVicar, A.H. (1999) *Ichthyophonus* and related organisms. In: Fish Diseases and Disorders, Vol. 3, Viral, Bacterial and Fungal Infections (Woo, P.T.K. and Bruno, D.W., Eds.) pp 661-687. CABI Publishing, Oxon, New York
- Mellergaard, S., Spanggaard, B., (1997). An *Ichthyophonus hoferi* epizootic in herring in the North Sea, the Skagerrak, the Kattegat and Baltic Sea, *Disease of Aquatic Organisms*, **28**(3): 191-197. [doi:10.3354/dao028191](https://doi.org/10.3354/dao028191)
- Mendoza, L., Taylor, J. W., Ajello, A., (2002). The Class Mesomycetozoa: A heterogeneous group of microorganisms at the animal-

- fungal boundary, *Annual Review of Microbiology*, **56**: 315-344.
[doi:10.1146/annurev.micro.56.012302.160950](https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160950)
- Mikaelian, I., Ouellet, M., Pauli, B., Rodrigue, J., Harsbarger, J.C., Green, D.M., (2000). Ichthyophonus-like infection in wild amphibians from Quebec, Canada, *Disease of Aquatic Organisms*, **40**(3): 195-201.
[doi:10.3354/dao040195](https://doi.org/10.3354/dao040195)
- Miyazaki, T., Jo, Y., (1985). Studies on *Ichthyophonus* disease of Ayu, *Fish Pathology*, **20**(1): 45-48.
- Okamoto, N., Nakase, K., Sano, T., (1987). Relationships between water temperature, fish Size, infective dose and *Ichthyophonus* infection in rainbow trout, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**(4): 581-584.
- Olson, R.E., (1986). *Ichthyophonus* infection in a Pasific Staghorn Sculpin (*Leptocottus armatus*) from Oregon, *Journal of Wildlife Disease*, **22**(4): 566-569.
- Paperna, I., (1986). *Ichthyophonus* infection in grey mullet from Southern Africa: Histopathological and Ultrastructural study, *Disease of Aquatic Organisms*, **1**: 89-97.
- Rahimian, H., (1998). Pathology and morphology of *Ichthyophonus hoferi* in naturally infected fishes off the Swedish west coast, *Disease of Aquatic Organisms*, **34**(2): 109-123.
[doi:10.3354/dao034109](https://doi.org/10.3354/dao034109)
- Rahimian, H., and Thulin, J., (1996). Epizootiology of *Ichthyophonus hoferi* in herring populations off the Swedish west coast, *Diseases of Aquatic Organisms*, **27**(3): 187-195. [doi:10.3354/dao027187](https://doi.org/10.3354/dao027187)
- Rand, T.G., (1994). An unusual form of *Ichthyophonus hoferi* (Ichthyophonales: Ichthyophonaceae) from yellowtail flounder *Limanda ferruginea* from the Nova Scotia shelf, *Disease of Aquatic Organisms*, **18**: 21-28. [doi:10.3354/dao018021](https://doi.org/10.3354/dao018021)
- Schmidt-Posthaus, H., Wahli, T. (2002). First report of *Ichthyophonus hoferi* infection in wild brown trout (*Salmo trutta*) in Switzerland, *Bulletin European Association of Fish Pathology*, **22**(3): 225-228.
- Sitja-Bobadilla, A., Alvarez-Pellitero, P., (1990). First report of *Ichthyophonus* disease in wild and cultured sea bass *Dicentrarchus labrax* from the Spanish Mediterranean area, *Disease of Aquatic Organisms*, **8**: 145-150.
[doi:10.3354/dao008145](https://doi.org/10.3354/dao008145)
- Spanggaard, B., Huss, H.H., Bresciani, J., (1995). Morphology of *Ichthyophonus hoferi* assessed by light and scanning electron microscopy, *Journal of Fish Disease*, **18**(6): 567-577.
[doi:10.1111/j.1365-2761.1995.tb00361.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1995.tb00361.x)
- Timur, G., Timur, M., (1984). Giant-cell reaction associated with *Ichthyophonus hoferi* infection in wild plaice, *Pleuronectes platessa* L., *Journal of Fish Disease*, **7**(6): 513-514.
[doi:10.1111/j.1365-2761.1984.tb01178.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1984.tb01178.x)
- Whipps, C. M., Burton, T., Watral, V.G., Hilaire, S., Kent, M. L., (2006). Assessing the accuracy of a polymerase chain reaction test for *Ichthyophonus hoferi* in Yukon River Chinook Salmon *Oncorhynchus tshawytscha*, *Disease of Aquatic Organisms*, **68**(2): 141-147. [doi:10.3354/dao068141](https://doi.org/10.3354/dao068141)
- Zubchenko, A. V., Karaseva, T. A., (2002). *Ichthyophonus hoferi* as one of possible causes of increased marine mortality in post-smolts of Atlantic Salmon, NPAFC Technical Report No:4, 90-92.