



ISSN-1304-7280

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi

Journal of Faculty of Veterinary Medicine,
Erciyes University

Yılda 3 sayı yayımlanır

Published 3 issues per year

Bu dergi EBSCO Host, CAB Abstracts, Global Health, Tübitak-Ulakbim (Yaşam Bilimleri) ve Türkiye Atıf Dizini tarafından dizinlenmektedir.

This journal is reviewed by EBSCO Host, CAB Abstracts, Global Health, Tubitak-Ulakbim (Life Sciences) and Türkiye Citation Index.

Yıl / Year : 2016
Cilt / Volume : 13
Sayı / Number : 2

<http://ercivet.erciyes.edu.tr>
E-posta: ercivet@gmail.com

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi

Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University

Yılda 3 sayı yayımlanır
Published 3 issues per year

Sahibi / Owner

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Adına
Prof. Dr. İhsan KELEŞ
Dekan

Editörler Kurulu / Editorial Board

Baş Editör / Editor-in Chief

Prof. Dr. Gültekin ATALAN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Editör Yardımcısı / Associate Editor

Prof. Dr. Murat KANBUR (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Yayın Kurulu / Editorial Consultants

Prof. Dr. Güner KÜÇÜK BAYRAM (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Murat KANBUR (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)
Doç. Dr. Bilal AKYÜZ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)
Doç. Dr. Aytaç AKÇAY (İstatistik) (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)
Yrd. Doç. Dr. Hanifi EROL (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)
Yrd. Doç. Dr. Çağrı Çağlar SİNMEZ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)
Yrd. Doç. Dr. Harun HIZLISOY (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)
Yrd. Doç. Dr. Zafer DOĞAN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)
Uzm. Erdem EKER (Yabancı Dil) (Erciyes Üniv. Yabancı Diller YO.)
Arş. Gör. Serhat AL (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)
Arş. Gör. Muhammed Kaan YÖNEZ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)
Arş. Gör. Adem ENGİN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Danışma Kurulu* / Advisory Board

Prof. Dr. Mustafa ALIŞARLI (Ondokuz Mayıs Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Şevket ARIKAN (Kırıkkale Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Metin BAYRAKTAR (Fırat Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Ayşegül BILDİK (Adnan Menderes Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Yavuz CEVGER (Ankara Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Behiç COŞKUN (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Okan ERTUĞRUL (Ankara Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Ahmet GÜMEN (Uludağ Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Erkan KARADAŞ (Afyon Kocatepe Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Oktay KESKİN (Harran Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Ergün KÖROĞLU (Fırat Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Vedat ONAR (İstanbul Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN (Kafkas Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Abdullah ÖZEN (Fırat Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Serhat PABUCCUOĞLU (İstanbul Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. İsmail ŞEN (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Murat YILDIRIM (İstanbul Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Hüseyin YILMAZ (İstanbul Üniv. Vet. Fak.)
Prof. Dr. Mecit YÖRÜK (Yüzüncü Yıl Üniv. Vet. Fak.)

Yazışma Adresi / Correspondence

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dergisi Editörlüğü
38039-Kayseri / TÜRKİYE

<http://ercivet.erciyes.edu.tr>

E-posta : ercivet@gmail.com

Tel : 0 352 339 94 84

Fax : 0 352 337 27 40

Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli

Kapak Resmi / Cover Photo: Yrd. Doç. Dr. Davut BAYRAM

Kapak Tasarımı / Cover Designer: Arş. Gör. B. Aycan HİDAYETOĞLU

Mizanpaj / Designer: Harun ÇETİN

Basım / Print: Önder Ofset, Kocasinan/KAYSERİ

ISSN-1304-7280

*İsimler soyadı alfabetik sırasına göre dizilmiştir.



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University

Bu Sayının Hakemleri

Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg. 13(2), 83 - 181 , 2016

Doç. Dr. İsmail AYTEKİN	(Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Mustafa ATASEVER	(Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Burhan ÇETİNKAYA	(Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Armağan ÇOLAK	(Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Yrd. Doç. Dr. Erdem DÖNMEZ	(Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi)
Prof. Dr. Gökhan ERASLAN	(Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ ONMAZ	(Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Dinç EŞSİZ	(Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ	(Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Ümit GÜRBÜZ	(Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Aylin KASIMOĞLU DOĞRU	(Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Yrd. Doç. Dr. M. Önder KARAYİĞİT	(Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Feride KOÇ	(Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Harun ÖZER	(Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Çağatay TEK	(İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Mehmet Emin TEKİN	(Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Muammer TİLKİ	(Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Aydın VURAL	(Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Murat YILDIRIM	(Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Ahmet YILDIZ	(Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi)

* İsimler soyadı alfabetik sırasına göre dizilmiştir.

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Sayfa / Page

ARAŞTIRMA MAKALELERİ / RESEARCH ARTICLES

Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Akut ve Kronik Karaciğer Hasarı Üzerine Biberiye Ekstraktının (<i>Rosmarinus officinalis</i>) Etkisi	83
The Effects of Rosemary Extract (<i>Rosmarinus officinalis</i>) on Carbon Tetrachloride Induced Acute and Chronic Hepatic Damage in Rats D. YAMAN, A. ATASEVER	
Niğde İlinde Satışa Sunulan Koyun-Keçi Sütü ve Peynirlerinde <i>Brucella melitensis</i> ve Biyotiplerinin Araştırılması	101
Investigation of <i>Brucella melitensis</i> and It's Biovars in Sheep- Goat Milk and Cheese Samples Sold at Retail in Nigde F. KARADAL, N. ERTAŞ ONMAZ, C. BAĞCI, Y. YILDIRIM, S. AL, S. ABAY	
Ratlarda Pentaklorofenol Zehirlenmesinde Nar Çekirdeği Yağının Lipid Peroksidasyonu ve Biyokimyasal Parametrelere Etkileri	109
Effects of Pomegranate Seed Oil on Pentachlorophenol Toxicity Lipid Peroxidation and Some Biochemical Parameters In Rats Z. SOYER SARICA, B. CEM LİMAN	
Slaughter and Carcass Characteristics of Honamlı and Honamlı x Hair (F1) Goat Male Kids Reared under Extensive Conditions	120
Ekstansif Şartlarda Yetiştirilen Honamlı ve Honamlı x Kıl Keçisi Melezi (F1) Oğlakların Kesim ve Karkas Özellikleri A. A. AKBAŞ, M. SAATCI	
Kayseri İli, Pınarbaşı İlçesinde Doğal Olarak Yakalanan ve Yetiştiriciliği Yapılan Gökkuşuğu Alabalıklarının (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Genotoksosite Yönünden İncelenmesi	131
Genotoxicological Analysis of Naturally Captured and Cultured Rainbow Trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) in Pınarbaşı District of Kayseri K. ARSLAN, F. DUMAN, M. KANBUR, B. AKYÜZ	
Vancomycin Resistance of <i>Enterococcus faecalis</i> and <i>Enterococcus faecium</i> Isolated from cattle milk	139
Sığır Sütlerinden İzole Edilen <i>Enterococcus faecalis</i> ve <i>Enterococcus faecium</i> 'un Vankomisin Direnci T. KECECI, K. S. GUMUSSOY, H. HIZLISOY	

DERLEMELER / REVIEW ARTICLES

Balık Etinin Muhafazasında Soğutma ve Dondurma Yöntemleri	151
Cooling and Freezing Methods Used in Fish Meat Storage D. UFUK, B. SARIMEHMETOĞLU	
Yenidoğan Kedi ve Köpeklerde Resusitasyon Girişimleri ve Köpeklerde Apgar Skorum Sistemi	159
Resuscitation Applications for Newborn Kittens and Puppies and Apgar Scoring System for Puppies N. GÜLTİKEN, E. ANADOL	

OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

İki Kedide Meningiom Olgusu	170
A Meningiom Case of Two Cats A. ATASEVER, G. EKEBAŞ, D. YAMAN	
Poor Performance Associated with Equine Gastric Ulcer in an Arabian Racehorse	176
Bir Arap Yarış Atında Equine Gastrik Ülser İle İlişkili Zayıf Performans G. KAYA KARASU, P. J. HUNTINGTON, C. İBEN, A. C. ONMAZ	



Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Akut ve Kronik Karaciğer Hasarı Üzerine Biberiye Ekstraktının (*Rosmarinus officinalis*) Etkisi*

Duygu YAMAN¹, Ayhan ATASEVER¹

¹Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

Özet: Bu çalışmada, karbon tetraklorür (CCl₄) ile akut ve kronik karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda biberiye ekstraktının (BE) histolojik yapı, bazı biyokimyasal parametreler ile lipid peroksidasyonu üzerine koruyucu etkileri belirlendi. Akut ve kronik dönemlerde, 40'ar adet (200-250 gr) Wistar albino ırkı rat, her birinde 10 hayvan olacak şekilde 4'er gruba ayrıldı. Akut çalışmada, birinci gruba (kontrol grubu) %0.9 NaCl (1.0 mL/kg), ikinci gruba 200mg/kg BE, üçüncü gruba CCl₄ (1.0 mL/kg) sadece ilk haftada iki kere, dördüncü gruba, ilk hafta iki kez CCl₄ ile eş zamanlı 200 mg/kg BE dört hafta verildi. Kronik çalışmada, birinci gruba (kontrol grubu) %0.9 NaCl (0,2 mL/kg), ikinci gruba 200 mg/kg BE, üçüncü gruba haftada iki kere 0.2 mL/kg CCl₄, dördüncü gruba, haftada iki kere 0.2 mL/kg CCl₄ ile eş zamanlı 200 mg/kg BE on iki hafta verildi. Akut ve kronik kontrol ve BE gruplarında normal doku yapısı gözlenirken; akut CCl₄ uygulananların hepatositlerinde yoğun makro ve mikroveziküler yağlanma, portal bölgede ve parankimde mononükleer hücre infiltrasyon alanları ile nekrotik değişiklikler görüldü. Kronik CCl₄ grubunda, akut bulgulara ilaveten portal bölgelerde ortadan şiddetliye ulaşan fibrozis ile lobulasyon formasyonları görüldü. Akut ve kronik karaciğer hasarı oluşturulan gruplara BE ilavesi histopatolojik lezyonları etkilemedi. Karbon tetraklorür uygulaması ile tüm biyokimyasal parametreler (AST, ALT, ALP, glikoz, trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, total protein, albümin) değişti. Biberiye ekstraktı, akut dönemde düşen HDL-kolesterol düzeylerini artırırken, diğer parametrelerle, kronik dönemde de tüm parametreleri etkilemedi. Akut ve kronik uygulanan CCl₄, karaciğer MDA ve NO değerlerini arttırdı. Biberiye ekstraktı MDA ve NO değerlerini değiştirmedi. Sonuç olarak; CCl₄ ile oluşturulan akut ve kronik karaciğer hasarı üzerine 200 mg/kg BE ilavesinin herhangi bir etkisi görülmedi. Biberiye ekstraktının farklı sürelerde ve yan etki oluşturmaksızın en iyi sonucu verecek farklı dozlarda kullanılarak, etkilerinin belirlenmesine yönelik yeni araştırmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Biberiye ekstraktı, histopatoloji, karbon tetraklorür, rat

The Effects of Rosemary Extract (*Rosmarinus officinalis*) on Carbon Tetrachloride Induced Acute and Chronic Hepatic Damage

Summary: The present study evaluated protective role of rosemary extract (RE) on histological structure, some serum biochemical parameters and lipid peroxidation on chronic liver injury induced by carbon tetrachloride (CCl₄) in rats. In acute and chronic period 40 Wistar-albino rats (200-250g) were divided into four groups of ten, for per period. In the acute study, the rats in the first group (control group), were administered with %0.9 NaCl (1mL/kg); second group was administered with 200mg/kg RE, third group was administered with CCl₄ (1mL/kg) twice in the first week, fourth group was administered with CCl₄ (1mL/kg) twice in the first week and simultaneously for 4 weeks 200mg/kg RE. In the chronic study, the rats in the first group (control group), were administered with %0.9 NaCl (0.2mL/kg); second group was administered with 200mg/kg RE, third group was administered with CCl₄ (0.2mL/kg) twice for 12 weeks, fourth group was administered with CCl₄ (0.2mL/kg) twice for 12 weeks and simultaneously with 200mg/kg RE. In case of acute and chronic control and RE group livers had normal architecture in the acute CCl₄ treated group, an intensive macro and microvesicular steatosis, mononuclear inflammatory cell infiltrations in portal area and parenchyma and necrotic alterations; in the chronic group additionally to acute findings mild to severe fibrosis with lobulation formation were observed. In acute and chronic groups RE administration did not affect the histopathological

lesions. Administration of CCl_4 , changed all biochemical parameters (AST, ALT, ALP, glucose, triglyceride, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, total protein, albumin). In the acute and chronic periods of study, RE administration didn't have any effect on biochemical parameters except for HDL-cholesterol where it was elevated significantly in acute period. Carbon tetrachloride treatment increased the hepatic MDA and NO concentration in both acute and chronic groups. Rosemary extract did not alter MDA and NO concentrations induced by CCl_4 .

As a conclusion, 200mg/kg RE have no effect against liver damage induced by CCl_4 in acute and chronic periods. It concluded that further studies on the different durations and different doses without any side effect of RE are in need to point out their possible effects.

Key words: Carbon tetrachloride, histopathology, rosemary extract, rat

Giriş

Karaciğer, anatomik lokalizasyonu ve ortaya koyduğu önemli fonksiyonlar nedeniyle toksik maddelere en fazla maruz kalan ve pek çok etkenle hasara uğrayabilen bir organdır (1). Akut ve kronik hepatotoksisite oluşturmak amacıyla kullanılan CCl_4 'ün toksisitesi biyokimyasal ve hücre organelleri düzeyinde kendini gösterir (2,3). Bu hasarın, oksidatif stres ve bunu takiben ortaya çıkan serbest radikallerle oluştuğu bilinmektedir. Oluşan serbest radikal türevleri, hücre membranındaki doymamış yağ asitlerine etki ederek lipid peroksidasyonunu oluşturup karaciğerde hepatositlerin hücre membranlarını bozmak suretiyle etki göstermektedirler (4-6). Bununla birlikte karaciğer hasarının, aktive olmuş Kupffer hücrelerinden salınan proinflamatuvar mediatörlerin (nitrik oksit vb.) etkisiyle karaciğerdeki diğer hücrelerin (endotelial hücreler, uydu hücreleri ve hepatositler) aktive olmasına da bağlı olabileceği ileri sürülmektedir (7). Oksidatif hasarla ilişkilendirilen oksidatif stres, son yıllarda araştırmaların odağı konumundadır.

Bitkisel kaynaklı birçok ilacın, ucuz ve kolay ulaşılabilir olması, toksik ve yan etkilerinin

az olmasından dolayı farklı kimyasal maddeler ile oluşturulan karaciğer hasarına karşı, antioksidan ve karaciğer koruyucu etkilerinin belirlenmesi amacıyla hayvan modellerinde yapılan deneysel çalışmalar 20. yüzyılda popüler hale gelmiştir (8). Yapılan çalışmalarda, BE'nin antioksidan ve serbest radikalleri tutucu etkisi olduğu bildirilmekte ve bu modellerin CCl_4 ile oluşan karaciğer hasarı üzerine koruyucu etkileri olabileceği düşünülmektedir (9-13).

Bu araştırmada karbon tetraklorür ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda, çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu bilinen BE'nin, özellikle karaciğer dokusunda oluşabilecek lezyonlar üzerine ve ayrıca bazı serum biyokimyasal parametreler (aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), glikoz, trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, total protein, albümin) ile karaciğer lipid peroksidasyon düzeylerine etkilerinin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi (DEKAM)'nden temin edilen 200-250g ağırlığında, 80 adet Wistar albino ırkı rat kullanıldı. Ratlar, her kafeste beş rat olacak şekilde, pelet yem ile *ad libitum* olarak beslenerek araştırma merkezinin sahip olduğu uygun şartlar altında

Geliş Tarihi / Submission Date : 16.06.2015

Kabul Tarihi / Accepted Date : 30.07.2015

*Bu çalışma "Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Akut ve Kronik Karaciğer Hasarı Üzerine Nar Çekirdeği Yağı (*Punica granatum*) ve Biberiye Ekstraktının (*Rosmarinus officinalis*) Etkisi" isimli doktora tezinin bir kısmından özetlenmiş ve ERÜBAP tarafından TSD-3828 no'lu proje ile desteklenmiştir.

[(kontrollü sıcaklık ($21\pm 2^{\circ}\text{C}$), nem ($\%50\pm 5$), hava değişimi (saatte 12 devir), sıcaklık (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık)] barındırıldı. Akut ve kronik dönemlerde, 40'ar adet (200-250 gr) Wistar albino ırkı rat, her birinde 10 hayvan olacak şekilde 4'er gruba ayrıldı. Akut çalışmada, birinci gruba (kontrol grubu) $\%0.9$ NaCl (1.0mL/kg); ikinci gruba 200 mg/kg BE, üçüncü gruba CCl_4 (1.0 mL/kg) (Merck, Kat. No:102222) sadece ilk haftada iki kere; dördüncü gruba, ilk hafta iki kez CCl_4 ile eş zamanlı 200mg/kg BE dört hafta verildi. Kronik çalışmada, birinci gruba (kontrol grubu) $\%0.9$ NaCl (0.2 mL/kg); ikinci gruba 200 mg/kg BE, üçüncü gruba haftada iki kere 0.2 mL/kg CCl_4 , dördüncü gruba, haftada iki kere 0.2 mL/kg CCl_4 ile eş zamanlı 200 mg/kg BE on iki hafta verildi. Hayvanlara, aktif etken madde yüzdeleri $\%4$ karnosik asit, $\%5$ rozmarinik asit ve $\%6$ karnosol olarak bildirilen ve ticari olarak Biomesi Ar-Ge firmasından temin edilen BE ve $\%0.9$ NaCl çözeltisi gavaj yolu ile, CCl_4 de intraperitoneal (ip) olarak uygulandı. Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı tarafından 18.05.2011 tarih ve 11/59 nolu karar ile onaylandı.

Çalışma gruplarındaki ratlar son uygulamadan 24 saat sonra intramuskuler 80 mg/kg ketamin ve 12mg/kg ksilazin (14) ile ip anestezi sağlandıktan sonra servikal dislokasyon ile kurban edildi. Daha sonra ratların göğüs ve karın boşlukları açılıp, intrakardiyak kan örnekleri alınarak sistemik nekropsileri yapıldı. Tamponlu nötral formaldehit ile tespit edilen karaciğer ve diğer organlara (beyin, akciğer, kalp, böbrek, dalak, mide, ince ve kalın bağırsaklar) ait doku örnekleri 48 saat sonunda trimlemeyi takiben çeşme suyunda yıkandıktan sonra doku takibi yapıldı. Tüm organlara ait dokulardan hazırlanan parafin bloklardan mikrotomda 5 μm kalınlığında kesitler lamlara alındı. Hematoksilen-Eosin (HxE) ile boyandı (15). Kesitlerde hepatositlerde yağlanma, yangı, nekroz ve fibrozis semikantitatif olarak

değerlendirilerek karaciğer hasar skorlaması yapıldı ve grup içerisinde ortalama yüzdelik değerleri hesaplandı (16,17). Her bir grupta elde edilen değerler istatistiksel olarak değerlendirildi ve gruplar arasındaki önem kaydedildi.

Alınan kan örneklerinden 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek ayrılan serumlarda biyokimyasal analizler Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri Merkez Laboratuvarı, Klinik Biyokimya bölümünde Abbott-Architect marka otoanalizator ile yapıldı. Karaciğer doku protein düzeyi Lowry'nin metodunu (18) esas alan ve Miller tarafından modifiye edilmiş yöntemle (19), MDA düzeyleri Yoshioka ve arkadaşlarının (20) geliştirdiği yöntemle ve NO düzeyleri de Griess yöntemi esasına göre diazotizasyon yöntemiyle (21) belirlendi.

Kontrol ve deneme grupları arasında biyokimyasal ve lipid peroksidasyon parametrelerinin istatistiksel analizlerinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Karaciğer doku hasarı skor değerleri bakımından deneme ve kontrol grupları arasında farklılığın önem kontrolü Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. İstatistiksel analizlerde SPSS 14.01 (Lisans no: 9869264) paket programı kullanıldı.

Bulgular

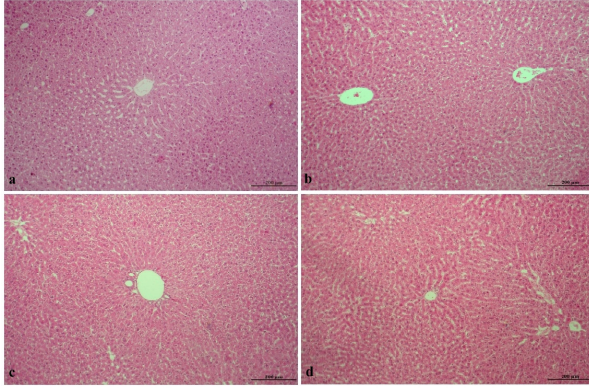
Klinik bulgular

Kontrol ve BE gruplarındaki ratlarda herhangi bir klinik bulgu görülmezken, CCl_4 ve CCl_4 +BE gruplarındakilerde halsizlik, kambur duruş, sendeleyerek yürüme, aşırı tükürük salgısı, pitozis, ataksi ve korneal opasite gibi klinik bulgular gözlemlendi.

Patolojik bulgular

Akut ve kronik kontrol ve BE grupları; Çalışma sonunda yapılan sistemik nekropsilerde ratların karaciğerlerinde makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Karaciğer doku

örneklerinin histolojisinde normal yapıda oldukları görüldü (Şekil 1). Gruba ait karaciğer doku kesitlerinden yapılan histolojik hasar skorlamasında; fibrozis, yağlanma, yangı ve nekroz parametreleri açısından hasar skoru sıfırdı (Tablo 1). Alınan diğer dokuların makroskopik-histolojik değerlendirmesinde herhangi patolojik bir lezyon bulunmayıp normal yapıda oldukları görüldü.

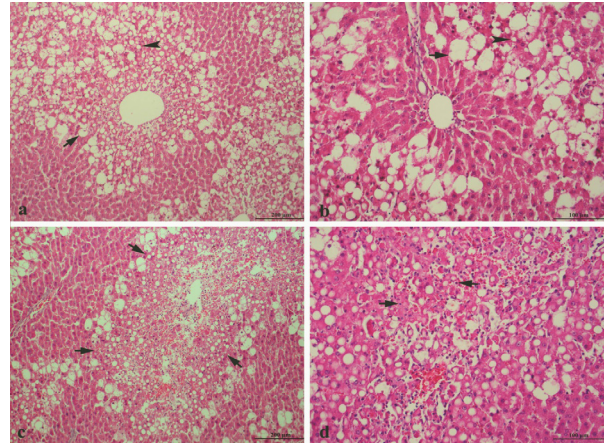


Şekil 1. Kontrol ve BE grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE.

- Akut kontrol grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, 200 μ m.
- Akut BE grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, 200 μ m.
- Kronik kontrol grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, 200 μ m.
- Kronik BE grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, HxE, 200 μ m.

Akut CCl_4 Grubu; Çalışma sonunda, yapılan sistemik nekropsilerde karaciğerlerin bazılarında koyu kırmızı, bazılarında ise gri-beyaz renk değişimleri dışında diğer organlarda makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Gruba ait karaciğer dokularında hepatositlerde yoğun makro ve mikroveziküler yağ vakuelleri görüldü (Şekil 2a,b). Bu vakuoller parankimdeki hepatositlerin çoğunda saptandı. V. centralis periferinde hepatositlerdeki nekrotik değişiklikler ile alan pembe homojen bir kitleye dönüşmüştü (Şekil 2c). Özellikle

portal bölgelere yakın alanlarda, lenfositten zengin mononükleer hücre infiltrasyon alanları yer alırken, seyrek olarak bu durumun V. centralis çevresindeki nekrotik alanlarda ve tüm parankime yayıldığı dikkati çekti (Şekil 2d). Diğer dokuların histolojisinde patolojik bir lezyona rastlanmadı. Karaciğer doku kesitlerinde CCl_4 ' e bağlı olarak oluşan yağlanma, yangı ve nekroz parametreleri skorlandı. Bu gruba ait hasar skorunun kontrol ve BE gruplarından yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (Tablo 1).

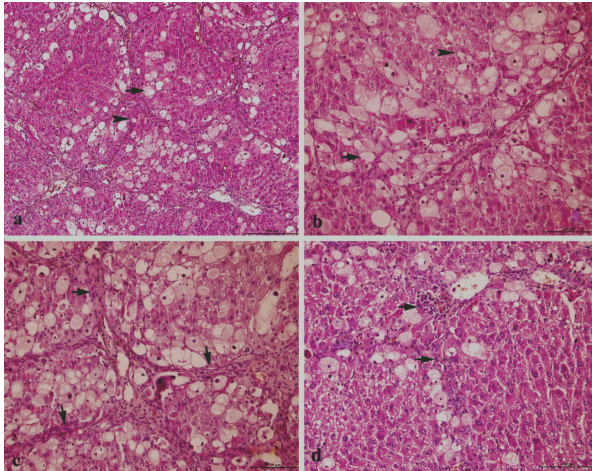


Şekil 2. CCl_4 grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE.

- Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü, 200 μ m.
- Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü, 100 μ m.
- Yaygın nekroz alanları (oklar), 200 μ m.
- Parankimde çoğunluğu lenfosit olan mononükleer hücre filtrasyon alanları (oklar), 100 μ m.

Kronik CCl_4 grubu; Çalışma sonunda, sistemik nekropsileri yapılan ratların karaciğerlerinin bazılarında koyu kırmızı, bazılarında ise gri-beyaz renk değişimleri dışında diğer organlarda makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Histolojisinde özellikle portal bölgelerde ortadan şiddetliye ulaşan fibrozis alanlarının varlığı dikkati çekti.

Kronik parankim yıkımlanması sebebiyle yavaş gelişen fibrozisin portal aralıkları V. centralis'ler ile birleştirerek, klasik lobül yapısını bölerek lobulasyona yol açtığı görüldü (Şekil 3c). Hepatositlerde yoğun makro ve mikroveziküler şeklindeki yağ vakuolleri parankimdeki hepatositlerin çoğunda görüldü (Şekil 3a,b). Yağ vakuollerinin görüldüğü bölgelerde dikkati çeken bir diğer bulgu ise, yer yer yoğunlaşan mononükleer hücre infiltrasyonuydu (Şekil 3d). Özellikle portal bölgeye yakın alanlarda, lenfositten zengin mononükleer hücre infiltrasyon alanları yer alırken, seyrek olarak bu durumun V. centralis çevresindeki yağ vakuolleri arasında ve tüm parankime yayıldığı görüldü. V. centralis'lerin çevresinde kontrol grubuna göre belirgin bir bağ doku artışının olduğu gözlemlendi. Diğer dokuların histolojisinde patolojik bir lezyona rastlanmadı. Karaciğer doku kesitlerinde CCl₄' e bağlı olarak oluşan fibrozis, yağlanma ve yangı parametreleri skorlandı. Bu gruba ait hasar skorunun kontrol ve BE gruplarından yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (Tablo 2).



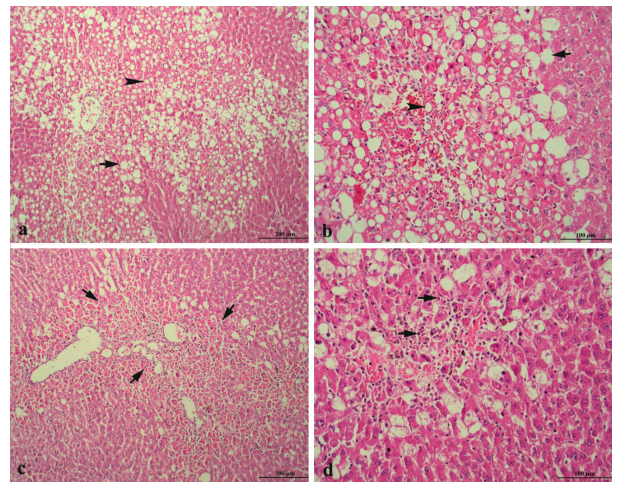
Şekil 3. CCl₄ grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE.

- a. Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü, 200 µm.
b. Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü, 100 µm.

c. Şekillenen lobulasyon formasyonu (okların sınırladığı alan), 100 µm.

d. Çoğunluğu lenfosit olan mononükleer hücre infiltrasyon alanları (oklar), 100 µm.

Akut CCl₄+BE grubu; Çalışma sonunda, sistemik nekropside sırasında karaciğerlerin bazılarında koyu kırmızı, bazılarında ise gri-beyaz renk değişimleri dışında diğer organlarda makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Gruba ait karaciğer dokularının histolojisinde, mikro ve makroveziküler yağ vakuolleri, nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonları görüldü. Tüm parankimde hepatositler içinde irili ufaklı yağ vakuolleri saptandı (Şekil 4a,b). Vena centralis'lerin periferindeki bölgede hepatositlerdeki nekrotik değişiklikler dikkati çekti (Şekil 4c). Özellikle nekroz alanlarında olmak üzere parankimde içerisinde mononükleer hücre infiltrasyonu mevcuttu (Şekil 4d). Diğer dokuların histolojisinde herhangi patolojik bir lezyona rastlanmadı. Yapılan karaciğer doku kesitlerindeki histolojik hasar skorlarının CCl₄ grubu ile benzer olduğu saptandı (Tablo 1).



Şekil 4. CCl₄+BE grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE.

- a. Keskin kenarlı yağ vakuolleri içeren hücrelerin genel olarak yassılaştırmış ve hücrenin periferine itilmiş çekirdekleri (ok) ile mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin

Tablo 1. Akut deneme gruplarına ait doku hasar parametre skorlarının istatistiksel önem kontrolü.

Gruplar (n=10)	Histopatolojik bulgular Medyan (%25-%75)		
	CCl ₄	CCl ₄ +BE	İstatistik önem kontrolü (Kruskal-Wallis Test)
Fibrozis	0.5 (0-1)	0.5 (0-1)	P>0.05
Yağlanma	3 (3-3)	3 (2-3)	P>0.05
Yangı	3 (2-3)	3 (2-3)	P>0.05
Nekroz	3 (2-3)	3 (2-3)	P>0.05

Tablo 2. Kronik deneme gruplarına ait doku hasar parametre skorlarının istatistiksel önem kontrolü.

Gruplar (n=10)	Histopatolojik bulgular Medyan (%25-%75)		
	CCl ₄	CCl ₄ +BE	İstatistik önem kontrolü (Kruskal-Wallis Test)
Fibrozis	3 (2-3)	3 (1-2)	P>0.05
Yağlanma	3 (2-3)	3(2-3)	P>0.05
Yangı	2.5 (1,75-3)	2 (1.75-3)	P>0.05
Nekroz	0.5 (0-1)	0 (0-1)	P>0.05

Tablo 3. Akut karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda kontrol ve deneme gruplarının serum biyokimyasal parametreleri ile karaciğer lipid peroksidasyon düzeyleri

Parametreler	Kontrol $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	BE $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	CCl ₄ $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	CCl ₄ +BE $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	İstatistik önem kontrolü
AST (U/L)	166.80±17.10 ^c	166.00±1.91 ^c	320.10±15.70 ^a	318.00±30.34 ^{ab}	P<0.05
ALT (U/L)	62.00±3.72 ^c	52.35±1.73 ^d	145.90±22.84 ^a	102.60±8.25 ^{ab}	P<0.01
ALP (U/L)	370.50±43.98 ^{bc}	368.56±4.18 ^c	612.30±29.80 ^a	603.00±30.51 ^a	P<0.01
Glikoz (mg/dL)	157.50±22.42 ^c	160.67±9.25 ^c	310.80±13.48 ^a	304.90±30.69 ^a	P<0.01
Trigliserid (mg/dL)	135.70±13.44	138.56±13.53	180.30±17.30	142.60±12.18	P>0.05
Total kolesterol (mg/dL)	78.10±5.66 ^b	74.11±3.57 ^{bc}	96.20±1.40 ^a	94.00±1.32 ^a	P<0.05
HDL-kolesterol (mg/dL)	44.60±13.09 ^{bc}	45.67±3.80 ^b	25.00±1.44 ^d	34.80±1.92 ^c	P<0.05
LDL-kolesterol (mg/dL)	20.00±2.87 ^{bc}	21.22±2.29 ^b	30.90±1.80 ^a	29.94±2.31 ^a	P<0.05
Total protein (g/dL)	6.58±0.27 ^a	6.58±0.12 ^a	5.82±0.30 ^b	5.79±0.20 ^b	P<0.001
Albümin (g/dL)	1.27±0.09 ^b	1.27±0.05 ^b	0.24±0.04 ^d	0.26±0.04 ^d	P<0.001
MDA (nmol/mg protein)	1.03±0.07 ^b	0.73±0.08 ^b	1.93±0.20 ^a	1.62±0.08 ^a	P<0.001
NO (µmol/mg protein)	35.68±4.06 ^b	36.87±3.45 ^b	53.50±3.06 ^a	47,50±6.08 ^{ab}	P<0.01

a-d: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir.

$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$: Ortalama± Standart hata

Tablo 4. Kronik karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda kontrol ve deneme gruplarının serum biyokimyasal parametreleri ile karaciğer lipid peroksidasyon düzeyler

Parametreler	Kontrol $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	BE $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	CCl ₄ $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	CCl ₄ +BE $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	İstatistik önem kontrolü
AST (U/L)	174.20±16.49 ^b	173.66±6.71 ^b	1670.40±319.69 ^a	1665.14±64.37 ^a	P<0.001
ALT (U/L)	80.00±7.45 ^b	68.61±2.60 ^b	1285.20±405.06 ^a	1100.00±107.10 ^a	P<0.01
ALP (U/L)	359.60±21.38 ^{bc}	349.40±18.58 ^{bc}	544.90±15.01 ^a	539.29±14.05 ^a	P<0.001
Glikoz (mg/dL)	124.20±22.42 ^c	170.50±5.31 ^b	318.70±29.49 ^a	273.71±8.58 ^a	P<0.001
Trigliserid (mg/dL)	148.00±10.60	159.05±12.51	194.50±18.10	159.00±7.02	P>0.05
Total kolesterol (mg/dL)	76.30±3.65 ^b	72.28±1.70 ^{bc}	87.70±2.15 ^a	85.14±1.56 ^a	P<0.001
HDL-kolesterol (mg/dL)	31.50±1.26 ^b	32.75±1.72 ^b	23.10±1.25 ^c	24.57±1.17 ^c	P<0.001
LDL-kolesterol (mg/dL)	15.20±3.33 ^{bc}	13.90±1.49 ^{bc}	23.34±1.38 ^a	21.47±2.80 ^{ab}	P<0.05
Total protein (g/dL)	6.04±0.18 ^a	6.15±0.14 ^a	5.48±0.13 ^b	5.50±0.18 ^b	P<0.01
Albümin (g/dL)	1.33±0.08 ^b	1.38±0.05 ^b	0.72±0.05 ^c	0.77±0.05 ^c	P<0.001
MDA (nmol/mg protein)	0.98±0.12 ^{bc}	0.66±0.07 ^b	2.70±0.45 ^a	2.44±0.29 ^a	P<0.001
NO (µmol/mg protein)	49.98±4.43 ^{bc}	49.74±7.46 ^{bc}	97.61±5.06 ^a	82.61±4.14 ^a	P<0.001

a-d: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir. $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$: Ortalama± Standart hata

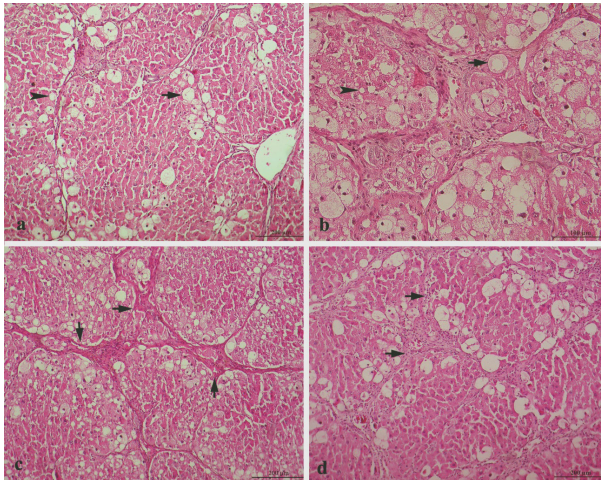
görünümü, 200 µm.

b. Parankime yayılmış makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü (ok), 100 µm.

c. Yaygın nekroz alanları (oklar), 200 µm.

d. Tüm parankime yayılan çoğunluğu lenfosit olan mononükleer hücre infiltrasyon alanları (oklar), 100 µm.

Kronik CCl₄+BE grubu; Çalışma sonunda, sistemik nekropside ratların karaciğerlerinin bazılarında koyu kırmızı, bazılarında ise gri-beyaz renk değişimleri dışında diğer organlarda makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Bu gruba ait karaciğerlerin histolojisinde parankimde hepatositlerde irili ufaklı yağ vakuol oluşumları dikkati çekti (Şekil 5a,b). Ortadan şiddetliye ulaşan fibrozis alanlarının varlığı ile bağ dokusundaki artışın çoğu kesitlerde karaciğer dokusunda lobulasyon oluşturduğu görüldü (Şekil 5c). Yağ vakuollerinin görüldüğü bölgelerde dikkati çeken bir diğer bulgu ise, yer yer yoğunlaşan mononükleer hücre infiltrasyonuydu (Şekil 5d). Gruba ait karaciğer dokularında CCl₄ uygulamasına bağlı şekillenen histopatolojik değişimlerde bir azalma görülmedi. Diğer dokuların histolojisinde herhangi patolojik bir lezyona rastlanmadı. Karaciğer doku kesitlerinden yapılan histolojik hasar skorlarının CCl₄ grubu ile benzer olduğu saptandı (Tablo 2).



Şekil 5. CCl₄+BE grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE

a. Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü, 200 µm.

b. Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü, 100 µm.

c. Artmış fibröz doku hücreleri ve şekillenen lobulasyon formasyonu (oklar), 200 µm.

d. Çoğunluğu lenfosit olan mononükleer hücre infiltrasyonu (oklar), 200 µm.

Deneme gruplarına ait karaciğer hasar parametre skorlaması

Karaciğer kesitlerindeki yağlanma, yangı, nekroz ve fibrozis gibi mikroskobik değişiklikler semikantitatif olarak değerlendirildi, yok ise 0, %33'ünden az ise 1 (hafif), %33-66 arası ise 2 (orta) ve %66'dan fazla ise 3 (şiddetli) olarak kabul edildi. Akut ve kronik deneme gruplarına ait karaciğer hasar parametrelerinin istatistiksel dağılımları Tablo 1 ve Tablo 2'de verildi. Deneme gruplarında, kontrol ve BE gruplarındaki hayvanlara ait karaciğer dokularının histopatolojisinde, karaciğer hasar parametreleri semikantitatif olarak değerlendirilmiş olup hasar skorlamasının sıfır olduğu tespit edildi. Akut ve kronik dönem deneme gruplarında, CCl₄ grubuna göre CCl₄+BE gruplarına ait karaciğer hasar parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişimin olmadığı tespit edildi (P>0,05) (Tablo 1,2).

Biyokimyasal analiz bulguları ve lipid peroksidasyon göstergeleri

Akut ve kronik çalışma gruplarına ait serum AST, ALT ve ALP enzim aktiviteleri ile glikoz, trigliserid, total kolesterol, HDL ve LDL-kolesterol, total protein, albümin değerleri ile karaciğer MDA ve NO düzeyleri sırasıyla tablo 3 ve 4'de verildi.

Akut çalışmada kontrole göre sadece BE verilen grupta serum AST, ALP enzim

aktiviteleri ile glikoz, HDL ve LDL-kolesterol, total protein ve albumin düzeylerinde önemli bir değişiklik görülmedi. Kronik çalışmada da kontrole göre sadece BE verilen grupta serum AST, ALT, ALP enzim aktiviteleri ile HDL ve LDL-kolesterol, total protein ve albumin düzeylerinde önemli bir değişiklik görülmedi. Ancak BE verilen grupta akut dönemde sadece ALT ($P<0.001$) aktivitesinde önemli bir düşüş, kronik dönemde de glikoz ($P<0.001$) düzeyinde bir artış gözlemlendi (Tablo 3,4). Her iki dönemde CCl_4 grubunda, kontrol grubuna göre serum glikoz, LDL-kolesterol, total kolesterol düzeyleri ve ALT, AST ve ALP enzim aktiviteleri ile karaciğer MDA ve NO düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir artışın, HDL-kolesterol, total protein ve albumin düzeylerinde ise önemli bir azalışın meydana geldiği görüldü ($P<0.05$; 0.01 ; 0.001). Her ne kadar trigliserid düzeyleri CCl_4 uygulamasıyla sayısal olarak artmış ise de, istatistiksel olarak bu artışlar önemli bulunmadı ($P>0.05$). Diğer yandan BE uygulaması, CCl_4 verilen gruplarda sayısal olarak artan trigliserid düzeylerini kontrol grubu değerlerine yaklaştırdı. Tüm biyokimyasal değerlerde ve lipid peroksidasyon göstergelerinde BE uygulamasının önemli bir farka yol açmadığı dikkati çekti (Tablo 3,4).

Tartışma ve Sonuç

Karbon tetraklorür'ün hepatositler üzerine etkisiyle, granülsüz endoplazmik retikulumda bulunan sitokrom P450 enzim sistemi aracılığıyla toksik karakterde ara metabolitleri olan triklorometil (CCl_3) ve triklorometil peroksil (CCl_3O_2) serbest radikal metabolitlerine dönüşmesi ile bunların da hücre membranındaki doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu başlatmak veya protein ve yağlara bağlanarak hücre membranlarını bozmak suretiyle karaciğer hasarını oluşturduğu bildirilmektedir (4,5,22).

Ratlarda farklı dozlarda CCl_4 'ün akut olarak uygulandığı çalışmalarda (22-30),

hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon, sentrilobüler alanda orta derecede nekroz, hidropik değişiklikler ile özellikle sentral bölge sinuzoidlerinde makrofaj ve lenfositten yoğun yangısal hücre infiltrasyonları ve sentral venlerde konjesyon, midzonal ve periportal hepatositlerde hafiften şiddetliye kadar değişen yağlanma gözlemlendiği bildirilmiştir.

Ratlarda karaciğer hasarı oluşturmak amacıyla CCl_4 'ün kronik olarak uygulandığı çalışmalarda da (10,13,31-34), karaciğer dokusunda özellikle portal bölgeden gelişen fibrosit, fibroblast ve kollagen demetlerden oluşan fibröz dokunun çevrelediği şiddetli nekroz, hepatositlerde yağ dejenerasyonu ile yangısal hücre infiltrasyonlarının bulunduğu pseudolob oluşumları ile birlikte mikro-makroveziküler yağlanma, balonumsu veya vakuoler dejenerasyon, lenfosit hücre infiltrasyonları saptanmıştır.

Sunulan çalışmanın akut döneminde CCl_4 'ün iki doz halinde ve 1mL/kg ip uygulanmasında karaciğerlerde sentrilobüler nekroz, çoğunluğu lenfosit olan mononükleer hücre infiltrasyonları ve sentrilobüler bölgedeki hepatositlerde büyüklükleri farklı, keski kenarlı yuvarlak yağ vakuollerinin gözlenmesi, CCl_4 'ün farklı dozları kullanılarak akut karaciğer hasarı oluşturan yukarıdaki araştırmacıların (22-30) bulgularını desteklemektedir. Aynı şekilde kronik dönem karaciğer hasarı oluşturan araştırmacıların (10,13,31-34) bulgularıyla paralel olarak bu çalışmada da CCl_4 'ün on iki hafta boyunca haftada 2 kere, 0.2mL/kg dozunda uygulanmasıyla, ratların karaciğer kesitlerinde özellikle yağ vakuollerinin yoğun olduğu karaciğer parankiminde ortadan şiddetliye değişen yangısal hücre infiltrasyonu ile fibrozis oluşumları saptanmıştır. Sunulan çalışmanın hem akut hem de kronik döneminde CCl_4 'e bağlı oluşan karaciğer toksikasyonunun, dolayısıyla oluşan histopatolojik değişikliklerin, lipid peroksidasyonunun başlamasından sorumlu olan CCl_4 'ün toksik

metabolitlerinden (5,22) ileri gelen lipid peroksidasyonuna bağlı olarak hücre zarından iyonların geçişi, membran enzimlerinin aktivasyonu ve hücre içi sinyal iletimi gibi normal hücre fizyolojisinin devamlılığı için önemli olan membran akışkanlığının azalmasından (29) ve ayrıca artan oksidatif stresin hepatositlerde mitokondriyal hasara neden olmasıyla, yağ asitlerinin mitokondriyal oksidasyonunun azalması ve buna bağlı olarak yağ asitlerinin esterleşerek hepatositlerde trigliserid birikimine sebep olmasından (35) kaynaklanabileceği söylenebilir.

Karbon tetraklorür gibi nekroza sebep olan ajanların karaciğer parankiminde hasara yol açarak plazma AST ve ALT aktivitelerini arttırdığı bildirilmektedir (36). Yapılan akut (9,22,37,38-43) ve kronik (10,13,28,31,44,45) çalışmalarda, CCl_4 ile oluşturulan hasarın derecesine bağlı, serum AST, ALT ve ALP enzim aktivitelerinin yükseldiği gösterilmiştir. Sunulan çalışmanın akut ve kronik döneminde, CCl_4 'ün karaciğer hücrelerindeki hasarına bağlı olarak hücre membran permeabilitesinin bozulmasıyla kan dolaşımına geçişleri artan AST, ALT ve ALP enzimlerinin serum aktivitelerinde anlamlı yükselmeler aynı şekilde dikkati çekmiştir.

Karaciğer fonksiyonunun belirlenmesinde glikoz, albumin ve kolesterolün serum düzeylerinden de yararlanılabilir (46). Ratlarda CCl_4 ile oluşturulan akut çalışmalarda hepatotoksisitenin glikoz düzeylerine etkileri ile ilgili farklı sonuçlara ulaşılmıştır (7,47,48). Ahsan ve ark. (47) ratlarda akut olarak 3mL/kg dozda CCl_4 uygulamasının serum glikoz düzeyinde önemli bir değişikliğe yol açmadığını bildirmelerine karşın, üç doz 1mL/kg CCl_4 uygulamasının serum glikoz düzeyini azalttığını (7) ve 2 mL/kg CCl_4 ile de serum glikoz düzeyinde bir artış olduğunu da bildiren araştırmalar da mevcuttur (48). Her ne kadar sunulan çalışmada insülin ve IGF-I'in serumdaki düzeyleri belirlenmemiş

ise de Martha ve ark. (48)'nın bildirdikleri gibi, bu çalışmanın hem akut hem de kronik döneminde CCl_4 uygulaması ile serum glikoz düzeylerindeki artışların; muhtemelen CCl_4 ile oluşturulan karaciğer hasarına bağlı serum insülin ile IGF-I konsantrasyonlarındaki azalmadan veya CCl_4 'e bağlı gelişen karaciğerde glikojen sentezinin azalmasından (13) kaynaklanabilir.

Ratlarda akut (49-52) ve kronik (32,53) olarak farklı dozlarda uygulanan CCl_4 'ün oluşturduğu karaciğer hasarına bağlı serum kolesterol ve trigliserid düzeylerinde bir artışa neden olduğu bildirilmiştir. Sunulan çalışmada da yukarıdaki araştırmacıların bulgularıyla uyumlu olarak akut ve kronik uygulanan CCl_4 ile oluşan karaciğer hasarına bağlı serum total kolesterol düzeyinde anlamlı bir artış, her ne kadar istatistik önemde olmasa da trigliserid düzeylerinde de sayısal bir artış saptanmıştır. Bu serum lipidlerindeki artışın, CCl_4 uygulamasıyla esterleşen yağ asitlerinin hepatositlerde trigliserid birikimine neden olması (35) ve karaciğer hücre hasarına bağlı aşırı miktarda dolaşıma geçmesi (47,49,50) olabileceği düşünülmektedir.

Ratlarda CCl_4 ile oluşturulan hepatotoksisitede serum LDL ve HDL-kolesterol düzeylerine yönelik sınırlı sayıda çalışmalara ulaşılabilmektedir (31,51). Khan ve ark. (31), dört hafta boyunca haftada iki kere 3 mL/kg, Al-Assaf ve ark. (51) tek doz 1.25 mL/kg CCl_4 'ün LDL-kolesterol düzeyini arttırırken, HDL-kolesterol düzeyini azalttığını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada da bu araştırmacıların (31,51) bulgularıyla paralel şekilde hem akut hem de kronik dönemde uygulanan CCl_4 'e bağlı şekillenen karaciğer harabiyetinde görülen serum LDL-kolesterol düzeylerinde artmalar Al-Assaf ve ark. (51)'ın bildirdikleri gibi muhtemelen LDL-kolesterol reseptörlerinin üretimi veya fonksiyonlarındaki eksiklik ile bu reseptörlerdeki defektlerden, HDL-kolesterol düzeyindeki azalmalar ise LDL-kolesterol

düzeyindeki artışlardan veya LCAT enzim aktivitesinin azalmasından ileri gelebilir.

Karaciğer hasarının karakteristik bulgularından birisi de serum protein düzeylerindeki azalmadır (54). Total protein düzeylerindeki azalma albumin noksanlığına bağlı olarak şekillendiğinden, hipoalbuminemi olarak da isimlendirilir (55). Çeşitli çalışmalarda CCl_4 ile akut (7,22,27,43,52,54-57) hem de kronik (32,53) olarak karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda belirlenen serum total protein ve albümin düzeylerindeki azalmalara paralel olarak sunulan çalışmada da her iki dönemde CCl_4 'e bağlı olarak serum total protein ve albumin düzeylerinde görülen azalmaların, bu toksik maddenin endoplazmik retikulumdaki poliribozomları bozarak karaciğerde protein sentezini aksatmasından (57) kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Ratlarda CCl_4 'ün akut (27,29,42,58,59) ve kronik (10,13,33,60) uygulanması ile de karaciğer MDA (10,13,27,29,33,42,58-60) ve NO (10,13,58) düzeylerinin arttığını bildiren araştırmacılarla uyumlu olarak bu lipid peroksidasyon göstergelerinin, sunulan çalışmanın hem akut hem de kronik döneminde CCl_4 verilen gruplarda artış göstermesi, CCl_4 'ün karaciğer endoplazmik retikulumda bulunan sitokrom P450 enzimi aracılığıyla toksik karakterde CCl_3 ve CCl_3O_2 serbest radikallerine dönüşmesiyle oluşan lipid peroksidasyonunun sebep olduğu doku hasarı ve antioksidan savunma mekanizmasının yetersizliğinden (5,22,27) kaynaklandığı düşünülebilir.

Karaciğer koruyucu özelliği ile bilinen BE'nin antioksidan özelliğinin, ana bileşenleri olan karnosol, karnosik asit, rosmanol, rosmadial, epirosmanol, isorosmanol, rosmaridifenol, rosmariquinon, rosmarinik asit ve esansiyel yağ bileşenlerine ileri geldiği bildirilmiştir (61-66).

Akut (9,24,30,49,67) ve kronik (9,13) CCl_4 ile oluşturulan karaciğer hasarı ve biyokimyasal

parametreler ile lipid peroksidasyonu üzerine biberiye bitkisinin etkisinin belirlenmesine yönelik çalışmalar sınırlıdır.

Sotexo-Felix ve ark. (24), ratlarda 4g/kg tek doz CCl_4 uygulamasıyla karaciğerde şiddetli nekroz, ödem, yangısal infiltrasyon, sitoplazmada genişleme ve çekirdekte piknoz oluştuğunu, 200mg/kg biberiyenin, oluşan bu histopatolojik değişiklikleri kısmen önlediğini bildirmişlerdir. Ayrıca bu ekstraktın, CCl_4 uygulamasıyla artan karaciğer MDA konsantrasyonu ve plazma ALT aktivitesi ile azalan karaciğer glikojen düzeyleri üzerine iyileştirici bir etkiye sebep olduğunu saptamışlardır. Bir başka çalışmada (9), ratlarda CCl_4 'ün akut uygulanmasıyla karaciğerde makro ve mikro steatozis, orta derecede fibrozis (septum oluşturmeyen) hemoraji ve fokal nekroz alanları gözlenmiş, ilave edilen 220 ve 440mg/kg biberiye ekstraktlarının vakuloler dejenerasyon, fibrozis ve steatoziste azalmaya neden olduğu ve CCl_4 uygulaması ile oluşan histopatolojik değişikliklerle paralel olarak artan serum AST, ALT ve ALP enzim aktiviteleri ile karaciğer MDA konsantrasyonlarında uygulanan biberiyenin doz ve süresine bağlı olarak bir düşme saptandığı ifade edilmiştir. Fahim ve ark. (30), ratlara üç hafta süreyle intragastrik yoldan BE (0.15g/100gr) uygulamasından sonra tez doz CCl_4 (0.5mL/100 g) verilmesiyle karaciğerde görülen histopatolojik değişikliklerin, BE ile normale döndüğünü, sadece bazı portal damarların ve sinüzoidlerin genişlemiş ve konjesyone olduğunu ve bu etkisi ile uyumlu olarak, artmış serum AST, ALT, ALP enzim aktiviteleri, trigliserid ve glikoz düzeyleri ile azalmış olan albumin, total protein ve glikojen düzeylerini de kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığını ileri sürmüşlerdir. Botsoglou ve ark. (49) da altı hafta 20g/kg BE uyguladıkları ratlara 6. haftanın sonunda tek doz 1mL/kg CCl_4 uygulaması ile artan serum AST, ALT ve ALP enzim aktiviteleri ve karaciğer MDA konsantrasyonları ile azalan kolesterol

ve trigliserid düzeylerinin, kontrol grubu değerlerine yaklaştığını bildirmişlerdir.

Gutierrez ve ark. (13), birinci deneme grubunda on iki hafta boyunca 1g/kg/haftalık CCl₄ uygulaması ile 200mg/kg (6.04 mg/kg carnosol) BE'nin eş zamanlı olarak ve ikinci deneme grubunda da, 1g/kg/haftalık CCl₄ uygulaması ile siroz oluşturduktan sonra 200mg/kg (6.04mg/kg carnosol) BE'nin yine on iki hafta verilmesiyle karaciğerde meydana gelen histopatolojik değişikliklere karşı, her iki çalışma grubunda da fibrozisi azalttığını ve rejeneratif nodüllerin görüldüğü nekrotik alanlar üzerine iyileştirici etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Bu araştırmacılar CCl₄ uygulamasının karaciğer MDA ve NO konsantrasyonlarında artış meydana getirdiğini, BE'nin serbest radikal süpürücü etkisi ile MDA düzeyinde %17.5, NO konsantrasyonunda ise %28 oranında bir azalma olduğunu saptamışlardır. Ayrıca CCl₄ verdikleri ratlarda serum ALT enzim aktivitesinde 12 kat artış gözlemlendiğini ve bu artışın BE ile %60 oranında azaldığını, CCl₄ uygulamasıyla ile azalan glikojen düzeyleri üzerine de iyileştirici bir etkiye sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

Yukarıdaki araştırmacılar (9,13,24,30,49) hem biberiye ekstraktının ve hem de aktif bileşenlerinin (karnosol ve karnosik asit) lipid peroksidasyonunu bloke edici etkisinin, muhtemelen ya CCl₄'ün toksik ara metabolitleri olan Cl₃COO ve OH'ı savurucu ve/veya daha az toksik substanslara dönüştürmesine ya da antioksidan etkinliğine bağlı olabileceğini, ayrıca bu ekstraktın toksik ara metabolitlerin oluşmasına aracılık eden sitokrom CYP2E enzimini inhibe etmesinden ileri gelebileceğini ve bu bitki ile bileşenlerinin antioksidan etkinliğine bağlı olarak karaciğer ve plazma membranlarını koruyucu bir ajan olabileceğini vurgulamışlardır.

Sunulan çalışmada CCl₄ uygulaması ile oluşan akut ve kronik karaciğer hasarına bağlı gelişen histopatolojik değişiklikler, biyokimyasal

parametreler ve lipid peroksidasyonu üzerinde 200mg/kg BE ilavesinin iyileştirici bir etkisinin görülmemesi, araştırmacıların (9,13,24,49) bildirimleri ile örtüşmemektedir. Bu çalışmada Gutierrez ve ark. (13) ve Sotexo-Felix ve ark. (24) ile aynı doz biberiye ekstraktı kullanılması karşın, elde edilen farklı sonuçlar muhtemelen uygulanan biberiyenin farklı tekniklerle elde edilmesinden, bu bitkilerin kullanılan kısımları (kabuk, meyve, çekirdek), elde edilen ürünlerin çeşidi (ekstrakt, yağ, su) ile yetiştikleri toprağın yapısı gibi etkenlere bağlı olarak içeriklerinin ve oranlarının farklılığından ve ayrıca hayvanların bireysel duyarlılıkları gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik gösterebilmesinden ileri gelebilir.

Sonuç olarak; biberiye ekstraktının farklı sürelerde ve herhangi bir yan etki oluşturmaksızın en iyi sonucu verecek farklı dozlarda kullanılarak dokular üzerine etkilerinin belirlenmesine yönelik yeni araştırmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

1. Crawford JM. Karaciğer ve safra yolları. Robbins SL, Cotran RS, Kumar V. eds. In: Robbins Temel Patoloji. 7. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2003; pp. 591-630.
2. Recknagel RO, Glende EA Jr, Dolak JA, Waller RL. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. Pharmacol Therapeut 1989; 43: 139-54.
3. Muriel P, Mourelle M. Prevention by silymarin of membrane alterations in acute CCl₄ liver damage. J Appl Toxicol 1990; 10: 275-9.
4. Basu S. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: Eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. Toxicology 2003; 189: 113-27.

5. Manibusan MK, Odin M, Eastmond DA. Postulated carbon tetrachloride mode of action: A review. J Environ Sci Heal C 2007; 25: 185-209.
6. Singh RP, Chidambara Murthy KN, Jayaprakasha GK. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. J Agric Food Chem 2002; 50: 81-6.
7. Breikaa RM, Algandaby MM, ElDemerdash E, Abdel Naim AB. Biochanin a protects against acute carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. Biosci Biotechnol Biochem 2013; 77: 909-16.
8. Dündar Y. Fitokimyasallar ve sağlıklı yaşam. Kocatepe Tıp Derg 2001; 2: 131-8.
9. Abdel Wahhab El Deen KG, El Shamy KA, El Zizz El Beih NA, Morcy FA, Mannaa FAE. Protective effect of a natural herb (*Rosmarinus officinalis*) against hepatotoxicity in male albino rats. Commun Sci 2011; 2: 9-17.
10. Yehia HM, Al Olayan EM, Elkhadragy MF. Hepatoprotective role of the pomegranate (*Punica granatum*) juice on carbon tetrachloride induced oxidative stress in rats. Life Sci J 2013; 10: 1534-44.
11. Kaur G, Jabbar Z, Athar M, Alam MS. *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. Food Chem Toxicol 2006; 44: 984-93.
12. Chidambara MKN, Jayaprakasha GK, Singh RP. Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract using in vivo models. J Agric Food Chem 2002; 50: 4791-5.
13. Gutiérrez R, Alvarado JL, Presno M et al. Oxidative stress modulation by *Rosmarinus officinalis* in CCl₄-induced liver cirrhosis. Phytother Res 2010; 24: 595-601.
14. Green Cj, Kneight J, Precious S, Simpkin S. Ketamine alone and combined with diazepam or xylazine in laboratory animals: a 10 year experience. Lab Anim 1981; 15: 163-70.
15. Luna LG, eds. Manual of Histologic Staining Methods; of the Armed Forces Institute of Pathology. New York Blakiston Division, McGraw-Hill, 1968; pp. 34-75.
16. Çiçek B, Oğuz D, Erden E, Şahin T. Nonalkolik steatohepatitte histolojik hasarı öngöründe klinik ve laboratuvarın yeri. Akad Gastroenterol Derg 2002; 1: 1-7.
17. Schwimmer JB, Behling C, Newbury R et al. Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology 2005; 42: 641-9.
18. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 1951; 193: 265-75.
19. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clin Sci 1993; 84: 407.
20. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T. Lipid peroxidation in material and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. Am J Obstet Gynecol 1979; 135: 372-6.

21. Tracey WR, Tse J, Carter G. Lipopolysaccharide-induced changes in plasma nitrite and nitrate concentrations in rats and mice: Pharmacological evaluation of nitric oxide synthase inhibitors. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 272: 1011-5.
22. Gnanaprakash K, Madhusudhana CC, Ramkanth S et al. Aqueous extract of *Flacourtia indica* prevents carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rat. *Int J Biol Sci* 2010; 6: 51-5.
23. Arosio B, Gagliano N, Fusaro LM et al. Aloe-emodin quinone pretreatment reduces acute liver injury induced by carbon tetrachloride. *Pharmacol Toxicol* 2000; 87: 229-33.
24. Sotelo-Felix JI, Martinez-Fong D, Muriel P, De La Torre P. Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat. *J Ethnopharm* 2002; 81: 145-54.
25. Şahin A, Yener Z, Dağoğlu G ve ark. Karbon tetraklorid (CCl₄) ile deneysel olarak karaciğer nekrozu oluşturulan ratlarda vitamin E + selenyum ve *Nigella sativa* (çörekotu)'nın karaciğer yıkımını engelleyici etkileri. *Türk J Vet Anim Sci* 2003; 27: 141-52.
26. Lu KL, Tsai CC, Ho LK, Lin CC, Chang YS. Preventive effect of the Taiwan folk medicine *Ixeris laevigata* var. *oldhami* on -naphthyl-isothiocyanate and carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *Phytother Res* 2002; 16: 45-50.
27. Shenoy KA, Somayaji SN, Bairy KL. Hepatoprotective effects of *Ginkgo biloba* against CCl₄-induced hepatic injury in rats. *Indian J Pharmacol* 2001; 33: 260-6.
28. Grizzi F, Franceschini B, Gagliano N. Mast cell density, hepatic stellate cell activation and TGF-beta1 transcripts in the aging Sprague-Dawley rat during early acute liver injury. *Toxicol Pathol* 2003; 31: 173-8.
29. Aranda M, Albendea CD, Lostalé F et al. In vivo hepatic oxidative stress because of carbon tetrachloride toxicity: protection by melatonin and pinoline. *J Pineal Res* 2010; 49: 78-85.
30. Fahim FA, Esmat AY, Fadel HM, Hassan KF. Allied studies on the effect of *Rosmarinus officinalis* L. on experimental hepatotoxicity and mutagenesis. *Int J Food Sci Nutr* 1999; 50: 413-27.
31. Feroz Khan Z, Asdaq SMB, Prasanna Kumar SR. Effects of few Indian medicinal herbs on carbon tetrachloride induced hepatic injury in animals. *International J Pharm Tech Res* 2009; 1: 579-87.
32. Venukumar MR, Latha MS. Hepatoprotective effect of the methanolic extract *Curculigo orchoides* in CCl₄ treated male rats. *Indian J Pharmacol* 2002; 34: 269-75.
33. Lv P, Luo HS, Zhou XP et al. Thalidomide prevents rat liver cirrhosis via inhibition of oxidative stress. *Pathol Res Pract* 2006; 202: 777-88.
34. Tasci I, Mas N, Mas MR, Tuncer M, Comert B. Ultrastructural changes in hepatocytes after taurine treatment in CCl₄ induced liver injury. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4897-902.
35. Santra A, Chowdhury A, Ghatak S, Biswas

- A, Dhali GK. Arsenic induces apoptosis in mouse liver is mitochondria dependent and is abrogated by N-acetylcysteine. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; 220: 146-55.
36. Plaa GL. Chlorinated methanes and liver injury: highlights of the past 50 years. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2000; 40: 42-65.
37. Atasever A, Yaman D. The effects of grape seed and colchicine on carbon tetrachloride induced hepatic damage in rats. *Exp Toxicol Pathol* 2014; 66:361-5.
38. Yang YS, Ahn TH, Lee JC et al. Protective effects of pycnogenol on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in Sprague dawley rats. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 380-7.
39. Lida C, Fujii K, Koga E et al. Effect of alpha-tocopherol on carbon tetrachloride intoxication in the rat liver. *Arch Toxicol* 2009; 83: 477-83.
40. Tanrıverdi G. Karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulmuş karaciğer hasarında değişik dozlardaki nikotinamidin protektif etkisinin ışık ve elektron mikroskopik olarak incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2005.
41. Arıcı OF, Cetin N. Protective role of ghrelin against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced coagulation disturbances in rats. *Regul Pept* 2011; 166: 139-42.
42. Ahn M, Park JS, Chae S et al. Hepatoprotective effects of *Lycium chinense* Miller fruit and its constituent betaine in CCl₄-induced hepatic damage in rats. *Acta Histochem* 2014; 116: 1104-12.
43. Althnaian T, Albokhadaim I, El-Bahr SM. Biochemical and histopathological study in rats intoxicated with carbon tetrachloride and treated with camel milk. *Springerplus* 2013; 2: 57.
44. Fu Y, Zheng S, Lin J, Ryerse J, Chen A. Curcumin protects the rat liver from CCl₄-caused injury and fibrogenesis by attenuating oxidative stress and suppressing inflammation. *Mol Pharmacol* 2008; 73: 399-409.
45. Srinivasan M, Rukkumani A. Sudheer R et al. Ferulic acid, a natural protector against carbon tetrachloride induced toxicity. *Fundam Clin Pharmacol* 2005; 19: 491-6
46. Karagül H. Klinik biyokimya. *Medisan Yayınevi*, Ankara: 2000; p. 133.
47. Ahsan R, Islam KM, Musaddik A, Haque E. Hepatoprotective activity of methanol extract of some medicinal plants against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in Albino rats. *Global J Pharm* 2009; 3: 116-22.
48. Martha S, Anreddy RNR, Devarakonda KR, Yellu NR, Thungathurthi S. Role of liver in progression of insulin resistance in relation to IGF-I and insulin levels in rats with acute hepatotoxicity. *Lat Am J Pharm* 2009; 28: 914-8.
49. Botsoglou NA, Taitzoglou IA, Botsoglou E. et al. Effect of long-term dietary administration of oregano and rosemary on the antioxidant status of rat serum, liver, kidney and heart after carbon tetrachloride-induced oxidative stress. *J Sci Food Agric* 2009; 89: 1397-406.
50. Palaniswamy R, Raghunathan PP. Protective effect of *Bacopa monnieri* leaf

- extract against oxidative stress induced hepatotoxicity in rats. *Int J Pharm Pharmac Sci* 2013; 5: 555-8.
51. Al-Assaf AH. Preventive effect of corosolic acid on lipid profile against carbon tetrachloride induced hepatotoxic rats. *Pak J Nut* 2013; 12: 748-52.
 52. Awaad AS, Soliman GA, El-Sayed DF, El-Gindi OD, Alqasoumi SI. Hepatoprotective activity of *Cyperus alternifolius* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Pharm Biol* 2012; 50: 155-61.
 53. Rajesh MG, Latha MS. Hepatoprotection by *Elephantopus scaber* L. in CCl₄-induced liver injury. *Indian J Physiol Pharmacol* 2001; 45: 481-6.
 54. Achliya GS, Wadodkar SG, Dorle AK. Evaluation of hepatoprotective effect of *Amalkadi ghrita* against carbon tetrachloride induced hepatic damage in rats. *J Ethnopharmacol* 2004; 90: 229-32.
 55. Tiftik AM. Klinik Biyokimya, Konya: Mimoza Yayınları, 1996.
 56. Murali A, Ashok P, Madhavan V. Protection against CCl₄ induced hepatotoxicity by pretreatment with methanol extract of *Hemidesmus indicus* var. pubescens leaf in Wistar rats. *Int J Appl Res Nat Prod* 2012; 5: 5-13.
 57. Kumar R, Kumar S, Patra A, Jayalakshmi S. Hepatoprotective activity of aerial parts of *Plumbago zeylanica* linn against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Int J Pharmacy Pharmaceut Sci* 2009; 1: 171-5.
 58. Cetin E, Kanbur M, Cetin N, Eraslan G, Atasever A. Hepatoprotective effect of ghrelin on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *Regul Pept* 2011; 171: 1-5.
 59. Jeon TI, Hwang SG, Park NG et al. Antioxidative effect of chitosan on chronic carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats. *Toxicology* 2003; 187: 67-73.
 60. Yılmaz S, Bahçecioğlu İH. Karbon tetraklorür ile siroz oluşturulmuş ratlarda lipid peroksidasyonu, antioksidant enzim ve pirüvat kinaz aktiviteleri. *Turk J Vet Anim Sci* 2000; 24: 25-8.
 61. Nakatani N, Inatani R. Structure of rosmanol, a new antioxidant from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2385-6.
 62. Nakatani N, Inatani R. Two antioxidative diterpenes from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and a revised structure for rosmanol. *Agric Biol Chem* 1984; 48: 2081-5.
 63. Houlihan CM, Ho CT, Chang SS. Elucidation of the chemical structure of a novel antioxidant, rosmaridiphenol, isolated from rosemary. *J Am Oil Chem Soc* 1984; 61: 1036-9.
 64. Houlihan CM, Ho CT, Chang SS. The structure of rosmariquinone-a new antioxidant isolated from *Rosmarinus officinalis* L. *J Am Oil Chem Soc* 1985; 62: 96-8.
 65. Wijeratne SSK, Cuppett SL. Potential of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) diterpenes in preventing lipid hydroperoxide-mediated oxidative stress in Caco-2 cells. *J Agr Food Chem* 2007; 55: 1193-9.

66. Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Jovin E. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., *Lamiaceae*) essential oils. J Agr Food Chem 2007; 55: 7879-85.
67. Amin A, Hamza AA. Hepatoprotective effects of hibiscus, rosmarinus and salvia on azathioprine-induced toxicity in rat. Life Sci 2005; 77: 266-78.

Yazışma Adresi

Yrd. Doç. Dr. Duygu Yaman
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi,
Patoloji Anabilim Dalı
38039 Melikgazi/Kayseri
Tel: 05054302477
E-posta: dyguyaman@hotmail.com



**Niğde İlinde Satışa Sunulan Koyun-Keçi Sütü ve Peynirlerinde
Brucella melitensis ve Biyotiplerinin Araştırılması***

Fulden KARADAL¹ Nurhan ERTAŞ ONMAZ² Cemalettin BAĞCI¹ Yeliz YILDIRIM²
Serhat AL² Seçil ABAY³

¹Niğde Üniversitesi Bor Meslek Yüksekokulu, Niğde-TÜRKİYE

²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

³Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

Özet: Bu çalışma Niğde ilinde satışa sunulan çiğ koyun ve keçi sütleri ile çiğ süttten yapılmış koyun ve keçi peynirlerindeki *Brucella melitensis* varlığını araştırmak amacıyla yapıldı. Bu amaçla, Niğde'nin çeşitli köy ve pazarlarından toplanan 57 çiğ koyun sütü, 43 çiğ keçi sütü ve 50 koyun- keçi peyniri olmak üzere toplam 150 örnek materyal olarak kullanıldı. *B. melitensis*'in izolasyonunda Farrell yöntemi, şüpheli izolatların identifikasyonunda polimeraz zincir reş aksiyonu (PZR) uygulandı. Çalışmada incelenen örneklerin *B. melitensis* içermediği tespit edildi. Çiğ süt ve ürünleri, özellikle ortam sıcaklığının yüksek olduğu dönemlerde, elverişsiz hazırlama ve muhafaza koşullarına bağlı olarak halk sağlığı riski oluşturmaktadır. Söz konusu riskin önlenmesi ve pastörize süt ve süt ürünleri kullanılması ile ilgili tüketici bilinci oluşturulması için bu konudaki çalışmaların devam etmesi gerektiği önerilmektedir.

Anahtar sözcükler: *Brucella melitensis*, Farrel yöntemi, koyun ve keçi sütü, koyun ve keçi peyniri, Niğde

Investigation of *Brucella melitensis* and It's Biovars in Raw Sheep and Goat Milk and Cheese Samples Sold at Retail in Nigde

Summary: The aim of this study is to investigate the prevalence of *Brucella melitensis* in raw sheep and goat milk and sheep and goat cheese produced from raw milk sold in Niğde. For this purpose, 57 raw sheep milk and 43 raw goat milk samples and 50 sheep cheese with a total of 150 samples were used as material that are collected from various open markets and villages in Niğde. It was used Farrell method for isolation of *B. melitensis* and polymerase chain reaction (PCR) for identification of suspected colonies. It was found that investigated samples did not contain *B. melitensis*. A raw milk and its products constitute a public health risk which depending on the inconvenient preparation and storage conditions especially during periods of high environmental temperatures We recommend that it has to be continued to work on this issue in order to prevent the risk public health and create consumer awareness about the consumption of unpasteurized milk and its products.

Key words: *Brucella melitensis*, Farrel method, sheep and goat milk, sheep and goat cheese, Niğde

Giriş

Brucella cinsindeki bakterilerin neden olduğu bruselloz, Akdeniz, Latin Amerika ve Arap ülkeleri başta olmak üzere tüm dünyada görülen çok önemli bir zoonozdur (2). *Brucella*

türlerinden yedisi insanlar için patojendir (38). *B. melitensis* koyun ve keçiden, *Brucella abortus* sığırlardan, *Brucella suis* domuzdan, *Brucella canis* köpekten, *Brucella pinnipedilis* su memelilerinden, *Brucella ceti* fok balığından, *Brucella inopiniata* meme implantından bulaşmaktadır (13,18,32,33,37,38).

İnsan brusellozunun önemli bir kaynağı olan

Geliş Tarihi / Submission Date : 12.05.2015

Kabul Tarihi / Accepted Date : 29.09.2015

* Bu çalışma Niğde Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SSB 2013/03- BAGEP numarası ile desteklenmiştir.

B. melitensis, insanlar için diğer *Brucella* türlerinden daha patojendir ve insanlarda Malta humması (Akdeniz ateşi) olarak tanımlanan hastalığa neden olmaktadır (19). İnsanlarda Malta hummasının semptomları, titreme ile yükselen dalgalı ateş, aşırı terleme, halsizlik, iştahsızlık, bulantı, kilo kaybı, erkeklerde unilateral epididimoorşit, baş, bel, eklem ve vücut ağrıları olarak bildirilmektedir. Bu semptomlara ek olarak nadir durumlarda endokardit ve menenjit de şekillenebildiği belirtilmiştir (12).

Bruselloz insanlara genellikle enfekte hayvanın idrar, genital salgı veya düşük materyalinin deri ya da konjunktivaya direkt teması ve bakterilerin kültür işlemleri sırasında inhalasyonu ile bulaşmaktadır (13,38,39). Nadir vakalarda bildirilen insandan insana bulaşmanın sebebi olarak; kemik iliği nakli (16); kan nakli (15) ve anne sütü (10) rapor edilmiştir. Brusellozlu hayvanlardan elde edilen kontamine et ve süt ürünlerinin yeterli ısı işlemi uygulanmadan tüketilmesi, hastalığın insanlara bulaşmasındaki en önemli faktör olarak belirtilmektedir (3, 36).

Brucella türlerinin biyotiplendirmesi için, CO₂ gereksiniminin belirlenmesi, tionin ve bazik fuksin varlığında büyüme, Tbilisi (Tb) ve Berkeley (Bk) fajı ile lizis, H₂S, katalaz, oksidaz ve üreaz üretimi testleri ve monospesifik antiserumlar ile aglütinasyon gibi standart prosedürler yürütülmektedir (4). Diğer *Brucella* türlerinin aksine *B. melitensis* biyotipleri sadece aglütinasyon işlemi ile tanımlanabilmektedir. *B. melitensis*'in klasik tanımlama modellerine uymayan birçok atipik suşlarının yanı sıra üç biyotipi vardır. (14). Yapılan çalışmalar, *B. melitensis* biyotip 3'ün bazı Akdeniz ve Ortadoğu ülkelerinde (19); biyotip 1'in Latin Amerika ülkeleri ile İspanya ve Portekiz'de, biyotip 2'nin ise Güney Avrupa ülkeleri ile Batı ve Orta Asya'dan sıklıkla izole

edildiği bildirilmektedirler (7). Ülkemizde teşhis edilen insan brusellozu vakalarından öncelikle *B. melitensis* biyotip 3'ün ve daha sonra ise *B. melitensis* biyotip 1'in (35); koyun ve keçi atık materyallerinden büyük çoğunlukla biyotip 3'ün, daha az olarak ise biyotip 1 ve biyotip 2'nin izole edildiği rapor edilmektedir (9,20,21).

Bu çalışma ile Niğde ilinde satışı yapılan çiğ koyun ve keçi sütü ve peynirlerinde *B. melitensis* varlığı ve biyotiplerinin araştırılması ve söz konusu ürünlerin *B. melitensis* yönünden halk sağlığını tehdit edip etmediğinin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Numuneler

Bu çalışmada, Haziran 2014-Ağustos 2014 tarihleri arasında Niğde merkez ve ilçelerine bağlı köy ve köy pazarlarından 57 adet çiğ koyun, 43 adet çiğ keçi sütü ve çiğ süttten yapılmış 46 adet koyun, dört adet koyun-keçi peyniri olmak üzere toplam 150 örnek materyal olarak kullanıldı. Steril kaplara alınan numuneler soğuk zincirle laboratuvara getirildi ve iki saat içinde analize tabi tutuldu. Numunelerin alındığı ilçe ve köyler Tablo 1'de belirtilmiştir.

Referans Suş: Çalışmanın her aşamasında, Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi'nden temin edilen *B. melitensis* (NCTC 10094) referans suşu kullanıldı.

Süt Örneklerinden *Brucella melitensis* İzolasyonu

Süt örneklerinden *B. melitensis* izolasyonunda Farrell yöntemi kullanıldı (17). Onbeş mL süt numunesi 6000 rpm de 15 dk. santrifüj edildi (Hettich EBA20). Santrifüj sonucu oluşan kaymak tabaka alttaki krema tabakasına zarar verilmeden uzaklaştırıldı. Daha sonra,

Tablo 1. Süt ve peynir numunelerinin alındığı yerler

Numune	n	Alındığı ilçe	Alındığı köyler
Koyun Sütü	3, 7,10	Merkez	Orhanlı, İçmeli, Dikilitaş
Koyun Sütü	3	Çiftlik	Azatlı
Koyun Sütü	11	Altunhisar	Merkez
Koyun Sütü	4, 6, 5	Bor	Gökbez, Kemerhisar, Merkez
Koyun Sütü	2	Ulukışla	Merkez
Koyun Sütü	6	Çamardı	Bademdere
Keçi Sütü	12	Altunhisar	Merkez
Keçi Sütü	10	Bor	Kemerhisar
Keçi Sütü	7	Merkez	Hançerli
Keçi Sütü	6, 8	Çamardı	Burç, Bademdere
Koyun Peyniri	6, 1, 5	Merkez	Koyunlu, Sazlıca, Özyurt
Koyun Peyniri	1	Çiftlik	Merkez
Koyun Peyniri	4	Çamardı	Burç
Koyun Peyniri	1, 8	Merkez	Konaklı, Merkez
Koyun Peyniri	4, 5	Bor	Merkez, Kemerhisar
Koyun Peyniri	6	Altunhisar	Merkez
Koyun Peyniri	5	Çamardı	Bademdere
Koyun Peyniri	2	Merkez	Dikilitaş
Koyun-Keçi Peyniri	1	Altunhisar	Merkez
Koyun-Keçi Peyniri	3	Bor	Kemerhisar

örneklerden 2 mL alınarak 5 mL Farrell Broth'a [Brucella Broth (Acumedia, 7121A), %5 at serumu (Sigma H1138), 10g/l Glikoz (Merck), 1vial/500ml Brucella Selective Supplement (Oxoid SR0083A)] inokule edildi ve aerobik ortamda, 37°C'de 5-7 gün süre ile inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda, zenginleştirilme işlemi yapılan şüpheli kültürden Farrell Agar'a [Brucella Medium Base (Oxoid,CM0169) %5 at serumu (Sigma H1138), 1vial/500mL Brucella Selective Supplement (Oxoid SR0083A)] öze yardımı ile ekim yapılarak aerobik ortamda 37°C'de 5-7 gün süre ile inkübe edildi (17). İnkübasyon sonunda 1-2 mm çapında, tamamen yuvarlak kenarlı, yarı saydam ve sarı renkteki şüpheli koloniler seçilerek DNA'ları ekstrakte edildi.

Peynir Örneklerinden Brucella melitensis İzolasyonu

Bu amaçla 10'ar gr peynir numunesi 90'ar mL Farrell Broth ile dilüe edilip homojenizatörde iki dakika karıştırılarak homojenize edildi. Elde edilen homojenizatlar, aerobik ortamda 37°C'de 5-7 gün süre ile inkübe edilerek zenginleştirme işlemi yapıldı. Daha sonra Farrell Broth'da zenginleştirilmiş şüpheli kültürden öze yardımı ile Farrell Agar'a ekim yapılarak aerobik ortamda 37°C'de 5-7 gün süre ile inkübe edildi (17). İnkübasyon sonunda 1-2 mm çapında, tamamen yuvarlak kenarlı, yarı saydam ve sarı renkteki şüpheli koloniler seçilerek koloniler seçilerek DNA'ları ekstrakte edildi.

DNA Ekstraksiyonu

Genomik DNA ekstraksiyonu, ticari firmanın direktifleri doğrultusunda, Axygen Biosciences AxyPrep Bacterial Genomic DNA Miniprep Kit kullanılarak yapıldı.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Çalışma sonucunda peynir ve süt

numunelerinden izole edilen *Brucella* spp. şüpheli izolatlar Bricker ve Halling (8), tarafından tanımlanan yöntemle minör modifikasyonlar uygulanarak amplifiye edildi. Çalışmada, her bir örnek için 10xPCR Buffer (Thermo Scientific) 1.5 mM MgCl₂ (Thermo Scientific) 400 µM dNTPs (Thermo Scientific) 1.5 U Taq Polymerase (Thermo Scientific) 2 mM primer A (Bru-F:5'-AAATCGCGTCCTTGCTGGTCTGA-3') 2 mM primer B (Bru-R:5'-TGCCGATCACTTAAGGGCCTTCAT-3') 5 µL DNA kullanıldı. PZR karışımı distile su ile 50 µL'ye tamamlandı. DNA amplifikasyonu; 95°C'de 2 dakika ön denatürasyon, işlemi uygulandıktan sonra 95 °C'de 2 dakika, 56.5 °C'de 2 dakika, 72°C'de 2 dakika olmak üzere toplam 35 siklus yapıлып, 72 °C'de 5 dakika son extension uygulandı. Elde edilen amplikonlar %1.5'lik agaroz jelde 90 voltta 1 saat elektroforez (Thermo EL, MIDICELL, PRIMO) işlemine tabi tutulduktan sonra UVP jel dökümantasyon sistemi (Vilber Laurmat ECX-20-M) kullanılarak görüntülendi. *B. melitensis* için ise 734 bp büyüklüğünde bandların oluşumu beklendi.

Bulgular

Çalışmada incelenen toplam 150 adet numunenin sadece iki tanesi *Brucella* spp. yönünden şüpheli olarak değerlendirildi. Koyun sütü orjinli bu iki örnekten elde edilen toplam altı adet izolata uygulanan PZR işlemi sonucunda bu izolatların *B. melitensis* olmadığı tespit edildi.

Tartışma ve Sonuç

Niğde ili ve köylerinden toplanan çiğ koyun ve keçi sütü ve peynir örneklerinden *B. melitensis* izole edilememiştir. Ancak yapılan çeşitli çalışmaların sonuçlarına göre ülkemizde çiğ sütlerin hijyenik kalitesi yetersiz bulunmakta ve süt örneklerinden izole edilen patojen bakteriler

arasında *B. melitensis* de rapor edilmektedir (22,26). Bakterinin, pastörizasyon ısısında inaktive olduğu, ancak *B. melitensis* içeren çiğ sütlerin pastörizasyon işlemi uygulanmadan peynir üretiminde kullanılması ve söz konusu peynirlerin yeterince olgunlaştırılmadan piyasaya sunulması nedeniyle etkenin tüketiciye bulaşabildiği belirtilmektedir (5,24). Bakterinin yaşam süresi, 4°C’de kremada 6 hafta, rokfört peynirinde 20-60 gün, beyaz peynirde ise 4-16 gün olarak belirtilmiştir (19).

Kenar ve ark. (26) inceledikleri koyun sütlerinin %4’ünün; İlhan ve ark. (22), ise %7.8’inin *B. melitensis* ile kontamine olduğunu belirtmişlerdir. Buna karşın Kasımoğlu (25), bu çalışmada alınan sonuçlar ile benzer şekilde Kırıkkale’de incelediği 35 çiğ süt örneğinin hiç birinin *Brucella* spp. ile kontamine olmadığını rapor etmiştir.

Brucella melitensis’in peynirlerdeki prevalansı ile ilgili olarak ülkemizde yapılmış çalışmalarda, bu çalışma ile paralel şekilde Ayaz (6) Ankara’dan temin ettiği 94; Parlakgöl (29) İstanbul’dan satın alınan 90 ve Öngör ve ark. (28) Türkiye’nin doğusundan topladıkları 40 peynir örneğinden *B. melitensis*’i izole edemediklerini bildirmişlerdir. Buna karşın Kalender ve ark. (23) Elazığ, Erzincan ve Tunceli illerinden topladıkları 78 adet taze tulum peyniri örneğinin 13’ünden ve Kasımoğlu (25), ise Kırıkkale’den satın aldığı 35 koyun peyniri örneğinin 5’inden *B. melitensis* izole ettiklerini belirtmişlerdir. Ayrıca *B. melitensis* prevalansı Ataş ve ark. (5) tarafından Sivas’tan temin edilen taze beyaz peynir örneklerinde %2.9 ve Kara ve Akkaya (24) tarafından Afyon çoban peynirinde %7, Afyon tulum peynirinde %4; Pamuk ve Gürler (30) tarafından ise yine Afyon’dan temin edilen taze peynir ve tulum peynirlerinde %5 olarak rapor edilmiştir. Ülkemiz dışında ise *B. melitensis*’in peynirlerdeki prevalansı İtalya’da

%0.14 (31); İspanya’da %13.5 (11); İran’da yapılan iki farklı çalışmada %0.5 (34) ve %0.7 (2) olarak belirtilmiştir. Coğrafik dağılım faktörlerinin, etkenin sütte bulunma süresi ve buna bağlı olarak örnek alma yönteminin, ayrıca etkenin izolasyonundaki farklılıkların çalışmalarda alınan sonuçları etkileyebileceği bildirilmektedir (4,25,26).

Çalışmada incelenen örneklerden *B. melitensis* izolatu elde edilemediğinden biyotiplendirme yapılamamıştır. Epidemiyolojik olarak enfeksiyon zincirinde rol alan hayvanların ve bulaşmada etkili olan süt ve peynir gibi hayvan materyallerinin saptanması, kontrol önlemlerinin alınabilmesi, eradikasyon programlarının hazırlanması ve uygulanması için *Brucella* biyotiplerinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Ülkemizde gıdalardan izole edilen *B. melitensis* suşlarında yapılan biyotiplendirme çalışmasında İlhan ve ark. (22) Van ili ve çevresinden topladıkları koyun sütlerinden elde ettikleri sekiz *B. melitensis* izolatu hepsinin biyotip 3 olduğunu belirtmişlerdir. İtalya’da koyun sütünden yapılmış taze peynirden elde edilen bir izolatu biyotip 2 (31); İspanya’da çiğ keçi peynirlerinden elde edilen 11 izolatu hepsinin biyotip 3 (27); Irak’da lokal peynirlerden elde edilen beş izolatu hepsinin biyotip 2 (1) olduğu rapor edilmiştir.

Niğde ili ve köylerinde çiğ süttten yapılmış peynirler yaygın olarak tüketilmektedir. Niğde ilinde bruselloz ise özellikle küçükbaş hayvanlarda endemik olarak görülmektedir. Dolayısıyla hastalık insanlara bulaşmaktadır. Buna rağmen çalışmada *B. melitensis* elde edilememiştir. Çalışmada kullanılan süt ve peynir örneklerinin bruselloz görülen bölgeler de dahil olmak üzere tüm Niğde’den tesadüfi ve bir kez olarak toplanmasının bu sonucun alınmasında etkili olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada analiz edilen örneklerin ısı

işlem görmediği dikkate alındığında, özellikle ortam sıcaklığının yüksek olduğu dönemlerde, elverişsiz hazırlama ve muhafaza koşullarına bağlı olarak halk sağlığı riski oluşturduğu düşünülmektedir. Söz konusu ürünlerin tüketimi ile oluşan bu riskin önlenmesi ve pastörize süt ve süt ürünlerinin tüketimi ile ilgili tüketici bilinci oluşturulabilmesi için bu konudaki çalışmalara devam edilmesi önerilmektedir.

Kaynaklar

1. Abbas BA, Talei AB. Isolation, identification and biotyping of *Brucella* spp. from milk product at Basrah Province. *Bas J Vet Res* 2010; 9(1): 152-62
2. Akbarmehr J. The prevalence of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* in local cheese produced in Sarab city, Iran and its public health implication. *Afr J Microbiol Res* 2011; 5(12): 1500-3.
3. Alavi SM, Rafiei A, Nikkhooi A. The effect of lifestyle on brucellosis among nomads in Khuzestan Province of Iran. *Pak J Med Sci* 2007; 23(3): 358-60.
4. Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. *Techniques for The Brucellosis Laboratory*. Paris, France: INRA Publications, 1988; p. 13-61.
5. Ataş M, Poyraz Ö, Alim A, Ataş AD, Çelik A. Sivas il merkezinde satışı sunulan taze ve salamura beyaz peynirlerin *Brucella* bakterileri yönünden incelenmesi. *Turk Hij Den Biyol Derg* 2007; 64(2): 9-14.
6. Ayaz Y. Ankara piyasasında satılan beyaz peynirlerde brucellosis etkenlerinin araştırılması. *Etlik Vet Mikrobiyol Enst Derg* 1986; 1(5): 9-16.
7. Benkirane A. Ovine and caprine brucellosis: World distribution and control/eradication strategies in West Asia/North Africa region. *Small Ruminant Res* 2006; 62(1-2): 19-25.
8. Bricker BJ, Halling SM. Differentiation of *Brucella abortus* bv. 1, 2, and *Brucella melitensis*, *Brucella ovis* and *Brucella suis* bv. 1 by PCR. *J Clin Microbiol* 1994; 32(11): 2660-6.
9. Buyukcangaz E, Sen A, Kahya S. Isolation and biotyping of *Brucella melitensis* from aborted sheep and goat fetuses. *Turk J Vet Anim Sci* 2009; 33(4): 311-6.
10. Carrera IA, Rodriguez MJL, Sapina AM, Lafuente AL, Sacristan ARB. Probable transmission of brucellosis by breast milk. *J Trop Pediatr* 2006; 52(5): 380-1.
11. Castell MJ, Rullan JV, Peiro Callizo EF, Nieto-Sandoval Alcolea A. Epidemic outbreak of 81 cases of brucellosis following the consumption of fresh cheese without pasteurization. *Rev Esp Salud Publica* 1996; 70(3): 303-1.
12. Corbel MJ. *Brucellosis in Humans and Animals*. Geneva, Switzerland: World Health Organization (WHO) Press, 2006; p. 14-7.
13. Cutler SJ. Brucellosis the most common bacterial zoonosis? *Biomed Sci* 2006; 63(50): 336-41.
14. Çerekçi A, Kılıç S, Bayraktar M, Uyanık MH, Yaşar E, Esen B. İnsan kaynaklı *Brucella* izolatlarının tür ve biyotip tayininde konvansiyonel yöntemler ile gerçek zamanlı multiplex polimeraz zincir reaksiyonunun karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45(3): 392- 400.
15. Doganay M, Aygen B, Esel D. Brucellosis due to blood transfusion. *J Hosp Infect* 2001; 49(2):151-2.
16. Ertem M, Kurekci AE, Aysev D, Unal E, İkinciogullari A. Brucellosis transmitted by bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transp* 2000; 26(2): 225-6.
17. Farrel ID. The development of a new selective medium for the isolation of *Brucella abortus* from contaminated sources. *Res Vet Sci* 1974;16(3): 280-6.
18. Foster G, Osterman BS, Godfroid J, Jacques I, Cloeckert A, *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred

- hosts. Int J Syst Evol Microbiol 2007; 57(11): 2688-93.
19. Garrido-Abellan F, Duran-Ferrer M, Macmillan A, Minas A, Nicoletti P, Vecchi G. Brucellosis in sheep and goats (*Brucella melitensis*). Ahl R. eds: In: Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare. European Commission, 2001; pp. 35-6.
 20. Gürbilek SE, Baklan EA, Aksoy HY. Türkiye’de 2007 ve 2008 yılları arasında izole edilen *Brucella* suşlarının identifikasyonu ve faj duyarlılıklarının saptanması. Harran Üniv Vet Fak Derg 2014; 3(2): 67-72.
 21. İça T, Aydın F, Gümüşsoy KS, Perçin D, Sümerkan AB, Ocak F, Abay S, Doğan HO, Fındık A, Çiftçi A. Conventional and molecular biotyping of *Brucella* strains isolated from cattle, sheep and human. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2012; 59(4): 259-64.
 22. İlhan Z, Solmaz H, Aksakal A, Gulhan T, Ekin IH, Boynukara B. Detection of *Brucella melitensis* DNA in the milk of sheep after abortion by PCR assay. Arch Med Vet 2008; 40 (2): 141-6.
 23. Kalender H, Özcan C, Arslan N. Taze tulum peynirlerinden *Brucella* izolasyonu. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg 2001; 31(34): 184-6.
 24. Kara R, Akkaya L. Investigation of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* at cheeses in Afyonkarahisar, Turkey. British J Dairy Sci 2013; 3(1): 5-8.
 25. Kasimoğlu A. Determination of *Brucella* spp. in raw milk and Turkish white cheese in Kirikkale. Dtsch Tierarztl Wochenschr 2002; 109(7): 324-6.
 26. Kenar B, Erdenliğ S, Şengör E. A study on presence of brucellosis in milk from Afyon region sheep. Seventh International Symposium of Animal Biology and Nutrition. September, 25-26, 2008; Baloteşti-Romania.
 27. Mendez MC, Paez JA, Cortes-Blanco M, Salmoral CE, Mohedano ME, Plata C, Varo BA, Martinez NF. Brucellosis outbreak due to unpasteurized raw goat cheese in Andalusia (Spain). Euro Surveill 2003; 8(7-8): 164-8.
 28. Ongör H, Cetinkaya B, Karahan M, Bulut H. Evaluation of immunomagnetic separation-polymerase chain reaction in direct detection of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* from cheese samples. Foodborne Pathog Dis 2006; 3(3): 245-50.
 29. Parlakgöl D. *Brucella* ve *Listeria* bakterilerini peynirden ayırabilmek için balıklı besiyerinin geliştirilmesi ve İstanbul’da satılan peynirlerde bu bakterilerin araştırılması. Türk Mikrobiyol Derg 1993; 23: 239-43.
 30. Pamuk Ş, Gürler Z. Detection of prevalence and contamination level of *Brucella* spp. in local cheese produced in Afyonkarahisar, Turkey. Kocatepe Vet J 2014; 7(1): 1-10.
 31. Sarno A, Izzi R, Sandulli S, Santagata N. Isolation of *Brucella melitensis* from fresh ewes’ milk cheese: etiology and epidemiology. Ind Aliment 1992; 31(302): 211-3.
 32. Scholz HC, Hubalek Z, Sedlacek I, Vergnaud G, Tomaso H, Al Dahouk S, Melzer F, Kämpfer P, Neubauer H, Cloeckert A, Maquart M, Zygmunt MS, Whatmore AM, Falsen E, Bahn P, Göllner C, Pfeffer M, Huber B, Busse HJ, Nöckler K. *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. Int J Syst Evol Microbiol 2008; 58(2): 375-82.
 33. Scholz HC, Nöckler K, Göllner C, Bahn P, Vergnaud G, Tomaso H, Al Dahouk S, Kämpfer P, Cloeckert A, Maquart M, Zygmunt MS, Whatmore AM, Pfeffer M, Huber B, Busse HJ, De BK. *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. Int J Syst Evol Microbiol 2010; 60(4): 801-8.
 34. Shakerian A, Karim G, Sharifzadeh A, Sadeghy M. The survey of frequency of *Brucella melitensis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* of ewes fresh traditional cheese in Shahrekord, Iran. Fifth World Congress Foodborne Infections and Intoxications. June, 7-11, 2004; Berlin-Germany.
 35. Şimşek H, Erdenliğ S, Oral B, Tülek N. İnsan kaynaklı *Brucella* izolatlarının tip-biyotip tayini ve epidemiyolojik olarak irdelenmesi. Klimik Derg 2004; 17(2): 103-6.
 36. Ünsal A, Alpat A, Tözün M, Arslantaş D, Tırpan K. Sivrihisar’da (Eskişehir) bruselloz

yaygınlığı. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2007;
37(1): 19-25.

37. Whatmore AM. Current understanding of the genetic diversity of *Brucella*, an expanding genus of zoonotic pathogens. Infect Genet Evol 2009; 9(6): 1168-84.
38. Xavier MN, Paixao TA, Hartigh ABD, Tsohis RM, Santos RL. Pathogenesis of brucellosis. Open Vet Sci J 2010; 4(1): 109-18.
39. Yakupsky P, Baron EJ. Laboratory exposures to *Brucellae* and implications for bioterrorism. Emerg Infect Dis 2005; 11(8): 1180-5.

Yazışma Adresi

Yrd. Doç. Dr. Fulden KARADAL
Niğde Üniversitesi, Bor Meslek Yüksekokulu,
Gıda İşleme Bölümü, 51700, Bor/NİĞDE
Tel: 03883114527
E-posta: fkaradal@nigde.edu.tr



Ratlarda Pentaklorofenol Zehirlenmesinde Nar Çekirdeği Yağının Lipid Peroksidasyonu ve Biyokimyasal Parametrelere Etkileri**

Zeynep Soyer Sarıca¹ Bilal Cem Liman²

¹ Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi, Kayseri-TÜRKİYE

² Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji Toksikoloji Anabilim Dalı, Kayseri- TÜRKİYE

Özet: Çalışma Sprague-Dawley ırkı erkek sıçanlarda yapıldı. Çalışmada ilki kontrol olmak üzere 4 grup oluşturuldu. İkinci gruba 0.15ml/kg dozunda nar çekirdeği yağı (NÇY), üçüncü gruba 40mg/kg dozunda pentaklorofenol (PCP) ve dördüncü gruba 40mg/kg dozunda PCP+0.15ml/kg dozunda NÇY 28 gün boyunca gavaj ile uygulandı. Deneme sonunda eritrositte hemoglobin, katalaz ve glutasyon peroksidaz, nitrik oksit, malondialdehit, süperoksit dismutaz parametreleri; serumda 8-hidroksi-2-deoksi guanosin (8-OH-dG) ve biyokimyasal parametreleri incelendi. Sonuç olarak, bu çalışmada sıçanlara oral yoldan gavaj ile 40mg/kg uygulanan PCP'nin karaciğer hasarına, lipid peroksidasyonuna ve antioksidan enzim etkinliklerinde azalmaya yol açtığı; NÇY'nin PCP'nin istenmeyen etkileri üzerine koruyucu rolü olduğu belirlendi.

Anahtar kelimeler: Lipid peroksidasyon, nar çekirdeği yağı, pentaklorofenol, rat

Effects of Pomegranate Seed Oil on Pentachlorophenol Toxicity Lipid Peroxidation and Some Biochemical Parameters in Rats

Summary: In the study, Sprague-Dawley male rats were used and four groups were formed. The first group was held as the control group. The second group was given 0.15 ml/kg pomegranate seed oil (PSO), the third group was given 40mg/kg pentachlorophenol (PCP) and, the fourth group was given 40mg/kg PCP+0.15 ml/kg PSO during 28 days as specified into stomach by gavages. At the end of the experiment, erythrocyte haemoglobin, catalase, glutathione peroxidase, nitric oxide, blood serum 8-hidroksi-2-deoksi guanosin (8-OH-dG) and biochemical parameters were analysed. As a result, 40mg/kg PCP applied by gavage, caused liver damage, lipid peroxidation and decreased the anti-oxidant enzyme activity and 0.15ml/kg PSD applied for 28 days, had no negative effect on protein, oil and carbohydrate metabolism, had no toxic effect on liver and had no effect on lipid peroxidation. Overall, it's determined that pomegranate seed oil prevents the negative effects of the pentachlorophenol.

Key words: Lipid peroxidation, pentachlorophenol, pomegranate seed oil, rat

Giriş

Pentaklorofenol geçmişte fungusid, bakterisid, herbisid, molluskisid, algisid ve insektisid olarak yaygın biçimde kullanılmış bir maddedir. Günümüzde daha çok ağaç endüstrisinde koruyucu olarak kullanılmaktadır. Pentaklorofenol hayvanlar için zehirli (sınıf Ib) bir maddedir.

Geliş Tarihi / Submission Date : 17.11.2015

Kabul Tarihi / Accepted Date : 26.01.2016

*Bu çalışma Erciyes üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSD-09-758 nolu proje ile desteklenmiştir.

**Bu çalışma 8. Uluslararası Katılımlı Türk Toksikoloji Derneği Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.

Öldürücü doz 50'si sıçanlarda ağızdan 25-210mg/kg'dır. Pentaklorofenol canlılarda metabolizma zehiri olarak etki gösterir, mitokondrilerde elektron taşıma zincirini etkilemeden ATP üretimini azaltır (4,10,20).

Pentaklorofenol maruziyetinde hedef organlar karaciğer, böbrek ve kemik iliğidir (37). Madde hasar görmemiş deri ve akciğerlerden de emilebilir; deri ve mukozalar için iritan bir maddedir. Pentaklorofenole maruz kalmış renge talaşın altlık olarak kullanıldığı etçi piliçlerde iştahsızlık, civcivlerde immün sistemde baskılanma, yaban domuzlarında fertilitate kaybı görüldüğü bildirilmektedir. Maddenin memelilerde ve kemirgenlerde aplastik anemi, eritrosit sayısında, hemogloblin konsantrasyonunda ve hematokrit değerlerinde azalmaya neden olduğu ortaya konulmuştur (4,30,41).

Nar (*Punica granatum*) dünyada özellikle Akdeniz ve Asya ülkelerinin çoğunda yaygın olarak yetişen bir bitkidir (5,21,23). Nar meyvesi dışında, ağacının kabuğu, meyve kabuğu, çiçeği, meyve suyu ve çekirdeğinden de faydalanılan bir bitkidir (21). Nar çekirdeği yağı (NÇY) konjuge yağ asitleri bakımından (linoleik ve linolenik yağ asitleri) oldukça zengindir (20). İçeriğinde yoğun olarak bulunan punisik asitin (trikosanik asit) antikanserijen etkileri olduğu bildirilmektedir (13,16,45). Nar çekirdeği yağında bitkisel steroller de (beta-sitosterol, kampesterol, stigmasterol) yüksek düzeylerde (4089-6205 mg/kg) bulunmaktadır (19). E vitamini içeriği oldukça yüksek olan NÇY antioksidan polifenoller açısından da oldukça zengindir. NÇY'nın güçlü antioksidan, anti-inflamatuvar, antikanser ve antimikrobiyal etkileri bulunmakta; diyabet, iskemi, alzheimer, obezite, ishal, ülser gibi olgularda yararlı etkileri olduğu bildirilmektedir (16,23).

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller

olarak tanımlanır (14,15,27). Serbest oksijen radikalleri organizmada yüksek konsantrasyonda bulunduğu, protein, lipid ve DNA'yı içeren hücresel yapıların oksidasyonuna yol açarlar. Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkileri ise enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlarla dengelenir (22).

Gereç ve Yöntem

Hayvan materyali: Araştırma için Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Komitesi (EÜ HADYEK) onayı alındı (08/74). Çalışmada, Erciyes Üniversitesi Deneysel araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 4-5 aylık, 40 adet Sprague-Dawley ırkı erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar konvansiyonel deney hayvanı barındırma şartlarında [kontrollü sıcaklık (21±2 °C), nem (%50±5), hava değişimi (saatte 12 devir), sıcaklık (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık)] ve *ad libidum* besleme ile barındırıldı.

Çalışma grupları: Çalışmada her birinde 10 sıçan bulunan 4 grup oluşturuldu. İlk grup (Grup 1) kontrol olarak tutuldu ve bu gruptaki sıçanlara herhangi bir uygulama yapılmadı. İkinci gruba (Grup 2) 0.15 ml/kg dozunda NÇY, üçüncü gruba (Grup 3) 40mg/kg dozunda PCP ve dördüncü gruba (Grup 4) 40 mg/kg dozunda PCP+ 0.15 ml/kg dozunda NÇY 28 gün boyunca gavaj yolu ile mideye verildi.

Analiz yöntemleri: Eritrosit hemogloblin analizlerinde Fairbanks ve Klee (11) tarafından bildirilen yöntem kullanıldı. Plazma MDA analizleri Yoshioka ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem kullanıldı (49). Serum nitrik oksit tayininde Griess reaksiyonu olarak bilinen diazotizasyon yöntemi (37) kullanıldı. Eritrosit katalaz analizleri Luck tarafından geliştirilen spektrofotometrik metoda (26) göre yapıldı. Eritrosit SOD aktivitesi Sun (36) tarafından bildirilen metotla belirlendi. Eritrosit GSH-Px analizlerinde Paglia ve Valentine (31) tarafından geliştirilen metot kullanıldı.

Serum 8-hidroksi-2-deoksi guanosin (8-OH-dG) analizleri Bio-tek ELx50 ELISA (Kayseri, Türkiye) okuyucuda Cayman marka kit (Cayman Chemical- 589320) kullanılarak yapıldı. Serumlarda glukoz, total protein, albumin, BUN, kreatinin, ürik asit, total bilirubin, trigliserit, kolesterol, HDL, LDL, üre, AST, ALT, ALP analizleri ticari kitler (Abbott) kullanılarak Abbott C 16000 Architech otoanalizörde yapıldı.

İstatistik analizleri SPSS 15.0 paket programı ile yapıldı. Çalışmada gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü varyans analiziyle (One-way ANOVA), farklılık gösteren grupların belirlenmesi ise Duncan çoklu karşılaştırma testi ile yapıldı.

Bulgular

Çalışmada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında NÇY verilen grupta (Grup 2) MDA, NO, CAT, SOD ve GSH-Px değerlerinde önemli bir değişimin olmadığı ($p>0.05$); kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PCP verilen grupta (Grup 3) MDA ve NO düzeylerinde yükselme ile CAT ve GSH-Px aktivitesinde azalma ve SOD aktivitesinde yükselme olduğu ($p<0.05$); PCP (Grup 3) grubu ile karşılaştırıldığında PCP+NÇY (Grup 4) verilen grupta MDA ve NO düzeylerinin azaldığı, CAT ve GSH-Px aktivitelerinin ise yükseldiği ($p<0.05$) gözlemlendi (Tablo 1). Tüm gruplarda 8-OH-dG düzeylerinde önemli bir değişimin olmadığı ($p>0.05$) gözlemlendi (Tablo 1).

Çalışmada, kontrol grubuna göre NÇY verilen grupta (Grup 2) HDL, total protein ve albumin düzeylerinde yükselme; kolesterol ve LDL düzeyinde azalma olduğu ($p<0.05$); kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PCP verilen grupta (Grup 3) BUN, glukoz, kolesterol, kreatinin, trigliserit, LDL, ürik asit, ALT, AST ve ALP değerlerinde yükselme ile HDL, total protein ve albumin düzeylerinde azalma olduğu ($p<0.05$); PCP verilen grupla (Grup 3) karşı-

laştırıldığında PCP+NÇY verilen grupta (Grup 4) HDL, total protein ve albumin düzeylerinde yükselme ile BUN, glukoz, kolesterol, kreatinin, trigliserit, LDL, ürik asit, ALT, AST ve ALP değerlerinde azalma olduğu ($p<0.05$) belirlendi (Tablo 2).

Tartışma ve Sonuç

Çalışmada, kontrol grubuna göre NÇY'nin serum HDL, albumin ve total protein düzeyini yükselttiği, kolesterol ve LDL düzeyini ise düşürdüğü (Tablo 2) ($p<0.05$); plazma MDA, NO ve 8-OH-dG düzeyleri ile eritrosit CAT, SOD ve GSH-Px düzeylerinde önemli bir değişime yol açmadığı ($p>0.05$) görülmektedir. Çalışma sonuçları 15ml/kg dozda 28 gün süre ile sıçanlara verilen NÇY'nin sistemik bir toksisiteye yol açmadığını, aksine lipid metabolizması ve protein metabolizması üzerine olumlu etkileri olduğunu göstermektedir. Özellikle konjuge linoleik asit ile cis ve trans izomerlerinin, vücutta yağların depolanmasını sağlayan lipoprotein-lipaz enziminin aktivitesini engelleyerek vücutta yağların depolanmasını azalttığı ve kolesterol düzeyini dengelediği bildirilmektedir (32). Bu çalışmada, NÇY verilen grupta kolesterol ve LDL düzeyindeki azalma ile HDL düzeyindeki yükselme, NÇY'nin içeriğindeki punikik asit, linoleik asit ve oleik asit gibi doymamış yağ asitlerince zengin oluşu ile ilişkilendirilebilir. Yapılan çalışmalarda NÇY'nin insanlarda serum lipid değerlerini azalttığı (29), farelerde damarlarda lipidlerle ilişkili plak oluşumunu geriletmediği ve serum lipid parametreleri üzerine olumlu etkilerinin olduğu (2) bildirilmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar referans alınan çalışmalarda olduğu gibi NÇY'nin lipid metabolizmasını düzenleyici etkileri olduğunu göstermektedir.

Çalışmada, NÇY verilen grupta kontrol grubuna göre MDA, NO, SOD, CAT, GSH-Px ve 8-OH-dG düzeylerinde anlamlı bir değişim olmadığı görülmektedir. Daha önce yapılan bir

Tablo 1. Plazma MDA ve NO düzeyi, eritrosit SOD, CAT ve GSH-Px ve 8-OH-dG enzim aktiviteleri

	N	Grup 1 $\bar{X} \pm S_x$	Grup 2 $\bar{X} \pm S_x$	Grup 3 $\bar{X} \pm S_x$	Grup 4 $\bar{X} \pm S_x$	P değeri
Malondialdehit (MDA) (nmol/ml)	10	3.53±0.61 ^a	3.27±0.88 ^a	4.81±0.68 ^b	3.74±1.36 ^a	p< 0.05
Nitrik Oksit (NO) (µmol/ml)	10	1.72±0.79 ^a	2.02±0.71 ^a	3.98±1.53 ^b	2.15±1.12 ^a	p< 0.05
Katalaz (CAT) (k/gHb)	10	94.86±12.68 ^a	82.70±19.57 ^{ab}	53.68±16.96 ^c	74.01±16.31 ^b	p< 0.05
Süperoksit Dismutaz (SOD) (U/mgHb)	10	1.01±0.12 ^a	1.23±0.25 ^{ab}	1.64±0.33 ^c	1.36±0.29 ^b	p< 0.05
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) (µmolNADPH+/gHb)	10	50.55±6.51 ^a	58.10±16.85 ^a	29.14±5.09 ^c	40.05±7.46 ^b	p< 0.05
8-hidroksi-2-deoksi guanosin (8-OH-dG) (pg/ml)	10	0.16±0.00	0.17±0.01	0.16±0,00	0.20±0.05	p< 0.05

$\bar{X} \pm S_x$: Ortalama \pm Std.Hata ; Grup 1 kontrol, grup 2 NÇY, grup 3 PCP, grup 4 PCP+NÇY*

* Her satırda farklı harfler taşıyan gruplar anlamlıdır.

Tablo 2. Grupların serum biyokimyasal değerleri

	N	Grup 1 $\bar{X} \pm S_x$	Grup 2 $\bar{X} \pm S_x$	Grup 3 $\bar{X} \pm S_x$	Grup 4 $\bar{X} \pm S_x$	P değeri
Kan Üre Azotu (Bun) (Mg/Dl)	10	13.60±2.26 ^a	12.20±2.09 ^a	16.39±1.50 ^b	14.12±1.72 ^a	p< 0.05
Glukoz (Mg/Dl)	10	149.37±35.20 ^a	172.00±16.95 ^a	298.00±33.80 ^c	228.25±24.34 ^b	p< 0.05
Yüksek Dansiteli Lipoprotein (Hdl) (Mg/Dl)	10	61.37±6.36 ^c	75.50±5.60 ^d	40.75±7.99 ^a	50.50±3.96 ^b	p< 0.05
Kolesterol (Mg/Dl)	10	75.87±5.61 ^b	51.00±6.92 ^a	92.12±8.60 ^c	72.12±3.52 ^b	p< 0.05
Kreatinin (Mg/Dl)	10	0.20±0.07 ^a	0.23±0.10 ^a	0.52±0.08 ^b	0.41±0.15 ^b	p< 0.05
Trigliserid (Mg/D)	10	73.50±9.25 ^a	64.25±8.54 ^a	111.0±9.53 ^b	73.62±5.62 ^a	p< 0.05
Düşük Dansiteli Lipoprotein (Ldl) (Mg/Dl)	10	12.70±1.24 ^b	9.87±2.26 ^a	20.40±2.60 ^d	16.37±1.50 ^c	p< 0.05
Ürik Asit (Mg/Dl)	10	0.99±0.14 ^a	1.08±0.20 ^a	2.38±0.89 ^b	1.29±0.17 ^a	p< 0.05
Total Bilirubin (Mg/Dl)	10	0.13±0.05	0.13±0.05	0.17±0.04	0.13±0.05	p< 0.05
Alanin Aminotransferaz (Alt)(U/L)	10	45.50±8.60 ^a	50.25±10.18 ^a	89.37±8.34 ^c	69.0±7.17 ^b	p< 0.05
Aspartat Aminotransferaz (Ast)(U/L)	10	68.87±16.95 ^a	67.25±18.29 ^a	133.25±17.27 ^c	99.00±15.25 ^b	p< 0.05
Alkalemin Fosfataz(Alp)(U/L)	10	143.75±14.55 ^a	134.25±36.83 ^a	411.37±43.19 ^c	221.00±64.63 ^b	p< 0.05
Total Protein (G/Dl)	10	6.33±0.43 ^b	6.86±0.35 ^c	5.73±0.35 ^a	6.33±0.53 ^b	p< 0.05
Albümin (G/Dl)	10	2.43±0.26 ^b	2.60±0.25 ^c	1.30±0.10 ^a	2.23±0.22 ^b	p< 0.05

$\bar{X} \pm S_x$: Ortalama \pm Std.Hata ; Grup 1 kontrol, grup 2 NÇY, grup 3 PCP, grup 4 PCP+NÇY*

* Her satırda farklı harfler taşıyan gruplar anlamlıdır.

araştırmada farelere dört hafta boyunca verilen nar suyunun karaciğer GSH-Px, SOD ve CAT aktivitelerinde azalmaya neden olmakla birlikte, lipid peroksidasyonun önemli göstergelerinden birisi olan MDA ve 8-OH-dG düzeylerinde önemli bir değişime neden olmadığı (12), başka bir araştırmada iki hafta boyunca nar suyu verilen farelerde lipid peroksidasyonunu baskıladığı (3) ortaya konulmuştur. Bu durum belirtilen çalışma sonuçlarına benzer bir şekilde, çalışmamızda seçilen doz ve sürede verilen NÇY'nin lipid peroksidasyonu ve genotoksik etkilere yol açmadığı gibi PCP'nin oluşturduğu lipid peroksidasyonu üzerinde olumlu etkilere sebep olduğunu göstermektedir.

Grup 1 ve Grup 3 karşılaştırıldığında PCP verilen grupta serum AST, ALP, ALT enzim aktiviteleri ile BUN, glukoz, kolesterol, kreatinin, trigliserid, LDL ve ürik asit değerlerinde yükselme; HDL, albumin ve total protein düzeylerinde azalmanın olduğu; lipid peroksidasyon parametrelerinden plazma MDA ve NO düzeyleri ile SOD aktivitesinde yükselme; CAT ve GSH-Px değerlerinde ise azalmanın meydana geldiği görülmektedir ($p<0.05$). Özellikle serum ALT aktivitesindeki yükselmeler canlıda karaciğer hasarının göstergeleri olarak değerlendirilmektedir (17,34). Serum AST aktivitesinde artış karaciğer ve kas hasarı sonucunda olabilmektedir. ALP aktivitesindeki yükselmenin ise özellikle safra kanallarında hasar oluşumu sonucu gerçekleştiği bilinmektedir (18,40). PCP toksisitesinin ortaya konulduğu araştırmalarda ratlara bir ay süre ile yemle verilen maddenin karaciğerde dejenerasyona, AST aktivitesinde yükselmeye neden olduğunu göstermektedir (6,46). Çalışmamızda, daha önce yapılan çalışmalarda da ortaya konulduğu gibi, PCP verilen grupta karaciğer hasarının göstergesi olan serum AST, ALP ve ALT aktivitelerinin yükseldiği görülmektedir. CYP-450 enzim aktiviteleri sonucu oluşan serbest radikaller aracılı hepatik hasara yol açtığı bilinen (25,38)

PCP'nin, bu mekanizma ile karaciğerde AST ve ALP gibi sitozolik enzimlerin hücre dışına çıkışını sağlayarak serumdaki düzeylerinin arttığını; ALP aktivitelerindeki yükselme de karaciğer hasarının safra kanallarını da kapsayacak şekilde şiddetli olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmadaki serum biyokimya bulguları, PCP'nin protein (albumin ve total protein değerlerinde azalma), yağ (serum kolesterol, trigliserit ve LDL değerlerinde yükselme, HDL'de azalma) ve şeker (serum glukoz düzeyinde artış) metabolizması üzerine olumsuz etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır.

PCP verilen grupta MDA ve NO düzeyindeki yükselme ile birlikte SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerindeki azalma PCP'nin süperoksit, H₂O₂, peroksinitrit, OH gibi farklı serbest radikallerin birikimine yol açtığını; antioksidan enzimlerin oluşan radikalleri etkisizleştirmede yetersiz kaldıklarını göstermektedir. Antioksidan enzim etkinliklerindeki azalma, serbest radikal üretimindeki artışla birlikte bu enzimlerin kullanıldığını ve tükenme noktasına geldiğine işaret etmektedir. PCP'nin deney hayvanlarında süperoksit radikali oluşturucu etkileri olduğu (35) ve lipid peroksidasyonu tetiklediği (24,39) bildirilmiştir. Sonuç olarak PCP'nin lipid peroksidasyon oluşturucu etkilerinin daha önceki araştırmalarda da belirtildiği üzere (28,38), sitokrom P-450 monooksijenaz enzim sistemi etkinliğinin artışına bağlı olarak antioksidan enzim sisteminin etkisizleştirme kapasitesi üzerinde serbest radikal oluşumuna bağlı olduğu söylenebilir.

Yapılan araştırmalar farklı dozlarda, sürelerde ve farklı yollarla verilen PCP'nin farelerde (42,43,44) ve ratlarda (24,35,47) karaciğer 8-OH-dG düzeyinde yükselmeye yol açtığını göstermektedir. Diğer çalışmaların aksine, bizim çalışmamızda 40mg/kg dozda 28 gün süre ile verilen PCP'nin 8-OH-dG düzeyinde anlamlı bir değişime yol açmadığı ortaya ko-

nulmuştur. Bu durum PCP dozu, verilme yolu, süresi ve şekli, tür farklılığı ve kullanılan analitik yöntemin hassasiyeti gibi faktörlerle ilişkilendirilebilir. -

Grup 3 ve Grup 4 serum biyokimyasal parametreleri değerlendirildiğinde Grup 4 AST, ALP, ALT aktiviteleri ile BUN, glukoz, kolesterol, trigliserit, LDL, ürik asit, düzeylerinde azalma, HDL, total protein ve albumin düzeylerinde ise yükselme; Grup 1 ve Grup 4 karşılaştırmasında ise Grup 4'de serum ALT, AST ve ALP aktiviteleri ile glukoz, kreatinin, LDL düzeylerinde artış, HDL düzeyinde ise azalmanın olduğu ortaya konulmuştur.

Çalışmanın verileri NÇY'nin PCP'nin protein, yağ ve şeker metabolizması üzerindeki olumsuz etkileri önleyici ve karaciğer hasarını düzenleyici etkinliğinin olduğunu göstermektedir. Önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi (4,8,9), NÇY'nin biyokimyasal parametreleri düzenleyici etkilerinin, bileşiminde bulunan punisik asit ve linoleik asit gibi yağ asitleri (33,34) ile birlikte punigalasin ve punikalın gibi fenolik maddelerle (1,48) ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Grup 3 ve Grup 4 lipid peroksidasyon parametreleri değerlendirildiğinde, Grup 4 serum MDA ve NO düzeyleri ile eritrosit SOD aktivitesinde azalma, eritrosit CAT ve GSH-Px aktivitesinde ise yükselmenin olduğu; Grup 1 ve Grup 4 karşılaştırmasında ise eritrosit CAT, SOD ve GSH-Px aktivitesinde azalma olmakla birlikte değerlerin kontrol grubuna yaklaştığı gözlenmektedir. Çalışma sonuçları NÇY'nin PCP tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonunun şiddetini azalttığını göstermektedir. Antioksidan enzim aktivitelerinin tekrar kontrol grubu değerlerine doğru yaklaşması da NÇY'nin antioksidan enzimlerin etkinliğini artırarak serbest radikallerin etkisizleştirildiğine işaret etmektedir. Daha önce yapılan araştırmalar NÇY'nin antioksidan ve koruyucu etkilerinin

içerisinde bulunan fenolik bileşikler (7) ve yağ asitleri ile yakından ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Çalışmada NÇY'nin, PCP'nin GSH-Px ve CAT aktivitesi ile NO düzeyini kontrol grubu değerlerine doğru yaklaştırması, yukarıda belirtilen mekanizmalarla ilişkili olarak, NÇY'nin özellikle H₂O₂ ve peroksinitrit aracılı oksidatif hasara karşı koruyucu etkileri olduğunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak sunulan çalışmada, oral yoldan gavaj ile 40mg/kg (ca) uygulanan PCP'nin karaciğer hasarına, lipid peroksidasyonuna ve antioksidan enzim etkinliklerinde azalmaya yol açtığı; 15ml/kg ca dozunda 28 gün boyunca verilen NÇY'nin ratlarda protein, yağ ve karbonhidrat metabolizması üzerine istenmeyen etkilerinin olmadığı, karaciğer üzerinde toksik etkilere yol açmadığı, lipid peroksidasyonu oluşturucu etkilerinin bulunmadığı; NÇY'nin PCP'nin istenmeyen etkileri üzerinde koruyucu rolü olduğu belirlenmiştir.

Kaynakça

1. Araq K, Wang YM, Inoue N, Hirata J, Cha JY, Nagao K, Yanagita T. Dietary effect of pomegranate seed oil rich in 9cis, 11trans, 13cis conjugated linolenic acid on lipid metabolism in obese, hyperlipidemic OLETF rats. *Lipids Health Dis* 2004; 9: 3-7.
2. Aviram M, Volkova N, Raymond C, Dreher M, Reddy MK, Ferreira D, Rosenblat M. Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic: studies in vivo in atherosclerotic apolipoprotein e-deficient (E0) mice and in vitro in cultured macrophages and lipoproteins. *J Agric Food Chem* 2008; 56(3): 1148-57.
3. Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R, Hayek T, Presser D, Fuhrman B. Pomegranate

- juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(5): 1062-76.
4. Bagri P, Ali M, Aeri V, Bhowmik M, Sultana S. Antidiabetic effect of *Punica granatum* flowers: effect on hyperlipidemia, pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(1): 50-4.
 5. Baytop T. Türkiye’de Bitkilerle Tedavi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1999; p. 305-6.
 6. Chhabra RS, Maronpot RM, Bucher JR, Haseman JK, Toft JD, Hejtmancik MR. Toxicology and carcinogenesis studies of pentachlorophenol in rats. *Toxicol Sci* 1999; 48(1): 14-20.
 7. Chidambara Murthy KN, Jayaprakasha GK, Singh RP. Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract using in vivo models. *J Agric Food Chem* 2002; 50(17): 4791-5.
 8. Çelik I, Temur A, Isik I. Hepatoprotective role and antioxidant capacity of pomegranate (*Punica granatum*) flowers infusion against trichloroacetic acid-exposed in rats. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(1): 145-9.
 9. Das AK, Mandal SC, Banerjee SK, Sinha S, Saha BP, Pal M. Studies on the hypoglycaemic activity of *Punica granatum* seed in streptozotocin induced diabetic rats. *Phytother Res* 2001; 15(7): 628-9.
 10. Dökmeci İ, Dökmeci AH. Toksikoloji: Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi. Dördüncü Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2005; p. 602.
 11. Fairbank VF, Klee GG. Biochemical aspect of haematology. Tiez NW, Saunders WB, eds. In: *Fundamentals of Clinical Biochemistry*. Philadelphia: 1987; pp. 803-4.
 12. Faria A, Monteiro R, Mateus N, Azevedo I, Calhau C. Effect of pomegranate (*Punica granatum*) juice intake on hepatic oxidative stress. *Eur J Nutr* 2007; 46(5): 271-8.
 13. Grossmann ME, Mizuno NK, Schuster T, Clearly MP. Punicic acid is an ω -5 fatty acid capable of inhibiting breast cancer proliferation. *Int J Oncol* 2010; 36(2): 421-6.
 14. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect* 1994; 102: 5-12.
 15. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57(5): 715-25.
 16. Jurenka J. Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum L.*): A review. *Altern Med Rev* 2008; 13(2): 128-44.
 17. Kanbur M, Eraslan G, Beyaz L, Silici S, Liman BC, Altinordulu S, Ataserver A. The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice. *Exp toxicol Pathol* 2009; 61(2): 123-32.
 18. Karagül H. Klinik biyokimya. Ankara: Medisan Yayınevi, 2000; p. 133.

19. Kaufman M, Weisman Z. Pomegranate oil analysis with emphasis on MALDI- TOF/ MS triacylglycerol fingerprinting. J Agric Food Chem 2007; 55 (25): 10405-13.
20. Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A, eds. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. İkinci Baskı. Ankara: Medisan Yayınevi, 2002; p. 467.
21. Kaya S. Tıbbi Botanik ve Tıbbi Bitkiler. Ankara: Medisan Yayınevi, 2008; p.131-2.
22. Kılçksız S, Demirel C. Oksidatif stres, radyasyona bağlı hasar ve radyo koruyucu olarak n-asetil-sistein'in potansiyel rolü. Turk Onkol Derg 2008; 23(4): 200-7.
23. Lansky EP, Newman RA. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. J Ethnopharmacol 2007; 109(2): 177-206.
24. Lin PH, La DK, Upton PB, Swenberg JA. Analysis of DNA adducts in rats exposed to pentachlorophenol. Carcinogenesis 2002; 23(2): 365-9.
25. Lin PH, Waidyanatha S, Pollack GM, Swenberg JA, Rappaport SM. Dose-specific production of chlorinated quinone and semiquinone adducts in rodent livers following administration of pentachlorophenol. Toxicol Sci 1999; 47(1): 126-33.
26. Luck HS, Bergmeyer HU, eds. Catalase Methods in Analysis, London: Academic Press, 1965; p. 885-94.
27. Mercan U. Tosikolojide serbest radikallerin önemi. YYU Vet Fak Derg 2004; 15(1-2): 91-6.
28. Michielsen C, Boeren S, Rietjens I, van Mil F, Vos J, Bloksma N. The mercapturic acid biotransformation pathway of hexachlorobenzene is not involved in the induction of splenomegaly, or skin and lung lesions in the Brown Norway rat. Arch Toxicol 2000; 74(10): 609-17.
29. Mirmiran P, Fazeli MR, Asghari G, Shafiee A, Azizi F. Effect of pomegranate seed oil on hyperlipidaemic subjects: A double blind placebo-controlled clinical trial. Br J Nutr 2010; 104(3): 402-6.
30. National Toxicology Program. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Pentachlorophenol. NTP Report 87-86-5, Newyork: 1999; p. 5-53.
31. Paglie D, Valentie WN. Studies on the quanlitative and quantitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Med 1967; 70: 158-9.
32. Pariza MW, Park Y, Cook ME. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. Prod Lipid Res 2001; 40(4): 283-98.
33. Saha SS, Ghosh M. Ameliorative role of conjugated linolenic acid isomers agonist oxidative DNA damage induced by sodium arsenite in rat model. Food and Chem Tox 2010; 48: 3398-405.
34. Saha SS, Ghosh M. Comparative study of antioxidant activity of alpha-eleostearic acid and puniic acid against oxidative stress generated by sodium arsenite. Food Chem Toxicol 2009; 47(10): 2551-6.
35. Sai-Kato K, Umemura T, Takagi A, Hasegawa R, Tanimura A, Kurokawa Y. Pentachlorophenol-induced oxidative

- DNA damage in mouse liver and protective effect of antioxidants. *Food Chem Toxicol* 1995; 33(10): 877-82.
36. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34(3): 497-500.
37. Tracey WR, Tse, J, Carter G. Lipopolysaccharide-induced changes in plasma nitrite and nitrate concentrations in rats and mice: Pharmacological evaluation of nitric oxide synthase inhibitors. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 272(3): 1011-5.
38. Tsai CH, Lin PH, Troester MA, Rappaport SM. Formation and removal of pentachlorophenol-derived protein adducts in rodent liver under acute, multiple, and chronic dosing regimens. *Toxicol Sci* 2003; 73(1): 26-35.
39. Tsai CH, Lin PH, Waidyanatha S, Rappaport SM. Characterization of metabolic activation of pentachlorophenol to quinones and semiquinones in rodent liver. *Chem Biol Interact* 2001; 134(1): 55-71.
40. Turgut K. Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. Konya: Bahçivanlar Basım Sanayi, 2000; p.189.
41. United States Environmental Protection Agency. Reregistration Eligibility Decision for Pentachlorophenol. EPA Report 739-R-08-008, ABD: 2008; p. 10-37.
42. Umemura T, Sai-Kato K, Takagi A, Hasegawa R, Kurokawa Y. Oxidative DNA damage and cell proliferation in the livers of B6C3F1 mice exposed to pentachlorophenol in their diet. *Fundam Appl Toxicol* 1996; 30(2): 285-9.
43. Umemura T, Kuroiwa Y, Kitamura Y, Ishii Y, Kanki K, Kodama Y, Itoh K, Yamamoto M, Nishikawa A, Hirose M. A crucial role of Nrf2 in in vivo defense against oxidative damage by an environmental pollutant, pentachlorophenol. *Toxicol Sci* 2006; 90(1): 111-9.
44. Umemura T, Kai S, Hasegawa R, Sai K, Kurokawa Y, Williams GM. Pentachlorophenol (PCP) produces liver oxidative stress and promotes but does not initiate hepatocarcinogenesis in B6C3F1 mice. *Carcinogenesis* 1999; 20(6): 1115-20.
45. Vroegrijk IOCM, Van Diepen JA, Van Den Berg S, Westbroek I, Keizer H, Gambelli L, Hontecillas R, Bassaganya-Riera J, Zondag GC, Romijn JA, Havekes LM, Voshol PJ. Pomegranate seed oil, a rich source of punicic acid, prevents diet-induced obesity and insulin resistance in mice. *Food and Chem Tox* 2011; 49(6): 1426-30.
46. Wang YJ, Lee CC, Chang WC, Liou HB, Ho YS. Oxidative stress and liver toxicity in rats and human hepatoma cell line induced by pentachlorophenol and its major metabolite tetrachlorohydroquinone. *Toxicol Lett* 2001; 122(2): 157-69.
47. Wang YJ, Ho YS, Chu SW, Lien HJ, Liu TH, Lin JK. Induction of glutathione depletion, p53 protein accumulation and cellular transformation by tetrachlorohydroquinone, a toxic metabolite of pentachlorophenol. *Chem Biol Interact* 1997; 105(1): 1-16.
48. Yamasaki M, Kitagawa T, Koyanagi N, Chujo H, Maeda H, Kohno-Murase J, Imamura J, Tachibana H, Yamada K. Dietary effect of pomegranate seed oil on

immune function and lipid metabolism in mice. Nutrition 2006; 22(1): 54-9.

49. Yoshioka T, Kawada K, Schimada T. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. Am J Obstet Gynecol 1979; 135: 372-6.

Yazışma Adresi

Dr. Veteriner Hekim Zeynep SOYER SARICA
Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar
Uygulama ve Araştırma Merkezi
Melikgazi/ Kayseri
Tel: 0352 2076666/24414
E-posta: zsarica@erciyes.edu.tr



Slaughter and Carcass Characteristics of Honamlı and Honamlı x Hair (F₁) Goat Male Kids Reared under Extensive Conditions

Aykut Asım AKBAŞ¹, Mustafa SAATCI¹

¹Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Science, Istiklal Campus, 15030, Burdur - TURKEY

Summary: The aim of study was to comparatively investigate slaughter and carcass characteristics of Honamlı and Honamlı x Hair crossbreeds reared under extensive conditions. Seven Honamlı and Honamlı x Hair crossbreed kids at 30-35kg pre-slaughter weight were firstly separated from their herds for determination of slaughter and carcass traits. Dressing percentages based on slaughter weight and empty body weight were detected as 45.51% and 53.21% for Honamlı kids. Almost the same values, 44.31% and 52.20%, were also determined for Honamlı x Hair crossbreed kids. M. longissimus dorsi (MLD) areas were defined as 14.10 cm² and 12.88 cm² for Ho and Ho x H, respectively and also a significant difference was found between genotypes (P<0.05). The differences among genotypes for the percentages of the parts which had an economical importance, were not found significant in the current study (P>0.05). As a result, the genetic potential of Honamlı goat related to high dressing percentages and MLD area might be reflected by rearing in more suitable management conditions.

Key words: Carcass, Honamlı, kid, slaughter

Ekstansif Şartlarda Yetiştirilen Honamlı ve Honamlı x Kıl Keçisi Melezi (F₁) Oğlakların Kesim ve Karkas Özellikleri

Özet: Bu araştırmanın amacı ekstansif koşullarda yetiştirilen Honamlı ve Honamlı x Kıl Keçisi melezi oğlakların kesim ve karkas özelliklerinin karşılaştırılması olarak incelenmesidir. Kesim ve karkas özelliklerinin belirlenmesi için 30-35 kg arasında canlı ağırlığa en önce ulaşan Honamlı ve Honamlı x Kıl keçisi melezi 7'şer adet oğlak buldukları sürülerden alınmıştır. Honamlı oğlaklarının kesim öncesi canlı ağırlık ve boş vücut ağırlıklarına göre karkas randımanı değerleri sırasıyla %45.51 ve %53.21 olarak belirlenmiştir. Aynı değerler Honamlı x Kıl keçisi melezi oğlaklar için ise sırasıyla %44.31 ve %52.20 olarak bulunmuştur. M. longissimus dorsi kesit alanları Honamlı oğlakları ve melez oğlaklar için sırasıyla 14.10 cm² ve 12.88 cm² olarak tespit edilmiş ve iki genotip arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur (P<0.05). Çalışmada ekonomik değeri yüksek olan karkas parçalarının ağırlık ve oranları açısından genotipler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (P>0.05). Sonuç olarak uygun bakım ve besleme koşullarının sağlanmasıyla Honamlı oğlaklarının yüksek karkas randımanı ve MLD alanı açısından sahip oldukları genetik üstünlükleri daha belirgin şekilde ortaya çıkabilir.

Anahtar kelimeler: Honamlı, karkas, kesim, oğlak

Introduction

Goats the first domesticated farm animals are able to provide better products through their low metabolic requirements, high digestion

activity and the ability of reduce metabolism despite living in adverse environmental conditions (14,30). So especially adopted goat breeds in a certain area are so important for the local people (3). Turkey was the one of important country on goat breeding in Europe, but especially there were a rapid decline the number of goats in the last 20 years. Much of the decline has resulted from some reasons such as social and economical problems in rural areas, migrations to urban areas, lack of cooperation between breeders, young people's reluctance to goat breeding, lack of sufficient demand for goat products, difficulties in finding shepherds (19,23).

The goat population in Turkey, about 10.4 million (4), is composed mostly of the Hair goat (Anatolian Black) spreading among all the regions but concentrated in especially in Mediterranean, South-East Anatolia and South-West Anatolia regions. Hair goats have generally a middle-sized body, but remarkable differences in body size are also seen. Their breeding purpose is mainly meat and milk. They are well adapted to all climate and rangeland conditions of Turkey. However they are able to utilize land covered with heath and scrubs (21). On the other hand, Angora goat, Malta, Kilis, Abaza, Damascus and Georgian goats are the other native breeds of Turkey (1). In addition to this, Honamlı goat was defined as a new breed and under protection with the notification of Republic of Turkey Ministry of Food Agriculture and Livestock (41). The pure breed Honamlı goats that are being breed in the Antalya region have white or brown foreheads and legs and the body is black. Sometimes grey spotting occurs (18).

Sale of kids is primary income for goat breeders especially, in traditional breeding systems (42). Specific consumption patterns and preferences for goat meat are dictated by cultural and traditional backgrounds and the socio-economic

status of the community (11). Goat meat is thought to be a good alternative for those consumers who look for a healthy protein of high biological value (43) and especially young goats could be suitable for low-fat, low-calorie diets because of having low intramuscular and subcutaneous fat content (38).

The goat meat consumption has began to increase especially the last 20 year in the world-wide (32). However the importance of goat as a meat-production animal is increasing as its meat becoming accepted in many new markets (33).

The aim of the present study was to compare slaughter and carcass characteristics of Honamlı (Ho) and Honamlı x Hair crossbreeds (Ho x H).

Material and Methods

The study was carried out in Burdur (latitude 36°53' and 37°50' N, longitude 29°24' and 30°53' E) and Antalya (latitude 36°07' and 37°29' N, longitude 29°20' and 32°35' E). In the region, summers are hot and dry, winters are mild and rainy, expressed as climate type. In addition to this, Cold semi-land climate is also observed in the internal part. The maçques areas are dominants 500-600 m from the coast as the characteristic of vegetation (5,6). The experimental goats were of purebred Honamlı male kids and the crossbreeds at F₁ level of Honamlı x Hair male kids. In herds, kids were kept with their mothers during suckling period at morning and night until 90th day of age. Then does and kids were begun to grazing together in the rangelands. Seven kids reached the 30-35 kg pre-slaughter liveweight firstly were separated from their herds for Ho and Ho x H for determination of slaughter and carcass traits at average 188th day of age and 209th day of age, respectively. Kids were purchased from the breeders and transferred to a commercial slaughterhouse applied the standard slaughter

procedure in Burdur province. On the day of slaughter, pre-slaughter liveweights were recorded after deprived of food (for 12 h) but free access to water. Non-carcass components (head, skin, feet, lungs and trachea, liver, heart, spleen) were recorded and then hot carcass weight of each kid was determined. The gastro-intestinal tract was weight when it is full and empty. Thus empty body weight (EBW) was also calculated. Dressing percentage was detected based on full liveweight and EBW. The carcasses were then chilled at 4°C for 24 h. At the end of this period, the cold carcass weights were detected.

Some carcass measurements such as carcass length, leg length, buttock width were defined as described by Fisher and De Boer (20) on the hanging carcass. Testes, kidney, kidney and pelvic fat and tail were excluded and weighed. After splitting the chilled carcasses along the vertebral column, the left side was divided into five primal cuts (neck, flank, ribs, shoulder and long leg) described by Colomer-Rocher et al. (12) and weighed. Fat thickness over the leg, loin, rack, and shoulder) 12th rib was detected using digital plot. The surface area of the MLD was obtained with a new procedure which was applied in this study in the first time. In this procedure, the surface area of MLD traced onto acetate papers and then tranfered to computers by scanning. The Autocad software program (8) was used to calculate MLD area.

Study has been approved by Suleyman Demirel University Local Ethical Committee on Animal expirements (23.02.2012, meeting number: 06, resolution number: 07).

Statistical Analysis

Minitab (34) statistical programme was used in order to examine slaughter and carcass traits. Student-T test was employed the defined differences between Honamlı and Honamlı x Hair goats.

Results

Slaughter and carcass characteristics of the Honamlı (Ho) and Honamlı x Hair (Ho x H) male kids were presented in Table 1. The differences among genotypes which were at similar pre-slaughter weight were significant ($P<0.001$). Dressing percentages based on slaughter weight and empty body weight were detected as 45.51% and 53.21% for Ho kids. The same values were also determined 44.31% and 52.20% for Ho x H kids.

Honamlı kids had higher values than crossbreds and significant differences were found between genotypes. The higher values for chilling losses of kids were found at Honamlı kids (2.70%) than Ho x H kids (1.87%) which were seen in Table 2. Lower back fat thickness and compactness values for Ho kids (0.59 mm and 238.12 g/cm) than Ho x H kids (0.75 mm and 238.12 g/cm) might be related to higher chilling losses for Ho kids. M. Longissimus dorsi area providing information about the amount of meat in the carcass values were defined as 14.10 cm² and 12.88 cm² for Ho and Ho x H, respectively and also the significant difference found between genotypes ($P<0.05$). Some carcass measurements such as carcass length, leg length and buttock width were determined 75.93 cm, 26.71 cm and 17.21 cm for Ho kids and 73.40 cm, 28.21 cm and 17.12 cm for Ho x H kids.

The percentages of the valuable parts and non-carcass components were presented in Table 3. There were significant differences between genotypes for the percentages of feet, spleen and internal fat ($P<0.05-0.01$). The non-significant differences among genotypes for the percentages of shoulder, long leg and ribs, the parts which had an economical importance, found in the current study ($P>0.05$).

Table 1. Certain slaughter and carcass characteristics of Honamlı (Ho) and Honamlı x Hair (Ho x H) kids ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Traits	Ho (n=7)	CV%	Ho x H (n=7)	CV%	P
Age at slaughter (day)	187.57±0.92	2.65	208.14±0.97	3.25	0.001**
Slaughter weight (kg)	33.28±0.55	4.39	34.25±0.56	4.11	0.224 ^{ns}
Empty body weight (kg)	28.45±0.47	4.68	29.06±0.48	5.23	0.046*
Hot carcass weight (kg)	15.14±0.29	5.44	15.18±0.41	4.48	0.057 ^{ns}
Dressing percentage-1 ^{DP1} , %	45.51±0.47	2.93	44.31±0.98	3.59	0.081 ^{ns}
Dressing percentage-1 ^{DP2} , %	53.21±0.69	3.47	52.20±0.65	4.34	0.993 ^{ns}
Head weight (g)	2043.08±54.01	6.96	2171.01±70.32	7.20	0.173 ^{ns}
4 Feet weight (g)	1191.40±19.10	8.32	1055.72±24.11	7.37	0.001**
Skin weight (g)	3360.07±125.23	9.85	3589.12±100.85	10.11	0.182 ^{ns}
Lungs and trachea weight (g)	451.42±21.90	11.23	525.74±16.29	9.87	0.017*
Heart weight (g)	168.67±12.80	12.56	174.32±5.71	10.73	0.683 ^{ns}
Liver weight (g)	625.77±21.10	5.13	725.73±27.90	6.41	0.010*
Spleen weight (g)	45.71±3.79	16.12	68.60±5.91	15.43	0.008**
Full stomach weight (g)	4830.21±118.56	4.89	5581.71±255.23	5.29	0.003**
Empty stomach weight (g)	1297.54±66.42	7.12	1485.71±33.12	8.27	0.034*
Full intestine weight (g)	2914.90±81.10	3.93	2577.84±132.11	5.40	0.162 ^{ns}
Empty intestine weight (g)	1383.32±60.12	4.51	1603.65±131.26	5.29	0.166 ^{ns}
Internal fat weight (g)	45.71±5.79	16.45	88.62±7.65	15.95	0.001**
Testes weight (g)	251.40±13.32	13.67	248.54±12.24	14.12	0.985 ^{ns}

*: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001. ^{ns}: nonsignificant (P > 0.05). CV: Coefficient of variance
^{DP1}: Dressing percentage based on slaughter weight. ^{DP2}: Dressing percentage based on empty body weight.

Table 2. Certain cold carcass characteristics of Honamlı (Ho) and Honamlı x Hair (Ho x H) kids ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Traits	Ho (n=7)	CV%	Ho x H (n=7)	CV%	P
Cold carcass weight (kg)	14.78±0.30	5.76	14.91±0.40	4.86	0.062 ^{ns}
Chilling loss (%)	2.70±0.18	12.45	1.87±0.05	10.98	0.003**
Dressing percentage-1 ^{DP1} , %	44.42±0.47	3.02	44.03±0.68	4.23	0.056 ^{ns}
Dressing percentage-1 ^{DP2} , %	51.95±0.70	3.06	51.27±0.62	5.10	0.656 ^{ns}
Left half of carcass weight (kg)	7.02±0.17	6.19	7.53±0.23	5.81	0.105 ^{ns}
Shoulder weight (g)	1506±39.21	6.45	1594±60.02	6.83	0.246 ^{ns}
Flank weight (g)	720.78±37.43	5.45	857.00±57.22	7.11	0.071 ^{ns}
Neck weight (g)	811.05±45.90	7.75	806.19±43.12	8.32	0.946 ^{ns}
Ribs weight (g)	1675.11±52.10	6.58	1806.56±62.41	7.39	0.135 ^{ns}
Sirloin weight (g)	1144.39±28.20	5.48	1215.03±46.64	6.27	0.222 ^{ns}
Loin weight (g)	525.07±36.79	4.69	590.71±21.52	5.70	0.147 ^{ns}
Long leg weight (g)	2268.18±47.20	5.31	2346.22±64.19	7.46	0.342 ^{ns}
Tail weight (g)	27.14±1.16	4.22	30.00±2.22	6.31	0.276 ^{ns}
Kidney weight (g)	50.36±3.14	8.78	53.93±2.08	5.23	0.354 ^{ns}
Kidney and pelvic fat weight (g)	24.29±1.46	17.75	35.00±2.81	15.69	0.010*
Back fat thickness (mm)	0.59±0.07	10.57	0.75±0.04	11.01	0.067 ^{ns}
M. Longissimus dorsi area (cm ²)	14.10±0.29	9.32	12.88±0.22	8.73	0.018*
Carcass length (cm)	75.93±0.90	7.94	73.40±0.83	8.37	0.064 ^{ns}
Leg length (cm)	26.71±0.36	8.51	28.21±0.74	6.20	0.105 ^{ns}
Buttock width (cm)	17.21±0.26	6.67	17.12±0.29	4.93	0.831 ^{ns}
Carcass compactness (g/cm)	218.93±3.70	7.45	238.12±6.71	6.47	0.034*

*: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001. ^{ns}: nonsignificant (P > 0.05). CV: Coefficient of variance^{DP1}: Dressing percentage based on slaughter weight. ^{DP2}: Dressing percentage based on empty body weight.

Table 2. Certain cold carcass characteristics of Honamlı (Ho) and Honamlı x Hair (Ho x H) kids ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Traits	Ho (n=7)	CV%	Ho x H (n=7)	CV%	P
Percentages (%) relative to cold carcass weight					
Shoulder	21.44±0.21	7.25	21.16±0.40	8.30	0.540 ^{ns}
Flank	10.25±0.42	9.21	11.36±0.56	7.41	0.142 ^{ns}
Neck	11.51±0.47	8.43	10.71±0.45	8.86	0.245 ^{ns}
Ribs	23.84±0.37	7.75	24.10±1.12	6.43	0.821 ^{ns}
Sirloin	16.31±0.34	6.89	16.23±0.78	7.34	0.921 ^{ns}
Loin	7.44±0.39	7.20	7.87±0.30	7.46	0.402 ^{ns}
Long Leg	32.33±0.51	5.45	31.18±0.34	8.23	0.090 ^{ns}
Tail	0.38±0.01	6.12	0.39±0.02	7.67	0.751 ^{ns}
Kidney	0.71±0.04	7.88	0.70±0.02	6.97	0.994 ^{ns}
Kidney and Pelvic Fat	0.34±0.02	10.21	0.46±0.03	9.59	0.023*
Percentages (%) relative to empty body weight					
Head	7.67±0.12	7.58	7.48±0.29	7.36	0.569 ^{ns}
4 Feet	4.35±0.16	6.85	3.68±0.05	8.45	0.004**
Skin	10.62±0.43	9.63	10.38±0.23	10.21	0.639 ^{ns}
Lungs and Trachea	1.22±0.07	8.58	1.81±0.08	9.12	0.427 ^{ns}
Heart	0.64±0.03	10.52	0.58±0.01	11.73	0.178 ^{ns}
Liver	2.36±0.04	6.20	2.51±0.09	7.10	0.202 ^{ns}
Spleen	0.17±0.01	10.94	0.24±0.02	11.29	0.046*
Internal Fat	0.17±0.02	9.78	0.32±0.03	8.43	0.001**

*: P < 0.05, **: P < 0.01. ^{ns}: nonsignificant (P > 0.05). CV: Coefficient of variance

Discussion

In the present study, dressing percentages defined as 45.51% for Ho and 44.31% for Ho x H (based on slaughter weight) were lower than Koyuncu et al. (31) and Kebede et al. (27). On the other hand, Pena et al. (37), Yilmaz et al. (44), Özcan et al. (36) and Kor et al. (28) reported lower values than the present study. However, Dhanda et al. (16), Daskiran et al. (13) and Ekiz et al. (17) reported similar results with the current research. Cameron et al. (10), Kadim et al. (26) and Yilmaz et al. (45) did not find significant effects between different genotypes for dressing percentages in agreement of the current study. In contrast to this, a significant effect of genotype on dressing percentage reported by some authors (15,24,29,36). Differences on dressing percentages between genotypes were also associated with differences of gastro-intestinal tract content in breeds by some researches (15, 26). Therefore, dressing percentages were detected according to slaughter weight and empty body weight for preventing the effect of gastro-intestinal tract content in the present study. Management and feeding were one of the factors affecting dressing percentages. This study was conducted on extensive conditions, the fattening performances of the kids were not determined. Aktaş et al (2), detected the fattening performance of Honamlı and Hair male kids at similar slaughter weights and also calculated higher dressing percentages than the present study. Therefore, it was thought that dressing percentages would be higher with better management systems.

The back fat thickness values (0.59 mm and 0.75 mm) determined in the current study was higher than Özcan et al. (36), Yilmaz et al. (45) and Koşum et al. (29) reports. In contrary to this, Koyuncu et al. (31) and Dhanda et al. (15) found higher back fat thickness than the present study. Lower carcass compactness and back fat thickness values for Ho kids than Ho x H kids

might be related to higher chilling losses. In the present study, there was significant difference between genotypes for MLD area (14.10 cm² and 12.88 cm²). Similarly, Kadim et al. (26), Koşum et al. (29) and Oman et al. (35) reported significant genotype effects on MLD area. Besides, Dhanda et al. (16), reported MLD area as 12.1 cm² for kids which have 30-35 kg pre-slaughter liveweight like the present study. Gökdal et al. (22), reported lower MLD area values (10.5 cm² and 11.5 cm²) for Alpin x Hair and Saanen x Hair having the near pre-slaughter liveweight than the present study. Other than that, The differences among Ho and Ho x H kids in terms of carcass parts weights and percentages were not significant ($P>0.05$) in the present study. Similarly, Cameron et al. (10), Dhanda et al. (16), Özcan et al. (36) and Yilmaz et al. (45) reported non-significant genotype effects on the percentages of carcass parts. However, higher percentages of these parts reported by some authors (9,13,29,37). Differences for the percentages of carcass parts might be related with the factors such as breed, slaughter weight and slaughter age (22,31,37,39).

The carcass length value as an indicator of the carcass size for Ho is in agreement with the results reported by Gök et al for Honamlı kids. The same values for Honamlı x Hair crossbred kids is higher than the some reports in different studies concerning Hair goat kids (40,45). In this study, non-significant differences for the percentages of non-carcass components except feet and spleen were in agreement with the studies conducted by some authors (25,29,39). On the other hand, the differences of skin percentages than the other studies might be associated with the hair production of Ho and Ho x H crossbred kids.

In the present study, the significant differences found for internal fat weight and percentages between genotypes ($P<0.01$) and also these values were lower than some reports (7,9,13,28). It is

though that this situation is might be related to extensive condition with inadequate care and management.

The present study showed that Honamlı kids had higher dressing percentages and MLD area than Honamlı x Hair crossbred kids. In addition to this, the back fat thickness and carcass compactness were lower in Honamlı kids. Any significant differences were not found between genotypes for the valuable carcass parts.

The present study is the first on comparative investigation of slaughter and carcass characteristics of Honamlı kids with other genotype. As seen in the present study; the breeders had began to use Honamlı for meat production at crossbreeding. However, there is a need further researches related to the backcrossing of Honamlı and Hair goat rather than F_1 . Planning and regulating right crossbreeding systems might be used in Teke Region for becoming a meat goat production center. The genetic potential of Honamlı goat related to high dressing percentages and also MLD area might be detected by reared more suitable management conditions. The studies about fattening performances of Honamlı goat should be applied. In this way, goat meat production and also consumption might be in Teke Region of Turkey.

Acknowledgements

This study was prepared from the corresponding author's Ph.D. thesis and supported financially by Mehmet Akif Ersoy University Scientific Research Project Commission (MAKUBAP), Project No: 0152-DR-12.

References

1. Akcapınar H. Goat Breeding. Ankara University Faculty of Veterinary Medicine Department of Animal Science Lecture Notes, Ankara: 1994; p.4
2. Aktaş AH, Gök B, Ateş S, Tekin ME, Halıcı İ, Baş H, Erduran H, Kassam S. Fattening performance and carcass characteristics of Turkish indigenous Hair and Honamlı goat male kids. *Turk J Vet Anim Sci* 2015; 39(6): 643-53.
3. Al-Najjar K, Salhab S, Al-Merestani R, Kasem R, Al-Azzewi W, Dawa M, Omed H, Saatci M. Environmental factors affecting kid mortality in Shami Goats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2010; 16(3): 431-35.
4. Anonymous. Turkish Statistical Institute. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1002; Access date: 05.12.2015
5. Anonymous. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Antalya>; Access date: 02.12.2015
6. Anonymous. <http://www.burdur.gov.tr/ilin-konumu.asp>; Access date: 02.12.2015
7. Atay O, Gökdal Ö, Eren V. Some production traits of Hair goat in rural conditions. Congress of National Goat Breeding. June, 24–26, 2010; Çanakkale-Turkey.
8. Autocad. AutoCAD software, Autodesk Inc., USA, 2012.
9. Bonvillani A, Pena F, De Gea G, Gomez G, Petryna A, Perea J. Carcass characteristics of Criollo Cordobes kid goats under an extensive management system: Effects of gender and liveweight at slaughter. *Meat Sci* 2010; 86(3): 651-59.
10. Cameron MR, Luo J, Sahlü T, Hart SP, Coleman SW, Goetsch AL. Growth and slaughter traits of Boer x Spanish, Boer x Angora, and Spanish goats consuming a concentrate-based diet. *J Anim Sci* 2001; 79(6):1423-30.
11. Casey NH. Goat meat in human nutrition. Fifth International Conference on Goats. March, 2-8, 1992; New Delhi-India.

12. Colomer-Rocher F, Morand-Fehr P, Kirton AH. Standard methods and procedures for goat carcass evaluation, jointing and tissue separation. *Livest Prod Sci* 1987; 17: 149-59.
13. Daskiran I, Bingol M, Karaca S, Yilmaz A, Cetin AO, Kor A. The effect of feeding system on fattening performance, slaughter, and carcass characteristics of Norduz male kids. *Trop Anim Health Prod* 2010; 42(7): 1459-63.
14. Dellal İ, Erkuş A. Economic analysis and planing of Hair goat rearing farms in Antalya province. Ankara: Agricultural Economic Research Institute Publishing, 2000; pp. 5-6.
15. Dhanda JS, Taylor DG, Mccosker JE, Murray PJ. The influence of goat genotype on the production of capretto and chevon carcass. 1. Growth and carcass characteristics. *Meat Sci* 1999; 52(4): 355-61.
16. Dhanda JS, Taylor DG, Murray PJ. Growth, carcass and meat quality parameters of male goats: effects of genotype and liveweight at slaughter. *Small Ruminant Res* 2003; 50(1-2): 57-66.
17. Ekiz B, Ozcan M, Yilmaz A, Tölü C, Savaş T. Carcass measurements and meat quality characteristics of dairy suckling kids compared to an indigenous genotype. *Meat Sci* 2010; 85(2): 245-9.
18. Elmaz Ö, Saatçı M, Mamak N, Dağ B, Aktaş AH, Gök B. The determination of some morphological characteristics of Honamlı Goat and kids, defined as a new indigenous goat breed of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2012; 18(3): 481-5.
19. Ertuğrul M, Savaş T, Dellal G, Taşkın T, Koyuncu M, Cengiz F, Dağ B, Koncagül S, Pehlivan E. Improving of small ruminant breeding in Turkey. Turkey Agricultural Engineering VII. Technical Congress. January, 11-15, 2010; Ankara-Turkey.
20. Fisher AV, De Boer H. The EAAP standard method of sheep carcass assessment. Carcass measurements and dissection procedures Report of the EAAP Working Group on Carcass Evaluation, in cooperation with the CIHEAM Instituto Agronomico Mediterraneo of Zaragoza and the CEC Directorate General for Agriculture in Brussels. *Livest Prod Sci* 1994; 38(3):149-59.
21. General Directorate of Agricultural Research and Policies (GDAR). Domestic Animal Genetic Resources in Turkey, <http://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Katalog%20Türkçe.pdf>; Access date: 05.07.2015
22. Gökdal Ö. Growth, slaughter and carcass characteristics of Alpine x Hair goat, Saanen x Hair goat and Hair goat male kids fed with concentrate in addition to grazing on rangeland. *Small Ruminant Res* 2013; 109 (2-3): 69-75.
23. Gürsoy O. Economics and profitability of sheep and goat production in Turkey under new support regimes and market conditions. *Small Ruminant Res* 2006; 62(3): 181-91.
24. Herold P, Snell H, Tawfik ES. Growth, carcass and meat quality parameters of purebred and crossbred goat kids in extensive pasture. *Arch Tierz* 2007; 50(2): 186-96.
25. Johnson DD, McGowan CH, Nurse G, Anous MR. Breed type and sex effects on carcass traits, composition and tenderness of young goats. *Small Ruminant Res* 1995; 17(1): 57-63.
26. Kadim IT, Mahgoub O, Al-Ajmi DS, Al-Mqbaly RS, Al-Saqri NM, Ritchie A.

- An evaluation of the growth, carcass and meat quality characteristics of Omani goat breeds. *Meat Sci* 2003; 66(1): 203-10.
27. Kebede T, Lemma T, Dinka H, Guru M, Sisay A. Growth performance and carcass characteristics of Arsi-Bale goats castrated at different ages. *J Cell Anim Biol* 2008; 2(11):187-94.
 28. Kor A, Karaca S, Ertuğrul M. Effect of different housing systems on fattening performance, slaughter and carcass characteristics of Akkeçi (White Goat) male kids. *Trop Anim Health Prod* 2011; 43(3): 591-6.
 29. Koşum N, Alçiçek A, Taşkın T, Önenç A. Fattening performance and carcass characteristics of Saanen and Bornova male kids under an intensive management system. *Czech J Anim Sci* 2003; 48(9): 379-86.
 30. Koyuncu M. Goat breeding strategy in the World and Turkey. National Dairy Goat Congress. May, 25-27, 2005; İzmir-Turkey.
 31. Koyuncu M, Duru S, Kara Uzun Ş, Öziş Ş, Tuncel E. Effect of castration on growth and carcass traits in hair goat kids under a semi intensive system in the South-Marmara region of Turkey. *Small Ruminant Res* 2007; 72(1): 38-44.
 32. Madruga MS, Bressan MC. Goat meats: Description, rational use, certification, processing and technological developments. *Small Ruminant Res* 2011; 98(1-3): 39-45.
 33. Mahgoub O, Kadim IT, Webb EC. Goat Meat Production and Quality. Oxfordshire: CAB International, 2011; pp.15-33.
 34. Minitab. Minitab For Windows Version Release 16, Minitab Inc. 2011.
 35. Oman JS, Waldron DF, Griffin DB, Savell JW. Carcass traits and retail display-life of chops from different goat breed types. *J Anim Sci* 2000; 78(5): 1262-6.
 36. Özcan M, Yılmaz A, Ekız B, Tölü C, Savaş T. Slaughter and carcass characteristics of Gokceada, Maltese and Turkish Saanen suckling kids. *Arch Tierz* 2010; 53(3): 318-27.
 37. Pena P, Perea J, Garcia A, Acero R. Effects of weight at slaughter and sex on the carcass characteristics of Florida suckling kids. *Meat Sci* 2007; 75(3): 543-50.
 38. Ryan SM, Unruh JA, Corrigan ME, Drouillard JS, Seyfert M. Effects of concentrate level on carcass traits of Boer crossbred goats. *Small Ruminant Res* 2007; 73(1-3): 67-76.
 39. Santos VAC, Silva AO, Cardoso JVF, Silvestre AJD, Silva SR, Martins C, Azevedo JMT. Genotype and sex effects on carcass and meat quality of suckling kids protected by the PGI Cabrito De Barroso. *Meat Sci* 2007; 75(4): 725-36.
 40. Şimşek ÜG, Bayraktar M. Fattening performance and carcass characteristics of pure Hair Goat and Saanen × pure Hair Goat (F1). *FU Sag Bil Vet Derg* 2007; 21(1): 15-20.
 41. The Official Gazette of Turkish Republic: Communication on Supporting Principles of Animal Husbandry Practices, No: 2015/43, Num: 29535, 2015.
 42. Yalçın BC. Sheep and Goats in Turkey. FAO Animal Production and Health paper 60, Rome, 1986; p. 168.
 43. Yanez EA, De Resende KT, Dias Ferreira ÂC, De Medeiros AN, Sobrinho AGS, Artoni SMB. Effects of feed restriction on yield, retail cuts and tissue composition of carcass of Saanen kids. *R Bras Zootec* 2007; 36(3): 666-73.

44. Yilmaz A, Ekiz B, Ozcan M, Kaptan C, Hanoglu H, Yildirim M. Effects of crossbreeding indigenous Hair Goat with Saanen on carcass measurements and meat quality of kids under an intensive production system. *Anim Sci J* 2009; 80(4): 460-7.
45. Yilmaz A, Ekiz B, Ozcan M, Kaptan C, Hanoglu H, Yildirim M, Kocak K. Carcass quality characteristics of Hair Goat and Saanen x Hair Goat crossbred kids from intensive production system. *J Anim Feed Sci* 2010; 19(3): 368-78.

Corresponding Author

Assist. Prof. Dr. Aykut Asım AKBAŞ
Mehmet Akif Ersoy University, Veterinary
Medicine Faculty
Department of Animal Science,
İstiklal Campus - Burdur
Phone: 0248 2132075
E-posta: aykutaakbas@mehmetakif.edu.tr



Kayseri İli, Pınarbaşı İlçesinde Doğal Olarak Yakalanan ve Yetiştiriciliği Yapılan Gökkuşaağı Alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) Genotoksisite Yönünden İncelenmesi

Korhan ARSLAN¹, Fatih DUMAN², Murat KANBUR³, Bilal AKYÜZ¹

¹ Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, 38039, Kayseri- TÜRKİYE

² Erciyes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Hidrobiyoloji Anabilim Dalı, 38039, Kayseri-TÜRKİYE

³ Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, 38039, Kayseri-TÜRKİYE

Özet: Bahçelik barajı, Kayseri ilinde bulunan Zamantı nehri üzerine inşa edilmiştir. Bu baraj sulama, taşkın kontrolü, enerji üretimi ve içme suyu için kurulmuştur. Ayrıca burada gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üretimi de yapılmaktadır. Bu çalışmada, komet yöntemi ve mikronükleus tekniği ile Bahçelik barajının farklı istasyonlarından yakalanan gökkuşaağı alabalıklarında olası genetik hasarın araştırılması amaçlandı. Bu çalışma için, Bahçelik Barajı'nın beş ayrı noktasından, altı balık yakalandı. Balıkların kan örnekleri, her birinin kuyruk venasından heparinli tüplere alınmış olup; servikal dislokasyonun ardından balıkların karaciğer ve böbrek dokuları çıkartıldı. Komet, doku örnekleri üzerinde, mikronükleus tekniği ise kan numuneleri üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmada, kafeste yetiştiricilik yapılan balıklarda, komet ve mikronükleus değerlerinin diğer gruplara göre anlamlı farklılıklar gösterdiği belirlendi. Sonuç olarak kafes yetiştiriciliği yapılan balıklarda genetik hasarın daha belirgin olduğu, bu değişimin kafese bağlı stres ve beslenme koşulları ile ilişkili olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Alabalık, gen, komet, micronükleus, toksisite

Genotoxicological Analysis of Naturally Captured and Cultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Pınarbaşı District of Kayseri

Summary: Bahçelik dam were built on the river of Zamantı which located in Kayseri province. This dam was established for irrigation, flood control, the production of energy and drinking water. Also rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) production is done in this place. In this study was aimed to investigate of possible genetic damage on rainbow trout which have been captured from different stations on Bahçelik dam with the method of comet and micronucleus technique. For this study, six fish were caught from five different points of the Bahçelik dam. Blood samples of the fish are taken into heparinised tubes from the tail vein of each; liver and kidney tissues of fish were removed after cervical dislocation. Comet was carried out on tissue samples, and the micronucleus technique was carried out on blood samples. In the study, comet and micronucleus values of conducted in fish cage aquaculture, were shown significant differences compared to the other groups. As a result, the fish which grown in cage culture may be more pronounced with genetic damage, depending on the cage stress and concluded that these changes may be associated with nutritional conditions.

Key words: Comet, rainbow trout, gene, micronucleus, toxicity

Giriş

Balık insan beslenmesinde içerdiği esansiyel yağ asitleri, aminoasitler ve yüksek kaliteli protein ile önemli bir yer tutmaktadır (12). Alabalık, tatlı su ve deniz ürünleri yetiştiriciliğinde önemli bir yere sahip olup (6) ülkemizde de göller ve büyük baraj göllerinde yaygın olarak yetiştirilmektedir (5). Düşük sermayeye ihtiyaç duyulması, balık hasadı ve yemlemenin kolay yapılması söz konusu balığın yetiştiriciliğini yaygınlaştırmaktadır (11).

Kimyasal ve birtakım fiziksel stres faktörleri canlıların enzim, karbonhidrat, hormon ve protein mekanizmalarını etkileyerek fizyolojik ve biyolojik değişikliklere yol açmakta olup (9), bahsedilen değişikliklerden biri de genetik hasardır. Gelişen teknoloji, endüstriyel etkiler ve nüfus artışı ile beraber sucul ortamlarda çevre kirliliği ve genotoksik etkili kimyasallar balık üretimi için de önemli bir tehdit halini almıştır. Çevre kirleticilerinin sucul ortamlarda özellikle sedimentte, zamana bağlı olarak artan düzeylerde biriktiği bildirilmektedir (16).

Gerek yetiştiriciliğinin yaygın olması ve gerekse doğada yaygın olarak bulunan gökkuşuğu alabalığının (*Onchorynchus mykiss*) sucul ortamlarda çevre kirleticilerinin etkilerini ortaya koyan önemli bir biyolojik belirteç olabileceği bildirilmektedir (11). Canlılarda oluşabilecek olası hasarın ya da hasar derecesinin belirlenmesinin çevresel belirteç olması açısından değer taşıdığı gibi, araştırılan canlının yaşadığı ortamdaki devamlılığı hakkında fikir vermesi nedeniyle önem taşımaktadır (9). Barajlar, kimyasallara maruziyette memelilere benzer sonuçlar vermesi ve düşük konsantrasyonlardaki kirleticilere ve mutajenlere diğer canlılardan daha duyarlı olmaları nedeniyle genotoksisitenin ve yaşadıkları ortamlardaki kimyasal kontaminasyonun derecesinin değerlendirilmesinde model bir sistem olarak kabul görmektedir (13).

Tek hücre jel elektroforezi (SCGE) olarak da bilinen komet yöntemi DNA hasarının ölçümü için kullanılan hızlı, basit ve hassas bir yöntemdir (3). Bu teknik klinik araştırmalardan genetik toksikoloji ve moleküler epidemiyoloji gibi toksikolojinin pek çok alanında önemli uygulama alanlarına sahiptir (7). Diğer genotoksisite testlerine oranla düşük düzeylerdeki DNA hasarının tayininde daha hassas olması, az sayıda hücrenin yeterli olması, çeşitli doku hücre tiplerinde uygulanabilmesi, çok düşük düzeydeki DNA hasarını bile ayırt edebilmesi yöntemin avantajlarından (9,18,20).

Genotoksisite çalışmalarında DNA düzeyinde oluşan hasarın tespiti için kullanılan yöntemlerden birisi mikronükleus tekniğidir. Bu teknik hayvan lenfositlerinde kimyasal karsinogenleri belirlemeye yönelik bir test olarak kullanılmaktadır (19). Mikronükleuslar (MN) hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan, esas çekirdeğe dâhil olmayan, tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından köken alan oluşumlardır. MN sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin endirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir (14,19).

Bahçelik baraj gölü, Zamantı nehri üzerinde kurulan ve Kayseri il sınırları içerisinde bulunan, sulama, taşkın önleme, enerji ve içme suyu üretimi amaçlarıyla değerlendirilen bir göl olup, barajda ayrıyeten gökkuşuğu alabalığı üretimi de yapılmaktadır. Baraj gölünün alanı 12 km², yüksekliği 65 m'dir (10).

Barajın özellikle Emeğil bölgesinde ve Örenşehir civarındaki alanlarda yoğun tarımsal üretim yapılmaktadır. Yine Potuklu istasyonu civarında ve baraj içerisinde kafeslerde üretim yapılan istasyonlara yakın bölgelerde de tarımsal üretim alanları bulunmakta, tarımsal kaynaklı kirleticiler su ortamına katılabilmektedir. Bahçelik barajının su kalitesinin ve balıklardaki

çeşitli parametrelerin incelendiği çalışmalarda, barajın mezotrofik karakterde bir göl olduğu ve barajda yoğun bir kirlilik baskısının olmadığı bildirilmektedir (4).

Bu çalışma ile Bahçelik barajının balık yetiştirilen çeşitli istasyonlarında yetiştiriciliği yapılan ve ortamdan doğal olarak yakalanan gökkuşağı alabalıklarındaki olası genetik hasar durumunun komet yöntemi ve mikronükleus tekniği ile incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma Erciyes Üniversitesi Yerel Etik Kurulundan (EÜ HADYEK) alınan onay sonrası etik kurul yönergesine uygun bir şekilde yürütülmüş (12.03.2014, 14/044); çalışma için Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığından gerekli araştırma izni alınmıştır. Çalışmada üçü baraj gölündeki belirli noktalardan (Emeğil, Örenşehir ve Potuklu-Yukarı Karagöz), ikisi de havuz ve kafes yetiştiriciliği yapılan istasyonlardan olmak üzere beş bölgeden örneklemeler yapılmıştır. Bu kapsamda her bölgeden altışar gökkuşağı abalığı (*O. mykiss*) (ortalama 20-25 cm boyunda ve 250-300 g ağırlıkta) olmak üzere toplam 30 adet balık yakalanmıştır. Tutulan balıklar aynı ortam suyunda laboratuvara getirilmiş ve öncelikle balıkların her birinden, heparinli Vakutainer tüplere kuyruk venasından kan örnekleri alınmış; servikal dislokasyonun ardından balıkların karaciğer ve böbrek dokuları çıkartılmıştır (4).

Komet Analizi

Balıklardan elde edilen doku örneklerinin bir serisine Martinez-Tabche ve ark. (15) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek komet tekniği uygulanmıştır. İlk aşamada dokular parçalama tamponu ile homojenize edilerek 15 dk 1000 g'de santrifüj edilmiş, süpernatant uzaklaştırılmış ve pellet yeniden parçalama

tamponu ile resüspanse edilmiştir. Tam kan örneği herhangi bir ön işlem yapılmaksızın kullanılmıştır. Elde edilen hücre süspansiyonu veya tam kan örnekleri 37°C'de %0.5'lik düşük erime noktalı agar (Low Melting Agaroz-LMA) ile birlikte önceden üzeri %1'lik yüksek erime noktalı agar (High Melting Agaroz-HMA) ile kaplanmış lamlar üzerine aktarılmıştır. Buz üzerinde bekletilerek katılaşması sağlanan preparatlara üçüncü tabaka olarak %0.5'lik LMA eklenmiştir. Preparatlar lizis solüsyonu (2.5 M NaCl, 100 mM Na₂EDTA, 10 mM Tris, %1 sodyum sarkosinat, %1 Triton X-100, %10 DMSO, pH:10) içerisinde en az bir saat bekletilerek hücrelerin parçalanması sağlanmıştır. Sonraki aşamada preparatlar alkali tampon (10 N NaOH ve 200 mM EDTA, pH >13) içerisinde elektroforez tankında 20 dk bekletilmiş ve takibinde 25 V, 300 mA'de 25 dk koşturulmuştur. Ardından lamlar nötralizasyon tamponu (0.4 M Tris, pH 7.5) ile muamele edilerek saf metanolde fiske edilmiş ve kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparatlar örnek başına 60 µl ethidium bromide boyası kullanılarak boyanmış ve floresan ataçmanlı mikroskopta Comet Assay IV programı kullanılarak baş yoğunluğu, kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu, kuyruk momenti ve kuyruk göçü parametreleri yönünden analiz edilmiştir.

Mikronükleus Analizi

Mikronükleus tekniği Carrasco ve ark. (2) bildirdiği yöntemle göre çalışılmıştır. Parçalama tamponu ile seyreltilen kan örnekleri lam üzerine yayılarak sırasıyla metanol ve %5'lik Giemsa ile muamele edilmiştir. Kuruyan preparatlar ışık mikroskopunda görüntülenerek her bir örnek için 2000 eritrosit sayılmıştır.

Komet sonuçlarında verilerin normalliği Shapiro-Wilk's testi kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arasındaki farklılığın belirlenmesinde tek yönlü varyans analizi ve post-hoc Tukey testi kullanıldı. Kandaki mikronükleus oluşum

sonuçlarının değerlendirilmesi ise Kruskal Wallis testi ile yapıldı. İstatistiksel değerlendirmeler 0.05 önemlilik değerinde yapıldı. İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp., Armonk, New York, ABD) paket programı ile gerçekleştirildi.

Bulgular

Çalışma komet analizlerinde kafes grubu kan ve karaciğer kuyruk uzunluğu değerleri ile Kafes ve Örenşehir gruplarında böbrek kuyruk uzunluğu değerinde diğer gruplara göre yükselmenin olduğu; kafes grubu kan, karaciğer ve böbrek baş yoğunluğu değerlerinde ise diğer gruplara göre azalma; kafes grubu kan, karaciğer ve böbrek kuyruk yoğunluğu değerinde diğer gruplara göre artış, ayrıca Kafes ve Örenşehir kuyruk yoğunluğu değerinde diğer gruplara göre azalma; kafes grubu kan, karaciğer ve böbrek kuyruk momenti değerinde diğer gruplara göre yükselme; diğer gruplarla karşılaştırıldığında kafes grubu kan, karaciğer ve böbrek kuyruk göçü değerinde de yükselme olduğu gözlenmiştir (Tablo 1).

Mikronükleus değerleri incelendiğinde, en yüksek kan mikronükleus değerlerinin kafes grubunda olduğu, bunu sırasıyla Emeğil, Örenşehir, Potuklu ve havuz grubunun takip ettiği gözlenmiştir (Tablo 2).

Tartışma ve Sonuç

Çalışmada komet analizlerinde Kafes grubu kan kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu, kuyruk momenti ve kuyruk göçü değerlerinin diğer gruplara göre yüksek seyrettiği, baş yoğunluğu değerinin ise azaldığı gözlenmiştir. Kan mikronükleus değerlerine bakıldığında da Kafes grubunda mikronükleus oluşumunun diğer gruplara göre önemli derecede fazla olduğu görülmüştür. Bu çalışmada özellikle Kafes grubu kan komet ve mikronükleus parametrelerinin diğer gruplara göre anlamlı farklılıklar göstermesi, bu gruptaki balıklarda diğer

gruplara göre daha belirgin bir genetik hasarın olduğuna işaret etmektedir. Teknolojinin gelişimi, endüstriyel etkiler ve nüfus artışı ile beraber sucul ortamlarda çevre kirliliği ve genotoksik etkili kimyasalların balık üretimi için önemli bir tehdit olduğu bildirilmektedir (16). Belirtilen etkiler sebebiyle sucul ortamlarda da kirletici olarak bulunabilen ve genotoksik etkileri olduğu bilinen pestisit, ağır metal, petrol ürünleri atıkları ve endüstriyel atıklar organizmada reaktif oksijen türevleri üretmeleri nedeniyle DNA molekülünde yapısal değişikliklere yol açabilmektedirler (8). Çevre kirleticilerinin özellikle sedimente yoğun olarak tutunması, zamana bağlı olarak sedimentte artan düzeylerde birikmesi nedeniyle sucul canlılar genotoksik etkili kimyasallara değişik oranlarda maruz kalabilmektedirler (16). Kafes grubunda bulunan balıklar, kafeste yetiştirilme nedeniyle çeşitli stres faktörlerine maruz kalmakta (4); yine kafeste yetiştirilmede balıklar dışarıdan verilen yemlerle beslenmekte, yemleme sonucu askıda kalan yemlerin zamanla dibe çökmesi nedeniyle özellikle zemindeki ortamın oksijen yoğunluğunda azalmalar görülebilmektedir. Bu çalışmada da kafes grubundaki balıklarda komet ve mikronükleus parametrelerindeki değişimlerin diğer gruplara göre daha belirgin olması, belirtilen nedenlerle birlikte bölgedeki tarımsal faaliyetler sonrası ortama yansıyan kirleticilerle (9) de ilişkili olabilir.

Kan mikronükleus sonuçları incelendiğinde en düşük mikronükleus sayılarının Havuz grubunda olduğu görülmektedir. Bu durum örnekleme yapılan havuzun su taze su kaynağına en yakın yere konumlandırılması, havuzdaki yetiştirme şartlarının daha kontrollü olması, havuzun bulunduğu alandaki kontaminasyon kaynaklarının az olması ile ilişkilendirilebilir.

Dokulardaki komet değerleri incelendiğinde kafes grubu kan ve karaciğer kuyruk uzunluk değerleri ile Kafes ve Örenşehir gruplarında böbrek kuyruk uzunluğu değerinin diğer grup-

Tablo1. Kan, karaciğer ve böbrek örneklerinde komet sonuçları (*Ort ± Std hata; n=6, p<0,05*)

	İstasyonlar	n	Kan	Karaciğer	Böbrek
Kuyruk uzunluğu	Emeğil	6	12.22±0.10 ^a	12.24±0.23 ^a	12.40±0.17 ^a
	Havuz	6	11.53±0.10 ^a	11.24±0.15 ^a	9.92±0.11 ^a
	Kafes	6	25.5±0.36 ^b	24.79±0.45 ^b	38.74±0.66 ^c
	Örenşehir	6	12.9±0.15 ^a	17.76±0.4 ^a	23.76±0.4 ^b
	Potuklu	6	11.08±0.11 ^a	10.76±0.14 ^a	11.37±0.2 ^a
P değeri			P<0.01	P<0.01	P<0.01
Baş yoğunluğu	Emeğil	6	95.49±0.36 ^b	88.56±0.65 ^b	90.58±0.56 ^c
	Havuz	6	95.69±0.26 ^b	94.95±0.41 ^b	94.47±0.35 ^c
	Kafes	6	87.18±0.65 ^a	79.76±1.03 ^a	67.33±1.33 ^a
	Örenşehir	6	93.24±0.47 ^b	88.91±0.68 ^b	80.09±0.94 ^b
	Potuklu	6	95.27±0.37 ^b	94.8±0.39 ^b	91.82±0.44 ^c
P değeri			P<0.01	P<0.01	P<0.01
Kuyruk yoğunluğu	Emeğil	6	4.51±0.36 ^a	11.44±0.65 ^a	9.42±0.56 ^{ab}
	Havuz	6	4.31±0.26 ^a	5.05±0.41 ^a	5.53±0.35 ^a
	Kafes	6	12.65±0.63 ^b	20.23±1.03 ^b	32.67±1.33 ^c
	Örenşehir	6	6.75±0.47 ^a	11.08±0.68 ^a	19.9±0.94 ^{bc}
	Potuklu	6	4.72±0.37 ^a	5.198±0.39 ^a	8.17±0.44 ^a
P değeri			P<0.01	P<0.01	P<0.01
Kuyruk moment	Emeğil	6	0.32±0.03 ^a	0.83±0.06 ^a	0.66±0.05 ^a
	Havuz	6	0.29±0.02 ^a	0.35±0.04 ^a	0.34±0.03 ^a
	Kafes	6	1.66±0.1 ^b	3.12±0.22 ^b	6.44±0.36 ^c
	Örenşehir	6	0.48±0.03 ^a	1.28±0.11 ^a	2.72±0.18 ^b
	Potuklu	6	0.32±0.03 ^a	0.34±0.034 ^a	0.55±0.03 ^a
P değeri			P<0.01	P<0.01	P<0.01
Kuyruk göçü	Emeğil	6	1.02±0.08 ^a	3.33±0.20 ^a	2.57±0.15 ^a
	Havuz	6	1.01±0.08 ^a	1.26±0.11 ^a	0.97±0.08 ^a
	Kafes	6	6.54±0.29 ^b	8.39±0.48 ^b	18.67±0.8 ^c
	Örenşehir	6	2.33±0.12 ^a	3.89±0.27 ^a	8.99±0.4 ^b
	Potuklu	6	1.19±0.1 ^a	2.03±0.11 ^a	2.73±0.15 ^a
P değeri			P<0.01	P<0.01	P<0.01

a,b,c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir.

Tablo 2. Kan mikronükleus sonuçları (Median; n=6)

Group	Mikronükleus	
	Median	Minimum ve Maksimum değerleri
Emeğil	12.5 ^b	(9-15)
Havuz	3 ^a	(1-4)
Kafes	26.5 ^c	(17-43)
Örenşehir	7 ^b	(4-15)
Potuklu	6 ^{ab}	(1-9)
P değeri	P<0.05	

a,b,c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir.

lara göre yüksek seyrettiği; Kafes grubu karaciğer ve böbrek baş yoğunluğu değerlerinde ise diğer gruplara göre daha belirgin bir azalmanın olduğu; Kafes grubu karaciğer ve böbrek kuyruk yoğunluğu değerinde diğer gruplara göre önemli derecede bir azalmanın olduğu, ayrıca Kafes ve Örenşehir kuyruk yoğunluğu değerinde diğer gruplara göre azalma ile Kafes grubu karaciğer ve böbrek kuyruk momenti değerinde diğer gruplara göre yükselmenin olduğu; Kafes grubu karaciğer ve böbrek kuyruk göçü değerinin de diğer gruplarla göre yüksek seyrettiği görülmüştür. Bu bulgular da Kafes grubunda bulunan balıklardaki genetik hasarın diğer gruplara göre daha fazla olduğu sonucunu desteklemektedir.

Kan örneklerinde komet ve mikronükleusla belirlenen DNA hasarı, organizmanın genel durumunu ortaya koyması açısından önem taşımaktadır. Çalışmada kan örneklerinde komet ve mikronükleus değerleri ile birlikte karaciğer ve böbrek komet parametrelerindeki değişimler özellikle Kafes grubundaki balıklarda hem

sistemik hem de organ bazlı bir DNA hasarının olduğunu ortaya koymaktadır.

Organizmalarda homeostazisin sağlanması ve sonraki nesillere sağlıklı aktarımlar yapılabilmesi için DNA'nın yapısının korunması son derece önemlidir. Sucul canlıların çevresel kirlenmelere maruz kalması sonucu hücresel stresin indüklenmesi ile genotoksik etkiler ortaya çıkabilmektedir. Mutasyonel etkiler pek çok generasyonda ortaya çıkmayabilir olsa da, populasyonun gen havuzunu etkileyebilmektedirler (17). Bu nedenle balık yetiştiriciliği yapılan sucul ortamların kirlilik yönünden değerlendirilmesinde su kalitesinin yanı sıra balıklarda çeşitli biyokimyasal, hematolojik ve gen hasarı parametrelerinin rutin olarak izlenmesi önerilmektedir (1). Her ne kadar Bahçelik barajının mezotrofik karakterde bir göl olduğu ve barajda yoğun bir kirlilik baskısının olmadığı bildirilmekteyse de (4), Bahçelik barajındaki kirlenme durumu ve ortamda bulunan balıklarda gen düzeyindeki toksik etkilerin detaylı olarak

ortaya konabilmesi için farklı mevsimlerde ve aylarda, farklı bölgelerden ve daha çok balık örneği alınarak kapsamlı bir çalışma yapılması; bu çalışmalarla eş zamanlı olarak balık dokuları, su ve sediment örneklerinin de kirleticiler yönünden incelenmesinin yararlı olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Andrade VM, Da Silva J, Da Silva FR, Heuser VD, Dias JF, Yoneama ML, Freitas TRO. Fish as bio indicators to assess the effects of population in two southern Brazilian rivers using the comet assay and micronucleus test. *Environ Mol Mutagen* 2004; 44(5): 459-68.
2. Carrasco, KR, Tilbury KL, Myers MS. An assessment of the piscine micronuclei test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects. *Can J Fish Aquat Sci* 1990; 47(11): 2123-36.
3. Collins AR, Dobson VL, Dusinská M, Kennedy G, Stetina R. The comet assay: what can it really tell us? *Mutat Res* 1997; 375(2): 183-93.
4. Çoşkun ÖF. Bahçelik baraj gölü (Kayseri) ve Zamantı ırmağından yakalanan gökkuşağı alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*) bazı kan parametrelerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri-Türkiye, 2013; p. 23.
5. Çelikkale MS. Orman İçi Su Ürünleri. Birinci Baskı. Trabzon: KTÜ. Basımevi, 1991; p.15.
6. Çelikkale MS, Düzgüneş E, Okumuş G. Türkiye Su Ürünleri Sektörü ve Avrupa Birliği ile Entegrasyonu. İstanbul: İstanbul Ticaret Odası Yayını, 1999; p. 63.
7. Donnelly ET, McClure N, Lewis SE. Cryopreservation of human semen and prepared sperm: effects on motility parameters

and DNA integrity. *Fertil Steril* 2001; 76(5): 892-900.

8. Frenzilli G, Nigro M, Lyons BP. The Comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments. *Mutat Res* 2009; 681(1): 80-92.
9. Güner U, Muranlı FDG. Balıklarda tek hücre elektroforezi (comet assay). *Karadeniz Fen Bilim Derg* 2013; 3(9):103-14.
10. Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü Bahçelik Barajı, <http://www2.dsi.gov.tr/baraj/detay.cfm?BarajID=273>, Erişim tarihi: 09.11.2015
11. Hartavi Ş. Atatürk baraj gölünde mevsimsel alabalık yetiştiriciliği. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniv. Fen Bilimler Enstitüsü, Şanlıurfa-Türkiye, 1998; p.14.
12. Karataş M, Sayılı M, Koç B. Sivas ili gökkuşağı alabalığı işletmelerinin yapısal ve ekonomik analizi. *BİBAD* 2008; 1(2): 49-55.
13. Klobučar G, Štambuk A, Pavlica M, Perić MS, Hackenberger BK, Hylland K. Genotoxicity monitoring of freshwater environments using caged carp (*Cyprinus carpio*). *Ecotoxicology* 2010; 19(1): 77-84.
14. Malins DC, Haimanot R. The etiology of cancer: Hydroxyl radical-induced DNA lesions in histologically normal livers of fish from a population with liver tumours. *Aquat Toxicol* 1991; 20(1): 122-30.
15. Martinez-Tabche L, Madrigal-Bujaidar E, Negrete T. Genotoxicity and lipoperoxidation produced by paraquat and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in the gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bull Environ Contam Toxicol* 2004; 73(1): 146-52.
16. Özkan O, Gül S, Keleş O, Aksu P, Kaya TÖ, Nur G. The investigation of the mutagenic activity of Kars river sediments on *Orthrias*

angorae (Steindachner, 1897). Kafkas Univ Vet Fak 2009; 15(1): 35-40.

17. Russo C, Rocco L, Morescalchi MA, Stingo V. Assessment of environmental stress by the micronucleus test and the Comet assay on the genome of teleost populations from two natural environments. *Ecotox Environ Safe* 2004; 57(2): 168-74.

18. Tice RR, Andrews PW, Singh NP. The single cell gel assay: A sensitive technique for evaluating intracellular differences in DNA damage and repair. *Basic Life Sci* 1990; 53(1): 291-301.

19. Widela M, Koloszab Z, Jedruuc S, Lukaszczyk B, Raczek-Zwierzycka K, Vwierniak A. Micronucleus assay in vivo provides significant prognostic information in human cervical carcinoma; The updated analysis. *International J Radiat Bio* 2001; 77(5): 631-6.

20. Yüzbaşıoğlu D, Zengin N, Ünal F. Gıda koruyucuları ve genotoksisite testleri. *Gıda* 2014; 39(3): 176-86.

Yazışma Adresi

Yrd. Doç. Dr. Korhan ARSLAN
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi,
Genetik Anabilim Dalı, Kayseri
Tel: (0352) 207 66 66-29751
E-posta: korhanarslan@erciyes.edu.tr



Vancomycin Resistance of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* Isolated from cattle milk*

Tekin KECECI¹, Kadir Semih GUMUSSOY¹, Harun HIZLISOY²

¹ Erciyes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, Kayseri- TURKEY

² Erciyes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Public Health, Kayseri-TURKEY

Summary: In this study the presence of *Enterococcus* spp. in raw cattle milk and the detection of the resistance to vancomycin of the isolates by using phenotypic and molecular methods were investigated. Totally, 150 milk samples were collected from healthy animals or animals with mastitis scored with California Mastitis Test. Eighty four *Enterococcus* spp. were isolated and 57 (68%), 8 (9%) and 19 (23%) of the isolates were identified by Polymerase Chain Reaction as *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* and *Enterococcus* spp., respectively. None of the isolates were resistant to vancomycin with E test. However, 11 (19%) *E. faecalis* and 7 (88%) *E. faecium* isolates were positive for *VanB*, *VanC2*, *VanC3* and *VanB*, *VanC2*, *VanC3* genes were found together in 1 and 2 *E. faecium* isolates, respectively. In this study, *Enterococcus* spp. were significantly found in cattle milk. Because of the detection of vancomycin resistance by molecular test, this method was found to be more effective in the detection of antibiotic resistance.

Key words: Cattle, *Enterococcus* spp., mastitis, milk, PCR, vancomycin

İnek Sütlerinden İzole Edilen *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'un Vankomisin Direnci

Özet: Bu çalışmada çiğ inek sütlerinden *Enterococcus* spp'lerin izolasyonu ve identifikasyonu ile elde edilen izolatlarda vankomisin direncinin fenotipik ve moleküler yöntemlerle saptanması amaçlandı. Toplam 150 adet süt örneği sağlıklı ve mastitisli hayvanlardan California Mastitis Test ile skorlanarak toplandı. Seksen dört *Enterococcus* spp. izolatu elde edildi ve bunların 57 (%68), 8 (%9) ve 19 (%23)'ü sırasıyla *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* and *Enterococcus* spp. olarak polimeraz zincir reaksiyonu ile tanımlandı. Etest ile izolatların hiçbiri vankomisine direnç göstermedi. Bununla birlikte, *E. faecalis* izolatlarının 11 (%19)'inde ve *E. faecium* izolatlarının 7(%88)'inde *VanB* geni pozitif olarak tespit edildi. Ayrıca, 1 izolatta *VanC2*, *VanC3* genleri ve 2 *E. faecium* izolatında *VanB*, *VanC2*, *VanC3* genleri birlikte bulundu. Bu çalışmada inek sütlerinde önemli derecede *Enterococcus* spp. varlığı saptanmıştır. Vankomisin direncinin moleküler testlerle tespitinden dolayı bu test, antibiyotik direncin tespitinde daha etkili olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: *Enterococcus* spp., mastitis, PZR, sığır, süt, vankomisin

Geliş Tarihi / Submission Date : 12.04.2016

Kabul Tarihi / Accepted Date : 31.05.2016

* This study was derived from the master thesis and supported by Scientific Research Council of Erciyes University, the project number is TSY-10-3088.

Introduction

Enterococci are ubiquitous bacteria found in the normal intestinal flora of humans and animals, and are common in environments contaminated by human and animal fecal materials (16). They are also readily recovered from foods such as milk and meat products and various environmental sources (29). These agents are found in the digestive tract of animals and are natural bacterial flora, especially in cases where milking hygiene is inadequate. *Enterococci* entering the mammary gland and colonize through the ducts of the udder and generate clinical signs related to infection in the mammary gland (17,21). Vancomycin resistant *enterococci* (VRE) are currently emerging as a global threat to public health. The first clinical isolates of VRE were reported in Europe in 1988 (27). To date, various types of VRE were characterized phenotypically and genotypically (*VanA*, B, C1, C2, C3, D, E, G, L, M and N). *VanA*-type glycopeptide resistance is characterized by acquired inducible resistance to both vancomycin and teicoplanin. *VanB* type glycopeptide resistance is characterized by acquired inducible resistance to various concentrations of vancomycin but typically not to teicoplanin (30). *VanA* and *vanB* clusters have been primarily found in *E. faecalis* and *E. faecium*. The *vanC* genotype corresponds to the intrinsic glycopeptides resistance seen in *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus casseliflavus* and *Enterococcus flavescens* (28).

Resistance of *Enterococci* to various antibiotics is increasing and vancomycin-resistant *enterococci* are being increasingly observed.

In Europe, in particular, the use of avoparcin which is a glycopeptide, used as a growth factor in some animal feeds, has led to vancomycin resistant *Enterococcus* strains spreading to humans through the food chain from animals (16,18,20). However, after the prohibition

of avoparcin in various European countries, the isolation of the *VanA* genotype has been reduced (13).

In the present study, our aims were to isolate and identify *Enterococcus* spp. from the milks of healthy cattles and cattles with subclinical mastitis and to detect vancomycin resistance in isolates with phenotypic and molecular methods.

Material and Methods

The Collection of Milk Samples

In the study, a total of 150 milk samples were collected from small and large dairy farms between March 2011 and April 2011 in Nevsehir province. Fifty of the samples were taken from healthy cattles and 100 were taken from cattles with subclinical mastitis according to CMT scoring. The samples were brought to the laboratory in cold chain in sterile 50 mL tubes and bacteriological inoculations were carried out on the same day.

California Mastitis Testing (CMT)

For the test, 2 mL of milk was taken from each teat of the cattle into a CMT container. CMT reagent was dropped onto this and the results were scored. Dove gray colored milk samples were considered as normal. According to the manufacturer's recommendation, the samples given a score of one are weak positive (+), those with a score of two are certain positive (++) and those with a score of three are strong positive (+++); samples are scored in terms of gel formation and change of color to blue-purple (11).

The Isolation of Enterococcus spp.

For the isolation of *Enterococcus* spp. 5 mL milk samples were inoculated onto Chromocult *Enterococci* Broth (Merck 1.10294) and kept for incubation at 37° C for 48 hours. The changing

of the tubes' color to blue-green was scored as one (+) to three positive (+++). After rating of the samples, from the medium assigned as positive, 0.1 mL was taken and inoculated onto m-Enterococcus Selective Agar and Bile-Aesculin-Azide Agar (Coccosel agar, bioMerieux). Inoculated petri dishes were then incubated at 37° C for 48 hours. In this study, three suspected colonies from each positive samples were subcultured on blood agar and tested phenotypically and genotypically (23).

The Identification of Enterococcus spp. with mPCR at Genus and Species Level and Detection of VanA, VanB, VanC1 and VanC2 Genes

For the genotypical identification of *Enterococcus* spp. isolates and the determination of *vanA*, *vanB*, *vanC1* and *vanC2* genes were carried out according to the methods described by Dutka-Malen et al. (7). The positions and sequences of the oligodeoxynucleotides were shown in table 1.

Total genomic DNA was extracted from the isolates, using a commercial DNA extraction kit (Axygen Bioscience, Union City, CA) as per the manufacturers' directions.

PCR was performed on a DNA thermal cycler (Techne TC-512, UK) in a final volume of 25 µl containing 2.5 µl of DNA template, 10X PCR Buffer (670 mM Tris-HCl (pH 8.3), 100 mM 2-mercaptoethanol and 167 mM (NH₄)₂SO₄), 0.8 mM dNTPs; 1.5 mM MgCl₂, 50 pmol of each primer and 0.5 U of Taq DNA polymerase.

The samples were subjected to an initial denaturation step (94° C for 2 min), followed by 30 amplification cycles. Each amplification cycle consisted of 1 min at 94° C (denaturation), 1 min at 54° C (primer annealing), 1 min at 72° C (primer extension) and the final extension (72° C for 10 min) cycle. The amplified products were resolved in 1.5% (wt/vol) Tris-acetate-EDTA

(TAE) agarose gel, and the band patterns were examined in the gel documentation system (Vilber-Lourmat, France) (7).

Antibacterial Susceptibility Testing For Vancomycin

The antibiotic susceptibilities of *Enterococcus* spp. to vancomycin were evaluated by E test. In the study, the vancomycin E test strip (Liofilchem, Italy) was used. The isolates were grown on blood agar (Merck, Germany) at 37° C for 24 h. Then, the suspension of the isolates was adjusted to McFarland 0.5 by using physiological saline. The suspensions were spread onto Mueller Hinton Agar (Merck, Germany). E test strips were placed onto the agar and incubated at 37° C for 24 h aerobically.

An elliptic inhibition zone formed around the strip; the intersection point with the scale on the strip was considered as the MIC value. When evaluating the results, the Clinical and Laboratory Standards Institute (5) was taken into account and the isolates were evaluated as susceptible, intermediate and resistant.

Standard Strain

In the study, for the phenotypic and molecular analysis, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 and *Enterococcus faecium* ATCC 6057 were used as reference strains.

Results

Results of Isolation and Identification

Eighty four (56%) of the 150 milk samples scored by CMT were determined as positive in terms of *Enterococcus* spp. with phenotypic methods. *Enterococcus* spp. was isolated from 24 (16%), 60 (40%) of healthy and mastitic cattle milk samples, respectively. In mPCR analysis, 84 of the isolates yielded 57 (68%), 8 (9%) and 19 (23%) *E. faecalis*, *E. faecium* and other *Enterococcus* species, respectively.

Table 1. Primers used in this study for the detection of resistance genes by PCR-based method.

Gene	Nucleotide sequence (5' to 3')	Amplicon size (bp)	Literature
<i>vanA</i>	GGGAAAACGACAATTGC GTACAATGCGGCCGTTA	732	7
<i>vanB</i>	ATGGGAAGCCGATAGTC GATTTTCGTTCCCTCGACC	635	7
<i>vanC1</i>	GGTATCAAGGAAACCTC CTTCCGCCATCATAGCT	822	7
<i>vanC2, C3</i>	CTCCTACGATTCTCTTG CGAGCAAGACCTTTAAG	439	7
<i>ddl E. faecalis</i>	ATCAAGTACAGTTAGTCTT ACGATTCAAAGCTAACTG	941	3,7
<i>ddl E. faecium</i>	GCAAGGCTTCTTAGAGA CATCGTGTAAGCTAACTTC	550	7
<i>rrs</i> (16S rRNA)	GGATTAGATACCCTGGTAGTCC TCGTTGCGGGACTTAACCCAAC	320	3

Table 2. The distribution of *Enterococcus* spp. isolated from milk samples.

Milk samples	Positive samples	mPCR results	Distribution of isolates		
			<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>Other Enterococcus species</i>
Healthy (n=50)	24 (16%)	24 (16%)	14 (17%)	2 (2%)	8 (10%)
Mastitic (n=100)	60 (40%)	60 (40%)	43 (51%)	6 (7%)	11 (13%)
Total	84 (56%)	84 (56%)	57 (68%)	8 (9%)	19 (23%)

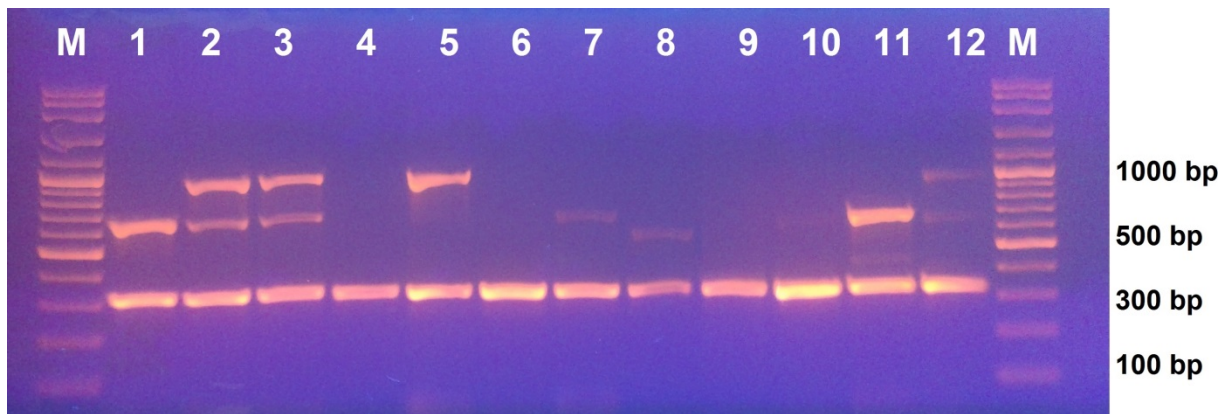


Figure 1. mPCR products of *Enterococcus* spp. and their Van genes.

M: DNA ladder (100 bp plus Thermo); 1-12: *Enterococcus* spp. (320 bp); 2, 3, 5, 12: *E. faecalis* (941 bp); 8-11: *E. faecium* (550 bp); 1-3, 7, 10-12: *VanB* (635 bp); 11: *VanC2*, *VanC3* (439 bp).

Antibiotic Susceptibility Testing Results

The MIC results of *E. faecalis* and *E. faecium* isolates are demonstrated in table 3. Although all of the isolates were found as intermediate and susceptible to vancomycin, none of the isolates were detected as resistant by using E test. The MIC values of *E. faecalis* isolates for vancomycin were between 0.016 µg/mL and 24 µg/mL and those of *E. faecium* isolates were between 1 µg/mL and 24 µg/mL. While 18 (32%) of *E. faecalis*, two (25%) of *E. faecium* isolates were intermediate to vancomycin, 39 (68%) of *E. faecalis*, six (75%) of *E. faecium* isolates were susceptible.

Molecular Evaluation of Vancomycin Resistance

Although vancomycin resistance was not detected in any of the *enterococci* isolates by phenotypic and molecular tests, 11 (19%) of 57 *E. faecalis* isolates were found positive for presence of the *VanB* gene. In addition, while, the *VanB* gene was found in 7 (88%) of eight *E. faecium* isolates, *VanC2*, *VanC3* genes found in one (12%) *E. faecium* isolate, the *VanB*, *VanC2*, *VanC3* genes were found together in two *E. faecium* isolates (Figure 1), (Table 4).

Discussion

Enterococcal infections are currently thought to be caused by endogenous bacteria in human flora. However, *enterococci* have recently begun to be called nosocomial infection pathogens. Commonly used antibiotics such as vancomycin, cephalosporins, and aminoglycosides have been reported to be associated with an increase in nosocomial enterococcal infections (25). *Enterococci* have a broad host range and located in the digestive tract of animals as the natural bacterial flora. Due to mainly failure in the regular cleaning of barns, the teats are easily infected and caused mastitis. *Enterococci*, by entering the mammary gland and colonize through the teats and generate clinical signs related to infection in the mammary gland (17,21). *Enterococci* found in milk and dairy products cause diseases in humans, which could result as serious public health problem (24).

The prevalence of *enterococci* in milk has been demonstrated by several authors (19,22). These studies generally focused on the contamination of raw milk and mastitis (14). Araya et al. (1), isolated *Enterococcus* spp. in 38% of milk in

Table 3. MIC distributions of *Enterococcus* spp. for vancomycin.

Species	No of isolates	MIC ranges µg/ml																							
		S																							
		0.016	0.023	0.032	0.047	0.064	0.094	0.125	0.19	0.25	0.38	0.50	0.75	1	1.5	2	3	4	I				R		
<i>Efs</i>	57 (68%)	6	2	4	2	2	2	1	1	1	1	2	2	1	1	3	5	3	4	8	12	16	24	32	256
<i>Efm</i>	8 (9%)													1		1	2	2	1				1		

Efs: *E. faecalis*; Efm: *E. faecium* S: Susceptible; I: Intermedier; R: Resistant

Table 4. The distribution of resistance genes in the isolates.

Resistance genes	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>
<i>VanA</i>	-	-
<i>VanB</i>	11	7
<i>VanC2, VanC3</i>	-	1
<i>VanB, VanC2, VanC3</i>	-	2

the analysis of 105 raw milk samples available for consumption. The distribution of isolates at species level were as follows: 71% *E. faecalis*, 19% *E. faecium*, 4% *E. durans*, 4% *E. gallinarum* and 2% *E. avium*.

In a study about mastitis etiology in cattle's milk conducted by Pitkala et al. (22), the authors detected 4237 bacteria from 12661 samples and 1.2% of these samples were *Enterococcus* spp. In Italy, Cenci Goga et al. (3) performed a study about *Enterococcus* spp. isolation in which 7 (53%) of 13 samples and 27 (77%) of 35 samples were found as *E. faecalis* and *E. faecium*, respectively.

In our study, 84 (56%) of the 150 milk samples analyzed were found to be positive for *Enterococcus* spp. with phenotypic methods. Eighty four *Enterococcus* spp. isolates were obtained from 84 positive milk samples. All isolates were determined as *Enterococcus* spp. at genus level by PCR and 57 (68%) and eight (9%) of the isolates were identified as *E. faecalis* and *E. faecium*, respectively. The differences between the results of the present study and those of other studies (1,3,22) were probably due to the different numbers of samples collected. In addition, environmental problems, such as the presence of a sewage system in the area where milk samples were

collected, are thought to have an effect on the results obtained.

In the study reported by Devrise et al. (6), authors found that 61 *E. faecalis*, three *E. faecium*, one *E. durans* and one *E. hirae* isolates were identified from 248 milk samples taken from cattles with subclinical mastitis in Belgium. In total, this accounts for 26% of identified bacteria. In contrast, the rate of *E. faecalis* was reported relatively high in our study (51%) in the samples of cattle with mastitis. This difference might be due to the prevalence of *E. faecalis* in various countries, farm management, climatic factors and the high sensitivity of the detection methods.

The number of infections caused by *E. faecalis* among enterococcal infections is more than ten times compared to other species. However, in recent years, due to the emergence of vancomycin-resistant *enterococci* (VRE), this ratio has gradually decreased and *E. faecium* strains have begun to increase. Initially, avoparcin, a glycopeptide derivative, which was previously used as a growth promotor in animal feed in Europe, was considered to have led to an increase in vancomycin resistance (2).

In a study using the disc diffusion test which was conducted by Kuyucuoglu (14), while the vancomycin resistance of *E. faecalis* isolates

was 4.3%, all of the *E. faecium* isolates were found to be susceptible. However, in the study of Trivedi et al. (26), vancomycin resistance was not been determined in *Enterococcus* species isolated by using disc diffusion test. In the study reported by Kateete et al. (12), in which 16 (28%) of the *enterococci* strains were isolated from animals with clinical mastitis, three (28%) were found to be resistant to vancomycin. In the study of Li et al. (15), the vancomycin susceptibilities of isolates of *enterococci* were examined with E test and the MIC values of the four isolates with the *VanB* gene were determined to be between 8 and 256 µg/mL and six isolates with the *VanC1* gene were found to be between 4 and 8 µg/mL, which is similar to the results of our study. In a study performed by Janoskova and Kmet (9), the antibiotic susceptibilities of *enterococci* were determined by the agar dilution method. At the end of the test, the MIC values of *enterococci* were lower than that of ours and detected to be between 0.5 and 4µg/mL. In the present study, the MIC values of *E. faecalis* and *E. faecium* isolates were examined by using E test. Although, all of the isolates were found to be moderately susceptible and susceptible at the end of the test, there was no resistance to vancomycin in any of the isolates. The MIC values of *E. faecalis* and *E. faecium* isolates were detected as 0.016 µg/mL- 24 µg/ml and 1 µg/ml-24 µg/mL, respectively. It was detected that 18 (32%) and 39 (68%) of the *E. faecalis* isolates were moderately susceptible and susceptible to vancomycin; two (25%) and six (75%) of the *E. faecium* isolates were moderately susceptible and susceptible to vancomycin. This might be caused by low uptake of the vancomycin and derivatives for the treatment of mastitis.

In the study conducted by Choi et al. (4), the *VanC* gene was found in 19 of 24 vancomycin-resistant *enterococci* isolated from milk. Unlike

our study, in the study of Jung et al. (10), which they determined the presence of vancomycin resistance genes in 243 vancomycin-resistant *enterococci*, and the presence of the *VanA* gene was demonstrated. However, being similar to our study, the occurrence of the *VanC2* gene was shown and additionally none of the resistance genes in the resistant isolates were reported. In a study by Franciosi et al. (8), the *VanA* and *VanB* genes were not found in *enterococci* isolated from raw cow's milk and cheese.

Although vancomycin resistance was detected from none of the *enterococci* isolates in our study by using phenotypic testing, the *VanB* gene was found in 11 (19%) of the *E. faecalis* and seven (88%) of the *E. faecium* isolates with molecular testing. In addition, the *VanC2*, *VanC3* genes were found in one *E. faecium* isolate and the *VanB*, *VanC2* and *VanC3* genes were found together in two *E. faecium* isolates. In the light of this information, we concluded that the molecular testing was more effective in the determination of the antibiotic resistance.

In conclusion, our findings were similar to the results of other researchers and *Enterococcus* spp. presence in cattle milk was detected. In particular, it is of the utmost importance that the pharmacological properties and the spectrum of antibiotics used in the treatment of mastitis should be improved in order to prevent the proliferation of vancomycin-resistant *enterococci*. The most important weapons in the fight against the disease are to use preventive medicine, herd management and farm hygiene. The teat health and the hygiene should not be ignored.

In our country, testing for *Enterococcus* species isolated from the milk of cows with mastitis is not presently considered to be necessary. Samples are usually evaluated for *Staphylococcus* spp. and *Streptococcus*

spp. infections. However, in the evaluation of recently conducted studies, particularly in the spectrum of antibiotics used in mastitis infections, enterococci isolates have also been found.

Acknowledgement

This study was supported by Scientific Research Council of Erciyes University as thesis of master under TSY-10-3088 project number.

References

1. Araya M, Davidovich G, Arias ML, Chaves C. Identification of *Enterococcus* sp. isolated from raw milk samples coming from the metropolitan area of Costa Rica and evaluation of its antibiotic sensibility pattern. Arch Latinoam Nutr 2005; 55(2): 161-6.
2. Butaye P, Devriese LA, Haesebrouck F. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well known antibiotics on Gram-positive bacteria. Clin Microbiol Rev 2003; 16(2): 175-88.
3. Cenci Goga BT, Aquilanti L, Osimani A, Miraqlia D, Aloisio F. Identification with multiplex PCR assay of *Enterococcus* species isolated from dairy products in Umbria, Italy. Vet Res Commun 2003; 27(1): 667-71.
4. Choi SS, Kim BS, Ha NJ. Isolation, identification and characterization of vancomycin-resistant enterococci from raw milk. J Microbiology 2002; 40(2): 170-2.
5. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 20th informational supplement (M100-S20). CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne. 2010.
6. Devriese LA, Hommez J, Laevens H, Pot B, Vandamme P, Haesebrouck F. Identification of aesculin-hydrolyzing streptococci, lactococci, aerococci and enterococci from subclinical intramammary infections in dairy cows. Vet Microbiol 1999; 70(1-2): 87-94.
7. Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptides resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. J Clin Microbiol 1995; 33(5): 24-7 (Erratum, 33:1434).
8. Franciosi E, Settanni L, Cavazza A, Poznanski E. Presence of enterococci in raw cow's milk and "Puzzone di Moena" cheese. J Food Process Press 2009; 33(2): 204-17.
9. Janoskova A, Kmet V. Vancomycin resistance genes in *Enterococcus* spp. strains isolated from alpine accentor and chamois. Acta Veterinaria Brno 2004; 73(2): 211-4.
10. Jung WK, Lim JY, Kwon NH, Kim JM, Hong SK, Koo HC, Kim SH, Park YH. Vancomycin resistant enterococci from animal sources in Korea. Int J Food Microbiol 2007; 113(1): 102-7.
11. Kasikci G, Cetin O, Bingol EB, Gunduz MC. Relations between electrical conductivity, somatic cell count, California mastitis test and some quality parameters in the diagnosis of subclinical mastitis in dairy cows. Turk J Vet Anim Sci 2012; 36(1): 49-55.
12. Kateete DP, Kabugo U, Baluku H, Nyakarahuka L, Kyobe S, Okee M, Najjuka CF, Joloba ML. Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria from milkmen and cows with clinical mastitis in and around Kampala, Uganda. PLoS ONE 2013; 8(5); e63413.

13. Kühn I, Iversen A, Finn M, Greko C, Burman LG, Blanch AR, Vilanova X, Manero A, Taylor H, Caplin J, Dominquez L, Herrerp IA, Moreno MA, Möllby R. Occurrence and relatedness of vancomycin-resistant enterococci in animals, humans, and the environment in different European regions. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71(9): 5383-90.
14. Kuyucuoglu Y, Antibiotic resistance of enterococci isolated from bovine subclinical mastitis. *Eurasian J Vet Sci* 2011; 27(4): 231-4.
15. Li S, Zhan Z, Mi ZH. Vancomycin resistant enterococci in a Chinese hospital. *Curr Microbiol* 2007; 55(2): 125-7.
16. Lukasova J, Sustackova A. Enterococci and antibiotic resistance. *Acta Veterinaria Brno* 2003; 72: 315-23.
17. Mannu L, Paba A, Daga E, Comunian R, Zanetti S, Dupre I, Sechi LA. Comparison of incidence of virulence determinants and antibiotics resistance between *Enterococcus faecium* strains of dairy, animal and clinical origin. *Int J Food Microbiol* 2003; 88(2-3): 291- 304.
18. Marshall BM, Levy SB. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clin Microbiol Rev* 2011; 24(4): 718-33.
19. Nam HM, Lim SK, Moon JS, Kang HM, Kim JM, Jang KC, Kim JM, Kang MI, Joo YS, Jung SC. Antimicrobial resistance of enterococci isolated from mastitic bovine milk samples in Korea. *Zoonoses Public Health* 2010; 57(7-8): 59-64.
20. Nilsson O. Vancomycin resistant enterococci in farm animals-occurrence and importance. *Infect Ecol Epidemiol* 2012; 2: e16959.
21. Petersson-Wolfe CS. A study of the occurrence, phenotypic and genotypic diversity and both in vitro and in vivo growth response of *Enterococcus* spp. isolated from bovine origin, Degree Doctor of Philosophy, The Ohio State University, USA 2006; pp. 12-5.
22. Pitkala A, Haveri M, Pyorala S, Myllys V, Honkanen-Buzalski T. Bovine mastitis in Finland 2001-prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *J Dairy Sci* 2004; 87(8): 2433-41.
23. Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR. The Streptococci and related cocci species. Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR. eds. In: *Clinical Veterinary Microbiology*. London: Mosby, 1998; pp. 127-36.
24. Riboldi GP, Frazzon J, D'azevedo PA, Frazzon APG. Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus* spp. isolated from food in Southern Brazil. *Braz J Microbiol* 2009; 40(1): 125-8.
25. Schleifer KH, Balz R. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1984; 34(1): 31-4.
26. Trivedi K, Cupakova S, Karpiskova R. Virulence factors and antibiotic resistance in enterococci isolated from food-stuffs. *Vet Med Czech* 2011; 56(7): 352-7.
27. Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin resistant enterococci. *Lancet* 1988; 1: 57-8.
28. Winn WJr, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Sixth Edition. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins. 2006; pp. 673-764.
29. Yildirim Z, Bilgin H, Isleroglu H, Tokatli

K, Sahingil D, Yildirim M. Enterocin HZ produced by a wild *Enterococcus faecium* strain isolated from a traditional, starter-free pickled cheese. J Dairy Res 2014; 81(2): 164-72.

30. Zirakzadeh A, Patel R. Vancomycin resistant enterococci: Colonization, infection, detection and treatment. Mayo Clin Proc 2006; 81(4): 529-36.

Corresponding author

Assist. Prof. Dr. Harun HIZLISOY
Erciyes University, Faculty of Veterinary Medicine
Department of Veterinary Public Health
Melikgazi 38039, Kayseri-TURKEY
GSM: +90 505 918 49 44
E-posta: harunhizlsoy@hotmail.com



Balık Etinin Muhafazasında Soğutma ve Dondurma Yöntemleri

Dilek Ufuk¹, Belgin Sarımehmetoğlu²

¹Altındağ Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Ankara-TÜRKİYE

²Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Ankara-TÜRKİYE

Özet: Ülkemizde avlanan balıkların çoğunluğu taze olarak kıyı bölgelerimizde tüketilmektedir. Avlanma yerinden uzak bölgelere taşınan balıkların ise kalitelerinin korunarak tüketiciye ulaştırılması gereklidir. Bu amaçla balıklar çeşitli yöntemler ile muhafaza edilmek zorundadır. Balıkların muhafazasında kullanılan en yaygın yöntemler soğutma ve dondurma yöntemleridir. Bu derlemede, balıkların soğutulmasında, buzla soğutma ve buza alternatif soğutma yöntemleri ile; uzun süre muhafaza edilmesinde farklı ortamlardan yararlanılarak yapılan dondurma yöntemleri anlatılmıştır.

Anahtar kelimeler: Balık eti, dondurma, muhafaza, soğutma

Cooling and Freezing Methods Used in Fish Meat Storage

Abstract: Most of the fish caught in our country were consumed as fresh in seaside regions. Fishes are transported to distant parts of the regions are required to be delivered to consumers with maintaining the quality. For this purpose, fishes should be stored by using various methods. Most common methods used for the storage of fishes are cooling and freezing. In this review, cooling with ice and the other alternative methods without using ice were described, also for long term storages freezing methods in different environments were explained for the storage of fishes.

Key words: Cooling, fishmeat, freezing, storage

Giriş

Günümüzde insanlar, sağlıklı gıdaları seçmek ve tüketmek için çaba göstermektedirler. Balık eti, çoklu doymamış yağ asitleri yönünden zengin olduğu için diğer gıdalara göre daha çok tercih edilmektedir. Omega 3 yağ asidi eicosapentaenoic acid (EPA) ve docosahexaenoic acid (DHA)'i yapısında bulunduran balık etinin birçok hastalığa karşı vücutta koruyucu etki gösterdiği bildirilmektedir. Bunlar; migrendeki

baş ağrıları, eklemel romatizma, kimi kanser türleri, kolesterol, hiper tansiyon, kalp damar hastalıkları ve bazı alerjilerdir.

Balık etinde bulunan proteinler vücuttaki dokuların korunması ve gelişmesi için gerekli olan bütün aminoasitleri içerir. Balık etinde en az 13 vitaminin, dokulardaki dağılımı değişen miktarlarda olmak üzere insanların beslenmesinde gerekli olduğu tespit edilmiştir (24). Su ürünlerinde bulunan önemli mineraller ise; kalsiyum, fosfor, potasyum, sodyum, bakır, çinko, iyot, demir, flor, magnezyum ve kobalt olarak sıralanabilir (8).

Üstün beslenme değerine sahip balık etinin yapısı itibariyle çabuk bozulabilmesi söz konusudur. Gıda maddelerinin lezzet, koku, görünüş ve tekstür özelliklerindeki değişimler bozulma olarak tanımlanır (1). Balıklarda bozulmayı; balıkların çeşidi, şekli, yağ kompozisyonları; ayrıca yakalandığı su kaynağının bakteriyolojik kalitesi, yerleşim yerlerine ve kirlilik alanlarına uzaklığı ile işleme tesislerinde uygulanan teknik ve şartlar gibi pek çok faktör etkilemektedir (2,9,11,16,17).

Balıkların yaşadığı ortamın su olması ve değişik sıcaklıklarda yaşamaları, çevreden gelen kontaminasyonları, yüksek su aktivitesine sahip olması, çok miktarda trimetilaminoksit (TMA-O), post mortem pH'nın yüksekliği (sıklıkla pH>6) ve protein yapısında olmayan azotlu bileşiklerin (NPN) bulunması, oksidasyon/redüksiyon potansiyeli (Eh) ve mikrobiyal interaksyon bozulmada etkilidir (15,26).

Balık etinin bozulma indikatörleri histamin, diaminler, kadaverin ve putresin gibi ve toplam volatil bazlardır. Mikrobiyolojik olarak üretilen histidin dekarboksilaz enzimi ve histidin amino asidinden histamin meydana gelir (17). Nitrit ile birleşen diaminler, heterosiklik karsinojenik nitrozaminleri, nitrozaprolidini ve nitrozopiperidini oluşturabilirler (25).

Balıkların bağırsaklarında bulunan doğal ve bakteriyel enzimler de bozulmaya neden olabilir (23). Renk değişimi, enzimatik esmerleşme bu nedenle oluşan bozulmalardır (1). Otolitik enzimlerden hidroperoksit oluşması ile kimyasal bozulma, lipid oksidasyonu (oksidatif ransidite) ve enzimatik olmayan esmerleşme olayları balık etinin bozulmasında etkilidir (11). Balık etinde kalite kaybında rol oynayan diğer faktörler ise, avlamayı takiben kas dokusunda ortaya çıkan biyokimyasal olaylar ile lipidlerin oluşması, proteinler ve protein olmayan azotlu

bileşiklerin değişikliğe uğraması ve bazı uçucu bileşenlerin açığa çıkmasıdır (1).

Balıkların bozulma sürecinin yavaşlatılıp uzun süre saklanabilmesi amacı ile kullanılan başlıca muhafaza yöntemleri; soğutma, dondurarak muhafaza, tuzlama, kurutma, tütsüleme (dumanlama), konserve, marinat ve surimi teknolojisi gibi yöntemlerdir (21).

Soğutma ve dondurma yöntemleri balık etinin besleyici değerinin ve tazeliğinin korunmasında uygulanan en etkin ve en yaygın yöntemlerdir. Bu derlemede, balık etinin muhafazasında kullanılan soğutma ve dondurma yöntemleri anlatılmıştır.

1. Balıklarda Soğuk Muhafaza

En ideal soğutma ortamı buzdur (20). Pratikte uygulanabilecek en etkili yöntem, balıkların soğutulmasıdır. Avlandıktan sonra balık etinin bozulmasının önlenmesi için sıcaklığının en kısa zaman içinde buzun donma noktasına düşürülmesi gerekmektedir. Balık etinin buz ile temas etmesinin sağlanması ve dondurulmadan sıcaklığının 0 °C'ye indirilmesi balıklarda soğutmanın temel prensibidir (7,29).

1.1. Balık Etinde Kullanılan Soğutma Yöntemleri

1.1.1. Buzla Soğutma: Çok eski yöntemlerden birisidir. Geçmişte gıdalar kar içerisinde saklanmaktaydı. Bugün ise tatlı sudan elde edilmiş buzlar kullanılmakta ise de, direk olarak deniz suyundan ya da içine antiseptik maddeler eklenerek mikroorganizma etkileri azaltılmış tatlı suların yapılan buzların kullanılması yaygındır (5). Buza temas eden balık etinde ısı transferi direk kontakt şeklinde olup, balık etinin en hızlı şekilde soğutulması sağlanmış olur. Bu yöntemde balığın sıcaklığı, bakteriyel ve enzimatik değişimlerin yavaşladığı 0-2°C'ye düşürülür. Ayrıca buzun erimesi balığın; kan, bakteri ve mukozadan temizlenmesini sağlar

(10,22,28).

Balığın çeşidi, büyüklüğü, mevsim, beslenme şartları ve diğer birçok faktör muhafaza süresini etkiler. Buz içerisinde muhafaza edilen balıklar birbiriyle fazla temas etmemelidir (12,27). En alttaki balıkların erime suyuna maruz kalması yeterli bir drenajla engellenmelidir. Kullanılacak su, içme suyu kalitesinde olmalıdır. Soğutma yöntemi buzun hazırlanış şekline göre blok buz, hızlı blok buz, kırılmış buz, yaprak buz, tüp buz, plaka buz, külçe buz gibi farklı isimler almaktadır (14).

Balık etlerinin soğutulmasında en hızlı etkiyi sağlayan buz, yaprak (yassı) buzdur. Yaprak buz balık etine mekanik zarar vermeden balık etinin çevresinde daha kolay ve homojen olarak dağılır (24). Diğer avantajları ise; kullanılan makinaların büyük olmaması sebebiyle buz depolanan alanının üzerine monte edilebilmesi ve partikül boyutunun küçük olması sebebiyle uygulanma, taşınma, kürekle atılabilmesinin kolay olmasıdır (13).

1.1.2. Buza Alternatif Olarak Kullanılan Soğutma Yöntemleri: Taze balığın depolanma ömrünün uzatılmasında ve kalitesinin muhafazasında ve tercih edilen temel yöntemler; buzla soğutma yapılmış deniz suyu (CSW) ve mekanik olarak soğutulmuş deniz suyu (RSW) sistemleridir (16). Bu sistemlerin dezavantajları ise; balık etlerinde renk değişimi, sistemin suyunun sık sık değiştirilme gerekliliği, sıcaklık farkının engellenmesi amacı ile sirkülasyonun sağlanması zorunluluğudur. Ayrıca fırtınalı havada açık denizcilikte tanklarda sorun yaşanmaktadır. RSW sisteminin daha az maliyetli olanına ise "hava kabarcıklı" sistem denilir (23). Bulamaç buz ise; su ile düşük donma noktasına sahip solüsyonların oluşturduğu değişik fazlardaki "mikro-kristal" buzdur. Bulamaç buz, buz kristalleri yanında konsantrasyonu düşük salamura da içerebilmektedir. Özellikle

dondurulmuş balık eti gibi çok düşük soğuk dereceler gerektiren gıdaların transportunda tercih edilen özel buza ise öteklik buz denir (13,28). Pelte buz; buzun jelatin halindeki kimyasal bir içeriğin dondurulmasıyla elde edilmesidir (27,28). Özellikle açık deniz balıkçılığında uygulanan bir yöntem olan süper soğutma yönteminde, mevcut sıcaklığın buzun erime noktasındaki sıcaklığın altına yavaşça düşürülmesi ve balık etinin sıcaklığının buzun erime sıcaklığında tutulması esas alınır. Havanın -2 °C'ye soğutulmasından sonra balık etlerinin depolanması yöntemine de soğuk hava ile soğutma denilir. Taze balık eti soğuk odada hızla yüzeysel kurumaya, görünüş, kalite ve ağırlık kaybına uğradığı için bu yöntem balık eti soğutulmasında tercih edilmemektedir. Kuru buz ile soğutmada kullanılan buz, katı karbondioksit buzudur (13). Donma yanıklarını engellemek amacıyla balıkla direkt temas önlenmelidir.

1.2. Balıkların Soğuk Muhafazasını Etkileyen Faktörler: Soğutulmuş balıklarda iyi bir depolanmanın yapılabilmesi için ham materyalin başlangıç mikrobiyal yükü, sıcaklık, bağıl nem, depo içindeki havanın dolaşım hızı ve depo atmosferinin bileşimi gibi parametrelerin kontrol altında tutulması, ortam koşullarının uygun biçimde yönlendirilmesi ve kontrollerin belirli aralıklarla yapılması gereklidir (6,28).

2. Balıklarda Dondurarak Muhafaza

Gıdaların yapısında serbest bulunan suyun, buz kristallerine dönüştürülmesi ve bunun sonucunda mevcut ortamdaki su aktivitesi ile sıcaklığın düşürülerek bozulmaya neden olan kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik aktivitelerin yavaşlatılması dondurma teknolojisinin temel esasıdır (4). Ürünün muhafazası sırasında uygulanan çok düşük sıcaklıklar ise enzimatik reaksiyonların, oksidatif ransiditenin ve buz haline gelen

Tablo 1. Bazı taze balıkların soğukta depolanabilme şartları (3,28).

Balık Türü	Depolama Sıcaklıkları (°C)	Bağıl Nemi (%)	Depolanma Süreleri
Mezgit	0/1	95-100	10 gün
Ringa	0/2	80-90	10 gün
Uskumru	0/1	95-100	6-8 gün
Orkinos	0/2	95-100	14 gün

suyun rekristalizasyonu minimal düzeye indirilmektedir (30). Ürünün -10 °C ve -12 °C sıcaklıklarda depolanması dondurulmuş ürün tanımını gerektirirken, -18 °C sıcaklık ve altındaki sıcaklık derecelerinde depolanması derin dondurulmuş ifadesini gerektirir (28).

Dondurma işlemi yapılırken, bozulmayı önlemek amacıyla gıdaya ön soğutma uygulanmalıdır. Çok hızlı dondurulmuş balıklarda hücre içi suyu hücre dışına çıkma olasılığı olamadan kristalleşir ve hücre içinde kalır. Bu olay “hücre içi dondurma” olarak isimlendirilir. Donma hızı yüksek değilse buz kristalleri hücre dışında oluşur, hücre içi suyu hücre dışına çıkar ve orada kristalleşir. Buda “hücre dışı dondurma” olarak isimlendirilir. Hücre dışı donmuş ürün uzun süre depolanıp çözündürüldüğünde, çözünen hücre dışındaki

su tekrar hücre içine dönemez, hücre dışında kalarak ürün dokusunun sulu bir hal almasına, dokunulduğunda pürüzlü olmasına ve bazı niteliklerini kaybetmesine neden olur.

2.1. Balıklarda Dondurarak Muhafaza Yöntemleri: Soğuk hava ile dondurma yönteminde, bir soğutucu ekipman ile soğutulmuş hava kullanılır. Temel olarak iki farklı uygulaması vardır. Bunlar; durgun hava ile dondurma ve hava akımı ile dondurmadır. Durgun hava ile dondurma yönteminde kullanılan hava hareketsizdir. Kullanılan ekipman basit ve ucuzdur. Soğutma amaçlı havanın dondurulmuş olan gıda maddesi ile evaporatör arasında belli bir hızla hareket etmesi hava akımında dondurma yönteminin temel prensibidir. Hava dolaşımli dondurmada çok değişik tipte dondurucular kullanılır.

Tablo 2. Dondurularak muhafaza uygulanmış farklı balık türlerinin dayanım süreleri (28).

Balık Türü	Depolama Sıcaklıkları (°C)	Depolanma Süreleri
Pisi Balığı	-18	7-12
Alabalık	-30	9
Turna Balığı	-18	6
Sazan	-18	5-9
Uskumru	-18	4-6

Bunlar; tünel dondurucular (paralel ve zıt akımlı tüneller), kabin dondurucular ve akışkan yatak donduruculardır. Diğer tüm hava dolaşımli dondurma sistemlerinde ulaşılamayan hıza, akışkan yataklı dondurucularda ulaşabilmektedir. Bunun yanında her parça tek tek dondurulduğu için gıdanın blok haline dönüşmesi önlenir. Plakalı dondurucularda dondurulma imkânı olmayan ambalajlı ve şekilsiz gıdaların dondurulmasında spiral bantlı dondurucular tercih edilmektedir.

Kontakt metot ile dondurma yönteminde, gıda maddesi içten soğutulan metal plakalar üzerinde tutularak dondurulmaktadır. Gıdalar bu yöntemle dondurulurken dikdörtgen prizması şeklinde bir ambalajda bulunmalıdır. Daldırarak dondurma yönteminde soğutulmuş şeker şurubu, gliserol çözeltisi veya salamura kullanılır. İki şekilde uygulanır; soğutulmuş sıvıya ambalajlanmış veya ambalajlanmamış ürün daldırılması veya ürün üzerine sıvının püskürtülmesi ile dondurulur. Bu yöntemin olumsuz tarafları; sıvı dondurucunun ürüne geçmesi ile üründe lezzet, renk değişimleri olmakta ve solüsyon kullanımlardan sonra kirlenmektedir. Bu kirlilik ürün ile birlikte donmaktadır. Gıda ile direkt temas olduğundan toksik olmamalı, yabancı koku, renk ve tat içermemelidir. Balıklarda en yaygın kullanılan salamura %23'lük tuz çözeltisinin -21 °C'de uygulanması olarak bildirilmektedir (28).

Kaynama noktası çok düşük olan gazlar sıvılaştırılarak kriyojenik sıvılarla dondurma yönteminde kullanılır. Bu yöntemde kullanılan cihazlar basit ve ucuzdur. Aynı zamanda az yer kaplar ve soğutma hızı da yüksektir (6). Kriyojenik dondurma esasen daldırarak dondurma yönteminin bir türüdür ve sıvı nitrojen veya katı karbondioksit gibi kriyojenik dondurucular kullanılmaktadır (18). Diğer kriyojenik sıvılar kaynama derecesi -220 °C olan freondur.

2.2. Balıkların Dondurularak Muhafazasını

Etkileyen Faktörler: Ürün çok taze olmalı, avlandıktan sonra hemen temizlenmeli ve dondurulmadan önce ön soğutma uygulanmalıdır. Ancak uzun süre buzda bekletme dondurma sonrası raf ömrünü sınırlamaktadır. Dondurma öncesi balık %2 tuz çözeltisine daldırılır. Bu şekilde kuruma mümkün olduğunca önlenir, tat güzelleşir, damlama kaybı nispeten azaltılır.

Donma hızının yüksek olması halinde balığın kalitesi taze balık kalitesine çok yakın olmaktadır. Hızlı dondurmada; hem süblimasyonla olan ağırlık kaybı düşük, hem de don yanığı ve oksidasyon hızı yavaş olmaktadır. Balık dondurulduktan sonra çoğunlukla bir kez, nadiren birkaç kez 10-20 sn süre ile soğuk suya daldırılarak veya balığın üzerine soğuk su püskürtülerek glaze edilir. Böylece ürün kurumaya, ağırlık kaybına, acılaşmaya, renk kaybına ve don yanığına karşı korunabilir (3).

Depo sıcaklığının sabit ve düşük sıcaklık derecelerinde olması ile su kaybı, aroma kaybı, kuruma, buz kristallerinin oluşumu, rekristalizasyon önlenir. Depoda yeterli düzeyde düşük bir hava sirkülasyonu ve mümkün olduğunca yüksek seviyede nemin sağlanması gereklidir. Özellikle paketlemeden dondurulan ürünler hava hareketi olmayan odalarda depolanmalı, yağlı ve yassı balıklar ışıktan uzak tutulmalıdır. Kurumanın, ağırlık kaybının ve oksidasyonun önlenmesi için ışık ve nem geçirmeyen materyal ile paketleme yapılmalıdır. Yağlı balıklar için vakum paket uygulanmalıdır. Transport için seçilen sıcaklık -20/-25 °C olmalıdır.

Dondurma ve donuk muhafazasından daha fazla önemli bir konu da dondurulmuş balık etlerinin çözündürülmesidir. Kontrolsüz şartlarda çözündürme ile ürün kalitesi azalmakta ve ürünlerdeki bakteri sayısı da artmaktadır. Folyo ile paketlenmiş ve vakum uygulanmış

ürünler mevcut suyunu kaybettirilmeden su banyosunda çözündürülmelidir (20,28).

Dondurma işleminin bir sonucu olarak protein çözünürlüğünde değişimler ve proteinlerde denatürasyonlar meydana gelmektedir. Etin su tutma kapasitesi ve aktinomyozinin enzimatik aktivitesi, viskozitesi ve yüzey hidrofobikliği gibi biyokimyasal özellikleri dondurma işleminden etkilenmektedir. Dondurma işlemi veya depolama süresince, lizin gibi esansiyel amino asitlerin amino grubu ile indirgen şekerlerin karbonil grupları reaksiyona girebilmektedir. Proteinli gıdaların yüzeyindeki bazı bölümler daha fazla kuruyabilir ve yapıları geri dönüşsüz olarak bozulmaya uğrayabilir; yüzeyde dondurucu yanığı olarak bilinen açık renkli benekler görülebilir ve gıda ürününün görünüşü kabul edilebilir düzeyden uzaklaşabilir (19).

Sonuç

Giderek çoğalan dünya nüfusuyla birlikte artan hayvansal protein açığının karşılanmasında ve insanların dengeli beslenmesinde; yüksek protein ve esansiyel aminoasitler, çoklu doymamış yağ asitleri, zengin mineral ve vitaminlere sahip balık etinin, insanların beslenmesinde önemli bir yeri vardır. Balık etinin, üretim/avlama şartlarından bağımsız olarak her bölgede herkes tarafından tüketilebilmesi için kalite kayıplarının en aza indirilerek saklanması ve tüketiciye ulaştırılması gerekmektedir. Bozulmaya karşı hassas olan balık etinin kas yapısının bağ doku bakımından zayıf olması, yüksek enzim aktivitesi, pH değeri ve su içeriğine sahip olması balık etinin yakalandıktan hemen sonra çabuk bir şekilde, sağlıklı koşullarda soğutulması ve soğutulmuş olarak tutulabilmesini gerektirir. Çağımızın hız gerektiren yaşamı için pratik olarak pişirmeye hazır halde, katkı maddesi içermeden, uygun şartlarda uzun süre saklanmaya imkan sağlayan dondurma

yöntemi; günümüzde balık eti için en etkin, kaliteli ve ekonomik muhafaza yöntemidir.

Kaynaklar

1. Ashie INA, Smith JP, Simpson BK. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. Crit Rev Food Sci Nutr 1996; 36(182): 87-121.
2. Basti AA, Misaqbl A, Salehi TZ, Kamkar A. Bacteriel pathogens in fresh, smoked and salted Iranian fish. Food Control 2006; 17(3): 183-8.
3. Baygar T, Özden Ö, Üçök D. Dondurma ve çözündürme işleminin balık kalitesi üzerine etkisi. Turk J Vet Anim Sci 2004; 28(1): 173-8.
4. Bilgin Ş. Farklı işleme yöntemlerine göre dağ alabalığının (*Salmo trutta macrostigma*, D., 1858) kimyasal yapısındaki değişimler, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta 2003; p. 131.
5. Binici A, Kurtkaya G. Soğukta depolama yöntemlerinin su ürünleri kalitesine etkileri. Tunceli Üniv Bilim Gençlik Derg 2014; 2(2): 23-40.
6. Cemeroglu A, Acar J. Meyve Sebze İşleme Teknolojisi. Ankara: Başkent Klişe Matbaacılık, 1986; p. 328.
7. Çaklı Ş. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. Cilt I. Ege Üniversitesi Yayınları. No:76. Bornova, İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 2007; p. 696.
8. Dean LM, Martin RE, Flick GJ. Nutrition and preparation. Cooling RE, Martin GJ. eds. In: The Sea Food Industry. Chap. 16, New York: Published Van Nostrand Reinhold, 1990; pp. 255-67.

9. Demirci M, Orak HH. Farklı soğutma ortamları ve -12°C'de depolanan istavrit balığında (*Trachurus trachurus*) meydana gelen kalite değişimleri. Turk J Agric For 1999; 23(2): 143-50.
10. FAO, Fresh Water Fish as Raw Material for Processing, <http://www.fao.org/docrep/w0495e/w0495e02.htm>, Erişim tarihi: 02.10.2015.
11. Fedhusen F. The role of sea food in bacterial foodborne diseases. Microbes Infect 2000; 2(13): 1651-60.
12. Gennari M, Tomaselli S, Catrona V. The microflora of fresh and spoiled sordines (*Sardinella sardinella*) caught in Adriatic (Mediterranean) Sea and stored in ice. Food Microbiol 1999; 16: 15-28.
13. Gökoğlu N. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. İstanbul: Bilge Yayıncılık, 2002; p. 120.
14. Graham J, Johnston WA, Nicholson FJ. Ice in fisheries. FAO Fisheries Technical Paper. No:331. Rome: FAO, 1992; p.75.
15. Gram L, Huss HH. Microbial spoilage of fish and fish products. Int J Food Microbiol 1996; 33: 121-37.
16. Hertera FC, Santes JA, Otera A, Gercialopez ML. Occurrence of foodborne pathogenic bacteria in retail prepackaged portions of marine fish in Spain. JAM 2006; 100: 527-36.
17. Hisar ŞA, Hisar O, Yanık T. Balıklarda mikrobiyolojik, enzimatik ve kimyasal bozulmalar. Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg 2004; 35(3-4): 261-5.
18. James SS, James C. Quality and safety of frozen meat and meat products. Coling Wen DW. eds. In: Handbook of Frozen Food Processing and Packaging, 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2011; pp. 303-24.
19. Jiang ST, Lee TC. Freezing seafood and seafood products: Principles and applications, Murrell KD. et al. eds. In: Handbook of Frozen Foods, New York: Marcel Dekker Inc, 2004; pp. 245-94.
20. Kundakçı A, Ergönül B. Su ürünlerinde soğuk zincir etkinliğinin önemi ve ürün kalitesi ile olan ilişkisi. Gıda Teknoloji Elektronik Derg 2009; 1(4): 21-8.
21. Öğretmen ÖY, Öğretmen N. Su ürünleri işleme teknolojileri ve örnek bir su ürünü işleme tesisine ait dondurulmuş hamsi iş akışı. I. Ulusal Hamsi Çalıştayı: Sürdürülebilir Balıkçılık. 17-18 Haziran 2010, Trabzon-Türkiye.
22. Stansby ME. Industrial Fishery Technology. London: Reinhold Publishing Corporation and Hall, 1963; p.124.
23. Sverstsvik M, Jeksrud WK, Rosnes MJT. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products-significance of microbial growth, activities and safety. Int J Food Sci Tech 2002; 37: 107-27.
24. Turan H, Kaya Y, Sönmez G. Balık etinin besin değeri ve insan sağlığındaki yeri. EÜ Su Ürünleri Derg 2006; 23(1-3): 505-8.
25. Turantaş F, Öksüz A. Balık ve balık ürünlerinde biyogenik aminler ve amin üretiminde rol oynayan bakteriler. Gıda Tekn Derg 1998; 3(5): 58-65.
26. Ünlütürk A, Turantaş F. Gıda Mikrobiyolojisi. Çınarlı, İzmir: Mengi Tan Basımevi, 1999; p. 53.
27. Varlık C, Heparkan D. Hamsinin buzda muhafazası. İÜ Su Ürünleri Derg 1990; 4: 53-8.
28. Varlık C, Erkan N, Özden Ö, Mol S, Baygar T. Su ürünleri işleme teknolojisi. İstanbul Üniversitesi Yayın No:4465, 2004; p.

47.

29. Venugopal V. Sea Food Processing, Adding Value Through Quick Freezing, Retortable Packaging and Cook-chilling. LLC CRC Press, 2006; p. 65.
30. Zhou GH, Xu XL, Liu Y. Preservation technologies for fresh meat. Meat Sci 2010; 86: 119-28.

Yazışma Adresi

Prof. Dr. Belgin SARİMEHMETOĞLU
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Gıda
Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, ANKARA
Tel: 0 312 317 03 15/4354
Faks: 0 312 317 00 10
E-posta: bsarimeh@veterinary.ankara.edu.tr



Yenidoğan Kedi ve Köpeklerde Resusitasyon Girişimleri ve Köpeklerde Apgar Skorlama Sistemi

Nilgün GÜLTİKEN¹, Elvan ANADOL²

¹Ondokuzmayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Samsun-TÜRKİYE

²Gazi Üniversitesi, Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi,
Ankara-TÜRKİYE

Özet: Güç doğum veya sezaryen operasyonu ile doğan kedi ve köpek yavrularında, hipoksi veya anestezi maddelerinin yan etkisine bağlı olarak depresyon oluşabilmektedir. Son yıllarda yenidoğana uygulanması gereken resusitasyon işlemlerinin yoğunluğunu belirlemek amacıyla Apgar skorlama sistemi kullanılmaktadır. Resusitasyon işlemleri, sırasıyla solunumun ve kardiyovasküler sistemin uyarılması, termoregülasyonun sağlanması ve hipogliseminin önlenmesini kapsamaktadır.

Anahtar kelimeler: Apgar skorlama sistemi, kedi, köpek, resusitasyon

Resuscitation Applications for Newborn Kittens and Puppies and Apgar Scoring System for Puppies

Summary: Feline or canine neonatal depression or hypoxia might occur following dystocia or Cesarean section mainly due to adverse effect of anaesthetic agents. In recent years, Apgar scoring system is used in order to determine the intensity of resuscitation efforts. Resuscitation efforts include the stimulation of respiration and cardiovascular system, maintenance of thermoregulation and prevention of hypoglycaemia.

Key words: Apgar scoring system, cat, dog, resuscitation

Giriş

Kedi ve köpek yavruları doğduklarında hareketli olmalı ve yaşamsal fonksiyonlar için sadece annelerinin ilgilenmesi yeterli olmalıdır. Bununla beraber; güç doğum veya sezaryen operasyonu sırasında stres altında kalan yavrulara doğar doğmaz müdahale etmek gerekebilir (22). Yenidoğan köpek yavrularında mortalite oranı; normal doğumda %5.55, güç doğumda %33 (16) ve sezaryen operasyonu sonrasında %6-11 (15) olarak bildirilmiştir.

Ek olarak, doğuma müdahale şekli ve zamanı, fetal malformasyon ve genetik bozukluklar, düşük yavru ağırlıkları, olumsuz çevre koşulları, travma, beslenme yetersizlikleri, paraziter ve enfeksiyöz hastalıklar da perinatal mortalite predispozisyonunu artırmaktadır (1,6,17). Kedi ve köpek yavruları doğar doğmaz, damak yarığı, atresia ani ve hidrosefalus gibi kongenital hastalıklar açısından muayene edilmelidir (20). Özellikle güç doğum ve sezaryen operasyonunda oluşabilen hipoksi ve anestezi ajanlarına bağlı olarak meydana gelen fetal depresyon nedeniyle hipoksik dokuların bir an önce normale dönmesi için oksijenizasyonun

sağlanması gerekmektedir (22). Detaylı bir yenidoğan resusitasyon stratejisi oluşturulması mortalite oranını önemli oranda düşürmektedir (3). Bu derlemede, yenidoğanda beden ısısı, solunum ve dolaşımın nasıl desteklenmesi gerektiğine dair bilgi verilecektir.

Apgar Skorlama Sistemi

Perinatal mortalite oranının azaltılması amacıyla, 1952 yılında anesteziyolog Virginia Apgar tarafından, beşeri hekimlikte doğumdan sonra bebeklerin sağlık durumlarının belirlenmesini sağlayan basit bir skorlama sistemi geliştirilmiştir. Apgar skorlama sistemi, veteriner hekimlikte ilk olarak at, sığır ve domuz yavrularında modifiye edilerek uygulanmıştır (5,18,28). Daha sonra köpek yavrularında, modifiye edilerek klinik değerlendirmeler yapılmış ve perinatal ölüm oranlarının azaltılması amaçlanmıştır (3,7,8,14,24,25).

Köpeklerde skorlama amacıyla, doğumdan sonraki ilk 5 dakika içinde yeni doğan yavruların kalp atım hızı, solunum sayısı, müköz membranların rengi, refleksler, hareketlilik, emme ve ağlama durumları değerlendirilerek, her bir parametre için 0 ile 2 arasında puan verilmekte ve en sonunda tüm puanlar toplanarak bir skora ulaşılmaktadır. Buna göre, kalp atım hızı dakikada 220 atımın üzerinde ise 2 puan, 180-220 arasında ise 1 puan ve 180 atımın altında ise 0 puan olarak değerlendirilmektedir. Solunum gücü değerlendirilirken aynı zamanda ağlama gücüne de bakılmaktadır. Normal ağlama ile birlikte solunum hızı 15'in üzerinde ise 2 puan, hafif ağlama ile birlikte 6-15 arasında ise 1 puan, ağlama olmadan 6'nın altında ise 0 puan olarak değerlendirilmektedir. Yenidoğan yavruda refleks kontrolü yapmak kolay değildir. Bu nedenle patilerin ucuna hafif bası yapılarak, yavrunun ağlama durumuna ve bacağına çekip çekmediğine göre karar verilmelidir. Refleks kontrolünde yavru ağlıyor

ve bacağına hızla çekiyorsa 2 puan, hafif ses çıkartıyor ve bacağına hafif çekiyorsa 1 puan ve hiç ağlamıyor ve bacağına çekmiyorsa 0 puan olarak kabul edilmektedir. Hareketlilik değerlendirmesi yapılırken yavrunun spontan hareketlerine bakılmaktadır. Bu amaçla, yenidoğanın hareketleri güçlü ise 2 puan, hafif hareket edebiliyorsa 1 puan ve zayıf hareketli veya hareketsizse 0 puan olarak değerlendirilmektedir. Müköz membranların kontrolü ile kardiyovasküler ve solunum yetersizliği hakkında bilgi edinilmektedir. Buna göre, yenidoğan yavrunun müköz membran rengi pembe, bir başka deyişle normalse 2 puan, solgun renkli ise 1 puan ve siyanotik görünümlüyse 0 puan olarak değerlendirilmektedir. Yenidoğan için medikal destek gerekip gerekmediğine puanların toplanmasıyla elde edilen Apgar skoruna bakılarak karar verilmektedir. Apgar skoru 7 ile 10 arasında olanlara normal, 4 ile 6 arasında olanlara orta derece ve 0 ile 3 arasında olan yavrulara ise ileri derecede müdahale edilmesi gerekmektedir. Yenidoğan köpek yavrularında Apgar skorlaması için gereken parametreler ve puanlama sistemi Tablo 1'de verilmektedir. Köpeklerde Apgar skorlaması yapılırken, kedilerde bu skorlamayla ilgili çalışma bulunmamaktadır.

Apgar skorlaması dışında vücut ısısı, meme bezini arama, yutkunma hareketleri gibi diğer fizyolojik ve davranışsal parametrelerin de değerlendirilmesi gerekmektedir (25). Yenidoğanda tespit edilmesi gereken nörolojik refleksler ise Tablo 2'de verilmektedir.

Sezaryen operasyonu ile doğan yavrunun bir an önce spontan solunuma geçmesi ve annenin yavrularıyla ilgilenebilmesi, seçilen anestezi protokolüne göre değişmektedir. Doebeli ve ark.'nın (2013) köpeklerde yaptığı bir çalışmada sezaryen operasyonunda propofol kullanıldığında, düşük Apgar skoru (0-3) tespit edilen yavruların oranı %50

Tablo 1. Yenidoğan köpeklerde kullanılan Apgar puanlama tablosu (8).

Parametreler	0 Puan	1 Puan	2 Puan
Müköz membranların rengi	Siyanotik	Pembe	Kırmızı
Kalp atım hızı	< 120	120-180	> 180
Solunum hızı	< 15	15-30	> 30
Refleks	Yok	Kuvvetsiz	Aktif
Hareketlilik	Yok	Hafif	Aktif
Emme	Yok	Hafif	Aktif
Ağlama	Yok	Orta	Enerjik

* Kedilerde bu skorlamayla ilgili çalışma bulunmamaktadır.

iken, alfaksalon kullanıldığında bu oran %17 olarak bildirilmiştir. Propofolle yapılan başka bir araştırmada ise, bu oran acil sezaryen operasyonundan sonra %100, elektif sezaryen operasyonundan sonra %92 olarak saptanmıştır (6). Bu nedenle kullanılan anestezi ajanlarının annede oluşturduğu yan etkilerin yanı sıra, doğum sonrası yenidoğanda sağ kalım oranına olumsuz etkisi de önem kazanmaktadır (2,21).

Güç doğum nedeniyle annenin genel durumunun bozulması veya operasyon sezaryen sırasında annenin oksijensiz kalması fetal hipoksi ile sonuçlanmaktadır. Fötüsün oksijensiz kalması sonucu dokularda asit birikimine bağlı metabolik asidozis şekillenerek kanda laktat seviyesi artmaktadır. İnsanlarda ve kısırlarda olduğu gibi köpeklerde de umbilikal venden kan alınıp laktat seviyelerine bakılarak fetal hipoksi tanısı konulabilmektedir (5,8,9,26). Yapılan bir çalışmada umbilikal laktat seviyeleri ile Apgar skorları karşılaştırılmış ve düşük Apgar skoruna sahip yavruların laktat seviyelerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (8).

Solunum yollarının temizlenmesi ve solunumun uyarılması

İntrauterin hayatta fetal solunum, kan gazlarının plasenta vasıtasıyla değişmesi sonucu oluşmaktadır. Akciğerler kullanılmamaktadır ve dolaşımı da zayıftır. Prepartum birkaç gün içinde fetal adrenlerden salgılanan kortizolün etkisiyle, surfaktantlar sentezlenmeye başlanır. Bir başka deyişle, doğumdan hemen önce artan adrenal aktivite, doğum sonrası normal bir akciğer fonksiyonu için çok önemlidir. Doğumda umbilikal kordon ayrıldığında plasenta vasıtasıyla gerçekleşen gaz alışverişi bir anda kesilir ve hipoksi oluşur. Ardından da yenidoğanın periferik damar direnci artar. Bu olaylar sonucunda oluşan dispneye bağlı olarak göğüs kaslarının kasılmasını sağlayan refleks meydana gelir. Buna bağlı olarak solunum yollarında negatif basınç oluşur ve hava akciğerlere girer. Hipoksi, yenidoğanda sık karşılaşılan bir sorundur ve yavru sayısının fazla olması, plasentanın erken ayrılmaya başlaması ve güç doğum gibi nedenlerle meydana gelebilir. Premature doğan yavrularda ise akciğerlerde yeterince surfaktant

Tablo 2. Yenidoğan kedi ve köpeklerde nörolojik muayene bulguları (4).

Refleks çeşitleri	Zaman	Açıklama
Emme refleksi	Doğumdan itibaren	Yavru patilerini emer.
Baskı refleksi	Doğumdan itibaren	Yavru kafasına bastırıldığında, kafasını ele doğru iter.
Dönme refleksi	Doğumda itibaren	Yavru arkası döndürüldüğünde kendi sağına doğru döner.
Lumbal refleks		Yavru lumbal bölgesine kuvvetli olarak bastırıldığında bağırır ve hareket eder.
Ekstensor refleks		Dorsal pozisyonadaki yavrunun arka ayaklarından birine baskı uygulandığında, diğer ayakta adduksiyon gözlenir.
Büyük (magnus) refleks		Dorsal pozisyonadaki yavrunun kafası bir tarafa eğildiğinde, ön ve arka bacakların aynı tarafa çevrilmesi üzerine bacaklar diğer tarafa döner.
Boyun refleksi	3 haftalık oluncaya kadar	Yavru torakstan tutulduğunda ve boynu bir tarafa büküldüğünde, yavru aynı tarafa doğru bacaklarını gerer. Kafası dorsale yatırıldığında ön bacaklarını gerer, arka bacaklarını vücuda yaklaştırır (adduksiyon).
Atlama refleksi	2-4 günlükten itibaren	
Anogenital refleks	3-4 haftalık oluncaya kadar	Yavrunun anogenital bölgesi pamukla veya bir bezle uyarıldığında ürinsiyon veya defekasyon gözlenir.
Palpebral ve korneal refleks	Gözler açıldıktan itibaren	
Tehtid refleksi	2-16 haftalık arasında	
Tonus çeşitleri		
Flektor tonus	3-4 günlük oluncaya kadar	Yavru kafasından tutulduğunda arka bacaklarını kendine doğru çeker (adduksiyon).
Ekstensor tonus	4 günlükten itibaren	Yavru kafasından tutulduğunda arka bacaklarını gerer, esnetir.

oluşmaması sebebiyle hipoksi oluşur (20,23).

Doğum sonrası ideal bir yenidoğan resusitasyonu, yetişkinlere uygulanan kardiyopulmonar resusitasyon işlemleriyle aynıdır. Yeni doğan dönemi, postpartum ilk iki haftayı kapsamaktadır ve ilk 7 gün boyunca yenidoğanın spontan solunum yapması ve ağlaması, hayatta kalmasıyla doğrudan ilişkilidir (6). Yavrunun doğumdan hemen sonra annenin yalaması sonucu ağlamaya

başlaması, solunum yollarının kendiliğinden temizlenmesini sağlamaktadır (22). Sezaryen operasyonu ile doğan ve dolayısıyla anestezi madde etkisinde kalan yenidoğanlar, çoğunlukla anne bakımından mahrum kaldıkları için kendiliğinden nefes alarak solunumu başlatamazlar. Bu nedenle, önce yavrunun yüzündeki yavru zarlarının temizlenmesi gerekir. Temizlendikten sonra umbilikal kordona, umbilikal skarın 2 cm distaline

olacak şekilde hemostatik pens konularak kordon kesilir. Kordonun bakımı daha sonra yapılmak üzere doğrudan resusitasyon işlemlerine devam edilir (11). Ardından da bu amaçla kullanılan özel bir enjektör (bulb syringe) veya aspiratörle solunum yolundaki sıvıların uzaklaştırılması gerekmektedir (6). Bu makalenin yazarları, aspirasyon işlemi için özel olarak tasarlanmış enjektör bulunmadığında iğnesiz enjektör kullanmaktadırlar. Bu esnada yavrunun baş aşağı tutulması, sıvıların akışını kolaylaştırır (6). Ancak, solunum yolunda oluşturabileceği zedelenmeler ve laringospazm nedeniyle aspirasyon amacıyla çok güçlü vakum uygulanmaması gerekir (22). Ayrıca diyaframın uzun süre iç organların baskısına maruz kalmaması için, baş aşağı tutma işlemi çok uzun sürmemelidir (11). Yenidoğanın solunum yollarındaki sıvı ve mukusun temizlenmesi çok önemlidir; çünkü burun delikleri dar ve dili nispeten büyük olduğu için solunum yolundaki yabancı maddelerin hipoksiye yol açma ihtimali yüksektir (20).

Yavrunun ılık bir havluyla kurutulması ve sıcak tutulması da solunumun uyarılması açısından faydalı olmaktadır (6). Kurutma işlemi yavrunun ısınmasını da sağlayacağından, tamamen temizlenip düzenli nefes alıp hareket edene kadar devam edilmelidir (11). Havluyla kurutma işlemi sırasında özellikle genital ve umbilikal bölgelerin ovulması önemlidir; çünkü doğum sonrası ilk üç gün boyunca bu bölgelere dokunularak, bir başka deyişle taktıl refleksi (taktıl uyarım) oluşturularak respirasyon uyarılabilmektedir. Ayrıca deprese yavrularda lomber bölgeye yapılan kuvvetli dokunuşlar, ağlamayı ve dolayısıyla solunum yollarının temizlenmesini sağlamaktadır (22). Öte yandan, yaratabileceği travma nedeniyle serebral hemoraji oluşabileceğinden şimdiye kadar bilinenin aksine, solunum yollarını temizlemek amacıyla yenidoğan baş aşağı kuvvetlice sallanmamalıdır (6). Ayrıca,

hızlıca başaşağı sallama sırasında yavru yere düşebilir veya mide içeriği aspire olabilir (22), bu da alveollerdeki pulmoner surfaktantların dağılarak azalmasına yol açabilir (19).

Sağlıklı yenidoğanlarda müköz membranlar kırmızı veya koyu pembe renktedir. Solunum sayısı dakikada 10'dur. Doğduktan sonra ilk 60 saniye içinde; yukarıda bahsedilen yöntemlerle veya annenin yalamasıyla spontan solunum başlamazsa suni teneffüsle veya entübe edilerek her 10 saniyede bir solunum yaptırılmalıdır. Solunum başlamazsa ve mukozalar siyanotik bir hal almışsa derhal maskeyle dakikada 1 litre oksijen verilmelidir. Oksijen, ılık bir inkubator içerisinde de verilebilir; bu durumda inkubator içerisindeki oksijen konsantrasyonu %40 ve nem oranı da %50-70 olmalıdır (11). Verilen oksijen konsantrasyonunun %40-60'dan fazla olması, akut respiratorik stres veya retrolental fibroplaziye yol açabilir (22).

Solunumu uyarmak amacıyla başvurulabilecek bir diğer yöntem de *Jen Chung* akupunktur noktasına bası yapılmasıdır. Bu amaçla, 25 geyçlik bir iğne kemiğe ulaşana kadar ekseni etrafında çevrilerek nasal filtruma batırılır. Medikal tedavi olarak doksapram veya naloksonun solunumu uyarmak konusunda etkisiz olduğu bildirilmektedir (11). Doksapram, sentral uyarım yoluyla etkilediği için yenidoğanda beyin dokusu hipoksik ise çalışmamaktadır (20). Öte yandan doğum öncesi anneye opioidler verilmişse nalokson kullanımı (0.1 mg/kg IV) önerilmektedir (22). Kedi ve köpek yavrularında solunum sayısı, ilk hafta dakikada 10-18, ikinci hafta 18-36, 3. hafta ve sonrasında 16-32'dir (13). Yenidoğan kedi ve köpeklerde nabız, solunum sayısı ve beden ısısına ilişkin fizyolojik değerler Tablo 3'de verilmektedir.

Tablo 3. Yenidoğan kedi ve köpeklerde normal vücut ısıları, solunum sayıları ve kalp atım hızları (10, 13).

Hafta	Rektal Isı	Oda Isısı	Solunum Sayısı	Kalp Atım Hızı
1. hafta	35°C- 37.2°C	30°C- 32.2°C	10-18	200-220 dk/atım
2. ve 3. Hafta	36.1°C- 37.8°C	26.7°C-29.4°C	18-36	100-140 dk/atım
4. hafta	37.2°C- 38.3°C	21.1°C- 23.9°C	16-32	100-140 dk/atım

Kardiyovasküler sistem fizyolojisi ve bradikardinin düzeltilmesi

Fötal hayatta dolaşım, sol pulmoner arter ve aorta arasında yer alan duktus arteriosus vasıtasıyla henüz fonksiyonel olmayan fötal akciğerlere girmeden seyrederek. Doğum sonrasında kordon kesildiğinde umbilikal dolaşım sona erer, artan oksijen basıncına cevap olarak *duktus arteriosus* daralır ve akciğer damarları genişler. Sol tarafta artan basınç, atriyumlar arasında bulunan *foramen ovale*'nin kapanmasını sağlar. *Duktus arteriosus*'un kapanması ise biraz zaman alır ve genellikle doğum sonrası 2-5. günler arasında gerçekleşir. Bahsi geçen iki anatomik bölge tamamen kapanmazsa "*kalıcı duktus arteriosus*" veya "*kalıcı foramen ovale*" olarak adlandırılan olgular oluşur. Üfürümle karakterize olan bu olguların tanısı ekokardiyogramla konulmaktadır (20). Yenidoğanın sağ ve sol ventrikülleri hemen hemen aynı hacimdedir ve pubertasa kadar değişerek yetişkinlerdeki 1:3 oranına ulaşır. Köpekte doğum sırasında elips şeklinde olan kalp, pubertasa ulaştığında küre

şeklini alır (4).

Yenidoğan kedi ve köpeklerin kan basıncı ve periferik damar direnci yetişkinlere göre daha düşük olmasına karşın nabız, kardiyak output, plazma hacmi ve sentral venöz basıncı daha yüksektir. Yenidoğanda kalp ve damarların otonomik inervasyonu gelişmemiş olduğu için dolaşımı kontrol eden barorefleks de henüz mevcut değildir. Ayrıca miyokardiyal kontraktile de gelişmemiş olduğundan hemoraji, hipertermi ve asit/baz dengesizliklerini kompanze etme yeteneği de sınırlıdır. Yenidoğanın kalp ritmi ise düzenli sinüs ritmi şeklindedir ve solunumla bağlantılı değildir, çünkü vagal refleks 2. hafta gelişmeye başlar (10,20). Böylece, nabızı 200-250 atım/dk olan yenidoğanın, 2 hafta sonra nabızı 100-140 atım/dk'ya iner (10).

Yenidoğanda en sık karşılaşılan kardiyovasküler problem olan bradikardinin başlıca nedenleri; hipoksi ve hipotermidir. Bradikardi veya kardiyak arrest tedavisinde ilk adım, oksijen ve ventilasyonun sağlanmasıdır. Bu şekilde

düzelmezse, baş ve işaret parmağıyla lateral göğüs kompresyonu yapılmalıdır (11). Geniş göğüs kafesine sahip Buldog gibi ırklarda ise sternal kompresyon daha etkili olmaktadır (22). Aynı zamanda hipotermi söz konusu ise yenidoğan mutlaka ısıtılmalıdır; aksi takdirde normal dolaşım fonksiyonu sağlanamaz. Oksijen verilmesini takiben düzellemezse epinefrin, 0.1-0.3 mg/kg dozda, intravenöz veya intraosseöz yolla verilebilir. Yenidoğandaki bradikardinin, doğum sırasında anneye verilen ilaçlar sebebiyle olduğu düşünülüyorsa, kullanılan ilaçların antagonistleri yavruya verilebilir (11). Otonomik gelişimdeki eksiklikler sebebiyle yenidoğana atropin benzeri parasempatolitik ilaçların verilmesi doğru değildir; zira hipoksi varken uygulanan bu tip ilaçlar oksijen ihtiyacını artıracığı için kardiyak hipoksiyi de artıracaktır (10).

Termoregülasyonun sağlanması

Yenidoğanda, azalan ortam ısısına yanıt olarak vazokonstriksiyon kabiliyeti az olduğu için termoregülasyon da zayıftır. Ayrıca, vücut kütlelerine oranla vücut yüzeyi fazla, yağ oranı az, ekstremitelerde dolaşım az, su tüketimi fazla ve terleme zayıf olduğu için yenidoğan kedi ve köpekler beden ısılarını sabit tutamazlar. Bu nedenle beden ısılarında iniş çıkışlar oluşabilir. Doğum sonrası ilk 30 dk. içinde yenidoğanın beden ısısı, annenin beden ısısının altına düşer (Tablo 3). Doğum sonrası annesi tarafından temizlendikten sonra yavru, içgüdüsel olarak meme bezlerine yönelir ve bu bölge annenin beden ısısına çok yakın olduğu için ısınabilir. Ancak çevre ısısı kontrol altında tutulmayan yavrularda hızla hipotermi meydana gelebilir (20).

Sezaryen operasyonu sonrasında yavrular, anneleriyle birlikte uygun ısı ve nem oranına sahip bir ortama yerleştirilene kadar sıcak tutulmalıdırlar. Bu amaçla, sıcak su şişeleri, sıcak su battaniyeleri ve ısıtıcı pedler

kullanılabilir. Yavruların küçük bir sepet içinde olması da birbirlerine yaklaşarak ısınmalarını sağlayacaktır. Ancak hipotermiyi önlemeye çalışırken hipertermi oluşmamasına da dikkat edilmelidir (11). Ayrıca, sezaryen sonrası yenidoğanın hipotermik olmaması için alınacak en iyi önlem, operasyon sırasında annenin sıcak tutulmasıdır; ki bu durum anestezi sırasında beden ısısı kolaylıkla düşen kediler ve küçük ırk köpekler için daha da önemlidir (22). Öksüz kedi ve köpek yavruları için önerilen ortam ısısı 32-34°C olmasına rağmen, bu sıcaklıktaki çevre ısısı anneleri tarafından bakılan yavrulara yüksek gelebilir. Yavruların anneye beraber, ılık ve kuru bir kutu veya sepet içerisinde olması durumunda, anne yavrularına gereken ısıyı sağlayacaktır. Ortam çok sıcak ise anne yavruları bırakıp serin bir yer arayabilir veya dilini çıkararak beden ısısını ayarlamaya çalışır. Yenidoğanda hipertermi oluştuğunda ise, vazodilatasyon sebebiyle deri ve mukozalar parlak kırmızı bir renk alır. Kedi yavruları neredeyse hiç terlemediği ve köpek yavruları da henüz dilleriyle ısılarını ayarlayamadığı için hipertermi nedeniyle ölebilirler (11).

Hipotermik yenidoğanlar letarjik ve zayıf oldukları için yeterince ememezler; buna bağlı olarak dehidrasyon ve hipoglisemi oluşur. Hipotermi, bağırsak motilitesinin azalmasına hatta durmasına ve iştahın azalmasına yol açacağı için son derece tehlikelidir. Ayrıca hipotermik yavrularda nabız da 40-59 atım/dk'ya düşer (13). Kedilerde yenidoğanın beden ısısı 34.4°C'nin altında ise hipotermik, 37.5°C'nin üstünde ise hipertermik kabul edilir (27). Diğer bir önemli faktör ise ortamdaki nem oranı olup, derinin kurummasını ve dehidrasyonu önlemek için %55-60 arasında olması gerektirir (20). Prematüre veya düşük doğum ağırlıklı yavrularda ise bu oran %85-90 arasında olmalıdır (13).

Hipotermik yenidoğanın çok yavaş ısıtılması gerekir; aksi takdirde hipertermi oluşabilir.

Hipoksiye yönelik önlemlerle beraber yavrunun dikkatli bir şekilde ısıtılması, beraberinde dehidrasyon ve hipogliseminin düzeltilmesi önerilmektedir. Beden ısısı fizyolojik değerlere yükseldiğinde anneye geri verilen yavrunun, durumun tekrar etmemesi için takip edilmesi önemlidir (11). Hipotermik yavrular için yukarıda bahsedilen ısıtıcı kaynaklar kullanılabilir; ancak sıcak su şişesi kullanılıyorsa, su soğuduğunda hipotermiyi arttıracak için içindeki suyun sürekli kontrol edilerek sıcak tutulması gerekir. Ayrıca sıcak su şişesinin veya ısıtıcı pedlerin havluyla kaplanması, yavruların ince bir deriye sahip olan karın bölgesi ve taban yastıklarının yanmasını engellemesi açısından çok önemlidir. Hipotermik yavrular veya operasyon sonrası annelerini bekleyen yavrular kuvöz içinde de ısıtılabilirler (13). Kuvöz ısısının 32.2°C ve nem oranının da %50-60 olması gerekmektedir (22).

Dehidrasyon ve sıvı tedavisi

Sağlıklı kedi ve köpek yavruları hareketli olurlar ve kas tonusları da iyidir. Dehidre olduklarında ise yetişkinlerde olduğu gibi derinin elastikiyetini kontrol ederek tanı koymak zordur; çünkü yenidoğanın vücut yağ oranı azdır. Müköz membranlar tıpkı yetişkinlerde olduğu gibi pembe ve nemli olmalıdır. Kuru dişetleri dehidrasyon göstergesidir. Yeterince ememedikleri takdirde yenidoğanda dehidrasyon oluşma riski çok yüksektir; bunun sebebi de yetişkinlere kıyasla su kaybının daha fazla olmasıdır. Yenidoğan köpeklerde böbreğin su tutma, bir başka deyişle idrar konsantrasyonunu yeteneği çok azdır ve 40. günde gelişmeye başlar. Suyun yanısıra, diğer maddeler ve proteinlerin tubular geri emilimi de yetişkinlere göre daha azdır. Bu nedenle yavrularda 21 günlük olana kadar proteinüri ve glikozüri belirlenmesi normaldir. Sıvı tedavisi uygulanırken böbreklerin henüz gelişmemiş olduğu dikkate alınmalıdır;

çünkü ozmotik diürezise dayanamayabilir veya potasyum ve sodyum fazlasını tolere edemeyebilirler. Bu nedenle, yenidoğanda su ve elektrolit dengesizliklerinin oluşması muhtemeldir. Yenidoğana sıvı, intravenöz, subkutan veya oral yolla verilebilir. Sistemik dolaşımı uyarması açısından iv yolla verilmesi tercih edilir, bu amaçla en çok jugular vena kullanılır. Hipovolemi veya şok durumunda ringer solüsyonu, laktatlı ringer veya dekstroz içeren serumlar, 40-45 mL/kg/saat dozda, ılık olarak yakın gözlem altında verilebilir. Tedavi sırasında solunum hızı, nabız, kapillar dolum zamanı ve idrar çıkışı takip edilmelidir. Sıvı fazlası olduğunda görülen semptomlar ise pulmoner ödem nedeniyle dispne, solunum sayısının artması, seröz burun akıntısı, huzursuzluk, subkutan ödem veya asitesdir. Yenidoğanlar bu belirtileri, hipervolemi çok şiddetli olana dek göstermediği için sıvı tedavisinin çok dikkatli yapılması gerekir. Yavru dehidre fakat normovolemik ise sıvı açığı, 6-8 saatte kapatılmalıdır. Açığın kapatılması ve tedavinin devamı için verilen sıvının toplamı 60-180 mL/kg/gün olmalıdır. Dehidrasyon derecesi fazla değilse serum subkutan yolla verilebilir (11,13).

Hipoglisemi

Yenidoğan kedi ve köpeklerde serum glikoz konsantrasyonu yetişkinlere göre daha düşük olmasına rağmen bu durumu tolere edebilmektedirler (55-290 mg/dL). Ancak serum glikoz konsantrasyonu 30 mg/dL'nin altına düştüğü zaman; tremor, ağlama, huzursuzluk, hareketsizlik, koma ve nöbet gibi semptomlar görülebilir. Açlık ve hipoksi dışında hipoglisemiye yol açan diğer nedenler, çevre koşullarının kötü olması, sepsis, glikojen depolama hastalığı gibi kongenital metabolik hastalıklar, portosistemik şant, küçük ırklarda görülen hipoglisemi ve dwarfism (cücelik) olarak sıralanabilir. Doğumdan hemen sonra görülen hipoglisemi ise plasental yetersizlik

veya plasentanın olgunlaşmaması sonucu oluşmaktadır (4).

Tedavi amacıyla %5-10'luk dekstroz solüsyonu, ringer laktat veya serum fizyolojik içerisine karıştırılarak intravenöz yolla çok yavaş verilmelidir. Yüksek konsantrasyondaki intravenöz dekstroz solüsyonları damarı irkilterek flebitise yol açabileceği için verilmemelidir. Bu solüsyonlar doğrudan ağızdaki müköz membranlara damlatılarak verilebilir. Yenidoğanın glikoz metabolizmasını tam ayarlayamaması nedeniyle, dekstroz solüsyonları hiperglisemiye yol açmadan kan konsantrasyonu kontrol edilmelidir (4).

Özellikle güç doğum veya uzun süren doğum sürecinden sonra yenidoğanın solunumu iyi ancak kendisi hareketsizse; %10'luk dekstroz solüsyonu 2-4 mL/kg dozda intravenöz olarak verilebilir. Ancak yenidoğanda glomerular filtrasyon henüz zayıf olduğundan dolayı, böbrekler idrarı konsantre etme veya sulandırma yeteneğine henüz kavuşmamıştır ve kolaylıkla hipervolemi meydana gelebilir. Dehidrasyon yoksa %50'lik dekstroz solüsyonları orogastrik tüple veya emme refleksi varsa doğrudan oral yolla verilebilir (22).

Sonuç

Yukarıda ayrıntılarıyla anlatılan ve yenidoğan kedi ve köpeklerle uygulanacak olan resusitasyon işlemleri kısaca aşağıdaki gibi sıralanabilir (12):

- Yavru sıcak tutulmalı ve kuru bir havlu yardımıyla hızlı hareketlerle kurulmalıdır.
- Ağız ve burundaki sıvılar temiz bir bezle ve aspirasyonla temizlenmelidir.
- Sezaryen operasyonu için anneye anestezi olarak opioidler verilmişse yavrunun dil altına bir damla nalokson, benzodiazepinler kullanılmışsa flumazenil verilerek ilaçların yan etkisi ortadan kaldırılmalıdır.

- Yenidoğanın solunum sayısı en az 10 ise ve hareket edip ağlıyorsa ılık bir ortama konulup umbilikal kordon steril iplikle ligatüre edilip kesilir. Aksine, solunum sayısı 10'dan az ve hareketsiz ise 30-40 saniye oksijen verildikten sonra taktik uyarıma devam etmek için kuru havluyla ovmaya devam edilmelidir.

- Taktik uyarıma rağmen spontan solunum başlamazsa 25 geyçlik bir iğne nasal filtruma yerleştirilip döndürülerek *Jen Chung* akupunktur noktası uyarılmalıdır.

- Yenidoğanda nabız yoksa saniyede 1-2 kez olacak şekilde hafif bir şekilde göğüs kompresyonu yapılmalıdır.

- Oksijenizasyon ve göğüs kompresyonuna rağmen hala solunum ve nabız başlamazsa, intravenöz yolla %10'luk dekstroz solüsyonu (2-4 mL/kg çok yavaş olarak) veya 1IU/mL konsantrasyondaki sodyum bikarbonat solüsyonundan 1mL/kg dozda verilmelidir.

- Tüm resusitasyon işlemlerine rağmen 30 dakika içinde cevap alınamazsa yenidoğan ölü kabul edilir.

Kaynaklar

1. Anadol E. Köpek ve kedilerde güçdoğum. <http://www.jivs.net/jivs/dosya/1002.pdf>; Erişim tarihi: 20.11.2015.
2. Anadol E, Gültiken N. Kedi ve Köpeklerde Güç Doğum Olgusuna *Şirurjikal* Yaklaşım ve Anestezi Seçenekleri. *Dicle Üniv Vet Fak Derg* 2014; 1(4): 23-48.
3. Batista M, Moreno C, Vilar J, Golding M, Brito C, Santana M, Alamo D. Neonatal viability evaluation by Apgar score in puppies delivered by cesarean section in two brachycephalic breeds (English and French bulldog). *Anim Reprod Sci* 2014; 146(3-4): 218-26.

4. Casal M. Management and critical care of the neonate. England G. Heimendahl A. eds. In: BSAVA Manuel of Canine and Feline Reproduction and Neonatology. Cambridge: BSAVA Publishing, 2010; pp. 135-46.
5. Castagnetti C, Pirrone A, Mariella J, Mari G. Venous blood lactate evaluation in equine neonatal intensive care. *Theriogenology* 2010; 73(3): 343-57.
6. Davidson AP. Neonatal Resuscitation. *Vet Clin Small Anim* 2014; 44(2): 191-204.
7. Doebeli A, Michel E, Bettschart R, Hartnack S, Reichler IM. Apgar score after induction of anesthesia for canine cesarean section with alfaxalone versus propofol. *Theriogenology* 2013; 80(8): 850-54.
8. Gropetti D, Pecilea A, Del Carroa AP, Copley K, Mineroc M, Cremonesia F. Evaluation of newborn canine viability by means of umbilical vein lactate measurement, Apgar score and uterine tocodynamometry. *Theriogenology* 2010; 74(7): 1187-96.
9. Gropetti D, Martino PA, Ravasio G, Bronzo V, Pecile A. Prognostic potential of amniotic fluid analysis at birth on canine neonatal outcomes. *Vet J* 2015 doi: 10.1016/j.tvjl.2015.08.026.
10. Grundy SA. Clinically relevant physiology of the neonate. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2006; 36(3): 443-59.
11. Johnson CA, Casal ML. Neonatal Resuscitation: Canine and Feline. Lopate C. eds. In: Management of Pregnant and Neonatal Dogs, Cats, and Exotic Pets. Iowa: Wiley-Blackwell Publishing, 2012; pp. 77-92.
12. Kustritz MVR. Clinical Canine and Feline Reproduction Evidence-Based Answers. First Edition. Iowa: Wiley-Blackwell Publishing, 2010; p.125.
13. Lopate C, Seksel K. Canine Neonatal Physiology, Behaviour and Socialization. Lopate C. eds. In: Management of Pregnant and Neonatal Dogs, Cats, and Exotic Pets. Iowa: Wiley-Blackwell Publishing, 2012; pp. 93-127.
14. Lúcio CF, Silva LC, Rodrigues JA, Veiga GA, Vannucchi CI. Acid-base changes in canine neonates following normal birth or dystocia. *Reprod Domest Anim* 2009; 44(2): 208-10.
15. Moon PF, Erb HN, Ludders JW, Gleed RD, Pascoe PJ. Perioperative risk factors for puppies delivered by cesarean section in the United States and Canada. *J Am Anim Hosp Assoc* 2000; 36(4): 259-368.
16. Moon PF, Massat BJ, Pascoe PJ. Neonatal critical care. *Vet Clin North Am* 2001; 31(2): 343-66.
17. Münnich A. The pathological newborn in small animals: the neonate is not a small adult. *Vet Res Commun* 2008; 32(1): 81-5.
18. Okere C, Hacker RR, Werchola G. Relationships between serum Igf-I concentrations and piglet development or neonatal viability following porcine somatotropin (pST) and insulin administration to gestating gilts. *Theriogenology* 1997; 47(7): 1403-12.
19. Raffe MR, Carpenter RE. Anesthetic Management of Cesarean Section Patients. Tranquilli WJ. Thurman JC. Grimm KA. eds. In: Lumb&Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia. UK: Blackwell Publishing, 2007; pp.955-70.
20. Rickard V. Birth and the first 24 hours.

- Peterson ME, Kutzler MA. eds. In: Small Animal Pediatrics. Missouri: Elsevier Saunders, 2011; pp.11-9.
21. Ruiz CC, Del Carro AP, Rosset E, Guyot E, Maroiller L, Buff S, Portier K. Alfaxalone for total intravenous anaesthesia in bitches undergoing elective caesarean section and its effects on puppies: a randomized clinical trial. *Vet Anaest Analg* 2015 doi:10.1111/vaa.12298.
22. Traas AM. Resuscitation of canine and feline neonates. *Theriogenology* 2008; 70(3): 343-348.
23. Vannucchi CI, Silva LC, Lúcio CF, Regazzi FM, Veiga GA, Angrimani DS. Prenatal and neonatal adaptations with a focus on the respiratory system. *Reprod Domest Anim* 2012; 47(6): 177-81.
24. Vassalo FG, Simões CRB, Sudano MJ, Prestes NC, Lopes MD, Chiacchio SB, Lourenço MLG. Topics in the Routine Assessment of Newborn Puppy Viability. *Topicsin Compan An Med* 2015; 30: 16–21.
25. Veronesi MC, Panzani S, Faustini M, Rota A. An Apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. *Theriogenology* 2009; 72(3): 401–7.
26. White CRH, Doherty DA, Newnham JP, Pennell CE. The impact of introducing universal umbilical cord blood gas analysis and lactate measurement at delivery. *ANZJOG* 2014; 54(1): 71–8.
27. Zambelli D. Feline Neonatal Physiology, Behaviour, and Socialization. Lopate C. ed. In: Management of Pregnant and Neonatal Dogs, Cats, and Exotic Pets. Iowa: Wiley-Blackwell Publishing, 2012; pp.145-58.
28. Zhang WC, Nakao T, Moriyoshi M, Nakada K, Ohtaki T, Ribadu AY, Tanaka Y. The relationship between plasma oestrone sulphate concentrations in pregnant dairy cattle and calf birth weight, calf viability, placental weight and placental expulsion. *Anim Reprod Sci* 1999; 54(3): 169–78.

Yazışma Adresi

Öğr. Gör. Dr. Elvan ANADOL

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası, Deneysel Araştırmalar Merkezi, Zemin Kat

Beşevler Ankara, Türkiye

Tel: 0312 2024701

Faks: 0312 2026987

E-posta: elvanadol@yahoo.com



İki Kedide Meningiom Olgusu

Ayhan ATASEVER¹, Görkem EKEBAŞ¹, Duygu YAMAN¹

¹Erciyes Üniversitesi, Veteriner Patoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

Özet: Bu çalışmanın materyalini Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na nekropsi isteği ile ölü getirilen biri 8 diğeri 12 yaşlı melez iki kedi oluşturdu. Oniki yaşlı kedi de çoğunluğu sol frontal lob üstünde olan ve her iki serebral hemisferi de örten 1.5x2x0.7 cm boyutlarında gri renkli yassı lobulasyon gösteren kitle ve 8 yaşlı kedi de ise beyin bazalinde ponsun önünde hipotalamusun arkasında epifiz bezine komşu gri-beyaz renkli 1x2x1.5 cm boyutlarında elips şeklinde solit kitle tespit edilmiştir. Histolojik olarak yapılan incelemede 12 yaşlı kedideki kitleye psammomatöz ve 8 yaşlı kedideki kitleye ise fibroblastik meningiom tanısı konmuştur. Ülkemizde kedilerde meningiom ile ilgili yayınların sınırlı olması nedeniyle bu vaka yayın haline getirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Histoloji, kedi, meningiom

A Meningiom Case of Two Cats

Summary: The materials of our study are two cats which were 8 and 12 years old and were brought to the Erciyes University, Veterinary Faculty and Department of Pathology for necropsy. The 12-years-old cat had a flat grey lobulation, which was 1.5x2x0.7 cm, on the left frontal lobe covering both cerebral hemispheres and both of cerebral hemisphere also covers gray flat lobulation and the 8-years-old cat had basal gray-white 1x2x1.5 cm elliptical in solitary mass in the brain adjacent to the pineal gland behind the hypothalamus in front of pons. At histological investigation, the mass was diagnosed as psammomatous for the 12-year-old cat and the mass is diagnosed as fibroblastic meningioma for the 8-year-old cat. The case of feline meningioma was reported because the case of feline meningioma was limited in our country.

Key kords: Cat, histology, meningioma

Giriş

Meningoendotelial hücrelerden veya meninks ile ilişkili yapılardan köken alan meningiom, kedi ve köpeklerin sık rastlanan primer intrakranial ve intraspinal tümörlerindedir

(7,18). Kedilerde en sık gözlenen santral sinir sistemi neoplazmalarından olan bu tümör (13,19), sıklıkla üçüncü ventrikülün tela koroideasında görülmekte aynı zamanda serebral hemisferde, falks serebri boyunca, serebellum ve tentoryum üzerinde ve nadiren beyin bazal kısmında da rastlanabilmektedir

(22). Meningiom olgularında genellikle metastaz olmamakla birlikte, bazı olgularda nadiren akciğer ve subkutan dokuya (8, 9), böbrek ve uterusu metastaz bildirilmiştir (16). Meningiom, kedi ve köpekler dışında, at (15), sığır (4), koyun ve farelerde (17) de bildirilmiştir. Evcil hayvanlarda tek ve yassı şekilde olan bu tümör, özellikle kedilerde ve nadiren sığırlarda çoğunlukla geniş bir sapla dokuya bağlı ve multiple olarak görülmektedir (6).

Histolojik özelliklerine göre meningotelial, fibröz (fibroblastik), transisyonel, psammomatöz, angiomatöz, papillar, granular, myxoid ve anaplastik olmak üzere dokuz alt tipte sınıflandırılmakla birlikte meningotelial, transisyonel ve psammomatöz tipler en sık karşılaşılan meningiom türleridir (3,8,9). Meningiomlar kedilerde genellikle meningotelial veya psammomatöz, köpeklerde ise transisyonel ve meningotelial tiplerde gözlenirler (14,19). Otuz köpek üzerinde yapılan bir araştırmada en fazla transisyonel (dokuz adet) ve meningotelial (beş adet) tiplerin bulunduğu bildirilmiştir (12). Bunun yanında bazı meningiom olgularında kedilerde kolesterin kristallerinin gözlendiği bildirilmiştir (21). Psammomatöz meningiomlar uzun şekilli hücrelerin oluşturduğu tabakalı lobüllerden oluşmakta ve hücrelerin dizilişi parmak izi benzeri görülmektedir. Bu parmak izi benzeri yapıların ortasında lamellar hiyalin formasyonları bulunmaktadır. Bu hiyalin odaklarının ortalarında çok sayıda psammom cisimcikleri adı verilen kireç birikimlerinin bulunduğu gözlenmektedir (2,11,12). Fibroblastik tip meningiomlar dalgalı uzun fibrosit-fibroblast benzeri hücre yığınlarından oluşur. Bazen sınırlı mitotik aktivite görülür (10,13,19).

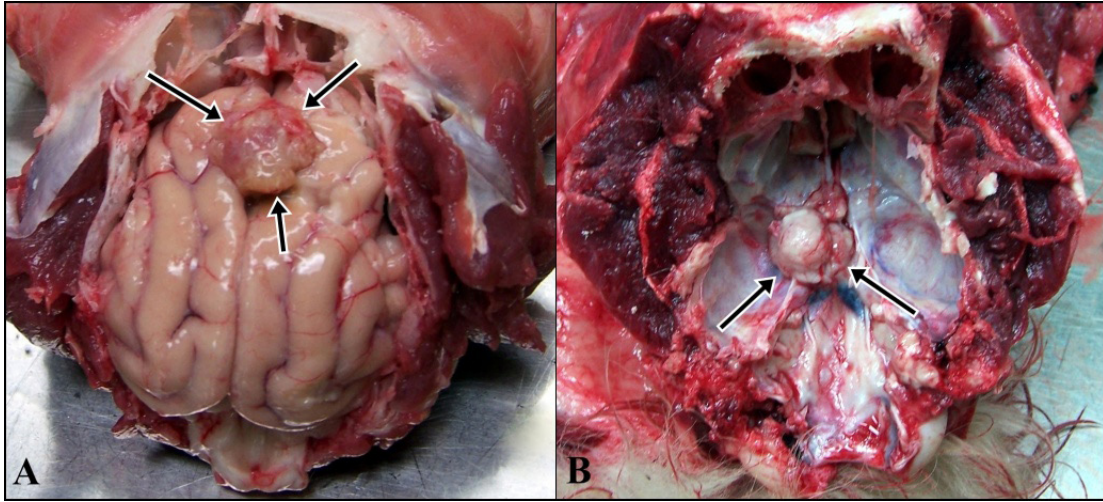
Bu olgu sunumunda, iki kedi de tesadüfi olarak nekropsisi esnasında beyinde rastlanan tümöral kitlelerin makroskobik ve mikroskobik

bulgularıyla tanımlanması amaçlanmıştır. Bu olgu ülkemizde bildirilen kedi meningiom vakalarının sınırlı olması nedeniyle yayın haline getirilmiştir.

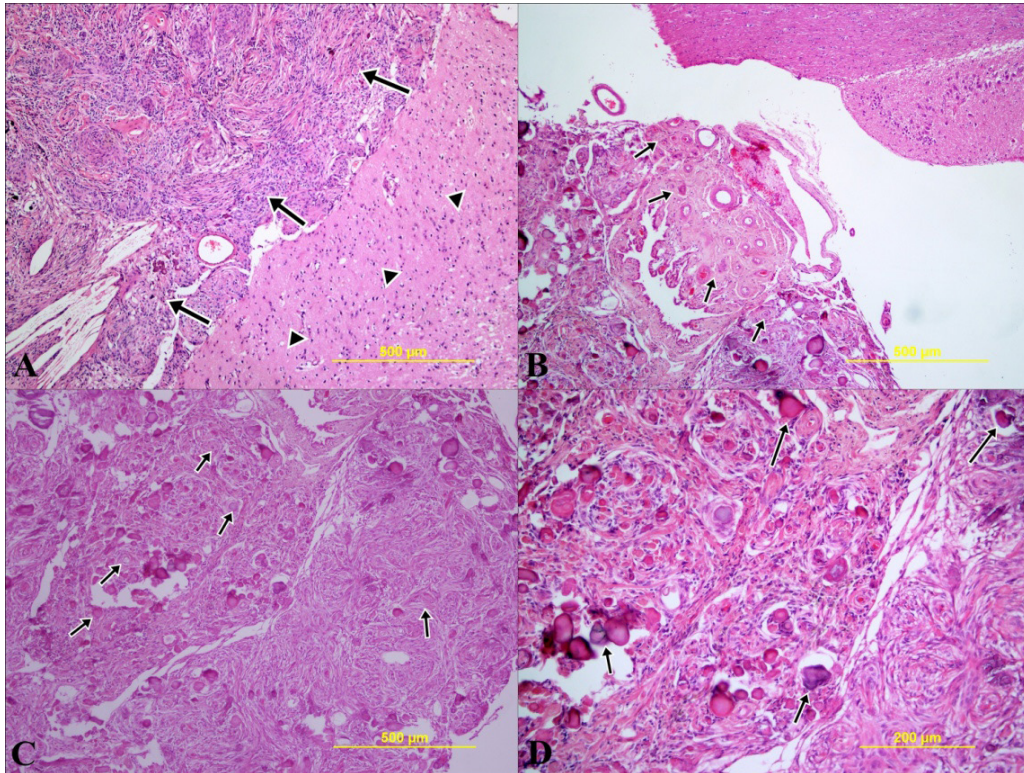
Olgular

Bu çalışmanın materyalini Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na nekropsisi isteği ile ölü getirilen her ikisi de erkek biri 8 diğeri 12 yaşlı melez iki kedi oluşturmaktadır. Yapılan sistemik nekropsisi sonucunda kafa açıldığında 12 yaşlı kedide çoğunluğu sol frontal lob üstünde olan ve her iki serebral hemisferi de kapsayan 1.5x2x0.7cm boyutlarında gri renkli yassı lobulasyon gösteren (Şekil 1A) ve 8 yaşlı kedi de ise beyin bazalinde ponsun önünde hipotalamusun arkasında epifiz bezine komşu gri-beyaz renkli 1x2x1.5cm boyutlarında elips şeklinde solit kitle (Şekil 1B) tespit edilmiştir. Nekropsisi sonrası alınan dokular, %10'luk tamponlu formalinde tespit edildikten sonra, trimlenen kitlelere rutin prosedür izlendi ve parafine gömüldü. Doku kesitleri 5-7 mikron kalınlığında kesildi ve hematoksilin-eozin ile boyanarak ışık mikroskobunda değerlendirildi.

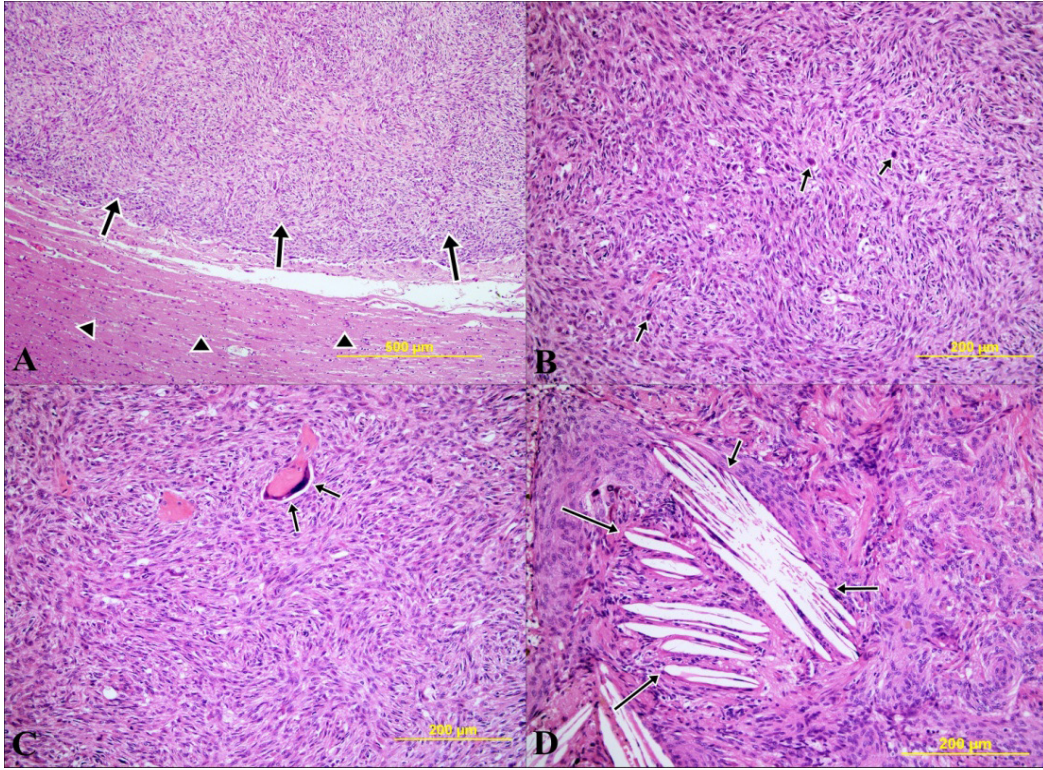
On iki yaşlı kediden alınan kitlenin histolojik bakışında uzun şekilli parmak izi benzeri dizilen hücrelerden oluşan lobüler yapılar dikkati çekti (Şekil 2A). Bu yapıların ortalarında pembe homojen hyalinizasyon (Şekil 2BC) ve yer yer bu alanlarının kireçlendiği ve psammom cisimcikleri oluşturduğu görüldü (Şekil 2D). Sekiz yaşlı kediden alınan kitlenin histolojik bakışında fibrosit ve fibroblast benzeri ince uzun iğ veya mekik şekilli oval çekirdekli tümör hücre yığınları (Şekil 3 AB) ve aralarında kollagen yapıların varlığı dikkati çekti. Bazı kesitlerde büyük koyu renkli dev hücre oluşumları görüldü (Şekil 3C) Ayrıca kesitlerde tümör hücreleri arasında kolesterin yarıklanmaları (Şekil 3D) belirgin olup dikkat çekici özellikteydi.



Şekil 1. 12 yaşlı kedinin beyin dokusu A-Çoğunluğu sol frontal lob üzerinde ve her iki hemisferi örten 1.5x2x0.7 cm boyutlarındaki yassı gri renkli kitlenin görünümü (oklar) B- Beyin bazalinde ponsun üzerinde hipotalamusun arkasında epifiz bezine komşu 1x2x1.5 cm boyutlarındaki elips şeklinde gri beyaz renkli kitlenin görünümü (oklar).



Şekil 2. 12 yaşlı kedinin A- Beyin dokusu (ok başları) ve tümöral kitlenin (oklar) görünümü HxE, 500 µm BC-Tümöral kitlerde parmak izi benzeri tümör hücrelerinin hyalinizasyonu (oklar) HxE, 500 µm D- Hyalinize olmuş tümör hücrelerinin üzerindeki minerilizasyon (psammom cisimcikleri) (oklar) HxE, 200 µm.



Şekil 3. 8 yaşlı kedinin A-Beyin dokusu (ok başı) ve tümöral kitlenin (oklar) görünümü HxE, 500 µm B- Fibroblastik tümör hücrelerinin görünümü HxE, 200 µm C. Fibroblastik tümör hücreleri arasındaki dev hücrenin görünümü (oklar) HxE, 200 µm D- Tümör hücreleri arasındaki kolesterol kristallerinin görünümü (oklar) HxE, 200 µm.

Tartışma ve Sonuç

Kedilerde en sık gözlenen meningiomlar (13,19), sıklıkla üçüncü ventrikülün tela koroideasında görülmekte aynı zamanda serebral hemisferde, falks serebri boyunca, serebellum ve tentoryum üzerinde ve nadiren beyin bazal kısmında da rastlanabilmektedir (22). Olgularımızdaki meningiomlu kedilerde kitle 12 yaşlı kediye serebral hemisfer, 8 yaşlı olanda ise beyin bazal kısmında yerleşmiş olup bu konudaki literatür verileriyle (20,22) uyumluydu.

Santral sinir sistemindeki lokalizasyonlarına göre meningiomlarda klinik belirtiler değişkenlik göstermekte olup (3), dönme ve başı bir yere dayama şeklindedir. Olgularımızın 12 yaşlı olanında ölümden önce benzer

belirtiler olduğu alınan anamnez bilgilerden anlaşılmış olup araştırmacıların belirttiği klinik bulgular (3,7,20) ile uyumlu iken 8 yaşlı olan ölü getirildiği için yorum yapmak mümkün olmamıştır.

Tipik klinik bulgu gösterenlerde beyin radyolojik incelemelerinde kitle tespit edilebilmektedir (21). İlerleyen olgularda ise giderek kötüleşen ataksi, denge ve şuur kaybının gözlenebileceği bildirilmiştir (7). Olgularımızın bir tanesinde anamnez de sinir sistemi rahatsızlığından şüphelenilse de her iki kedinin de ölü olması nedeniyle radyolojik değerlendirme yapılması mümkün olmamıştır. Ancak klinik olarak sinirsel belirtilerin görülmediği durumlarda sistemik nekropsisi sırasında tesadüfen rastlanabildiği de bildirilmektedir (5). Olgularımızın her ikisinde

de tümör kitlelerine nekropsi de tesadüfen rastlanması bu konudaki araştırmacıların bildirdikleri (5,6,20) ile uyumluluk göstermiştir.

Makroskobik olarak meningiom olguları köpeklerde soliter, kedi ve sığırlarda ise multiple olarak bulunmaktadır. Tümör, iyi sınırlanmış, küresel, loblu veya yassı plaklar şeklinde, sert, kapsüllü ve gri-beyaz olabilir. Bazen kesit yüzünde yumuşak, kırmızı, kahverengi veya gri nekroz ve hemoraji alanları görülebilir. Çünkü bu neoplazmalar yavaş gelişir ve komşu sinir dokularında basınç atrofisine sebep olabilir. Meningiolar invaziv olabilmekle birlikte bazen üzerini örten kemikte hipertrofiye neden olabilir (22). Olgularımızdan 12 yaşlı kedi de çoğunluğu sol frontal lob üstünde olan ve her iki serebral hemiferi de örten 1.5x2x0.7cm boyutlarında gri renkli yassı lobulasyon gösteren ve 8 yaşlı kedi de ise beynin bazalinde ponsun önünde hipotalamusun arkasında epifiz bezine komşu gri-beyaz renkli 1x2x1.5cm boyutlarında elips şeklinde solit kitle tespit edilmiş olup bu konuda çalışma yapan araştırmacıların makroskobik bulguları ile (20, 22) olgularımızdaki tümör kitlelerinin görünümü benzerdi.

Meningiom olgularında genellikle metastaz olmamakla birlikte, bazı olgularda nadiren akciğer ve subkutan dokuya (8,9), böbrek ve uterusu metastaz bildirilmiştir (16). Olgularımızın her ikisinde de sistemik nekropsi sonucu alınan doku örneklerinin incelenmesinde herhangi bir organ metastazının olmaması bazı istisnalar dikkate alınmadığında diğer araştırmacıların bildirdikleri (1,6) ile örtüşmekteydi.

Histolojik özelliklerine göre meningotelial, fibröz (fibroblastik), transisyonel, psammomatöz, angiomatöz, papillar, granular, myxoid ve anaplastik olmak üzere dokuz alt tipte sınıflandırılmakla birlikte meningotelial, transisyonel ve psammomatöz tipler en sık

karşılaşılan meningiom türleridir (3,8,9). Olgularımızdan 8 ve 12 yaşlı kediden hazırlanan kesitlerin histolojik değerlendirmesinde ilkine psammomatöz, ikincisine ise fibroblastik tip meningiom tanısı konulmuş olup özellikle bu konuda araştırma yapan araştırmacıların histolojik bulguları (8,9) ile benzerdi.

Bu raporda nekropsi esnasında tesadüfen rastlanılan tümör kitlelerine meningiom tanısı konmuş ve ülkemizde kedilerde sınırlı sayıda bildirilen meningiom olgusu bulunması nedeniyle yayın haline getirilmiştir.

Kaynaklar

1. Adamo PF, Forrest L, Dubielzig R. Canine and feline meningiomas: diagnosis, treatment, and prognosis. *Compend Contin Educ Pract Vet* 2004; 26: 951-65.
2. Erer H, Kıran MM. Veteriner Onkoloji. Dördüncü Baskı. Yeni Matbaacılar Sitesi, Konya: Damla Ofset AŞ 2009; p. 119.
3. Ertürk E, İmren HY, Urman HK. Kedide meningioma olayı. *Ankara Üniv. Vet Fak Derg* 1971; 18: 387-92.
4. Fankhauser R, Luginbühl H, McGrath JT. Tumours of the nervous system. *Bull World Health Organ* 1974; 50(1-2): 53.
5. Forterre F, Tomek A, Konar M, Vandeveldel, M, Howard, J, Jaggy, A. Multiple meningiomas: clinical, radiological, surgical and pathological findings with outcome in four cats. *J Feline Med Surg* 2007; 9, 36-43.
6. Gül Y, İlhan F. Bir sokak kedisinde intrakraniyal transisyonel meningiom olgusu. *YYU Vet Fak Derg* 2010; 21: 59-61.
7. Kaldrymidou E, Polzopoulou S, Koutinas AF, Papaioannou N, Papadopoulos G, Poutahidis T. Papillary meningioma in the cerebellum of a cat. *J Comp Path* 2000;

- 123: 222-5.
8. Koestner A, Bilzer T, Fatzer R, Schulman FY, Summers BA, Van Winkle TJ. Histological Classification of Tumors of the Nervous System of Domestic Animals. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C.: The World Health Organization, 1999; pp. 27-9.
 9. Koestner A, Higgins RJ. Tumors of the Nervous System. Meuten DJ. eds. In: Tumors in Domestic Animals, Ames: Iowa State Press, 2002; pp. 717-23.
 10. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, Kleihues P. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. Acta Neuropathol 2007; 114: 97-109.
 11. Maxie MG, Youssef S. Nervous system. Maxie MG, Jubb K. Eds. In: Jubb, Kennedy and Palmer's pathology of domestic animals, Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007; pp. 405-8.
 12. Montoliu P, Anor S, Vidal E, Pumarola M. Histological and imunohistochemical study of 30 cases of canine meningioma. J Comp Pathol 2006; 135: 200-7.
 13. Morrison WB. Cancer affecting the nervous system. In: Cancer in Dogs and Cats, Baltimore: Williams and Wilkins, 1998; pp. 655-65.
 14. Patnaik AK. Histologic and immunohistochemical studies of granular cell tumours in seven dogs, three cats, one horse and one bird. Vet Pathol 1993; 30 (2):176-85.
 15. Schaliner B. *Über ein endotheliom der dura mater beim Pferde*. Ticararztl Rdsch 1933; 39: 505-7.
 16. Schulman FY, Ribas JL., Carpenter JL, Sisson AF, LeCouteur RA. Intracranial meningioma with pulmonary metastasis in three dogs. Veterinary Pathology Online 1992; 29(3): 196-202.
 17. Slye M, Holmes HF, Welis HG. Intracranial Neoplasms in Lower Animals: Studies in the Incidence and Inheritability of Spontaneous Tumors in Mice: Twenty-ninth Report. Am J Cancer Res 1931; 15: 1387-400.
 18. Snyder JM, Shofer FS, Van Winkle TJ, Massicotte C. Canine intracranial primary neoplasia: 173 Cases (1986-2003). J Vet Intern Med 2006; 20: 669-75.
 19. Summer BA, Cummings JF, DeLahunta A. Tumours of the central nervous system. Summer BA, Cummings JF, DeLahunta A. eds. In: Veterinary Neuropathology. Mosby Elsevier: St. Louis, 1995; pp. 351-401.
 20. Troxel MT, Vite CH, Winkle TJ, Newton AL, Tiches D, Dayrell-Hart B, Steinberg SA. Feline intracranial neoplasia: retrospective review of 160 cases (1985-2001). J Vet Intern Med 2003; 17(6): 850-9.
 21. Wills TB, Chen AV, Haldorson GJ. What is your diagnosis? Intracranial mass in a cat. Vet Clin Pathol 2009; 38: 39-41.
 22. Zachary JF. Nervous system. McGavin MD, Zachary JF. eds. In: Pathologic Basis of Veterinary Disease, Fourth Edition. St. Louis: Mosby Elsevier 2007; pp, 949-50.

Yazışma Adresi

Araş. Gör. Görkem EKEBAŞ
Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Patoloji Anabilim Dalı
38039 Melikgazi/ Kayseri, Türkiye
E-posta: gorkemekebas@gmail.com



Poor Performance Associated with Equine Gastric Ulcer in an Arabian Racehorse

Gulsah KAYA-KARASU¹, Peter J. HUNTINGTON², Christine IBEN³, Ali Cesur ONMAZ^{4*}

¹Turkish Jockey Club Racecourse Equine Hospital, Istanbul-TURKEY

²Kentucky Equine Research, Mulgrave, VIC - AUSTRALIA

³Department of Farm Animals and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine, Vienna- AUSTRIA

⁴Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Erciyes, Kayseri- TURKEY

Summary: An eight year old, Arabian stallion was presented at the Jockey Club (TJK) racecourse hospital with poor performance reported on its last two races. The horse underwent a thorough clinical examination, which included lameness, endoscopy, gastroscopy, haematology and biochemistry. The only clinically significant was that the horse had grade 4 EGUS (Equine gastric ulcer syndrome) of the squamous mucosa (SM) and glandular mucosa (GM). The horse was consuming 3.08g/kgbw (body weight)/meal of starch and only 40% of the diet was forage when diagnosed with EGUS. The horse was treated medically and by a change of diet. Gastroscopy was repeated monthly until the ulcer lesions were healed. After four months, the horse returned to racing successfully. In conclusion, this case report describes a potential relationship between EGUS and decreased performance in the Arabian racehorse and indicates that EGUS may be an important cause of poor athletic performance in some racehorses. The case report highlights that dietary treatment is just as vital as medical treatment for EGUS. The use of smaller and more frequent meals, lower starch, corn oil, increased forage and extra alfalfa are major recommendations for feeding horses with EGUS.

Key words: Gastric ulcer, horse, poor performance, starch-rich diet

Bir Arap Yarış Atında Equine Gastrik Ülser ile İlişkili Zayıf Performans

Özet: Son iki yarışında zayıf performans gösteren 8 yaşlı bir arap aygırı Jokey Kulübü at hastanesine getirildi. Atın topallık ve endoskopik muayeneyi içeren klinik muayenesi yapıldı ve hematoloji, biyokimya ve gastroskopi için kan örnekleri toplandı. Atta tek önemli klinik bulgu olarak SM(skuamöz mukozaya) ve GM (glandüler mukozaya)'da 4. derece EGUS tespit edildi. EGUS tanılı at, 3.08 g/kgVA (vücut ağırlığı) nişasta tüketiyordu ve diyetinin sadece %40'ı kaba yem idi. At medikal olarak ve diyeti değiştirilerek tedavi edildi. Ülser iyileşinceye kadar gastroskopi aylık olarak tekrarlandı. Dört ay sonra, at yarışlara başarılı bir şekilde geri döndü. Sonuç olarak, bu olgu sunumu EGUS ve arap yarış atlarındaki performans azalması arasındaki bağlantıyı ayrıntılı olarak gösterdi ve EGUS'un bazı yarış atlarında zayıf atletik performansı için önemli nedeni de olabileceğini gösterdi. Olgu sunumu, EGUS için diyet tedavisinin medikal tedavi kadar önemli olduğunu vurgulamaktadır. Daha küçük ve daha sık öğünler, düşük nişasta, mısır yağı, artan yem ve ekstra yonca kullanımı EGUS'lu atların beslemesi için başlıca önerilerdir.

Anahtar kelimeler: At, gastrik ülser, nişastalı diyet, zayıf performans

Introduction

Equine gastric ulcer syndrome (EGUS) is a common condition affecting racehorses characterized by erosions and ulcers in the terminal esophagus, squamous and glandular

gastric mucosas and proximal duodenum. Clinical signs of gastric ulceration in adult horses are vague, but may include reduced appetite, ill thrift or weight loss, behavioral changes (depression, aggression or anxiety), and poor performance (10,12). Some horses show no obvious signs except poor athletic performance or aversion to training. However, there is little scientific evidence to confirm this. To date, only three studies have reported a significant association between the presence of gastric ulceration and decreased performance (4,5,15). In some cases this is severe enough to result in retirement from racing. The cause of gastric ulcers is still unknown. The high incidence of EGUS reported in performance horses is likely iatrogenic, related to feeding management, confinement in stables and exercise. A lower prevalence and severity of gastric ulcers occur in horses which are kept on pasture with continuous feed availability than in those which are stabled and fed with high-grain diets. Grain based meals, often interspersed with extended periods of fasting lead to excess gastric acid output without adequate buffering from saliva production. Additionally, production of volatile fatty acids (VFAs) as result of fermentation of grain in the stomach makes the squamous epithelium particularly susceptible to acid damage. This case report highlights to use of combined medical and nutritional management in the treatment of gastric ulceration as a proposed cause of poor performance in Arabian racehorse.

Case Report

An eight year old, Arabian stallion was presented at the TJK racecourse hospital in Istanbul with poor performance reported on its last two races. BW was 415 kg, and body condition score was five out of nine. The clinical history reported that the horse had a good appetite and shiny coat, with slightly higher incidence of yawning than normal. He

was also reluctant to stretch out at the gallop during training.

The horse underwent a through clinical examination, which included lameness assessment, resting and dynamic endoscopy of the upper airways (during and post-exercise), gastroscopy, haematology and biochemistry. Prior to gastroscopy the horse was fasted for 24 hours, and water was restricted for four hours. The horse was sedated with detomidine hydrochloride (0.01 mg/kg i.v., Detome Vet®, Ceva Pty Ltd, Australia), and gastroscopy was performed using a 3.2m gastroscope (Teknofocus LG200). The ulcers were graded on a scale zero to four, as defined by the EGUS Council (2):

Grade 0: The epithelium is intact and there is no appearance of hyperaemia or squamous hyperkeratosis.

Grade 1: The mucosa is intact, there are areas of reddening or squamous hyperkeratosis.

Grade 2: Small, single or multifocal lesions.

Grade 3: Large, single or multifocal lesions or extensive superficial lesions.

Grade 4: Extensive lesions with areas of apparent deep ulceration.

The analysis of blood was essentially normal, except for a decreased level of alkaline phosphatase (90 U/l; ref. range 138-251 U/l) and albumin (2.4 g/dl; ref. range 2.7-3.7 g/dl). The only finding of the clinical significance was that the horse had grade 4 EGUS with multiple extensive ulcers of the SM and GM with many appearing deep and coalescing. Ulceration of the cardiac sphincter of the oesophagus was also observed.

The horse was treated with omeprazole (4 mg/kg once a day per osGastrogard®, Merial Animal Health Ltd., Harlow, Essex, UK.) for

four weeks. The level of exercise undertaken was decreased during the treatment period. A revised dietary plan was introduced to reduce the energy intake, increase forage intake and reduce starch intake per meal (Table 1).

At follow up gastroscopy after a month, no SM ulceration was observed but large multiple lesions were observed within the GM (EGUS 3). Thus, both the medical treatment and dietary regimen was followed for a further four weeks. The third gastroscopy examination was repeated after another month, and showed significant healing of the ulcers in the GM, although the number of ulcers and score remained as a grade 1. The horse's attitude during training improved, it returned to racing successfully after four months and earned prize money. As the horse was performing well it was not investigated again.

Discussion and Conclusion

The effect of gastric ulceration on athletic performance is not well investigated. However, it is frequently suggested that gastric ulceration may be linked to poor performance and there is some evidence to support this (1, 4, 5, 15). The first case report of a link between EGUS and decreased performance in Thoroughbred racehorses was published by Franklin et al. (4). This is the first case report detailing the link between EGUS and decreased performance in the Arabian racehorse. Although the mechanisms are not clear, gastric ulceration appear to impair VO_2 max (12).

The horse is a grazing animal, having evolved over millions of years to digest highly fibrous diets. However to maximize performance, racehorses are often fed low fiber high grain diets. This case report confirms the results of Luthersson et al. (6), which showed a link between higher starch intake and infrequent forage feeding and risk of EGUS. A Danish study of over 200 horses (7) found

a significantly greater odds ratio for SM ulcer development in those animals fed high starch intakes of $>1\text{g/kg BW}$ per meal or $>2\text{g/kg BW}$ per day, straw being the only forage available or infrequent forage intake. Possibly reasons for this observation could be (a) more starch in the diet resulted in increased intra-gastric VFA production, or (b) increasing percentage of starch slows gastric emptying (9) prolonging exposure time of VFA and HCL to the SM. Ingestion of grains and concentrates increases gastrin production stimulating gastric acid production (14), whereas ingestion of hay causes little stimulation of gastrin production. Therefore, horses fasted for significant periods or fed high grain rations are likely to produce more gastric acid with less saliva than horses offered ad lib fibrous forage. Thus, this case confirms the risk factors of high starch intake and low forage intake for EGUS, by the fact that the horse was consuming 3.08 g/kg bw/meal of starch and only 40% of the diet was forage when diagnosed with grade 4 EGUS.

One way of reducing the starch intake, yet still supplying the energy needs of the horse, is to increase that fat content of the diet. The form of the fat fed may also have a direct influence on the incidence of EGUS. Corn oil contains high levels of the omega 6 fatty acid, linoleic acid, which is an arachadonic acid precursor and research in man and other species has shown similar increases in endogenous prostaglandin levels and reduced acid secretion in the stomach according to the results of Cargile et al. (3) in ponies. These changes indicate up-regulation of mucosal PGE1, an important component of the gastric mucosal protective mechanism (13) and suggest that oils high in omega 6 fatty acids might be useful in prevention and treatment of EGUS. In this case we added corn oil to the diet to supply extra energy from fat and as for the beneficial effects outlined above, but sunflower oil or seeds, and rice bran oil or

Table1. Feeding plan of the horse for 3 different stages

Feed ratio	Before treatment*	Treatment phase**	After treatment*
Forage intake	4 kg (2 kg hay, 2 kgalfalfa)	6 kg (3 kg hay, 3 kg alfalfa)	6 kg (3 kg hay, 3 kg alfalfa)
Concentrate intake	6 kg (1.5 kg racemix A, 1.5 kg mueslimix B and 3 kg barley)	3 kg (2.5 kg racing FEED C and 0.5 kg balancer D)	4 kg (3.5 kg racing FEED C and 0.5 kg balancer D)
Feed additives	50 g vitamin&minerals	100 ml cornoil	100 ml cornoil
Forage:Concentrate ratio	40:60	65:35	58:42
Digestible energy (MJ)	109	91.7	105
Crude protein	1120 g	1100 g	1200 g
Crude fat	450 g (1.1g/kg bw)	380 g (0.9 g/kg bw)	430 g (1g/kg bw)
Crude fiber	1390 g (2.5g/kg bw)	1770 g(4.3g/kg bw)	1850 g (4.5g/kg bw)
Starch intake	2560 g (6.2 g/kg bw)	850 g (2 g/kg bw)	1140 g (2.7g/kg bw)
Starch intake per meal	1280 g (3.08 g/kg bw)	212 g (0.5 g/kg bw)	285 g (0.6 g/kg bw)
Meal sperday	2 equalmeals	4 equal meals	4 equalmeals

*The horse was on intense exercise **The horse was on moderate exercise

Nutrient intakes calculation was based on published values for commercial feeds and book values for other basic feedstuffs. The sugar content of the ration was not calculated as the information could not be obtained from feed company concerned.

A contains extruded corn and barley, cracked, whole sunflower seed, vegetable oils (sunflower seed, soy, linseed, corn and canola), molasses, extruded, stabilized rice bran, extruded vegetable proteins (cotton seed meal, sun flower seed meal, linseed meal and full fat soy), calcium, DCP, salt, minerals and vitamins

B contains extruded corn and barley, cleaned and graded oats, cracked corn, linseed meal, heat processed cotton seed meal, cracked, whole sunflower seed, Vegetable Oils – (sunflower seed, soy, linseed, corn and canola, Molasses, extruded, stabilized rice bran, extruded vegetable proteins (cotton seed meal, sunflower seed meal, linseed meal and full fat soy), calcium, DCP, salt, minerals and vitamins

C contains oats (bruised), micronised wheat, soya (bean) meal, molasses, micronised maize, micronised soya beans, micronised peas, soya oil, distillers' grains, DCP (Dicalcium Phosphate), cooked linseed, soya (bean) hulls, vitamins and minerals, calcium carbonate, grass meal, calcined magnesite, sodium chloride

D contains soya bean meal, micronised soya beans, distillers' grains, DCP, micronised wheat, cooked linseed, vitamins and minerals, calcium carbonate, whey, molasses, grass meal, sodium chloride

stabilized rice bran could also be used. Alfalfa hay has been shown to reduce the incidence and severity of EGUS in several studies (8,11). The mechanism has not been determined but may relate to alfalfas high calcium and protein content which act as buffers of gastric acid. Without a change in the dietary plan, ulcers can be cured by omeprazole but recur when back in full training. In this instance, feeding management was used to help keep the ulcers at bay.

In conclusion, this case report indicates that EGUS may be an important cause of poor athletic performance in some racehorses and dietary treatment is a vital adjunct to medical treatment. The use of smaller and frequent meals, lower starch, corn oil (or other omega 6 fat sources), increased forage and extra alfalfa are major recommendations for feeding horses with EGUS. However, much is still unknown about the clinical signs and causes of EGUS in individual horses and continued research is needed to clarify the role of nutritional factors and dietary management.

References

1. Andrews FM. Ulcers in the Stomach and Colon; Diagnosis and Treatment: A Pain in the Gut! Am Assoc Equine Pract Focus Meeting, 2005-Québec, QC, Canada; available from www.ivis.org. Erişim tarihi: 23.02.2015.
2. Anonymus. The Equine Gastric Ulcer Council: Recommendations for the diagnosis and treatment of equine gastric ulcer syndrome (EGUS). *Equine Vet Educ* 1999; 11(5): 262-72.
3. Cargile JL, Burrow JA, Kim I, Cohen ND, Merritt AM. Effect of Dietary Corn Oil Supplementation on Equine Gastric Fluid Acid, Sodium, and Prostaglandin E2 Content before and during Pentagastrin Infusion. *J Vet Intern Med* 2004; 18(4): 545-9.
4. Franklin SH, Brazil TJ, Allen KJ. Case report-Poor performance associated with equine ulceration syndrome in four Thoroughbred racehorses. *Equine Vet Educ* 2008; 20(3):119-23.
5. Johnsson H, Egenvall A. Prevalence of

- gastric ulceration in Swedish Standardbreds in race training. *Equine Vet J* 2006; 38(3): 209-13.
6. Luthersson N, Nielsen K, Harris P, Parkin TDH. The Prevalence and Anatomical Distribution of Equine Gastric Ulcer Syndrome (EGUS) in 201 Horses in Denmark. *Equine Vet J* 2009a; 41(7): 619-24.
 7. Luthersson N, Nielsen K, Harris P, Parkin TDH. Risk factors associated with equine gastric ulceration syndrome (EGUS) in 201 horses in Denmark. *Equine Vet J* 2009b; 41(7): 625-30.
 8. Lybbert T, Gibbs P, Cohen N, Scott B, Sigler D. Feeding Alfalfa Hay to exercising horses reduces the severity of gastric squamous mucosal ulceration. *Proc Am Assoc Equine Pract* 2007; 53: 525-6.
 9. Metayer N, Lhote M, Bahr A, Cohen ND, Kim I, Roussel AJ, Julliand V. Meal size and starch content affect gastric emptying in horses. *Equine Vet J* 2004; 36(5): 436-40.
 10. Muray MJ, Grodinsky C, Anderson CW, Radue PF, Schmidt GR. Gastric ulcers in horses: A comparison of endoscopic findings in horses with and without clinical signs. *Equine Vet J* 1989; 7: 68-72.
 11. Nadeau JA, Andrew FM, Mathew AG, Argenzio RA, Blackford JT, Sohtell M, Saxton AM. Evaluation of diet as a cause of gastric ulcers in horses. *Am J Vet Res* 2000; 61(7): 784-90.
 12. Nieto JE, Snyder JR, Vatistas NJ, Jones JH. Effect of gastric ulceration on physiologic responses to exercise in horses. *Am J Vet Res* 2009; 70(6): 787-95.
 13. Pescar BM. Neural aspects of prostaglandin involvement in gastric mucosal defense. *J Physiol Pharmacol* 2001; 52(4):555-68.
 14. Smyth GB, Young DW, Hammond LS. Effects of diet and feeding on post-prandial serum gastrin and insulin concentrations in adult horses. *Equine Vet J* 1988; 7: 56-9.
 15. Vatistas NJ, Snyder JR, Carlson G, Johnson B, Arthu RM, Thurmond M, Zhou H, Lloyd KLK. Cross sectional study of gastric ulcers of the squamous mucosa in Thoroughbred racehorses. *Equine Vet J Suppl* 1999; 29: 34-9.

Corresponding Author

Associated Prof. Dr. Ali Cesur ONMAZ
Erciyes University, Veterinary Faculty,
Department of Internal Medicine
38039-Melikgazi-KAYSERI/TURKEY
E-posta: aconmaz@erciyes.edu.tr

Yazım Kuralları

1. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'nde veteriner bilimlerini ilgilendiren alanlarda orijinal araştırmalar, olgu sunumları, araştırma notları, kısa bildiri, derleme ve editöre mektup yayımlanır.
2. Bütün eserler yayın kurulunun ve danışma kurulunun onayından geçtikten sonra yayımlanır.
3. Dergide yayımlanacak yayımlar için resmi dil Türkçe'dir. İngilizce yazılmış eserlerde yayımlanabilir. **İngilizce hazırlanmış makalelerin yayımlanmasına öncelik verilir.**
4. Yayımlar A4 tipi formatta, çift aralık, Times New Roman ve 12 punto olarak yazılmalıdır. Her kenardan 2.5 cm boşluk bırakılarak, sayfaların sağ altına numara verilmelidir. Resimler, şekiller ve kaynaklar dâhil orijinal makaleler 14, derlemeler 14, olgu sunumları, araştırma notu ve kısa bildiriler 7 sayfayı geçmemelidir.
5. Daha önce kongrelerde tebliğ edilmiş ve özeti yayımlanmış çalışmalar, bu özelliği belirtilmek üzere kabul edilebilir. Araştırma herhangi bir kuruluş tarafından desteklenmiş ise makalenin başlığının son kelimesi üzerine yıldız (*) konularak aynı sayfada dipnot olarak belirtilir.
6. Etik kurul onayı gerektiren çalışmalarda Etik Kurul onayı alınan kurumun adı ve onay numarası Gereç ve Yöntem kısmında belirtilmelidir.
7. Makale; Kapak Sayfası - Türkçe Özet ve Türkçe Anahtar Kelimeler - İngilizce Özet ve İngilizce Anahtar Kelimeler - Giriş - Gereç ve Yöntem - Bulgular - Tartışma ve Sonuç - Teşekkür - Kaynaklar - Tablo ve Şekiller bölümlerini içerecek şekilde düzenlenmelidir. Tablo ve şekil başlıklarının yalnızca ilk harfleri büyük olmalı ve metin içindeki tüm başlıklar koyu yazılmalıdır. Metin içinde paragraf girintisi yapılmamalı, devamlı satır numarası verilmelidir. Sayfa numaraları sağ alt köşeye yazılmalıdır.
8. Kapak sayfasında sadece Türkçe makale başlığı (koyu ve ilk harfleri büyük), İngilizce başlık (ilk harfler büyük), kısa başlık (40 karakteri geçmemeli ve ilk kelimenin ilk harfi büyük, diğerleri küçük olarak yazılmalıdır), yazar adları (unvansız), çalıştıkları kuruma ait bilgiler (soyadı üstüne numara konulup dipnot olarak, unvansız) verilmelidir.
9. Türkçe ve İngilizce özetler başlık sayfasından sonraki sayfaya, her biri ayrı sayfada olmak üzere yazılmalıdır. Özet kısımları makale başlığı, çalışmanın amacı, gereç ve yöntem, bulgular ve çalışmada varılan sonuçları içerecek şekilde hazırlanmalıdır. Derlemelerde özetler derleme başlığı, derlemenin konusu, derlemenin amacı, kapsamı ve önerileri içermelidir.

Türkçe Özet: Özet metni, makale başlığı (kelime baş harfleri büyük, diğer harfler küçük olacak şekilde ve iki yana yaslı biçimde) yazıldıktan sonra başlığın altında en fazla 250 kelime olmalıdır. Paragraf yapılmamalıdır. Özet kısmında kısaltma kullanılacaksa, kısaltmalar ilk kez kullanıldığında açık olarak yazılmalı, daha sonra özet içinde hep aynı kısaltma kullanılmalıdır.

İngilizce Özet (Summary): İngilizce makale başlığı (kelime baş harfleri büyük, diğer harfler küçük olacak şekilde ve iki yana yaslı biçimde) yazıldıktan sonra başlığın altında en fazla 250 kelime olmalıdır. Paragraf yapılmamalıdır. Özet kısmında kısaltma kullanılacaksa, kısaltmalar ilk kez kullanıldığında açık olarak yazılmalı, daha sonra özet içinde hep aynı kısaltma kullanılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Türkçe ve İngilizce olarak özetlerin altına, alfabetik sıra ile ilk kelimenin baş harfi büyük, diğerleri küçük harfle (özel isimler baş harfi büyük) en fazla 5 kelime olarak yazılmalıdır. Anahtar kelimelerin Türkiye Bilim Terimleri'nden seçilmesine özen gösterilmelidir.
10. Giriş bölümünde çalışma ile doğrudan ilişkili kısa literatür bilgisi verilmeli, bu kısmın son paragrafına çalışmanın hipotezi ve amacı yazılmalıdır. Bu bölüm 2 sayfayı geçmemelidir.
11. Gereç ve Yöntem; öz ve anlaşılır bir şekilde yazılmalıdır. Bu kısım, grupların oluşturulması, gruplardaki denek sayısı, ilaç vb. maddelerin hazırlanması, dozu ve uygulama şekli, yapılan uygulamalar, incelenen parametreler ve seçilen istatistiksel yöntemleri içerecek şekilde hazırlanmalıdır. Kullanılacak alt başlıklar paragraf girintisi yapılmadan *italik*, ikinci alt başlıklar normal yazı tipinde olacak şekilde hazırlanmalıdır.
12. Bulgular; kısa, öz ve anlaşılır bir şekilde yazılmalıdır. Tablolarda gösterilen verilerin tekrar yazılmasından kaçınılmalıdır. Kullanılacak alt başlıklar paragraf girintisi yapılmadan *italik*, ikinci alt başlıklar normal yazı tipinde olacak şekilde hazırlanmalıdır.
13. Tartışma ve Sonuç bölümünde çalışma bulguları kendi aralarında ve ilgili literatür bilgileri ışığında tartışılmalı ve yorumlanmalıdır. Bu kısımda uzun genel bilgiler vermekten kaçınılmalıdır. Bu kısmın sonuna çalışmadan çıkarılan sonuçlar ve yargıları içeren kısa bir sonuç paragrafı eklenmelidir.
14. Kısaltmalar ilk kez kullanıldığında açık olarak yazılmalı daha sonra makale içinde hep aynı kısaltma kullanılmalıdır.
15. Yazı içinde belirtilen tüm kaynaklar "Kaynaklar" listesinde yer almalıdır. Kaynaklar yazılırken alfabetik sıraya konulmalı, noktalama işaretlerine örneklerde gösterildiği şekilde dikkat edilmeli ve yazı içinde her kaynağa ait numara ilgili olan cümlelerin sonunda parantez içinde mutlaka belirtilmelidir. Dergi kısaltmaları *Index Medicus* ile uyum içerisinde olmalıdır.
16. Yazı içinde geçen tür isimleri ve anatomik terimler gibi Latince ifadeler *italik* karakterle yazılmalıdır. Tüm ölçü birimleri SI (*Systeme Internationale*)'e göre verilmelidir.
17. Tablolar kaynaklar kısmından sonra, her bir tablo ayrı sayfada olacak şekilde verilmelidir. Tablo başlıkları Tablo 1., Tablo 2. şeklinde numaralandırılmalıdır. Tablolar iç ve yan kılavuz çizgiler kullanılarak hazırlanmalıdır. Tablo yazısı tablonun üstüne yazılmalı, tabloda geçen kısaltmalar tablo altında belirtilmelidir.
18. Her resim, grafik ve çizim; şekil olarak kabul edilip Şekil 1, Şekil 2 gibi yazılmalı, her biri ayrı sayfada olacak şekilde verilmelidir. Resim, grafik ve çizimler iyi kalite kuşe kâğıda yazılmış ya da basılmış olmalıdır. Resim, grafik ve çizimlerin arkasına bir ok işareti ile üst kısmı, sıra numarası ve makalenin adı mutlaka belirtilmelidir. Eğer bunlar bilgisayarda yapılmışsa CD'ye orijinal programında ayrıca kaydedilmelidir.
19. Resimler 300dpi çözünürlükte olmalıdır. Resimlerin fotokopisi kabul edilmemektedir. Renkli resim veya grafik basılabilmesi için renk ayırımı yapılmış filmlerin yazarlar tarafından temin edilmesi ve yazı ile birlikte gönderilmesi gerekmektedir. Kullanılan resimlerin dergide renkli basılmasının istenilmesi durumunda ücret talep edilecektir.
20. Derlemeler, orijinal olması, en son yenilikleri içermesi, yazarların konu ile doğrudan ilişkili en az 3 adet çalışmalarının olması ve bunların derleme içinde kullanılması durumunda yayınlanmak üzere kabul edilebilecektir. Derlemeler kapak sayfası, özet [Türkçe ve İngilizce (Summary)], anahtar kelimeler, giriş, konunun kendine ait alt başlıkları, sonuç, kaynaklar, tablo veya şekiller bölümlerini içerecek şekilde düzenlenmelidir. Derlemelerde kullanılacak alt başlıklar paragraf girintisi yapılmadan *italik*, ikinci alt başlıklar

normal yazı tipinde olacak şekilde hazırlanmalıdır.

21. Olgu Sunumları, Türkçe Özet - Anahtar Kelimeler - İngilizce Özet (Summary) - İngilizce Anahtar Kelimeler (Key Words) -Giriş - Olgu(lar) - Tartışma ve Sonuç - Kaynaklar - Tablo ve Şekiller bölümlerini içermelidir. Kullanılacak alt başlıklar paragraf girintisi yapılmadan *italik*, ikinci alt başlıklar normal yazı tipinde olacak şekilde hazırlanmalıdır.

22. Kaynaklar;

22.1.Kaynak süreli yayın ise; yazar(lar)ın soyad(lar)ı ve isim(ler)inin baş harf(ler)i, makale ismi, dergi ismi, yıl, cilt (olması durumunda), sayı ve sayfa numaraları belirtilmelidir.

Örnek: Kaldhone P, Nayak R, Lynne AM, Dvaid DE, McDermott PF, Logue CM, Foley SL. Characterisation of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from Turkey-associated sources. Appl Environ Microbiol 2008; 74(16): 5038-46.

22.2.Kaynak editörlü kitaptan bir bölüm ise; yazar(lar)ın soyad(lar)ı ve isim(ler)inin baş harf(ler)i, bölüm ismi, editör soyad(lar)ı ve isim(ler)in baş harfi, kitap ismi, kaçınıcı baskı olduğu, baskı yeri, yayınevi adı, basım yılı ve sayfa numara(lar)ı belirtilmelidir.

Örnek: Hornbeck P. Assay for antibody production. Colign JE. Kruisbeek AM. Marguiles DH. eds. In: Current Protocols in Immunology. New York: Greene Publishing Associates, 1991; pp. 105-32.

22.3.Kaynak kitap ise; yazar(lar)ın soyad(lar)ı ve isim(ler)inin baş harf(ler)i, kitap ismi, kaçınıcı baskı olduğu, baskı yeri, yayınevi adı, basım yılı ve sayfa numara(lar)ı verilmelidir.

Örnek: Fleiss JL. Statistical Methods for Rates and Proportions. Second Edition. New York: John Wiley and Sons,1981; p.103.

22.4.Kaynak editörlü kitap ise; yazar(lar)ın soyad(lar)ı ve isim(ler)inin baş harf(ler)i, eds kısaltması, kitap ismi, kaçınıcı baskı olduğu, baskı yeri, yayınevi adı, basım yılı ve sayfa numara(lar)ı verilmelidir.

Örnek: Balows A, Mousier WJ, Herramafl KL, eds. Manual of Clinical Microbiology. Fifth Edition. Washington DC: IRL Press, 1990; p. 37.

22.5.Kaynak kongre bildirisi ise; yazar(lar)ın soyad(lar)ı ve isim(ler)inin baş harf(ler)i, bildiri ismi, kongre adı, kongrenin yapıldığı ay ve tarih, yıl, şehir ve ülke bilgileri verilmelidir.

Örnek: Entrala E, Mascarp C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, 1994; İzmir-Türkiye.

22.6.Tezler;

22.7.Kaynak tez ise; yazarın soyadı ve isminin baş harfi, tezin ismi, tezin türü, enstitü ismi, şehir, tezin kabul yılı ve sayfa numara(lar)ı belirtilmelidir.

Örnek: Erdem V. Köpek göz hastalıklarında klinik oftalmoskopik ve ultrasonografik bulguların değerlendirilmesi, Doktora tezi, Ankara Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2003; p. 1-2

22.8.Kaynak internette bulunan bir web sitesi ise, yazar(lar)ın soyad(lar)ı ve isim(ler)inin baş harf(ler)i, (yazar adı yoksa web sitesinin veya kaynağının adı) yazılır. Daha sonra sırasıyla yılı, makalenin adı, varsa yayıncı, internet adresi ve erişim tarihi belirtilir. Kaynak olarak web siteleri kullanılacak ise sınırlı sayıda olmasına ve resmi web sitelerinin kullanılmasına özen gösterilmelidir.

Örnek: Mevzuatı Geliştirme ve Yayın Genel Müdürlüğü Mevzuat Bilgi Sistemi, 30.06.2013, Türk Gıda Kodeksi

Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, Türkiye Cumhuriyeti Başbakanlık, <http://www.mevzuat.gov.tr/Metin.Asp?MevzuatKod=7.5.18532&MevzuatIlski=0&sourceXmlSearch=katki>, Erişim tarihi: 23.02.2016

23. Eserler dergide yayımlandıktan sonra, bütün sorumluluk sahiplerine aittir.

24. Yazılar gönderilirken son kontrol listesi izlenecek ve yayın hakkının devri sözleşmesi tüm yazarlarca isim sırasına göre imzalanacaktır. Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmayan ve yayın hakkı devir sözleşmesi bulunmayan yayınlar işleme alınmayacaktır.

25. Yazılar, ercvet@gmail.com adresine gönderilmelidir. Yazışmalar için, makale sonunda ayrı bir sayfada, yazar adı, unvanı yazılıp, haberleşme adresi, telefon, fax numarası ve e-mail adresi yazılmalıdır.

Instructions to Authors

1. The Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University publishes original papers, short communications, case reports, letter to editor and original review articles related to the field of Veterinary Medicine.
Manuscript must contain a separate page (as a last page of the manuscript) including the corresponding author's name, his/her title, communication address, phone number, fax number, and e-mail address.
2. Editorial board and advisory committee must prove all manuscripts before considered publication.
3. Formal language of manuscripts is Turkish. However, manuscripts in English, German, and French are also accepted. And the beginning of the manuscript must contain the Turkish and English summaries.
4. Original manuscripts must be typed in Word program and e-mail to ercvet@gmail.com.
Manuscript must contain a separate page (as a last page of the manuscript) including the corresponding author's name, his/her title, communication address, phone number, fax number, and e-mail address.
5. Original papers and reviews should normally not exceed 12 and 15 pages respectively. Case reports, research notes and short communications also should not exceed 6 pages including tables and figures. Manuscripts must be printed A4 papers. Font size must be 10 pt (Arial) and legible. Manuscripts must be type written with double spacing and wide margins (3cm each side). All pages must be numbered consecutively.
6. Studies were partially presented in a national or international meeting or published as an abstract in any journal can be published with indication of this status at the bottom of the page (footnote). In the same page, information should be included on any institutions or individuals who financially contributed to the work. This information must be showed in the running title of the manuscript as an asterisk also seen at the bottom of the page (footnote).
7. Copyright Release form must be filled and signed by all authors. Final checklist should also be followed.
8. The manuscript must be submitted with Animal Care and Use Committee report if the work requires.
9. Manuscript must be organized as follows: Summary (Turkish and English), Key Words, Introduction, Material and Methods, Results and Discussion, Acknowledgements, References, Tables, Figures, Charts, Graphs and Photographs and their explanations. All titles of sections must start with capital letter and be bold. Paragraphs in the text should not indented, but lines should be numbered.
10. The cover page should be supplied as a separate page and include: running title, max 40 characters in English with the first letters capital, the name(s) of the author(s) without titles, affiliations and complete postal address of all author(s). Superscript numbers should be given to the surnames of authors as affiliation information.
11. The title page must contain the Turkish and English summaries (up to 200 words) with no paragraph and not more than five Key Words in Turkish and English. Key Words must be placed below summary with an alphabetical order. Only the first Key Word must start with a capital letter.
12. Abbreviations should be defined when first used and be consistent throughout the text.
13. Names of tables and figures must be given in a separate page. Through the manuscript, tables and figures must be replaced a proper place and contain descriptive information related to the table or figure. Descriptive information must be placed above the tables but below the figures in the text with any explanations or footnotes below. Title of figure and photographs must be numbered in order as figure 1, figure 2 or so. Each page must contain no more than one figure or table. Figures must be suitable for high quality print. Line drawings should be printed by laser or inkjet printer. Lines in tables should be hidden.
14. All cited works in the text must be present in literature section. References must be assembled alphabetically. In the text, they should be referred with numbers. Places must be indicated within the text. Periodicals, books, multi author books, chapter of a book and other references must be given as follows: Journal titles should be abbreviated according to the Index Veterinarius.
15. Species names and anatomical terms in Latin should be italicized. All measurement specifications must follow the SI (Système Internationale) units.
16. Photographs must be of good quality, black and white and printed on glossy paper. Photocopies of photographs are not acceptable. Color photographs are accepted but the contributor must meet money charge. Also, if color photographs are desired or necessary all needed material must be provided. Photographs should be clearly marked on the reverse side with the number, author's name and orientation (top), use a soft pencil.
17. Review articles are considered for publications if they are original and contain recent developments. Reviews contain title as in research manuscripts, summary, introduction, subtitles appropriate for the review, result and literature cited. Key Words are also added.
18. Case reports must contain Summary, Key Words, Introduction, Case(s), Results and Discussion, and Literature cited.
19. Literature;
 - 19.1. If the source is a periodical, citation must be done as shown below
example: Kaldhone P, Nayak R, Lynne AM, Dvaid DE, McDermott PF, Logue CM, Foley SL. Characterisation of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from turkey-associated sources. Appl Environ Microbiol 2008; 74(16): 5038-46.
 - 19.2. If the source is from chapter of a book with an editor, citation must be done as shown below
example: Hornbeck P. Assay for antibody production. Colign JE, Kruisbeek AM, Marguiles DH. eds. In: Current Protocols in Immunology. New York: Greene Publishing Associates, 1991; pp. 105-32.
 - 19.3. If the source is a book, citation must be done as shown below example: Fleiss JL. Statistical Methods for Rates and Proportions. Second Edition. New York: John Wiley and Sons, 1981; p.103
 - 19.4. If the source is whole book with an editor, citation must be as below.
example: Balows A, Mousier WJ, Herramafl KL, eds. Manual of Clinical Microbiology. Fifth Edition. Washington DC: IRL Press, 1990; p. 37.
- 19.5. If the source is from meeting, citation must be done as shown below
example: Entrala E, Mascarp C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14,

1994; İzmir-Türkiye.

- 19.6. If the source is from a thesis, citation must be done as shown below example: Erakinci G. Investigation of Antibodies Against Parasites in Blood Donors. PhD Thesis. Ege Univ. Institute of Health Sciences. Parasitology Program, İzmir-Turkey, 1993.
- 19.7. The source is a website on the internet, the initials of the authors' surnames and names (if there is no name of author the name of the website or of the source) are written. Then the years and title of the article, Publisher (if any), internet address and arrival date are specified in this order.

If websites are to be used as source, care must be taken to keep it limited and the website to be official.

Example: TUIK. Hayvancılık İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/hayvancilik.app/hayvancilik.zul>; Accessed Date: 14.03.2010.

20. Once the studies one published in the journal, all the responsibility belongs to the authors.

TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ / JOURNAL OF FACULTY OF
VETERINARY MEDICINE, ERCIYES UNIVERSITY

Makale Türü/ Article Type:

.../ .../ 201..

(...) Araştırma / Research

(...) Derleme / Review

(...) Kısa Bilimsel Çalışma / Short Communication

(...) Olgu Sunumu / Case Report

(...) Editöre Mektup / Letter to Editor

Makale Başlığı/Article Entitled:

.....

.....

Sayın Editör,

Yayınlanması dileğiyle Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne gönderdiğimiz makalenin yazarları olarak;

- 1- Derginizde yayımlanmak üzere yollamış olduğumuz makalenin orijinal olduğunu; bilimsel ve etik sorumluluğunun bize ait olduğunu,
- 2- Makalenin; daha önce yayımlanmadığını, derginizdeki değerlendirme sürecinde başka bir yayın organına yayımlanmak üzere gönderilmediğini ve gönderilmeyeceğini,
- 3- Makalenin; kişilik ve telif haklarına aykırı kanun dışı maddeler içermediğini,
- 4- Gerekli görülen düzeltmelerle birlikte her türlü yayın hakkını, yazının yayımlandığı günden itibaren Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne ait olduğunu kabul ve beyan ederiz.

Dear Editor,

Here we affirm and warranty as the Author(s) of this manuscript submitted to Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University that;

- 1- The manuscript /We submitted to the Bulletin is original and responsibilities belong to us ethically and scientifically,
- 2- The manuscript has not been previously published, being considered for publication by any other journal and will not be submitted to any other journal for such review while under evaluation by this bulletin,
- 3- The manuscript contains no unlawful statements and does not contain any materials that violate any personal or proprietary rights.
- 4- The Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University reserves all rights with due corrections from the date it has been published onwards.

Yazar/ Yazarların Adı

Author's/Authors' Printed Name

1).....İmza/Signature:.....

2).....İmza/Signature:.....

3).....İmza/Signature:.....

4).....İmza/Signature:.....

5).....İmza/Signature:.....

Not/Note: Formu aşağıdaki adrese, e-mail ya da posta yolu ile gönderiniz veya elden teslim ediniz./ Please send this form to the address below by e-mail, post or deliver personally.

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi / Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi Editörlüğü, 38039, Melikgazi-KAYSERİ / TÜRKİYE
Tel/Phone: 0352 339 94 84 Faks/Fax: 0352 337 27 40 E-posta/E-mail: ercivet@gmail.com

SON KONTROL LİSTESİ

Makalenizi göndermeden önce lütfen bu bölümdeki maddelerle karşılaştırma yapınız ve eksiklikleri gideriniz.

- Eksiksiz doldurulmuş ve bütün yazarlarca imzalanmış “**Telif Hakkı Devri Formu**” (<http://ercivet.erciyes.edu.tr> adresinden ulaşabilirsiniz) makale ile birlikte gönderildi.
- Metnin tamamı çift aralıklı (5 mm) yazıldı (özetler, tablolar, şekil alt yazıları, kaynaklar v.d. dahil).
- Her bir kenarda 2,5 cm boşluk bırakıldı.
- Yazılar 12 punto (Times New Roman) ile yazıldı.
- Satır numaraları verildi.
- Kapak sayfasında, makalenin başlığı (sadece yazım dilindeki) koyu (bold) yazıldı, kısa başlık eklendi.
- Kapak sayfasında, yazar isimleri açık olarak yazıldı (kısaltma yok).
- Kapak sayfasına dipnot (varsa) eklendi.
- Türkçe başlık yazıldı.
- Türkçe özet yazıldı.
- Türkçe anahtar kelimeler (alfabetik sıralı ve ilk kelimenin ilk harfi büyük diğerleri küçük harfle yazıldı) verildi.
- İngilizce başlık yazıldı.
- İngilizce özet yazıldı.
- İngilizce anahtar kelimeler verildi.
- Şekillerin orijinal halleri eklendi.
- Metin içinde şekiller ardışık numaralandı.
- Şekil boyutları min.=8x20; max.=16x20 cm.
- Metin içinde tablolar ardışık numaralandı.
- Tablo boyutları min.=8x20 cm; max.=16x20 cm.
- Şekil ve tabloların metin içinde gelmesi istenilen yer belirtildi.
- Şekiller listesi ayrı bir sayfa olarak hazırlandı.
- Her şekil ayrı sayfaya yerleştirildi.
- Tablolar listesi ayrı bir sayfa olarak hazırlandı.
- Her tablo ayrı sayfaya yerleştirildi.
- Kaynaklar yazım kurallarına uygun yazıldı.
- Yazışma adresi verildi.

FINAL CHECKLIST

Before you submit your work, please take the time to be certain that your paper (and other writings as applicable) is in the correct format and that you have included everything necessary by checking it against this checklist.

- Copyright Release Form has been enclosed, completed and signed by all authors (<http://ercivet.erciyes.edu.tr>).
- Entire paper has been 5 mm double-spaced (abstract, tables, captions/legends, references).
- Margins have been 2,5 cm each side.
- Font size has been 12 pt (Times New Roman).
- Lines have been numbered.
- Title of the manuscript has been written bold and short title added on the cover page.
- Author(s) names have been fully written (not abbreviated) on the cover page.
- Footnote has been given on the cover page (if necessary)
- English title has been given.
- English summary has been given.
- English keywords have been given alphabetically.
- Turkish title has been given.
- Turkish summary has been given.
- Turkish keywords have been given alphabetically.
- Original figures have been enclosed.
- Original figures have been prepared correctly according to instructions.
- Figures have been referred to consecutively in the paper.
- Dimensions of figures have been min =8x20 cm; max.=16x20 cm.
- Tables have been referred to consecutively in the paper.
- Dimensions of tables have been min =8x20 cm; max.=16x20 cm.
- Figures and tables have been stated requiring put on the manuscript.
- Names of figures have been given on a separate page as figure list.
- Each figure has been given on a separate page.
- Names of tables have been given in a separate page as table list.
- Each table has been given on a separate page.
- References has been typed according to instructions.
- Corresponding address has been given.

