

## Levamisolün Bazı Balık Türlerinde Hastalıklara Karşı Direnç ve Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkileri

*Mehtap BAYIR Telat YANIK*

*Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü, Erzurum  
e-posta: mehtapcengiz@hotmail.com*

*Geliş Tarihi/Received: 15.04.2011*

**Özet:** Ülkemizde ve dünyada balık üretimi yüksek ölüm oranlarından oldukça olumsuz yönde etkilenmektedir. Ayrıca akvakültür sistemindeki ekonomik kayıpların ve ölümlerin çoğunun enfeksiyöz hastalıklardan olduğu düşünülmektedir. Diyetlere ilave edilerek kullanılan bağışıklığı destekleyici maddeler, balıkların taşınması, transferi, aşılması gibi yüksek stres oluşturan durumlarda doğuştan gelen savunma sistemlerini geliştirmek için kullanılır. Bu derlemede, balık diyetlerine katılan levamisolün bazı balık türlerinde hastalıklara karşı direnç ve bağışıklık sistemi üzerinde yaptığı etkilerin araştırılması hedeflenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Levamisol, hastalıklara direnç, bağışıklığa etki, balık.

### **Effect of Levamisole on the Immune Response and Disease Resistance of Some Fish Species**

**Abstract:** The production of fish is often hampered by high mortality rates in our country and in world, and it is believed that most of this economic loss due to infectious diseases is in aquaculture sector. The use of immunostimulants, as dietary supplements, can improve the innate defence of animals providing resistance to pathogens during periods of high stress, such as grading, reproduction, sea transfer and vaccination. In this review, it was aimed to present the effect of levamisole added to fish diets on the immune response and disease resistance of some fish species.

**Key Words:** Levamisole, disease resistance, immune response, fish.

## 1.GİRİŞ

Balıkçılık sektörü dünyanın birçok ülkesinde özellikle son yıllarda çok hızlı gelişen bir endüstri haline gelmiştir. Birçok gelişmiş ülkede balıkların intensif olarak yüksek populasyon yoğunluğunda yetiştiriciliği yapılmaktadır. Bu nedenle enfeksiyöz hastalıklar başarılı bir balık yetiştiriciliği için büyük bir tehlike oluşturmaktadır.

Levamisol, insanlarda ve hayvanlarda nematod enfeksiyonlarını tedavi amacıyla kullanılan bir anti-helmintik ilaçtır. Levamisol, nötrofillerde metabolik ve fagositik aktiviteleri artırır ve yine serumdaki lizozom seviyesi ile lökosit sayısında ve fagositik aktivitede artışa neden olur (Symoens ve Rosenthal, 1977). Levamisolün *Vibrio anguillarum* (Kajita ve ark., 1990), *A. hydrophila* (Baba ve ark., 1993), *Paramoeba sp.* (Findlay ve ark., 2000; Munday ve Zilberg, 2003), *P. fluorescent* (Baruah ve Prasad, 2001), *Edwardsiella tarda* (Sahoo ve Mukherjee, 2002) ve *Photobacterium damsela* (Leano ve ark., 2003) gibi patojenik bakterilere ve *Anguillicola crassus* (Geets ve ark., 1992) gibi nematodlara karşı direnci artırıcı özelliğinin olduğu tespit edilmiştir. Levamisol bakteri virüs ve mantarlar üzerinde direk etkili olmamakla beraber bunlara karşı bağışıklığı artırıcı bir madde olarak bilinmektedir (Renoux, 1980). Levamisol, daldırma veya enjekte etmek gibi kullanımlar yerine diyetle ilave edilerek kullanıldığında daha etkili olan bir ilaçtır ve bilinen bu özelliğinin yanı sıra deniz levreği (Mulero ve ark., 1998) ve sazan (Siwicki ve Korwin-Kossakowski, 1988) gibi bazı balıklarda büyümeyi de artırdığı belirlenmiştir.

Kültür balıkçılığında son 20 yılda bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek amacıyla çeşitli kemoterapötikler kullanılmaktadır. Ancak bakterilerin ilaçlara dirençlerinin yüksek oranda artması, balıkçılıkta büyük bir problem haline gelmiştir (Aoki, 1992). Bağışıklığı destekleyici maddelerin etkili kullanımı için zamanlama, doz, uygulama yöntemi ve balıkların fizyolojik şartları dikkate alınmalıdır (Sakai, 1998).

Son yıllarda farklı kültür balığı türlerinde yemlere levamisol ilavesinin etkileri araştırılmıştır. Bazı araştırmacılar bu maddenin hastalıklara karşı direnç sağladığını bildirirken (Olivier ve ark., 1985; Kajita ve ark., 1990; Baba ve ark., 1993; Cuesta ve ark., 2002; Li ve ark., 2005); bazıları ise sadece hasta balıklarda olumlu yönde etki ettiğini, ancak sağlıklı balıklarda bir etkisinin olmadığını bildirilmişlerdir (Sahoo ve Mukherjee, 2002).

Bu çalışmada, farklı çalışmalar ile levamisolün balıklarda neden olduğu etkiler ve farklılıklar için açıklanma sağlanması hedeflenmiştir.

Olivier ve ark., 1985'in coho salmonları (*Oncorhynchus kisutch*)'nda yaptıkları bir çalışmada levamisol içeren MFCA enjekte edildiğinde *Aeromonas salmonicida*'ya karşı direncin arttığını tespit etmişler ve Siwicki (1987, 1989) ise sazanlara levamisol enjekte edildiğinde nötrofillerinde miyeloperoksidaz aktivitesi ile fagositik aktivitesinin ve serum lizozom seviyesinde lökosit sayısının arttığını bildirmişlerdir. Sazanlar üzerine yapılan bir diğer çalışmada ise sazanları 24 saat, 10 mg/ml levamisol banyosunda tutmanın *Aeromonas hydrophila*'a karşı direnci arttırdığı tespit edilmiştir (Baba ve ark., 1993).

Gökkuşluğu alabalığı (*O. mykiss*)'na levamisol enjekte etme, fagositik aktiviteler gibi özel olmayan bağışıklık sistemlerin güçlenmesine neden olarak *Vibrio anguillarum*'a karşı artan bir koruma sağlamakta, ayrıca levamisol in vitro şartlarda bağışıklık sistemini de uyarmaktadır (Kajita ve ark. 1990). Levamisolün hastalıklara karşı direncine ve bağışıklık sistemine etkilerini araştırmak amacıyla *Clarius fuscus*'un 7 gün boyunca 0 (kontrol), 75, 150, 300, 600 mg levamisol.kg<sup>-1</sup> içeren kuru diyetle beslendiği bir çalışmada levamisolün son uygulamasından 0, 2, 4, 6, 8 hafta sonra süperoksit dismutaz (SOD), maleic dialdehit (MAD), miyeloperoksidaz (MPO), lizozom ve kan lenfosit artışına neden olduğu tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada balıklar, uygulama öncesi 4 hafta *Acinetobacter lwoffii* ile enfekte edilmişler ve ölümlerin 40 günlük bir periyodun üzerinde olduğu ve levamisol uygulanan balıkların daha dirençli olduğu tespit edilmiştir (Li ve ark., 2005).

Bağışık sistemi zayıflatılmış ve stresli şartlardaki çiftliklerde büyütülen balıkların diyetlerine levamisol katılmasıyla ölüm oranının azaldığı, ekonomik faydalar sağlandığı ve enfeksiyona karşı direncin arttığı görülmektedir. Levamisol bağışıklık sistemi zayıflatılmış *Labeo rohita*'da ölüm oranını azaltmakta ve spesifik bağışıklık sistemini artırmakta, ancak sağlıklı

balıklarda hastalıklara karşı koruma sağlamamakta ve özel bağışıklık sistemini artırmamaktadır (Sahoo ve Mukherjee 2002).

Morrison ve ark., (2001) tarafından yapılan bir çalışmada Atlantik salmon (*Salmo salar* L.)'larına intraperitoneal enjeksiyon ve banyo ile levamisol destekli ve levamisol desteksiz *Vibrio anguillarum* aşısı verilmiştir. Aşılamanın gizli bölge etkileri; deneme boyunca deri, solungaçlar, ön böbrek ve dalak ile histolojik seviyede araştırılmış ve bazı organlarda patolojik olmayan değişiklikler olduğu belirlenmiştir. Deride, ön böbrek ve dalakta bulunan histolojik yapıların incelenmesi sonucunda aşılamanın etkili olmadığı görülmüştür. Bununla beraber her ikisiyle de desteklenmiş aşı ile tedavi edilen balıkların solungaçlarında patolojik değişiklikler olduğu belirlenmiştir. Epitel hücrelerde lamellar füzyon görülmüştür. Birleşmiş mukoz hücrelerinin sayısal artışı, levamisol destekli aşılarda (IP ve banyo) gruplardan alınan balıkların solungaçlarında önemli derecede artış göstermiştir. Bununla beraber lamellar füzyonda tedavinin etkisinin de önemli olmadığı çalışma sonucunda elde edilen bilgilerden bir diğeri olarak karşımıza çıkmaktadır. Atlantik salmon (*Salmo salar* L.)'larında yapılan bir başka çalışmada frunklosis aşısının etkinliği araştırılmış ve aşılama grupların aşılama gruplarından önemli derecede korunduğu tespit edilmiştir (Midtlyng ve ark., 1996). Yine aynı çalışmada sadece mineral yağ destekli antikor kullanımının, su yoluyla taşınan öldürücü furunklosise karşı dayanıklı bir koruyucu bağışıklık sağladığı rapor edilmiştir.

Levamisol çipura balıklarının doğal sitotoksik hücre aktivitesini hem in vivo hem de in vitro şartlarda artırmaktadır (Cuesta ve ark., 2002). Bağışıklığı destekleyici katkı maddeleri içeren diyetlerle beslenen çipuraların total serum IgM seviyesi, istatistiksel olarak bu maddeleri içermeyen diyetlerle beslenen çipuralardan özellikle levamisolün varlığında daha yüksek olarak bulunmuştur (Cuesta ve ark., 2004). Mulero ve ark., (1998), *Sparus aurata* L.'da diyetle alınan levamisol'ün bağışıklığı destekleyici etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada deneme gruplarının levamisol uygulamasından 0 ve 5 hafta sonra önemli ölçüde daha düşük hematokrit değerleri gösterdiğini, ancak 10 hafta sonra bir farklılık olmadığını tespit etmişlerdir. Fagositosis içeren lökosit fonksiyonları, fagositler tarafından aktivite veren, solunum ve lenfositler tarafından üretilen limfokine (MAF) diyetle alınan levamisol ile artırılmıştır. Bunların tümü 5 haftalık uygulama sonucunda en yüksek cevabı vermişlerdir. Serum bileşenleri aktivitesinin de 10 hafta sonra uygulama tarafından artırıldığı bulunmuştur. Kontrol grubu ve 500 mg levamisol kg<sup>-1</sup> kuru diyet ile beslenen balıklar, 4 haftalık uygulama sonrasında *Vibrio anguillarum*'un tehlikeli etkisine karşı koyabilmiş ve ölümlerin 30 günlük bir periyodu takiben olduğu kaydedilmiştir.

Hirazawa ve ark., (2000), in vitro ve oral uygulamalarda *Takifugu rubripes*'te monogenean *Heterobothrium okamotoi* ile enfeksiyonlara karşı doğal kaynaklardan elde edilen doğal ajanlar ile mücadele denemeleri düzenlenmiştir. İlk olarak, levamisol, paraziquantel, pirantel pomad ve antimoni sodyum tartarat'ın *H. okamotoi*'ye karşı antihelmintik etkilerinin belirlenmesi için bu dört ilaç denenmiştir. Daha sonra 4 doğal ajan olan kaprilik asit, portakal yağı, nane yağı ve tarçın yağı araştırılmıştır. İn vitro denemelerde *H. okamotoi* larvalarına karşı kaprilik asit, nane yağı ve tarçın yağının etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu mücadele denemelerinde her bir doğal ajan (2,5 g/kg) bazal diyet denendiğinde in vitro şartlarda balıklarda etkili olduğu ve caprylik asit ile paraziquantelin horizontal enfeksiyonu engellediği görülmüştür. Buna ilaveten kaprilik asit ile paraziquantel uygulanan gruplarının hayatta kalma oranlarının diğerlerinden ve kontrol grubundan önemli derecede yüksek çıktığı tespit edilmiştir.

## 2. SONUÇ

Bağışıklığı destekleyici maddeler balık hastalıklarının kontrolü için önemlidir ve balık kültüründe kullanılabilirler. Balıklar ve karidesler için glükan, kitin, laktoferin ve levamisol'ün bağışıklığı destekleyici etkileri belirlenmiştir. Vitamin B ve C, büyüme hormonları ve proklaktin gibi besleyici faktörler immunostimulasyon (bağışıklığı destekleyici) olarak rapor edilmiştir. Bu bağışıklığı destekleyici maddeler, esas olarak fagositik hücrelerin fonksiyonunu kolaylaştırır ve bakteriyel aktiviteyi artırır. Pek çok bağışıklığı destekleyici madde, aynı zamanda balıkların doğal öldürücü hücrelere, tamamlayıcılara, lizozomlara ve antikorlara cevaplarını da teşvik eder. Bu bağışıklığı destekleyici fonksiyonların aktivasyonu enfeksiyondan kaynaklanan hastalıklara karşı korumanın artmasına neden olur. *Vibrio anguillarum*, *V. salmonicida*, *Aeromonas salmonicida*, *Yersinia ruckeri* ve *Streptococcus spp*

gibi bakteriyel patojenlere karşı ve beyaz benek hastalığı gibi parazitik hastalıklar için bağışıklığı destekleyici maddelerin uygulanması ile direnç artırılabilir; fakat *Renibacterium salmoninarum* ve *Pasteurella piscicida* gibi intraselüler patojenlere karşı direnç sağlanamaz. Balıklar için bağışıklığı destekleyici maddelerin uygulanmasının en etkili yolu enjeksiyon ile olmaktadır. Oral yoldan veya daldırma yoluyla da olabileceği ancak bu metodların etkinliğinin uzun süreli uygulamada azalacağı rapor edilmiştir. Levamisol'ün bazı balık türlerinde hastalıklara karşı dirençleri ve bağışıklık sistemlerine etkileri üzerine yapılan çalışmalarda levamisol uygulanan balıkların daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma; çiftliklerde büyütülen balıkların diyetlerine levamisol ilave edilmesinin balıklarda enfeksiyona karşı direnç oluşturduğu ve balık ölüm oranlarını azaltıp, bunun yanı sıra diğer ekonomik faydalar sağladığı için bu maddenin yemlere katılmasını önermektedir (Mulero ve ark., 1998).

Bağışıklığı destekleyici maddelerin bölge etkileri iyi bir şekilde çalışılmamıştır. Laktoferin veya gluklan ile tedavi edilen balık veya karideslerde büyümeyi teşvik eden aktiviteler olduğu farkedilmiştir. Bağışıklığı destekleyici maddeler, cinsiyet hormonları ile bağışıklığı durdurucu etkinin üstesinden gelebilmekte ve bu nedenle de bağışıklığı destekleyici maddelerin olgun balıklarda çalışılmasının daha anlamlı olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak akvakültürde bağışıklığı destekleyici maddelerin, hastalıkların neden olduğu kayıpları azaltabildiği, ancak bütün hastalıklara karşı etkili olamayacağı unutulmamalıdır.

#### KAYNAKLAR

- Aoki, T., 1992. Chemotherapy and drug resistance in fish farms in Japan. In: Shariff, M., Subasighe, R.P., Arthur, J.R. Eds. , Diseases in Asian Aquaculture Vol. 1. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines,. 519–529.
- Baba, T., Watase, Y., Yoshinaga, Y., 1993. Activation of mononuclear phagocyte function by levamisole immersion in carp. Nippon Suisan Gakkaishi, 59, 301–307.
- Baruah, N.D., Prasad, K.P., 2001. Efficacy of levamisole as an immunostimulant in *Macrobrachium rosenbergii* (De man). J. Aquac. Trop. 16, 149–158.
- Cuesta, A., Esteban, M.A., Meseguer J., 2002. Levamisole is a potent enhancer of gilthead seabream natural cytotoxic activity, Veterinary Immunology and Immunopathology, 89, 169-174.
- Cuesta, A., Meseguer, J. Ve Esteban M.A., 2004. Total serum immunoglobulin M levels are affected by immunomodulators in seabream (*Sparus aurata* L.) ,Veterinary Immunology and Immunopathology.101, 203-210.
- Findlay, V.L., Zilberg, D., Munday, B.L., 2000. Evaluation of levamisole as a treatment for amoebic gill disease of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. J. Fish Dis. 23, 193–198.
- Geets, A., Liewes, E.W., Ollevier, F., 1992. Efficacy of some antihelminthics against the swimbladder nematode *Anguillicola crassus* of eel *Anguilla anguilla* under saltwater conditions. Dis. Aquat. Org. 13, 123–128.
- Hirazawa, N., Ohtaka, T., Hata, K., 2000. Challenge trials on the anthelmintic effect of drugs and natural agents against the monogenean *Heterobothrium okamotoi* in the tiger puffer *Takifugu rubripe*, 188, 1-13.
- Kajita, Y., Sakai, M., Atsuta, S., Kobayashi, M., 1990. The immunomodulatory effects of levamisole on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Fish Pathol. 25, 93–98.
- Leano, E.M., Guo, J., Chang, S., Liao, I.C., 2003. Levamisole enhances non-specific immune response of cobia (*Rachycentron canadum*) fingerlings. J. Fish. Soc. Taiwan 30, 321–330.
- Li, G., Guo, Y., Zhao, D., Qian, P., Sun, J., Xiao, C., Liang L. ve Wang, H., 2005. Effects of levamisole on the immune response and disease resistance of *Clarias fuscus*, Aquaculture.
- Midtlyng, P.J., Reitan, L. J. and Speilberg, L., 1996. Experimental studies on the efficacy and side-effects of intraperitoneal vaccination of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) against furunculosis, 6, 335-350.

- Morrison, R.N. , Nowak, B.F. , Carson, J., 2001.The histopathological effects of a levamisole-adjuvanted *Vibrio anguillarum* vaccine on Atlantic salmon *Salmo salar* L. Aquaculture. 195, 23-33.
- Mulero,V., Esteban, M. A., Munoz J., ve Meseguer J., 1998. Dietary intake of levamisole enhances the immune response and disease resistance of the marine teleost gilthead
- Munday, B.L., Zilberg, D., 2003. Efficacy of and toxicity associated with, the use of levamisole in seawater to treat amoebic gill disease. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. 23, 3–6.seabream (*Sparus aurata* L.). 8, 49-62.
- Olivier, G., Evelyn, T.P.T., Lallier, R., 1985. Immunity to *Aeromonas salmonicida* in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) induced by modified Freund’s complete adjuvant: its non specific nature and the probable role of macrophages in the phenomenon. Dev. Comp. Immunol. 9, 419–432.
- Renoux, G., 1980. The general immunopharmacology of levamisole. Drugs 19, 89–99.
- Sahoo, P. K. ve Mukherjee S. C., 2002. The effect of dietary immunomodulation upon *Edwardsiella tarda* vaccination in healthy and immunocompromised Indian major carp (*Labeo rohita*). Fish & Shellfish Immunology .12, 1-6.
- Sahoo, P. K. and Mukherjee , S. C., 2002. The effect of dietary immunomodulation upon *Edwardsiella tarda* vaccination in healthy and immunocompromised Indian major carp (*Labeo rohita*). Fish & Shellfish Immunology, 12, 1-16.
- Sakai, M., 1999. Current research status of fish immunostimulants, Aquaculture. 172, 63-92.
- Siwicki, A.K., 1987. Immunomodulating activity of levamisole in spawners carp (*Cyprinus carpio* L.) . J. Fish Biol. 31, 245–246.
- Siwicki, A.K., Korwin-Kossakowski, M., 1988. The influence of levamisole on the growth of carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. J. Appl. Ichthyol. 4, 178–181.
- Siwicki, A.K., 1989. Immunostimulating influence of levamisole on nonspecific immunity in carp (*Cyprinus carpio*) . Dev. Comp. Immunol. 13, 87–91.
- Symoens, I., Rosenthal, M., 1977. Levamisole in the modulation of the immune responses. The current experimental and clinical state. J. Reticuloendothel. Soc. 21, 175–221.