

T.C  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SULFAMERAZİNİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ  
(*Oncorhynchus mykiss*, W.) İMMUN SİSTEMİNE  
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Muhammet Enis YONAR**

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ELAZIĞ, 2002**

116 609

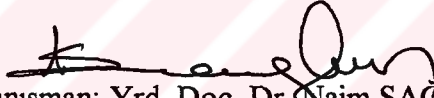
T.C  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ


**SULFAMERAZİNİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ  
(*Oncorhynchus mykiss*, W.) İMMUN SİSTEMİNE  
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

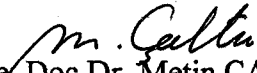
**Muhammet Enis YONAR**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANABİLİM DALI**

Bu tez ~~06.01.2003~~ tarihinde, aşağıda belirtilen jüri tarafından oybirliği / ~~oy çokluğu~~  
ile başarılı / ~~başarısız~~ olarak değerlendirilmiştir.

  
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Naim SAĞLAM

  
Üye: Prof.Dr. Mustafa SARIEYYÜPOĞLU

  
Üye Doç.Dr. Metin ÇALTA

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ~~08/01/2002~~ tarih  
ve .....~~2/2~~.....sayılı kararıyla onaylanmıştır.

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### SULFAMERAZİNİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ (*Oncorhynchus mykiss*, W.) İMMUN SİSTEMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Muhammet Enis YONAR

Fırat Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

2002, Sayfa: 38

Bu çalışmada; sulfamerazinin gökkuşağı alabalığının (*O. mykiss*) immun sistemine olan etkisi incelendi. Araştırmada; ortalama ağırlığı  $193,90 \pm 40,09$  g (124,2-280,3 g) ve boyu  $25,51 \pm 1,95$  cm (21,4-28,2 cm) olan toplam 320 adet gökkuşağı alabalığı kullanıldı. Sulfamerazinin 100 mg, 200 mg ve 400 mg miktarları kg balık ağırlığına göre yeme karıştırılarak balıklara verildi. Sulfamerazini yemle beslenen balıkların kalbinden 3., 7., 14. ve 21. günlerde kan örnekleri alınıp, Hematokrit ve Lökosit düzeyleri, Eritrosit ve Lökosit sayıları, Hemogloblin düzeyi, Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV), Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MHC) ve Ortalama Eritrosit Hemogloblin Konsantrasyonu (MCHC), Fagositik oran ve indeks, Glass-adherent NBT Pozitif Hücre Aktivasyonu, Protein ve Toplam immunoglobulin düzeyleri belirlendi.

Sulfamerazin uygulanan balıkların Hematokrit, Lökosit, Hemogloblin, Protein ve Toplam immunoglobulin düzeylerinde, Eritrosit ve Lökosit sayıları ile MHC ve MCHC değerlerinde kontrol balıklarına göre bir azalmanın olduğu tespit edildi ( $p < 0,05$ ). MCV ile fagositik oran ve indekste ise artış belirlendi. MCV değerindeki artışın önemli olduğu ( $p < 0,05$ ), fakat fagositik oran ve indekste artışın önemli olmadığı ( $p > 0,05$ ) saptandı.

**Anahtar kelimeler:** İmmunomodulasyon, Sulfamerazin, Gökkuşağı alabalığı

## ABSTRACT

Master Thesis

### A STUDY ON EFFECTS OF SULFAMERAZINE ON THE IMMUNE SYSTEM OF RAINBOW TROUT, (*Onchorhynchus mykiss*, W.)

Muhammet Enis YONAR

Firat University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Fish Production and Breeding

2002, Page: 38

In this study, effects of sulfamerazine on immune system of rainbow trout (*O. mykiss*) were examined. In the research, total 320 rainbow trout, that averagely weighted  $193,90 \pm 40,09$  g (124,2-280,3 g) and lengthed  $25,51 \pm 1,95$  cm (21,4-28,2 cm) were used. The amounts of 100, 200 and 400 mg sulfamerazine for, per kg fish weight were mixed with food and given to the fish. Blood samples were taken from the hearth of fish that fed food with sulfamerazine in 3., 7., 14., and 21. days and haematocrit and leucocrit levels, numbers of erythrocyte and leucocyte, hemoglobin level, Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Hemoglobin Concentration (MHC) and Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC), phagocytic ratio and index, glass-adherent NBT positive cell activation, protein and total immunoglobulin level were determined.

Decrease in the haematocrit, leukocrit, hemoglobin, protein and total immunoglobulin level, MHC and MCHC values in erythrocyt and leucocyt numbers of sulfamerazine applicated fish were found. An increase was determined in MCV and phagocytic ratio and index. The increase in MCV value was found important ( $p < 0.05$ ), while the increase in phagocytic ratio and index was found animportant ( $p > 0.05$ ).

**Key Words:** Immunomodulation, Sulfamerazine, Rainbow trout

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
FOTOĞRAFLAR LİSTESİ.....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİSİ.....	3
2.1. Balıklarda İmmun Sistem.....	4
2.2. Sulfonamidler.....	5
2.2.1. Sulfamerazin.....	7
3. MATERYAL ve METOT.....	8
3.1. Balık Kanında Hematokrit ve Lökosit Düzeyleri.....	9
3.2. Eritrosit ve Lökosit Sayıları.....	9
3.3 Hemoglobin Düzeyi.....	9
3.4. Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV).....	9
3.5. Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MHC).....	10
3.6. Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu (MCHC).....	10
3.7. Fagositik Oran ve İndeks.....	10
3.8. Adherent Düzeyi (NBT Pozitif Hücre Aktivasyonu).....	10
3.9. Protein Düzeyi.....	11
3.10. Toplam İmmunoglobulin Düzeyi.....	11
3.11. İstatistiksel Analizler.....	11
4. SONUÇLAR.....	12
5. TARTIŞMA.....	28
6. KAYNAKLAR.....	33
ÖZGEÇMİŞ.....	38

## FOTOĞRAFLAR LİSTESİ

### Sayfa No

- Foto 3.1.** Cip Balık Üretim Tesisinde gökkuşuğı alabalıklarının bırakıldığı havuzlar 8
- Foto 4.1.** Alabalığın kalbinden kan alma işlemi..... 12

## TABLÖLAR LİSTESİ

### Sayfa No

<b>Tablo 4.1.</b> Kontrol grubu balıkların bazı immunolojik ve hematolojik değerleri.....	13
<b>Tablo 4.2.</b> 100 mg sulfamerazin 1 kg balık ağırlığı hesabıyla yeme karıştırılarak verildiğinde, balıkların bazı immunolojik ve hematolojik değerleri ile zamana bağlı korelasyonu.....	14
<b>Tablo 4.3.</b> 200 mg sulfamerazin 1 kg balık ağırlığı hesabıyla yeme karıştırılarak verildiğinde, balıkların bazı immunolojik ve hematolojik değerleri ile zamana bağlı korelasyonu.....	14
<b>Tablo 4.4.</b> 400 mg sulfamerazin 1 kg balık ağırlığı hesabıyla yeme karıştırılarak verildiğinde, balıkların bazı immunolojik ve hematolojik değerleri ile zamana bağlı korelasyonu.....	15

## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1.	Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların hematokrit değerleri..... 15
Şekil 4.2:	Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların lökosit değerleri..... 16
Şekil 4.3.	Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların eritrosit sayıları..... 17
Şekil 4.4.	Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların lökosit sayıları..... 18
Şekil 4.5.	Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların hemoglobin değerleri..... 19
Şekil 4.6.	Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların MCV değerleri..... 21
Şekil 4.7.	Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların MHC değerleri..... 21
Şekil 4.8.	Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların MCHC değerleri..... 22
Şekil 4.9.	Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların fagositik oranları..... 23
Şekil 4.10.	Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların fagositik indeksleri..... 23
Şekil 4.11.	Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların NBT değerleri..... 24
Şekil 4.12.	Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların protein düzeyleri..... 26
Şekil 4.13.	Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların toplam immunoglobülin düzeyleri..... 27

## 1.GİRİŞ

Dünya nüfusunun artışına paralel olarak, insan beslenmesinde önemli bir yeri olan protein kaynaklarının sınırlı olması dikkatleri su ürünlerine yöneltmiştir. Su kaynaklarından su ürünleri avcılığı ve yetiştiriciliği yapılarak yararlanılmaktadır. Gelişen teknoloji ile birlikte sanayileşmenin artması, denizlerin ve iç suların giderek kirlenmesine ve bu kaynaklardan yararlanma oranının düşmesine yol açmaktadır. Bu nedenle son zamanlarda ülkemizde ve dünyada kültür balıkçılığına verilen önem ve ilgi bir hayli artmıştır.

Balıklar yaşadıkları ortam nedeniyle doğal olarak birçok enfeksiyonlarla karşı karşıya kalmaktadır. Entansif yetiştiricilik yapılan yerlerde balıkların yoğun stoklanması enfeksiyöz hastalıkların büyük bir tehlike oluşturmasına neden olmaktadır. Bir balıkta başlayan hastalık çok kısa zamanda diğerlerine bulaşmakta ve yayılmaktadır (Ellis, 1988).

Kültür balıkçılığında hastalık oluştuktan sonra onu tedavi etmek çok zor olup, uzun ve yorucu bir çalışmayı gerektirmektedir. Balıklarda herhangi bir nedenden dolayı meydana gelen ve önemli ekonomik kayıplar oluşturan enfeksiyonlara karşı hem koruyucu hem de tedavi edici amaçla antibiyotikler, nitrofuranlar ve sülfonamidler gibi çeşitli kemoterapötik maddeler uzun zamandan beri kullanılmaktadır (Michel ve diğ., 1990; Aoki, 1992; Uno ve diğ., 1993; Erer, 1995; Sakai, 1999; Sarıeyüpoğlu, 2000).

Sülfonamidler bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde sistemik olarak kullanılan ilk etkin kemoterapötiklerdir. Antibiyotiklerin geliştirilmesine karşılık günümüzde yinede sülfonamidler en yaygın kullanılan kimyasallardır. Çünkü hem ucuz hem de çok sık rastlanan bakteriyel hastalıkların büyük bir bölümüne etkili olmaktadır (Kayaalp, 1984; Katzung,1995). Ancak önemli yan etkilerinin olması, balıklarda özellikle böbrek ve karaciğer başta olmak üzere bağırsak ve deri gibi organları tahrip etmesi, kaslarda birikmesi, uzun süreli kullanımlarda bakterilerin bu ilaçlara karşı direnç kazanması ve havuzlarda dibe çökerek sediment oluşturması bu ilaçların kullanımını sınırlandırmaktadır (Grondel ve diğ, 1987; Björklund ve diğ, 1991; İnglis ve diğ, 1996).

Balıklarda immün sistem, konakçı dokusunda hasara neden olan etkenleri ortadan kaldıran veya yayılmasını sınırlayan, enfeksiyonun meydana gelmesini engelleyen ve enfeksiyona karşı vücudun cevap vermesini sağlayan faktörlerin birçoğunu içine almaktadır (Ellis, 1981). Çeşitli kimyasal maddelerin balıklarda immün sistemi etkilediği bilinmektedir (Anderson ve Jeney, 1992). Bu kimyasal maddelerden immunostimulantların bulaşıcı balık hastalıklarına karşı immün sistemi olumlu yönde etkileyerek balıkların non-spesifik savunma mekanizmalarını harekete geçirdiği bilinmektedir. İmmunostimulantlar vücudun savunma mekanizmasında makrofajları ve nötrofilleri kuvvetli bir şekilde uyararak non-spesifik savunma

mekanizmalarını olumlu yönde geliştirir. Diğer adjuvant karakterdeki maddelerle kullanıldığında ise immun sistemi tamamen etkiler (Arda ve diğ,1994). Bunun yanında balık hastalıklarının tedavisinde oldukça fazla kullanılan oxyteteracycline, oxolinic asid ve florfenicol gibi kimyasal maddelerin, sazan ve alabalıklarda vücudun savunma mekanizmalarını olumsuz yönde etkileyerek immun sistemde azalmaya neden oldukları bildirilmiştir (Grondel ve diğ, 1987; Björklund ve diğ, 1991; İngiliz ve diğ, 1996; Lunden ve Bylund 2002).

Su ürünlerinde immunolojik çalışmaların hemen hemen yok denecek kadar az olduğu ülkemizde, bu çalışmayla balık hastalıklarının tedavisinde oldukça sık kullanılan sulfamerazinin gökkuşağı alabalıklarının bazı immunolojik ve hematolojik parametrelerine olan etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, bu konuda çalışacak araştırmacılara bir rehber olması ve sulfamerazinin balıklarda oluşturabileceği yan etkilerin ortaya çıkarılması düşünülmüştür.

**Bu tez çalışması; Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (FÜBAP) tarafından 590 nolu proje olarak desteklenmiştir.**

## 2. LİTERATÜR BİLGİSİ

Balıkların immün sistemi, diğer canlılarda olduğu gibi çok karmaşık bir yapı göstermektedir. İmmün sistem üzerine yapılan çalışmalar yakın geçmişe kadar oldukça az olmasına rağmen son yıllarda gelişen kültür balıkçılığı ile birlikte artan balık hastalıklarına karşı immün sistem oldukça önem kazanmış ve bu konuda yapılan çalışmaların sayısı oldukça artmıştır. Buna bağlı olarak birçok immunomodulator ilacın balıkların immün sistemine olan etkilerini araştıran çalışmalar birbirini izlemiştir (Rijkers ve diğ, 1980; Grondel ve Boesten,1982; Cravedi ve diğ,1987; Grondel ve diğ, 1987; Wishkovsky ve diğ,1987; Siwicki ve diğ, 1989; Tafalla ve diğ, 1999; Lunden ve diğ, 1998,1999).

Dünyada çeşitli maddelerin balıkların immün sistemine olan etkileri üzerine birçok araştırma yapılmış olmasına rağmen ülkemizde bu alanda yapılan çalışmalar yok denecek kadar azdır. Kubilay ve Timur (1997), Gökkuşuğu alabalığı'nın *Yersinia ruckeri*'ye karşı oluşturduğu antikor düzeyine FIA (Freund's incomplete adjuvant)'nın etkisini çeşitli agulitinasyon yöntemleri ile belirlemeye çalışmışlardır. İspir (2001), bir immunostimulant olan levamisolün gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın immün sistemine olan etkisini araştırmıştır.

Siwicki ve diğ. (1989), oxolinic asidin balıklardaki spesifik ve non-spesifik immuniteye olan etkilerine bakmışlardır. Sazanların humoral immunitesinde oxytetracycline'nin supresif etkili olduğu tespit edilmiştir (Rijkers ve diğ. 1980). Wishkovsky ve diğ (1987) ise *in vitro* olarak yaptıkları bir çalışmada tetracycline'nin balıklardaki fagositik aktiviteye olan etkisini saptamışlardır. *İn vitro* ve *İn vivo* olarak yapılan başka bir çalışmada ise Tafalla ve diğ (1999), oxytetracycline'nin *Scophthalmus maximus*'un immün sistemine olan etkisini araştırmışlardır. Lunden ve diğ. (1999), florfenicol'un gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın immün cevabına olan etkiletrini belirlemeye çalışmışlardır. *İn vitro* ve *in vivo* yapılan başka bir çalışmada, çeşitli antibiyotiklerin gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın lenfoit hücrelerine olan etkileri incelenmiştir (Lunden ve Bylund, 2000). Lygren ve diğ. (1999), lactiferin ve vitamin C'nin *Salmo salar*'ın immün sistemine olan etkileri üzerine araştırmalar yapmışlardır.

Sulfonamidlerin balıkların immün sistemine olan etkileri konusunda oldukça az çalışmaya rastlanmıştır. Lunden ve Bylund (2002), sulfadiazin-trimethoprim kombinasyonunun gökkuşuğu alabalığı'nın antikor düzeyine, fagositik ve lizozim aktivitesine olan etkilerini incelemişlerdir. Sisson ve diğ, (1997), sulfamethoxazole'nin insanlardaki IgM ve IgG miktarlarına olan etkilerini saptamışlardır.

## 2.1. Balıklarda İmmun Sistem

Hayatın devamı için vücudun patojenlere karşı kendini koruması zorunludur. Enfeksiyonların ortaya çıkması ile savunma mekanizmalarının önemi daha iyi anlaşılmaktadır. Balıklar buldukları ortam nedeni ile birçok patojen mikroorganizma ile karşı karşıyadır. Ancak bu karşılaşmanın çok az bir kısmı tehlikeli sonuçlar doğurur. Çünkü vücudun savunma sistemi patojen mikroorganizmayı etkisiz hale getirir. Bu nedenle enfeksiyona yakalanma riskinin fazla olduğu su ortamında yaşayan balıklar için immün sistem çok önemlidir.

Balıkların immün sistemi üzerine araştırma yapan bir çok bilim adamı memeliler ile balıkların bağışıklık sisteminin birbirine benzediğini bildirmişlerdir. Balıklarda da immün sistem diğer canlılarda olduğu gibi spesifik ve non-spesifik bağışıklık olmak üzere ikiye ayrılır (Ellis, 1981; van Muiswinkel, 1992; Dalmo ve diğ., 1997).

Balıklarda immunoglobulinler spesifik savunma mekanizmalarının en önemli elamanlarıdır. Glikoprotein karakterinde olup B lenfositlerinin başkalaşımı sonucu oluşurlar. Plazma hücreleri tarafından sentezlenip antijenlerle birleşerek spesifik bir reaksiyon verirler. Balıklarda antikorlar serumda, doku sıvılarında, sindirim kanalında ve mukusta bulunur. Memelilerde IgG, IgM, IgA, IgE ve IgD olmak üzere beş immunoglobulin teşhis edilmiş olup (Diker, 1998; Arda ve diğ., 1994), balıklarda bunlardan sadece IgM'nin varlığı kesin olarak saptanmıştır (Darson, 1981; Tizard 1992). Bunun dışında immün sistemi güçlendirilmiş *Carassius carassius*'larda IgG benzeri (Roberts, 1978), *Myxinidae* ailesine ait balıklarda ise molekül ağırlığı 118 kDa olan ve IgN adı verilen, IgM benzeri ikinci bir immunoglobulin olabileceği belirlenmiştir (Tizard, 1992). Kıkırdaklı balıkların serumunda IgM'nin pentametrik (19 S) ve monometrik (7 S) formları; kemikli balıklarda ise tetrametrik (17 S) ve monometrik formları bulunur (Tizard, 1992). Memelilerde plazma proteini olarak bulunan IgM, humoral immunitenin ilk basamağını oluşturur ve daha sonra IgG oluşumuna yardımcı olur.

Balıklarda non-spesifik savunma mekanizmaları ise vücudun enfeksiyonlara karşı cevap vermesini sağlayan deri, mukus, gastrointestinal bölge, fagositik hücreler gibi birçok faktörü içine almaktadır.

Balıklarda deri yüksek omurgalılarınkinden farklı olarak keratin içermeyen epidermis hücrelerinden oluşur. Sağlam derinin epitel örtüsü mikroorganizmaların girişini önleyen önemli ve iyi bir bariyer görevi görür. Bir çok patojenik mikroorganizma sağlam deriden geçemez. Deri ve solungaçlardan salgılanan mukus ile epitel hücrelerin sayısı artar ve bu epitel hücreler, mikroorganizmalara karşı vücudun ilk savunma hattını oluşturur (Demir, 1992; Arda ve diğ., 1994).

Mukus balık ile çevresi arasında koruyucu bir tabakadır. Çevredeki patojen mikroorganizmaların artması, fiziksel ve kimyasal tahrişler ve enfeksiyonlara tepki sırasında

mukus salgısı artar. Mikroorganizmaların vücuda girebilmeleri için kıvam olarak çok yoğun ve akışkan olan mukusu geçmesi ve epitel hücrelere tutunması gerekir (Ellis, 1981; Arda ve diğ.,1994).

Gastrointestinal sistem, besinlerin sindiriminde görevli organlar grubu olarak bilinmektedir. Fakat yapılan araştırmalar sonucu bu görevinin yanında vücudun çeşitli etkenlere karşı korunmasında da etkili olduğu belirlenmiştir (İstanbuluoğlu, 1978; Ellis, 1981).

Fagositik hücreler diğer canlılarda olduğu gibi balıklarda da non-spesifik savunma mekanizmalarının en önemli faktörlerinden birini oluşturur. Memelilerde fagositik hücreler, makrofajlar ve nötrofiller olmak üzere iki tiptir. Makrofajlar balıklar ve diğer omurgalılarda immun sistemin en önemli elemanı olup, vücutta humoral ve hücrel savunma mekanizmalarında ve diğer immunolojik aktivitelerde direkt veya indirekt önemli roller üstlenirler. Makrofajlar birçok dokuda bulunmasına rağmen lenf düğümleri, dalak ve karaciğerde fazladır. Makrofajlar özellikle 1-10µm boyutundaki partikülleri, hücrel atıkları ve vücuttaki ölü ve hasta hücreleri yutup vücuttan uzaklaştırarak immun sisteme katkıda bulunurlar. Fagositik hücrelerin ikincisi olan nötrofiller ise memelilerde yangı oluşumu sırasında, balıklarda da böbreklerde ve az miktarda dalakta görülürler (Ellis,1981; Diker, 1998).

Ayrıca balıklarda sitokinler, interferon ve yirmi serum proteinin oluşturduğu komplement sistem, NK hücreleri (Doğal Öldürücü Hücreler), tripsin, lizozim, CRP(C- reaktif protein), seruloplazmin ve proteinaz inhibitörleri gibi çeşitli antimikrobiyal maddeler non-spesifik humoral savunma mekanizmasında görevlidir (Dalmo ve diğ.,1997).

## 2.2. Sulfonamidler

Günümüzde kemoterapötikler, enfeksiyöz hastalıklarda en önemli sağıtım aracı olma özelliğini korumaktadır. Hastalıklarda profilaktif ve küratif tedavi amacıyla kemoterapötik seçimi bilinçli bir şekilde yapılmalıdır. Yani enfeksiyona sebep olan etkenleri en iyi şekilde ortadan kaldıracabilecek özellikteki kemoterapötiklerin seçilmesi gerekmektedir. Bu seçimde kemoterapötüğün hem ucuz hemde enfeksiyona etkili olması göz önünde bulundurulmalıdır (Kaya ve diğ., 1997).

Enfeksiyöz etkenlerin giderilmesi ve kontrol altına alınmasında antimikrobial ve dezenfektan maddeler olmak üzere başlıca iki grup kullanılmaktadır. Antimikrobial maddeler özellikle herhangi bir hastalığa yakalanmış canlılardaki patojen etkenlerin öldürülmesi ve hastalığın sağıtımı için kullanılır. Bu tedavi uygulaması ile hem hasta iyileşir hem de patojen etkenlerin yayılması sınırlandırılarak, yeniden enfeksiyonların çıkışı kontrol altına alınmış olur. Ancak bazı durumlarda ilaç etkeni tam olarak öldürmez veya sadece etkenin üremesini durdurur. Ayrıca tedavi sırasında kullanılan ilaçlara karşı mikroorganizmalarda direnç

oluşabilir. Dezenfektan maddeler genellikle cansız objelerdeki hastalık etkenlerinin çeşitli yerlere, gıdalara, sulara ve canlılara bulaşmasını ve enfeksiyonun yayılmasını önlemek için etkene yönelik olarak yapılan dezenfeksiyon çalışmalarında kullanılırlar. Kültür balıkçılığında hastalıklara karşı kullanılan dezenfektanlar kemoterapötik maddelere oranla daha fazla çevre kirliliğine yol açmakta ve kültürü yapılan balıkların pazar değerini düşürmektedir (Arda, 1997; Sakai, 1999).

Sulfonamidler bulduktan hemen sonra yaygın şekilde kullanılmaları ile, bakteriyel hastalıklarda önemli bir azalma görülmüştür. Sulfonamidler enfeksiyöz hastalıkların sağıtımında geniş ölçüde kullanılmasına rağmen antibiyotiklerin bulunması ve uygulama alanına sokulmaları sonucu önemleri zaman içinde giderek azalmıştır. Bununla beraber sulfonamidlerin trimethoprim ve ormethoprim gibi maddelerle hazırlanan kombinasyonları bugün bile birçok bakteriyel ve protozoal enfeksiyonların kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır (Kayaalp, 1984; Kaya ve diğ., 1997).

Anilin boyalarından köken alan sülfonamidler para-aminobenzensülfanilamid kimyasal yapısında, sentetik olarak hazırlanan antimikrobal maddelerdir. Bakteriostatik etkiye sahip olup, bu etkiyi aktif kısmı olan aminobenzen halkası sağlar. Sülfonamidler suda az eriyen ve ışıkta karar beyaz renkte kokusuz lezzetsiz kristalize toz halindedir. Işığa duyarlı olmaları dışında genellikle dayanıklıdır. Toz ve çözelti halinde ısıtılarak sterilize edilebilirler. Amfoterik özellik taşıyan sülfonamidler asit ve bazik maddelerle tuz oluştururlar. Ortamın pH sı yükseldikçe sudaki çözünürlükleri de artar (Brander ve diğ., 1982; Kaya ve diğ., 1997).

Suda az eriyen ve barsaklardan yavaş emilen sulfonamidler plazma proteinleri ve karaciğer tarafından inaktive edilir ve böbrekten dışarı atılırlar. Sülfonamidler uzun süreli kullanımlarda böbrekleri tahrip ederler. İki ya da daha fazla kombinasyonlu sulfonamidler, bir tür sülfonamide göre suda daha iyi çözünürler. Bu nedenle kendi aralarında ikili ya da üçlü kombinasyonlarının kullanılması böbreklerde kristalleşerek birikme riskini azaltır (Brander ve diğ., 1982; Erer, 1995; Arda, 1997; Kaya ve diğ., 1997).

Sülfonamidler ile tüm enfeksiyonların tedavisini yapmak veya mortalitesini azaltmak mümkün değildir. Bu maddelerin bazı hastalıklarda kullanılmasında başarılı sonuçlar alınmıştır. Sulfonamidler, balıklarda *Aeromonas salmonicida*, *Yersinia ruckeri*, *Vibrio anguillarum*, *Hemophilus piscium* gibi çeşitli bakteriyel; sazan eritrodermatisi gibi viral; coccidia gibi parazitik enfeksiyonlara karşı küratif ve profilaktif etkiye sahiptirler. Sülfonamidler Salmonella, Riketsiya ve *E.coli* gibi patojen mikroorganizmalara karşı zayıf etki gösterirler. Leptospira, Treponema, Mycoplazma, Clostridium (*Cl. perfringers* hariç), amip, mantar, plazmodium ve birçok virusa karşı ise etkili değildir (Plumb, 1992; Uno ve diğ., 1993; Arda, 1997; Kaya ve diğ., 1997). Sulfonamidler hem gram pozitif, hem de gram negatif bakterilerle Nocardia,

Chlamydia ve bazı protozoonları inhibe ederler. Yine bazı enterik bakteriler inhibe edilse de Pseudomonas, Serratia, Proteus ve direnç sahibi organizmalar sülfonamidlerden etkilenmezler. Meningokok, Pnömonokok, Streptokok, Stafilokok ve Gonokokların pek çok suşu günümüzde artık sülfonamidlere karşı direnç kazanmışlardır (Katzung, 1995).

### 2.2.1. Sulfamerazin

Sulfamerazin hızlı olarak emilen ve atılan, metil primidin türevi olan bir ilaçtır. Sodyum tuzu yapısında olup,  $C_{11}H_{11}N_4O_2SNa$  (4-Amino-N-[4-methyl-2-pyrimidinyl] benzenesulfonamide) formülündedir. Sulfamerazin, sulfadimidin ile benzer özellikler gösterip aynı etki spektrumuna sahiptir. Beyaz veya beyazımsı krem renkte, kokusuz, acı lezzetli, suda az çözünen fakat seyreltik madensel asitler, alkali hidroksitler ve karbonatları sularda iyi çözünen bir tozdur (Brander ve diğ., 1982; Kaya ve diğ., 1997).

Sulfamerazinin patojen mikroorganizmalar üzerine olan etki mekanizmaları tam olarak belirlenmiş olup bakterilerin üreme veya gelişmesini engellediği tespit edilmiştir. Üremesi duran bakteriler vücudun savunma sistemleri tarafından yok edilirler. Sulfamerazin bakterilerin özellikle gelişme dönemlerinde daha etkilidir. Bu dönemde hem bakteriye dışardan besin maddesi girişi fazladır hem de balığın savunma sistemleri daha etkindir (Brander ve diğ., 1982; Kayaalp, 1984; Kaya ve diğ., 1997).

Birçok mikroorganizmada nükleik asitlerin sentezinde rol oynayan bazı enzimlerin faaliyeti folik aside bağlıdır. Bakteriler, folik asidi memeliler gibi dışardan almayıp kendileri sentezlerler. Folik asidin sentezlenebilmesi için bakteriler para-aminobenzoikasite (PABA) ihtiyaç duyarlar. PABA'nın kimyasal yapısı incelendiğinde sülfonamidlerin yapısı ile büyük bir benzerlik görülmektedir. Bu benzerlikten dolayı ortamda yeteri kadar sulfamerazin varsa PABA'nın yerini alır ve folik asit yapılamaz. Böylece hücrenin üremesi durur ve sulfamerazin bakteriyostatik etki gösterir. Bu nedenle vücudun savunma mekanizmasının etkili olabilmesi için sulfamerazine yapılan tedavinin yeteri kadar uzun süre devam etmesi gerekir (Droy ve diğ., 1990; Kleinow ve diğ., 1992; Kılıçturgay, 1996; Arda, 1997; Samuelsen ve Ervik, 1997).

Sulfamerazin balık hastalıklarının tedavisinde oldukça fazla kullanılmaktadır. Birçok araştırmacı farklı dozlardaki sulfamerazinin çeşitli bakteriyel balık hastalıklarında kullanılabilirliğini belirtmişlerdir (Post, 1987; Plumb, 1992; Cengizler, 2000; Sarıyüpeoğlu, 2000).

Balıklarda sulfamerazin uygulaması en fazla üç hafta olmalı ve bu süreyi geçmemelidir. Gereğinden fazla ve uzun süreli verilmesi halinde balıklarda böbrek bozukluğu görülebileceği gibi sulfamerazine dirençli bakteriler meydana gelebilir (Erer, 1995; Sarıyüpeoğlu, 2000).

### 3.MATERYAL VE METOT

Araştırmada ortalama ağırlığı  $193,90 \pm 40,09$  g ( $124,2-280,3$  g) ve boyu  $25,51 \pm 1,95$  cm ( $21,4-28,2$  cm) olan toplam 320 adet Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kullanıldı. Balıklar yerel bir işletmeden temin edildi ve araştırmanın yürütüldüğü Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Cip Balık Üretim Tesisine canlı olarak getirildi.

Çalışmada kullanılmak üzere bir havuz hazırlanarak dört bölmeye ayrıldı (Foto 3.1). Bu bölmelerden birine kontrol grubu balıklar, diğer üç bölmeye ise günlük doz olarak sulfamerazinin 100, 200 ve 400 mg/kg balık ağırlığı hesabıyla yeme karıştırılarak verilecek olan balıklar yerleştirildi. Deneysel çalışmaya başlamadan önce balıklar hazırlanmış olan bu ortama 15 gün süreyle adapte edildiler. Bu süre içinde balıklara günde iki kere alabildikleri kadar bir alabalık yemi (Ecobion No: 4) verildi.



Foto 3.1. Cip Balık Üretim Tesisinde gökkuşuğu alabalıklarının bırakıldığı havuzlar.

Çalışmada kullanılacak sulfamerazin günlük doz olarak kg balık ağırlığına 100 mg, 200 mg ve 400 mg olacak şekilde tartıldı ve toz haline getirilen yemle homojen olarak karıştırıldı. Böylece çalışmada kullanılacak yemler hazırlandı. Çalışma süresince günde iki kez olmak üzere kontrol grubu balıklara normal alabalık yemi (Ecobion No: 4), deney balıklarından birinci gruba günlük sulfamerazinin 100 mg/kg balık, ikinci gruba 200 mg/kg balık ve üçüncü gruba ise 400 mg/kg balık ağırlığına göre hazırlanan yemler 21 gün süreyle balıkların vücut ağırlıklarının % 2' si oranında verildi.

Farklı dozlarda sulfamerazinin yemle verildiği balıklar ile kontrol grubu balıkların 3, 7, 14 ve 21. gün sonunda kalplerinden, içinde heparin bulunan şırınga yardımı ile kan örnekleri alındı ve aşağıda yöntemleri açıklanmış olan testler uygulanarak bazı immunolojik ve hematolojik parametreler belirlendi.

### 3.1. Hematokrit ve Lökosit Düzeyleri

Farklı dozlardaki sulfamerazinin (100 mg/kg balık, 200 mg/kg balık, 400 mg/kg balık) yemle verildiği balıklar ile kontrol grubu balıkların kalbinden elde edilen kanlardan heparinli hematokrit kapıllar tüplere 2/3 oranında dolduruldu. Tüpler Nüve marka hematokrit santrifüjde 12500 rpm'de 5 dakika santrifüje edildi. Santrifülden sonra hematokrit ve lökosit miktarı hematokrit cetvel üzerine konularak okundu ve yüzdeleri hesaplandı (Konuk 1981, Siwicki ve Anderson 1993).

### 3.2. Eritrosit ve Lökosit Sayıları

Eritrosit pipetinin 0,5 işaretine kadar çalışmada kullanılan balıkların kanlarından, 101 işaretine kadar ise Natt-Herrick çözeltisinden çekildi. Hazırlanmış olan karışımdan bir damla hücre sayma kamarasına damlatıldı ve dağılması beklendi. Sonra beş büyük kare (80 küçük kare) içindeki eritrositler ile tüm küçük karelerdeki lökositler sayıldı. Belirlenen eritrosit sayısı 10.000 ile lökosit sayısı ise 1000 ile çarpılarak bir milimetreküp kandaki eritrosit ve lökosit miktarı belirlendi (Konuk, 1981; İmren ve Turan, 1985).

### 3.3. Hemoglobin Düzeyi

Sulfamerazinin farklı dozlarının yemle verildiği deneme grupları ile kontrol grubu balıkların kanlarından spektrofotometre tüplerine 0,02 ml bırakıldı. Üzerine 5 ml Drabkin's solüsyonu eklendi. Karışım 10 dakika karanlıkta bekletildi ve spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda okunarak hemoglobin düzeyi belirlendi (Nazıroğlu, 2001).

### 3.4. Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV)

Sulfamerazinin verilen balıklar ile kontrol balıklarının hematokrit değerleri belirlendikten sonra ortalama eritrosit hacmi aşağıdaki formüle göre hesaplandı (Konuk, 1981; İmren ve Turan, 1985).

$$MCV (\mu^3) = \text{Hematokrit} \times 10 / \text{mm}^3 \text{deki eritrosit sayısı}$$

### 3.5. Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MHC)

Tüm deneme grubu ve kontrol grubu balıklarının hemoglobin miktarları tespit edildikten sonra ortalama eritrosit hemoglobini aşağıdaki şekilde bulundu (Konuk, 1981; İmren ve Turan, 1985).

$$\text{MHC (pg)} = \text{Hemoglobin} \times 10 / \text{mm}^3 \text{deki eritrosit sayısı}$$

### 3.6. Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC)

Deneme grupları ile kontrol grubu balıklarına ait kanların eritrositlerinin 100 ml'si içinde ne kadar hemoglobin olduğunu gösteren MCHC aşağıdaki formüle göre hesaplandı (Konuk, 1981; İmren ve Turan, 1985).

$$\text{MCHC(\%)} = 100 \times \text{Hemoglobin} / \text{Hematokrit}$$

### 3.7. Fagositik oran ve indeks

Sulfamerazinin 100 mg, 200 mg ve 400 mg miktarlarının kg balık ağırlığı hesabıyla uygulandığı deneme grupları ile kontrol grubu balıklarının fagositik oran ve indekslerini belirlemek için Anderson ve Jeney (1992)'in bildirdiği metot uygulandı. Buna göre; koyun kırmızı kan hücresi (SRBC) % 3'lük gluteraldehit ile 17 saat fikse edilip, kullanıma kadar +4 °C'de saklandı. Kan örnekleri (100 µl'de 5 x 10<sup>6</sup> hücre ml<sup>-1</sup>) mikrotiter tabaklara bırakıldı ve üzerine fikse edilmiş SRBC nin %0.8 süspansiyonundan 1 ml ilave edildikten sonra 30 dakika inkübe edildi. Her örnek için bir damla alınıp lam üzerinde preparatı hazırlandı ve havada kurutuldu. Daha sonra preparat Wright's boyası ile iki dakika boyandı ve distile su ile yıkandı. Fagositik oran ve indeksin belirlenebilmesi için 400 büyütme mikroskopta 100 lökosit sayıldı ve SRBC yutan hücreler belirlendi.

Fagositik oran, sayılan 100 lökositte SRBC yutan hücrelerin sayısı, indeks ise SRBC yutan hücrelerin lökosit oranı olarak hesaplandı.

### 3.8. Adherent Düzeyi (NBT pozitif hücre aktivasyonu)

Farklı dozlarda sulfamerazin verilen deneme grupları ile kontrol grubu balıkların kanlarından pipetle 50'şer mikron alınarak lamellerin üzerine damlatıldı. Bu lameller ıslatılmış kağıt havlu ile nemlendirilen bir petri kutusuna yerleştirildi ve laboratuvar şartlarında 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Lameller Fosfat Buffer Tuzu (PBS) ile yıkanıp kurutuldu. Bir lam üstüne 50 mikron %0.2 NBT damlatılarak, hazırlanmış lameller bu süspansiyona ters olarak kapatıldı ve oda ısısında 20-30 dakika beklendikten sonra 400 büyütme mikroskopta yapışan hücreler sayıldı (Anderson ve diğ., 1992; Siwicki ve Anderson, 1993).

### 3.9. Protein Düzeyi

Araştırmada kullanılan kontrol grubu ile sulfamerazin verilen balıkların plazmalarından 0,1ml pipetle alınarak içerisinde 0,9 ml distile su bulunan spektrofotometre tüplerine bırakıldı. Bunların üzerine 4 ml biüret ilave edilerek 30 dakika karanlıkta bekletildi ve spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda okunarak protein miktarı belirlendi (Kwapinski,1965).

### 3.10. Toplam İmmunoglobulin Miktarı

Mikrotiter tabaklara 0,1 ml plazma konuldu. Üzerine deiyonize suda bekletilen % 12'lik polietilenglikol'dan 0,1 ml ilave edildi ve oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra 5000 x g'de 10 dakika santrifüj yapılarak üstte kalan kısımdan 0.1 ml alındı ve içerisinde 0,9 ml distile su bulunan spektrofotometrik tüplere konuldu. Üzerine 4 ml biüret ayırıcı ilave edilerek 30 dakika karanlıkta bekletildi ve spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda okundu. Elde edilen sonuçlar protein değerinden çıkarılarak toplam immunoglobülin değeri belirlendi (Siwicki ve Anderson, 1993).

### 3.11. İstatiksel Analizler

Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde Rutin istatistiksel metotlar ve Excel istatistik programı kullanıldı. Balıklara yemle 100 mg/kg, 200 mg/kg ve 400 mg/kg sulfamerazin verildikten sonra elde edilen immunolojik ve hematolojik verilerin değerlendirilmesi 0,05 güven aralığında t-student testi ile yapıldı. Balıklara sulfamerazin uygulandıktan sonra zamana bağlı olarak immünolojik ve hematolojik parametrelerde meydana gelen değişimin önemli olup olmadığı korelasyona bakılarak değerlendirildi (Sünbuloğlu ve Sünbuloğlu, 1994).

## 4. SONUÇLAR

Gökkuşaağı alabalıklarına 21 gün süreyle kg balık ağırlığına göre, sulfamerazinin 100 mg, 200 mg ve 400 mg dozlarının yemle verilmesiyle balıkların immunolojik ve hematolojik değerlerinde önemli değişimlerin olduğu belirlendi.

### 4.1. Hematokrit ve Lökosit Düzeyleri

Farklı dozlarda sulfamerazinin içeren yemlerle beslenen balıklarla kontrol grubu balıkların kalplerinden alınan kan örnekleri (Foto 4.1) ile yapılan testler sonucunda hematokrit ve lökosit yüzdelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca hematokrit değerlerinin  $34,37 \pm 5,72$  ile  $34,93 \pm 3,82$  arasında, lökosit değerlerinin ise  $2,31 \pm 0,6$  ile  $2,37 \pm 0,71$  arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.1, Şekil 4.1, 4.2).



Foto 4.1. Alabalığın kalbinden kan alma işlemi.

Sulfamerazinin 100 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda hematokrit değeri 3.günde  $32,75 \pm 4,34$  iken araştırmanın 21. gününde  $33,68 \pm 4,36$  olarak tespit edildi. Lökosit değeri ise 3.günde  $2,25 \pm 0,57$ , 21. günde  $2,00 \pm 0,63$  olarak saptandı (Tablo 4.2, Şekil 4.1,4.2).

Sulfamerazinin 200 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda hematokrit değer 3. günde % 33,81 ± 5,02 iken, araştırmanın 21. gününde % 32,06 ± 2,67 değerine indi. Lökosit 3. günde % 1,87 ± 0,50, 21. günde ise % 1,68 ± 0,47 olarak tespit edildi (Tablo 4.3, Şekil 4.1, 4.2).

Sulfamerazinin 400 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda hematokrit değer 3. günde % 34,25 ± 4,34 olarak belirlenirken, bu değer 21. günde % 29,56 ± 2,27 olarak saptandı. Lökosit değeri ise 3.günde % 1,93 ± 0,57, 21. günde % 1,81 ± 0,65 olarak bulundu (Tablo 4.4, Şekil 4.1, 4.2).

Kontrol grubu balıklar ile sulfamerazin uygulanan balıkların hematokrit değerleri arasında farkın önemli olmadığı belirlendi ( $p>0,05$ ). Ancak kontrol grubu balıkları ile sulfamerazinin 400 mg/kg balık oranındaki yemin verildiği balıkların 21. günde hematokrit değerleri arasında farkın önemli olduğu tespit edildi ( $p<0,05$ ). Yine sulfamerazinin 100, 200, 400 mg/kg balık şeklindeki dozlarının verildiği balıkların hematokrit değerlerinin süreye bağlı olarak değişimlerine bakıldığında negatif yönlü zayıf bir ilişkinin olduğu görüldü. Yani sulfamerazini yem balıklara uygulama süresi arttıkça hematokrit değerinde de önemsiz bir azalma saptandı (Tablo 4.2, 4.3, 4.4).

Sulfamerazini yem verilen balıklar ile kontrol grubu balıkların lökosit değerleri arasındaki farkın önemli olduğu tespit edildi ( $p<0,05$ ). Lökosit değerlerinin süreye bağlı olarak değişimleri incelendiğinde negatif yönlü zayıf bir ilişkinin olduğu saptandı.

**Tablo 4.1.** Kontrol grubu balıkların bazı immunolojik ve hematolojik değerleri.

Parametreler	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
Hematokrit (%)	34,31 ± 5,72	34,68 ± 4,04	34,93 ± 3,82	34,37 ± 4,50
Lökosit (%)	2,31 ± 0,60	2,37 ± 0,61	2,31 ± 0,70	2,37 ± 0,71
Eritrosit ( $\times 10^6$ )	1,46 ± 0,10	1,46 ± 0,10	1,45 ± 0,11	1,45 ± 0,12
Lökosit ( $\times 10^3$ )	36,81 ± 3,95	36,56 ± 3,53	35,75 ± 3,95	36,25 ± 3,71
Hb <sup>1</sup> (g/ 100ml)	5,85 ± 0,81	5,77 ± 0,65	5,87 ± 0,56	5,73 ± 0,60
MCV ( $\mu^3$ )	234,80 ± 34,58	238,17 ± 21,46	242,11 ± 21,46	237,60 ± 19,54
MHC (pg)	40,13 ± 5,05	39,66 ± 3,49	40,70 ± 2,73	39,75 ± 3,32
MCHC (%)	17,60 ± 4,41	16,77 ± 2,13	16,95 ± 2,09	16,84 ± 2,11
Fagositik oran (%)	33,33 ± 2,26	32,58 ± 2,99	32,50 ± 2,36	33,16 ± 2,44
Fagositik indeks (%)	0,333 ± 0,022	0,330 ± 0,025	0,334 ± 0,025	0,330 ± 0,024
NBT <sup>2</sup>	29,75 ± 2,20	29,93 ± 2,59	30,25 ± 3,47	29,50 ± 2,33
Protein (mg/ml)	35,74 ± 6,06	34,29 ± 7,45	37,32 ± 3,98	36,70 ± 4,82
İg <sup>3</sup> (mg/ml)	20,40 ± 3,80	20,53 ± 3,70	23,63 ± 1,45	21,79 ± 2,76

<sup>1</sup> Hemoglobin

<sup>2</sup> Nitroblue tetrazolium – glass adherent

<sup>3</sup> Toplam İmmunoglobulin

**Tablo 4.2.** 100 mg sulfamerazin 1 kg balık ağırlığı hesabıyla yeme karıştırılarak verildiğinde, balıkların bazı immunolojik ve hematolojik değerleri ile zamana bağlı korelasyonu.

Parametreler	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün	r
Hematokrit (%)	32,75 ± 4,34	35,81 ± 4,62	33,06 ± 4,12	33,68 ± 4,36	- 0,213
Lökosit (%)	2,25 ± 0,57	2,43 ± 0,51	2,125 ± 0,61	2,00 ± 0,63	- 0,096
Eritrosit (x10 <sup>6</sup> )	1,36 ± 0,06*	1,46 ± 0,07	1,19 ± 0,11*	1,24 ± 0,12*	- 0,983
Lökosit (x10 <sup>3</sup> )	36,12 ± 4,16	34,68 ± 3,85	32,75 ± 3,21*	30,06 ± 3,85*	- 0,626
Hb <sup>1</sup> (g/ 100ml)	5,55 ± 0,59	6,06 ± 0,17*	4,94 ± 0,73*	4,00 ± 0,15*	- 0,354
MCV (μ <sup>3</sup> )	240,02 ± 24,28	243,99 ± 22,11	276,01 ± 16,56*	270,25 ± 14,14*	0,675
MHC (pg)	40,74 ± 3,12	41,86 ± 2,25*	41,26 ± 4,14	39,18 ± 2,25	- 0,227
MCHC (%)	17,07 ± 1,60	17,17 ± 2,11	16,95 ± 2,09	14,51 ± 0,87*	- 0,424
Fagositik oran (%)	35,58 ± 2,50	33,08 ± 2,53	33,08 ± 1,64	33,16 ± 2,88	0,121
F. indeks (%)	0,335 ± 0,025	0,330 ± 0,025	0,331 ± 0,016	0,331 ± 0,028	0,197
NBT <sup>2</sup>	29,00 ± 3,52	30,37 ± 2,94	27,62 ± 1,82*	27,75 ± 3,41	- 0,010
Protein (mg /ml)	27,60 ± 6,20*	29,11 ± 5,35*	28,12 ± 4,86*	29,40 ± 4,90*	- 0,204
İg <sup>3</sup> (mg/ml)	17,06 ± 4,93*	16,33 ± 3,53*	18,02 ± 3,71*	16,94 ± 4,11*	- 0,359

\* p< 0.05 r: zamana bağlı korelasyon değerleri

**Tablo 4.3.** 200 mg sulfamerazin 1 kg balık ağırlığı hesabıyla yeme karıştırılarak verildiğinde, balıkların bazı immunolojik ve hematolojik değerleri ile zamana bağlı korelasyonu.

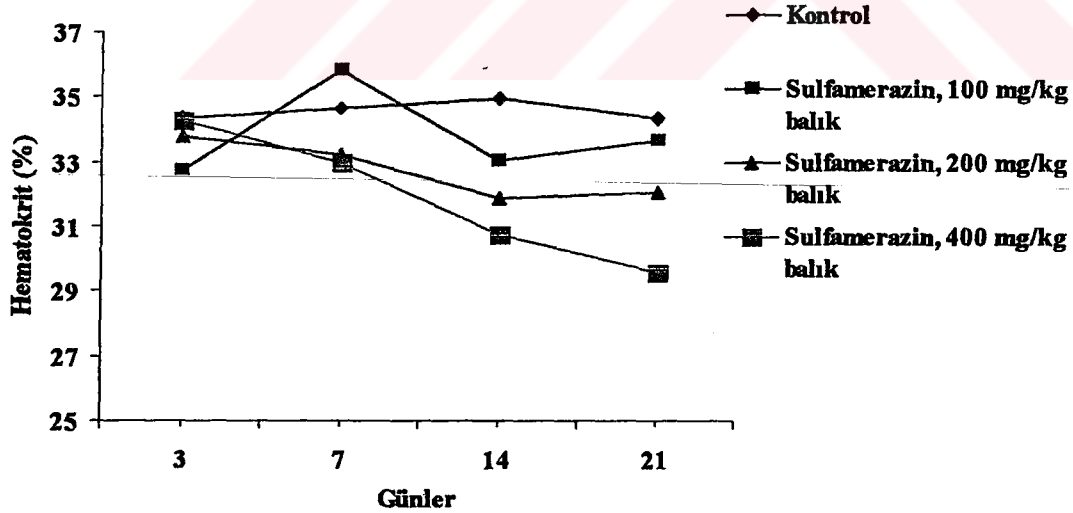
Parametreler	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün	r
Hematokrit (%)	33,81 ± 5,02	33,25 ± 3,85	31,87 ± 2,72	32,06 ± 2,67	- 0,494
Lökosit (%)	1,87 ± 0,50*	1,68 ± 0,47*	1,56 ± 0,51*	1,68 ± 0,47*	- 0,140
Eritrosit (x10 <sup>6</sup> )	1,45 ± 0,08	1,45 ± 0,08	1,15 ± 0,13*	1,12 ± 0,09*	- 0,914
Lökosit (x10 <sup>3</sup> )	32,37 ± 4,03*	27,06 ± 2,81*	24,56 ± 3,18*	23,18 ± 2,83*	- 0,775
Hb <sup>1</sup> (g/ 100ml)	5,83 ± 0,51	4,52 ± 0,44*	4,48 ± 0,46*	4,09 ± 0,12*	- 0,597
MCV (μ <sup>3</sup> )	231,75 ± 28,09	286,45 ± 18,73*	282,10 ± 10,18*	285,82 ± 13,80*	0,264
MHC (pg)	40,01 ± 1,89	38,98 ± 1,23	39,49 ± 1,80	36,68 ± 3,19*	- 0,534
MCHC (%)	17,56 ± 2,80	13,66 ± 1,06*	13,99 ± 0,69*	12,85 ± 1,25*	- 0,972
Fagositik oran (%)	33,91 ± 2,46	33,41 ± 2,84	33,41 ± 1,62	33,41 ± 2,67	0,191
F. indeks (%)	0,339 ± 0,024	0,334 ± 0,028	0,334 ± 0,016	0,334 ± 0,026	0,210
NBT <sup>2</sup>	29,125 ± 3,86	29,310 ± 3,85	26,43 ± 2,58*	24,50 ± 2,55*	- 0,06
Protein (mg /ml)	27,73 ± 5,24*	29,66 ± 5,00*	32,16 ± 4,05	35,97 ± 4,45	- 0,578
İg <sup>3</sup> (mg/ml)	16,97 ± 3,84*	18,89 ± 3,57	19,16 ± 4,05*	21,95 ± 4,11	- 0,374

\* p< 0.05 r: zamana bağlı korelasyon değerleri

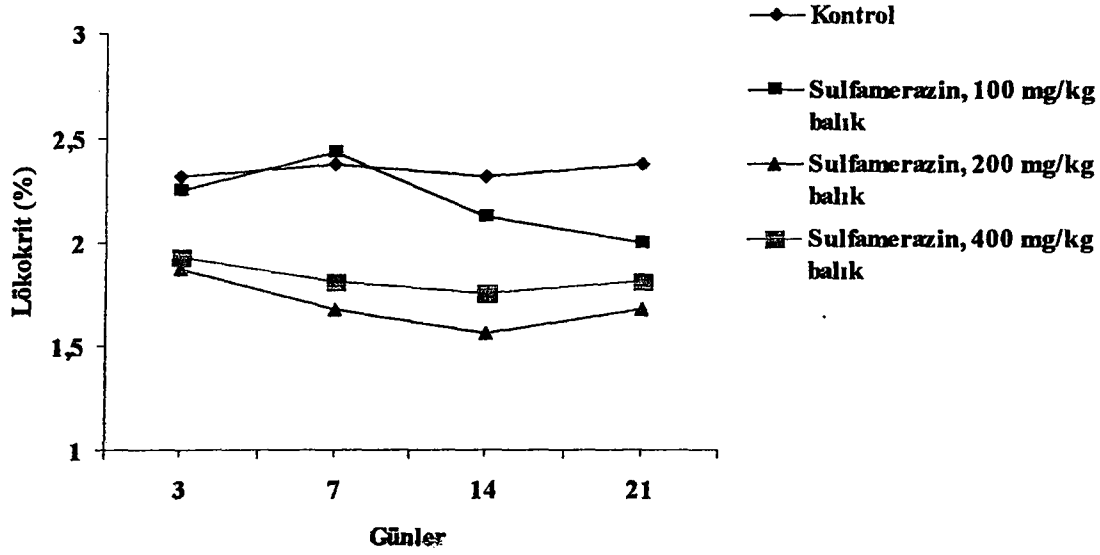
**Tablo 4.4.** 400 mg sulfamerazın 1 kg balık ağırlığı hesabıyla yeme karıştırılarak verildiğinde, balıkların bazı immunolojik ve hematolojik değerleri ile zamana bağlı korelasyonu.

Parametreler	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün	r
Hematokrit (%)	34,25 ± 4,34	33,00 ± 3,07	30,75 ± 2,38	29,56 ± 2,27*	- 0,239
Lökosit (%)	1,93 ± 0,57*	1,81 ± 0,54*	1,75 ± 0,77*	1,81 ± 0,65*	- 0,229
Eritrosit (x10 <sup>6</sup> )	1,41 ± 0,08*	1,27 ± 0,11	1,12 ± 0,09*	1,09 ± 0,13*	- 0,696
Lökosit (x10 <sup>3</sup> )	29,25 ± 6,06*	26,50 ± 7,76*	24,93 ± 8,03*	24,50 ± 7,78*	- 0,814
Hb <sup>1</sup> (g/ 100ml)	5,71 ± 0,52	5,21 ± 0,31*	4,16 ± 0,19*	4,00 ± 0,15*	- 0,297
MCV (µ <sup>3</sup> )	240,99 ± 20,15	258,22 ± 15,24*	265,51 ± 23,41*	271,72 ± 15,04*	0,321
MHC (pg)	40,23 ± 2,68	40,42 ± 2,72	36,27 ± 4,65*	36,91 ± 3,51*	- 0,512
MCHC (%)	16,78 ± 2,02	15,69 ± 1,23*	13,36 ± 1,06*	13,57 ± 0,84*	- 0,655
Fagositik oran (%)	34,00 ± 2,21	34,00 ± 2,31	33,58 ± 1,73	33,50 ± 2,46	0,213
F. indeks (%)	0,340 ± 0,022	0,335 ± 0,023	0,335 ± 0,017	0,335 ± 0,024	0,221
NBT <sup>2</sup>	25,18 ± 2,45*	25,56 ± 2,80*	21,56 ± 2,03*	20,12 ± 2,21*	- 0,116
Protein (mg/ml)	23,35 ± 5,13*	28,93 ± 4,09*	30,31 ± 3,75*	32,76 ± 5,00	- 0,371
İg <sup>3</sup> (mg/ml)	16,82 ± 4,19*	20,69 ± 4,66*	19,29 ± 3,74*	19,10 ± 3,59*	- 0,197

\* p< 0.05 r: zamana bağlı korelasyon değerleri



**Şekil 4. 1.** Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazınli yem verilen balıkların hematokrit değerleri.



Şekil 4. 2. Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazini verilen balıkların lökosit değerleri.

#### 4.2. Eritrosit Sayısı

Sulfamerazinin 100 mg, 200 mg ve 400 mg/kg balık ağırlığı hesabı ile hazırlanan yem balıklara 21 gün süreyle verilmesiyle balıkların eritrosit sayılarında aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14. ve 21. günlerde eritrosit sayısı  $1,45 \pm 0,11 \times 10^6$  -  $1,46 \pm 0,10 \times 10^6$  arasında belirlendi (Tablo 4.1, Şekil 4.3).

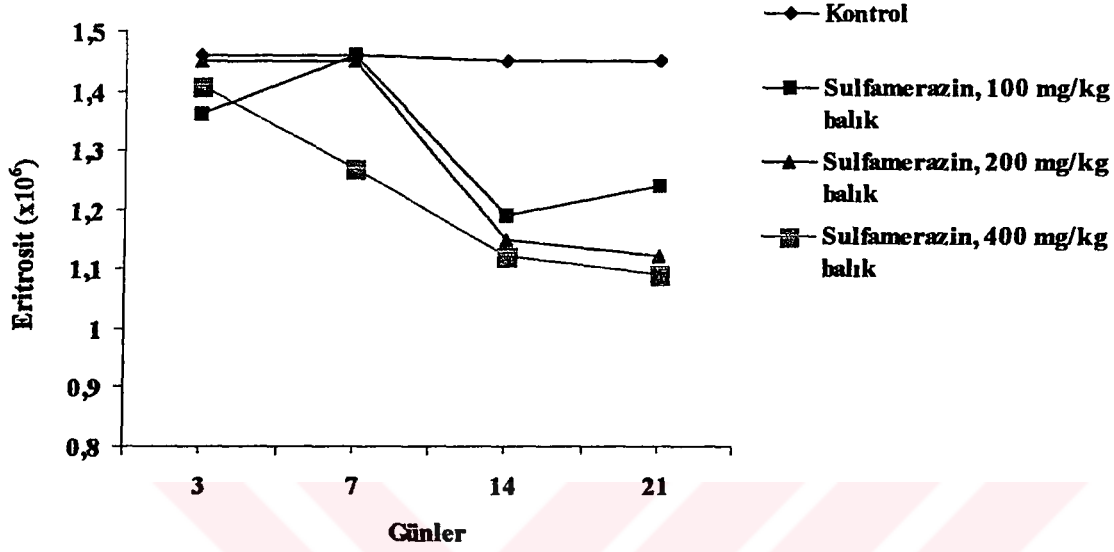
Sulfamerazinin 100 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda eritrosit sayısı 3. günde  $1,36 \pm 0,06 \times 10^6$  iken, 21. günde bu sayı  $1,24 \pm 0,12 \times 10^6$  olarak saptandı (Tablo 4.2, Şekil 4.3).

Balıklara yemle verilen Sulfamerazinin 200 mg/kg balık dozunda eritrosit sayısı 3. günde  $1,45 \pm 0,08 \times 10^6$  iken, 21. günde bu sayı  $1,12 \pm 0,09 \times 10^6$  değerine indi (Tablo 4.3, Şekil 4.3).

Sulfamerazinin 400 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda eritrosit sayısı 3. günde  $1,41 \pm 0,08 \times 10^6$  bulunurken, bu değer 21. günde  $1,09 \pm 0,13 \times 10^6$  olarak tespit edildi (Tablo 4.4, Şekil 4.3).

Kontrol grubu balıklar ile sulfamerazinin her üç dozunun yemle verildiği balıkların eritrosit sayıları arasında farkın önemli olduğu belirlendi ( $p < 0,05$ ). Sulfamerazinin 100, 200, 400 mg/kg balık şeklindeki dozlarının verildiği balıkların eritrosit sayılarının süreye bağlı olarak değişimlerine bakıldığında negatif yönlü kuvvetli bir ilişkinin olduğu görüldü. Yani

sulfamerazinin balıklara yemle verilme süresi arttıkça eritrosit sayısında azalma saptandı (Tablo 4.2, 4.3, 4.4)



Şekil 4. 3. Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazini yem verilen balıkların eritrosit sayıları.

#### 4.3. Lökosit Sayısı

Sulfamerazinin 100 mg/kg, 200 mg/kg ve 400 mg/kg balık oranlarındaki yemin balıklara 21 gün süreyle verilmesiyle balıkların lökosit sayılarında aşağıdaki değişimler tespit edildi.

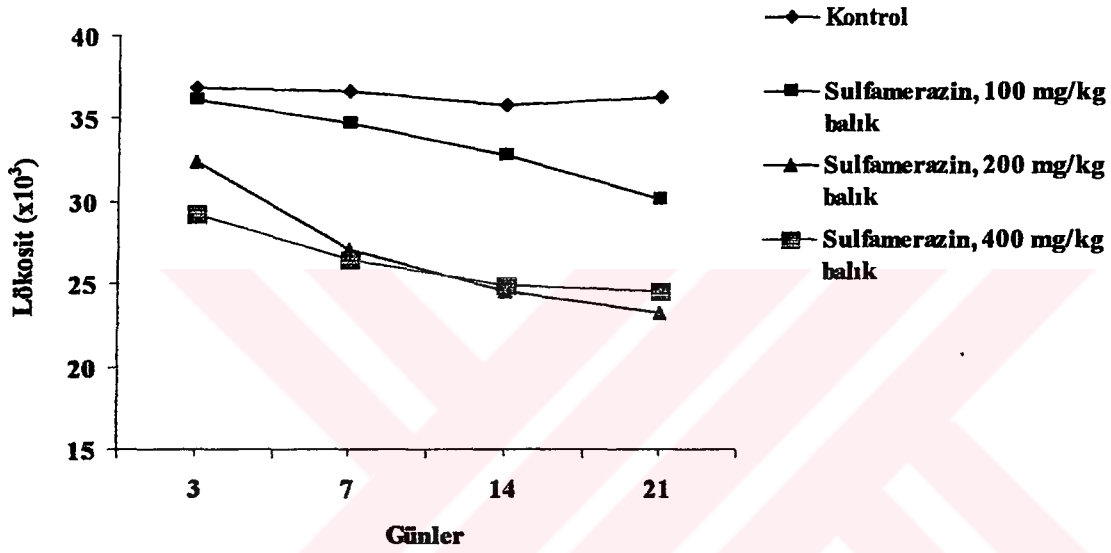
Kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca lökosit sayısı  $35,75 \pm 3,95 \times 10^3$  -  $36,81 \pm 3,95 \times 10^3$  arasında belirlendi (Tablo 4.1, Şekil 4.4).

Sulfamerazinin 100 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda lökosit sayısı 3. günde  $36,12 \pm 4,16 \times 10^3$  iken, 21. günde bu sayı  $30,06 \pm 3,85 \times 10^3$  olarak saptandı (Tablo 4.2, Şekil 4.4 ).

Sulfamerazinin 200 mg/kg balık şeklindeki dozunun yemle verildiği balıklarda lökosit sayısı 3. günde  $32,37 \pm 4,03 \times 10^3$  iken, 21. günde bu sayı  $23,18 \pm 2,83 \times 10^3$  değerine indi (Tablo 4.3, Şekil 4.4).

Sulfamerazinin 400 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda lökosit sayısı 3. günde  $29,25 \pm 6,06 \times 10^3$  olarak bulunurken, bu değer 21. günde  $24,50 \pm 0,13 \times 10^3$  olarak tespit edildi (Tablo 4.4, Şekil 4.4).

Kontrol grubu balıklara göre sulfamerazinin 100, 200, 400 mg/kg balık dozlarının uygulandığı balıkların lökosit sayıları arasında farkın önemli olduğu belirlendi ( $p < 0,05$ ). Yine sulfamerazinin her üç dozunun verildiği balıkların lökosit sayılarının süreye bağlı olarak değişimlerine bakıldığında negatif yönlü kuvvetli bir ilişkinin olduğu görüldü. Yani sulfamerazinin balıklara uygulama süresi arttıkça lökosit sayısında azalma saptandı (Tablo 4.2, 4.3, 4.4).



Şekil 4. 4. Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazini yem verilen balıkların lökosit sayıları.

#### 4.4 Hemoglobin Düzeyi

Kontrol grubu balıklara göre farklı dozlarda sulfamerazin verilen deneme grubu balıkların hemoglobin miktarlarında aşağıdaki değişimler saptandı.

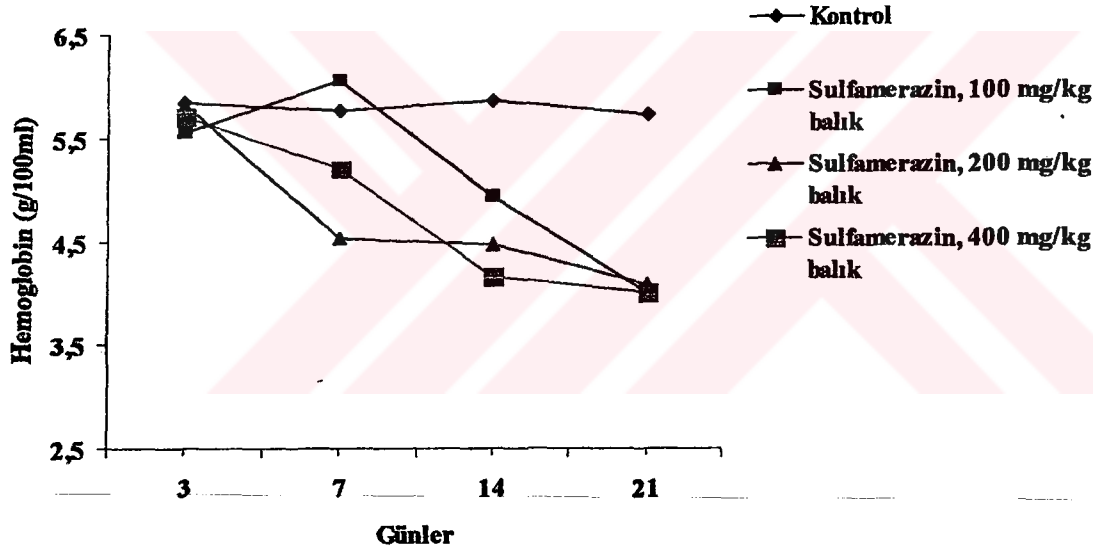
Kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca hemoglobin miktarı  $5,73 \pm 0,60 - 5,87 \pm 0,56$  g/100 ml arasında belirlendi (Tablo 4.1, Şekil 4.5).

Sulfamerazinin 100 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda hemoglobin miktarı 3. günde  $5,55 \pm 0,59$  g/100 ml iken, 21. günde bu değer  $4,00 \pm 0,15$  g/100 ml olarak saptandı (Tablo 4.2, Şekil 4.5).

Sulfamerazinin 200 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda hemoglobin miktarı 3. günde  $5,83 \pm 0,51$  g/100ml iken, 21. günde bu değer  $4,09 \pm 0,12$  g/100 ml değerine indi (Tablo 4.3, Şekil 4.5).

Sulfamerazinin 400 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda hemoglobin miktarı 3.günde  $5,71 \pm 0,52$  g/100 ml olarak bulunurken, bu değer 21. günde  $4,00 \pm 0,15$  g/100 ml olarak tespit edildi (Tablo 4.4, Şekil 4.5).

Kontrol grubu balıklarına göre sulfamerazinin her üç dozunun uygulandığı balıkların hemoglobin miktarları arasında farkın önemli olduğu belirlendi ( $p < 0,05$ ). Sulfamerazinin 100, 200, 400 mg/kg balık dozlarının yemle verildiği balıkların hemoglobin miktarlarının süreye bağlı olarak değişimlerine bakıldığında negatif yönlü orta derecede bir ilişkinin olduğu görüldü. Sulfamerazinin balıklara uygulama süresi arttıkça hemoglobin miktarlarında azalma saptandı (Tablo 4.2, 4.3, 4.4).



Şekil 4. 5. Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazininli yem verilen balıkların hemoglobin değerleri.

#### 4.5. Eritrosit İndeksleri (MCV, MHC, MCHC)

Sulfamerazinin 100, 200 ve 400 mg/kg balık şeklinde balıklara 21 gün süreyle yemle verilmesiyle balıkların eritrosit indekslerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14. ve 21. günlerde MCV değeri  $234,80 \pm 34,58 - 242,11 \pm 21,46 \mu^3$ , MHC değeri  $39,66 \pm 3,49 - 40,70 \pm 2,73$  pg, MCHC değeri ise  $\% 16,77 \pm 2,13 - 17,60 \pm 4,41$  arasında bulundu (Tablo 4.1, Şekil 4.6).

Sulfamerazinin 100 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda 3. günde MCV  $240,02 \pm 24,28 \mu^3$ , MHC  $40,74 \pm 3,12$  pg, MCHC ise  $\% 17,07 \pm 1,60$ , araştırmanın 21.gününde bu değerler sırası ile  $270,25 \pm 14,14 \mu^3$ ,  $39,18 \pm 2,25$  pg ve  $\% 14,51 \pm 0,87$  olarak belirlendi (Tablo 4.2, Şekil 4.6, 4.7, 4.8).

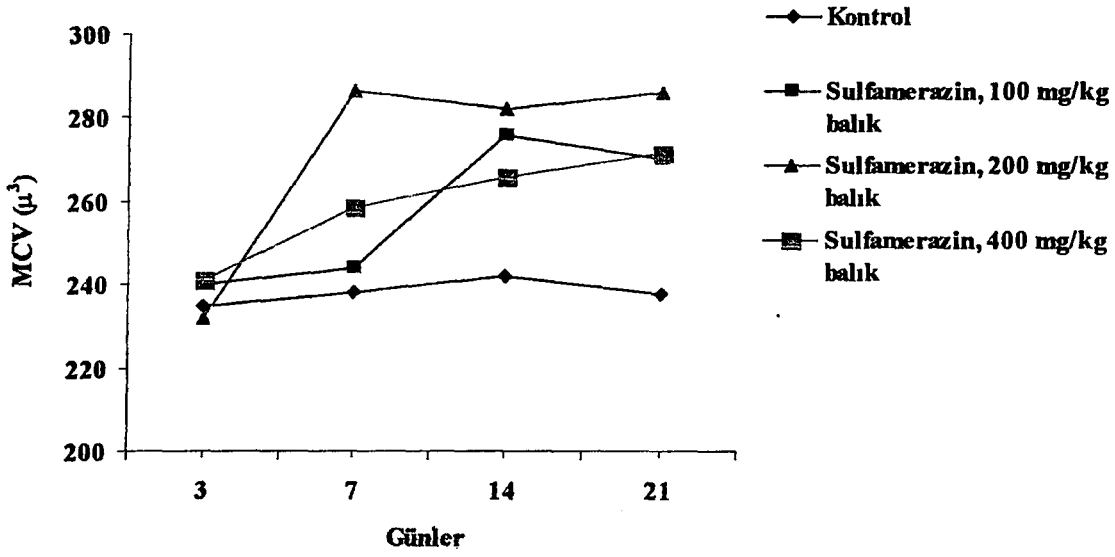
Sulfamerazinin 200 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda 3.günde MCV  $231,75 \pm 28,09 \mu^3$ , MHC  $40,01 \pm 1,89$  pg, MCHC ise  $\% 17,56 \pm 2,80$ , araştırmanın 21.gününde bu değerler sırası ile  $285,82 \pm 13,80 \mu^3$ ,  $36,68 \pm 3,19$  pg ve  $\% 12,85 \pm 1,25$  olarak saptandı (Tablo 4.3, Şekil 4.6, 4.7, 4.8).

Yemle sulfamerazinin 400 mg/kg balık dozunun verildiği balıklarda 3. günde MCV  $240,99 \pm 20,15 \mu^3$ , MHC  $40,23 \pm 2,68$  pg, MCHC ise  $\% 16,78 \pm 2,02$ , araştırmanın 21. gününde bu değerler sırası ile  $271,72 \pm 15,04 \mu^3$ ,  $36,91 \pm 3,51$  pg ve  $\% 13,57 \pm 0,84$  olarak tespit edildi (Tablo 4.4, Şekil 4.6, 4.7, 4.8).

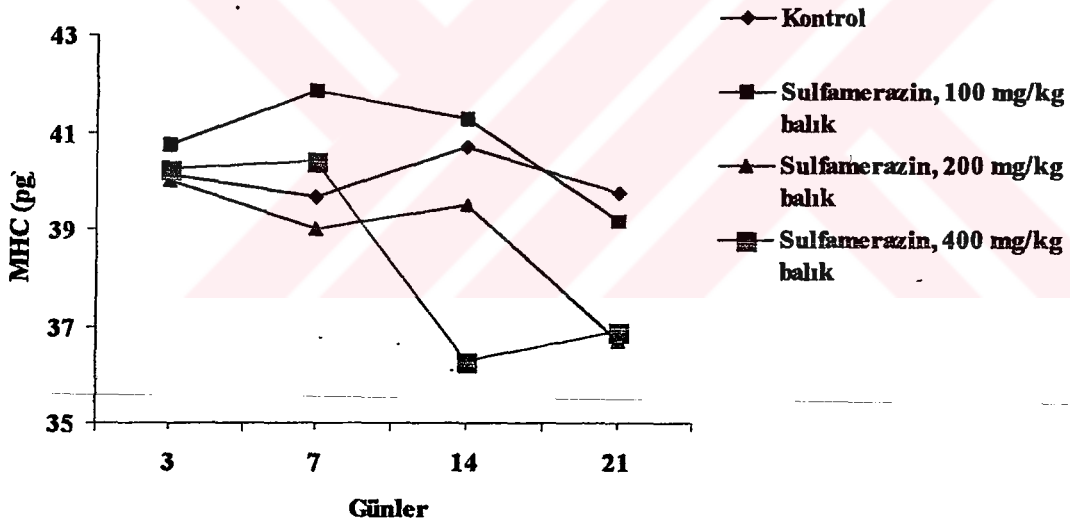
Kontrol grubu balıklar ile sulfamerazinin her üç dozunun yemle verildiği balıkların MCV değerleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ( $p < 0,05$ ). Yine sulfamerazinin 100, 200, 400 mg/kg balık dozlarının yemle verildiği balıkların MCV değerlerinin süreye bağlı olarak değişimlerine bakıldığında pozitif yönlü orta derecede bir ilişkinin olduğu görüldü. Sulfamerazinin balıklara uygulama süresi arttıkça MCV değerlerinde bir artış saptandı (Tablo 4.2, 4.3, 4.4).

Farklı dozlarda sulfamerazinin yemle verildiği balıklar ile kontrol grubu balıkların MHC değerleri arasında farkın genelde önemli olmadığı görüldü ( $p > 0,05$ ). Ancak kontrol balıkları ile 200 mg/kg balık şeklinde sulfamerazin uygulanan balıkların 21. gününde ve 400 mg/kg balık şeklinde sulfamerazin uygulanan balıkların 14 ve 21. gününde belirlenen MHC değerleri arasında farkın önemli olduğu tespit edildi ( $p < 0,05$ ). Yine sulfamerazinin 100, 200, 400 mg/kg balık dozlarının verildiği deneme gruplarının MHC değerlerinin süreye bağlı olarak değişimlerine bakıldığında negatif yönlü orta derecede bir ilişkinin olduğu görüldü. Yani sulfamerazinin balıklarda uygulama süresi arttıkça MHC değerlerinde bir azalma saptandı (Tablo 4.2, 4.3, 4.4).

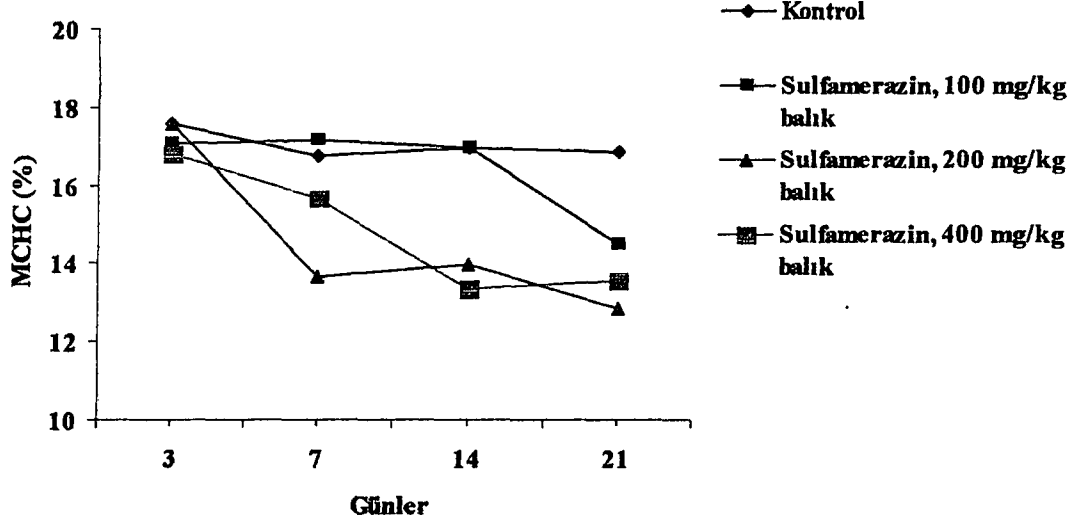
Kontrol grubu balıklarına göre sulfamerazinin 100, 200, 400 mg/kg balık dozlarının uygulandığı balıkların MCHC değerleri arasında farkın önemli olduğu saptandı ( $p < 0,05$ ). Yine sulfamerazinin üç farklı dozunun uygulandığı balıkların MCHC değerlerinin süreye bağlı olarak değişimlerine bakıldığında negatif yönlü kuvvetli bir ilişkinin olduğu görüldü. Sulfamerazinin balıklara uygulama süresi arttıkça MCHC değerlerinde azalma tespit edildi (Tablo 4.2, 4.3, 4.4).



Şekil 4.6. Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların MCV değerleri.



Şekil 4.7. Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların MHC değerleri.



Şekil 4.8. Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların MCHC değerleri.

#### 4.6. Fagositik oran ve indeks

Farklı dozlarda sulfamerazin uygulanan balıklar ile kontrol grubu balıkların fagositik oran ve indeksleri ile ilgili değişimler aşağıda verilmiştir.

Kontrol grubu balıkların çalışma boyunca fagositik oranları  $32,50 \pm 2,36 - 33,33 \pm 2,26$ , fagositik indeksleri ise  $0,330 \pm 0,024 - 0,334 \pm 0,025$  arasında belirlendi (Tablo 4.1, Şekil 4.9, 4.10).

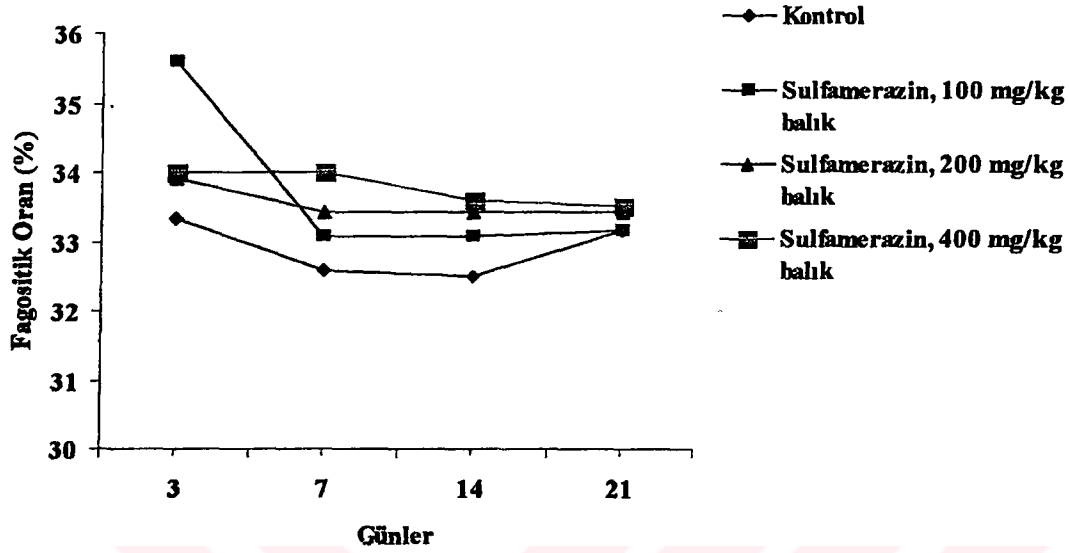
Sulfamerazinin 100 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda 3. günde fagositik oran  $35,58 \pm 2,50$ , fagositik indeks ise  $0,335 \pm 0,025$  iken araştırmanın 21.gününde bu değerler sırası ile  $33,16 \pm 2,88$ ,  $0,331 \pm 0,028$  olarak saptandı (Tablo 4.2, Şekil 4.9, 4.10).

Sulfamerazinin 200 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda 3. günde fagositik oran  $33,91 \pm 2,46$ , fagositik indeks  $0,339 \pm 0,024$  iken araştırmanın 21. gününde bu değerler sırası ile  $33,41 \pm 2,67$ ,  $0,334 \pm 0,026$  olarak bulundu (Tablo 4.3, Şekil 4.9, 4.10).

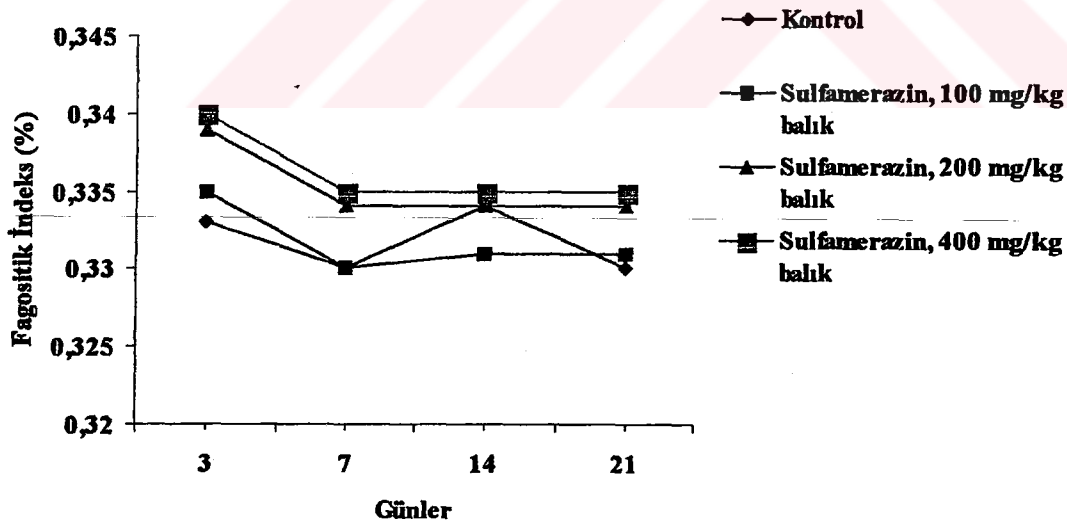
Sulfamerazinin 400 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda 3. günde fagositik oran  $34,00 \pm 2,21$ , fagositik indeks  $0,340 \pm 0,022$  iken araştırmanın 21. gününde bu değerler sırası ile  $33,50 \pm 2,46$ ,  $0,335 \pm 0,024$  olarak tespit edildi (Tablo 4.4, Şekil 4.9, 4.10).

Kontrol grubu balıklarına göre sulfamerazinin her üç dozunun yemle verildiği balıkların fagositik oran ve indeksleri arasında farkın önemsiz olduğu belirlendi ( $p > 0,05$ ). Yine sulfamerazinin 100, 200, 400 mg/kg balık şeklindeki dozlarının verildiği balıkların fagositik

oran ve indekslerinin süreye bağlı olarak değişimlerine bakıldığında pozitif yönlü zayıf bir ilişkinin olduğu görüldü.



Şekil 4.9. Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların fagositik oranları.



Şekil 4.10. Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların fagositik indeksleri.

#### 4.7.Adherent Düzeyi (NBT pozitif hücre aktivasyonu)

Sulfamerazinin 100, 200 ve 400 mg/kg balık şeklindeki dozlarının 21 gün süreyle yemle verilmesiyle balıkların adherent hücre sayılarında aşağıdaki değişimler tespit edildi.

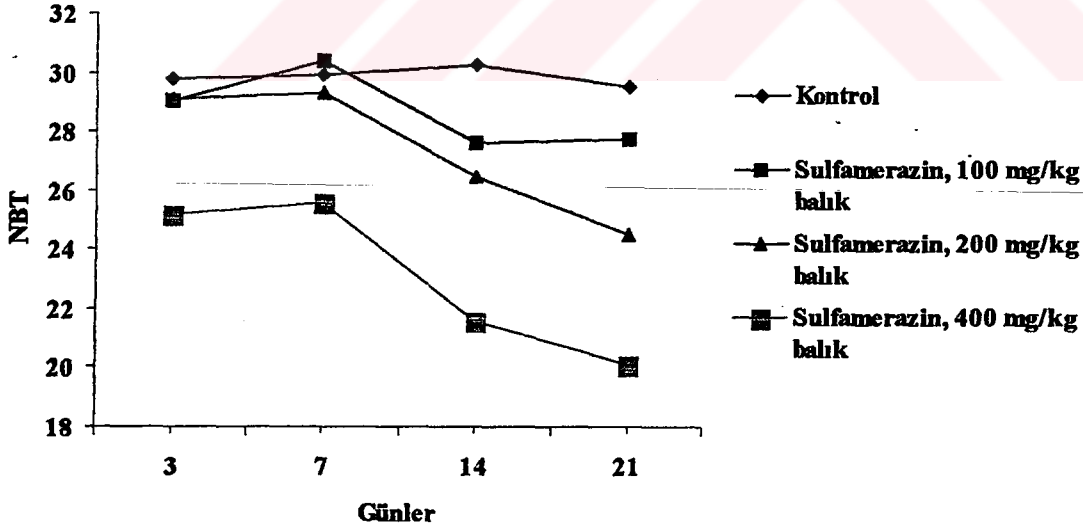
Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14. ve 21. günlerde adherent hücre sayısı  $29,50 \pm 2,33 - 30,25 \pm 3,47$  arasında belirlendi (Tablo 4.1, Şekil 4.11).

Oral yolla sulfamerazinin 100 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda adherent hücre sayısı 3. günde  $29,00 \pm 3,52$  iken araştırmanın 21. gününde bu değer  $27,75 \pm 3,41$  olarak saptandı (Tablo 4.2, Şekil 4.11).

Sulfamerazinin 200 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda adherent hücre sayısı 3. günde  $29,12 \pm 3,86$  iken araştırmanın 21. gününde bu sayı  $24,50 \pm 2,55$  değerine indi (Tablo 4.3, Şekil 4.11).

Sulfamerazinin 400 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda adherent düzeyi 3.günde  $25,18 \pm 2,45$  olarak bulunurken, bu değer 21. günde  $20,12 \pm 2,21$  olarak tespit edildi (Tablo 4.4, Şekil 4.11).

Kontrol grubu balıklarına göre sulfamerazinin her üç dozunun yemle verildiği balıkların adherent hücre sayıları arasında farkın önemli olduğu belirlendi ( $p < 0,05$ ). Yine sulfamerazinin 100, 200, 400 mg/kg balık şeklindeki dozlarının yemle verildiği balıkların adherent düzeylerinin süreye bağlı olarak değişimlerine bakıldığında negatif yönlü zayıf bir ilişkinin olduğu görüldü.



Şekil 4.11. Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazininli yem verilen balıkların NBT değerleri.

#### 4.8. Protein Düzeyi

Farklı dozlarda sulfamerazinin verilen deneme grubu balıklarının kontrol grubu balıklarına göre protein düzeylerinde aşağıdaki değişimler belirlendi.

Kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca protein düzeyi  $34,29 \pm 7,45 - 37,32 \pm 3,98$  mg/ml arasında belirlendi (Tablo 4.1, Şekil 4.12).

Sulfamerazinin 100 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda protein düzeyi 3. günde  $27,60 \pm 6,20$  mg/ml iken araştırmanın sonu olan 21. günde bu değer  $29,40 \pm 4,90$  mg/ml olarak saptandı (Tablo 4.2, Şekil 4.12).

Sulfamerazinin 200 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda protein düzeyi 3. günde  $27,73 \pm 5,24$  mg/ml iken araştırmanın 21. gününde bu değer  $35,97 \pm 4,45$  mg/ml değerine çıktı (Tablo 4.3, Şekil 4.12).

Sulfamerazinin 400 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda protein düzeyi 3.günde  $23,35 \pm 5,13$  mg/ml olarak bulunurken, bu değer 21. günde  $32,76 \pm 5,00$  mg/ml olarak tespit edildi (Tablo 4.4, Şekil 4.12).

Farklı dozlarda sulfamerazinin verilen balıkların protein düzeylerinin çalışmanın ilk günlerinde azaldığı çalışmanın son günlerine doğru ise arttığı ancak yine de kontrol balıklarından düşük çıktığı tespit edildi. Kontrol grubu balıklarına göre sulfamerazinin 100 mg/kg balık dozunun uygulandığı balıkların 3, 7, 14, 21. günlerindeki, 200 mg/kg balık dozunun uygulandığı balıkların 3 ve 7. günlerindeki, 400 mg/kg balık dozunun uygulandığı balıkların 3, 7 ve 14. günlerindeki protein düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ( $p < 0,05$ ). Yine sulfamerazinin 100, 200, 400 mg/kg balık şeklindeki dozlarının verildiği balıkların protein düzeylerinin süreye bağlı olarak değişimlerine bakıldığında negatif yönlü orta derecede bir ilişkinin olduğu görüldü.

#### 4.9. Toplam İmmunoglobulin Miktarı

Balıklara sulfamerazinin 100, 200 ve 400 mg/kg balık şeklinde 21 gün süreyle yemle verilmesiyle toplam immunoglobülin düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

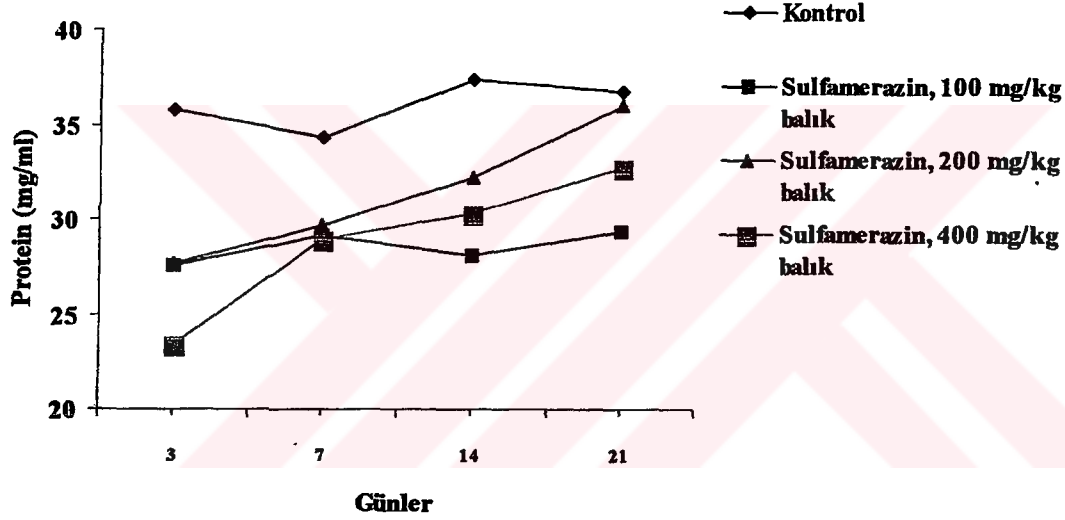
Kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca toplam immunoglobülin düzeyi  $20,40 \pm 3,80 - 23,63 \pm 1,45$  mg/ml arasında belirlendi (Tablo 4.1, Şekil 4.13).

Sulfamerazinin 100 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda toplam immunoglobülin düzeyi 3. günde  $17,06 \pm 4,93$  mg/ml iken araştırmanın 21.gününde bu değer  $16,94 \pm 4,11$  mg/ml olarak saptandı (Tablo 4.2, Şekil 4.13).

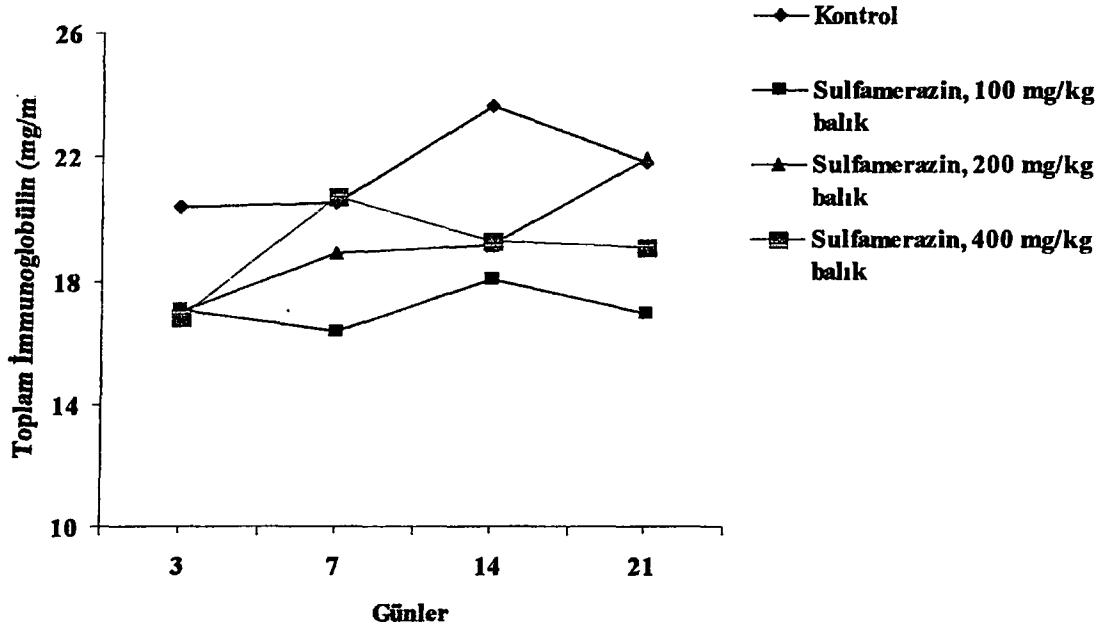
Sulfamerazinin 200 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda toplam immunoglobülin düzeyi 3. günde  $16,97 \pm 3,84$  mg/ml iken araştırmanın 21. gününde bu değer  $21,95 \pm 4,11$  mg/ml'ye yükseldi (Tablo 4.3, Şekil 4.13).

Yemle sulfamerazinin 400 mg/kg balık dozunun yemle verildiği balıklarda toplam immunoglobülin düzeyi 3.günde  $16,82 \pm 4,19$  mg/ml olarak bulunurken bu değer 21. günde  $19,10 \pm 3,59$  mg/ml olarak tespit edildi (Tablo 4.4, Şekil 4.13).

Farklı dozlarda sulfamerazin verilen balıkların toplam immunoglobülin düzeylerinin çalışma süresince dalgalanma gösterdiği belirlendi. Kontrol grubu balıklara göre sulfamerazinin 100 mg/kg balık dozunun uygulandığı balıkların 3, 7, 14, 21.günlerindeki, 200 mg/kg balık dozunun uygulandığı balıkların 3 ve 14. günlerindeki, 400 mg/kg balık dozunun uygulandığı balıkların 3, 7 ve 21. günlerindeki toplam immunoglobülin düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ( $p < 0,05$ ). Yine sulfamerazinin 100, 200, 400 mg/kg balık dozlarının verildiği balıkların toplam immunoglobülin düzeylerinin süreye bağlı olarak değişimlerine bakıldığında negatif yönlü zayıf bir ilişkinin olduğu görüldü.



Şekil 4.12. Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların protein düzeyleri.



Şekil 4.13. Kontrol grubu balıklar ile 100, 200 ve 400 mg/kg balık oranlarında sulfamerazinli yem verilen balıkların toplam immunoglobülin düzeyleri.

Çalışma sırasında su sıcaklığı  $16 \pm 1$  °C (15-17 °C), pH ise 7,1 ile 7,3 arasında ölçüldü. Araştırma boyunca sıcaklık ve pH'da önemli değişiklikler görülmedi. Bundan dolayı sıcaklık ve pH'nın immunolojik ve hematolojik parametrelere etkisi belirlenemedi. Araştırma süresince hem sulfamerazin uygulanan, hem de kontrol grubu balıklarda herhangi bir ölüm meydana gelmedi.

## 5. TARTIŞMA

Balık üretim tesislerinde sorun olabilecek bakteriyel etkenlerin varlığında kullanılabilir olan antibiyotik ve sulfonamid grubu ilaçların yeme karıştırılarak oral yolla verilmesinin en doğru yaklaşım olduğu bilinmektedir. Ancak bu şekildeki bir uygulamada ilaca çok fazla ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca balıkların bireysel olarak yem tüketiminin değişmesi dozda belirsizliklere neden olmaktadır. Oral yolla verilen ilaçlar, ya mide ve bağırsağın ön kısmında sindirim sıvılarının etkisiyle immun sistemin bir parçası olan bağırsağın aşağı kısmına gelmeden yıkımlanmakta ya da bağırsaktan rezorbe edilememektedir (Tanrikul, 1995).

Bu çalışmada 21 gün süreyle sulfamerazinin 100, 200, 400 mg/kg balık şeklindeki dozlarının balıklara yemle verilmesiyle balıkların immunolojik ve hematolojik değerlerinde önemli sonuçlar elde edildi

Sulfamerazinin 100, 200 ve 400 mg/kg balık şeklindeki dozlarının yemle verildiği balıklar ile kontrol grubu balıkların hematokrit değerleri arasında istatistiksel olarak farkın ( $p>0,05$ ) önemli olmadığı saptanmıştır. Ancak kontrol balıkları ile 400 mg/kg balık hesabıyla sulfamerazin verilen balıkların 21. gündeki hematokrit değerleri arasında önemli bir farklılığın olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Rijkers ve diğ (1980), sazan balıklarına enjeksiyon ve oral yolla 180 mg/kg balık hesabı ile Oxytetracyclin(OTC)'i uyguladıktan sonra kontrol grubu balıklarda hematokrit değerini %  $45\pm6$  olarak buldukları halde deney grubunda %  $28\pm3$  olarak saptamışlardır. Antibiyotik uygulaması ile hematokrit düzeyinin azalması bu çalışmadaki bulgularla benzer bulunmuştur.

Balık kanında belirlenen lökosit ve hematokrit oranı balığın sağlığı hakkında ipuçları vermektedir. Normal koşullarda gökkuşuğu alabalıklarında lökosit düzeyi % 2 civarındadır. Lökosit düzeyini pek çok faktör etkilemektedir (Siwicki ve Anderson, 1993). Findlay ve Mundlay (2000), atlantik salomonlarına levamisol uyguladıktan sonra lökosit düzeyinin kontrol grubu ile herhangi bir farklılık göstermediğini belirlemişlerdir. Rijkers ve diğ (1980), OTC'i uyguladıkları balıklarda ise lökosit düzeyinin düştüğünü saptamışlardır. Bu çalışmada 100, 200 ve 400 mg/kg balık hesabı ile sulfamerazin verilen balıkların lökosit düzeyinin kontrol grubundan farklı olduğu ( $p<0,05$ ) saptanmıştır. Bu sonuç OTC ile yapılan çalışmalardan elde edilen bulgularla paralellik göstermiştir.

Eritrosit sayısı, sulfamerazin uygulanan tüm gruplarda ilk günden itibaren azalmaya başlamıştır. Rijkers ve diğ (1980), 180 mg/kg balık hesabı ile Oxytetracyclin enjekte ettikleri sazan balıklarında 37 gün sonra eritrosit düzeyini deney grubu balıklarda kontrol grubuna göre daha düşük bulmuşlardır. Bu çalışmada da farklı dozlarda sulfamerazin verilen balıkların

eritrosit düzeylerinin kontrol grubundan daha düşük çıkması, Oxytetracyclin ile yapılan çalışmanın sonuçlarıyla uyum içindedir.

Oral yolla 100 mg/kg balık, 200 mg/kg balık ve 400 mg/kg balık hesabı ile sulfamerazin verilen balıkların lökosit seviyesi ilk günlerden itibaren azalmaya başlamış ve uygulamanın 21. gününde en düşük değerini almış olması çoğu bilim adamının (Gaylarde ve Sarkany 1978; Grondel ve diğ 1985; Lunden ve Bylund, 2002; Rijkers ve diğ, 1980) bulgularıyla benzerlik göstermiştir.

Kontrol grubu balıklarına göre sulfamerazinin 100 mg/kg balık, 200 mg/kg balık ve 400 mg/kg balık hesabı ile üç dozunun yemle verildiği balıkların hemoglobin miktarlarının azaldığı tespit edilmiştir. Kontrol balıkları ile sulfamerazin uygulanan balıkların hemoglobin değerleri arasında farkın önemli olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Ancak balıkların hemoglobin düzeyine sulfonamidler ile diğer kemotrapötiklerin etkisini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Eritrosit indeksleri (MCV, MHC, MCHC) hematokrit, eritrosit ve hemoglobin yoğunluğu ile ilişkili olup eritrositlerin büyüklüğü veya çapı ile hemoglobin miktarını belirtir. Eritrosit indeksleri anemi tiplerinin ayırıcı tanısında yardımcı olur. MCV değerlerinin artması durumunda makrositer, azalması durumunda ise mikrositer anemi, MHC değerlerinin artması durumunda hiperkrom, azalması durumunda ise hipokrom anemi olduğu söylenir (Nazıroğlu, 2001). Eldeki veriler değerlendirildiğinde uygulamanın ilk günlerinden itibaren tüm deneme gruplarında MCV değerlerinin arttığı görülmektedir. Buna göre uygulamanın ilk günlerinde tüm gruplarda makrositer anemi belirlenmiştir. Bu anemi 100 mg/kg balık hesabı ile sulfamerazin verilen balıklarda deneme süresince devam etmiştir. Ancak 14. ve 21. günlerden itibaren 200 mg/kg balık ve 400 mg/kg balık hesabı ile sulfamerazin verilen balıklarda MHC değerlerinde de bir azalmanın olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara göre uygulamadan 14 gün sonra 200 ve 400 mg/kg balık şeklinde sulfamerazin verilen balıklarda makrositer hipokrom anemi şekillendiği saptanmıştır. Balıklarda eritrosit indekslerine sulfonamidler ile diğer kemotrapötiklerin etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Fagositik sistem; bir mikroorganizmanın veya yabancı partikülün yakalanarak tahrip edilmesi veya vücuttan uzaklaştırılmasında en önemli ve erken savunma mekanizmalarından biridir. Granülositler ve mononükleer fagositler veya makrofajlar balığın hücrel non-spesifik savunma mekanizmalarında önemli bir role sahiptirler (Dalmo ve diğ., 1997). Memelilerde olduğu gibi balıklarda da fagositoz kemotaksis, opsinizasyon, endositozis, degranülasyon ve bakterisit aktiviteden oluşmaktadır. Bu olaylar dizisinin en önemli aşaması olarak bilinen bakterisit aktivite, uyarılan lökositlerde enzimatik reaksiyonlar sonucu şekillenen reaktif oksijen radikalleri ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ) aracılığıyla gerçekleşir (Chung ve Secombes, 1987; 1998;

Johnston ve diğ 1978). Sulfanomidler katalazın etkinliğini bozarak hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) birikmesine neden olurlar. Bir oksijen radikali olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nötrofillerin fagositik aktivitesini artırmaktadır (Kaya ve diğ., 1997). Bu çalışmada da sulfamerazin uygulanan balıkların fagositik aktivitesinde istatistiksel açıdan önemli olmayan (p>0,05) bir artış tespit edilmiştir.

Sulfadiazin/Trimethoprim (SDZ/TMP)'in 30 mg/kg balık dozunun yemle verildiği bir çalışmada *Aeromonas salmonicida* ve *Vibrio anguillarum* bakterilerine karşı fagositik aktivitenin ilk haftalarda zayıf bir şekilde arttığı ve daha sonra 15. haftaya kadar inişli çıkışlı bir dalgalanma gösterdiği bildirilmiştir (Lunden ve Bylund, 2002). Gökkuşacağı alabalığında oxytetracyclin ve oxolinic asidin immun sisteme etkisini ortaya koymak için yapılan bir çalışmada fagositik aktivitenin oxolinic asid ile arttığı, oxtetracyclin ile düşük düzeyde azaldığı belirlenmiştir (Lunden ve diğ,1998). Tafalla ve diğ (1999) ise oxytetracyclin'in ile yaptıkları *In vivo* ve *In vitro* çalışmada fagositik aktivitede bir azalma tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise, sulfamerazin verilen balıkların fagositik oran ve indekslerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan artış görülmüştür. Bu sonuç oxolonic asid kullanılarak yapılan çalışma ile uyum sağlamakta diğer çalışmalarla tezat oluşturmaktadır.

Periferel kan nötrofillerinin adherent düzeyi (NBT pozitif hücre aktivasyonu) önemli bir non-spesifik savunma mekanizmasıdır. Bu aktivasyonun ölçülmesi balık sağlığı hakkında ipuçları vermektedir. Bu hücreler sorunlu dokularda kapillardan göçü kolaylaştıran, birbirine yapışan proteinlerin üretimi ile doku hücrelerinin etrafını kaplayan yapışkan hücrelerdir (Anderson ve diğ., 1992). Yapılan bir araştırmada (Siwicki ve diğ., 1989) oxytetracyclin uygulanan gökkuşacağı alabalıklarında, NBT pozitif hücre aktivasyonunun kontrol grubuna göre daha düşük bulunması bu çalışma sonuçları ile benzer bulunurken, oxolonic asid uygulanan balıklarda pozitif hücre aktivasyonunun yüksek bulunması zıtlık oluşturmuştur.

Toplam plazma proteini non – spesifik immun sistemin humoral unsuru olarak kabul edilmektedir (Jeney ve diğ., 1997). Tafalla ve diğ (1999), bir antibiyotik olan Oxytetracyclin'ni Kalkan balıkları (*Scophthalmus maximus*)'na uygulamış ve balıkların immun sistemine etkisini *in vivo* ve *in vitro* incelemişlerdir. Kalkan balıklarının plazma proteininde önemli bir azalmanın gözlenmiş olması, üç farklı dozda sulfamerazin uygulanarak yürütülmüş olan bu çalışma sonuçları ile uyum içindedir.

Balıklarda, spesifik savunma mekanizmalarının en önemli elemanlarını immunoglobülinler oluşturmaktadır. Bilindiği gibi antikorlar; vücudun antijenik uyarımları sonucu plazma hücreleri tarafından sentezlenen ve homolog antjenlerle birleşerek reaksiyon verebilen glikoprotein karakterindeki moleküller olup B lenfositlerin başkalaşması ile ortaya çıkar. İlaçlar immun sistemde yer alan farklı hücrelerin fonksiyonlarını etkileyerek bağışıklıkta supresyon oluşturmaktadır (Leeder ve diğ, 1991; Rieder ve diğ, 1992a; 1992b). Sulfonamid

grubu ilaçların bağışıklık sistemine olan baskılayıcı etkisinin lenfositlerin farklılaşmasını bozmasından ileri geldiği sanılmaktadır (Kaya ve diğ., 1997). Bu çalışmada da toplam immunoglobulin miktarında zamana bağlı olarak bir düşüş görülmesi sulfamerazinin B lenfosit tepkisinde oluşturduğu supresyondan dolayı meydana gelmiş olabilir.

Sulfamethoxazole (SMX)'nin insan IgM ve IgG antikorlarına etkilerinin ortaya konulması için yapılan bir çalışmada SMX' in sub-letal konsantrasyonlarının IgM ve IgG düzeylerinde önemli azalmalar gösterdiği saptanmıştır. IgM üretiminde % 80; IgG üretiminde ise kontrol grubuna göre % 57 oranında azalma bulunmuştur (Sisson ve diğ; 1997). Oxytetracyclin'in oral yolla verildiği bir çalışmada da antikor düzeyinin azaldığı görülmüştür (Rijkers ve diğ; 1980). Lunden ve diğ (2002), ise *Aeromonas salmonicida* ve *Vibrio anguillarum* bakterilerine karşı sulfadiazin ile trimethoprim kombinasyonun gökkuşağı alabalıklarının antikor düzeyine etkisinin değişimini tam olarak belirleyememişlerdir. Bu çalışmada ise kontrol grubuna göre 100, 200 ve 400 mg/kg balık hesabı ile sulfamerazin verilen balıklardan elde edilen toplam immunoglobulin düzeylerinin sırasıyla %20,85, %10,84 ve % 12,08 oranında, azaldığının belirlenmesi Lunden ve diğ (2002) hariç diğer araştırmacıların sonuçları ile uyum göstermiştir.

Ülkemizde kültür balıkçılığı, coğrafik konum ve iklimsel özelliklerin oldukça elverişli olması nedeniyle hızla gelişen bir sektör niteliğindedir. Bununla birlikte kültür balıkçılığında üretim potansiyeli tam olarak değerlendirilememekte; beslenme hataları ve hastalıklardan dolayı yeterli verim düzeyine ulaşamamaktadır. Balık üretim çiftliklerinde çevresel şartların aniden değişmesi, stok yoğunluğu gibi stres faktörlerinin oluşması ve patojen mikroorganizmaların varlığı mortalite oranını artırmakta ve önemli ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Balıkçılıkta istenmeyen bu durumun önüne geçmek amacıyla etkili bir metot geliştirilememiştir. Buna rağmen sulfonamidler, antibiyotikler ve nitrofuranlar gibi kemoterapotik ilaçlar entansif balık yetiştiriciliğinde bakteriyel balık hastalıklarının kontrolünde kullanılmaktadır (Alderman, 1988). Ancak gerek bitkilerde, gerek hayvanlarda ve gerekse balık hastalıklarında kullanılan ilaç ve kimyasal maddelerin bir çoğu vücutta kısmen parçalanarak etkisiz veya zararsız hale gelirken bazıları da oldukça yavaş ayrışmaları nedeni ile canlı vücudunda birikirler. Böylece besin zincirine giren bu maddeler son tüketici durumundaki insanlara kadar ulaşarak tehlikeli sorunlar oluşturabilirler. Sulfonamid grubu ilaçların uygulanmasından sonra balıkların ancak 7–21 gün sonra tüketime sunulabileceği bilinmektedir. Bu amaçla sulfonamidlerin absorpsiyonu, dokulardaki dağılımı, girişi ve atılımı gibi farmakokinetik etkileri üzerine bir çok araştırma (Grondel ve diğ., 1987; Droy ve diğ., 1990; Hormazabal ve Rogstad, 1992; Uno ve diğ., 1993; Samuelsen ve Ervik, 1997) yapılmasına rağmen immün yanıt üzerine araştırma sayısı yok

denecek kadar azdır. Hazırlanmış olan bu çalışmayla sulfamerazinin balıkların immun sistemi ve kan parametrelerine olan etkisi ortaya çıkarılmıştır.

Antibiyotik ve sulfonamidlerin balıkların immun sisteminde supresif etkili oldukları bilinmektedir (Rijkers ve diğ., 1980; Grondel ve Boesten, 1982; Anderson ve diğ., 1984; van Muiswinkel ve diğ., 1984; Grondel ve diğ., 1985; Grondel ve diğ., 1987; Wishkovsky ve diğ., 1987; Lunden ve diğ., 1998, 1999; Lunden ve Bylund, 2000). Sulfamerazinin farklı dozlarda yeme karıştırılarak oral yolla balıklara verildiği bu çalışmada, ilacın balıkların hematolojik ve immunolojik reaksiyonuna etkisinin saptanması amacıyla yapılan testlerden elde edilen sonuçların istatistiki olarak kontrol grubundan farklılık oluşturması bu bilgileri doğrulamaktadır.

Bu çalışma sonuçlarına göre, sulfamerazin uygulanan balıkların immun sisteminde ve eritrosit sayısı, hemoglobin düzeyi, eritrosit indeksleri gibi bazı kan parametrelerinde önemli değişimler tespit edilmiştir. Bu sonuç sulfamerazinin hematopoetik dokuda birikim yaparak etkilediğinin bir işaretidir. Ancak bu değişimlere rağmen 21. gün sonunda dahi balıklarda ölüm gözlenmemiştir. Bu bulgu sulfamerazinin balıkların immun sistemini olumsuz yönde etkilemesine rağmen bakteriyel ve protozoal hastalıklarda güvenle kullanılabileceğini göstermektedir. Fakat sulfamerazin ile tedavi sırasında bu ilaca dirençli diğer etkenlerle oluşabilecek enfeksiyonlara karşı vücut savunmasının yetersiz kalacağı unutulmamalıdır.

## KAYNAKLAR

- Alderman, D. J., in J.F.Muir (Editor), 1988, Recent Advances in Aquaculture, Vol 3, Croom Helm, Beekenham, , 1-61pp.
- Anderson, D.P., Muiswinkel van, W.B. and Roberson, B.S., 1984, Effect of chemically induced immune modulation on infectious diseases of fish. In: M. Kende, J. Gainer and M. Chirigos (eds.), Chemical regulation of immunity in Veterinary Medicine. A.R. Lisse Inc., New York, pp. 187-211.
- Anderson, D. P. and Jeney, G., 1992. Immunostimulant added to injected *Aeromonas salmonicida* bacterin enhance the defence mechanisms and protection in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). Veterinary Immunology and Immunopathology 34, 379-389.
- Anderson, D.P., Moritoma, T. and Dgroot, R., 1992, neutrofile glass-adherent, nitrobluetetrazolum assay gives early indication of immunazation effectiveness in rainbow trout, Veterinary Immunology and Immunopathology, 30, 419-429.
- Aoki, T., 1992, Chemotherapy and drug resistance in fish farms in Japan. In: Diseases in Asian Aquaculture I. M. Shariff, R.P. Subainghe and J.R. Arthur (eds). Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 519-529 p.
- Arda, M., 1997, Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayınevi, Ankara, 490 s.
- Arda, M., Mimbay, A., Aydın, N., İzgür, M., Diker, S., 1994. İmmunoloji, Medisan Yayınevi, Ankara, 394 s.
- Björklund, H., Råbergh, C.M.L. and Bylund. G., 1991. Residues of oxolinic acid and oxytetracycline in fish and sediment from fish farms. Aquaculture 84, 85-96.
- Brander, G.C., Pugh; D.M. and Bywater, R.J., 1982, Vetarinary Applied Pharmacology and Therapeutics. A Bailliere Tindall, London, 422 p.
- Cengizler, İ., 2000, Balık Hastalıkları Ders Kitabı. Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yay.No: 7, Adana, 136 s.
- Chung, S. and Secombes, C.J., 1987, Activation of rainbow trout macrophages. Journal of Fish Diseases, 31 (Supp. A), 51 – 56.
- Chung, S. and Secombes, C.J., 1998, Analysis of Events Occuring within Teleost Macrophages during the Respiratory Burst. Comparative Biochemical of Physiology., 89B. (3): 539-544
- Cravedi J. P., Choubert G. and Delous G., 1987. Digestibility of chloramphicol, oxolinic acid and oxytetracycline in rainbow trout and influence of these antibiotics on lipid digestibility. Aquaculture 60, 133-141.

- Dalmo, R.A., Ingebrigtsen, K. and Bøgvad, J., 1997, Non – spesifik defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). *Journal of Fish Diseases*, 20, 241 – 273.
- Darson, M., 1981, Role and characterization of fish antibody. *Developmental Biological Standardization* 49, 307-319.
- Demir, N., 1992, İhtiyoloji, İ.Ü. Yayınları, İnönü Üniversitesi Fen Fakültesi Basımevi, 390 s, İstanbul.
- Diker, S., 1998, İmmunoloji, Medisan Yayınevi, Ankara, 304 s.
- Droy, B. F., Goodrich, M.S., Lech, J.J. and Kleinow, K.M., 1990, Bioavailability, disposition and pharmacokinetics of <sup>14</sup>C-ormetoprim in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Xenobiotica*, 20 (2), 147-157
- Ellis, A. E., 1981, Non-specific defense mechanisms in fish and their role in disease processes. *Developmental Biological Standardization* 49, 337 – 352.
- Ellis, A. E., 1988, General Principles of Fish Vaccination. In: *Fish Vaccination*, A. E Ellis (eds), Academic Press Lmt. New York, 1-19 p.
- Erer, H., 1995, Balık Hastalıkları. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları Ünitesi, Konya, 118 s.
- Findlay, V. L. and Munday, B. L., 2000, Immunomodulatory effects of levamisole on the nonspecific immune system of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 23, 369 – 378.
- Gaylarde, P. M., Sarkany, I., 1978. Suppression of thymidine uptake of human lymphocytes by co-trimoxazole. *British Medical Journal* 3, 144-146
- Grondel J. L and Boesten H. J. A. M., 1982, The influence of antibiotics on the immun system. I. Inhibition of the mitogenic leukocyte responses in culture. *Development and Comparative Immunology* 2, 211-216.
- Grondel, J.L., Gloudemans, A.G.M. and Muiswinkel van, W.B., 1985, The influence of antibiotics on the immun system. II. Modulation of fish leukocyte responses in culture. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 9, 251-260.
- Grondel J. L., Nouws., J. F. M. and Van Muiswinkel W. B., 1987. The influence of antibiotics on the immun system: immunopharmacokinetic investigations on the primary anti-SRBC response in carp *Cyprinus carpio* L., after oxytetracycline injection. *Journal Fish Diseases*. 10, 35-43.
- Hormazabal, V. and Rogstad, A., 1992, Simultaneous determination of sulphadiazine and trimethoprim in plasma and tissues of cultured fish for residual and pharmacokinetic studies. *Journal of Chromatography*, 583, 201-207

- Inglis, V., Robertson, D., Miller, K., Thompson, K. D., Richards, R. H., 1996. Antibiotic protection against recrudescence of latent *Aeromonas salmonicida* during furunculosis vaccination. *Journal Fish Diseases*, 19, 341-348.
- İmren, H ve Turan, O., 1985. Klinik Tanıda Laboratuvar. Beta Yayın Dağıtım A.Ş 845 s
- İspir, Ü., 2001, Levamisol'ün Gökkuşluğu Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss* W.) İmmun Sistemine Etkisinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Elazığ, 44 s.
- İstanbuluoğlu, E., 1978, Enterik İnfeksiyonlarda Yerel Bağışıklığın Rolü. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 22 (1-2),72-76.
- Jeney, G., Galeotti, M., Volpatti, D., Jeney, Z., Anderson, D. P., 1997, Prevention of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing different doses of glucan. *Aquaculture*, 154, 1-15
- Johnston, R. B., Godzik, C. A., Cohn, Z. A., 1978, Increased Superoxide Anion Production by immunologically Activated and Chemically Ellited Macrophages, *Journal Experimental Medicine*, 148, (1),115-127.
- Katzung, B., G., 1995, Temel ve Klinik Farmakoloji. (Çeviren: Z. Özünler), Melisa Mat., İstanbul, 1387 s.
- Kaya, S., Pirinççi, İ. ve Bilgili, A., 1997, Veteriner Uygulamalı Farmakoloji. Cilt 2 Meadisan Yayınevi, Ankara, 790 s.
- Kayaalp, O., 1984, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Ulucan Mat., Ankara, 995 s.
- Kılıçturğay, K., 1996, Temel Mikrobiyoloji ve Parazitoloji. Hünkar Ofset Mat., İstanbul, 405 s.
- Kleinow, K. M., Beilfuss, W. L., Droy, F. B., Jarboe, H. H. and Lech, J. L., 1992, Pharmacokinetics, Bioavailability, Distribution and metabolism of sulphadimethoxine in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fish Aquatic Science*, 49, 1070-1077
- Konuk, T., 1981. Pratik fizyoloji, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 378, Ankara, 250 s.
- Kubilay, A. ve Timur, G., 1997, Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Yersinia ruckeri* bakterinine karşı antikor üretiminin agulitinasyon yöntemi ile tespiti üzerine bir araştırma. IX. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Eğirdir/Isparta, 642-640 s.
- Kwapinski, J. B., 1965, Methods of Serological Research. John Wiley & Sons Inc., New York, 526 p.
- Leeder, N. S., Nakhoda, A., Spielberg, S.P., Dosch, H.M., 1991, Cellular toxicity of sulfomethoxazole reactive metabolites-II- inhibition of natural killer cell activity in human peripheral blood mononuclear cells. *Biochemical Pharmacology*, 41, 575-583.

- Lunden, T., Miettinen, S., Lönnström, L.G., Liius, E.M., Bylund, G., 1998. Influence of oxytetracycline and oxolinic acid on the immun response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 3, 217-230.
- Lunden, T., Miettinen, S., Lönnström, L.G., Liius, E.M., Bylund, G., 1999. Influence of florfenicol on the immun response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 67, 317-325.
- Lunden, T., Bylund, G., 2000 The influence of in vitro and in vivo exposure to antibiotics on mitogen- induced proliferation of lymphoid cells in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 10, 395-404
- Lunden, T., Bylund, G., 2002. Effect of sulfadiazine and trimethoprim on the immun e response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Vetarinary Immunology and Immunopathology*, 6564, 1-10.
- Lygren, B., Sveier, H., Hjeltnes, B., Waagbo, R., 1999. Examination of the immunomodulatory properties and the effect of on disease resistance of dietary bovine lactoferrin and vitamin C fed to Atlantic salmon (*Salmo salar*) for a short-term period. *Fish and Sellfish Immunology*, 9, 95-107.
- Michel, C. M. F., Squibb, K. S. and O'connors, J. M., 1990, Pharmacokinetics of sulphadimethoxine in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Xenobiotica*, 20 (12), 1299-1309
- Nazıroğlu, M. 2001. Hematopoetik Sistem ve Bağışıklık Sistem Fizyolojisi Ders Notları, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ
- Plumb, J.A., 1992, Diseases control in aquaculture. In: Diseases in Asian Aquaculture I. M. Shariff, R.P. Subainghe and J.R. Arthur (eds), Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 3-17 pp.
- Post, G., 1987, Control of fish diseases, Chapter 3, Textbook of Fish Health, 16-29 pp.
- Rieder, M. J., Mask, M., Bird, I.A., 1992a, Production of tumour necrosis factor by cells exposed to sulphonamide reactive metabolites. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 70, 719-722.
- Rieder, M. J., Sisson, E., Bird, I.A., Almawi, Y., 1992b, Supression of T lymphocyte proliferetion by sulphonamide hydroxylamines. *International Journal of Immunopharmacology*, 14, 1175-1180.
- Rijkers G. T., Teunissen A. G., Van Oosterom R. and van Muiswinkel W.B 1980. The immune system of cyprinid fish. The immunosuppressive effect of the antibiotic oxytetracycline in carp. *Aquaculture* 19, 177-189.
- Roberts, R. J., 1978, *Fish Pathology*, Bailliere Tindal, London, 368 p.

- Sakai, M., 1999, Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, 172, 63 – 92.
- Samuelsen, O. B. and Ervik, A., 1997, Single dose pharmacokinetic study of flumequine after intravenous, intraperitoneal and oral administration to Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) held in sea water at 9 °C. *Aquaculture*, 158, 215-227
- Sarıyüpoğlu, 2000, Balık Hastalıkları Ders Notları. F.Ü. Su Ürünleri Fakültesi, Elazığ, 32 s.
- Sisson, E. M., Rieder, M. J., Bird, I. A., and Almaw, W. Y., 1997, Suppression of pokeweed mitogen-driven human IgM and IgG responses by the Hydroxylamine of sulfamethoxazole, *International Journal of Immunopharmacology*, 19(5), 299-304
- Siwicki, A. K., Anderson, D. P. and Dixon O. W., 1989. Comparison of non-specific and specific immunomodulation by oxolinic acid, oxtetracycline and levamisole in salmonids., *Veterinary Immunology and Immunopathology* 14, 231-237.
- Siwicki, A. K. and Anderson, D. P., 1993. Immunostimulation in fish: Measuring the effects of stimulants by serological and immunological methods. Symposium on Fish Immunology Lysekil, Sweden, 24 p.
- Sünbuloğlu, K. ve Sünbuloğlu, V., 1994, Bioistatistik. Özdemir yay. Ltd. Şti., Ankara, 269 s.
- Tafalla, C., Novoa, B., Alvarez, J. M., and Figueras, A. 1999 *In vivo* and *in vitro* effect of oxytetracycline treatment on the immune response of turbot, *Scophthalmus maximus*. *Journal of Fish Diseases* 22, 271-276
- Tanrikul, T., 1995, Bakteriyel Balık Aşılı ve Aşılama Yöntemleri, Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi, 19, (33), 1-8.
- Tizard, I., 1992, *Veterinary Immunology: an Introduction*, W. B. Saunders Company, Mexico, 498 p.
- Uno, K., Aoki, T. and Ueno, R., 1993, Pharmacokinetics of sulphamonomethoxine and sulphadimethoxine following oral administration to cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 115, 209-219.
- van Muiswinkel, W.B., Anderson, D.P., Lamers, C.H.J., Egberts, E., van Loon, J.J.A., Ijssel, J.P., 1984, Fish Immunology and Fish Health. Fish Immunology, M.J. Manning & M.F. Tatner, eds., Proceedings of the Plymouth Meeting 1983, Academic Press, London, 29- 34 pp.
- van Muiswinkel, W. B., 1992, Fish immunology and fish health. *Netherlands Journal of Zoology*, 42 (2-3), 494 – 499.
- Wishkowsky A., Roberson B. S and Hetrick F. M., 1987. In vitro suppression of the phagocytic response of fish macrophages by tetracyclines. *Journal of Fish Biology* 31(A), 61-65.

## ÖZGEÇMİŞ

Elazığ'da 01.04.1978 tarihinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ni 1996 yılında kazandım. Bu fakülteden 2000 yılında mezun oldum. Aynı yılın güz döneminde Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans yapmaya hak kazandım. Halen bu anabilim dalında yüksek lisansına devam etmekteyim.

**Muhammet Enis YONAR**

