

BALIK SAĞLIĞI VE İMMUNOSTİMULANLARIN KULLANIMI

Mehmet Borga Ergönül^{1*}, Hijran Yavuzcan², Ahmet Altındağ¹

¹Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

²Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü, Ankara

Özet:

Balık hastalıkları ve enfeksiyonları nedeniyle meydana gelen ekonomik kayıplar gibi problemler su ürünleri sektörünün gelişimi açısından büyük önem taşımaktadır. Günümüzde birçok balık hastalık etmeninin tedavisi için halen etkin bir çözüm geliştirilememiş olması ve var olan tedavi yöntemlerinin ise balıklar için ekstra bir stres kaynağı olması, bilim adamlarını balık hastalıklarına karşı immünoştümlanların kullanımını araştırmaya sevk etmiştir. Bu derlemede balık hastalıklarına karşı kullanılan immünoştümlanların avantaj ve dezavantajları ve mevcut immünoştümlanlar üzerine yapılan çalışmalar özetlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Balık sağlığı, Balık hastalıkları, Balıkçılık, Su ürünleri yetiştiriciliği, İmmünoştümlan.

Abstract:

Fish Health and the Use of Immunostimulants

Problems such as economic losses due to fish diseases and infections, are the most important issue for the development of the fisheries sector. Current studies focus on the use of immunostimulants against fish diseases due to the fact that there is still no effective treatment for a few fish diseases and the available treatments possess additional stress for fish. In this review, the advantages and disadvantages of the immunostimulants used against fish diseases and studies on the current immunostimulants are summarized.

Keywords: Fish health, Fish diseases, Fisheries, Aquaculture, Immunostimulant

* Correspondence to:

Mehmet Borga ERGÖNÜL, Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06100-Tandoğan, Ankara-TÜRKİYE

Tel: (+90 312) 212 67 20 Fax: (+90 312) 223 23 95

E-mail: borga@science.ankara.edu.tr

Giriş

Balık yetiştiriciliğinde karşılaşılan ve ürün kalitesini düşüren, maliyeti arttıran ve hatta çoğu kez toplu balık ölümlerine neden olan balık hastalıklarının incelenmesi ve tedavisi her geçen gün biraz daha önem kazanmaktadır. Balık hastalıklarına hem doğal ortamlarda hem de yetiştiricilik sırasında rastlanabilir. Birçok hastalık etmeni doğal ortamlarda sürekli olarak bulunur, ancak yoğunlukları nadiren tehlikeli boyutlara ulaşır ve dolayısıyla problem yaratmazlar. Yetiştiricilikte amaç ticari bir başarı elde etmek olduğu için balıklar doğal ortamlardakinden daha yüksek yoğunlukta stoklanır ve bu da hastalıkların gelişmesine ve çok hızlı bir şekilde yayılmasına yol açan başlıca faktörlerden biridir (Scholz, 1999).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde üretimin belirli aşamalarında meydana gelen kayıplar için kabul edilebilir sınırlar vardır. Ancak bu kayıplar epizootikler sırasında oldukça artar. Buna tedavi masrafları ve tedavi sırasında balıkların büyümesinin olumsuz etkilenmesi de eklenince maddi kaybın boyutları daha da yükselir (Francis-Floyd, 1990a). Doğal ortamda hasta veya zayıf düşmüş balıklar kısa bir sürede predatörler tarafından ortamdaki elimine edildikleri için doğal ortamlarda meydana gelen kayıplar hakkında yeterli bilgi edinmek güçtür (Scholz, 1999). Ayrıca doğal ortamlarda balıklar, kültür ortamındakinden çok daha düşük yoğunluklarda bulunurlar. Dolayısıyla parazitler ve patojenler doğal ortamlarda nadiren büyük bir tehlike oluşturur. Ancak hastalık olayının gelişmesi genellikle sadece parazit veya patojen ve konak arasındaki ilişkinin sonucunda meydana gelen basit bir olay değildir. Hastalığın gelişmesi için balığı fizyolojik olarak optimum durumdan saptıran, immün sistemi olumsuz etkileyen ve/veya baskılayan etmen ya da etmenlerin de ortamda bulunması gereklidir (Rottmann vd., 1992).

Balıklarda diğer omurgalıları olduğu gibi bağışıklık sistemi non-spesifik ve spesifik olmak üzere 2 kısım altında incelenmektedir. Ancak balıkların savunma sistemi yüksek omurgalıları aksine daha çok non-spesifik immüniteye dayanmaktadır (Watts vd., 2001). Bunun balıklar için bazı avantajları vardır; patojenle daha önceden karşılaşmış olması gerekmez, hastalık etmenine anında cevap verilebilir, spesifik sistemin aktive olması non-spesifik sistemin aktive olmasına bağlıdır ve spesifik sistem su sıcaklığı düş-

tükçe daha yavaş çalışır ancak non-spesifik sistemin çalışması su sıcaklığına bağlı değildir (Watts vd., 2001).

Ayrıca balıklarda memelilerden farklı olarak; balıklarda kemik iliği ve lenf düğümleri yoktur, balıklarda kan yapımından sorumlu organlar ön böbrek ve dalaktır, balıklarda eritrositler çekirdekli ve balıklarda immünitinin anneden yavruya geçmesi söz konusu değildir. Ancak yapılan son birkaç çalışmada özellikle tilapya balıklarında anne ağzında mukusla beslenmeye bağlı olmak üzere yavrulara kısmen immünitinin geçebileceği gösterilmiştir (Takemura ve Takano, 1997).

Balık Sağlığı Yönetimi

Balık sağlığı yönetimi balıkları hastalıktan korumak üzere tasarlanmış idari uygulamaları anlatmak için balık yetiştiriciliğinde kullanılan bir terimdir. Başarılı bir balık sağlığı yönetiminde balıkların tedavisinden ziyade, onları hastalıktan korumaya yönelik önlemler daha ön plandadır. Balıkları hastalıktan korumak ise uygun su kalitesi, besleme ve ileri bir sanitasyon teknikleri gibi uygulamalar ile sağlanabilmektedir (Francis-Floyd, 1990a).

Çevresel koşulların optimum değerlerden sapması sonucunda balıklarda direncin azaldığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Anderson, 1997; Bly vd., 1997). Değişen çevre koşullarına aşırı stok yoğunluğu, ani sıcaklık değişimleri, yetersiz oksijen seviyesi ve uygun olmayan elle müdahale gibi işlemler eklendiğinde balığın sınırlı homeostatik mekanizması üzerinde önemli düzeyde stres yüklenmektedir. Stres, organ fonksiyonlarının optimum dengeden uzaklaşması durumudur ve buna yol açan her türlü madde, işlem veya uygulama stresör olarak tanımlanmaktadır (Francis-Floyd, 1990b). Bununla birlikte stres hayvanın optimum koşullar dışında verdiği adaptif fizyolojik yanıtlar toplamı olarak da tanımlanabilmektedir (Wendelaar-Bonga, 1997). Stresin balıklarda immün sistemi baskıladığı ve bunun uzun vadede balıkları hastalıklara karşı daha savunmasız hale getirebileceği birçok çalışmada gösterilmiştir (Francis-Floyd, 1990b; Yavuzcan vd., 2006; Yavuzcan vd., 2009; Yavuzcan and Ergönül, 2010). Stres, akut veya kronik olabilmektedir. Elle müdahale, boylama, toplama, nakil gibi her işletmede yapılan işlemler akut stres; balıkların yük-

sek yoğunlukta stoklanması veya suda istenmeyen maddeler bulunması, yetersiz oksijen seviyesi veya uygun boylama yapılmaması gibi etmenler ise kronik stres yaratmaktadır (Rottmann vd., 1992).

Stres altında verilen ilk fizyolojik yanıt adrenal bezden kateşolaminlerin salgılanmasıdır. Bu hormonun ilk gözlenen etkisi kan glukoz seviyesinde artıştır. Bu balığın acil enerji ihtiyacını karşılamak için verdiği bir tepkidir (Watts vd., 2001). Adrenal bezden salgılanan kateşolaminler ve kortizolün balık sağlığı açısından yetiştiriciyi ilgilendiren en önemli etkisi ise uzun vadede balığın immün sisteminin baskılanmasıdır (Reid vd., 1998). Ayrıca balığın osmoregülasyon kapasitesi de bozulur; tatlısu balıkları ortamdan yüksek miktarda su absorbe eder, deniz balıkları ise su kaybeder. Balık bu durumu normale döndürmek için ekstra bir enerjiye daha ihtiyaç duyar. Solunum oranı artar, kan basıncı düşer ve genellikle kırmızı kan hücresi miktarı artar. Balıklar normalde stresin oluşturduğu bu ilkin etkilere dayanabilir. Ancak stresöre maruz kalma süresi ve/veya balıkların ikinci bir stresöre maruz bırakılması balıkların enerji rezervlerinin tükenmesine yol açabilir (Reid vd., 1998). Bu durum balıkların fırsatçı patojenlere karşı savunmasız hale gelmesine yol açabileceği gibi direkt ölüme de yol açabilir (Sommerset vd., 2005). İşletmede yapılan her işlem balıklar için bir stres faktörüdür. Dolayısıyla balıkların immün sistemi üzerinde baskılayıcı etkileri olan, onları hastalığa karşı daha duyarlı hale getiren bu işlemlerin yarattığı stresi minimuma indirmek için işletmelerde dikkat edilmesi gereken faktörler ayrı bir önem oluşturmaktadır.

Balık Hastalıklarında Profilaksi ve İmmunostimulasyon

Balık hastalıklarının tedavi edilerek çözümü genellikle çok zordur. Bu bağlamda balık yetiştiriciliğinde her zaman profilaktik tedbirler ön plana çıkmaktadır (Le Breton, 2009). Balık sağlığını tehdit eden sorunların başında özellikle mikrobiyal hastalıklar gelmektedir. Mikrobiyal bir hastalık ile karşılaşıldığında çoğu kez hastalık etmeni teşhis bile edilemeden hastalık tesisteki tüm balıklara yayılmış olur. Dolayısıyla mikrobiyal hastalıkların daha hastalık gelişmeden engellenmesine yönelik tedbirler oldukça önemlidir. Bu durum medikal profilaksi olarak adlandırılmaktadır. Ayrıca dirençli bireylerin damızlık olarak seçilmesi, su kalitesinin izlenmesi, yüksek

kaliteli yem kullanılması ve balıkların stresten uzaktan tutulmasına yönelik işlemler işletmelerde zaten uygulanmaktadır. Ancak hastalıklarla mücadelede sadece bu önlemler yeterli değildir. Günümüzde araştırmaların çoğu balıkların immün sisteminin uyarılması ve herhangi bir hastalık etmeni ile karşılaşma durumunda daha hızlı ve etkin bir cevap verilmesine yöneliktir (Bricknell ve Dalmo, 2005). Burada ise karşımıza immüno-stimulanlar çıkmaktadır.

En genel tanımı ile immunostimulasyon; immün sistemin aktive olması, ekspresyonu ve/veya verilen cevabın amplifikasyonudur. Diğer bir deyişle; non-spesifik veya spesifik immün sistemi uyaran ve canlıyı hastalıklara karşı daha dirençli hale getiren herhangi bir madde, işlem veya uygulama immunostimulan olarak adlandırılmaktadır (Sakai, 1999). Balık sağlığı yönetimi ile ilgili yapılan çalışmaların büyük bir kısmı son 20 yılda balık hastalıklarının tedavisinden ziyade balıkların immün sistemlerinin güçlendirilmesine ve dolayısıyla immunostimulanların kullanımına yönelmiştir (Raa, 1996; Sakai, 1999; Peddie ve Secombes, 2005). Bunun nedenleri;

- Hastalıkların tedavisinde kullanılan çoğu kimyasalın insan sağlığı üzerinde tehdit oluşturması ve dolayısıyla pek çok ülkede yasaklanması.
- Kullanılan profilaktik kimyasalların çevre sağlığı açısından tehdit oluşturması ve doğal hayvan popülasyonlarını etkilenmesi.
- Tedavi amaçlı antibiyotik kullanımı sonucunda tesis etrafındaki doğal ortamda antibiyotiklere dirençli bakteri suşlarının gelişebilmesi.

Spesifik immün sistemi uyaran immunostimulasyon için en iyi bilinen yöntem aşılama ve spesifik bir hastalık etmenine karşı direnci arttırmakta ve/veya koruma sağlamaktadır (Sommerset vd., 2005). Ancak balıklar söz konusu olduğunda henüz her antijene karşı aşı geliştirilememiştir. Bakteriyel hastalıklar için daha çok öldürülmüş, viral hastalıklar için ise inaktive edilmiş aşılarda kullanılmaktadır (Lorenzen, 1999). Bununla birlikte son yıllarda rekombinant aşılarda ve DNA aşılarda üzerine de çalışmalar yapılmaktadır (Lorenzen ve La Patra, 2005). Ancak aşılamanın da bazı dezavantajları bulunmaktadır;

- Öncelikli olarak her bir antijene karşı aşı geliştirilememiştir. Günümüzde ticari olarak piyasada bulunan aşı sayısı çok azdır

(vibriozis, kızıl ağız, frunculozis ve IPN gibi anti-viral aşilar) ve her patojen için aşı geliştirmek mümkün değildir. Örneğin, beyaz benek hastalığının etmeni olan *Ichthyophthirius multifiliis* çok yaygın ve çok tehlikeli bir protozoon olmasına karşın henüz etkinliği kesin olan bir aşı geliştirilememiştir (Burkert vd., 1990).

- Balığın genellikle 15g'dan büyük olması gerekir, daha küçük balıklara aşılama uygulanamaz. 15g altındaki balıklarda spesifik immünite henüz gelişmemiştir ve bu boyda balıklara aşı yapmak oldukça zordur (Ellis, 1989).
- Aşılar banyo, sprey, oral ve enjeksiyon yöntemleriyle uygulanmaktadır. İlk üç yöntem uygulama açısından oldukça pratik olmakla birlikte etkinliğinden emin olmak güçtür dolayısıyla en iyi sonuçlar enjeksiyon yöntemi ile alınmaktadır. Ancak enjeksiyon yönteminde balıklar elle müdahaleden geçmek durumundadır. Bu ise külfetli bir iş olmasının yanında balıklar için ekstra bir stres kaynağıdır (Sommerset vd., 2005).

Aşılama spesifik bir antijene karşı oldukça etkin bir koruma sağlasa da yukarıda sayılan nedenlerden dolayı balık hastalıkları ile mücadelede başarı elde etmek için sadece aşılarla güvenmek yeterli değildir. Dolayısıyla balıklarda non-spesifik immün sistemi uyaracak immunostimulanların kullanımı ön plana çıkmaktadır. Normal koşullarda balıkların immün sistemi hastalık etmesini etkisiz hale getirebilir. Ancak yumurtadan yeni çıkmış larvalarda ve 5-10 g'a kadar olan yavrularda immün sistem nispeten iyi gelişmemiş olduğundan yavru balıklar için aynı durum söz konusu değildir. Ayrıca ergin balıklar söz konusu olduğunda dahi immün sistem üzerinde etkili olan faktörlerden herhangi birinin bozulması veya balığın aleyhine gelişmesi immün sistemi zayıflatır ve balık, hastalığa karşı savunmasız hale gelir. Özellikle viral ve bakteriyel hastalıklar çok hızlı bir şekilde geliştiğinden ve yayıldığından tedavi çoğu kez işe yaramaz. Immunostimulanlar genel olarak hastalıklarla ve strese bağlı immün sistemin baskılanmasına karşı iyi bir çözüm olmalarına rağmen immunostimulanların da yetersiz kaldığı durumlar olabilmektedir. Ancak yine de immunostimulanlar balık sağlığı yönetiminde pek çok avantaja sahiptir; profilaktiktir, spektrumu geniştir, çevreye etkisi yoktur veya yok denecek kadar azdır, etki mekanizması su sıcaklığından bağımsızdır, yemlerle birlikte çok

kolay uygulanabilir. Bu bağlamda balık yetiştiriciliğinde en sık kullanılan immunostimulanlar genel olarak 5 grup altında toplanmaktadır (Sakai, 1999; Peddie ve Secombes, 2005);

1. Ölü patojenler ve ürünleri
2. Sentetik kimyasallar
3. Bitkisel ürünler
4. Hayvansal ürünler
5. Besinler ve Mikronütrientler

Ölü patojenler ve ürünleri

Freund's complete adjuvant (FCA)

FCA mikobakteriyel hücre duvarının mineral yağ içinde çözülmesi ile elde edilen bir süspansiyondur (Moritana vd., 1992). Brenek vd. (2002) havuz balıklarına (*Carassius carassius*) FCA enjekte etmiş ve *Trypanosoma danilewskyi* enfeksiyonuna karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermişlerdir. Högfors vd. (2008) *Flavobacterium psychrophilum*'dan izole ettikleri ve antijenik özelliğe sahip bir proteini gökkuşağı alabalıklarına enjekte etmiş ve bu proteinin tek başına kullanılmasının balıklarda beklenen immün cevabı oluşturmadığını ancak FCA ile birlikte verilmesi durumunda koruyucu etkisi olduğunu kaydetmişlerdir. Chettri vd. (2009) *Poecilia reticulata*'da yaptıkları bir araştırmada çeşitli *Tetrahymena* sp. preparasyonlarının balıklarda etkilerini incelemiş ve bu preparasyonların FCA ile birlikte kullanılması durumunda koruyuculuklarının arttığını ve buna bağlı olarak balıklarda mortalite oranının %15 civarında düştüğünü bildirmişlerdir. FCA'dan tek farkı içinde *Mycobacterium* ürünleri bulunmaması olan FIA (Freund's Incomplete Adjuvant) da balıklarda immunostimulan olarak kullanılmaktadır. FIA'nın humoral ve hücresel bağışık yanıtta rol alan bileşenlerin sentezini arttırdığı özellikle tumor necrosis factor (TNF) gibi bazı sitokinlerin sentezinden sorumlu genleri aktive ettiği düşünülmektedir. Ancak FIA genellikle bazı olumsuz yan etkiler de gösterdiğinden insan sağlığında kullanımı yasaklanmıştır. Jiao vd. (2010) *Paralichthys olivaceus* adlı balık türünde yaptıkları bir çalışmada balıklara Et49 adlı *Edwardsiella tarda* antijenini FIA ile birlikte enjekte etmiş ve deneysel enfeksiyon çalışmasında FIA'nın alüminyum tuzları gibi klasik adjuvanlara göre çok daha iyi bir sonuç verdiğini gözlemişlerdir.

Kolera toksini ve non-toksik B alt birimi

Hebert vd. (2000) kolera toksininin (CT) ve non-toksik B alt biriminin (CTB) balıklara adjuvan olarak intraperitoneal enjeksiyonunun serum antikor titresini arttırdığını bulmuşlardır. Benzer şekilde Merino-Conteras vd. (2001), *Paralabrax maculatofasciatus*'da yaptıkları bir çalışmada *Aeromonas veronii*'den elde edilen ve antijenik özelliğe sahip bir lektini CTB ile birlikte oral yoldan kullanmış ve yapılan deneysel enfeksiyon çalışması sonucunda antijenin CTB ile birlikte kullanılmasının mortaliteyi %70 oranında düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Irie vd. (2003) sazan balıklarında (*Cyprinus carpio*) yaptıkları bir çalışmada oral CTB ve BSA'yı (Bovine Serum Albumin) birlikte vermişler ve BSA'nın tek başına verilmesi durumunda antikor titresinin değişmediğini ancak BSA+CTB verilmesi durumunda en yüksek antikor titresine ulaşıldığını kaydetmişlerdir.

Muramil peptidler

Muramil dipeptid (MDP) biyolojik olarak aktif bir mikobakteriyel peptidoglukan türevidir (N-acetyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutamine) ve *Mycobacterium*'dan elde edilmiştir (Secombes, 1994). Muramil dipeptidlerin balıklarda hastalık direncini arttırdığı bununla birlikte ön böbrekten izole edilen lökositlerin fagositik ve kemotaktik aktivitelerini arttırdığı belirlenmiştir (Kodama vd., 1993). Ackerman vd. (2000) gökkuşuğu alabalıklarında yaptıkları çalışmada balıklara *Aeromonas salmonicida* bakterini ile birlikte muramildipeptid (MDP) enjekte etmiş ve 5 hafta boyunca balıkları izlemişlerdir. Çalışma sonunda bakterin ve MDP enjekte edilen balıklarda spesifik büyüme oranı ve toplam lökosit sayısının kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Hirota vd. (1993) yaptıkları bir araştırmada gökkuşuğu alabalıklarına (*Oncorhynchus mykiss*) intraperitoneal muramildipeptid enjekte ettikten 2 gün sonra ve balıklarda doza bağlı olarak ön böbrek fagositlerinde kemotaktik cevabın ve fagositik aktivitenin arttığını tespit etmişlerdir.

Lipopolisakkaritler

Salmonella typhimurium veya *Escherichia coli* gibi gram negatif bakterilerin hücre duvarının bir bileşeni olan lipopolisakkaritler (LPS), O-antijenleri ve endotoksin içeren karışımlar halinde kullanılmaktadır (Secombes, 1994). Uygun dozlarda uygulanması durumunda LPS'nin hem

in vivo hem de in vitro olarak immunostimulatif özelliklerinin olduğu gösterilmiştir. Yüksek organizasyonlu hayvanlar lipopolisakkaritlere karşı son derece duyarlı olmalarına karşın, balıklar gibi nispeten düşük organizasyonlu canlılar nispeten dirençlidir. Balıklarda LPS'nin immün sistemi uyardığı ve sitokinler, akut faz proteinleri gibi immün sistem bileşenlerinin ekspresyonunu sağladığı bilinmektedir (Swain vd., 2008). Örneğin; Selvaraj vd. (2006) sazan balıklarında (*C. carpio*) yaptıkları bir çalışmada β -glukanın, LPS ile birlikte uygulanması durumunda daha koruyucu hale geldiğini ve *Aeromonas hydrophila* ile yapılan deneysel enfeksiyon çalışmalarında %100 başarı elde ettiklerini bildirmişlerdir. Nayak vd. (2008) *E. coli*'den elde edilen LPS'nin *Labeo rohita*'da etkilerini incelemiş ve 1 EU dozun immün sistem üzerinde uyarıcı, 10 EU dozun ise baskılayıcı etkileri olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca bazı çalışmalarda LPS'nin yemlerin kaplanması suretiyle de kullanılabilmesi gösterilmiştir (Guttvik vd., 2002). Diğer taraftan ultra saf LPS preparasyonlarının balıklarda hiçbir etkisinin olmadığı ancak ticari LPS preparasyonlarında bulunan lipoprotein veya peptidoglukanın immunostimulatif etkisi olduğu bildirilmiştir (Iliev vd., 2005).

BCG (*Bacille calmette guerin*)

BCG, *Mycobacterium bovis*'ten elde edilen bir hücre duvarı preparasyonudur. BCG'nin sitokin sentezini ve fagositik faaliyetleri arttırdığı bilinmektedir (Galeotti, 1998). Grayson vd. (1987) enterik kızıl ağız (Enteric Redmouth disease; ERM) hastalığına karşı alabalıklarda BCG'yi ERM aşısında adjuvan olarak kullanmış ve koruyuculuğun arttığını saptamıştır. Kato vd. (2010) *Paralichthys olivaceus*'ta yaptıkları bir çalışmada balıklarda BCG'nin, balıklarda mycobacteriozise neden olan *Mycobacterium* sp.'ye karşı koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonunda BCG enjekte edilen balıklarda IL-6 (İnterlökin) ve TNF α (Tumor Necrosis Factor) gibi sitokinlerin miktarının arttığını, aynı zamanda non-spesifik bakterisidal proteinlerin (lizozim gibi) miktarının arttığını, dolayısıyla bu hastalığa karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermişlerdir. Yine Kato vd., (2011) *Mycobacterium* sp. ile enfekte *Seriola dumerili*'de yaptıkları bir çalışmada BCG'nin intraperitoneal ve intramuskuler enjeksiyonun koruyucu etkilerini araştırmışlar ve en yüksek koruyucu etkinin intraperitoneal enjeksiyonla sağlandığını tespit etmişlerdir.

Glukan

Çeşitli mantar ve mayalardan elde edilen glukanlar özellikle de β -glukanlar (Roberts vd., 1994) balık sağlığı yönetiminde en sık kullanılan immunostimulanlardır. Piyasada çeşitli oranlarda glukan içeren pek çok ticari ürün bulunmaktadır. Örneğin *Saccharomyces cerevisiae*'den elde edilen glukan içeren preparasyon piyasada Macrogard adıyla satılmaktadır. Benzer şekilde *Lentinus edodes*'den elde edilen Lentinan, *Schizophyllum commune*'den elde edilen Schizophyllan, *Sclerotium glukanicum*'dan elde edilen ise Scleroglucan adıyla bilinen ticari glukan preparasyonları balıklarda immunostimulan olarak kullanılmaktadır. Bunlardan en fazla kullanılan ve deneysel çalışmaya konu olan ise *S. cerevisiae*'den elde edilen maya glukamıdır (Peddie ve Secombes, 2005). Pek çok çalışmada maya glukamı ile beslenen balıklarda bakteriyel (Raa, 1996), protozoonal (Peddie ve Secombes, 2005) ve viral (La Patra vd., 1998) hastalıklara karşı direnç artışı gözlenmiştir. Yapılan in vitro çalışmalarda da fagositik faaliyetlerin ve serum bakterisidal aktivitesinin arttığı saptanmıştır (Ortuno vd., 2002). Lentinan ile yapılan çalışmalarda ise lentinan enjekte edilen (2-10 mg/kg vücut ağırlığı) sazan balıklarında (*C. carpio*) deneysel *Edwardsiella tarda* enfeksiyonuna karşı direncin ve lentinan enjekte edilen sazan balıklarında fagositik aktivitenin arttığı gösterilmiştir (Yano vd., 1991). Matsuyama vd. (1992) schizophyllan enjekte ettiği sarı kuyruk balıklarında (*Seriola quinqueradiata*) kompleman sisteminin aktive olduğunu ve serum lizozim seviyesinin arttığını göstermiştir. Schizophyllan piyasada hazır preparasyon olarak VitaStim ticari adıyla satılmaktadır. *S. glukanum*'dan elde edilen scleroglucanın ise sazan (*C. carpio*) (Yano vd., 1991), ot sazani (*Ctenopharyngodon idella*) ve tilapyada (*Tilapia* sp.) (Wang ve Wang, 1997) hastalık direncini arttırdığı gözlenmiştir. Wang ve Wang (1997) ayrıca scleroglucanın ot sazani ve tilapyada, nötrofil sayısını arttırdığını ve NBT-pozitif hücre sayısında artışa yol açtığını saptamışlardır. Kumari ve Sahoo (2006), *Clarias batrachus*'a besin yolu ile β -glukan verilmesi durumunda respiratory burst aktivitesinin ve fagositik indeksin arttığını tespit etmişlerdir. Ancak bazı çalışmalarda glukanın 0,1-1,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'si makrofajlarda respiratory burst etkisini arttırırken, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik dozun etkisiz olduğu hatta 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik dozun inhibitor etkisinin olduğu belirlenmiştir (Smith vd., 2003).

Sentetik kimyasallar

Levamisole

Levamisole aslında ruminantlarda parazitik enfeksiyonların tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilmiş bir anti-helmintik ilaçtır (Raa, 1996). Ancak memelilerde yapılan çalışmalarda immunostimulatif etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bunun üzerine balıklarda da denemeye başlanmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Kumari ve Sahoo (2006) besin yolu ile alınan levamisole'un *Clarias batrachus* üzerindeki etkilerini incelemiş ve balıklarda NBT (Nitro-Blue Tetrazolium) aktivitesinin ve fagositik kapasitenin arttığını gözlemlemişlerdir. Perera ve Pathiratne (2008) *Catla catla*'da yürüttükleri bir çalışmada balıkları 2 saat süreyle 1.25 ve 2.50 mg/L 'lik levamisol banyosuna maruz bırakmış ve 56 gün boyunca balıklarda bazı immün parametreleri incelemişlerdir. Çalışma sonunda lökosit, toplam lökosit sayısı, fagositik aktivite ve serbest oksijen radikali üretiminde artış olduğu ve gözlenen bu etkinin dozdan bağımsız olduğunu bildirmişlerdir. Diğer taraftan *A. hydrophila* ile yapılan deneysel enfeksiyon çalışmasında da olumlu sonuçlar elde edilmiş ve gözlenen bu koruyucu etkilerin tüm çalışma periyodu boyunca kaydedildiğini bildirmişlerdir. Şeker vd. (2011) gökkuşağı alabalıklarında yaptıkları bir çalışmada dalak ve ön böbrekten izole edilen hücrelerde levamisolün etkilerini araştırmışlardır. 10 gün boyunca 10, 50 ve 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik levamisolle inkübe edilen hücrelerde NBT (nitroblue tetrazolium) pozitif hücre sayısının ve fagositik aktivitenin 10 ve 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik dozlarda arttığını, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik dozda ise herhangi bir farklılık olmadığını bulmuşlardır. Li vd. (2011) *Squaliobarbus curriculus* adlı balık türü üzerinde levamisolün etkilerini araştırdıkları in vitro bir çalışmada ön böbrek ve dalaktan izole edilen makrofajları çeşitli doz ve sürelerde levamisol ile inkübe etmiş ve en yüksek respiratory burst aktivitesinin 10^{-3} ng/mL 'lik dozda gözlendiğini, 10^3 ng/mL 'lik dozda ise herhangi bir değişim olmadığını tespit etmişlerdir. Ancak bununla birlikte son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda dozun balık türüne göre ayarlanmaması durumunda beklenen aksine immunosupresif etkisinin olduğu gösterilmiştir ve araştırmacıların bir kısmı bunun artık immunostimulan olarak kullanılmasını önermektedir (Mulero vd., 1998).

FK-565

FK-565, laktol tetrapeptid (FK-156) çok yakından ilişkili bir peptiddir (Raa, 1996). FK-156, *Streptomyces olivaceogriseus*'dan ekstrakte edilmiştir ve deneysel çalışmalarda sıçanlarda mikrobiyal enfeksiyonların önlenmesinde koruyucu rolü olduğu saptanmıştır (Mine vd., 1983) ve daha sonra balıklarda da intraperitoneal enjeksiyon olarak kullanılmıştır ve fagositleri stimule ettiği gösterilmiştir (Galeotti, 1998). Kitao ve Yoshida (1986) gökkuşığı alabalıklarında (*O. mykiss*) yaptıkları çalışmada FK-565'in (1 mg/kg vücut ağırlığı) serum bakterisidal aktivitesini arttırdığını ve ön böbrek lökositlerinde fagositik aktiviteyi arttırdığını saptamışlardır. Ayrıca FK-565'in *Yersinia ruckeri* ve *A. salmonicida* aşılarda birlikte verilmesinin daha olumlu sonuçlar verdiği, dolayısıyla iyi bir adjuvan olduğu da gösterilmiştir (Kitao vd., 1987).

Bitkisel maddeler**Quil-A**

Quil-A *Quillaja saponaria* adı verilen bitkiden elde edilen bir saponindir. Saponinler birçok bitkide bulunan ve steroid ya da triterpen glikozit bileşikleridir. Balıklarda solunum epitelini zedeledikleri için aşırı toksik etkiye sahiptirler. Grayson vd. (1987) Quil-A saponinini *Y. ruckeri* aşısı ile birlikte adjuvan olarak kullanmış ve gökkuşığı alabalıklarında (*O. mykiss*) in vitro koşullarda bakterisidal aktivitenin arttığını saptamıştır. Niromiya vd. (1995) *S. quinqueradiata*'da yaptıkları çalışmada Quil-A'nın lökositlerin migrasyonu üzerinde olumlu etkileri olduğunu ve bu saponinin oral yoldan kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Ashida vd. (1999) kalkan balıklarında (*Paralichthyes olivaceus*) formalinle öldürülmüş *Edwardsiella tarda* ile birlikte Quil-A'yı adjuvan olarak kullanmış ve saponin verilen balıklarda deneysel enfeksiyondan sonra mortalitenin daha düşük olduğunu bulmuştur. Mostafa (2000), sazan balıklarında yaptığı bir çalışmada Quil-A'nın balıklarda non-spesifik savunma mekanizmasını uyardığını ve *A. hydrophila*'ya karşı koruyucu etkisi olduğunu bildirmiştir.

Glisirizin

Glycyrrhiza glabra adlı bitkiden elde edilen ve glisiritinik asit içeren bir saponindir. Glisiritinik asidin ise anti-enflamatuvar ve anti-tümoral etkisi olduğu bilinmektedir. Edahiro vd. (1991) *Seriola quinqueradiata*' da yaptıkları bir çalış-

mada oral yoldan verilen glisirizinin balıklarda lizozim ve makrofajların aktivitesinde belirgin bir artışa yol açmadığını ancak bununla birlikte *Edwardsiella seriola*'ya karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermişlerdir. Jang vd. (1995) yaptıkları in vitro çalışmada gökkuşığı alabalıklarında (*O. mykiss*) makrofajların fagositik aktivitesinin arttığını saptamışlardır. Yuan vd. (2007) *G. glabra*, *Astragalus membranaceus*, *Polygonum multiflorum* ve *Isatis tinctoria* içeren bitkisel bir karışımın sazan balıklarında fagositik aktivite ve respiratory burst (hücre solunum patlaması) aktivitesini arttırdığını tespit etmişlerdir.

Bitkisel ekstraktlar

Logambal vd. (2000), *Ocinum sanctum*'dan elde ettiği bir ekstraktı tilapya balıklarına enjekte etmiş ve nötrofil aktivitesinin arttığını bulmuştur. Ayrıca aynı ekstraktın *A. hydrophila*'ya karşı koruyucu etkisinin de olduğu bulunmuştur. Ponpornpisit vd. (2001) çeşitli bitkilerden oluşan bir karışımı (C-UPIII) *Poecilia reticulata* üzerinde denemiş ve *Tetrahymena pyriformis* ile deneysel enfeksiyona maruz bırakmışlar ve deneme sonucunda balıklarda hastalığa karşı direncin arttığını belirlemişlerdir. Peddie ve Secombes (2003) ise Cheimmun adı verilen bir bitkisel karışımı (*Echinacea angustifolia*, *Eupatorium perfoliatum*, *Baptisia tinctoria*) intraperitoneal olarak alabalıklara enjekte etmiş ve fagositozun arttığını saptamışlardır. Dügenci vd. (2003) gökkuşığı alabalıklarında (*O. mykiss*) 3 farklı bitkisel ekstraktın (*Zingiber officinale*, *Urtica dioica* ve *Viscum album*) besin yolu ile balıklara verilmesinin immün sistem üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve en yüksek respiratory burst ve bakterisidal aktivitenin %1 *Z. officinale* verilen balıklarda gözlemlendiğini kaydetmişlerdir. Sivaram vd. (2004) *Epinephelus tauvina* adlı balık türünde yüksek mortaliteye neden olan *Vibrio harveyi* enfeksiyonuna karşı bazı bitkisel ekstraktların besin yoluyla kullanımını araştırmışlar ve *Ocinum sanctum* ve *Withania somnifera*'nın hem büyüme hem de immün sistem üzerinde olumlu etkileri olduğunu ve mortalite oranlarını düşürdüğünü ancak *Myristica fragrans*'ın immün sistemi baskıladığını kaydetmişlerdir.

Algal Ekstraktlar

Laminaria spp. gibi kahverengi alglerden elde edilen çeşitli ekstraktlar balıklarda immunostimulant olarak kullanılmışlardır. Özellikle *L. hyperborean*'dan elde edilen ekstraktın Atlantik alabalıklarında makrofaj aktivasyonuna yol açtığı

saptanmıştır (Dalmo ve Seljelid, 1995). Fujiki ve Yano (1997) ise sodyum alginatın sazanlarda (*C. carpio*) ön böbrek fagositlerinin yara bölgesine göçünde bir artışa neden olduğu belirlemiştir. *L. digitata*'dan elde edilen ve piyasada Ergosan adıyla satılmakta olan ekstraktın kullanıldığı bir çalışmada 500µg Ergosan enjeksiyonunun *Channa striata*'da immunostimulatif etkilerinin olduğu saptanmıştır (Miles vd., 2001). Watanuki vd. (2008) sazan balıklarında (*C. carpio*) üç gün süreyle besin yolu *Spirulina platensis* verilmesinin immün sistem üzerine etkilerini araştırdıkları bir çalışmada fagositik aktivitenin, respiratory burst aktivitesinin arttığını ve IL-1 ve TNFα gibi sitokinlerin miktarının yükseldiğini tespit etmişlerdir.

Hayvansal maddeler

Sitokinler

Çeşitli memeli hayvanlardan elde edilen IFN-γ (İnterferon), IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, MCP (Monosit Chemotactic Protein) gibi sitokinler de balıklar üzerinde immunostimulant olarak kullanılmaktadır. Balıklarda immün sistemde rolü olduğu bilinen sitokinler ise IFNα ve β, IL-1, IL-8, TNFα'dır. Bunlardan en önemlisinin TNFα olduğu kabul görmekte ve bu sitokinin balık hastalıklarına karşı immunostimulan olarak kullanılabilceği öngörülmektedir. Yapılan bir çalışmada çipura balıklarına (*Sparus aurata*) oral yoldan, maya (*Pichia pastoris*) ve rekombinant DNA teknolojisi ile elde edilen TNFα verilmiş ve koruyuculuğu araştırılmıştır. Çalışma sonucunda respiratory burst aktivitesinin TNFα verilen grupta arttığı ve TNFα'nın istenmeyen bir yan etkisinin olmadığı saptanmıştır (Streitenberger vd., 2011).

Eikosanoitler

Sentetik lökotrien B₄ ile yapılan bir çalışmada kedi balıklarında (*Syliorhinus canicula*) (Hunt ve Rowley, 1986) ve gökkuşağı alabalığında (Sharp vd., 1992) lökositlerin proliferatif özelliklerinin arttığı saptanmıştır. Eikosanoit biyokimyasal yolunda önemli bir bileşen olan arakidonik asitin ise in vitro olarak trombosit agregasyonunu arttırdığı saptanmıştır. Yine arakidonik asitle yapılan bir çalışmada çipura balıklarının (*S. auratus*) stres sonrası mortalite oranlarının düştüğü saptanmıştır (Koven vd., 2001).

Dimerize Lizozim (KLP-602)

Lizozim doğal olarak monomer halinde bulunmaktadır ancak doğal koşullar altında birçok

madde dimerize veya polimerize halde iken daha etkindir. Bu nedenle dimerize lizozimin daha etkin olabileceği fikri doğmuş ve karasal hayvanlarda immunostimulatif etkilerinin gösterilmiş olması sebebiyle balık sağlığında da kullanılabilmiştir (Siwicki vd., 1998). Ayrıca dimerize lizozimin, lizozimin aksine daha az toksik etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Siwicki vd. (1998) intraperitoneal olarak enjekte edilen dimerize lizozim ya da diğer adıyla KLP-602'nin balıklarda frunculosis'e karşı doza ve enjeksiyon tekrarına bağlı olmak üzere %40-50 dolayında bir koruyuculuk sağladığını tespit etmişlerdir. Morand vd. (1999) yayın balıklarında (*Silurus glanis*) yaptıkları bir in vitro çalışmada 5-50 µg/mL'lik KLP-602'nin respiratory burst ve makrofaj aktivitesinde önemli düzeyde artışa neden olduğunu saptamışlardır. Aynı çalışmada KLP-602'nin ayrıca intraperitoneal enjeksiyonunun hücrel ve humoral immüneyi tetiklediği ve *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı koruyucu etkisi olduğu da gösterilmiştir. Rymuszka vd. (2005) sazan balıklarında (*C. carpio*) yaptıkları bir çalışmada balıklara bir pestisid olan cypermethin'e maruz bıraktıktan sonra dimerize lizozim enjekte ederek immün fonksiyonları incelemiş ve hem in vivo hem de in vitro koşullarda balıklarda lenfosit proliferasyonunun ve fagositlerin metabolik aktivitesinin arttığını bulmuşlardır.

Laktoferrin

Demir bağlayan bir glikoprotein olan laktoferrin tek zincirli bir peptiddir ve molekül başına 2 demir bağlama bölgesi bulunmaktadır. Bovine laktoferrini ile yapılan bir çalışmada gökkuşağı alabalıklarının ön böbrek lökositlerinde kemoluminesans ve fagositik aktivitede artış olduğu saptanmıştır (Sakai vd., 1993). Lygren vd. (1999) Atlantik alabalıklarında bovine laktoferrinin deneysel *A. salmonicida* enfeksiyonuna karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca laktoferrinin *Vibrio anguillarum* ve *Streptococcus* sp.'ye karşı da koruyucu etkisi olduğu yapılan deneysel enfeksiyon çalışmalarında gösterilmiştir (Esteban vd., 2005). *Clarias batrachus* üzerinde yapılan bir çalışmada yem yolu ile alınan laktoferrinin balıklarda fagositik aktiviteyi ve myeloperoksidaz aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir (Kumari ve Sahoo, 2006).

Hormonlar

Hormonların balıklar üzerinde immunostimulan olarak kullanımını konu alan çalışmalar genellikle deneysel çalışmalardır. Watanuki vd.

(2000) 10 ng/ml beta-endorfin içeren bir karışımında inkübe ettikleri gökkuşağı alabalığı makro-fajlarında fagositik aktivitenin arttığını bulmuşlardır. Ayrıca başka bir çalışmada sazan balıklarından (*C. carpio*) izole edilen fagositlerde süperoksit anyon miktarının arttığı bulunmuştur (Watanuki vd., 2000). Sakai vd. (1997) yaptıkları bir çalışmada gökkuşağı alabalıklarına (*O. mykiss*) büyüme hormonu enjekte etmişler ve enjeksiyondan 5 gün sonra *Vibrio anguillarum* ile deneysel olarak enfekte edilen balıklarda mortalite oranının kontrol grubuna oranla düştüğünü kaydetmişlerdir. Keleş vd. (2002), sentetik bir östrojen olan 2-20 ppm zeranolün gökkuşağı alabalıklarında doza bağlı olarak fagositik ve bakterisidal aktivitenin artmasını sağladığını bulmuşlardır.

Mikronutrientler

Balıklar üzerinde immunostimulatif etkileri en detaylı araştırılan mikronutrientler Vitamin C ve E olmuştur. Vitaminler kültür balıkçılığında kullanılan en pahalı ek besinlerdir. Vitamin C (Vit C) ve Vitamin E (Vit E) hücrel makromolekülleri normal metabolizma sırasında veya enfeksiyon, stres ve kirliliğe maruz kalma sırasında oluşan serbest oksijen radikallerinin kontrolsüz oksidasyonundan korur. Vit C'nin immunostimulan olarak etki gösterebilmesi yemdeki oranının çok yüksek düzeylere çıkarılmasına bağlıdır. Vit E'nin de benzer şekilde yüksek dozda olması gereklidir. Ancak Vit E yağda eriyen bir vitamin olduğu için immunostimulatif doz ile toksik doz birbirine çok yakındır. Bu nedenle Vit E uygulamasında doz ayarlamasına aşırı dikkat etmek gerekir

Pek çok teleost, L-gulonolactone oksidaz enzimi olmadığı için askorbik asit sentezleyemez. Bu nedenle balık yemlerinde eksojen Vit C ihtiyacı vardır. Vit C, suda çözünebilir bir redoks ajanı olarak iş görür ve Vit C yetersizliğinin spinal deformasyon, kollajen sentezinin engellenmesi, büyümenin gerilemesi ve iç kanamaya yol açtığı bildirilmektedir (Merchie vd., 1997). Ayrıca Vit C ile balığın immunitesi arasında bir korelasyon olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir (Paul vd., 2004). *Cirrihinus mrigala*'da 3 günlük larvalar 4 ay süreyle Vit C içeren besinle beslenmiş ve bu çalışmada balıklara *A. hydrophila*'nın virulent bir suşu intramuskuler olarak enjekte edilmiş ve Vit C verilmeyen grupta mortalite oranının daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca Vit C verilen grupta enjeksiyondan 3 gün sonra iyileşme belirtileri saptanmış ancak bu cevap Vit

C verilmeyen grupta 9 gün sonra gözlenebilmiştir (Sobhana vd., 2002).

Vit E pek çok değişik formda bulunabilir; alfa-tocopherol en yüksek aktiviteye sahip formudur. Vit E yağda çözünebilir bir antioksidant olarak fonksiyon gösterir. Balıkların ihtiyaç duydukları Vit E miktarını temel olarak belirleyen, balıkların besin yolu ile aldıkları lipit miktarı özellikle de PUFA (polyunsaturated fatty acid) olarak adlandırılan doymamış yağ asidi miktarıdır. PUFA okside edilebilir bir molekül olduğu için oluşan ürünler hücreler üzerinde toksik etki gösterir. Ancak sucul canlılar için özellikle de sıcaklığın karasal ortama oranla daha düşük olduğu göz önüne alınırsa bu doymamış yağ asitleri oldukça önemlidir. Bu doymamış yağ asitleri hücre membran akışkanlığını sağlar. Vit E burada devreye girmektedir; fosfolipidlerdeki uzun zincirli doymamış yağ asitlerini oksidatif hasara karşı koruyarak hücre membranının korunmasına katkı ve oksidasyon sonucu oluşan toksik bileşikler ortadan kaldırır (Puangkaew vd., 2004). Vit E ayrıca eritrosit ömrünü uzatır ve Vit E yetersizliğinde anemi görülebilir. Ayrıca bol miktarda verildiğinde immün sistemi uyarıcı özelliğe sahiptir; lizozim aktivitesini arttırmaktadır, makrofajların fagositik yeteneğini artırır ve alternatif kompleman sistemin etkinliğini artırır. Bunların yanında et kalitesini arttırdığı bildirilmektedir (Paul vd., 2004).

Bazı çalışmalarda bu iki vitaminin birlikte ve uygun dozlarda verilmesinin daha iyi sonuçlar verdiği savunulmaktadır. Örneğin, strese maruz bırakılan ve Vit E+Vit C ile beslenen balıklarda kandaki glukoz seviyesinin kontrol grubuna göre %33 oranında daha düşük olduğu saptanmıştır (Ortuno vd., 2003). Vit E'nin özellikle lipidler ve Vit C ile olan etkileşimlerinden dolayı Vit E'nin fonksiyonları hakkında yorum yapmak zordur. Vit E'nin aktif formu olan alfa-tocopherol anti-oksidant olarak iş gördüğünde radikal form olan tokoferoksile dönüşür. Vit C ise radikal formun tekrar aktif forma dönüşümünü sağlar.

Sonuç

- İmmunostimulan seçiminde immunostimulanın koruyucu etkilerinin uzun sürmesi istenmektedir. Besin yolu ile veya enjeksiyon yöntemi ile uygulanan bir immunostimulanın tesiste sık aralıklarla tekrarlanması hem maliyeti artırır hem de pratikte bazı zorlukları beraberinde getirir. Dolayısıyla uygulama bit-

tikten sonra da bir süre daha bu etkilerin gözlenmesi gerekir.

- Seçilen immunostimulanın pahalı olmaması ve kolay ulaşılabilir olması gerekir. Örneğin; sitokinler olumlu sonuçlar vermesine rağmen pratikte uygulanabilir görünmemektedir.
- İmmunostimulanın besin yolu ile de verilebilmesi ve yine etkin bir koruma sağlaması gerekir. Genel olarak en iyi sonuçların enjeksiyonla alındığı bildirilmesine rağmen bu pratikte çok kullanışlı değildir ve 15g altındaki balıklara uygulamak zordur. Oral yoldan uygulamanın veya immersiyon yönteminin de tatmin edici sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Oral yoldan uygulama, balıklarda enjeksiyona oranla daha az stres yaratır.
- Stimulasyonun düzeyi kontrol edilmelidir. Stimulasyonun çok yoğun olması balığa zarar verebilir ve hatta öldürebilir. Buna en iyi örnek insanlarda LPS verilmesi ile birlikte gelişen septik şok ve ölümdür (Morrison vd., 1994).
- Uygulanacak dozun seçimi çok dikkatli bir şekilde yapılmalıdır. Zira düşük dozlarda istenen etki gözlenmeyebilir, yüksek dozlar ise beklenenin aksine immunosupresyona yol açabilir.
- İmmunostimulanlar su ürünleri yetiştiriciliği açısından oldukça umut vericidir ancak bu konuda daha fazla çalışma yapılmalı ve kültürü yapılan balık türleri için optimum immunostimulasyonu sağlayan immunostimulanlar araştırılmalıdır.

Kaynaklar

- Ackerman, P.A., Iwama, G.K., Julian, C., (2000). Physiological and Immunological Effects of Adjuvanted *Aeromonas salmonicida* Vaccines on Juvenile Rainbow Trout, *Journal of Aquatic Animal Health*, **12**: 157-164.
doi: [10.1577/1548-8667\(2000\)06012<0157:PAIEOA>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8667(2000)06012<0157:PAIEOA>2.0.CO;2)
- Anderson, D.P., (1992). Immunostimulants, adjuvants and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture, *Annual Reviews in Fish Diseases*, **2**: 281-307.
doi: [10.1016/0959-8030\(92\)90067-8](https://doi.org/10.1016/0959-8030(92)90067-8)
- Anderson, D.P., (1997). Environmental factors in fish health: Immunological aspects, *Fish Physiology*, **15**: 289-310.

doi: [10.1016/S1546-5098\(08\)60277-0](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)60277-0)

- Ashida, T., Okimasu, E., Ui, M., Heguri, M., Oyama, Y., Amemura, A., (1999). Protection of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* against experimental edwardsiellosis by formalin-killed *Edwardsiella tarda* in combination with oral administration of immunostimulants, *Fisheries Science*, **65**: 527-530.
doi: [10.2331/fishsci.65.527](https://doi.org/10.2331/fishsci.65.527)
- Bly, J.E., Quiniou, S.M., Clem, L.W., (1997). Environmental effects on fish immune mechanisms, *Developments in Biological Standardization*, **90**: 33-43.
- Bowser, P.R., Buttner, J.K., (1993). General fish health management. NRAC Bulletin No: 111. 12 pp.
- Brennek, D.R., Plouffe, D.A., Wiegertjes, G.F., Belosevic, M., (2002). Immunization of goldfish with excretory/secretory molecules of *Trypanosoma danilewskyi* confers protection against infection, *Developmental and Comparative Immunology*, **26**: 649-657.
doi: [10.1016/S0145-305X\(02\)00018-6](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(02)00018-6)
- Bricknell, I., Dalmo, R.A., (2005). The use of immunostimulants in fish larval aquaculture, *Fish and Shellfish Immunology*, **19**: 457-472.
doi: [10.1016/j.fsi.2005.03.008](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.03.008)
- Burkert, M.A., Clark, T.G., Dickerson, H.W., (1990). Immunozation of channel catfish *Ictalurus punctatus* against *I. Multifiliis*, *Journal of Fish Diseases*, **13**: 401-410.
doi: [10.1111/j.1365-2761.1990.tb00799.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1990.tb00799.x)
- Chettri, J.K., Leibowitz, M.P., Ofir, R., Zilberg, D., (2009). Protective immunization against *Tetrahymena* sp. infection in guppies, *Fish and Shellfish Immunology*, **27**: 302-308.
doi: [10.1016/j.fsi.2009.05.013](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.05.013)
- Dalmo, R.A., Seljelid, R., (1995). The immunomodulatory effect of LPS, laminaran and sulphated laminaran (Beta(1,3)-D-Glucan) on Atlantic salmon, *Salmo salar* L, macrophages in vitro, *Journal of Fish Diseases*, **18**: 175-185.
doi: [10.1111/j.1365-2761.1995.tb00275.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1995.tb00275.x)
- Dügenci, S.K., Arda, N., Candan, A., (2003). Some medicinal plants as immunostimulants for fish, *Journal of Ethnopharmacology*, **88**: 99-106.

- Edahiro, T., Hamoguchi, M., Kusuda, R. 1991. Suppressive effect of glycyrrhizin against streptococcal infection promoted by feeding oxidized lipids to yellow tail, *Suisanzos-hoku*, **39**: 21-27.
- Ellis, A.E., (1989). Fish Vaccination, *Aquaculture Information Series*, No:4. 8 pp.
- Esteban, M.A., Rodriguez, A., Cuesta, A., Meseguer, J., (2005). Effects of lactoferrin on non-specific immune responses of gilthead seabream, *Fish and Shellfish Immunology*, **18**: 109-124.
doi: [10.1016/j.fsi.2004.06.003](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.06.003)
- Francis-Floyd, R., (1990a). Introduction to fish health management. CIR921. University of Florida. IFAS Series.
- Francis-Floyd, R., (1990b). Stress: Its role in fish disease. CIR919. University of Florida. IFAS Series.
- Fujiki, K., Yano, T., (1997). Effects of sodium alginate on the non-specific defence system of the common carp (*Cyprinus carpio* L.), *Fish and Shellfish Immunology*, **7**: 417-427.
doi: [10.1006/fsim.1997.0095](https://doi.org/10.1006/fsim.1997.0095)
- Galeotti, M., (1998). Some aspects of the application of immunostimulants and a critical review of methods for their evaluation, *Journal of Applied Ichthyology*, **14**: 189-199.
doi: [10.1111/j.1439-0426.1998.tb00641.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.1998.tb00641.x)
- Grayson, T.H., Williams, R.J., Wrathmell, A.B., Munn, C.B., Harris, J.E., (1987). Effects of immunopotentiating agents on the immune responses of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, to ERM vaccine, *Journal of Fish Biology*, **31**: 195-202.
doi: [10.1111/j.1095-8649.1987.tb05313.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1987.tb05313.x)
- Guttvik, A., Paulsen, B., Dalmo, R.A., Espelid, S., Lund, V., Bøggwald, J., (2002). Oral administration of lipopolysaccharide to salmon fry. Uptake, distribution, influence on growth and immune stimulation, *Aquaculture*, **214**: 35-53.
doi: [10.1016/S0044-8486\(02\)00358-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00358-7)
- Harris, J., Bird, D.J., (1998). Alpha-melanocyte stimulating hormone (alpha-MSH) and melanin-concentrating hormone (MCH) stimulate phagocytosis by head kidney leucocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in vitro, *Fish and Shellfish Immunology*, **8**: 631-638.
doi: [10.1006/fsim.1998.0172](https://doi.org/10.1006/fsim.1998.0172)
- Hebert, P., Ainsworth, A.J., Boyd, B., (2000). Cholera toxin has adjuvant properties in catfish when injected intraperitoneally, *Fish and Shellfish Immunology*, **10**: 469-474.
doi: [10.1006/fsim.2000.0267](https://doi.org/10.1006/fsim.2000.0267)
- Hirota, Y., Mukamoto, M., Baba, T., Kodama, H., Azuma, I., (1993). Effect of muramyl dipeptide on phagocyte functions in rainbow trout, *Bulletin of University of Osaka Series B*, **45**: 67-74.
- Högfors, E., Pullinen, K.R., Madetoja, J., Wiklund, T., (2008). Immunization of rainbow trout with a low molecular mass fraction isolated from *Flavobacterium psychrophilum*, *Journal of Fish Diseases*, **31**: 899-911.
doi: [10.1111/j.1365-2761.2008.00956.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2008.00956.x)
- Hunt, T.C., Rowley, A.F., (1986). Leukotriene B4 induces enhanced migration of fish leucocytes in vitro, *Immunology*, **59**: 563-568.
- Iliev, D.B., Roach, J.C., Mackenzie, S., Planas, J.V., Goetz, F.W., (2005). Endotoxin recognition: In fish or not in fish?, *FEBS Letters*, **579**: 6519-6528.
- Irie, T., Watarai, S., Kodama, H., (2003). Humoral immune response of carp induced by oral immunization with liposome-entrapped antigen, *Developmental and Comparative Immunology*, **27**: 413-421.
doi: [10.1016/S0145-305X\(02\)00137-4](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(02)00137-4)
- Jang, S.I., Hardie, L.J., Secombes, C.J., (1995). Elevation of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* macrophage respiratory burst activity with macrophage derived supernatants, *Journal of Leukocyte Biology*, **57**: 943-947.
- Jiao, X., Cheng, S., Hu, Y., Sun, L., (2010). Comparative study of effects of aluminum adjuvants and Freund's incomplete adjuvant on the immune response to an *Edwardsiella tarda* major antigen. *Vaccine*, **28**: 1832-1837.
doi: [10.1016/j.vaccine.2009.11.083](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.11.083)
- Kato, G., Kondo, H., Aoki, T., Hiruno, I., (2010). BCG vaccine confers adaptive immunity against *Mycobacterium* sp. infection in fish, *Developmental and Comparative Immunology*, **34**: 133-140.
doi: [10.1016/j.dci.2009.08.013](https://doi.org/10.1016/j.dci.2009.08.013)

- Kato, G., Kondo, H., Aoki, T. and Hirono, I., (2011). Studies on the development of a vaccine against *Mycobacterium* sp., pp. 317-328. In Bondad-Reantaso, M.G., Jones, J.B., Corsin, F. and Aoki, T. (eds.). Diseases in Asian Aquaculture VII. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Selangor, Malaysia. 385 pp.
- Keleş, O., Candan, A., Bakırel, T., Karataş, S., (2002). The investigation of the anabolic efficiency and effect of the nonspecific immune system of zeranol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **26**: 925-931.
- Kitao, T., Yoshida, T., Anderson, D.P., Dixon, O.W., Blanch, A., (1987). Immunostimulation of antibody-producing cells and humoral antibody to fish bacterins by a biological response modifier, *Journal of Fish Biology*, **31**: 87-91.
doi: [10.1111/j.1095-8649.1987.tb05298.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1987.tb05298.x)
- Kitao, T., Yoshida, Y., (1986). Effect of an immunopotentiator on *Aeromonas salmonicida* infection and in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **12**: 287-296.
doi: [10.1016/0165-2427\(86\)90132-7](https://doi.org/10.1016/0165-2427(86)90132-7)
- Kodama, H., Hirota, Y., Mukamoto, N., Baba, T., Azuma, I., (1993). Activation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) phagocytes by muramyl dipeptide, *Developmental and Comparative Immunology*, **17**: 129-140.
doi: [10.1016/0145-305X\(93\)90023-J](https://doi.org/10.1016/0145-305X(93)90023-J)
- Koven, W., Barr, Y., Lutzky, S., Ben-Atia, I., Weiss, R., Harel, M., Behrens, P., Tandler, A., (2001). The effect of dietary arachidonic acid on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae, *Aquaculture*, **193**: 107-122.
doi: [10.1016/S0044-8486\(00\)00479-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00479-8)
- Kumari, J., Sahoo, P.K., (2006). Non-specific immune response of healthy and immunocompromised Asian catfish (*Clarias batrachus*) to several immunostimulants, *Aquaculture*, **255**: 133-141.
doi: [10.1016/j.aquaculture.2005.12.012](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.12.012)
- La Patra, S.E., Lauda, K.A., Jones, G.R., Shewmaker, W.S., Bayne, C.J., (1998). Resistance to IHN virus infection in rainbow trout is increased by glucan while subsequent production of serum neutralizing activity is decreased, *Fish and Shellfish Immunology*, **8**: 435-446.
doi: [10.1006/fsim.1998.0151](https://doi.org/10.1006/fsim.1998.0151)
- Le Breton, A.D., (2009). Farming and health management: Prevention and policy measure, *Options Méditerranéennes*, **86**: 207-220.
- Li, G.F., Liu, L.B., Tan, Y.L., Lius, L.Z., Deng, H.Z., Wan, H., Zhong, W.Z., Chen, S.J., (2011). In vitro effect of levamisole on the cell viability, phagocytosis and respiratory burst of barbel macrophages, *Aquaculture Nutrition*, **17**: 263-270.
doi: [10.1111/j.1365-2095.2010.00760.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00760.x)
- Logambal, S.M., Venkatalakshmi, S., Michael, R.D., (2000). Immunostimulatory effect of leaf extract of *Ocimum sanctum* L. in *Oreochromis mossambicus* (Peters), *Hydrobiologia*, **430**: 113-120.
doi: [10.1023/A:1004029332114](https://doi.org/10.1023/A:1004029332114)
- Lorenzen, N., (1999). Recombinant vaccines: experimental and applied aspects, *Fish and Shellfish Immunology*, **9**: 361-365.
doi: [10.1006/fsim.1999.0195](https://doi.org/10.1006/fsim.1999.0195)
- Lorenzen, N., La Patra, S.E., (2005). DNA vaccines for aquacultured fish, *Review of Science and Technology- International Office for Epizootics*, **24**: 201-213.
- Lygren, B., Sveier, H., Hjeltnes, B., Waagbø, R., (1999). Examination of the immunomodulatory properties and the effect on disease resistance of dietary bovine lactoferrin and vitamin C fed to Atlantic salmon (*Salmo salar*) for a short-term period, *Fish and Shellfish Immunology*, **9**: 95-107.
doi: [10.1006/fsim.1998.0179](https://doi.org/10.1006/fsim.1998.0179)
- Matsuo, K., Miyazono, I., (1993). The influence of long term administration of peptidoglycan on disease resistance and growth of juvenile rainbow trout, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **59**: 1377-1379.
- Matsuyama, H., Mangindaan, R.E.P., Yano, T., (1992). Protective effect of schizophyllan and scleroglucan against *Streptococcus* sp. infection in yellowtail (*Seriola quinqueradiata*), *Aquaculture*, **101**: 197-203.
doi: [10.1016/0044-8486\(92\)90023-E](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90023-E)
- Merchie, G., Lavens, P., Sorgeloos, P., (1997). Optimization of dietary vitamin C in fish

- and crustacean larvae: a review, *Aquaculture*, **155**: 165-181.
doi: [10.1016/S0044-8486\(97\)00115-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00115-4)
- Merino-Contreras, M.L., Guzman-Murillo, M.A., Ruiz-Bustos, E., Romero, M.J., Cadena-Roa, M.A., Ascenio, F., (2001). Mucosal immune response of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* orally immunised with an extracellular lectin of *Aeromonas veronii*, *Fish and Shellfish Immunology*, **11**: 115-126.
doi: [10.1006/fsim.2000.0299](https://doi.org/10.1006/fsim.2000.0299)
- Miles, D.C., Polchana, J., Lilley, J.H., Kanchanakhan, S., Thompson, K.D., Adams, A., (2001). Immunostimulation of striped snakehead *Channa striata* against epizootic ulcerative syndrome, *Aquaculture*, **195**: 1-15.
doi: [10.1016/S0044-8486\(00\)00529-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00529-9)
- Mine, Y., Yokota, Y., Wakai, Y., Fukada, S., Nishida, M., Goto, S., Kuwahara, S., (1983). Immunoactive peptides, FK-156 and FK-565. I. Enhancement of host resistance to microbial infection in mice, *Journal of Antibiotics*, **36**: 1045-1050.
- Morand, M., Siwicki, A., Pozet, F., Klein, P., Vinaize, J.C., Keck, N., (1999). Effects of dimerized lysozyme (KLP-602) on the cellular and humoral defence mechanisms in *Silurus glanis*: in vitro and in vivo study, *Veterinary Research*, **30**: 411-418.
- Moritana, T., Noda, H., Yamaguchi, I., Watanabe, T., (1992). Enhancement of granulocyteopoiesis by Freund's complete adjuvant in carp, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**: 1145-1149.
- Morrison, D.C., Danner, R.I., Dinarello, C.A., Munford, R.S., Natanson, C., Pollack, M., Spitzer, J.J., Ulevitch, R.J., Vogel, S.N., McSweegan, E., (1994). Bacterial endotoxins and pathogenesis of Gram-negative infections: current status and future direction, *Journal of Endotoxin Research*, **1**: 71-83.
doi: [10.1177/096805199400100201](https://doi.org/10.1177/096805199400100201)
- Mostafa, A., (2010). Effect of Quil-A as an immunostimulant on some non-specific immune response parameters of common carp in experimental infection with *Aeromonas hydrophila*, *Pajouhesh Va Sazandegi*, **13**: 108-110.
- Mulero, V., Esteban, M.A., Meseguer, J., (1998). In vitro levamisole fails to increase seabream phagocyte functions, *Fish Shellfish Immunology*, **8**: 315-318.
doi: [10.1006/fsim.1998.0141](https://doi.org/10.1006/fsim.1998.0141)
- Nayak, S.K., Swain, P., Nanda, P.K., Dash, S., Shukla, S., Meher, P.K., Maiti, N.K., (2008). Effect of endotoxin on the immunity of Indian major carp, *Labeo rohita*, *Fish and Shellfish Immunology*, **24**: 394-399.
doi: [10.1016/j.fsi.2007.09.005](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2007.09.005)
- Niromaya, M., Hata, H., Fujiki, M., Kim, M., Yamamoto, T. E., (1995). Enhancement of chemotactic activity of yellow tail leucocytes by oral administration of *Quillaja saponin*, *Fish and Shellfish Immunology*, **5**: 325-327.
doi: [10.1006/fsim.1995.0031](https://doi.org/10.1006/fsim.1995.0031)
- Ortuno, J., Cuesta, A., Rodriguez, A., Esteban, M.A., Meseguer, J., (2002). Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata*), *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **85**: 41-50.
doi: [10.1016/S0165-2427\(01\)00406-8](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(01)00406-8)
- Ortuno, J., Esteban, M. A., Meseguer, J., (2003). The effect of dietary intake of vitamins C and E on the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L., 1758), *Fish and Shellfish Immunology*, **14**: 145-156.
doi: [10.1006/fsim.2002.0428](https://doi.org/10.1006/fsim.2002.0428)
- Paul, B.N., Sarkar, S., Mohanty, S.N., (2004). Dietary Vitamin E requirement of mrigal, *Cirrhinus mrigala* fry, *Aquaculture*, **242**: 529-536.
doi: [10.1016/j.aquaculture.2004.08.037](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.08.037)
- Peddie, S., Secombes, C.J., (2003). The immunostimulatory effects of Chevimmun in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, **23**: 48-51.
- Peddie, S., Secombes, C.J., (2005). An overview of fish immunostimulant research, *Fish Veterinary Journal*, **8**: 1-31.
- Perera, H.A.C.C., Pathiratne, A., (2008). Enhancement of immune responses in Indian carp following administration of levamisole by immersion. Diseases in Asian Aquacul-

- ture VI. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. 505p.
- Ponpornpisit, A., Endo, M., Murata, H., (2001). Prophylactic effects of chemicals and immunostimulants in experimental *Tetrahy-mena* infections of guppy, *Fish Pathology*, **36**: 1-6. doi: [10.3147/jsfp.36.1](https://doi.org/10.3147/jsfp.36.1)
- Puangkaew, J., Kiron, V., Somamoto, T., Okamoto, N., Satoh, S., Takeuchi, T., Watanabe, T., (2004). Nonspecific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids, *Fish and Shellfish Immunology*, **16**: 25-39. doi: [10.1016/S1050-4648\(03\)00028-7](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(03)00028-7)
- Raa, J., (1996). The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming, *Reviews in Fisheries Science*, **4**: 229-288. doi: [10.1080/10641269609388587](https://doi.org/10.1080/10641269609388587)
- Reid, S.G., Bernier, N.J., Perry, S.F., (1998). The adrenergic stress response in fish: control of catecholamine storage and release, *Comparative Biochemistry and Physiology*, **120**: 1-27. doi: [10.1016/S0742-8413\(98\)00037-1](https://doi.org/10.1016/S0742-8413(98)00037-1)
- Robertsen, B., Engstad, R.E., Jorgensen, J.B., (1994). Beta-glucan as immunostimulants in fish. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C. (Eds.), *Modulators of Fish Immune Responses -Vol. 1*. SOS Publications, Fair Haven, NJ, pp. 83-99.
- Rottmann, R.W., Francis-Floyd, R., Durborow, R., (1992). The role of stress in fish disease. Southern Regional Aquaculture Center Publication No: 474.
- Rymuszka, A., Studnicka, M., Siwicki, A.K., Sieroslawska, A., Bownik, A., (2005). The immunomodulatory effects of the dimer of lysozyme (KLP-602) in carp (*Cyprinus carpio* L)-in vivo study, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **61**: 121-127. doi: [10.1016/j.ecoenv.2004.07.005](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.07.005)
- Sakai, M., (1999). Current research status of fish immunostimulants, *Aquaculture*, **172**: 63-92. doi: [10.1016/S0044-8486\(98\)00436-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00436-0)
- Sakai, M., Otubo, T., Atsuta, S., Kobayashi, M., (1993). Enhancement of resistance to bacterial infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), by oral administration of bovine lactoferrin, *Journal of Fish Diseases*, **16**: 239-247. doi: [10.1111/j.1365-2761.1993.tb01253.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1993.tb01253.x)
- Scholz, T., (1999). Parasites in cultured and feral fish, *Veterinary Parasitology*, **84**: 317-335. doi: [10.1016/S0304-4017\(99\)00039-4](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(99)00039-4)
- Secombes, C.J., 1994. Enhancement of fish phagocyte activity, *Fish and Shellfish Immunology*, **4**: 421-436. doi: [10.1006/fsim.1994.1038](https://doi.org/10.1006/fsim.1994.1038)
- Selvaraj, A., Samapath, K., Sekar, V., (2006). Adjuvant and immunostimulatory effect of beta glucan administration in combination with LPS enhances survival and some immune parameters in carp challenged with *Aeromonas hydrophila*, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **114**: 15-24. doi: [10.1016/j.vetimm.2006.06.011](https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2006.06.011)
- Sharp, G.J.E., Pettitt, T.R., Rowley, A.F., Secombes, C.J., (1992). Lipoxin-induced migration of fish leukocytes, *Journal of Leukocyte Biology*, **51**: 140-145.
- Siwicki, A.K., Klein, P., Morand, M., Kicza, W., Studnicka, M., (1998). Immunostimulatory effects of dimerized lysozyme (KLP-602) on the nonspecific defense mechanisms and protection against furunculosis in salmonids, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **61**: 369-378. doi: [10.1016/S0165-2427\(97\)00140-2](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(97)00140-2)
- Smith, V.J., Brown, J.H., Hauton, C., (2003). Immunostimulation in crustaceans: does it really protect against infection?, *Fish and Shellfish Immunology*, **15**: 71-90. doi: [10.1016/S1050-4648\(02\)00140-7](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(02)00140-7)
- Sobhana, K. S., Mohan, C. V., Shankar, K. M., (2002). Effect of dietary Vitamin C on the disease susceptibility and inflammatory response of mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) to experimental infection of *Aeromonas hydrophila*, *Aquaculture*, **207**: 225-238. doi: [10.1016/S0044-8486\(01\)00793-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00793-1)
- Sommerset, I., Krossoy, B., Biering, E., Frost, P., (2005). Vaccines for fish in aquaculture, *Expert Review of Vaccines*, **4**: 89-101. doi: [10.1586/14760584.4.1.89](https://doi.org/10.1586/14760584.4.1.89)
- Streitenberger, S.A., Mellado, M.P., Mas, J.A.L., Lopez, Y.P., Villegas, J.G., (2011). An orally administrable immunostimulant prod-

- uct for aquaculture. US Patent 2011/0225660 A1. Probelte Pharma, S:A.
- Swain, P., Nayak, S.K., Nanda, P.K., Dash, S., (2008). Biological effects of bacterial lipopolysaccharide (endotoxin) in fish: a review, *Fish and Shellfish Immunology*, **25**: 191-201.
doi: [10.1016/j.fsi.2008.04.009](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.04.009)
- Şeker, E., İspir, Ü., Dörücü, M., (2011). Immunostimulating effect of levamisole on spleen and head-kidney leucocytes of rainbow trout, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **17**: 239-242
- Takemura, A., Takano, T., (1997). Transfer of maternally-derived Ig M to larvae in tilapia, *Oreochromis mossambicus*, *Fish and Shellfish Immunology*, **7**: 355-363.
doi: [10.1006/fsim.1997.0090](https://doi.org/10.1006/fsim.1997.0090)
- Wang, W.S., Wang, D.H., (1997). Enhancement of the resistance of tilapia and grass carp to experimental *Aeromonas hydrophila* and *Edwardsiella tarda* infections by several polysaccharides, *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, **20**: 261-270.
doi: [10.1016/S0147-9571\(96\)00035-5](https://doi.org/10.1016/S0147-9571(96)00035-5)
- Watanuki, H., Gushiken, Y., Takahashi, A., Yasuda, A., Sakai, M., (2000). In vitro modulation of fish phagocytic cells by beta-endorphin, *Fish and Shellfish Immunology*, **10**: 203-212.
doi: [10.1006/fsim.1999.0237](https://doi.org/10.1006/fsim.1999.0237)
- Watanuki, H., Ota, K., Tassakka, A.C., Kato, T., Sakai, M., (2008). Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on carp, *Aquaculture*, **258**: 157-163.
doi: [10.1016/j.aquaculture.2006.05.003](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.05.003)
- Watts, M., Munday, B.L., Burke, C.M., (2001). Immune responses of teleost fish, *Australian Veterinary Journal*, **79**: 570-574.
doi: [10.1111/j.1751-0813.2001.tb10753.x](https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2001.tb10753.x)
- Wedemeyer, G.A., (1996). *Physiology of Fish in Intensive Culture Systems*. Chapman and Hall, London.
- Wendelaar-Bonga, S.E., (1997). The stress response in fish, *Physiological Reviews*, **77**: 591-625.
- Yano, T., Matsuyama, H., Mangindaan, R.E.P., (1991). Polysaccharide induced protection of carp, *Cyprinus carpio* L., against bacterial infection, *Journal of Fish Diseases*, **14**: 577-582.
doi: [10.1111/j.1365-2761.1991.tb00613.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1991.tb00613.x)
- Yavuzcan Yıldız, H., Köksal, G., Borazan, G., Karasu Benli, A.Ç., (2006). Nitrite-induced methemoglobinemia in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Journal of Applied Ichthyology*, **22**: 427-429.
doi: [10.1111/j.1439-0426.2006.00761.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2006.00761.x)
- Yavuzcan, H., Ergönül, M.B., (2010). Is prophylactic formalin exposure a stress source for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*)?, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **57**: 113-118.
doi: [10.1501/vetfak_0000002320](https://doi.org/10.1501/vetfak_0000002320)
- Yavuzcan, H., Meriç, İ., Ergönül, M.B., (2009). Changes of non-specific immune parameters in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* after exposure to antimicrobial agents used in aquaculture, *Journal of Applied Aquaculture*, **21**: 139-150.
doi: [10.1080/10454430903113529](https://doi.org/10.1080/10454430903113529)
- Yıldız-Yavuzcan, H., (2004). An Overview of Vaccine and Immunostimulant Use In Turkish Aquaculture Sector. 6th International Symposium on Fish Immunology, 24-29, May, Turku, Finland.
- Yuan, C., Li, D., Chen, W., Sun, F., Wu, G., Gong, Y., Tang, J., Shen, M., Han, X., (2007). Administration of a herbal immunoregulation mixture enhances some immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*), *Fish Physiology and Biochemistry*, **33**: 93-101.
doi: [10.1007/s10695-006-9120-7](https://doi.org/10.1007/s10695-006-9120-7)