



Araştırma makalesi / Research article

Besi Kuzularında Farklı Protein Kaynaklarının Klostridial Aşılama Sonrası IgG Seviyesi ve Bağırsak Mikrobiyolojisi Üzerine Etkisi

Soner Uysal^{1a*}, Cihan Öz^{2b}, Mazhar Burak Can^{1c}, Ecehan Aytek^{2d}, Aybüke İmik^{3e}, Furkan Kaplan^{2f}

¹Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

²Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

³Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

The Effect of Different Protein Sources on IgG Level and Intestinal Microbiology After Clostridial Vaccination in Fattening Lambs

Abstract:

In this study, it was aimed to investigate the effects of total aerobic, coliform and *C. perfringens* counts in the feces of lambs fed with different gluten sources and to investigate the differences in IgG levels after clostridial vaccination. For this purpose, 24 nine-month-old male Mor Karaman lambs were divided into three groups (8 lambs in each group) as wheat gluten, corn gluten and control. Protein sources were obtained from corn gluten in the corn gluten group, wheat gluten in the wheat gluten group and soybean meal in the control group. The prepared ration content was formed equally as crude protein (HP) 17% and metabolic energy (ME) 2700 kcal/kg. Vaccination against clostridial infection was administered twice, before and 15 days after the start of the trial. At the end of the experiment, stool samples were collected and total aerobic bacteria, total coliform and *C. perfringens* counts were made. At the same time, IgG levels were measured in blood serum from lambs. It was determined that the protein sources used in the analyzes did not have a statistically significant effect on the total bacteria, coliform and *C. perfringens* counts ($P>0.05$). There was no significant difference between the groups in terms of serum IgG levels ($P>0.05$). In conclusion, in the samples taken in this study, it was observed that different protein sources did not affect the IgG levels of lambs after clostridial vaccination, and wheat gluten tended to decrease the total bacteria, coliform and *C. perfringens* counts. However, it is thought that studies with a larger sample are needed to reveal this situation more clearly.

Keywords: Gluten, IgG, Clostridial vaccines, Lamb

MAKALE BİLGİSİ:

ARTICLE INFORMATION:

Geliş / Received:

30.11.2022

Revizyon/Revised:

02.01.2023

Kabul / Accepted:

20.01.2023

ORCIDIS:

^a 0000-0003-0372-9895

^b 0000-0003-3547-5965

^c 0000-0001-5248-1369

^d 0000-0003-2287-983X

^e 0000-0003-4697-812X

^f 0000-0002-3947-564X

Besi Kuzularında Farklı Protein Kaynaklarının Klostridial Aşılama Sonrası IgG Seviyesi ve Bağırsak Mikrobiyolojisi Üzerine Etkisi

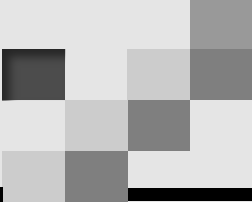
Özet:

Bu çalışmada farklı gluten kaynakları ile beslemenin kuzuların dışkılarındaki total aerob, koliform ve *C. perfringens* sayısı üzerine etkisinin ve klostridial aşılama sonrası meydana gelen IgG seviyelerindeki farklılıkların araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla 24 adet dokuz aylık yaşta Mor Karaman cinsi erkek kuzu buğday gluteni, mısır gluteni ve kontrol olmak üzere üç gruba (her grupta 8 kuzu) ayrılmıştır. Protein kaynakları; mısır gluteni grubunda mısır gluteninden, buğday gluteni grubunda buğday gluteninden ve kontrol grubunda ise soya fasulyesi küspesinden karşılanmıştır. Hazırlanan rasyon içeriği ham protein (HP) %17 ve metabolik enerji (ME) 2700 kcal/kg olarak eşit şekilde oluşturulmuştur. Denemeye başlamadan önce ve 15 gün sonra olmak üzere iki kez klostridial enfeksiyona karşı aşılama yapılmıştır. Deneme sonunda dışkı örnekleri toplanarak total aerobik bakteri, toplam koliform ve *C. perfringens* sayımı yapılmıştır. Aynı zamanda kuzulardan alınan kan serumlarında IgG seviyeleri ölçülmüştür. Yapılan analizlerde kullanılan protein kaynaklarının total bakteri, koliform ve *C. perfringens* sayıları üzerine istatistiksel olarak önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). Serumda IgG seviyeleri yönünden gruplar arasında önemli bir fark bulunmamıştır ($P>0.05$). Sonuç olarak, bu çalışmada alınan örneklerde farklı protein kaynaklarının klostridial aşılama sonrası kuzuların IgG seviyelerine etki etmediği, buğday gluteninin total bakteri, koliform ve *C. perfringens* sayıları üzerine azaltıcı eğiliminde olduğu görüldü. Ancak bu durumun daha açık bir şekilde ortaya konabilmesi için daha geniş örneklemin olduğu çalışmalara ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Gluten, IgG, Klostridial aşılama, Kuzu

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: soner.uysal@atauni.edu.tr

How to cite this article: Uysal S, Öz C, Can MB, Aytek E, İmik A ve Kaplan F (2023). Besi Kuzularında Farklı Protein Kaynaklarının Klostridial Aşılama Sonrası IgG Seviyesi ve Bağırsak Mikrobiyolojisi Üzerine Etkisi. *Antakya Vet. Bil. Derg.*, 2(1), 1-7.



Giriş

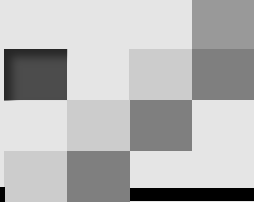
Hayvanların sağlıklı bir yaşam sürdürebilmesinde bağırsak sağlığının çok önemli bir yeri vardır. Bağırsak sağlığının optimum seviyede tutulabilmesi amacıyla son dönemde hayvan beslemenin bağırsak sağlığı üzerine etkisi ile ilgili yapılan çalışma sayısı artmıştır (Kogut ve Arsenault, 2016; Jha ve Mishra, 2021). Bağırsak sağlığı içerisinde; bağırsak fonksiyonlarının düzenlenmesi, güçlü immun sistem ve doğal bağırsak florasında mevcut patojen mikroorganizmaların sınırlandırılıp faydalı mikroorganizma gelişiminin desteklenmesi gibi faktörleri barındırmaktadır. Bununla ilgili olarak hayvanların tüketmiş oldukları yemler immun sistem, bağırsak mikroflorası ve bağırsak sağlığı üzerine etkili faktörler arasında yer almaktadır. Hayvanların gastro-intestinal sisteminde bulunan bakteri, mantar ve protozoonlar mikroflorayı oluşturmaktadır. Gastro-intestinal kanal mikroflorasının en baskın sınıfı bakterilerdir (Gabriel ve ark., 2006). Hayvanların gastro-intestinal kanalındaki bakteriler kanalın farklı kısımlarında çeşitlilik göstererek immun sistemi güçlendirmektedir (Lu ve ark., 2003).

Gastro-intestinal kanalda bulunan faydalı mikroorganizmalar; patojen mikroorganizmaların etkisini azaltmak, immun sistemi uyarmak, sindirim ve emilim üzerine etkili enzimlerin üretilmesi gibi olumlu görevler üstlenmektedir. Sindirim sistemi mikroflorasının düzenlenmesi için çeşitli besleme uygulamaları yapılmaktadır. Bu uygulamalar ile faydalı mikroorganizmaların sayısı ve işlevi artırılarak bağırsak sağlığı dolayısıyla immun sistem desteklenmektedir (Jeurissen ve ark., 2002).

Bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesindeki en büyük etken tüketilen yemlerdir. Mikrobiyota, rasyonun karbonhidrat, protein gibi besin madde içeriklerinden, yemlerin fiziksel özelliklerinden (parçacık boyutu, işleme tekniği), yemlere eklenen antibiyotikler, koksidiyostatlar ve ekzojen enzimlerden etkilenir (Torok ve ark., 2011). Yemlerle alınan proteinler sindirim sisteminde parçalanıp emildikten sonra vücutta çok önemli fonksiyonlar üstlenmektedir. Bu fonksiyonların en önemlilerinden birisi kuşkusuz aminoasitlerin bağışıklık sistemindeki rolüdür. Aminoasitler sindirim sistemi, timus, dalak, bölgesel lenf nodülleri ile dolaşımdaki bağışıklık hücrelerindeki önemli aktiviteleri ile bağışıklık sisteminin işlevini etkilemektedir. Yemlerde bulunan protein kaynaklarından elde edilen aminoasitler bağırsak mikrobiyotasını da etkileyerek bağışıklık sistemine yardımcı olmaktadır (Alp ve Kocabağlı, 2019). Gümüş ve ark (2021) mısır ve buğday gluteni ile beslenen ratların soya küspesi ile

beslenenlere göre serum interlökin1 beta ve TNF-alfa düzeylerinin matematiksel bir artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca diyetle gluten alımının, bağırsaklardaki hücresel bağışıklıkta yer alan T hücrelerinin sayısını artırarak bağışıklık sistemini etkilediği belirtilmiştir. İmik ve ark (2000) Ankara keçisi oğlakları ile yapmış oldukları çalışmada yeme katılan vitamin E ve C'nin Rev-1 aşısına karşı oluşan antikor seviyesini etkilediğini bildirmişlerdir. Protein kaynaklarının bağırsak mikrobiyotası üzerine etkisini incelemek için Zhu ve ark. (2015)'nin yaptıkları çalışmada soya ile et tüketen gruplar karşılaştırılmıştır. Soya ile beslenen sıçanlarda *Laktobasillus* sayısının azalış gösterdiği belirlenmiştir. Aynı çalışmada soya proteini ile beslenen gruplarda et proteini ile beslenen gruplara göre *Bakteriodes* sayısının ise arttığı belirtilmiştir (Zhu ve ark., 2015).

Clostridium perfringens, doğada özellikle kanalizasyon, toprak ve besin maddelerinde yaygın olarak bulunan anaerobik sporlu mikroorganizmalardır (Kiu ve Hall, 2018). *C. perfringens* 20'nin üzerinde toksin meydana getirmektedir ve bu toksinler koyun, kuzu, buzağı, insan ve diğer hayvanlarda toksemi ile karakterize enfeksiyonlara neden olmaktadır (Kiu ve Hall, 2018; Wu ve ark., 2022). Kuzularda özellikle B, C, ve D tipi *C. perfringens* toksinlerinin enfeksiyona neden olduğu bildirilmiştir (Munday ve ark., 2020; Uzal ve ark., 2018). Tüm bu güçlü toksinler, lokal etki gösterebilir veya bağırsaklardan emilerek koyun ve keçilerde jenerik olarak enterotoksemi olarak adlandırılan enterik enfeksiyonlara neden olabilir (Uzal ve Songer., 2008). Hastalığın ortaya çıkışında hayvanların beslenme karakterleri ve hayvanların bakım koşulları gelmektedir. Özellikle hayvanlara verilen protein ve karbonhidrat yönünden zengin olan tane yemler, hayvanların bağırsaklarında var olan ya da yem ve toprak ile alınan bakteri hızla üreyerek yüksek miktarda toksin salgılar. Yemlemede ani değişiklikler yapılması (genellikle zengin diyetlere geçişte), fazla yedirme, oburluk, yüksek protein ve enerjice zengin diyetlerle besleme bağırsaklarda peristaltığın azalmasına ve karbonhidratların yetersiz sindirimi sonucunda *C. perfringens*'in aşırı üremesi için uygun bir ortamın oluşmasını sağlar (Pawaiya ve ark., 2020). *C. perfringens*, hayvanlarda bağırsak enfeksiyonlarından sorumlu ana patojenlerden birisi



olup, insidans oranı düşük (%2-8) fakat vaka ölüm oranı çok yüksektir (%100) (Mohiuddin ve ark.,2020). Yapılan bu çalışmada, çiftlik hayvanlarının beslenmesinde önemli bir protein kaynağı olan buğday ve mısır gluteninin kuzuların bağırsak florasına ve serum IgG düzeyine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Hayvan Materyali ve Deney Grupları

Araştırmada hayvan materyali olarak Atatürk Üniversitesi Gıda ve Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezine bağlı üretim çiftliğinden temin edilen 24 adet 9 aylık yaşta Mor Karaman cinsi erkek kuzu kullanılmıştır. Kuzular; canlı ağırlıklarının, vücut kondisyon skorunun benzer olmasına ve sağlıklı olmalarına dikkat edilerek seçilmiştir. Çalışma her grupta eşit sayıda (8'er adet) kuzu olacak şekilde kontrol, buğday gluteni ve mısır gluteni olmak üzere 3 grup halinde oluşturulmuştur. Her grup kendi içerisinde 4 alt gruba ayrılmıştır. Yeme adaptasyon döneminden önce işletmeye getirilen hayvanların canlı ağırlık tartımları yapıldıktan sonra gruplar arası ortalama istatistiksel canlı ağırlık farkı olmayacak şekilde yerleştirme yapılmıştır. Bu şekilde toplamda 12 adet alt grup olacak şekilde çalışma tasarımı oluşturulmuştur (Tablo 1). Denemeye başlangıcında kontrol grubunda 2 adet ve deneme sürecinde mısır gluteni grubunda 2 adet olmak üzere toplamda 4 hayvan ölmüş ve çalışmadan çıkarılmıştır.

Tablo 1. Çalışmada oluşturulan deneme grupları

Grup adı	Alt grup sayısı	Hayvan sayısı	Toplam kuzu sayısı
Kontrol	3	2	6
Buğday gluteni	4	2	8
Mısır gluteni	3	2	6

Hayvan Barınağı

Denemeler Bayburt ili sınırları içerisinde özel bir hayvancılık işletmesinde yapılmıştır. Kapalı alanda bulunan işletme içerisinde 12 adet ayrı bölme yapılmıştır. Bölmelerin boyutları 150x150x100 cm olacak şekilde ayarlanarak her bölmede 2 adet kuzu barındırılmıştır. Her bölme içerisine konsantre ve kaba yem için ayrı ayrı

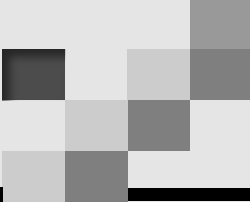
50x15x15 cm ebadında tahta malzeme kullanılarak 2 adet yemlik alanı yapılmıştır. Suluk için her bölmeye 50 lt hacimli plastik kovalar yerleştirilmiştir. Altlık materyali olarak saman kullanılmış olup belli aralıklarla altlığın temizliği yapılmıştır.

Yem Materyali

Çalışmada kullanılan yem materyali besin madde düzeyleri izokalorik ve izonitrojenik olarak Tablo 2'de belirtildiği gibi oluşturulmuştur. Çalışma grupları için hazırlanan rasyon içeriği HP %17 ve ME 2700 kcal/kg olarak hesaplanarak eşit şekilde oluşturulmuştur. Yem materyali olarak ticari olarak üretilen yem kullanılmıştır. Mısır gluteni ve buğday gluteninin etkilerini tam olarak belirlemek amacıyla, grupların enerji ve protein ihtiyacını karşılamak için mısır grubuna, buğday ve buğday gluteni, buğday grubuna ise mısır ve mısır gluteni ilave edilmemiştir. Kontrol grubunda da buğday, buğday gluteni, mısır ve mısır gluteni kullanılmamıştır. Bütün gruplarda kaba yem kaynağı olarak buğday samanı kullanılmıştır.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan yem materyallerinin içeriği ve besin düzeyleri.

Yemler	Buğday Gluteni, %	Mısır Gluteni,%	Kontrol, %
Arpa	52,5	60	60
Soya Küspesi	0	0	15,93
Pirinç Kepeği	0	0	10
Aspir Küspesi	0	0	7,47
Buğday	30	0	0
Mısır	0	18,22	0
Mısır Gluteni, %60	0	14,78	0
Buğday Gluteni, % 80	10,3	0	0
Melas	3	3	3
Mermer Tozu	1,65	2,35	2,4
DCP 18	1,51	0,96	0
Soya Yağı	0,33	0	0,6
Tuz	0,31	0,3	0,3
Nişadır	0,3	0,28	0,2
Toplam	100	100	100
Besin değerleri			
% HP	17	17	17
ME (kcal/kg)	2700	2700	2700
Vitamin - Mineral	0,1	0,1	0,1



Hayvanların Beslenmesi

Çalışma 21 günlük alıştırma dönemi ve 8 haftalık besi dönemi şeklinde yürütülmüştür. Adaptasyon süresi başlangıcında kuzulara iç parazit (Rabenzole) uygulaması yapılmıştır. Denemeye başlamadan önce ve 15 gün sonra olmak üzere iki kez klostridial enfeksiyona karşı (Tetrandoll – Coglovax) aşılama yapılmıştır. Çalışmada yer alan hayvanlara sabah 8:00 ve akşam 16:00 saatlerinde olmak üzere günde iki defa yemleme yapılmıştır. Bu süreç içerisinde hayvanların ad-libitum olarak yeme ulaşması ve yemleme esnasında konsantre yem ve kaba yem ayrı ayrı tartılarak hayvanların tüketmesi sağlanmıştır. Yemleme sonrasında artan yemler ayrı ayrı tartılarak haftalık yem tüketimi hesaplanmıştır. Hayvanların önünde her zaman temiz su bulundurulmuştur. Çalışmada yer alan bütün hayvanlar çalışma sonuna kadar aynı şartlar altında bakım ve beslemeye tabi tutulmuştur. Ayrıca çalışma dönemi boyunca bütün bölmelerde bulunan yemliklerin yanında yalama taşı konulmuştur ve bu sayede kuzuların mineral ve tuz ihtiyacının karşılanması sağlanmıştır.

Dışkı Örneklerinin Alınması

Deneme gruplarından her hayvandan yaklaşık 20 gr olacak şekilde rektal palpasyon yolu ile dışkı örnekleri alınmış, steril plastik tüplere konmuş ve mikrobiyolojik analiz yapılacağı güne kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Mikrobiyolojik Analizler

Barsak florasının; total bakteri, koliform ve klostridium bakteri sayımı için alınan dışkı örneklerinden 1 gr dışkı örneği 9 ml steril fizyolojik tuzlu su (FTS) içerisine konularak karıştırılmıştır. Ardından 10 katlı sulandırma işlemi yapılarak 10⁻⁶ dilüsyona kadar bu işlem gerçekleştirilmiştir (Casagrande Proietti ve ark., 2006; Zhu ve ark., 2015).

Toplam aerobik bakteri sayımını belirlemek amacıyla Plate Count Agar (PCA) besiyeri kullanılmıştır. Hazırlanan 10⁻⁶ sulandırmadan 0,1 ml alınarak her örnek için 2 adet PCA besiyerine yayma ekim yapıp, 37°C de 24-48 saat aerobik koşullarda inkübe edilerek gelişen koloniler değerlendirilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda üreyen

Uysal ve ark. 2023

kolonilerin sayımları yapılarak, her grup için sonuçlar kaydedilmiştir.

Koliform grubu bakteri sayısını tespit etmek için Violet Red Bile Agar (VRBA) besiyeri kullanılmıştır. Hazırlanan 10⁻⁶ sulandırmadan 0,1 ml alınarak her örnek için 2 adet VRBA besiyerine yayma ekim yapılarak, 37°C'de 24-48 saat aerobik koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda üreyen kolonilerin sayımları yapılarak, her grup için sonuçlar kaydedilmiştir.

C. perfringens bakteri sayımı için Tryptose Sulfite Cyclocerine (TSC) besiyeri kullanılmıştır. Hazırlanan 10⁻⁶ sulandırmadan 0,1 ml alınarak her örnek için 2 adet TSC agar besi yerine yayma ekim yapıp, 37°C'de 24-48 saat anaerobik koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. Her grup için sonuçlar ayrı ayrı kaydedilmiştir.

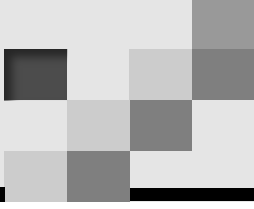
Elde edilen koloni sayıları aşağıdaki formül kullanılarak CFU/ml değerleri hesaplanmıştır;

CFU/ml = (Koloni sayısı x dilüsyon faktörü)/kültür plate hacmi (Prescott, 2002).

IgG Antikorlarının ELISA ile Tespiti

Ticari bir ELISA kiti (BT LAB Sheep Immunoglobulin G ELISA Kit) koyunlardan toplanan serum örneklerindeki IgG antikorlarını belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Bütün işlemler kiti üreten firmanın önerileri doğrultusunda yapılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce tüm reaktifler, standart solüsyonlar ve numuneler talimatlara uygun olarak hazırlanmıştır. Analiz oda sıcaklığında yapılmış olup, reaktifler oda sıcaklığına getirilmiştir. Analiz için gerekli strip sayısı belirlenerek stripler kullanım için çerçevelere yerleştirilerek kuyulara 50µl standart solüsyon eklenmiştir. Sonrasında ise her kuyucuğa bir örnek gelecek şekilde 40µl örnek ve ardından 10µl anti-IgG antikor kuyulara eklenmiştir. Üzerine ise 50µl streptavidin-HRP ilave edilmiştir. Daha sonra kuyucuklar karıştırılmış, plakanın üzeri örtülerek 60 dk boyunca 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda plaka 5 defa yıkama tamponu ile yıkanmıştır. Bu işlemden sonra her kuyucuğa 50µl A solüsyonu ve 50µl B solüsyonu eklenmiş ve plate 37°C'de 10 dk inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda her kuyucuğa 50µl stop solüsyonu eklenmiş ve rengin maviden sarıya dönüşümü gözlenmiştir. Stop

Antakya Vet. Bil. Derg./J. Antakya Vet. Sci. (2023):2 (1), 1-7.



solüsyonu eklendikten 10 dk sonra ise 450 nm de okuma gerçekleştirilmiştir.

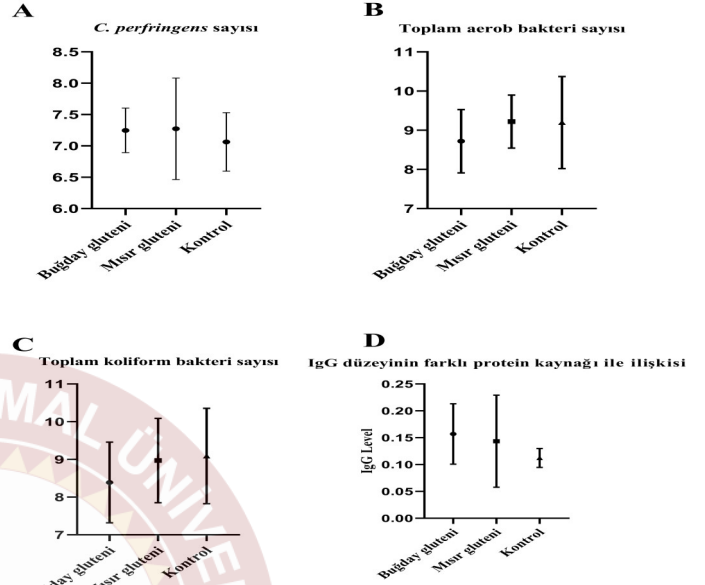
İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz SPSS Statistics 20 (Statistical Package for the Social Science; SPSS Inc., Chicago/IL, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmadaki verileri karşılaştırmak için Pearson olasılık değeri (P değeri) One Way Anova testi kullanılarak hesaplanmıştır. P değerinin 0.05'ten küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (Cengiz ve Adıgüzel, 2020).

Bulgular

Bu çalışmada toplam aerobik bakteri sayısı buğday gluteni verilen grupta 7.00 ile 9.34 log CFU g⁻¹ (ortalama 8.72 log CFU g⁻¹), mısır gluteni verilen grupta 8.27 ile 9.99 log CFU g⁻¹ (ortalama 9.22 log CFU g⁻¹) ve kontrol grubunda ise 7.00 ile 9.98 log CFU g⁻¹ (ortalama 9.20 log CFU g⁻¹) olarak saptanmıştır. Total koliform grubu bakteri sayıları buğday gluteni grubunda 6.70 ile 9.27 log CFU g⁻¹ (ortalama 8.39 log CFU g⁻¹), mısır gluteni grubunda 7.00 ile 9.99 log CFU g⁻¹ (ortalama 8.97 log CFU g⁻¹) ve kontrol grubunda ise 7.00 ile 9.99 log CFU g⁻¹ (ortalama 9.09 log CFU g⁻¹) olarak belirlenmiştir. *C. perfringens* sayımı için yapılan analizde ise buğday gluteni grubu 6.70 ile 7.85 log CFU g⁻¹ (ortalama 7.25 log CFU g⁻¹), mısır gluteni grubu 6.70 ile 8.84 log CFU g⁻¹ (ortalama 7.27 log CFU g⁻¹) ve 6.70 ile 7.85 log CFU g⁻¹ kontrol grubu (ortalama 7.06 log CFU g⁻¹) olarak saptanmıştır. Rasyonlarında alternatif protein kaynağı olarak mısır ve buğday gluteni kullanılan erkek kuzular ile protein kaynağı olarak soya küspesi kullanılan kontrol grubundaki kuzulardan alınan dışkı örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizlerden elde edilen sonuçlar Şekil 1'de gösterilmiştir. Buğday gluteni ile beslenen kuzularda total aerob ve koliform grubu bakteri sayıları rakamsal olarak daha düşük olduğu saptanmıştır. Mısır gluteni ile beslenen hayvanlarda koliform grubu bakteri sayısı rakamsal olarak daha yüksek belirlenmiştir. Yapılan analizlerde gruplar arasında total bakteri, koliform ve *C. perfringens* sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (P>0.05). Çalışmada alınan kan örneklerindeki IgG seviyeleri mısır ve buğday gluteni ile

kontrol grubu arasında karşılaştırılmış ve gruplar arasında önemli bir fark bulunmamıştır (P>0.05).

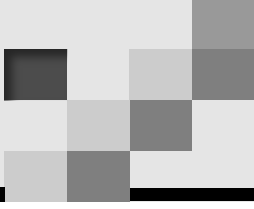


Şekil 1. Buğday gluteni, mısır gluteni ve kontrol gruplarındaki *C. perfringens* (A), toplam aerob (B) ve koliform (C) sayılarının değişimi ve farklı protein kaynakları ile beslenen kuzulardaki IgG düzeyleri (D) arasındaki ilişki (P>0.05).

Tartışma

Bağırsak mikrobiyotasının bileşimi diyet, antibiyotik kullanımı, konakçı genetiği ve diğer çevresel faktörlere bağlıdır (De Filippo ve ark., 2010; Maslowski ve Mackay, 2011). Kommensal bakteri popülasyonundaki değişikliklerin lif sindirimi ve fermantasyonu, vitamin sentezi ve enflamatuar yanıtların düzenlenmesi üzerinde önemli etkileri vardır (Maslowski ve Mackay, 2011). Mikrobiyota, konakçının memeli enzimleri tarafından sindirilemeyen karmaşık diyet karbonhidratlarından besinleri emmesini sağlar (Zebeli ve Metzler-Zebeli, 2012). Son çalışmalar, yüksek tahıllı diyetlerle beslemenin rumen mikrobiyal popülasyonunu fibrolitik mikrobiyota aleyhine amilolitik ve laktik asit üreten popülasyonlar lehine değiştirdiğini göstermiştir (Fernando ve ark., 2010; Petri ve ark., 2013; McCann ve ark., 2016). Bu çalışmada da farklı glüten rasyonlarının total bakteri, koliform ve *C. perfringens* sayısı üzerine etkisini ve klostridial aşılama sonrası gelişen IgG düzeylerinin değişiminin belirlenmesi amaçlandı.

Yapılan bir çalışmada yüksek protein içerikli rasyon alan hayvanlarda, daha düşük proteinli konsantre yem verilen kuzulara kıyasla daha yüksek canlı ağırlık artışı, daha



yüksek antikor tepkileri ve daha düşük dışkı parazit yumurta sayısı görülmüştür (Hördegen ve ark., 2003). Bir başka çalışmada fermente mısır gluteni ile beslenen buzağuların rumen fermantasyonunu ve diyetlerdeki besin maddelerinin emilimini teşvik edebileceğini ve böylece buzağuların büyüme performansını artırabileceği rapor edilmiştir (Jiang ve ark., 2020). Rasyon nişastası, lif ve proteinin parçalanmasında, mikrobiyal protein sentezinde ve rumende peptit ve amino asit emiliminde önemli rol oynayan *Bacteroidetes* gibi bakteriler ruminantlarda yem sindiriminde önemli rol oynamaktadır (Castillo-Lopez ve ark., 2018).

Klein-Jöbstl ve ark. (2014) süttten kesilme öncesi buzağuların dışkısında en fazla Firmicutes'in temsil edildiğini, bunu *Bacteroidetes* ve *Proteobacteria*'nın takip ettiğini bildirmiştir. Başka bir çalışmada, buzağuların bağırsaklarında Firmicutes ve *Bacteroidetes* varlığı arasında negatif bir korelasyon olduğu belirtilmiştir (Rice ve ark., 2012). Fermente mısır gluteni ile beslenen buzağularda, *E. coli*, *Salmonella*, *Vibrio cholera* ve *Helicobacter pylori* gibi patojenik bakterileri içeren *Proteobacteria*'nın göreceli varlığının azaldığı bildirilmiştir (Mengatto ve ark., 2015; Castillo-Lopez ve ark., 2018). Bu nedenle, fermente mısır gluteninin buzağuların bağırsak sağlığını iyileştirebileceğini ve böylece özellikle ishal olmak üzere bağırsak hastalıklarının görülme sıklığını azaltabileceği rapor edilmiştir (Jiang ve ark., 2020). Belirtilen çalışmaların aksine mısır gluteni ile beslenen hayvanlarda yüksek düzeyde koliform grubu bakteri varlığı saptanmıştır.

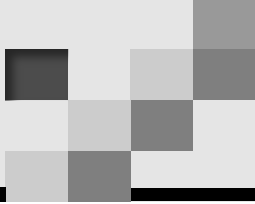
Gastrointestinal sistem mikrobiyotası, simbiyotik ve faydalı bir şekilde bağırsak mimarisinin ve immünomodülatör süreçlerin gelişiminde rol oynar. Doğumdan hemen sonra, ruminantlar yabancı mikroorganizmalar tarafından kolonizasyon sürecinden geçerler. Kommensal mikroorganizmalar tarafından üretilen arkea tipi moleküller, konakçı bağışıklık sisteminin gelişimine aracılık eder. Örneğin, Gram-negatif bir anaerob olan *Bacteroides fragilis*, memeli alt sindirim sistemine kolonize olur ve enflamatuar semptomların iyileştirilmesinde faydalı özelliklere

sahiptir. *B. fragilis* tarafından üretilen Zwitterionic polisakaritlerin, sistemik T hücre eksikliklerinin düzeltilmesi, T yardımcı hücre 1 (Th1)/T yardımcı hücre 2 (Th2) dengesizliklerinin ayarlanması ve lenfoid doku biyogenezinin yönlendirilmesi de dahil olmak üzere, gelişen bağışıklık sisteminin olgunlaşmasının yönlendirilmesinde çeşitli immünomodülatör roller oynadığı bildirilmiştir (Mazmanian ve ark., 2005; Raabis ve ark., 2019). Bu çalışmada kullanılan farklı protein kaynaklarının, kuzularda klostridial etkenlere karşı yapılan aşılama sonrasındaki IgG seviyelerini değiştirmediği saptanmıştır (P>0.05).

Sonuç olarak, farklı protein kaynakları sonucunda dışkıda bulunan toplam bakteri, koliform grubu bakteri ve *C. perfringens* açısından bir değişiklik olmadığı, yine klostridial etkenlere karşı yapılan aşılama sonrasında gelişen IgG seviyeleri arasında bir farklılığın oluşmadığı belirlenmiştir. Beslenme ve immün parametreler arasında ilişkinin araştırılması için daha detaylı araştırmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Kaynakça

1. Alp, M., & Kocabağlı, N. (2019). Aminoasitler ve bağışıklık. *Türkiye Klinikleri Animal Nutrition and Nutritional Diseases-Special Topics*, 1, 14-9.
2. Castellini, C., Proietti, P. C., Pedrazzoli, M., Dal Bosco, A., & Franciosini, M. P. (2006). Bacterial counts and characterization of intestinal flora in organic and conventional chickens. In *Proceedings of the 12th European Poultry Conference*. Verona, Italy.
3. Castillo-Lopez, E., Moats, J., Aluthge, N. D., Ramirez Ramirez, H. A., Christensen, D. A., Mutsvangwa, T., Penner, G. B., & Fernando, S. C. (2018). Effect of partially replacing a barley-based concentrate with flaxseed-based products on the rumen bacterial population of lactating Holstein dairy cows. *Journal of Applied Microbiology*, 124(1), 42-57. <https://doi.org/10.1111/jam.13630>
4. Cengiz, S., & Adıgüzel, M. C. (2020). Determination of virulence factors and antimicrobial resistance of *E. coli* isolated from calf diarrhea, part of eastern Turkey. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 67(4), 365-371.
5. De Filippo, C., Cavaliere, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poulet, J. B., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G., & Lionetti, P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(33), 14691-14696. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005963107>
6. Fernando, S. C., Purvis, H. T., Najjar, F. Z., Sukharnikov, L. O., Krehbiel, C. R., Nagaraja, T. G., Roe, B.A., & Desilva, U. (2010). Rumen microbial population dynamics during adaptation to a high-grain diet. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(22), 7482-7490. <https://doi.org/10.1128/AEM.00388-10>
7. Gabriel, I., Lessire, M., Mallet, S., & Guillot, J. F. (2006). Microflora of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. *World's Poultry Science Journal*, 62(3), 499-511.
8. Gümüş, R., Uslu, S., Aydoğdu, U., İmik, A., Ekici, M. (2021). Investigation of the effects of glutens on serum interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha levels and the immunohistochemical distribution of CD3 and CD8 receptors in the small intestine in male rats. *Brazilian Archives of*



- Biology and Technology, 64, 1-9.
9. Hördegen, P., Hertzberg, H., Heilmann, J., Langhans, W., & Maurer, V. (2003). The anthelmintic efficacy of five plant products against gastrointestinal trichostrongylids in artificially infected lambs. *Veterinary Parasitology*, 117(1-2), 51-60. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2003.07.027>
 10. İmik, H., Aytaç, M., Coşkun, B., & Fidancı, H. (2000). Effects of E and C Vitamins on the Growth and immunity of the Angora Goat Kids Exposed to Stress. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 24 (1), 51-58.
 11. Jeurissen, S. H., Lewis, F., van der Klis, J. D., Mroz, Z., Rebel, J. M., & Ter Huurne, A. A. (2002). Parameters and techniques to determine intestinal health of poultry as constituted by immunity, integrity, and functionality. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 3(1), 1-14.
 12. Jha, R., & Mishra, P. (2021). Dietary fiber in poultry nutrition and their effects on nutrient utilization, performance, gut health, and on the environment: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 12 (1), 1-16.
 13. Jiang, X., Ma, G. M., Cui, Z. Q., Li, Y., & Zhang, Y. G. (2020). Effects of fermented corn gluten meal on growth performance, plasma metabolites, rumen fermentation and bacterial community of Holstein calves during the pre-weaning period. *Livestock Science*, 231, 103866. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.103866>
 14. Kiu, R., & Hall, L. J. (2018). An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*. *Emerging Microbes and Infections*, 7 (1). <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0144-8>
 15. Klein-Jöbstl, D., Schornsteiner, E., Mann, E., Wagner, M., Drillich, M., & Schmitz-Esser, S. (2014). Pyrosequencing reveals diverse fecal microbiota in Simmental calves during early development. *Frontiers in Microbiology*, 5, 622. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00622>
 16. Kogut, M. H., & Arsenault, R. J. (2016). Gut health: The new paradigm in food animal production. *Frontiers in Veterinary Science*, 3, 71. <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00071>
 17. Lu, J., Idris, U., Harmon, B., Hofacre, C., Maurer, J. J., & Lee, M. D. (2003). Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (11), 6816-6824.
 18. Maslowski, K. M., & Mackay, C. R. (2011). Diet, gut microbiota and immune responses. *Nature Immunology*, 12(1), 5-9.
 19. Mazmanian, S. K., Liu, C. H., Tzianabos, A. O., & Kasper, D. L. (2005). An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell*, 122(1), 107-118. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.05.007>
 20. McCann, J. C., Luan, S., Cardoso, F. C., Derakhshani, H., Khafipour, E., & Loores, J. J. (2016). Induction of subacute ruminal acidosis affects the ruminal microbiome and epithelium. *Frontiers in Microbiology*, 7, 701. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00701>
 21. Mengatto, C. M., Marchini, L., de Souza Bernardes, L. A., Gomes, S. C., Silva, A. M., & Rizzatti-Barbosa, C. M. (2015). Partial denture metal framework may harbor potentially pathogenic bacteria. *The Journal of Advanced Prosthodontics*, 7(6), 468-474. DOI: <https://doi.org/10.4047/jap.2015.7.6.468>
 22. Mohiuddin, M., Iqbal, Z., Siddique, A., Liao, S., Salamat, M. K. F., Qi, N., Din, A. M., & Sun, M. (2020). Prevalence, genotypic and phenotypic characterization and antibiotic resistance profile of *Clostridium perfringens* type A and D isolated from feces of sheep (*Ovis aries*) and goats (*Capra hircus*) in Punjab, Pakistan. *Toxins*, 12(10), 657. DOI: 10.3390/toxins12100657
 23. Munday, J. S., Bentall, H., Aberdein, D., Navarro, M., Uzal, F. A., & Brown, S. (2020). Death of a neonatal lamb due to *Clostridium perfringens* type B in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 68(4), 242-246. <https://doi.org/10.1080/00480169.2019.1706660>
 24. Pawaiya, R. S., Gururaj, K., Gangwar, N. K., Singh, D. D., Kumar, R., & Kumar, A. (2020). The Challenges of Diagnosis and Control of Enterotoxaemia Caused by *Clostridium perfringens* in Small Ruminants. *Advances in Microbiology*, 10(5), 238-273. DOI: 10.4236/aim.2020.105019
 25. Petri, R. M., Schwaiger, T., Penner, G. B., Beauchemin, K. A., Forster, R. J., McKinnon, J. J., & McAllister, T. A. (2013). Changes in the rumen epimural bacterial diversity of beef cattle as affected by diet and induced ruminal acidosis. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(12), 3744-3755. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.03983-12>
 26. Prescott, H. (2002). *Laboratory exercises in microbiology*. 5th ed. (pp. 117-124). Texas, Lab Exerc Microbiol.
 27. Proietti, P. C., Castellini, C., Pedrazzoli, M., Dal Bosco, A., & Francosini, M. P. (2006). Bacterial counts and characterization of intestinal flora in organic and conventional chickens. In *Proceedings of the 12th European Poultry Conference*. Verona, Italy.
 28. Raabis, S., Li, W., & Cersosimo, L. (2019). Effects and immune responses of probiotic treatment in ruminants. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 208, 58-66. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2018.12.006>
 29. Rice, W. C., Galyean, M. L., Cox, S. B., Dowd, S. E., & Cole, N. A. (2012). Influence of wet distillers grains diets on beef cattle fecal bacterial community structure. *BMC Microbiology*, 12(1), 1-13.
 30. Torok, V. A., Hughes, R. J., Mikkelsen, L. L., Perez-Maldonado, R., Balding, K., MacAlpine, R., Percy, N. J., & Ophel-Keller, K. (2011). Identification and characterization of potential performance-related gut microbiotas in broiler chickens across various feeding trials. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(17), 5868-5878. <https://doi.org/10.1128/AEM.00165-11>
 31. Uzal, F. A., & Songer, J. G. (2008). Diagnosis of *Clostridium perfringens* intestinal infections in sheep and goats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20(3), 253-265. <https://doi.org/10.1177/104063870802000301>
 32. Uzal, F. A., Navarro, M. A., Li, J., Freedman, J. C., Shrestha, A., & McClane, B. A. (2018). Comparative pathogenesis of enteric clostridial infections in humans and animals. *Anaerobe*, 53, 11-20. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.06.002>
 33. Wu, K., Feng, H., Ma, J., Wang, B., Feng, J., Zhang, H., Jiang, Y., Li, R., Wang, J., & Yang, Z. (2022). Prevalence, toxin-typing and antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* in sheep with different feeding modes from Gansu and Qinghai provinces, China. *Anaerobe*, 73. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2022.102516>
 34. Zebeli, Q., & Metzler-Zebeli, B. U. (2012). Interplay between rumen digestive disorders and diet-induced inflammation in dairy cattle. *Research in Veterinary Science*, 93(3), 1099-1108. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.02.004>
 35. Zhu, Y., Lin, X., Zhao, F., Shi, X., Li, H., Li, Y., Zhu, W., Xu, X., Lu, C., & Zhou, G. (2015). Meat, dairy and plant proteins alter bacterial composition of rat gut bacteria. *Scientific Reports*, 5, 1-14. doi: 10.1038/srep15220