

## ***Yersinia ruckeri* ile İnfekte Edilmiş Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Hematolojik İncelemeler\***

Soner ALTUN, Öznur DILER  
Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Isparta-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 22.11.1996

**Özet:** Bu çalışmada gökkuşığı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) yersiniozis etkeni *Yersinia ruckeri* ile deneysel yolla infekte edilerek hematolojik bir çalışma yapıldı. Çalışmada  $192 \pm 0.24$  g ağırlığında 100 adet gökkuşığı alabalığı kullanıldı. Araştırmada kullanılan balıkların yarısına (50 adet)  $3 \times 10^6$  cfu/0.1 ml içeren *Yersinia ruckeri* inokulumu intraperitoneal (i.p.) olarak 0.1 ml dozunda enjekte edilerek infekte grup oluşturuldu. İnfekte ve kontrol grubu balıkların kuyruk venasından alınan kan örnekleri, enfeksiyonun 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13 ve 15. günlerinde bazı hematolojik parametreler [eritrosit, lökosit, trombosit sayımları; lökosit tipleri, hematokrit, eritrosit indeksleri (MCV, MCH, MCHC); total plazma proteini ve albumin miktarları] yönünden incelendi.

Araştırma sonucunda, infekte balıklarda eritrosit, total lökosit, hematokrit, hemoglobin, total plazma protein, plazma albumin miktarlarında azalmalar, lökosit tiplerinin yüzde değerlerinde farklılıklar (monosit, küçük lenfosit yüzdelerinde artış, büyük lenfosit yüzdesinde azalma, nötrofil yüzdesinde hastalığın akut döneminde artış, subakut dönemde azalma) ve trombosit sayısında artışlar tespit edildi. Eozinofil ve bazofil granulositlere rastlanmadı. Eritrosit indekslerinden sadece MCV değerlerinde 3.13 ve 15. günlerde istatistiksel farklılıklar saptandı.

**Anahtar Sözcükler:** Hematoloji, gökkuşığı alabalığı, *Yersinia ruckeri*, deneysel enfeksiyon.

### **Some Haematological Parameters of the Rainbow Trouts Experimentally Infected with *Yersinia ruckeri***

**Abstract:** A haematological study was carried out with rainbow trouts experimentally infected with *Yersinia ruckeri*. One hundred rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss*) at  $192 \pm 0.24$  g were examined. *Yersinia ruckeri* at a concentration of  $3 \times 10^6$  cfu/0.1 ml was intraperitoneally (i.p.) injected to 50 animals. The blood samples of infected and control groups were collected from caudal vein in 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13 and 15 days after inoculation. Some haematological parameters: erythrocyte, leucocyte and thrombocyte counts; differential leucocyte types; haematocrit; mean cell volume (MCV), mean cell haemoglobin (MCH), mean cell haemoglobin concentrations (MCHC); haemoglobin, plasma total protein and albumin concentrations were determined.

Differences in percent of leucocyte types (increases in monocyte and small lymphocyte, a decrease in large lymphocyte were not seen. From red blood cell indices (MCV, MCH, MCHC) parameters of MCV values markedly variation were determined only at 3.13 and 15 days.

**Key Words:** Haematology, rainbow trout, *Yersinia ruckeri*, experimental infection.

### **Giriş**

Yersiniozis, alabalık işletmelerinde özellikle yavru döneminde önemli kayıplara neden olan ve sepsisemi ile seyreden bakteriyel bir hastalıktır. İlk defa 1950'li yıllarda A.B.D.'nin Idaho eyaletinin Hagerman Vadi'sinde ortaya çıkan bu hastalık günümüzde Avrupa, Güney Amerika, Batı Afrika ve Avustralya kıtalarında değişik coğrafik bölgelerdeki ülkelerde yayılım göstermektedir (1-7). *Yersinia ruckeri* ülkemizde ilk kez 1991 yılında Denizli

Bölgesindeki bir gökkuşığı alabalığı işletmesinden izole edilmiştir (8). Bu tarihten günümüze kadar hızla diğer alabalık işletmelerine yayılan yersiniozis, ülkemizde ciddi bir problem haline gelmiştir.

Yersiniozis, furunkulozis, vibriozis ve bakteriyel hemorajik sepsisemi (*Aeromonas hydrophila* ve *Pseudomonas fluorescens*) gibi bakteriyel sepsisemik hastalıklara benzer semptomlar meydana getirir (9, 10, 11). Ancak klinik vakalarda ağız bölgesinde, deri,

\* Soner Altun'un yüksek lisans tez çalışması olarak sunulan bu araştırma, 22.08.1996 tarihinde Yrd.Doç.Dr. Öznur DILER, Prof.Dr. M. Yaşar AKSOY-LAR ve Doç.Dr. Ramazan İKİZ'den oluşan jüri tarafından kabul edilmiştir.

yüzgeçler, anüs civarında eritemler, göz çukurunun çevresinde ve iriste hemorajilerin görülmesi yersiniozis'in en karakteristik bulgularıdır (9, 11).

Biyolojik ve çevresel faktörlerin etkisi altındaki bir organizmada meydana gelebilecek kompleks fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklerin tüm hemapoietik sistemle bağlantılı olduğu bildirilmektedir (12): Zira çevre şartlarındaki olumsuz değişiklikler (örneğin yersinioziste B.O.I.'nın 1.5 mg/lt üzerine çıkması, su sıcaklığının 14.5°C'ye yükselmesi ve balıkların yoğun olarak stoklanması) strese neden olmakta ve bazı hormonal faaliyetlerin etkisiyle (kanda kortizol seviyesinin artması) immün sistemi baskılamaktadır (13, 14, 15). Kan dokusunun fiziksel ve kimyasal yapısı organizmada meydana gelen değişiklikleri doğru olarak yansıtmaktadır. Böylece hematolojik incelemeler ile değişik yaş gruplarındaki ve değişik yaşam koşullarındaki balıkların, genel metabolizmaları ile fizyolojik durumları incelenerek sağlık durumları değerlendirilebilmektedir (12, 16). Ayrıca balık hematolojisi üzerinde çalışan bazı araştırmacılar, kan parametrelerinin hastalıkların teşhisinde yardımcı olduğunu bildirmektedirler (17-20). Quentel ve Aldrin, *Yersinia ruckeri* ile infekte edilmiş gökkuşluğu alabalıklarında eritrosit, hematokrit, hemoglobin, total plazma proteini değerleri ve lökosit sayılarında azalma tespit etmişlerdir (21).

Yapılan bu çalışmada, gökkuşluğu alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) deneysel yolla *Yersinia ruckeri* ile infekte edilerek, oluşturulan yersiniozis hastalığında kan parametrelerinde meydana gelen değişikliklerin saptanması amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metod

Bu çalışma, ağırlığı 192.4±0.24 g olan gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Y. ruckeri*'nin meydana getirdiği bazı hematolojik değişiklikleri araştırmak amacıyla 100 adet balık üzerinde yürütülmüştür. Araştırmada, Eğirdir Su ürünleri Fakültesi mikrobiyoloji laboratuvarında gökkuşluğu alabalıklarından izole edilen bir *Yersinia ruckeri* suşu (R0072) kullanılmıştır.

Eğirdir ilçesinde bulunan bir alabalık işletmesinden temin edilen balıklar, Su Ürünleri Fakültesi balık hastalıkları ünitesindeki 0.6 m<sup>3</sup> hacimli 5 adet yuvarlak fiber tanka konularak, 10 gün içerisinde ortama tamamen adapte edildi. Bu arada araştırmada kullanılacak balıkların hastalık taşıyıp taşımadıklarını kontrol etmek amacıyla 10 adet balık bakteriyolojik ve parazitolojik açıdan incelendi. Araştırma süresince tanklarda su sıcaklığı 11.9±0.039°C,

pH 6.6 ve suda çözünmüş oksijen miktarı 6.9±0.036 mg/lt olarak ölçüldü. Balıklar ortama adapte olduktan sonra Pınar Yem A.Ş.'ne ait alabalık pelet (No: 4) yemiyle günde iki kez yemlendi.

Deneysel infeksiyonu oluşturmak için uygun infektif doz olarak belirlediğimiz 3.10<sup>6</sup> cfu/ml'lik *Y. ruckeri* inokulumu iki tankta 25'erli gruplar halinde bulunan toplam 50 adet balığa 0.1 ml miktarda i.p. olarak enjekte edildi. Kontrol grubu oluşturmak için de her birinde 25'er adet balık bulunan iki tank hazırlandı.

Enjeksiyondan sonra 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13 ve 15. günlerde kontrol ve infekte grup balıklardan 5'er örnek alınarak hematolojik incelemeler yapıldı.

*Yersinia ruckeri* inokulumunun enjeksiyonu ve kuyruk bölgesinden kan alınması sırasında balıklar, 1/20.000 konsantrasyonda Quinaldine ile anestezi edildi (22, 23). Anestezi sonrası ıslak bir havlu ile tespit edilen balıkların kuyruk kısımları keskin bir bıçak ile tek darbeye kesilerek kuyruk venasından akmakta olan kan, içerisinde EDTA (2.5 mg/ml) bulunan steril tüplere 1.5-2 ml kadar alındı (16, 24, 25).

Kan alma işlemi en geç 45 sn de tamamlandı. Alınan kan örnekleri en kısa zamanda (1 saat) laboratuvara getirilerek çalışmaya başlandı.

Eritrosit, total lökosit ve trombosit sayımı aynı anda, kan örneğinin Natt-Herick eriyiği ile eritrosit sulandırma pipeti aracılığıyla 100 kat sulandırılarak Thoma lamında yapıldı (16, 25, 26, 27).

Hematokrit değer (%), mikrohematokrit yöntemiyle (24, 28, 29, 30), hemoglobin miktarı (g/100ml), asit-hematin yöntemiyle sahlî hemoglobinometresinde ve cyanmethemoglobin metodu ile spektrofotometrik olarak belirlendi (18, 27, 28, 29).

May Grünwald-Giemsa karışık boyama yöntemi ile boyanan frotilerden, akyuvar tiplerinin yüzde olarak oranları belirlendi (31).

Wintrobe eritrosit indeksi değerleri; ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) ve ortalama eritrosit hemoglobini yoğunluğu (MCHC), eritrosit sayısı, hemattokrit değer ve hemoglobin miktarından hesaplanarak bulundu (27, 28, 32).

Total plazma protein miktarı (g/100ml); Biüret yöntemiyle, albumin miktarı; (g/100ml); Brom Creosol Green yöntemiyle fotometrik olarak belirlendi (33, 34, 35).

Sonuçların istatistiksel analizi kontrol ve infekte gruba ait her bir parametrenin ortalama değerleri, inceleme gününe göre "t" testi yardımıyla karşılaştırılarak yapıldı.

Tablo 1. Kontrol ve Infekte Grup Balıklarda Eritrosit, Hematokrit, Hemogloblin, MCV, MCH, MCHC, T.Plazma Proteini ve Plazma Albümin Değerlerinin Karşılaştırılması.

Gün		1	2	3	4	5	7	9	11	13	15
Eritrosit Mil/mm <sup>3</sup>	Kontrol Grup	0.91±0.36	0.98±0.28	0.96±0.47	0.97±0.53	0.94±0.30	1.05±0.78	1.07±0.57	0.98±0.52	1.02±0.69	1.01±0.39
	infekte Grup	0.98±0.39	0.90±0.42	0.86±0.41	0.78±0.30	0.68±0.32	0.58±0.36	0.52±0.36	0.48±0.76	0.45±0.73	0.50±0.84
	P										
Ht (%)	Kontrol Grup	37.2±1.34	35.8±1.21	37.2±0.77	35.8±2.25	3.68±0.72	36.2±0.12	36.6±1.08	38.8±2.09	35.6±1.25	33.8±1.28
	İnfekte Grup	32.8±0.77	30.2±0.10	27.4±1.46	26.4±2.20	23.0±1.33	20.4±0.96	19.2±1.27	18.1±1.94	19.2±1.82	21.2±2.25
	P	*	*	**	*	***	**	***	**	**	**
Hb(Sahli) (gr/100ml)	Kontrol Grup	8.36±0.24	8.60±0.21	8.58±0.35	8.38±0.24	8.36±0.26	8.70±0.12	8.76±0.26	9.02±0.30	8.88±0.19	8.92±0.16
	İnfekte Grup	7.30±0.30	7.38±0.36	6.92±0.38	6.19±0.52	5.60±0.16	4.90±0.47	4.80±0.46	3.58±0.87	4.26±0.46	4.74±0.39
	P			*	*	***	**	**	**	***	***
Hb(Cyan) G/100ml	Kontrol Grup	8.70±0.24	9.02±0.28	8.74±0.35	8.60±0.32	0.36±0.34	8.36±0.17	9.06±0.19	9.11±0.47	9.32±0.12	9.10±0.27
	İnfekte Grup	7.70±0.27	7.52±0.54	6.98±0.48	6.28±0.46	5.80±0.23	5.14±0.54	4.82±0.20	3.72±0.79	4.32±0.44	4.86±0.41
	P			*	*	***	**	**	**	**	**
MCV µ3	Kontrol Grup	382.2±17.8	363.8±11.34	388.8±13.94	374.8±38.3	397.0±16.41	345.4±11.35	346.0±17.95	399.6±17.94	357.4±15.90	337.6±12.68
	İnfekte Grup	332.6±11.64	340.2±21.25	321.2±19.29	350.4±43.0	346.4±33.14	354.2±31.67	359.6±21.71	400.6±12.56	452.2±18.25	431.8±26.70
	P			*	5				*	*	*
MCH (µgr)	Kontrol Grup S	86.4±5.41	87.6±3.20	89.6±4.08	87.0±5.27	80.0±6.30	86.4±7.58	86.2±6.18	93.4±5.39	87.8±4.68	89.4±4.95
	İnfekte Grup S	74.4±5.22	85.4±7.08	81.8±2.76	82.0±9.39	90.6±4.99	84.6±6.58	90.8±6.78	84.2±8.64	100.4±16.82	98.4±6.85
MCHC (%)	Kontrol Grup C	90.0±5.45	91.8±4.34	91.2±4.10	89.6±6.01	85.2±6.16	84.8±7.65	83.2±5.03	94.8±6.20	91.8±4.53	91.4±5.58
	İnfekte Grup C	77.6±5.48	86.2±6.46	81.2±3.68	83.4±9.05	95.6±4.23	88.2±7.26	88.6±8.42	86.6±8.61	98.2±15.62	102.8±7.20
	t										
MCHC (%)	Kontrol Grup S	22.6±0.93	24.0±1.14	23.2±1.39	23.8±0.86	23.8±0.86	24.4±1.99	24.0±1.14	23.8±1.46	24.8±0.86	26.4±0.98
	İnfekte Grup S	22.4±0.93	24.6±1.50	25.6±1.86	25.0±3.77	24.6±2.77	24.6±2.92	25.2±1.50	18.2±4.05	23.6±4.21	23.4±3.01
T.P.Protein G/100 ml	Kontrol Grup	2.98±0.10	3.26±0.11	3.16±0.10	3.14±0.11	3.0±0.11	3.16±0.11	3.26±0.24	3.60±0.13	3.29±0.15	3.34±0.11
	İnfekte Grup	2.46±0.10	2.65±0.20	2.60±0.16	2.22±0.26	2.30±0.9	2.06±1.89	1.98±0.25	2.32±0.14	2.42±0.11	2.58±0.06
	t		*	*	*	*	**	***	**	**	**
Plazma Albumin G/100 ml	Kontrol Grup	2.08±0.10	2.66±0.08	2.12±0.12	2.18±0.13	2.14±0.11	2.04±0.09	2.24±0.09	2.44±0.22	2.34±0.06	2.65±0.15
	İnfekte Grup	1.86±0.13	2.06±0.10	1.82±0.10	1.40±0.17	1.34±0.09	1.20±0.09	1.30±0.22	1.46±0.06	1.42±0.12	1.05±0.07
	t		*	*	*	**	**	**	**	**	***

\*:: P&lt;0.05, \*\*: P&lt;0.01, \*\*\*: P&lt;0.001 C: Cyanmethemoglobin S: Sahli

Önem seviyesi P<0.05, P<0.01 P<0.001 olarak değerlendirildi (36).

## Bulgular

Araştırmada kullanılan kontrol ve infekte grubuna ait 100 adet balığın 15 gün süreyle, eritrosit, trombosit, T. lökosit sayıları, hematokrit, hemogloblin, MCV, MCH, MCHC, farklı lökosit yüzde değerleri ve plazma proteini, plazma albümin miktarlarının standart hataları Tablo 1 ve 2'de verilerek inceleme gününe göre kontrol ve infekte

grupları arasındaki farklılıklar "t" testi ile istatistiki olarak değerlendirildi. Kontrol ve infekte grup balıklarından elde edilen hematolojik değerlerdeki farklılıkların inceleme gününe göre değişimleri Şekil 1, 2, 3'de gösterildi. Bu araştırmada *Yersinia ruckeri* ile infekte edilmiş gökkuşağı alabalıklarında, eritrosit sayısının 3. günden sonra azaldığı (P<0.05, P<0.01, P<0.001), lökosit sayısının infeksiyonun 1., 2. günlerinde arttığı (P<0.05) 9., 11., 13. günlerinde azaldığı (P<0.05), trombosit sayısının ise infeksiyonun 4, 5, 9, 11 ve 13. günlerinde arttığı (P<0.05, P<0.001) görüldü (Tablo 1, 2, Şekil 1, 2).

Tablo 2. Kontrol ve Infekte Grup Balıklarda Trombosit, T.Lökosit Sayıları ve Farklı Lökosit Yüzde Değerlerinin Karşılaştırılması.

Gün		1	2	3	4	5	7	9	11	13	15
Trombosit ( $10^3/\text{mm}^3$ )	Kontrol Grup	4.0±0.16	4.30±0.26	4.15±0.49	3.85±0.43	3.95±0.51	4.75±0.49	3.85±0.43	4.60±0.97	3.85±0.35	5.10±1.03
	InfekteGrup	3.30±0.26	5.30±0.47	5.60±0.75	6.75±0.85	7.45±0.76	5.90±7.55	7.55±0.65	8.40±1.23	6.20±0.64	6.05±0.46
	t				*	*		**	*	*	
T.Lökosit ( $10^4/\text{mm}^3$ )	Kontrol Grup	3.96±0.21	3.72±0.24	3.82±0.21	3.78±0.26	3.98±0.40	3.86±0.31	3.84±0.30	3.94±0.25	3.96±0.29	4.14±0.27
	Infekte Grup	5.16±0.35	5.02±0.35	4.92±0.43	4.56±0.65	4.03±0.45	3.72±0.89	3.46±0.35	2.45±0.64	2.32±0.49	2.54±0.50
	t	*	*						*	*	*
Nötrofil %	Kontrol Grup	9.0±1.58	9.8±1.11	8.6±1.04	8.75±1.64	10.0±1.02	9.8±0.77	10.06±1.23	9.8±0.88	9.8±0.78	10.02±1.0
	Infekte Grup	10.6±1.04	14.2±1.28	14.8±1.32	15.6±1.02	11.8±1.11	8.6±1.08	5.4±0.80	5.2±0.91	5.6±0.87	6.2±0.92
	t			*	*			*	*	*	
Monosit %	Kontrol Grup	1.2±0.34	1.0±0.26	0.8±0.18	1.5±0.25	1.6±0.36	1.0±1.28	0.8±0.18	1.4±0.26	1.0±0.20	1.2±0.24
	Infekte Grup	1.4±0.46	1.2±0.44	2.0±0.60	3.4±0.46	4.0±0.48	4.8±0.43	5.2±0.66	5.6±0.87	3.8±0.54	3.2±0.46
	t				*	*	**	**	**	**	**
B. Lenfosit %	Kontrol Grup	44.4±2.22	43.8±1.73	44.6±1.35	44.5±2.39	46.6±1.80	45.2±2.03	46.8±2.03	48.2±1.54	43.6±1.60	45.4±2.12
	Infekte Grup	43.2±2.14	36.8±1.08	36.2±0.66	29.2±2.03	35.2±1.50	33.2±1.50	34.8±1.28	35.2±1.43	35.0±2.14	35.8±0.82
	t		*	**	**	**	**	**	**	*	*
K.Lenfosit %	Kontrol Grup	45.2±2.18	44.8±2.32	46.0±2.28	45.3±3.67	41.8±2.17	41.8±3.01	41.8±3.01	40.6±2.27	45.2±1.84	44.0±2.67
	infekte Grup	44.8±1.66	47.8±0.52	47.0±1.23	51.8±1.28	47.0±0.49	52.4±1.28	54.4±1.22	53.6±1.82	55.4±2.48	54.8±0.87
	t						*	*	**	*	*

\*: P&lt;0.05, \*\*: P&lt;0.01.

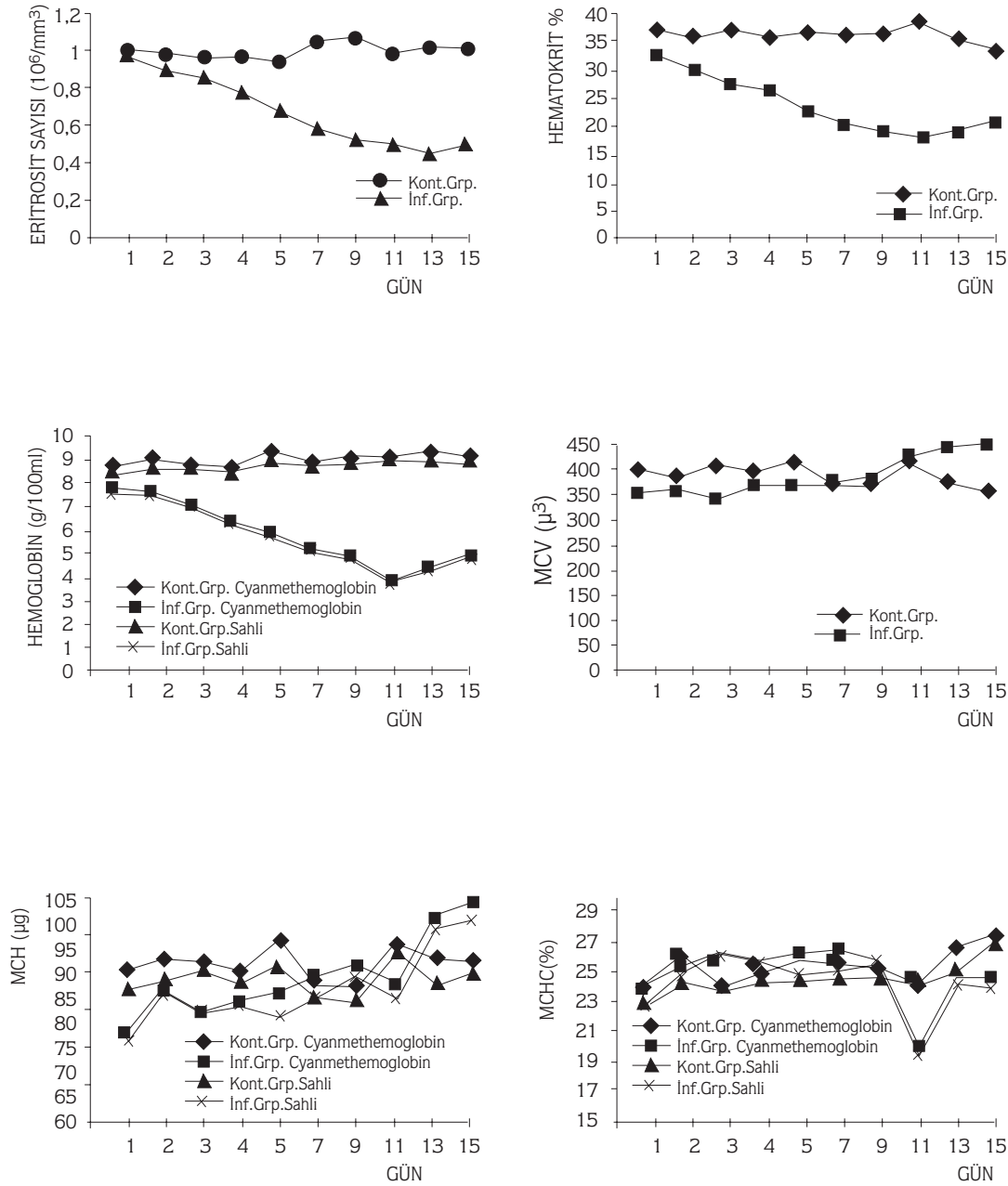
Araştırmada kullanılan gökkuşluğu alabalıklarında lökosit tiplerinin lenfosit, nötrofil ve monositlerden oluştuğu tespit edilerek bu hücrelerin yüzde değerlerindeki farklılıklar belirlendi (Tablo 2, Şekil 1). Infekte grup balıklarda hematokrit, hemoglobin, plazma protein, plazma albumin değerlerinde (P<0.05, P<0.01, P<0.001) ve eritrosit indekslerinde sadece MCV değerlerinde (P<0.05) 3, 13 ve 15. günlerde farklılıklar meydana geldiği tespit edildi.

## Tartışma

Araştırmamızda eritrosit sayıları, infekte balıklarda ilk günden itibaren azalma göstererek infeksiyonun 11. gününde normal değer olan  $0.98 \times 10^5$  den  $0.45 \times 10^5$  düşmüş ve eritrositlerdeki azalmanın (kontrol gruplarıyla infekte grupları karşılaştırıldığında) 4, 5, 7, 9, 11, 13 ve 15. günler için istatistik olarak önemli olduğu

saptanmıştır (P<0.05, P<0.01, P<0.001). De Kinkelin ve ark (23), vibriosis, frunkulozis, yersiniozis ve streptokokozis gibi septisemik hastalıklarda eritrosit sayılarında önemli oranda azalmalar görüldüğünü, Quentel ve Aldrin (21) ise deneysel olarak *Y. ruckeri* ile infekte edilmiş gökkuşluğu alabalıklarında hemapoiyetik ve lenfoid dokunun yıkılmasına bağlı olarak progresif hemolitik anemi şekillendiğini belirterek bulgularımız doğrultusunda sonuçlar elde etmişlerdir.

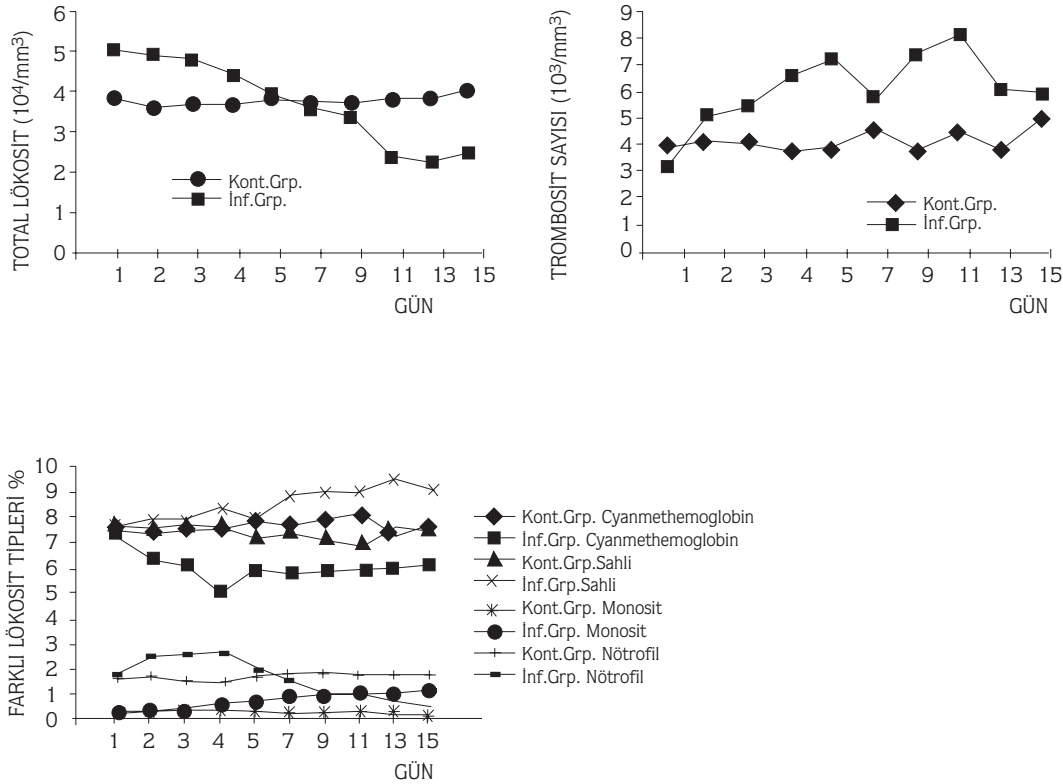
Bakteriyel septisemik hastalıkların (yersiniozis, vibriosis, frunkulozis, bakteriyel hemorajik septisemi) ilk dönemlerinde lökositoz (total lökosit sayısında artış) ilerlemiş olduğu dönemlerde ise lökopeni (total lökosit sayısında azalma) görülmektedir (23). Deneysel olarak yersiniozis oluşturulmuş gökkuşluğu alabalıklarında da infeksiyonun ilerlemiş olduğu durumlarda lökopeni görüldüğü bildirilmiştir (21). Araştırmamızdaki total lökosit sayılarına ilişkin bulgularda infeksiyonun ilk iki



Şekil 1. Kontrol ve Infekte Grup Balıklarında Eritrosit ,Hematokrit, Hemoglobün, MCV, MCH, MCHC değerlerinin karşılaştırılması.

gününde bakteriyel etkene karşı non-spesifik hücrel savunma sisteminin uyarılmasına bağlı olarak lökositöz meydana gelirken 11. günden sonra lökopeni şekillenmiştir. Lökopeni şekillenmesinin nedenini, bakteriyel etkenin etkisi sonucu hemapoiyetik dokularda nekroz meydana gelmesine bağlanabileceği düşünülmektedir.

Trombosit sayılarıyla ilgili araştırmalarda, Lester ve Budd (37) coho salmonlarında trombosit sayısını  $\text{mm}^3$  kanda  $26.10^3$ , Kocabatmaz ve Ekingen (16) ise  $\text{mm}^3$  kanda  $4.10^3$  olarak bildirmişlerdir. Casillas ve Smith (38) gökkuşuğu alabalıklarında trombosit değerlerinin stresten önce  $21.10^3$ , stresten sonra  $43.10^3/\text{mm}^3$  olduğunu tespit etmişlerdir. Bruno ve Munro (39), *Renibacterium*



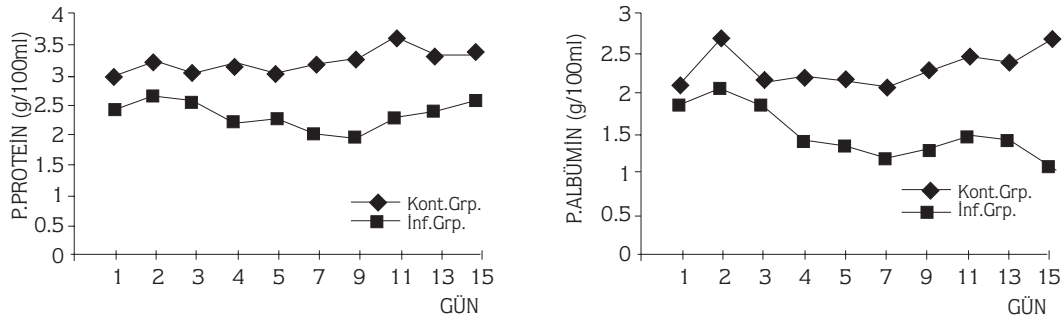
Şekil 2. Kontrol ve Infekte Grup Balıklarda Trombosit, Total Lökosit ve Farklı Lökosit değerlerinin karşılaştırılması.

*salmoninarum* ile infekte edilmiş gökkuşluğu alabalıklarında trombosit sayısının infekte grupta kontrol grubuna oranla artış gösterdiğini belirlemiştir. Araştırmamızda trombosit sayısı kontrol grubuna oranla artış göstermiş ve infeksiyonun 4, 5, 7, 9, 11 ve 13. günlerdeki trombosit sayılarındaki artışın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ).

İnfekte balıklarda farklı lökosit tiplerini incelediğimizde, büyük lenfosit yüzdesinde azalma (2. günden itibaren,  $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ) ve monosit yüzdesinde 4. günden itibaren artış ( $P<0.05$ ,  $p<0.01$ ) saptanmıştır. Nötrofil yüzdesinde ise infeksiyonun 3., 4. günlerinde artış 9, 11 ve 13. ( $P<0.05$ ) günlerinde ise azalma bulunmuştur. Ayrıca araştırmamızda bir çok araştırmacıya (16, 24, 40) paralel olarak eozinofil ve bazofil granulositler görülmemiştir. Yapmış olduğumuz literatür taramalarında bakteriyel hastalıklara ilişkin olarak farklı lökosit tipleri değerleriyle ilgili verilerin sınırlı olduğu görülmüştür. Bu konuda yapılan bir çalışmada Bruno ve Munro (39); *Renibacterium salmoninarum* ile deneysel olarak infekte edilmiş gökkuşluğu alabalıklarında monosit

ve nötrofil değerlerinde artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. Buch (9), yersinioz hastalığında hemapoietik dokuların nekroze olması sonucu anemi şekillendiğini, anemi durumunda ise hematokrit değerinin azalması sonucunda kandaki retikulosit, eritroblastların sayısının arttığını bildirmektedir. Yaptığımız araştırmada hematokrit değerini inceleme süresince istatistiksel olarak azalmakta ( $P<0.005$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.001$ ) olup infeksiyonun 11. gününde normal değer olan 38.8'den 18.1'e düşmektedir. Wobeser (41), gökkuşluğu alabalıklarında ortaya çıkan yersinioz salgınında hematokrit değeri hasta balıklarda 21.5 sağlıklı balıklarda 46.1 olarak tespit etmiştir. Aynı şekilde Post (17) ve Quentel ve Aldrin'in (21) yersinioz hastalığında hematokrit değerinin önemli oranda azaldığını bildiren bulguları sonuçlarımızı desteklemektedir.

Hemoglobin miktarının tespiti için kullanılmış olduğumuz yöntemlerden cyanmethemoglobin yönteminde elde edilen sonuçlar sahli yönteminden biraz daha yüksek bulunmuştur. Değişik araştırmacılar (16, 33, 41) benzer sonuçlar elde ederek cyanmethemoglobin



Şekil 3. Kontrol ve Infekte Grup Balıklarında Total Plazma Protein ve Plazma Albümin değerlerinin karşılaştırılması.

yönetiminin daha kullanışlı ve daha güvenilir olduğunu bildirmişlerdir. Quentel ve Aldrin (18), *Y. ruckeri* ile infekte edilmiş gökkuşuğu alabalıklarında, Shieh ve Maclean (34), furunkulozis etkeni *Aeromonas salmonicida* ile infekte edilmiş gökkuşuğu alabalıklarında, Waagbo ve ark (42), soğuk su vibriozu (Hitra Hastalığı) görülen Atlantik salmonlarda hemoglobin miktarının önemli oranda azaldığını tespit etmişlerdir. Araştırmamızda da hemoglobin miktarı infekte balıklarda eritrosit sayısında azalmaya bağlı olarak her iki yöntemde azalma göstermiş ve gruplar arasında 3. günden itibaren istatistiki olarak farklılıklar tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.001$ ).

Anemilerin oluşum sebebine göre sınıflandırılmasında eritrosit (Wintrobe) indeksleri kullanılmaktadır (32). Araştırmamızda da bu amaçla eritrosit indeksleri inceleniş ve Infekte balıklarda hastalığın, 3. gününde mikrositer normokrom anemi (ortalama alyuvar hacminin azalmasına bağlı olarak), 13 ve 15. günlerinde ise makrositer normokrom anemi (ortalama alyuvar hacminin artmasına bağlı olarak) görüldüğü saptanmıştır. Buna karşılık Quentel ve Aldrin (21), *Yersinia ruckeri* ile infekte edilmiş gökkuşuğu alabalıklarında makrositler normokrom anemi görüldüğünü bildirmektedirler. Araştırmamızda ise infeksiyonun 3. gününde mikrositer anemi görülmesinin, sebebinin, bakteriyel etkene bağlı olarak hemoglobin miktarında meydana gelen azalmaya

bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Soğuk su Vibriozu (Hitra hastalığı) görülen atlantik salmonlarla, deneysel olarak *R. salmoninarum* infekte edilmiş gökkuşuğu alabalıklarında plazma Albumini ile total plazma proteininin önemli oranda azaldığı bildirilmiştir (39, 42). Wobeser (41), ise gökkuşuğu alabalıklarında ortaya çıkan yersiniozis infeksiyonunda total plazma proteini miktarının yarı yarıya azaldığını saptamıştır. *Y. ruckeri* ile infekte ettiğimiz gökkuşuğu alabalıklarında da total plazma proteini ve plazma albumini miktarının kontrol grubuna oranla belirgin bir şekilde azaldığı tespit edilmiş ve gruplar arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar bulunmuştur.

Sonuç olarak; *Yersinia ruckeri* ile infekte gökkuşuğu alabalıklarında, lökosit yüzde değişim değerlerinin ve trombosit sayımlarının ilk kez tespit edildiği bu araştırmada eritrosit, hematokrit, hemoglobin değerlerinde azalma ve MCV değerlerinde 3. gün azalma, 13, 15. günlerde artış meydana geldiği saptandı. Bu bulgulara göre infekte balıklarda 3. gün mikrositer, 13 ve 15. günlerde makrositer anemi görüldüğü belirlendi. Ayrıca *Y. ruckeri* ile infekte balıklarda trombosit sayılarında artış, lökosit yüzde değerlerinde farklılıklar ve total plazma proteini ile albumin miktarlarındaki azalmaya bağlı olarak hipoproteinemi şekillendiği tespit edildi.

## Kaynaklar

- Bullock, G.L., Stuckey, H.M. and Shotts, E.B., Enteric Redmouth Bacterium Comparison of Isolates From Different Geographical Areas. J. Fish Dis., 1, 351-354, 1978.
- Bullock, G.L. and Snieszko, S.F., Enteric Redmouth Disease of Salmonids. Dept. Interior, U.S. Dept. of Interior, Fish and Wild Life Service. 57, 7 p., 1979.
- Fuhrman, H., Böhm, K.M. and Schlegel, H.C., "An Outbreak of Enteric Redmouth Disease in West Germany". J. Fish Dis., 6, 309-311, 1983.
- Gelev, I., Khoinev, A., Khristo, D. and Starshimirova, N., Haemorajik Septicemia in Rainbow Trout Caused by *Yersinia ruckeri* sp. nov. Veterinaromeditsinski Nauki 21, 84-90, 1984.

5. Bragg, R.R. and Henton, M.M., "Isolation of *Yersinia ruckeri* from Rainbow Trout in South Africa" Bull. Eur. Ass. Fish pathol. 6, 1-4, 1986.
6. Savvidis, G.K., "First Isolation of *Yersinia ruckeri* From Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. In Greece. Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol. 10, 131-132, 1990.
7. Alvarez, J.D., Austin, B. and Conroy, D.A. "First Outbreak of ERM in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) in Venezuela". Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol. 12, 189-190, 1992.
8. Timur, G. and Timur M. M., "An Outbreak of Enteric Redmouth Disease in Farmed Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol. 11, 181-182, 1991.
9. Busch, R.A., "Enteric Redmouth Disease", Symposium International de Talloires 10-12 May., 1982, Les Antigenes Des Micro-organismes Pathogenes de Poissons. Collection Fondation Marcel Merieux, 201-224, pp., 1982.
10. Austin, B., and Austin, D.A. "Bacterial Fish Pathogen Disease in Farmed and Wild Fish. Ellis Horwood Ltd. Chichester, 364 p. 1987.
11. Kocabatmaz, M. ve Ekingen G., "Değişik Tür Balıklarda Kan Örneği Alınması ve Hematolojik Metodların Standardizasyonu, Doğa Dergisi, Veteriner ve Hayvancılık, 8(2): 149-159, 1984.
12. Rimsh, E.Y. and Adamova, L.G., "Blood Analysis of Herbivorous Fish (Biological Principles and Ways of Increasing the Efficiency of Natural Reproduction and Rearing of Valuable Commercial Fishes)" Fish. Res. Board of Canada. Translation series No: 2620, 1973.
13. Giorgetti, G., Ceschia, G., Bovo, G., First Isolation of *Yersinia ruckeri* in Farmed Rainbow Trout in Italy. In Fish and Shellfish Pathology. Ed. Ellis, E., A., 161-166 pp. 1985.
14. Hunter, V., Knittel, M. and Fryer, D., Stress Induced Transmission of *Yersinia ruckeri* Infection from Carriers to Recipient Steelhead trout (*Salmo gairdneri*, Richardson) J. Fish. Dis. 3, 267-272, 1980.
15. Pickering, A., D., Factors Affecting the Susceptibility of Salmonid Fish Disease. Reprint from Rep. Freshwater Biol. Ass. No.57, 61-80, 1989.
16. Kocabatmaz, M. ve Ekingen, G., "Değişik Tür Balıklardan Kan Örneği Alınması ve Hematolojik Metodların Standardizasyonu". TÜBİTAK Veteriner ve Hayvancılık Araştırma Grubu. Proje No: VHAG-557, 72 s., 1982.
17. Post, G., "Textbook of Fish Health". T.F.H. Publications, Inc., Neptune City, USA, 388p, 1987.
18. Arda, M., "Balıklarda Bakteri Mantar, Viral ve Ekolojik Nedenlerden İleri Gelen Hastalıklar ve Tedavileri A.Ü. Vet. Fak. Yayınları: 300, 258 s., 1974.
19. Clarence, R.H., "Fish Haematology, Its Uses and Significance." N.Y. Fish Game J., 23(2): 170-175, 1976.
20. Roberts, R.J., (Ed.), "Fish Pathology" Bailliere-Tindall, London, 318 p, 1978.
21. Quentel, C. and Aldrin C.F., "Modifications Sanguines Consécutives a l' Inoculation Intrapéritonéale de *Yersinia ruckeri* chez des Truites Arc-en-ciel, *Salmo gairdneri*, Cathétérisées". Aquaculture, 53, 169-185, 1986.
22. Diler, Ö. ve Diler, A., "Deneyisel Olarak *Saprolegnio diclina* ile Infekte Gökkuşluğu Alabalıklarında (*O. mykiss*) Bazı Hematolojik İncelemeler." Türk Vet. ve Hayvancılık Der.. Ankara, 20: 443-447 s., 1996.
23. De Kinkelin, P., Michel, C. and Ghittino, P., "Precis de Pathologie des Poissons" OIE., Paris, 348 p, 1985.
24. Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W., "Routine Haematological Methods for use with Fish Blood." J. Fish Biol., 5, 771-781, 1973.
25. Buckley, J.A., Whitmore, C.M. and Matsuda, R.I., "Changes in Blood Chemistry and Blood Cell Morphology in Coho Salmon (*O. kisutch*), Following Exposure to Sublethal Levels of Total Residual Chlorine in Municipal Wastewater", J. Fish. Res. Bd. Canada, 33, 776-782, 1976.
26. Konuk, T., "Pratik Fizyolojik 1. A.Ü. Vet. Fak. Yay. 378, Ders Kitabı: 276, 250 s., 1981.
27. Hofmann, R. and Lomel, R., "Effects of Repeated Blood Sampling on Some Blood Parameters in Freshwater Fish." J. Fish Biol. 24, 245-251, 1984.
28. Mc Leay, D.J. and Gordon, M.R., "Leucocrit: A simple Hematological Technique for Measuring Acute Stress in Salmonid Fish, Including Stressful Concentrations of Pulpmill effluent." J. Fish. Res. Bd. Canada, 34, 2164-2175, 1977.
29. De Wilde, M.A. and Houston, A.H., "Hematological Aspect of The Thermalacclimatory Process in The Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* J. Fish. Res. Bd. Canada, 24, (11), 2267-2281, 1967.
30. Sandes, K., Lie, O. and Waagbo, R. "Normal Ranges of Some Blood Chemistry Parameters in Adult Farmed Atlantic Salmon, *Salmo salar*." J. Fish Biol., 32, 129-136, 1988.
31. Amlacher, E., "Taschenbuch der Fish Krankheiten Grundlagen der Fishpatologie", Gustav Fisher, Stuttgart, 149-165 pp., 1992.
32. Yılmaz, B., "Fizyoloji" Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd. Şti. Ankara, 609 s. 1984.
33. McCarthy, D.H., Stevenson, J.P. and Roberts, M.S., "Some Blood Parameters of the Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*, Richardson)". I. The Komloops Variety, J. Fish Biol, 5, 1-8, 1973.



34. Shieh, H.S. and Mac Lean, J.R., "Blood Changes in Brooke Trout Induced by Infection with *Aeromonas salmonicida*." J. Wildl. Dis., 12, 77-82, 1976.
35. Hutton, K.E., "Characteristics of The Blood of Adult Pink Salmon at Three Stages of Maturity." Fishery Bull. Fish Willdl. Serv. U.S. 66, 195-202, 1967.
36. Düzgüneş, D., Kesici, T., Gürbüz, F., İstatistik Metodları I, A.Ü. Ziraat Fak. Yayınları: 861 Ders kitabı: 229, A.Ü. Basımevi Ankara, 218 s, 1983.
37. Lester, R.J.G., and Budd, J., Soma Changes in the Blood Cells of diseased coho salmon can. J. zool 57, 1458-1464, 1983.
38. Casillas, E. and Smith, L.S., "Effect of Stress on Blood coagulation and haematology in rainbow trout (*S. gairdneri*)." J. Fish Biol., 10, 481-494, 1977.
39. Bruno, D.W. and Munro, A.L.S., "Haematological Assesment of Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*, Richardson, and Atlantic Salmon *Salmo solar*, L., Infected with *Renibacterium salmoninarum*" J. Fish Dis., 9, 195-204, 1986.
40. Lane, H.C., "The Respons of the Haemoglobin System of Fed and Starved Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*, Richardson, to Bleeding" J. Fish Biol 16, 405-411, 1980.
41. Wobeser, G., "An Outbreak of Redmouth Disease in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*), in Saskatchewan", J. Fish. Res. Bd. Canada, 30, 571-575, 1973.
42. Waagbo, R., Sandnes, K., Epelid, S. and Lie, O., "Haematological and Biochemical Analyses of Atlantic Salmon, *Salmo salar*, L., Suffering From Coldwater Vibriosis ("Hitra disease"), J. Fish Dis., 5, 417-423, 1988.