

Laboratuvar Hayvanı Diyetleri ve Hayvan Besleme Bilimindeki Yeri

Buğra GENÇ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Laboratuvar Hayvanları AD. Samsun Türkiye.

Geliş Tarihi / Received: 31.03.2017, **Kabul Tarihi** / Accepted: 30.11.2017

Özet: Sağlık bilimleri ve biyoloji alanlarında yapılan çalışmalarda gerçeğe en yakın sonuçların elde edildiği yöntem model hayvan kullanımudur. Bu çalışmalarda birçok avantaja sahip olması nedeniyle laboratuvar hayvanları kullanılmaktadır. Bu amaçla üretilen ve elde tutulan laboratuvar hayvanları için konvansiyonel ve IVC (individually ventilated cages) kafes sistemleri mevcuttur. Hayvanlar konvansiyonel kafeslerde standart diyetlerle beslenirken, IVC gibi hepa filtreli ve tam korunaklı sistemde ise steril yemle beslenir. Ülkemizde IVC sisteminde maddi nedenlerle sterilize edilmiş özel diyet kullanımı yerine standart diyetlerin otoklavla sterilizasyonu en çok tercih edilen yoldur. Bu çalışmada ülkemizde görülen laboratuvar hayvanları diyetleri üretim, depolama ve teminindeki sorunlar ve hayvan besleme bilimi çerçevesindeki çözüm olanakları tartışılacaktır.

Anahtar kelimeler: Diyet, laboratuvar hayvanları, model

Laboratory Animal Diets and Its Place in Animal Nutrition

Abstract: Model animal use is the best methodology that gives the closest results to the real situation in health sciences and biological studies. In these studies, due to their various advantages, laboratory animals are used. There are conventional and IVC (individually ventilated cages) cages for the laboratory animals which are produced for that purpose. While the animals are fed by standardized diets in conventional cages, they are fed by sterilized feeds in hepa filtered and full protected systems such as IVC. In Turkey, because of the costs, instead of sterilized special feeds, sterilization of the standardized feeds by autoclave is the most preferred method in IVCs. In this study, common problems and possible solutions in the production, storage and supply of laboratory animals diet in our country will be discussed in the framework of animal nutrition science.

Key words: Diet, laboratory animals, model.

Giriş

Tasarlanan biyomedikal araştırmalarda elde edilmek istenen sonuçların daha güvenilir olması için günümüzde canlı modellerin kullanıldığı in vivo yöntemlerin tercihi giderek artmaktadır. Bu yöntemler arasında ise çalışmanın laboratuvar hayvanı modelleri oluşturularak yürütülmesi en güvenilir seçeneklerden birisidir. En doğru ve gerçekçi sonuca ulaşabilmek için öncelikle en uygun modelin oluşturulması ve model özelliklerinin sürekliliği büyük önem taşımaktadır. Bu önem 3R kuralı olarak bilinen ve canlı modellerin kullanıldığı tüm çalışmalarda sağlanması gereken şartların yerine getirilmesi için de değer taşımaktadır [16]. Araştırmalarda istenilen sonuca ulaşılabilmesi sağlıklı ve doğru modelin bulunması yanında dış faktörlere (diyet, altlık, fotoperiyot, gürültü, nem, ısı ve personel-hayvan etkileşimi) de bağlıdır [13]. Kullanılan modellerin çalışma sonlandırılıncaya kadar uygun özellikte ka-

labilmesi için çalışma öncesi ve süresince dış faktörlerden en hayati öneme sahip olan beslenmeleri hususunda en uygun diyetin seçimi önemlidir. Bu gereksinim özellikle ülkemizde yeterli sayıda gerçekleştirilemeyen metabolik çalışmalarda ön plana çıkmaktadır. Nitekim araştırmaların güvenilirlik ölçütlerinden biri olan tekrarlanabilirlik özelliği için modellerin besin maddesi gereksinimlerinin en uygun düzeyde ve koşulda sağlanması zorunludur [3].

Teknolojinin gelişmesi ile birlikte yeni açılan multidisipliner alanlardaki hayvan modeli kullanılan çalışmalarda sonucu etkileyebilen en önemli etkenlerden biri de diyetdir [7]. Biyomedikal çalışma alanlarında kullanılan tüm laboratuvar hayvanlarının beslenmesi gelişmiş seviyedeki ülkelerde oldukça modern, özel ihtiyaçlara cevap verebilen bir anlayışla yürütülmektedir. Ülkemizde ise daha çok gelir hayvanlarına yönelik besleme araştırmalarının gerçekleştirildiği ancak geniş bir alana hitap eden laboratuvar hayvanları beslenmesine ve yem tek-

nolojisine dair çalışmaların ve hizmet olanaklarının oldukça geri kaldığı görülmektedir. Metabolizma, teknik geliştirme, özel diyetler (hayvan ve insan için) ve biyoteknoloji alanındaki çalışmalarda çok kullanılan bu hayvanların tüketecekleri özel ve standart diyetlerin elde edilme zorluğu hayvan besleme bilimi çerçevesinde yapılacak olan çalışmalarla daha rahat aşılabılır. Hayvan modeli üzerinde gerçekleştirilen araştırmalarda en çok fare, sıçan, tavşan, kobay, hamster ve gerbil türlerinin ve soylarının kullanıldığı bilinmektedir. Bu modellerden genel amaçlı olanları, tek bir hastalık, bozukluk ya da özelliğe istinaden üretilmemiş olan hastalık modelleridir. Bu modeller üretimlerinin ve yaşam şartlarının kolaylığı ve sağlık alanında geniş bir alanda kullanılabilmeleri nedeniyle, hayvan modeli ile gerçekleştirilen birçok çalışmada yer bulmaktadır. Çalışılmak istenen konuya bağlı olarak özel bir amaç için üretilen özelleştirilmiş olan soylar ise çalışma alanına göre metabolizma, immunoloji bağımlılık dermatoloji nöroloji, onkoloji, kardioloji, cerrahi, temel bilimler, enfeksiyon hastalıkları, göz hastalıkları, iç hastalıkları, doğum, reproduksiyon ve infertilite, genetik kontrol, genetik araştırma, farmakoloji, toksikoloji ve biyogüvenlik ve moleküler bilim alanlarında kullanılmak üzere üretilen soylar olarak sınıflandırılabilir [17]. Bunlardan metabolizma alanında beslenme, biyoyararlanım, açlık hiperglisemisi, genetik hipertansiyon, diyabet [tip 1, tip 1 (IDDM), tip 2, tip 2 (poligenik, transiyent)] diyabetik komplikasyonlar, diyetle diyabet oluşturma, ateroskleroz, hiperfaji, hiperkolesterolemi, endokrin defekt (hipotalamus, pitüitar bez ve pankreas), dislipidemi, leptin seviyesi, leptin reseptör defekti, insülin direnci, lipid metabolizma hastalıkları, PGP eksikliği, endokrin yetersizlik, lipid homeostazis, metabolik defekt, metabolik sendrom, obezite, genetik obezite, glukoz intoleransı, hipertansiyon, hiperlipidemi, hipertrigliseridemi, hipoksi, hiperinsülinemi, organik asidüri, kemik yoğunluğu, arteriyoskleroz, nefropati, STZ indüksiyonlu diyabet, osteoporoz, protoporfiri çalışmaları için oluşturulacak olan modellerde diyet özellikleri ve beslenme prosedürü büyük önem taşımaktadır. Hayvan modeli oluşturmak için farklı yöntemler mevcuttur. Bu yöntemlerin arasında transgenik olarak hastalığa yatkınlığı geliştirilenler ya da kendiliğinden hasta olan hayvanlar, ilaç ve kimyasal ajan uygulamaları (streptozotosin, alloxan), virus (EMC, Coxsachie

B, KRV, Rubella, CMV) ile kontaminasyon ve cerrahi girişim olduğu gibi çok yaygın olmakla birlikte diyet uygulamaları ile model oluşturma dikkati çekmektedir [22].

Her araştırmada uygun tür ve soyun saptanması kadar uygun diyetin oluşturulması ve sunumu da araştırma tasarımı, gerçeğe en yakın model teşkili ve en yakın doğrulukta veri eldesi için önem arz etmektedir. Buna istinaden ülkemizde laboratuvar hayvanları için ihtiyaca yönelik farklı özelliklerde diyet sağlanmasında olanak yetersizliği, spesifik modelleme konusunda dezavantaj oluşturmaktadır. Diyetle birlikte model hayvanların tutulduğu sistemlerin konvansiyonel olması da özgün çalışmaların gerçekleştirilememesinde çok büyük bir etkenidir.

Sorunlar ve Nedenleri

1. Diyet üretim sorunu

Amerika gibi laboratuvar hayvanı kullanımında gelişmiş olan ülkelerde araştırma diyetleri üzerine yapılan çalışmaların 1970'li yıllarda [2] başladığı ve bu tarihlerde pürifiye yem tanımıyla standart referans diyet özelliği taşıyan, farklı araştırmalara yönelik laboratuvar hayvanı diyetlerinin geliştirildiği görülmektedir. Buradan da anlaşılacağı üzere bir standart yemin her çalışmada kullanımının doğru olamayacağı görülmektedir. Bu nedenle her araştırma için farklı özellikte yem üretiminin gerekliliğine süregelen yıllarda farklı araştırmalarda [9,3] dikkat çekilmiştir ve günümüzde American Institute of Nutrition (AIN)'ın hazırlamış olduğu prosedüre göre saf (pürifiye) diyet üretimi yapılmaktadır.

21. yüzyılın sonlarında yem teknolojisi alanında çalışan bilimsel enstitü ve sanayi firmaları, hayvan araştırmalarında kullanılan diyetlerin kalitesi ve dünya çapında geçerli olması gereken standardizasyonunu [3] sağlamak adına çalışmalarına hız vermiş ve bu konuda standart bilgiler oluşturmaya başlamıştır.

Araştırmalarda kullanılan laboratuvar hayvanları diyetleri formülasyon bildirimlerine göre [18] farklılık göstermektedir. Open formula (açık formüllü) diyet tanımına, ilk olarak 1970'li yıllarda Dr Joseph Knapka'nın laboratuvar hayvanları yemleri standardizasyonu üzerine yaptığı çalışmalarda rastlanmakta olup 1983 yılında yayımlanmış

olan bir makalesinde [24] bu tanım bilim dünyasında yerini almıştır. Bu formulasyonun üretimindeki amaç, denemelerdeki istenmeyen çeşitliliği ve laboratuvar masraflarını azaltmaya yöneliktir ve diyetlerdeki tüm besinsel ve kimyasal maddelerin ve parametrelerin değerleri rakamsal olarak belirtilmiştir. Böylelikle denemelerde karşılaşılan diyetle bağlı faktör değişkenleri de en aza indirgenmiş olup tekrarlanabilir denemelere olanak sağlanmaktadır. Ayrıca bu diyetleri üreten firmalar araştırmacının isteği üzerine parametrelerde değişiklik yaparak farklı ürünler tasarlayabilir.

Herhangi bir taşeron firma tarafından üretilen, besin ve kimyasal madde içerikleri listelenmiş ancak rakamsal değerleri belirtilmeyen ticari diyetler ise kapalı formüllü diyet (closed formula diets) [6,19] olarak nitelenmektedir. Açık formülasyon sadece üretici tarafından bilinir. Ticari anlamda daha düşük maliyetli ürünlerdir ve diyetle bağlı faktör değişkenleri olma riski yüksektir.

Sabit formüllü (Fixed formula) diyetler [11] ise içerikleri belli ve değişken olmayan ürünlerdir ancak ticari tescil hakkı gereği içeriklerin kantitatif değer değişikliği araştırmacılar tarafından takip edilemez [3]. Ülkemizde laboratuvar hayvanları diyeti üretiminde ve piyasaya arzındaki içerik bilgileri sunumunda hammadde değer bilgilerinin tam açıklıkla belirtilmediği dikkati çekmektedir. Genel olarak verilen bilgiler Su, Ham protein, Ham Selüloz, Ham Kül, HCl'de Çözünmeyen Kül, NaCl, Metabolik Enerji değerleri yüzde (%) rasyon şeklinde Makro Elementler: Kalsiyum (en az-en çok), Fosfor (en az), Sodyum (en az-en çok), Mikro Elementler: Mangan (en az), Çinko (en az) şeklinde verilmektedir. Dolayısıyla bu bilgiler yağ asidi (bitkisel-hayvansal), amino asit (bitkisel-hayvansal), fitoöstrojen, karbonhidrat türü, vitamin, ağır metal profilini yansıtmada yetersiz kalmakta ve bu diyetlerle yapılabilecek araştırma sayısı kısıtlı kalmaktadır. Bu bilgiler ışığı altında ülkemizde üretilen diyetlerin açık formüllü diyetler olmaması ve araştırmalar için oldukça maliyetli olan dış kaynaklardan temin edilme zorunluğu daha kaliteli araştırmaların yapılmasına neden olmaktadır denebilir.

2. Sterilizasyon Yöntemi

Araştırma amaçlı laboratuvar hayvanı kullanımının yüksek oranda olduğu ülkelerde daha modern ve

güvenilir bir sistem olan IVC (individually ventilated cages) kafes tercihi geniş bir yer tutarken ülkemizde bu sistemden çok HEPA filtreli özel kafeslerin olmadığı konvansiyonel sistem kullanımı daha büyük bir yaygınlık göstermektedir. Kullanılan sistemlere göre ise araştırma amaçlı laboratuvar hayvanı diyetlerinin sterilizasyon işlemi büyük önem kazanmaktadır. Diyetlerdeki pelet yapım tekniğinin besin maddesi üzerine etkileri literatürde geniş yer almasına rağmen bu diyetlerin hayvanlara sunulmaları öncesinde yeniden ısıtma işlemi uygulanmasının etkileri yeterince araştırılmamıştır [4]. Spesifik hastalık tabloları ve sendromların araştırılmasında kullanılan model hayvanların, metabolik etki açısından daha uygun diyetlerle beslenmesi ve böylece çalışma süresince en uygun model olma özelliğinin sağlanmasında diyetlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri büyük önem taşımaktadır.

Sterilizasyon işlemleri arasında en pratik olan otoklavlama yöntemi, yüksek ısıya (121 C°-134 C°) ve etki süresine (20-45 dakika) bağlı olarak besin madde denatürasyonuna [5] neden olmaktadır. Diyet üreticileri bu risk karşısında besin madde değerlerini daha yüksek tutarak rasyon düzenlemektedir [30]. Ancak yine de diyetlerin otoklavla sterilizasyonu sonrasında besin madde yıkımının ne kadar olduğu net olarak bilinmeden hayvanlara servis edilmektedir. Bu durum karşısında bilimsel verilere dayanarak rasyonların düzenlendiği ve önceden sterilizasyonları yapılarak piyasaya sürülen diyetlerin kullanımı daha doğru olmaktadır. Ancak bu diyetlerin ithal ve yüksek maliyetli olması nedeniyle, araştırmalarda standart özellikteki diyetlerin otoklavlanması yöntemine başvurulmaktadır. Bunun yanında araştırma merkezlerinde amino asit, ham protein, yağ asitleri, vitamin, karbonhidrat gibi ısıtma işlemi sonrasında yüksek ısıdan etkilenmesi kaçınılmaz olan değerlerin tetkiki yapılmadan hayvanlara sunulmaktadır. Ayrıca sadece azot (N) sayısına bağlı belirlenebilen ham protein değeri protein niteliğinde olmayan azotları da kapsadığından ve N miktarının ısı ile azalmaması nedeniyle gerçek protein değerliğini ortaya çıkarmak adına amino asit profilinin [37] gösterilmesi daha doğru bir yaklaşımdır. Söz konusu besin madde kayıplarının özellikle uzun süreli araştırmaların gerçekleşmesi sürecinde hedeflenen sonuçlardan farklı verilere ulaşılmasında rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Diyetlerde otoklavlama işlemi sürecinde ve sonrası bazı antinutrisyonel faktörlerin oluşması da mümkündür [36]. Bunlara örnek olarak glukosinolatlar [14], tripsin inhibitörleri, hemaglutinin [31], fitaz [35] sayılabilir. Isıl işlem sonucunda Maillard reaksiyonu [20], okside sülfür amino asitleri, D-amino asit oluşumu ve peptid zincir bozulumu gibi düşük amino asit yararlanımı ve protein kalitesine neden olan tepkimelerin geliştiği bilinmektedir [36]. Lantionin gibi antinutrisyonel faktörlerin oluşumu ile de esansiyel amino asitlerden sistinin biyoyararlanımı düşmektedir [32].

Otoklavla uygulanan yüksek ısı ve buhar nedeniyle protein, nişasta ve selülozun yapısal değişimi pelet sertliğini ve kırılabilirliğini değiştirmekte rodentlerin diş sağlığı açısından önemli olan pelet dayanıklılığı ve formunu etkileyebilmektedir [4]. Fare diyetlerinde yapılan bir çalışmada [4] 121 C° ve 20 dakika otoklavla sterilizasyonun diyetin yağ ve şeker oranını düşürdüğü, selüloz oranını ve pelet sertliğini artırdığı ve bitkisel temelli diyetlerde sertliği artırdığı tespit edilmiştir. Otoklavlanmış diyet tüketen dişi farelerde diğer gruplara göre yem tüketiminin daha yüksek olduğu buna karşın belirgin haftalarda canlı ağırlık artışının azaldığı bildirilmiştir. Bu durumu otoklavlanmış yemin metabolize olabilir enerji yönünden daha düşük değerde olmasına bağlamışlardır. Uzun süreli, doku kayıplı ve metabolik çalışmalarda başta amino asitler olmak üzere olası besin maddesi dengesizliğine bağlı sorunların saptanması ve giderilmesi adına diyetlerin detaylı analizi önem arz etmektedir.

3. Fitoöstrojenler

Bitkisel yemlerde doğal olarak bulunan fitoöstrojenlerin laboratuvar hayvanlarında hormonal düzen üzerine olan etkileri birçok çalışmada [1, 25, 26, 28, 33] araştırılmıştır. Farklı tarihlerde hasat edilen aynı yem hammaddelerinin kullanıldığı diyet rasyonlarında fitoöstrojen seviyelerinin farklı olabileceği bu durumun rat ve farelerde [12] klinik seviyede farklılık yaratabileceği gösterilmektedir. Rat diyetlerinde başlıca protein kaynağı olarak kullanılan soya fasülyesi küspesi gibi yem hammaddelerinde ısıl işlem nedeniyle aktif hale gelen fitoöstrojenlerin [8] hormonal düzeni negatif yönde etkileyerek seksüel olgunluk yaşını, üreme organı gelişimini ve östros siklusunu değiştirebileceği, gebelik sürecinde

reproduktif fizyolojiyi bozarak anomalilere neden olabileceği bildirilmektedir [25].

4. Standart Diyetlerde Yem Hammaddesi ve Besin Madde Oran Farklılıkları

Laboratuvar hayvanı diyetlerinde bitkisel ve hayvansal olmak üzere çok farklı yem hammaddeleri kullanılır. Bu yemler pelet halini aldıktan sonra *ad libitum* olarak hayvanlara servis edilir. Standart bir laboratuvar hayvanı diyetinde enerji tüketimi hedefli rasyon yapımı söz konusudur. Bu diyetler ortalama besin maddesi ve enerji oranlarına ulaşılarak elde edilir. Ancak bir laboratuvar hayvanı için yeterli bireysel ve çevre şartlarına ait veri olmadan ortalama besin madde yoğunluğu ve enerji değeri belirlemek doğru bir yaklaşım değildir [2]. Bu nedenle standart diyetlerin kullanılmaması gereken çalışmalarda farklı sorunlar ortaya çıkabilir. Protein oran sabitliğinin ön planda olduğu (%12) bir çalışma için [3] hazırlanan 3 farklı diyet mısır, yulaf, balık unu, buğday ve soya unu farklı oranlarda kullanılarak istenen ham protein düzeyine sahip 3 diyet rasyonu elde edilmiştir. Rasyonların herbirinde yemler farklı oranda kullanılmasına rağmen toplam rasyon değerinde ham protein düzeyleri eşit olmuştur ancak her yem maddesinin amino asit ve yağ asit kompozisyonu farklı olacağı için hayvanlara servis edilecek yemlerin biyolojik yararlanım açısından eşit olmadığı görülmüştür. Bu durum hassasiyeti yüksek çalışmaların yapıldığı laboratuvar hayvanları metabolizmasını etkileyecek değere sahiptir. Dolayısıyla araştırmacıların çalışma öncesi büyük bir hassasiyetle bu durumu göz önüne alması önemlidir. Ratların vajinal açıklık oluşma zamanı üzerine yapılan bazı çalışmalarda [40,41] farklı partilere ait ancak aynı diyetle beslenen hayvanlarda vajinal açıklık oluşma zamanlarında önemli ($P<0,05$) farklılıklar olduğu bu diyetlerde fitoöstrojenlerin farklı düzeylerde bulunduğu belirtilmiştir. Nitekim bu farklılıkların reproduktif, hormonal, toksikolojik araştırmalarda yanıtıcı sonuçlar oluşturabileceğine dikkat çekilmiştir. Yine ticari rodent diyetleri içerik farklılıklarının araştırıldığı bir çalışmada [34] aynı düzeyde enerji içeren diyetlerdeki farklı yağ asitleri içerikleri nedeniyle ratlarda pankreatik sekresyon ve kolesistokinin salınımının değiştiği gösterilmiş ve ticari diyetlerdeki besinsel kompozisyonun ekzokrin pankreatik fonksiyonu etkilediği sonucu

na varılmıştır. Başka bir çalışmada [42] diyetlerin farklı bölgelere taşınması sırasında meydana gelen kimyasal reaksiyonların hayvanlarda uterus gen ekspresyonu ve reproduktif fonksiyonları üzerine beklenmedik ve önemli değişikliklere neden olduğu görülmüştür. Deneme ve kontrol gruplarında tüm hayvanların aynı standart diyeti tüketmeleri aynı şartlarda olmalarını sağlasa da yukarıda belirtilen nedenlerden ötürü metabolik anlamda normal parametrelerden uzaklaşma riski çalışmanın güvenilirliğini tehlikeye atabilecek sonuçlar doğurabilir.

5. Bireysel Varyasyon

Laboratuvar hayvanlarının beslenmesinde dikkate alınmayan diğer hususlar ise deneklerin değişen fizyolojik ve biyokimyasal değerlerine uygun olan diyet [30] tercihleri zorunluluğudur. Daha yağlı olan obez Zucker modeli bir ratta enerji gereksinimi normal bir rata göre %15 değerinde daha düşüktür [10], nitekim araştırma sırasında hayvanlardaki gelişen bireysel farklılıklar çalışma sonucunu etkileyebileceğinden özellikle metabolizma çalışmalarında besin madde içeriklerinin ihtiyacı karşılamaması dikkate alınmalıdır. Yapılan bazı çalışmalarda [25, 29, 43] genetik bir örneklik içinde olan deneklerde dahi aynı besin maddeleri ile beslenme durumunda dahi birbiri ile örtüşmeyen sonuçlar ortaya koymuş olması laboratuvar hayvanlarının beslenme fizyolojilerine dair standartların daha detaylı biçimde bilinmesi gerekliliğini de ortaya koymaktadır.

6. Yem Deposu Şartları, Yemlik ve Sulama Sistemlerinin Hijyeni

Laboratuvar hayvan diyetleri çiftlik yemleri için kullanılan tesislerde veya rodentisit, böcek öldürücü, hormon, antibiyotik, büyüme faktörü veya fümigant gibi katkı maddeleri içeren herhangi bir ürünle imal edilmemeli veya depolanmamalıdır. Malzemelerin ve diyetlerin depolandığı ve işlendiği alanlar, kemirgenler, kuşlar ve böceklerin girmesini önlemek için temiz tutulmalı ve düzenli olarak kontrol edilmelidir [30].

Yemlerin besin stabilitesi genellikle sıcaklık ve nem azaldığında artmaktadır. Herhangi bir belirli yem partisinin raf ömrü depolama alanının çevresel koşullarına bağlı olup sıcaklık ve nemin yüksek olduğu yerde depolanan yem, birkaç hafta içinde bozulabilir [30]. Klimalı alanlarda dahi depolanmış

olan doğal içerikli yemler üretim tarihinden itibaren 180 gün, eğer yüksek oranda C vitamini içeriyorsa da 90 gün içinde tüketilmelidir [21]. Uzun süreler boyunca veya uygun olmayan çevresel koşullar altında saklanan diyetler kullanılmadan önce besin madde içeriği bakımından analize tabi tutulmalıdır. Antioksidan içermeyecek şekilde formüle edilmiş ya da yağ gibi yüksek oranda bozunabilir içerikli diyetler özel taşıma veya saklama prosedürleri gerektirebilir [30]. Yüksek lipidli diyetler çeşitli formülasyon ve depolama önlemleri gerektirir. Ayrışmayı azaltmak için ek bir önlem olarak, diyetler, sızdırmaz hale getirmeden önce argon veya azot ile yıkanmış bir kapta +4 °C sıcaklıklarda saklanmalıdır [15]. Diyet çok yüksek derecede doymamış yağ içeriyorsa (örn., balık ürünü, yağ), yemlikte kalan yemin 24 ila 48 saat arasındaki bir sürede önlerinden alınması gerekmektedir [23]

Laboratuvar hayvanlarının içtikleri suların insanların içmesi gereken su ile aynı mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olması gerekliliği göz önüne alınacak olursa hayvanların su içme aparatlarının sterilizasyonun önemi ortaya çıkmaktadır. Su şişeleri, subap tüpleri, tıplar ve diğer küçük parça ve ekipman basınçlı sıcak su ve/veya deterjan ile yıkanmalı ve gerekirse mikroorganizmaları yok etmek için uygun kimyasal maddeler kullanılmalıdır. Ultrasound tekniği özellikle küçük parçaların sterilizasyonunda etkin bir yöntem olabilir [21]. Eğer otomatik sulama sistemi kullanılıyorsa Meier ve ark. [27]'nin bildirdiği yöntemler doğrultusunda bol miktarda sıcak su ve kimyasal içerebilen yıkama sistemleri ile sanitasyon sağlanabilir. Konvansiyonel yöntem olarak tanımlanan sıcak su ile ve elle yıkama yöntemleri birçok mikrobiyal etkeni bertaraf etmede etkili gibi görünse de spesifik patojenlerden arı hayvanların suluklarının sanitasyonu için bu yöntem yetersiz kalabilir. Bu nedenle yıkama ve sanitasyon sistemlerinin en güncel olanını tercih etmek daha doğru olacaktır. Sanitasyonda kullanılacak olan kimyasallar içinde %70-90 etil alkol, %85 izopropil alkol, quaterner amonyum, aldehydler, fenoller, klorin, klorheksidin tuzları, hidrojen peroksit, perasetik asit biyogüvenlik kapsamında başvurulabilir olanlarıdır.

Uygun depolama şartlarının sağlanmaması, diyetlerin hayvanlara sunum öncesi besin madde içeriği ve mikrobiyolojik analizlerinin rutin olarak sağ-

lıklı biçimde yapılmıyor olması ülkemizde yaygın biçimde görülen sorunlardan olup yukarıda anılan olası dezavantajlı durumlara neden olabilmektedir.

Çözüm Önerileri ve Sonuç

Derlenen bilgiler ışığı altında mevcut sorunların araştırma planlarında engel oluşturulmasına ve zorlayıcı etkilerinin ortadan kaldırılmasına yönelik bilimsel desteğe ve ticari farkındalığın oluşturulmasına ihtiyaç bulunduğu görülmektedir. Buna istinaden hayvan modeli kullanılacak çalışmalarda hayvan besleme alanında uzmanların ve akademisyenlerin etkinliğinin artması etkili olabilir. Ülkemizdeki diyet üreticilerinin modern ve güncel üretim ve yaşam sistemlerini kullanması teşvik edilmelidir. Laboratuvar hayvanları diyetlerinde ısı ve basınç etkili sterilizasyonun özellikle yağ asitleri, esansiyel amino asitler ve vitaminler üzere diyet besin maddesi içeriği (ham yağ, ham kül, kuru madde, asit deterjan fiber, nötral deterjan fiber, ham selüloz) ve hayvanların kan esansiyel amino asit değerleri, organ gelişimleri ve yemden yararlanma oranları üzerine olan etkisini ortaya koyacak çalışmalara ihtiyaç vardır. Değişen besin maddesi içeriği ile beslenen deneklerdeki metabolik farka dikkat çekilmeli ve araştırma sonuçlarının bundan etkilenebileceği kesinlikle vurgulanmalıdır. Tonaj sorunu nedeniyle düşük miktarlarda farklı özelliklerde diyet rasyonunu sağlanamamasına karşın deneme birimlerinde küçük çaplı ve maliyeti düşük pelet makineleri ile yapılabilen, hayvan modeline uygun diyet rasyonlarıyla bu sorunun çözülebilemesi mümkündür. Bu sorunu ortadan kaldırmak amacıyla, çalışma sonuçlarının hayvan yemi ve diyetleri üreten firmalarla ve deney hayvanları araştırma ve uygulama merkezleri ile paylaşılması arz talep çerçevesinde ihtiyaca cevap verebilecek üretim stratejisinin kurulmasına yardımcı olacaktır. Böylelikle yurtdışından yüksek fiyatlarla yapılan özel içerikli yem karmaları ve diyet ithalatının azaltılması sağlanabilir. Söz konusu sorunlar üzerine farkındalığın artırılması, akademik düzeyde tartışılabilmesi ve çözüm yollarının aranmasına yönelik veteriner fakültelerinde laboratuvar hayvanları ve hayvan besleme anabilim dalları lisans ve yüksek lisans derslerinde laboratuvar hayvanları diyetleri konularına geniş yer verilmelidir.

Kaynaklar

1. Andreoli MF, Stoker C, Rossetti MF, Lazzarino GP, Luque EH, Ramos JG (2016): Dietary withdrawal of phytoestrogens resulted in higher gene expression of 3-beta-HSD and ARO but lower 5-alpha-R-1 in male rats. Nutrition research. September 2016 Volume 36, Issue 9, Pages 1004–1012.
2. American Institute of Nutrition ad hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. 1977. Report of the Committee. J Nutr 107:1340–1348.
3. Barnard DE, Lewis SM, Teter BB, Thigpen JE (2009): Open- and Closed-Formula Laboratory Animal Diets and Their Importance to Research. Journal of the American Association for Laboratory Animal Science. Vol 48, No 6 November 2009 Pages 709–713
4. Barszcz M, Tusino A, Taciak M, Lukowicz JP, Molenda M, Morawski A (2014): Effect of the composition and autoclave sterilization of diets for laboratory animals on pellet hardness and growth performance of mice. Ann. Anim. Sci. 14 (2): 315-328
5. Bielohuby M, Bodendorf K, Brandstetter H, Bidlingmaier M, Kienzle E (2010): Predicting metabolisable energy in commercial rat diets: physiological fuel values may be misleading. Br J Nutr. 103(10):1525-33
6. Black HS (2015): The role of nutritional lipids and antioxidants in UV-induced skin cancer. Frontiers in Bioscience, Scholar, 7, 30-39, June 1, 2015.
7. Bollard ME, Stanley EG, Lindon JC, Nicholson JK, Holmes E (2005): NMR-based metabolomic approaches for evaluating physiological influences on biofluid composition. NMR Biomed 18:143–162.
8. Brown NM, Skutchell KDR (2001): Animal models impacted by phytoestrogens in commercial chow: implications for pathways influenced by hormones. Lab. Invest, 81: 735–747.
9. Clarke HE, Coates ME, Eva JK, Ford DJ, Milner CK, O'Donoghue PN, Scott PP, Ward RJ (1977): Dietary standards for laboratory animals: report of the Laboratory Animals Centre Diets Advisory Committee. Lab Anim 11:1.
10. Deb S, Martin RJ, Hershberger TV (1976): Maintenance requirement and energetic efficiency of lean and obese Zucker rats. J. Nutr. 106:191–197.
11. Eclarinal JD, Zhu S, Baker MS, Piyaathna DB, Coarfa C, Fiorotto ML, Waterland RA (2016): Maternal exercise during pregnancy promotes physical activity in adult offspring. FASEB J March 31, 2016, doi:10.1096/fj.201500018R
12. Erdoğan D, Tas M, Elmas Ç, Özoğul C, Vicdan K (2008): Investigation of the ultrastructure of the epididymis after application of oestrogen-free and oestrogen-rich diets Gazi Tıp Dergisi / Gazi Medical Journal 2008: Cilt 19: Sayı 4: 172-176
13. Faith R, Hessler JR (2006): Housing and environment, p 303–337. In: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL, editors. The laboratory rat. San Diego (CA): Academic Press.
14. Fenwick GR, Heaney RK, Mullin WJ (1982): Glucosinolates and their Food Processing (Friedman, M., ed.), pp. 499–508. Plenum Press, New York,
15. Fullerton FR, Greenman DL, Kendall DC (1982): Effects of storage conditions on nutritional qualities of semipurified (AIN-76) and naturalingredient (NIH-07) diets. J. Nutr. 112:567–573.
16. Genç B, Aksoy A (2014): The ethical issues in experimental animal researches. P:57. Science based assessment of laboratory animal welfare. Abstract book, 17-19 November 2014. St. Petersburg.
17. Genç B, Aksoy B (2015): Laboratuvar hayvanları model seçiminde soyların önemi. Türkiye Klinikleri J Lab Anim doi: 10.5336/jlabanim.2016-50700

18. Giles K, Guan C, Jagoe TR, Mazurak V (2016): Diet composition as a source of variation in experimental animal models of cancer cachexia. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* 2016; 7: 110–125
19. Header E, Mashish AEM, ElSawy N, Kushi AA, Boshy ME (2016): Gastroprotective effects of dietary honey against acetylsalicylate induced experimental gastric ulcer in albino rats. *Life Science Journal* 2016;13(1).
20. Hurrell RF (1984): Reactions of food proteins during processing and storage and their nutritional consequences. In: *Developments in Food Proteins, Volume 3* (Hudson, B.J.F., ed.) Applied Science Publishers, London, England s: 213–244.
21. Institute of Laboratory Animal Research (ILAR) (2011): *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (8th ed.). Washington, D.C.: The National Academies Press.
22. İrer SV, Gülinnaz A (2004): Experimental Models of Diabetes Mellitus. *Türk Klinik Biyokimya Derg*; 2(3): 127-136
23. Johnston PV, Fritsche KL (1989): Nutritional methodology in dietary fat and cancer research. Pp. 9–25 in *Carcinogenesis and Dietary Fat*, S. Abraham, ed. Boston: Kluwer Academic.
24. Knapka JJ (1983): Nutrition, p 52–67. In: Foster HL, Small JD, Fox JG, editors. *The mouse in biomedical research*, vol III: normative biology, immunology, and husbandry. New York (NY): Academic Press.
25. Layman DK, Walker DA (2006): Potential importance of leucine in treatment of obesity and the metabolic syndrome. *J Nutr* 136:319S–3123S
26. Márquez SR, Rojas LJ, Hernández A, Romero C, López G, Miranda L, Aguilera AG, Solano F, Hernández E, Chemineau P, Keller M, Delgadillo JA (2016): Comparison of the effects of mesquite pod and *Leucaena* extracts with phytoestrogens on the reproductive physiology and sexual behavior in the male rat. *Physiology & Behavior* Volume 164, Part A, 1 October 2016, Pages 1–10
27. Meier TR, Maute CJ, Cadillac JM, Lee JY, Righter DJ, Hugunin KMS, Deininger RA, Dysko RC (2008): Quantification, distribution, and possible source of bacterial biofilm in Mouse automated watering systems. *JAVMA* 42:63-70.
28. Nagano T, Wu W, Tsumura K, Yonemoto YH, Kamada T, Haruma K (2016): The inhibitory effect of soybean and soybean isoflavone diets on 2, 4-dinitrofluorobenzene-induced contact hypersensitivity in mice. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 80(5), 991-997.
29. Noatsch A, Petzke KJ, Millrose MK, Klaus S (2011): Body weight and energy homeostasis was not affected in C57BL/6 mice fed high whey protein or leucine-supplemented low-fat diets. *Eur J Nutr* 50:479–488
30. NRC (1995): *Nutrient Requirements of Laboratory Animals*, Fourth Revised Edition, National Academies Press Washington D.C. S:13
31. Rackis JJ, Gumbmann MR (1981): Protease inhibitors: Physiological properties and nutritional significance. In: *Antinutrients and Natural Toxicants in Food* (Ory, R. L., ed.), Food & Nutrition Press Inc., Westport, CT. s: 203–207.
32. Robbins KR, Baker DH, Finley J. W (1980): Studies on the utilization of lysinoalanine and lanthionine. *J. Nutr.* 110: 907–915
33. Ronis MJ, Acevedo HG, Blackburn ML, Cleves MA, Singhal R, Badger TM (2016): Uterine responses to feeding soy protein isolate and treatment with 17 β -estradiol differ in ovariectomized female rats *Toxicology and Applied Pharmacology* Volume 297, 15 April 2016, Pages 68–80.
34. Sabbatini ME, Pellegrino N, Rios M, Bianciotti LG, Vatta MS (2006): Variation in exocrine pancreatic secretion in rats due to different commercial diets. *Lab Anim (NY)* 35:41–49.
35. Sandberg AS (1991): The effect of food processing on phytate hydrolysis and availability of iron and zinc. In: *Nutritional and Toxicological Consequences of Food Processing* (Friedman, M., ed.), Plenum Press, New York.s: 499–508.
36. Sarwar G (1997): The Protein Digestibility–Corrected Amino Acid Score Method Overestimates Quality of Proteins Containing Antinutritional Factors and of Poorly Digestible Proteins Supplemented with Limiting Amino Acids in Rats. *J. Nutr.* 5 (1): 758-764
37. Schaafsma G (2005): The protein digestibility-corrected amino acid score (PDCAAS)-A concept for describing protein quality in foods and food ingredients: A critical review. *J AOAC Int.* 88:988–94.
38. Singh S, Lata S (2016): Effects of in-utero exposure to genstein on reproductive physiology of adult female laboratory Mouse. *International Journal of Recent Scientific Research* Vol. 7, Issue, 3, pp. 9191-9197, March, 2016.
39. Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition, Committee on Animal Nutrition, Board on Agriculture, National Research Council (1995): *Nutrient Requirements of Laboratory Animals*, 4th Edn. Washington, D.C.: National Academic Press.
40. Thigpen JE, Setchell KDR, Saunders HE, Haseman JK, Grant MG, Forsythe DB (2004): Selecting the appropriate rodent diet for endocrine disruptor research and testing studies. *ILAR J* 45:401–416.
41. Thigpen JE, Setchell KRD, Padilla-Banks E, Haseman JK, Saunders HE, Caviness GF, Kissling GE, Grant MG, Forsythe DB (2007): Variations in the phytoestrogen content between different mill dates of the same diet produces significant differences in the time of vaginal opening in CD1 mice and F344 rats but not in CD Sprague–Dawley rats. *Environ Health Perspect* 115:1717–1726.
42. Wang H, Tranguch S, Xie H, Hanley G, Das SK, Dey SK (2005): Variation in commercial rodent diets induces disparate molecular increase anxiety and stress hormone release in the male rat. *Psychopharmacology (Berl)* 167:46–53.
43. Westerterp-Platenga MS, Nieuwenhuizen A, Tome' D, Soenen S, Westerterp KR (2009): Dietary protein, weight loss, and weight maintenance. *Annu Rev Nutr* 29:21–41