

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Sayfa / Page

ARAŞTIRMA MAKALELERİ / RESEARCH ARTICLES

- Arı Poleninin Mikrobiyolojik Kalitesinin Belirlenmesi.....182**
Determination of the Microbiological Quality of Bee Pollen
S. SANDIKÇI ALTUNATMAZ, F. YILMAZ AKSU
- Köpeklerde Humerus Başının Osteokondrozis Dissekansı.....188**
Osteochondrosis of the humeral head in dogs
D. AYDIN KAYA, K. ALTUNATMAZ, D. OLGUN ERDİKMEN, D. J. ŞADALAK, Ö. GÜZEL, S. E. ACAR
- Kefirin Broiler Etinin Bazı Mikrobiyolojik ve Fizyokimyasal Özelliklerine Etkisi.....195**
Effects of Kefir on Some Microbiological and Physicochemical Characteristic of Broiler Meat
G. YENİCE, H. ÖZLÜ, S. URÇAR, M. ATASEVER, M. AYDEMİR ATASEVER
- Kayseri Yöresindeki Sığırlardan Toplanmış Kene Türlerinde Babesia bovis ve Babesia bigemina'nın Real Time PCR Yöntemiyle Araştırılması.....201**
Investigation of Babesia bovis and Babesia bigemina by Real Time PCR in Tick Species Collected from Cattle in Kayseri Province
T. MEYİLLİ, Ö. DÜZLÜ, A. YILDIRIM, Z. ÖNDER, A. ÇİLOĞLU, A. İNCİ
- Kayseri'de Satışa Sunulan Tavuk Eti ve İç Organlarında Arsenik Düzeylerinin Belirlenmesi.....209**
Arsenic Levels in Chicken Meat and GIBLETS RETAILED IN KAYSERİ
Y. YILDIRIM, Z. GÖNÜLALAN, N. ERTAŞ ONMAZ, H. HIZLISOY, S. AL, Ş. PAMUK

DERLEMELER / REVIEW ARTICLES

- Sığırlarda Barınak, Nakil ve İnsan-Hayvan Etkileşimi gibi Bazı Faktörlerin Hayvan Refahı Üzerine Etkileri.....215**
The Effects on Animal Welfare of Some Factors Such As Shelter, Transportation and Human-Animal Interactions in Cattle
G. ÖZDEMİR, E. SİNGİN
- Türkiye'de Köpeklere Kene Aracılığıyla Bulaşan Hastalıklar.....223**
Tick-Borne Diseases in Dogs in Turkey
H. Ö. TUNÇ, M. S. AKTAŞ

OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

- Outcomes of Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis (CAPD) in Amyloidosis Induced End Stage Renal Failure Cat: Case Report.....231**
Amiloidozis Kaynaklı Son Dönem Böbrek Yetmezliği Hastası Bir Kedide Sürekli Ayakta Periton Diyaliz Uygulamasının Sonuçları: Olgu Sunumu
M. KARABAGLI, G. KARABAGLI, K. OZER, Y. TOLA, O. ZIYLAN, A. GUREL, O. ERDOGAN BAMAC
- Bir Kedide Kutanoz Mast Hücreli Tümörünün Terapotik Lazer Kullanılarak Tedavisi.....236**
Using Therapeutic Laser Treatment on Cutaneous Mast Cell Tumor in a Cat
A. N. M. KABLAN KAL, M. KARABAĞLI, A. E. HAYDARDEDEOĞLU, G. ŞEKERCİ, F. YILDIRIM, İ. FIRAT, A. UYSAL





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 Turkey Citation Index.

Yıl / Year : 2016
Cilt / Volume : 13
Sayı / Number : 3

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

Baskı Tarihi: Aralık 2016

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.)

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 BİLDİK

(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 : ercvet@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: Erhan GÜMÜŞ

Basım / Print: Erciyes Üniversitesi Matbaası, Melikgazi/KAYSERİ

ISSN-1304-7280

* İsimler, soyadı alfabetik sırasına göre dizilmiştir.

Bu Sayının Hakemleri*

Prof. Dr. Harun AKSU	(İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Özgür AKSOY	(Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Özkan ARSLAN	(Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi)
Yrd. Doç. Dr. Onur BAŞBUĞ	(Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Doç. Dr. Nebahat BİLGE	(Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Doç. Dr. İlker CAMKERTEN	(Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. İbrahim CANBOLAT	(Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Yalçın DEVECİOĞLU	(İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Doç. Dr. Emek DÜMEN	(İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Yrd. Doç. Dr. Zafer DOĞAN	(Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Yrd. Doç. Dr. Harun HIZLISOY	(Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Abdullah İNCİ	(Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Yrd. Doç. Dr. Yusuf Ziya OĞNAK	(Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi)
Prof. Dr. Mahmut OK	(Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Kürşat ÖZER	(İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ	(Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Mustafa SAATÇİ	(Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Barış SARI	(Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM	(Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi)

* İsimler soyadı alfabetik sırasına göre dizilmiştir.

ARAŞTIRMA MAKALELERİ / RESEARCH ARTICLES

Arı Poleninin Mikrobiyolojik Kalitesinin Belirlenmesi	182
Determination of the Microbiological Quality of Bee Pollen S. SANDIKÇI ALTUNATMAZ, F. YILMAZ AKSU	
Köpeklerde Humerus Başının Osteokondrozis Dissekansı	188
Osteochondrosis of the humeral head in dogs D. AYDIN KAYA, K. ALTUNATMAZ, D. ÖLĞÜN ERDİKMEN, D. J. ŞADALAK, Ö. GÜZEL, S. E. ACAR	
Kefirin Broiler Etinin Bazı Mikrobiyolojik ve Fizikokimyasal Özelliklerine Etkisi	195
Effects of Kefir on Some Microbiological and Physicochemical Characteristic of Broiler Meat G. YENİCE, H. ÖZLÜ, S. URÇAR, M. ATASEVER, M. AYDEMİR ATASEVER	
Kayseri Yöresindeki Sığırlardan Toplanmış Kene Türlerinde <i>Babesia bovis</i> ve <i>Babesia bigemina</i>'nın Real Time PCR Yöntemiyle Araştırılması	201
Investigation of <i>Babesia bovis</i> and <i>Babesia bigemina</i> by Real Time PCR in Tick Species Collected from Cattle in Kayseri Province T. MEYİLLİ, Ö. DÜZLÜ, A. YILDIRIM, Z. ÖNDER, A. ÇİLOĞLU, A. İNCİ	
Kayseri'de Satışa Sunulan Tavuk Eti ve İç Organlarında Arsenik Düzeylerinin Belirlenmesi	209
Arsenic Levels in Chicken Meat and GIBLETS RETAILED IN KAYSERİ Y. YILDIRIM, Z. GÖNÜLALAN, N. ERTAŞ ONMAZ, H. HIZLISOY, S. AL, Ş. PAMUK	

DERLEMELER / REVIEW ARTICLES

Sığırlarda Barınak, Nakil ve İnsan-Hayvan Etkileşimi gibi Bazı Faktörlerin Hayvan Refahı Üzerine Etkileri	215
The Effects on Animal Welfare of Some Factors Such As Shelter, Transportation and Human-Animal Interactions in Cattle G. ÖZDEMİR, E. SİNGİN	
Türkiye'de Köpeklere Kene Aracılığıyla Bulaşan Hastalıklar	223
Tick-Borne Diseases in Dogs in Turkey H. Ö. TUNÇ, M. S. AKTAŞ	

OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

Outcomes of Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis (CAPD) in Amyloidosis Induced and Stage Renal Failure Cat: Case Report	231
Amiloidozis Kaynaklı Son Dönem Böbrek Yetmezliği Hastası Bir Kedide Sürekli Ayakta Periton Diyaliz Uygulamasının Sonuçları: Olgu Sunumu M. KARABAĞLI, G. KARABAĞLI, K. OZER, Y. TOLA, O. ZIYLAN, A. GUREL, O. ERDOĞAN BAMAC	
Bir Kedide Kutanöz Mast Hücreli Tümörünün Terapotik Lazer Kullanılarak Tedavisi	236
Using Therapeutic Laser Treatment on Cutaneous Mast Cell Tumor in a Cat A. N. M. KABLAN KAL, M. KARABAĞLI, A. E. HAYDARDEDEOĞLU, G. ŞEKERCİ, F. YILDIRIM, İ. FIRAT, A. UYSAL	



Arı Poleninin Mikrobiyolojik Kalitesinin Belirlenmesi

Sema SANDIKÇI ALTUNATMAZ¹, Filiz YILMAZ AKSU¹

¹İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Gıda Teknolojisi Programı, Avcılar, İstanbul-TÜRKİYE

Özet: Bu çalışmada, biyolojik yararlılığı nedeniyle özellikle çocuk, yaşlı ve hasta beslenmesinde kullanılan arı polenin mikrobiyolojik açıdan kalitesi araştırıldı. İstanbul'un değişik satış noktalarından 12 adet arı poleni toplandı ve çeşitli mikrobiyolojik özellikleri ile rutubet ve pH değerleri açısından analizleri gerçekleştirildi. Yapılan analizler sonucunda, toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı (TAMB) <1.00- 3.48 log kob/g, küf sayısı <1.00-2.04 log kob/g, maya sayısı <1.00-2.70 log kob/g aralığında bulunurken; koliform bakteriler, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes* tespit edilmedi. Küflerin makro ve mikro-morfolojik özellikleri açısından yapılan incelemede *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Trichothecium*, *Cladosporium*, *Monascus*, *Geotrichum* türleri tespit edildi. Polen numunelerinin pH değeri 3.75-4.30, rutubet oranı %1.17-5.80 aralığında bulundu. Bu çalışmada, arı polenin, yapılan mikrobiyolojik analizleri sonucunda, sağlık açısından tehlike oluşturmadığı belirlendi. Fakat tespit edilen *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* cinsine ait küf türleri uygun koşullarda mikotoksin oluşturabilmekte ve insan sağlığı için tehlikeli olabilmektedirler. Bu nedenle polenin üretimi ve saklanması aşamalarında bulaşmaların engellenmesi, küflerin gelişimine ve mikotoksin oluşumuna neden olan koşulların ortadan kaldırılması gerekli görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Arı poleni, küf, mikrobiyolojik kalite, pH, rutubet

Determination of the Microbiological Quality of Bee Pollen

Summary: In this study, bee pollen; used for its biological benefits particularly in child, elderly and patient nutrition, was investigated in view of whether or not it carried any microbiological hazard. A total of 12 different origin bee pollens were collected from Istanbul and microbiological, moisture and pH analyses were carried out. Analysis results revealed of Total aerobic mesophilic bacteria (TAMB) counts <1.00-3.48 log cfu/g, moulds <1.00-2.04 log cfu/g and yeasts <1.00-2.70 log cfu/g, whereas there was no growth with regard to coliform bacteria, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes*. Examination of the moulds with reference to their macro and micromorphological properties identified *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Trichothecium*, *Cladosporium*, *Monascus*, *Geotrichum* species. The pollen samples exhibited ranges of 3.75-4.30 in pH value and 1.17-5.80% for moisture levels. In the light of the microbiological criteria in this study, it was found that bee pollen does not present a health hazard. However, the identified *Aspergillus* and *Penicillium* species may produce mycotoxins under favourable conditions and present a danger to human health. Therefore, in the production and storage stages of the pollen, contamination must be prevented and conditions allowing mould growth and mycotoxin production must be eliminated.

Key words: Bee pollen, microbiological quality, moisture, mould, pH

Giriş

Polen, çiçeklerin erkek üreme hücrelerini bulunduran ve arıların beslenmesinde protein kaynağı olarak büyük öneme sahip olan bir besindir. Arı poleni sadece çiçek tozu olmayıp arının ağız salgıları, az miktarda nektar ve bal içermesi bakımından önemlidir (9,12). Toplandığı çiçek çe-

şitliliği, iklim koşulları, coğrafya, bitki türünün genetik kompozisyonu, arıcılık uygulamaları, arı polenin besin değerini belirlemektedir (6,12). Arı polenin yapısı ve bileşimi elde edildiği kaynağa göre değişmekle birlikte, içeriği açısından biyolojik yararlılığı olan bir besin maddesidir (27). Arı poleninden bitkisel kaynaklı 250' den fazla biyolojik aktif madde izole edildiği bildirilmektedir. Yapısında bulunan fenolik maddeler (gallik, kafeik, ferulik, klorogenik, kumarik asit) ve flavonoidler (kuarsetin, myrisetin, kamferol, galangin) nedeniyle doğal bir antioksidandır

(27). Değişik oranlarda protein (%25-30), karbohidrat (%30-55), lipit (%4.8), vitamin ve mineral maddeleri (12,13), ayrıca esansiyel aminoasitler, organik asitler, enzimler, nükleik asitler ve gelişme düzenleyicileri yapısında bulunmaktadır. Arı poleni serbest aminoasitler için zengin bir gıda ve mükemmel bir enerji kaynağıdır (6,12). İlaç, kozmetik ve gıda sektörlerinde kullanılmaktadır (27). Taze arı polenin %25-30 civarında nem içermesi nedeniyle çok çabuk bozulduğu belirtilmektedir. Bu nedenle derin dondurucuda veya kurutularak muhafazası önerilmektedir. Kurutma işlemi sonrasında polenin nem oranı %6-10 civarına inmektedir. Kurutma işleminin serin ortamda ve güneş ışığı almadan yapılması ve kurutulan polenin soğukta muhafaza edilmesi tavsiye edilmektedir. Polenin aşırı ısıtılması (40°C'den yüksek), hava alması ve ışıktaki tutulması, arı salgılarının eksilmesi nedeniyle, değer kaybına neden olmaktadır (5). Polen farklı kaynaklardan kontamine olabilmektedir. Kontaminasyonlar daha çok arıcılık uygulamaları ve çevresel faktörlerden kaynaklanmaktadır. Çevresel kontaminasyonlar; ağır metaller, radyoaktif izotoplar, organik kirleticiler, pestisitler, antibiyotikler ve patojen mikroorganizmalardır (4). Arı polenin kötü koşullarda üretimi, paketlenme ve depolanması, yüksek nem içeriği, küflerin üremesi ve mikotoksinlerin oluşumu için uygun bir ortam oluşturabilir. Küfler; genel olarak rutubetli ve sıcak ortamlarda iyi ürerler. Aerobik özellikte olup üremeleri için oksijene ihtiyaç duyarlar. Buzdolabı sıcaklığı, pH 3.5 ve su aktivitesi 0.65 değerlerinde dahi üreyebilirler (10). Küfler, bir taraftan gıdanın yapı ve bileşiminde bozulmalara, diğer taraftan bazı türlerin oluşturduğu mikotoksinler akut ve kronik intoksikasyonlara neden olabilmektedir. Mikotoksin oluşturan küfler; *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* ve *Alternaria* spp. içinde bulunan türlerdir. Bu türlerin oluşturduğu önemli mikotoksinler; aflatoksin, okratoksin A, patulin, fusario-toksin, zearalenon, sitrinin, fumonisin, alternariol metabolik toksinleridir (10,13). Polende aflatoksin oranının <5 µg/kg olması gerektiği belirtilmektedir (6). Mikotoksinler, hepatotoksik, nörotoksik, kanserojenik özellik gösterirler (10,13). Yapılan çalışmalarda polende; aflatoksin B1, aflatoksin B2, okratoksin A, zearalenon, deoksinivalenol, T-2 toksin tespit edildiği belirtilmektedir (13,18). Toksinlerin dayanıklı olmaları nedeniyle mikotoksikozisten korunmak ancak hasat öncesi ve sonrası muhafaza sırasında toksin

oluşumunun engellenmesi ile mümkün olabilmektedir (10).

Bu çalışma, değerli bir besin maddesi olan arı polenin, son yıllarda doğal ve fonksiyonel ürünlere artan tüketici talebi, yaşlı, çocuk, hasta ve hamilelerin sıkça tüketebilmeleri ve direkt tüketilen bir gıda olması nedeniyle, mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada, İstanbul'da satış noktalarından toplanan 12 adet arı poleni en az 100 g olacak şekilde, açık ya da kapalı ambalajlarda satın alındı ve soğuk zincirde laboratuvara getirildi. Polenlerin, yazılı olarak belirtilmemesine rağmen, satış personeli tarafından Artvin, Erzurum, Antalya illerinden ve Trakya Bölgesindeki çeşitli üretim alanlarından temin edildiği belirtildi.

Rutubet ve pH analizleri

Polen numunelerinde rutubet oranının belirlenmesi için Sartorius MA45 (Almanya), pH değerinin belirlenmesi için HANNA 1221 (Romanya) cihazı kullanıldı.

Mikrobiyolojik analizler

Polen numuneleri toplam aerobik mezofilik bakteri, koliform bakteriler, *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, küf-maya, *Enterococcus* spp. açısından analiz edildi. Tüm analizler paralel olarak gerçekleştirildi.

TAMB, koliform bakteriler, *E. coli*, *S. aureus*, küf-maya, *Enterobacteriaceae* spp., *Enterococcus* spp. analizleri için; 10 g numune alındı ve 90 mL Buffered Peptone Water (PW, Oxoid, İngiltere, 37°C, 24 saat) içinde homojenize edildi. TAMB için Plate Count Agar (PCA, Oxoid, İngiltere, 35-37°C, 24-48 saat), koliform bakteriler için Violet Red Bile Agar (VRBA, Oxoid, İngiltere, 37°C, 24-48 saat), *Enterobacteriaceae* spp. belirlenmesi için Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG, Oxoid, İngiltere, 37°C, 24-48 saat) besiyerleri kullanıldı. Dökme plak ekim tekniğine uygun olarak uygun dilüsyonlardan ekim yapıldı. *E. coli* analizi için Tryptone Bile X-Glucuronide Agar (TBX, Oxoid, İngiltere, 44°C, 24-48 saat), *S. aureus* için Baird Parker Agar (BP, Oxoid, İngiltere, 37°C, 24-48 saat), küf-maya analizi için, Malt Extract Agar (MEA, Merck, Almanya) ve Potato Dextrose Agar (PDA, Oxoid, İngiltere, 25°C, 5 gün) (1,25), *Enterococcus* spp. için Kanamycin Aesculin Azide Agar (KA, Oxoid,

İngiltere, SR0092, 37°C, 24-48 saat) besiyerleri kullanıldı ve ekimler yayma plak ekim tekniğine uygun olarak yapıldı (1,3,8,19,22).

S. Typhimurium, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 analizleri için, 25 g polen örneğinde, standart var/yok testi ile yapıldı. *Salmonella* için ön zenginleştirme (Tamponlanmış Pepton Buffer, Oxoid, İngiltere, 37°C, 24 saat), selektif zenginleştirme (Rappaport Vassiliadis Soy Broth, 41°C, 24 saat), selektif Xylose Lysine Deoxycholate Agar'a (Oxoid, İngiltere, 37°C, 24 saat) öze ile çizgi ekim tekniği kullanılarak geçildi (16). *Listeria* analizi için, Listeria Enrichment Broth (225 mL, 30°C, 44 saat) zenginleştirme işleminden sonra Palcam Agar (Oxoid, UK, SR0150) ve Oxford Agar (Oxoid İngiltere, SR0140) besiyerlerine çizgi ekim tekniği ile geçiş yapıldı (35°C, 24-48 saat) (14). *E. coli* O157:H7 analizi için, zenginleştirme amaçlı novobiocin içeren Modified Tryptone Soya Broth kullanıldı (41°C, 18 saat). Selektif ekim için Cefixime Tellurite Sorbitol MacConkey Agara öze ile çizgi ekim tekniği kullanılarak geçiş yapıldı (37°C, 24 saat) ve sonuçlar değerlendirildi (17).

Küflerin mikroskopik incelemesinde "Slayt Kültür Yöntemi" kullanıldı (23). Küflerin makro ve mikro-morfolojik karakteristikleri taksonomik anahtar-

lara göre yapıldı (15,22,24,25,26).

Bulgular

Arı poleni analiz sonuçlarına göre; toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı, küf ve maya sayısı, pH değeri ve rutubet oranı Tablo 1'de gösterilmektedir.

Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre; koliform bakteriler, *E. coli*, *Enterococcus* spp. ve *S. aureus*, *Enterobacteriaceae* spp. *E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* tespit edilmedi.

Küflerin makro ve mikro-morfolojik karakterizasyon değerlendirmesinde *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ocraceus*, *Penicillium melanochlorum*, *Penicillium verrucosum*, *Mucor racemosus*, *Mucor mucedo*, *Monascus ruber*, *Rhizopus oryzae*, *Alternaria alternata*, *Trichothecium roseum*, *Cladosporium macrocarpum*, *Geotrichum candidum* türleri tespit edildi. Yaygın türün (dört örnekte) *Mucor* türleri olduğu görüldü.

Tartışma ve Sonuç

Sonuçlar; polenin incelenen bakteriler açısından tehlike oluşturmadığını göstermektedir. Polen örneklerinin, satın alma koşullarında el temasının olmaması ve satış anına kadar kapalı ambalajda muhafaza edilmesinin bu sonucu destekle-

Tablo 1. Polen numunelerinin pH, rutubet ve mikrobiyolojik analiz sonuçları (*log kob/g)

Polen No	pH	Rutubet (%)	TAMB *	Küf*	Maya*
1	3.75	2.65	2.00	<1.00	2.70
2	4.05	1.17	<1.00	1.70	1.00
3	4.01	3.41	<1.00	2.04	2.32
4	3.79	3.02	2.90	1.60	1.78
5	4.01	2.19	2.60	1.78	1.00
6	4.30	4.23	3.43	<1.00	1.30
7	3.80	2.44	3.48	1.60	1.00
8	3.75	4.39	2.30	1.85	1.00
9	3.75	3.53	2.48	1.70	<1.00
10	4.09	2.71	2.00	1.60	1.48
11	3.86	2.72	2.00	1.85	<1.00
12	4.09	5.80	3.48	1.48	<1.00

diği düşünülmektedir. Ayrıca polenin yapısında bulunan flavonoidler ve fenolik asitler nedeniyle antibakteriyel özellik gösterebileceği de belirtilmektedir (27). Polenin doğal mikrobiotasının; TAMB sayısının 0.5×10^3 kob/g ve küf maya sayısının 10 kob/g'dan az olması, streptokok, aerob sporlu bakterilerin, koliform bakterilerin ve insan patojenlerinin olmaması durumunda, sabit kalacağı bildirilmektedir (6). Çalışmamızdaki değerlerle kıyaslandığında, TAMB sayısının dört örnekte, küf sayısının on örnekte ve maya sayısının dokuz örnekte belirtilen değerlerden (6) yüksek olduğu tespit edilmiştir. Slovakya'da polenin küf ve mikotoksin içeriği ile ilgili yapılan çalışmada (18) küf sayılarının 2.89-4.14 log kob/g aralığında olduğu, kırkbeş adet polen numunesinden 449 adet küf izolatu elde edildiği, bunların büyük çoğunluğunun sırasıyla *Mucor mucedo*, *Alternaria alternata*, *Mucor hiemalis*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium cladosporioides* oldukları bildirilmektedir. Çalışmamızda, numune sayısına bağlı olarak daha az sayıda izolatu elde edilmiştir. Ancak her iki çalışmada da *Mucor* spp. yaygın olduğu tespit edilmiştir. Brindza ve ark. (7) sekiz adet polen örneğinden yirmibir adet küf türü izole ettiklerini; TAMB sayısını 100-13125 kob/g ve küf sayısını ise 107-4688 kob/g aralığında belirlediklerini bildirmektedirler. Küf türleri olarak; *Mucor racemosus*, *Mucor spinosus*, *Mucor hiemalis*, *Mucor circinelloides*, *Humicola grisea*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus flaviceps*, *Aspergillus clavatus*, *Mortierella* sp., *Aspergillus repens*, *Alternaria chartarum*, *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Monodictys castaneae*, *Paecilomyces variotii*, *Paecilomyces viveus*, *Penicillium* sp. *Mortierella* sp. izole ettiklerini belirtmektedirler. Çalışmamızda; hem TAMB, hem de küf sayısının Brindza ve ark. (7) belirledikleri sayıdan düşük bulunmuş, *Mucor racemosus* ve *Alternaria alternata*, *Penicillium* sp. türleri tespit edilmiş, *Fusarium* sp. tespit edilmemiştir. İspanya ve Arjantin orijinli tüketime hazır doksan adet arı poleninde *Penicillium* sp. ve mayaların baskın olduğu ve potansiyel olarak mikotoksin üreten *Penicillium verrucosum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus ocraceus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Alternaria* spp. tespit edildiği bildirilmektedir (13). Belhadj ve ark. (2), 15 polen örneğinde yaptıkları mikrobiyolojik analizde, TAMB sayısının 3.00-5.48 log kob/g, küf maya sayısının 2.3-6.99 log

kob/g olduğu, *S. aureus* 14 örnekte ($2.301-8.320$ log kob/g), on örnekte *Listeria* spp. ve yedi örnekte *Salmonella* spp. tespit edildiğini belirtmişlerdir. Çalışmada toksijenik küflerin varlığı vurgulanmakta ve *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus alliageus*, *Penicillium* spp., *Alternaria alternata*, *Alternaria* spp., *Monilia sitophilia*, *Rhizomucor pusillus*, *Mucor hiemalis* izole edildiği bildirilmektedir (2). Yüksek oranda patojen mikroorganizmaların tespit edildiği çalışma sonucunda (2), polen örneklerinin insan sağlığı için tehlike taşıdığı değerlendirilmiştir.

Portekiz'de 22 adet organik arı polenin mikrobiyolojik açıdan değerlendirildiği çalışmada (12) örneklerdeki pH değerinin 4.3-5.2, su aktivitesi değerinin 0.21-0.37 arasında olduğu bildirilmiştir. Araştırmada *E. coli*, Sülfite indirgeyen *Clostridium*, *Salmonella* spp. ve *S. aureus* tespit edilmediği belirtilmiştir (12). Araştırmamızda polenlerin pH değerlerinin (3.75-4.30) daha düşük bulunması, *Salmonella* sp. ve *S. aureus* tespit edilmemesi açısından benzerlik görülmektedir. Portekiz ve İspanya'da sekiz polen numunesi ile yapılan çalışmada (21); *Salmonella* spp, Sülfite indirgeyen *Clostridium* ve *E. coli* tespit edilmediği, fekal koliform sayısının <1 EMS/g, küf maya sayısının $<10-8.8 \times 10^2$ kob/g, TAMB sayısının ise $<10-8.7 \times 10^3$ kob/g bulunduğu; pH değerinin 4.23-5.17 aralığında olduğu açıklanmaktadır. İspanya orijinli 20 adet arı polenin mikrobiyolojik kalitesi ile ilgili yapılan çalışmada (6), TAMB sayısının 220-30000 kob/g arasında, koliform bakterilerin sayısının 3-43 kob/g arasında (11 numunede), Lancefield grup D Streptokok sayısının 5-110 kob/g arasında (17 numunede), *Clostridium* spp. sayısının 3-10 kob/g arasında (üç numunede), maya sayısının 150-3000 kob/g arasında (16 numunede), Küf sayısının 100-5500 kob/g arasında ve *Bacillus* spp. sayısının 2-12 kob/g arasında tespit edildiği, *E. coli* ve Aflatoksin tespit edilmediği bildirilmektedir. Verilere göre (6,13), mikroorganizma sayıları ve pH değerinin araştırmamızdaki verilerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Brezilya'da 45 arı poleni ile yapılan çalışmada (9), Sülfite indirgeyen *Clostridium*, *Salmonella* spp, koagulaz-pozitif *S. aureus*, *E. coli* tespit edilmediği; TAMB sayısının 1.10×10^4 kob/g, psikrotrof sayısının $<10-1.12 \times 10^3$, toplam koliform bakteri sayısının $<10-2.80 \times 10^3$ kob/g, küf maya sayısının ise $<10-7.67 \times 10^3$ kob/g arasında olduğu bildirilmektedir. Portekiz'de arı polen-

lerinin incelendiği araştırmada (11); TAMB sayısının $<10-2.8 \times 10^3$ kob/g, küf maya $<10-2.7 \times 10^3$ kob/g, fekal koliformların <1 EMS, *E. coli*, sülfite indirgeyen *Clostridium* sp., *Salmonella* sp., *S. aureus* tespit edilmediği belirtilmektedir. Araştırmada elde edilen veriler (11) çalışmamızdaki verilerden yüksek olmakla birlikte patojen mikroorganizmaların tespit edilmemesi açısından paralellik göstermektedir. Brezilya'da kurutulmuş on polen örneğinde yapılan çalışmada (20) rutubet ortalama %7.4 olarak belirtilmektedir. Arjantin, İsviçre ve Brezilya polen konusunda yasal düzenlemelerin olduğu ülkeler olarak yer almakta ve rutubet için maksimum sınır; Brezilya yasalarına göre %4, Arjantin yasalarına göre %8 olarak belirtilmektedir (20). Bongodov (5) rutubet oranının %6 değerinden daha düşük olması gerektiğini belirtmektedir. Çalışmamızda analiz edilen numunelerde rutubet oranının %6 değerini aşmadığı görülmektedir. Ancak Brezilya yasalarına göre değerlendirildiğinde, rutubet oranı üç örnekte %4 sınırını geçmektedir. Sonuç olarak; polen örneklerinin mikrobiyolojik olarak incelendiği bu araştırmada, patojen bakteri tespit edilmemesi ve incelenen bakteriler yönünden sağlık açısından tehlike oluşturmayacağı kanısına varılmıştır. Ancak tespit edilen küfler içinde mikotoksin oluşturan türlerin varlığı düşündürücüdür. Bu nedenle üretim ve muhafaza koşullarının küf ve mikotoksin oluşumunu engelleyecek şekilde sağlanması gereklidir. Polen ile ilgili araştırmaların mikotoksin mevcudiyetini kapsayacak şekilde detaylandırılması ve ülkemizde de yasal düzenlemelerin ve standartların oluşturulması önerilmektedir.

Kaynaklar

1. Anonim. Mikrobiyolojik Analiz Yöntemlerinde Yeni Yaklaşımlar. birinci Baskı, İstanbul: Hemakim Tıbbi Ürünler Tic. Ltd. Şti., 1999; pp. 83-4.
2. Belhadj H, Harzallah D, Dahamna S, Khennouf S. Microbiological quality control of marketed pollen. Der Pharmacia Lettre 2014; 6(2): 37-42.
3. Bennett RW, Lancette GA. 2001, FDA/BAM: *Staphylococcus aureus*, Bacteriological Analytical Manual, Chapter 12, <http://www.fda.gov>, Erişim tarihi: 05.03.2016
4. Bogdanov S. Contaminants of bee products. Apidologia 2006; 37: 1-18.
5. Bognadov S. Quality and standard of pollen and beeswax. Apiacta 2004; 38: 334-41.
6. Bonhevi SJ, Jorda EJ. Nutrient composition and microbiological quality of honeybee-collected pollen in Spain. Agric Food Chem 1997; 45(3): 725-32.
7. Brindza J, Grof J, Bacigalova K, Ferienc P, Toth D. Pollen microbial colonization and food safety. Acta Chimica Slovaca 2010; 3 (1): 95-102.
8. Chapman PA, Malo ATC, Ellin M, Ashton R, Harkin MA. *Escherichia O157* in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire, UK. Int J Food Microbiol 2001; 64 (1-2): 139-50.
9. De-Melo AAM, Estevinho MLMF, Almeida-Muradian LB. A diagnosis of the microbiological quality of dehydrated bee-pollen produced in Brazil. Lett Appl Microbiol 2015; 61 (5): 477-83.
10. Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Ankara: Pozitif Matbaacılık, 2007; pp.172-84.
11. Estevinho LM, Rodrigues S, Pereira AP, Feas X. Portuguese bee pollen: Palynological study, nutritional and microbiological evaluation. Int J Food Sci Tech 2012; 47 (2): 429-35.
12. Feas X, Vazquez-Tato MP, Estevinho L, Seijas JA, Iglesias A. Organic bee pollen: Botanical origin, nutritional value, bioactive compounds, antioxidant activity and microbiological quality. Molecules 2012; 17(7): -77.
13. Gonzalez G, Hinojo MJ, Mateo R, Medina A, Jimenez M. Occurrence of mycotoxin producing fungi in bee pollen. Int J Food Microbiol 2005; 105 (1):1-9.
14. Hitchins DA, Jinneman K. Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Bacteriological Analytical Manual, FDA, Laboratory Methods, Chapter: 10, <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071400.htm>, Erişim tarihi: 14.04.2016
15. Hocking AD, Pitt JI, Samson RA, King AD. Recommendations from the Closing Session of SMMEF II. Samson RA, Hocking AD, Pitt JI, King AD. eds. In: Modern Methods in Food Mycology. Amsterdam: Elsevier; 1992; pp. 359-64.
16. International Organization for Standardization. ISO 6579:2002-A1:2007. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs. Horizontal Method for the Detection of *Salmonella*

- spp. <https://law.resource.org/pub/eac/ibr/eas.217.6.2008.pdf>, Erişim tarihi: 14.04.2016.
17. International Organization for Standardization. ISO 16649-2: 2001. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff-Horizontal Method for the *Escherichia coli* O157:H7, <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/ISO%20Food%20Safety%20Brochure.pdf>, Erişim tarihi: 14.04.2016
 18. Kacaniová M, Juráček M, Chlebo R, Knazovická V, Kadasi Horáková M, Kunová S, Lejková J, Hascik P, Mareček J, Simko M. Mycobiota and mycotoxin in bee pollen collected from different areas of Slovakia. *J Environ Sci Health* 2011; 46(7): 623-9.
 19. Maturin L, James PT. Bacteriological Analytical Manual, Chapter 3, Aerobic Plate Count. Food and Drug Administration 2001, <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063346.htm>, Erişim tarihi 14.04.2016
 20. Muradian-Almeida LB, Pamplona LC, Coimbra S, Barth OM. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *J Food Composit Analysis* 2015; 18(1): 105-11.
 21. Nogueira C, Iglesias, Feas X, Estevinho LM. Commercial bee pollen with different geographical origins: A comprehensive approach. *Int J Mol Sci* 2012; 13(9), 11173-87.
 22. Peters J, Mac K, Wishmann-Shauer H, Klein G, Ellerbroek L. Species distribution and antibiotic resistance patterns of *Enterococci* isolated from food of animal origin in Germany. *Int J Food Microbiol* 2003; 88(2-3): 311-4.
 23. Riddell WR. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycologia* Vol 1950; 42 (2): 265-70.
 24. Samson RA, Pitt JI. Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification. Forth Edition. Amsterdam: Harwood; 2000.
 25. Samson RA, Hoekstra ES, Oorscot CANV. Introduction to food-borne fungi. Second Edition. Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, 1984; pp. 3-205.
 26. Sandikci Altunatmaz S, Issa G, Aydin A. Detection of airborne psychrotrophic bacteria and fungi in food storage refrigerators Braz *J Microbiol* 2012; 43(4): 1436-43.
 27. Stajko AR, Stajko J, Kurek-Gorecka A,

Gorecki M, Kabala-Dzik A, Kubina R, Mozdierz A, Buszman E. Polyphenols from bee pollen: Structure, absorption, metabolism and biological activity. *Molecules* 2015; 20(12): 21732-49.

Yazışma Adresi:

Dr. Sema SANDIKÇI ALTUNATMAZ
İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Meslek
Yüksekokulu
Gıda İşleme Bölümü/Gıda Teknolojisi Programı
Telefon: 0532 557 32 89
E-posta: sandikci@istanbul.edu.tr



Köpeklerde Humerus Başının Osteokondrozis Dissekansı

Didar AYDIN KAYA¹, Kemal ALTUNATMAZ¹, Dilek OLGUN ERDİKMEN¹, Defne Joan ŞADALAK², Özlem GÜZEL¹, S. Erdem ACAR³

¹İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Avcılar Yerleşkesi, İstanbul-TÜRKİYE

²Serbest Veteriner Hekim, Bath-İNGİLTERE

³Serbest Veteriner Hekim, İstanbul-TÜRKİYE

Özet: Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı'na ön bacakta topallık şikayeti ile getirilen, tanısı humerus başında osteokondrozis dissekans (OCD) olan, 22 adet köpeğin klinik durumları ve sağaltım sonuçları değerlendirilmiştir. OCD'nin tanısı direkt radyografi, pozitif kontrastlı artrografi ve artroskopi ile konulmuştur. OCD fleplerinin uzaklaştırılması ve bölgenin küretajına yönelik artrotomi işlemi beşi bilateral olmak üzere toplam 27 glenohumeral eklem uygulanmıştır. Artrotomi sonrasında fonksiyonel iyileşme OCD lezyonunun humerus başında kaudosentral-medial yerleşimli olanlarda ortalama 37, kaudosentral yerleşimli olanlarda ise ortalama 47 gün olarak belirlendi. Sunulan bu çalışmada Kangal ırkı köpeklerin olgular arasında en sık rastlanan ırk olarak belirlenmesi dikkat çekici bulunurken bulguların ve sağaltım sonuçlarının meslektaşlarımızla paylaşılması amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Humerus, kangal, köpek, osteokondrozis dissekans

Osteochondrosis of the Humeral Head in Dogs

Summary: In this study, the clinical progress and the treatment results of 22 dogs with humeral head osteochondrosis dissecans brought to Istanbul University Faculty of Veterinary Medicine Department of Surgery with a complaint of front limb lameness have been evaluated. Diagnosis of OCD was made out with direct radiography, positive-contrasted arthrography, and arthroscopy. Arthrotomy was performed on five of bilaterally, totally 27, glenohumeral joint for removal of OCD flaps and curettage of the located area. Functional recovery of OCD lesions located on the caudocentral-medial region was 37 days on average and for those located on the caudocentral region was 47 days following the arthrotomy. In this study, Kangal was the most common breed that was found conspicuous and the aim was to share our findings and results of treatment with our colleagues.

Key words: Dog, humerus, kangal, osteochondrosis dissecans

Giriş

Osteokondrozis endokondral (7) ya da enkondral ossifikasyon sürecinde meydana gelen bir anormallik sonucu fokal ya da multifokal, genellikle bilateral ve simetrik olarak karşılaşılan bir bozuktur (2,14,18). Osteokondrozise domuz, at, sığır, kedi, köpek, hindi, rat, tavuk gibi hayvan türlerinde ve insanlarda rastlanmıştır (18,22). Artiküler-epifizyal kıkırdak kompleksinin osteokondrozisi, hastalığın erken dönemini ifade eden ve lezyonların mikroskobik olarak ayırt edilebildiği "osteokondrozis latens", subklinik lezyonların makroskobik ya da radyografik olarak gözlemlendiği "osteokondrozis manifesta" veya oluşan flebin bağlantıda kaldığı ya da yerinden ayrıldığı, tipik

olarak klinik belirtilerin izlendiği devresi olan "osteokondrozis dissekans" gibi farklı isimlerle ifade edilmektedir (2,5,18,27).

Köpeklerde osteokondrozis dissekans (OCD) çoğunlukla humerus başında (16) ve eklem kaudosentral ya da kaudosentral-medial bölgesinde gözlenir. Bununla birlikte, humerus kondilusunun medialinde, femurun lateral ve medial kondilusları ile talusun trohlear kenarının lateralinde ve medialinde de OCD lezyonları oluşabilmektedir (2,15). Genellikle genç ve iri ırktaki erkek köpeklerde karşılaşılan OCD lezyonları (8,9) küçük ve orta boy köpekler (3) ile az sayıda kedide de tespit edilmiştir (2,14,20-22).

OCD'nin etiyolojisi kesin olarak bilinmemektedir ancak kalıtsal faktörler, hızlı büyüme, anatomik yapı, travma ve beslenmenin lezyon oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir (1,27). Köpeklerde klinik belirtiler, daha çok dört-sekiz aylık yaşlarda ortaya çıkan ön bacak topallığı şeklindedir (14).

Hastalığın tanısı radyografi, artrografi, ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) teknikleri ile konulabilmektedir (10,11,13,19,25,26). Radyografi invazif olmayan görüntüleme teknikleri arasında en sık başvurulanıdır (11,26). Özellikle omuz eklemine supinasyon yaptırılmış halde alınan mediolateral radyografilerde (4) humerus başının kaudal kısmında subkondral kemiğin düzensiz ve yassılaştırmış kenar görüntüsü, sklerosis, effüzyon, mineralize flep, gaz ve sekonder dejeneratif değişiklikler rahatlıkla izlenebilmektedir. Bununla birlikte kraniokaudal pozisyonda alınan radyografiler omuz eklemine bu duruma eşlik eden diğer patolojileri ve mineralize fragmentleri saptamada yardımcı olmaktadır (26). Artrografi (23) ve ultrasonografi (13) ise OCD lezyonlarının yanında *m. biceps brachii* tendosunun durumu hakkında fikir vermektedir (26).

Hastalığın sağaltımı konservatif ya da operatif olarak yapılır (2,7,24). Radyolojik olarak küçük subkondral lezyonların izlendiği, eklem faresinin şekillenmediği, orta derecede klinik ağrı belirtisi bulunan ya da asemptomatik seyreden yedi aylıktan küçük köpeklerde konservatif sağaltım uygulanabilir (2,14,24). Konservatif sağaltımda nonsteroid ilaç uygulaması, egzersiz kısıtlaması, glukozamin ve kondroitin sülfat katkısı ve kilo kontrolü önerilmektedir (2).

Osteokondrozisin cerrahi olarak sağaltımı; kırık dak flebinin uzaklaştırılmasının takibinde bölgenin kü-

retaj/debridmanını ya da subkondral kemikte drilleme (osteostixis) ve lavajı içerir (2,17). Son yıllarda yapılan otokondral otogreft transferi çalışmasından da olumlu sonuçlar alındığı bildirilmektedir (6).

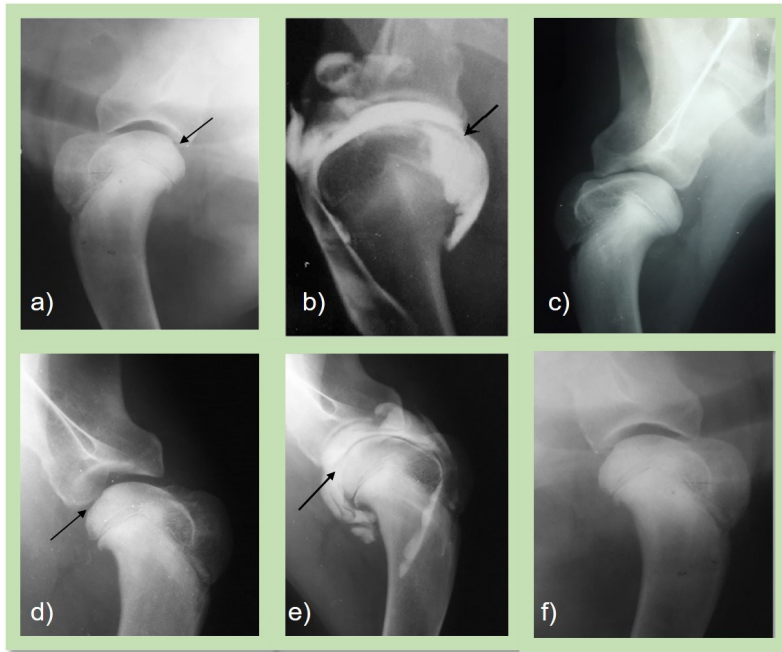
Operatif sağaltım uygulanan köpeklerin konservatif olarak sağaltılanlara göre daha erken iyileşme gösterdikleri bilinmektedir. Operasyondan sonra iyileşme periyodu yaklaşık bir-iki aydır. Hastalığın prognozu operatif sağaltımdan sonra oldukça iyidir. Ancak zamanla omuz eklemine kalıcı, progresif osteoartritis ile bisipital tenosinovitis şekillenebilir (7,14,24).

Bu çalışma ile 10 yıllık süre içerisinde 22 köpekte karşılaşılan humerus başının OCD lezyonunun preoperatif ve postoperatif olarak değerlendirilmesi, sonuçlarının meslek pratiğine aktarılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmanın materyalini 2005 ile 2015 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı'na "ön bacakta topallık" şikayeti ile getirilen değişik ırk, yaş, cinsiyet ve ağırlıktaki toplam 22 köpek oluşturdu. Hastaların ayrıntılı anamnezleri alındıktan sonra ortopedik muayenesi yapıldı ve takiben her iki omuz eklemlerinin kraniokaudal ve mediolateral yönlerde radyografileri alındı.

Direkt radyografide OCD açısından şüpheli bulunan ve fiziksel muayenede effüzyon tespit edilen biri bilateral olmak üzere yedi olguya (olgu no:

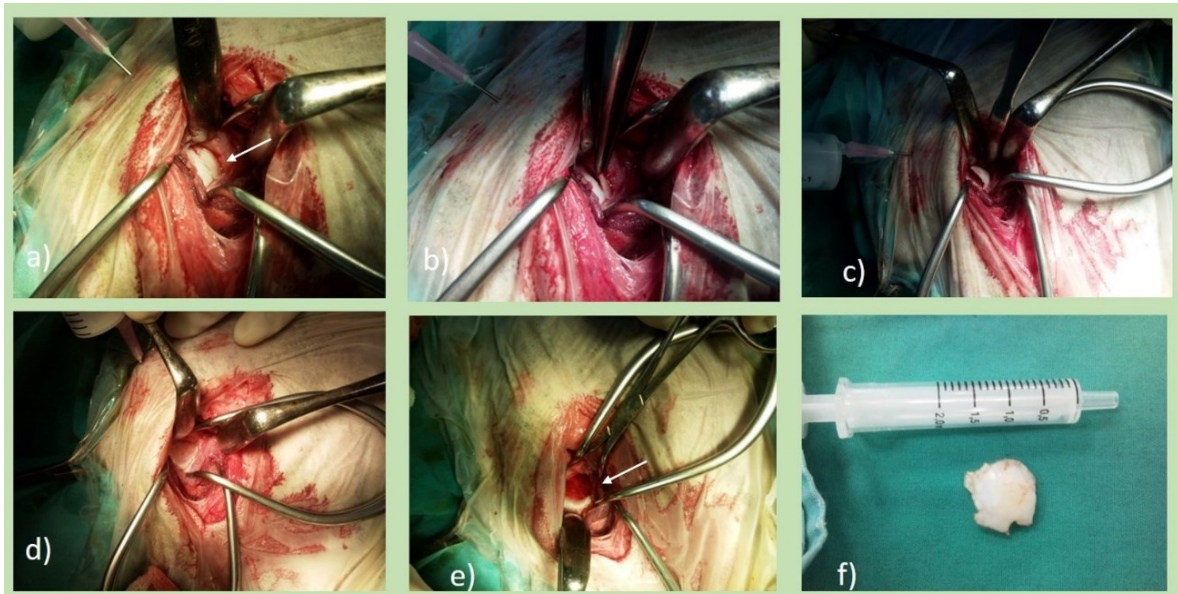


Şekil 1. Altı numaralı olguya ait kraniocentral yerleşimli bilateral OCD lezyonunun preoperatif radyografik ve artrografik ile postoperatif radyografik görüntüsü. a) sağ preoperatif radyografi (siyah ok) b) sağ preoperatif artrografi (siyah ok) c) sağ postoperatif d) sol preoperatif radyografi (siyah ok) e) sol preoperatif artrografi (siyah ok) f) sol postoperatif radyografi

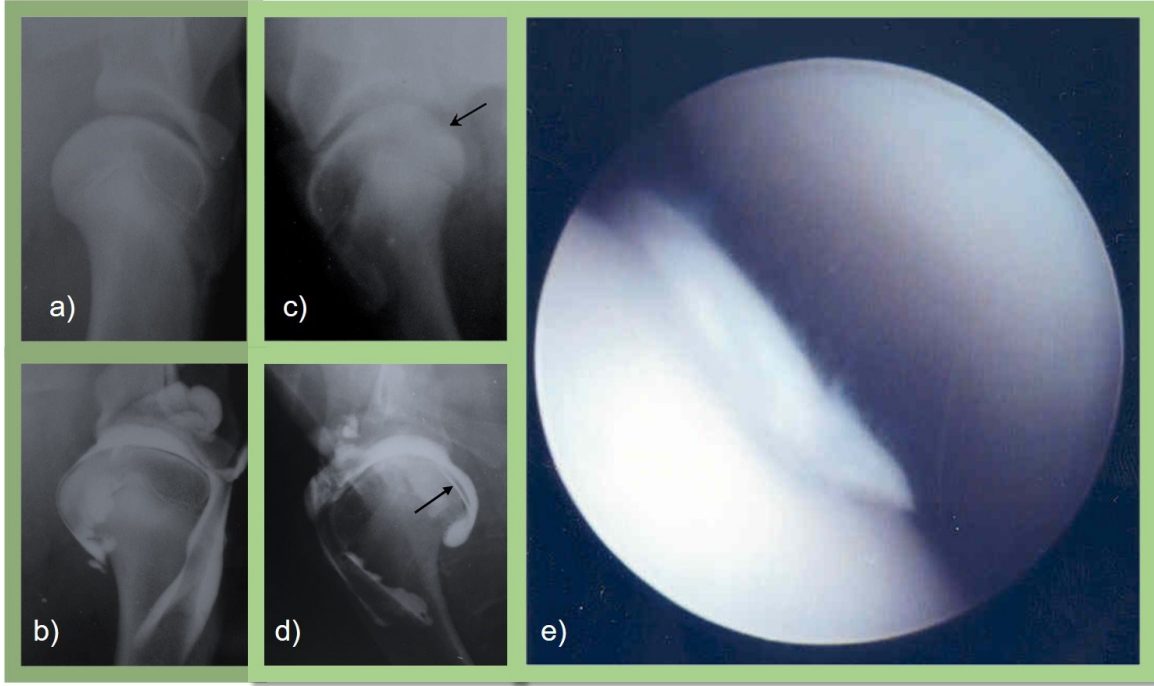
2,3,4,6,9,13,16) *m. biceps* tendosunun durumunu, flap ya da kıkırdağın yapısını görmek için pozitif kontrastlı artrografi yapıldı. Artrografi için Iohexol (Omnipaque, 300mg/100 ml, Opakim®, Almanya) her bir glenohumeral ekleme beş ml olacak şekilde verildi. Direkt radyografi ve artrografi sonrasında operatif sağaltım kararı verilen hastalar, preoperatif laboratuvar bulguları (tam kan sayımı ve biyokimyasal parametreler) değerlendirildikten sonra genel anesteziye alındı. Genel anestezi protokolü; Ksilazin HCl (2mg/kg, IM, Rompun, Bayer®, Almanya) premedikasyonu, Ketamin HCl (10mg/kg, IM, Ketamine, Eczacıbaşı®, Türkiye) indüksiyonunu, takibinde endotrakeal entübasyon, ardından başlangıçta %4 devamında da %2 Isofluran (Forane, 100ml, Abbott, İsviçre) ile kapalı devre inhalasyon anestezisi uygulanacak şekilde tamamlandı. Hastalar genel anesteziye alındıktan sonra sağaltım uygulanacak bacak üstte kalarak yan üstü pozisyonda operasyon masasına yatırıldı.

Genel anesteziye alınan 22 olgunun, beşi bilateral olmak üzere toplam 27 glenohumeral ekleme artrotomi yapıldı. Biri bilateral olmak üzere dört olgunun da (olgu no: 2,3,6,9) glenohumeral eklemine artrotomi öncesinde artroskopi yapıldı. Artroskopi işlemi için; eklem girilecek noktaları tespit etmek amacıyla tuberkulum major ile prosesus glenoidus arasına ve akromiyon ile kaput humeri arasına birer kanül yerleştirildi. Eklem içine sekiz-on ml kadar irrigasyon sıvısı (%0.9 NaCl) verilerek eklem şişirildi. Eklem artroskopu yerleştirmek için kullanılan anatomik noktalar doğrultusunda bir bistüri

ile akromion'un bir cm kaudodistaline deri ensizyonu yapıldı ve eklem boşluğuna sivri uçlu trokar ile girildi. Trokar kınından çıkartıldıktan sonra artroskop ve bağlantıları takılarak eklem artroskopik muayenesi, eklem yapılarının değerlendirilip lezyonun lokalizasyonunun kesinleştirilmesiyle son buldu. Artrotomi için; kaudolateral bölgede dört-sekiz cm'lik bir deri ensizyonu yapıldı. Deri altı dokuların disseksiyonu yapıp *m.teres minor* kraniale doğru ekarte edildikten sonra kapsula da eklem paralel olarak kesildi ve eklem ulaşıldı. OCD flebi ve bölgedeki nekrotik dokular uzaklaştırıldı. Kaput humeri üzerindeki defekt bir küret yardımı ile kanama oluşuncaya kadar kazındı (Bir-iki mm). Bol miktarda serum fizyolojik ile eklem içi yıkanarak eklem kapsulası dikildi. Bölge rutin cerrahi kurallar dahilinde kapatıldı. Olguların profilaktik sistemik antibiyoterapisi bir hafta süreyle Seftriakson 20-40mg/kg (Forsef, IM, 1000 mg/mL Bilim İlaç, Türkiye) dozunda sağlandı. Hasta sahipleri dört hafta süre ile köpeklerinin hareketlerini kısıtlamaları gerektiği konusunda uyarıldı. Bilateral OCD lezyonu bulunan hastalarda artrotomi işlemi tek tarafın fonksiyonel iyileşmesi tamamlandıktan sonra yapıldı. Postoperatif klinik ve radyolojik 10., 30., 45., ve 60. günlerde yapılan klinik muayeneyle fonksiyonel iyileşme ve alınan radyografilerle eklemdeki değişiklikler değerlendirildi.



Şekil 3. Dokuz numaralı olgunun artrotomi sırasında a) kaput humeri'ye yapışık haldeki OCD flebi (beyaz ok), b-c) flebin kaldırılması d) flep uzaklaştırıldıktan sonra e) bölgenin küretajından sonra (beyaz ok) ve postoperatif olarak alınan flep görüntüleri.



Şekil 2. Dokuz numaralı olgunun sağlam sol glenohumeral ekleme ait a) radyografik b) arthrografik görüntüsü. Olgunun sağ glenohumeral eklemine ait OCD lezyonunun c) radyografik (siyah ok), d) arthrografik, e) artroskopik görüntüsü.

Bulgular

Olgulara ait ırk, cinsiyet, yaş, tanı yöntemi, lezyonun lokalizasyonu ve fonksiyonel iyileşme sürecine ait bilgiler tablo1'de verilmiştir.

Hasta sahiplerinden alınan anamnezde, köpeklerinin aktivitelerinin azaldığı bununla birlikte ön bacakta/bacaklarda kimi hastalarda aralıklı, kiminde birdenbire başlayan sürekli topallık olduğu belirlendi. Olguların fiziksel muayenelerinde özellikle *m. supraspinatus*, *m. infraspinatus* ve *m. deltoideus* kaslarında hafif/orta derecede atrofi gözlemlendi. Omuz eklemine fleksiyon veya ekstensiyon yapıldığında şiddetli ağrı reaksiyonu saptandı.

Supinasyon yaptırılarak mediolateral ve kraniokaudal yönde alınan direkt radyografilerde yedi olgunun biri bilateral olmak üzere lezyonlar OCD açısından şüpheli bulundu. Bununla birlikte bu yedi olgunun dördünde (olgu no: 4,6,9,16) fiziksel muayenede şiddetli effüzyon mevcuttu. Olguların tamamında eklem aralığının arttığı gözlemlendi. Olguların ikisinde (olgu no: 20,21) humerus başının posterior kenarında osteofitik üremeler tespit edildi. Artrografide lezyonlu tarafın kontralateralindeki normal eklemden kontrast maddenin düzgün ve pürüzsüz, OCD lezyonunun bulunduğu bölgede ise kontrast maddenin eklem yüzeyinde bozuk, düzensiz bir şekilde dağıldığı izlendi. Bununla birlikte *m. biceps* tendosunun hasara uğramadığı görüldü.

OCD tanısı konulan olguların yaş ortalaması dokuz buçuk ay idi. Çalışmadaki 22 olgunun yaşları 10 aylıktan büyük beş tanesinde (olgu no: 6,8,11,17,20) lezyonlar bilateral olarak bulunmaktaydı. OCD lezyonları, üç olguda unilateral olarak kaput humeri'nin kaudosentral-medialinde, geri kalan 19 olguda ise kaudosentral yerleşim göstermekteydi. Olguların lezyonlu eklemlerinin kraniokaudal yönde alınan radyografilerinde hiçbir eklem içerisinde serbest halde mineralize fragmente rastlanmadı. Beş olgunun yapılan artroskopik muayenelerinde lezyonun bulunduğu bölge dışında glenoid kavitede herhangi bir lezyon yoktu. Artrotomi sırasında bir olgu (olgu no:18) dışındaki tüm olgularda OCD flepleri kaput humeri'ye yapışık halde bulunmaktaydı.

Olguların tamamının artrotomi yapılarak flebin uzaklaştırılması ve bölgenin küretajının ardından üç-beş gün içinde parmak ucuyla basmaya başladığı, yaklaşık 15-25 gün içinde ise hafif topallık göstererek ekstremitelerini kullandığı gözlemlendi. Unilateral olgularda fonksiyonel iyileşme zamanı lezyonun kaudosentral-medial yerleşim gösteren olgularda ortalama 37 gün, kaudosentral yerleşim gösteren olgularda ise 47 gün olarak tespit edildi. Bilateral olgularda fonksiyonel iyileşme zamanı ise 46 gün olarak belirlendi.

Tablo 1. Yirmi iki olgunun ırk, yaş, cinsiyet, tanı yöntemi, lezyonun bulunduğu taraf, lezyonun yeri, sağaltım şekli ve fonksiyonel iyileşme gününe ait veriler.

Olgu	İrk	Yaş	Cinsiyet	Tanı	Lezyon tarafı	Lezyon yeri	Sağaltım	Fonksiyonel İyileşme (gün)	
1	Kangal	6	♂	A	R	KS	Artrotomi	45	
2	Alman Kurdu	9	♀	A, B, C	L	KS	"	45	
3	Danua	8	♂	A, B, C	R	KS	"	50	
4	Kangal	9	♂	A, B, C	R	KS	"	40	
5	Kangal	10	♂	A	L	KS	"	50	
6	Kangal	13	♀	A, B	B	KS	"	50	55
7	İngiliz Setter	9	♀	A	R	KS	"	45	
8	Danua	12	♂	A	B	KS	"	45	50
9	Kangal	7	♀	A, B, C	R	KS	"	45	
10	Boxer	9	♂	A	R	KSM	"	30	
11	İngiliz Setter	11	♂	A	B	KS	"	45	40
12	Kangal	7	♀	A	L	KS	"	45	
13	Alabay	10	♂	A, B	L	KSM	"	40	
14	Dalmaçyalı	6	♂	A	R	KS	"	45	
15	Saint Bernard	7	♂	A	L	KS	"	45	
16	Kangal	8	♂	A, B	L	KS	"	50	
17	Alman Kurdu	10	♀	A	B	KS	"	45	45
18	Golden Retriever	11	♀	A	L	KS	"	60	
19	Kangal	9	♀	A	R	KSM	"	40	
20	Kangal	13	♂	A	B	KS	"	50	40
21	New Found-land	16	♂	A	L	KS	"	45	
22	Kangal	9	♀	A	R	KS	"	45	

KS: kaudosentral, KSM: kaudosentral-medial, A: direkt radyografi, B: pozitif kontrastlı radyografi, C: artroskopi

Tartışma ve Sonuç

Radyografi, MRG ve ultrasonografi köpeklerde görülen OCD lezyonlarının tanısında en sık kullanılan yöntemlerdendir. Tanısal hassasiyet, spesiflik, hatasızlık/doğruluk ölçütlerine göre yapılan çalışmada MRG ultrasonografiye göre 3.2, radyografiye göre ise iki kat üstün bulunmuştur (26). Sunulan çalışmada, hasta sahiplerinin tümüne MRG

önerilmiş ancak ekonomik nedenlerden ötürü kabul edilmemiştir. Bununla birlikte, bir olgu dışındaki artrotomi öncesinde tanıya yönelik olarak yapılan gerek direkt radyografi, gerekse artrografi ve artroskopi bulguları, artrotomi sırasındaki bulgularla uyumlu bulunmuştur. Onsekiz numaralı olgunun preoperatif mediolateral ve kraniokaudal yönlerde alınan direkt radyografilerinde humerus başının

kaudosentralinde tespit edilen OCD lezyonunun humerus başından ayrılmış bir flep halinde olmadığı gözlenmiştir. Lezyon tespitinden dört gün sonra gerçekleşen artrotomi sırasında daha önce OCD lezyonu tespit edilen bölgeden flebin ayrıldığı belirlenmiştir. Eklem boşluğunda serbest halde bulunan flep yapılan irrigasyonla yüzeye çıkartılıp uzaklaştırılmıştır. Operasyon sonrası hasta sahibiyle yapılan görüşmede, söz konusu dört gün içinde topallığın artıp artmadığı sorulduğunda, herhangi bir fark göremediklerini ifade etmişlerdir.

Bilateral OCD lezyonu bulunan beş olgu 10 aylık ve üzerindedir. Her ne kadar OCD'ye bağlı klinik belirtilerin köpeklerde dört-sekiz aylıkken ortaya çıktığı (14) belirtilse de lezyonların çift taraflı olması, köpeklerin her iki bacağını da kullanabiliyor olmasından ötürü hasta sahipleri tarafından belirtilerin fark edilmesini geciktirebilmektedir.

Çalışmadaki olguların ortalama yaşı ile erkek cinsiyetinin fazlalığı literatür (2,8,14) verileriyle uyumludur. Bununla birlikte lezyonun kaudosentral-medial yerleşimli olduğu olgularda fonksiyonel iyileşme süresinin yaklaşık on gün kadar kısa olması da, literatür (17) verileriyle uyumludur. Bu hastalarda topallığın daha hafif düzeyde olması olumlu bir fark olarak değerlendirilmiş ve bu durumun eklem, kaudosentral-medialinde daha az yük altında kalmasından ötürü olduğu yönünde değerlendirilmiştir.

OCD oluşumuna sebep olabilecek birçok faktör (hızlı büyüme, kalıtsallık, anatomik özellikler, travma, beslenme) sıralanmıştır (1,8,12,27). Son yıllarda ise domuzlarda ve tavuklarda yapılan deneysel çalışmalarda bakteriyeminin vaskülarizasyonu çökertip osteokondrozis ya da iskemik kondronekrozise yol açabildiği düşünülmüştür. Yapılan gözlemsel çalışmalarda bakteriyeminin atlarda da hastalığa yol açabileceği görüşü hakimdir (18). Çalışmamızdaki olguların hiçbirinde preoperatif laboratuvar değerlendirmelerinde bakteriyemiye ait bir bulguya rastlanmamıştır. Aynı zamanda daha önce geçirilmiş bir enfeksiyonun varlığına dair bilgi de bulunmamaktadır. Bunun yanısıra, olgulardan ikisinin direkt travmaya uğramış olması, altısında ise indirekt travmatik etkenlerden etkilenmesinin (sert zemin) OCD lezyonlarının oluşumunda tetikleyici rol oynadığı düşünülmüştür. Çalışmadaki ırk ve cinsiyet dağılımına bakıldığında Kangal ırkının hızlı büyüme oranı ve erkek köpeklerin (14) fazlalığı literatür verileriyle uyumlu bulundu.

Hızlı büyüme oranının OCD lezyonunun gelişimine neden olabilecek faktörlerden biri olduğu bilinmektedir (12). Hasta sahiplerinden alınan anamnezde özellikle Kangal ırkı köpeklerin dört-altı aylık dönemde çok hızlı büyüme gösterdikleri anlaşılmıştır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda OCD lezyonu-

nun görüldüğü ırklar arasında belirtilmemiş olan Kangal ırkı sunulan bu çalışmada en sık rastlanan ırk olmasından ötürü dikkat çekici bulunmuştur.

Klinik olarak önem taşıyan OCD lezyonları iri ırk köpeklerin ön bacak topallıklarının önemli bir kısmının nedenini oluşturur. Sunulan bu çalışmada, OCD'ye bağlı lezyonları bulunan köpeklerin erken tanı ve uygun bir sağaltımla sorunsuz bir şekilde iyileşebilecekleri sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

1. Biezyński J, Skrzypczak P, Piatek A, Kosciółek N, Drozdzyńska M. Assessment of treatment of osteochondrosis dissecans (OCD) of shoulder joint in dogs – the results of two years of experience. *Pol J Vet Sci* 2012; 15(2): 285-90.
2. Breur GJ, Lembrechts NE. Osteochondrosis. Tobias MK, Johnston AS. eds. In: *Veterinary Surgery Small Animal*. Missouri: Saunders, 2012; pp. 1178-90.
3. Bruggeman M, Van Vynck D, Van Ryssen B, Bolln G, Chiers K, Gielen I, de Rooster H. Osteochondritis dissecans of the humeral head in two small-breed dogs. *Vet Rec* 2010; 166(5): 139-41.
4. Callahan TF, Ackerman N. The supinated mediolateral radiograph for detection of humeral head osteochondrosis in the dog. *Vet Radiol* 1985; 26: 144-8.
5. Craig PH, Riser WH. Osteochondritis dissecans in the proximal humerus of the dog. *J Am Vet Radiol* 1965; 6: 40-9.
6. Fitzpatrick N, van Terheijden C, Yeadon R, Smith TJ. Osteochondral autograft transfer for treatment of osteochondritis dissecans of the caudocentral humeral head in dogs. *Vet Surg* 2010; 39(8): 925-35.
7. Johnson AL. Growth Deformities. Olmstead ML. eds. In: *Small Animal Orthopaedics*. Philadelphia: Mosby, 1995; pp. 293-309.
8. Johnston AS. Osteochondritis dissecans of the humeral head. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1998; 28(1): 33-49.
9. Kuroki K, Cook JL, Tomlinson JL, Kreeger JM. In vitro characterization of chondrocytes isolated from naturally occurring osteochondrosis lesions of the humeral head of dogs. *Am J Vet Res* 2002; 63(2): 186-93.
10. Kippenes H, Johnston G. Diagnostic imaging of osteochondrosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1998; 28(1): 137-60.
11. Lande R, Reese SL, Cuddy LC, Berry CR, Pozzi A. Prevalence of computed tomographic subchondral bone lesions in the scapulohumeral joint of 32 immature dogs with thoracic limb lameness. *Vet Radiol Ultrasound* 2014; 55(1):

- 23-8.
12. Leighton RL. Historical perspectives of osteochondrosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1998; 28(1): 1-16.
 13. Mistieri MLA, Pascon JPE, Duarte AC. Diagnostic ultrasonography of the shoulder in dogs: scan techniques and common findings. *Semin-Cienc Agrar* 2015; 36(5): 3245-56.
 14. Morgan JP, Wind A, Davidson AP, eds. *Hereditary Bone and Joint Diseases in the Dog: Osteochondroses, Hip Dysplasia, Elbow Dysplasia*. First Edition. Hannover: Schlütersche GmbH&Co. KG, 2000; pp.21-3.
 15. Necas A, Dvorak M, Zatloukal J. Incidence of osteochondrosis in dogs and its late diagnosis. *Acta Vet Brno* 1999; 68(2): 131-9.
 16. Novotny D, Runyon CL. Osteochondrosis dissecans in the dog. *Iowa State University Veterinarian*. 1986; 48(1): 12
 17. Olivieri M, Ciliberto E, Hulse AD, Vezzoni A, Ingravalle F, Peirone B. Arthroscopic treatment of osteochondritis dissecans of the shoulder in 126 dogs. *Vet Comp Orthopaed* 2007; 20(1): 65-9.
 18. Olstad K, Ekman S, Carlson CS. An update on the pathogenesis of osteochondrosis. *Vet Pathol* 2015; 52(5): 785-802.
 19. Orellana-Jaimes N, Ginja MM, Roman-Llorens FS, Garcia-Gomez M, Orden MA, Altonaga JR, Gonzalo-Orden JM. Magnetic resonance imaging: findings of osteochondrosis like-lesions in glenoid fossa and proximal humeral metaphyses in a dog: A case report. *Vet Med-Chzech* 2015; 60(7): 387-90.
 20. Peterson CJ. Osteochondritis dissecans of the humeral head of a cat. *NZ Vet J* 1984; 32(7): 115-6.
 21. Ralphs SC. Bilateral stifle osteochondritis dissecans in a cat. *J Am Anim Hosp Assoc* 2005; 41(1):78-80.
 22. Schwarze RA, Tano CA, Carroll VW. Glenoid dysplasia and osteochondritis dissecans in a cat. *Can Vet J* 2015; 56(7): 749-52.
 23. Story EC. Prognostic value of arthrography in canine shoulder osteochondrosis (osteochondritis) dissecans. *Vet Clin North Am* 1978; 8: 30-308.
 24. Trostel CT, McLaughlin RM, Pool RR. Canine lameness caused by developmental diseases: osteochondrosis. *Compendium Cont Ed Pract* 2002; 24: 836-54.
 25. Van Bree HJ, Van Ryssen B. Diagnostic and surgical arthroscopy in osteochondrosis lesions. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1998; 28(1): 161-89.
 26. Wall CR, Cristi R. Cook CR, Cook JI. Diagnos-

tic sensitivity of radiography, ultrasonography, and magnetic resonance imaging for detecting shoulder osteochondrosis/osteochondritis dissecans in dogs. *Vet Radiol Ultrasound* 2015; 56(1): 3-11.

27. Ytrehus B, Carlson CS, Ekman S. Etiology and pathogenesis of osteochondrosis. *Vet Pathol* 2007; 44(4): 429-48.

Yazışma Adresi:

Arş. Gör. Dr. Didar AYDIN KAYA
İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi,
Cerrahi Anabilim Dalı,
Avcılar Yerleşkesi, 34320, İstanbul-Türkiye
Tel: 212 4737070/ 17291, GSM: 532 3921994
E-posta: didaraydin@hotmail.com



Kefirin Broiler Etinin Bazı Mikrobiyolojik ve Fizikokimyasal Özelliklerine Etkisi*

Güler YENİCE¹, Hayrunnisa ÖZLÜ², Sevda URÇAR², Mustafa ATASEVER²,
Meryem AYDEMİR ATASEVER²

¹Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları ABD, Erzurum-TÜRKİYE

²Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi ABD, Erzurum-TÜRKİYE

Özet: Çalışmada, broiler içme suyuna farklı oranlarda ilave edilen kefirin, kanatlı etinin bazı mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özelliklerine etkisi araştırıldı. Ross 308 erkek broiler civciv 45 gün süreyle basal rasyonla beslendi. Hayvanlar, K (kontrol), K5 (5 mL kefir/L su), K10 (10 mL kefir/L su) olmak üzere üç gruba ayrıldı. Çalışmanın 35-45 günleri arasında K5 ve K10 gruplarına farklı oranlarda kefir ilave edilmiş içme suyu *ad libitum* olarak verildi. Beslenme periyodu sonunda kesilen broilerin göğüs ve bagnet etleri paketlenerek 2°C'de 24 saat depolandı. Süre sonunda toplam mezofil aerob bakteri (TMAB), toplam psikrofil aerob bakteri (TPAB), koliform bakteri, *Lactobacillus* spp. ve *Staphylococcus/Micrococcus* spp. sayısı ile pH, su aktivitesi (a_w) ve renk parametreleri (L^* , a^* , b^*) araştırıldı. Göğüs et örneklerinde *Lactobacillus* spp. yükü gruplar arasında istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur ($p<0.001$). Ayrıca göğüs ve but et örneklerinde TMAB, TPAB, koliform bakteri, *Lactobacillus* spp. ve *Staphylococcus/Micrococcus* spp. sayısının gruplar arasında istatitiki olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($p<0.05$). İçme suyuna %10 oranında kefir ilavesinin broiler etinin bakteriyel yükünü, %5 ve kontrol grubuna göre azalttığı belirlenmiştir. Fizikokimyasal özelliklerden ise sadece renk parametrelerinde sınırlı bir etkisi görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Broiler, et kalitesi, kefir, probiyotik

Effects of Kefir on Some Microbiological and Physicochemical Characteristic of Broiler Meat

Summary: In this study, the effects of kefir, added in different amounts to the drinking water of broilers on some microbiological and physico-chemical properties of poultry meat were investigated. Male Ross-308 broiler chicks were fed on the basal ration for 45 days. Broilers were separated into three groups including K (control), K5 (5 mL kefir / liter of water), K10 (10 mL kefir / liter of water). Between 35 and 45 days of study water with added in different amount of kefir *ad libitum* was given to K5 and K10 groups. After the feeding period the breast and drumstick meats derived from slaughtered broilers were packed and stored 24 h at 2 °C. After end of period the count of total mesophilic aerobic bacteria (TMAB), total psychrotrophic aerobic bacteria (TPAB), coliform bacteria, *Lactobacillus* spp. and *Staphylococcus/Micrococcus* spp., and pH, water activity (a_w) and colour parameters (L^* , a^* , b^*) were investigated. The count of *Lactobacillus* spp. of breast meat samples were found statistically important differences between the groups ($p<0.001$). Furthermore the count of TMAB, TPAB, coliform bacteria, *Lactobacillus* spp. and *Staphylococcus/Micrococcus* spp. of breast and drumstick meat samples were found statistically important differences between the groups ($p<0.05$). Ten percentage of kefir addition to the drinking water reduced the bacterial count of broiler meat compared to the 5% and control groups. It was observed that kefir applications had a limited effect on the color parameters among the other physicochemical properties.

Key words: Broiler, kefir, meat quality, probiotic

Giriş

Dengeli ve sağlıklı bir beslenme için alınan proteinin miktarı kadar niteliği de önem taşımaktadır. Biyolojik değerinin yüksek olması nedeniyle, hayvansal proteinin, günlük protein miktarının yaklaşık %40-50'sini oluşturması önerilmektedir (14). Hayvansal protein denilince ilk akla gelen kırmızı ve beyaz ettir. Tüketiciler tarafından kırmızı et lezzet

açısından talep görürken (24) beyaz et daha çok ekonomi ve sağlıkla (8) ilgili gerekçeler nedeniyle talep görmektedir.

Sağlıklı beslenme yönünde insanların gün geçtikçe bilinçlenmesi ve yem katkı maddesi olarak antibiyotik kullanımının kısıtlanması nedeniyle alternatif uygulamalar güncellik kazanmıştır. Bu uygulamalardan biri de probiyotiklerdir. Probiyotikler sağlık için yararlı, canlı mikroorganizmalar olup zararlı mikroorganizmaların ortamda çoğalmasını engellemektedir (23). Kefir, kefir granüllerinin içerdiği maya ve bakterilerin faaliyetleri sonucu üretilen fermente bir süt ürünüdür ve yapısı itibarıyla doğal bir probiyotiktir (11). İçme suyuna %2 oranında ilave

Geliş Tarihi/Submission Date :12.04.2016

Kabul Tarihi/Accepted Date : 28.04.2016

*: Bu çalışma IV. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu'nda poster olarak sunulmuştur.

edilen kefirin Broilerde büyüme performansını geliştirdiği ve Broiler diyetinde probiyotik olarak kullanılabilmesi bildirilmektedir (26). Karademir ve Ünal (15) Broiler içme suyuna katılan kefirin canlı ağırlık kazancını, yemden yararlanma oranını ve karkas randımanını iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Cho ve ark. (7) ise broilerde %0.1 oranında kullanılan kefirin büyüme performansı ve et kalitesini olumlu etkilediğini bildirmişlerdir. Yenice ve ark. (30) kefirin yumurtacı tavukların içme suyuna ilavesinin kalın bağırsak pH'sını ve mikrobiyolojik yükünü önemli düzeyde azalttığını bildirmişlerdir. Çalışmalarda probiyotikler genellikle uzun süreli uygulanmaktadır (1,7,15,26). Bu çalışmada, probiyotik olarak kullanılan kefirin kesimden önce 10 gün süreyle broiler içme suyuna ilavesinin kanatlı et kalitesine etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Hayvan Grupları

Denemenin hayvan materyalini her bir grupta 10 hayvan olmak üzere, toplam 30 adet Ross 308 Broiler piliç oluşturdu. Hayvanlar, K (kontrol), K5 (5 mL kefir/L su), K10 (10 mL kefir/L su) olmak üzere üç gruba ayrıldı. Tüm gruplara 0-3. hafta arası dönemde etlik civciv başlangıç yemi (%23 HP, 3000 Kcal/kg ME), 4-6. haftalar arası etlik piliç büyütme-bitirme yemi (%20 HP, 3100 Kcal/kg ME) *ad libitum* olarak verildi. Çalışmanın 35-45 günleri arasında K5 ve K10 gruplarına farklı oranlarda kefir ilave edilmiş içme suyu *ad libitum* olarak verildi. Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Komitesi (2015/156 Kararı) tarafından onaylandı.

Kefir Materyalinin Analizi

Laktobasillerin izolasyonu için de Man, Rogosa ve Sharpe (MRS, Merck, Almanya) agar besiyerine damla plak yöntemiyle ekim yapılmış olup, plaklar 30 °C'de 48 saat anaerob olarak inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda üreyen beyaz ve opak görünümlü kolonilere katalaz testi yapılmıştır. Katalaz negatif olan koloniler API CH50 ile tanımlanmıştır. Maya türlerinin izolasyonu için Rose-Bengal Chloramphenicol (RBC, Merck, Almanya) agar besiyerine damla plak yöntemi ile ekim yapılarak, plaklar aerob koşullarda 25°C'de 3-5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda besiyerinde oluşan maya kolonileri VITEK2 Compact sisteminde (Fransa) tanımlanmıştır (21).

Et kalitesinin belirlenmesi

Besi döneminin sonunda bütün hayvanlar kesildi. Hayvanların kesimi denemenin yürütüldüğü alana yakın mesafede bulunan kesim alanında gerçekleştirildi. Böylece taşıma stresinin olası etkileri mi-

nimuma indirildi. Mikrobiyal kontaminasyonun engellenmesi için kesim alanı ve kesim için kullanılan malzemelerin sterilizasyonu sağlandı. Her bir kesim öncesi alkolle yıkama ve alevden geçirme işlemleri ile kesimde kullanılan bıçağın sterilizasyonu sağlandı. Kesim sonrası karkastan alınan göğüs ve but eti örnekleri +4°C de 24 saat depolandı. Örneklerin pH ölçümleri Gökalp ve ark. (12)'in bildirdiği metoda göre yapıldı. Göğüs ve but etlerinin kesit yüzeyi renk yoğunlukları (L *, a *, b *) Minolta kolorimetre (CR-200, Minolta Co., Osaka, Japonya) ile belirlendi. Örneklerin toplam mezofil aerob bakteri, toplam psikrofil aerob bakteri, Koliform, *Lactobacillus* spp., *Micrococcus/Staphylococcus* spp. sayımı Baumgart ve ark. (5) tarafından bildirilen metoda göre yapılmıştır. Buna göre 25 g et örneği 225 mL sterilize ringeri suda homojenize edilerek diğer solüsyonlar hazırlanmıştır. Ekimlerde yayma yöntemi kullanılmıştır. Toplam mezofil aerob bakteri (TMAB) sayısı PCA (Plate Count Agar, Merck, Almanya) besiyerinde belirlenmiştir. Petri aerobik olarak 30±1°C de 72+1 saat inkübe edilmiştir. Toplam psikrofil aerob bakteri (TPAB) sayısı PCA besiyerinde belirlenmiş olup, petri aerobik olarak 7 ± 1°C de 10 gün inkübe edilmiştir. Koliform sayısı uygun dilüsyonlardan VRBA (Violet Red Bile Agar, Merck) besiyerine 0.1'er ml aktararak ekim yapılmıştır. Petri plakları 30°C'de iki gün anaerobik şartlarda inkübe edilmiştir. *Micrococcus/Staphylococcus* sayısı, MSA (Mannitol Salt Agar, Merck, Almanya) besiyerinde belirlenmiş olup petri aerobik olarak 30±1°C de 48±1 saat inkübe edilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi, SPSS 19.0 (SPSS, Inc., Chicago, ABD., for Mac OS X) paket programı ile yapılmıştır. Gruplara ait istatistik hesaplamalar ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılığın önem kontrolü için tek yönlü varyans analizi (ANOVA), gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır.

Bulgular

Çalışmada kullanılan kefir materyalinin mikrobiyolojik analizi sonucunda; *Candida kefyr*, *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei*, *Lactobacillus plantarum* ve *Leuconostoc lactis* tespit edilmiştir. Farklı oranlarda kefir uygulamasının etlik piliçlerin göğüs ve but eti mikrobiyal yükü üzerine etkisi Tablo 1'de, et kalite özelliklerine etkisi Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1. Kefir uygulamasının broiler göğüs ve but etlerinin mikrobiyal yüküne etkisi (log cfu g⁻¹, Ortalama±SE)

Gruplar	TMAB	TPAB	Koliform	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Micrococcus/Staphylococcus</i> spp.
Kontrol (n:10)	5.45±0.16 ^a	4.56±0.10 ^a	3.29±0.09 ^b	5.31±0.09 ^a	4.20±0.22 ^{ab}
%5 kefir (n:10)	5.57±0.11 ^a	4.79±0.16 ^a	3.69±0.08 ^a	5.39±0.10 ^a	4.49±0.22 ^a
Gögüs %10 kefir (n:10)	4.73±0.30 ^b	4.08±0.17 ^b	3.59±0.07 ^a	4.21±0.15 ^b	3.64±0.17 ^b
Toplam (n:30)	5.25±0.15	4.48±0.11	3.52±0.06	4.97±0.16	4.11±0.14
P	*	*	*	**	*
Kontrol (n:10)	5.58±0.27 ^b	5.53±0.24 ^{ab}	4.39±0.14 ^b	9.59±1.25 ^{ab}	5.38±0.06 ^a
%5 kefir (n:10)	6.66±0.15 ^a	6.13±0.45 ^a	4.73±0.07 ^a	10.20±0.73 ^a	5.61±0.30 ^a
But %10 kefir (n:10)	5.29±0.48 ^b	4.65±0.06 ^b	4.61±0.02 ^{ab}	9.45±0.66 ^b	4.54±0.38 ^b
Toplam (n:30)	5.84±0.24	5.43±0.23	4.56±0.24	9.75±0.52	5.18±0.19
P	*	*	*	*	*

^{ab}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında istatistiki açıdan fark bulunmaktadır.

TMAB: *Toplam mezofil aerob* bakteri, TPAB: *Toplam psikrofil aerob* bakteri.

* : p<0.05, ** : p<0.001

Tablo 2. Kefir uygulamasının broiler göğüs ve but etlerinde bazı fizikokimyasal parametreler üzerine etkisi

Gruplar	pH	Su Aktivitesi	L*	a*	b*
Kontrol (n:10)	5.59±0.05	0.994±0.001	51.62±1.08	3.27±0.32 ^b	5.38±0.46
%5 kefir (n:10)	5.61±0.03	0.997±0.003	52.68±1.72	6.14±1.29 ^a	5.45±0.27
Gögüs %10 kefir (n:10)	5.55±0.03	0.998±0.002	54.16±1.41	2.57±0.44 ^b	4.93±0.59
Toplam (n:30)	5.58±0.09	0.997±0.001	52.82±0.82	3.99±0.53	5.25±0.26
P	NS	NS	NS	*	NS
Kontrol (n:10)	5.82±0.06	0.997±0.001	53.55±1.11	9.59±1.25	6.24±0.45
%5 kefir (n:10)	5.77±0.01	0.996±0.001	54.15±1.05	10.20±0.73	6.55±0.40
But %10 kefir (n:10)	5.84±0.09	1.005±0.007	57.04±1.30	9.45±0.66	6.44±0.62
Toplam (n:30)	5.81±0.03	1.000±0.003	54.91±0.70	9.75±0.52	6.41±0.28
P	NS	NS	NS	NS	NS

ab: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında istatistiki açıdan fark bulunmaktadır.

L*: parlaklık, a*: kırmızılık, b*: sarılık.

* : p<0.05, ** : p<0.001, NS: İstatistiksel açıdan gruplar arasında fark bulunmamaktadır.

Derisiz göğüs etinde a (kırmızılık) değeri bakımından %5 kefir uygulanan gruba ait etler diğer gruplara göre daha kırmızı renk gösterirken ($p<0.05$) derisiz göğüs ve but etlerinde pH, su aktivitesi, sarılık ve parlaklık değerleri bakımından gruplar arasında fark gözlenmemiştir.

Derisiz göğüs etinde %10 kefir uygulanan grupta TMAB ve TPAB sayısının diğer gruplara göre önemli derecede ($p<0.05$) düşük olduğu gözlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Sindirim kanalında faydalı mikroorganizmaların sayısını artırarak ve ortam pH sını düşürerek etki gösteren probiyotiklerin kanatlı hayvan sektöründe antibiyotiklere alternatif olarak sağlığı, performansı ve et kalitesini artırmak amacıyla kullanılabileceği düşünülmekte ve bu konuda birçok çalışma yapılmaktadır (6,19,20,25). Probiyotiklerin performans üzerine etkinliği bu mikroorganizmaların bileşimi, canlılığı, uygulama düzeyi, uygulama yöntemi, diyet, hayvanın yaşı, türü ve çevresel etkiler gibi birçok faktöre bağlıdır (18,28). Probiyotikler rasyona (6,20) veya içme suyuna (15,19,30) ilave edilerek kullanılabilmektedir. Bu çalışmada probiyotik olarak kullanılan kefirin likit yapısı nedeniyle içme suyuna ilavesi tercih edilmiştir.

Et kalitesini etkileyen faktörlerden biri de etin mikrobiyal yüküdür. Ette bulunan bazı mikroorganizmalar et kalitesini bozmakta, raf ömrünü kısaltmakta ve insan sağlığı için bir risk oluşturmaktadır. Probiyotiklerin başlıca işlevlerinden biri bağırsak mukozasında patojen kolonizasyonunu azaltmak / önlemektir (10). Bu özellikleri ile kesim sırasında etin enterik patojenlerle kontaminasyon riskini azalttıkları söylenebilir. Yenice ve ark. (30) kefirin yumurtacı tavuklarda bağırsakların mikrobiyal yükünü önemli düzeyde azalttığını bildirmişlerdir. Probiyotik bir ürün olan kefirin gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal etkisi üzerine yapılan *in vitro* bir çalışmada kefirin gıda teknolojisinde iyi bir antimikrobiyal ajan olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (27). Çalışmada göğüs etinde %10 kefir ilavesinin toplam mezofil aerob bakteri ve toplam psikrofil aerob bakteri sayısını kontrole göre önemli derecede düşürdüğü tespit edilmiştir. But et örneklerinde *Lactobacillus* spp. miktarının göğüs etlerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bulguların Aksu ve ark.'ın (1) çalışmalarında elde ettikleri sonuçlarla uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Ete ait renk, koku, lezzet, tekstür ve pH gibi fiziksel ve kimyasal özellikler et kalitesini yansıtan temel parametrelerdir. Tüketiciler, et tercihlerini genellikle duyu kalite özelliklerine göre (tat, yumuşaklık, renk ve sululuk) yapmaktadır (17). Özellikle pazarlama aşamasında renk ve koku, tüketici

açısından oldukça önemlidir. Ette pH'nın yüksek olması et rengini ve su tutma kapasitesini yükseltmektedir. Kaslarda pH, major proteinlerin, özellikle myosin proteinin izoelektrik pH değerine (5.4) düştüğünde, proteinlerin net yük etkisi sıfıra düşer. Yani proteinlerin pozitif ve negatif yükleri eşitlenir. Pozitif ve negatif gruplar birbirlerini çekerek proteinlere bağlı olan suyun miktarının azalmasına neden olurlar (13). Kanatlı etlerinde pH; ≤ 5.8 Solgun, Yumuşak, Su Salan, 5.9–6.2 Standart Et, ≥ 6.3 Koyu, Sert, Kuru olarak değerlendirilmektedir (22). Çalışmada %10 kefir gurubunda but eti pH sının (pH 5.84) standart et pH değerlerine yakın olduğu görülmektedir. Kasın ete dönüşümü sırasında, laktik asit birikimi etin pH değerinin azalmasına yol açmaktadır (13). Rigor mortis sürecinde hareketsiz kaslardaki pH düşüş hızı hareketli kaslara göre daha yüksektir. Dolayısıyla hareketsiz kaslarda pH değeri daha düşüktür (4,29) Bu çalışmada da tüm gruplardaki göğüs eti örneklerinin pH değerleri, but eti pH değerlerinden daha düşük bulunmuştur.

Etin pH değeri raf ömrü bakımından önemli bir parametredir. Yüksek pH ette mikroorganizmaların gelişmesine ortam hazırlamakta dolayısıyla etin raf ömrünü kısaltmaktadır (2,3). Probiyotik uygulamasının etin pH'sını artırdığını bildiren araştırmacıların (1,16) aksine bu çalışmada %10 kefir uygulanan grupta göğüs eti pH'sının kontrol grubuna göre rakamsal olarak düşük olduğu gözlenmiştir. Bu durumun etlerin raf ömrünü olumlu etkileyebileceği düşünülebilir. Bununla birlikte göğüs ve but etlerinin pH'sında gruplar arasında istatistiksel açıdan bir fark olmadığı görülmektedir. Çalışma bulguları probiyotik uygulamalarının etin pH'sını etkilemediğini bildiren araştırmacıların (20,25) sonuçlarıyla uyumludur.

Etin doğal rengi miyoglobinin ve hemoglobinin pigmentlerden kaynaklanmaktadır. Kas aktivitesi yüksek olan dokular bu pigmentleri daha fazla miktarda içermektedir (9). Kas aktivitesi düşük olması dolayısıyla tavuk göğüs etinde miyoglobin konsantrasyonu but ete göre daha düşük düzeydedir ve renk daha açıktır. Et rengi ve pH arasında özellikle parlaklık açısından yüksek bir korelasyon vardır, pH değeri arttıkça L* değeri azalmakta ve etin rengi koyulaşmaktadır (16). Bu çalışmada da göğüs etinde en düşük pH değerinin tespit edildiği %10'luk kefir gurubunda L* değerinin yükseldiği gözlenmiştir. Çalışmada %5 kefir uygulanan grupta a* değerinin diğer gurulardan önemli derecede yüksek çıktığı buna karşın %10 kefir uygulamasının göğüs ve but etlerinin a* değerini diğer gruplara göre hafif derecede düşürdüğü tespit edilmiştir. Benzer şekilde Cho ve ark. (7) kefir uygulamasının göğüs eti a* değerini

artırdığını, Pelicano ve ark. (19) ise probiyotik uygulamasının etin a* değerini yükselttiğini, ancak bu etkinin uzun süreli olmadığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte çalışma bulguları, probiyotik uygulamasının etin kırmızılık (a*) değerini düşürürken, sarılık (b*) değerini yükselttiğini bildiren Karaoğlu ve ark.'ın (16) bulgularıyla uyumsuzdur. Göğüs ve but etlerinin L* ve b* değerlerinde guruplar arasında anlamlı bir fark olmaması, probiyotik uygulamasının etin L* değerini düşürdüğünü bildiren Chen ve ark.'ın (6) bulguları ile uyumsuzken, probiyotik uygulamalarının etin renk parametrelerinde bir değişiklik yapmadığını bildiren Pelicano ve ark.'ın (20) bulgularıyla uyumludur. Çalışmalarda elde edilen verilerdeki uyumsuzluğun, kullanılan probiyotiklerin içeriğinin, uygulama süresinin ve yöntemlerinin farklılığından kaynaklanabileceği düşünülebilir. Sonuç olarak; Kefirin kesimden önce on gün süreyle içme suyuna ilavesinin broiler etinin bakteriyel yükünü azalttığı, fizikokimyasal özelliklerde ise sadece renk parametrelerinde sınırlı bir etkisinin olduğu görülmüştür.

Kaynaklar

1. Aksu MI, Karaoğlu M, Esenbuğa N, Kaya M, Macit M, Ockerman H. Effect of a dietary probiotic on some quality characteristics of raw broiler drumsticks and breast meat. *J Muscle Foods* 2005; 16(4): 306-17.
2. Allen CD, Russell SM, Fletcher DL. The relationship of broiler breast meat color and pH to shelf-life and odor development. *Poult Sci* 1997; 76(7): 1042-6.
3. Allen CD, Fletcher DL, Northcutt JK, Russell SM. The relationship of broiler breast color to meat quality and shelf-life. *Poult Sci* 1998; 77(2): 361-6.
4. Barbut S. *Poultry Product Processing*. Florida: CRC Press LLC, 2001; pp. 55-60.
5. Baumgart J, Firmhaber J, Spcher G. *Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln*. Hamburg: Behr's Verlag, 1993; pp.1-36.
6. Chen W, Wang JP, Yan L, Huang YQ. Evaluation of probiotics in diets with different nutrient densities on growth performance, blood characteristics, relative organ weight and breast meat characteristics in broilers. *Br Poult Sci* 2013; 54(5): 635-41.
7. Cho JH, Zhang ZF, Kim IH. Effects of single or combined dietary supplementation of β -glucan and kefir on growth performance, blood characteristics and meat quality in broilers. *Br Poult Sci* 2013; 54(2): 216-21.
8. Dokuzlu S, Barış O, Hecer C, Gültaş M. Türkiye'de tavuk eti tüketim alışkanlıkları ve marka tercihleri. *Ulud Üniv Zir Fak Derg* 2013; 27(2): 83-92.
9. Ertaş AH. Pigmentler ve et rengi. *Gıda Derg* 1983; 8(6): 265-73.
10. FAO/WHO. *Probiotics in Food. Health and Nutritional Properties and Guidelines for Evaluation*. Rome: FAO Food and Nutrition Paper 85, 2006; p. 2-4
11. Farnworth E. Kefir—a complex probiotic. *Food Sci Tech Bull Funct Foods* 2006; 2(1): 1-17.
12. Gökalp HY, Kaya M, Tülek Y, Zorba O. Et ve Et Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Klavuzu. Üçüncü Baskı. Erzurum: Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 1999; p. 121.
13. Huff-Lonergan E, Lonergan SM. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Sci* 2005; 71(1): 194-204.
14. Karabacak A, Direk M. Tarımda küreselleşme ve Türkiye. *J Azerb Stud* 2007; 10(3): 486-99.
15. Karademir G, Ünal Y. The use of kefir as probiotic in broiler. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg* 2009; 49(1): 47-54.
16. Karaoğlu M, Aksu MI, Esenbuğa N, Macit M, Durdağ, H. pH and colour characteristics of carcasses of broilers fed with dietary probiotics and slaughtered at different ages. *AJAS* 2006; 19(4): 605-10.
17. Nardone A, Valfrè F. Effects of changing production methods on quality of meat, milk and eggs. *Livest Prod Sci* 1999; 59(2): 165-82.
18. Patterson JA, Burkholder KM. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poult Sci* 2003; 82(4): 627-31.
19. Pelicano ERL, De Souza PA, De Souza HBA, Oba A, Norkus EA, Kodawara LM, De Lima TMA. Effect of different probiotics on broiler carcass and meat quality. *Rev Bras Cienc Avic* 2003; 5(3): 207-14.
20. Pelicano ERL, Souza PA, Souza HBA, Oba A, Boiago MM, Zeola NMBL, Scatolini AM, Bertanha VA, Lima TMA. Carcass and cut yields and meat qualitative traits of broilers fed diets containing probiotics and prebiotics. *Rev Bras Cienc Avic* 2005; 7(3): 169-75.
21. Pincus DH. Microbial identification using the bioMerieux VITEK® 2 System. Bethesda MD. eds. In: *Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods*. Hazelwood, MO: Parenteral Drug Association, 2006; pp. 1-32.
22. Özhan N, Şimşek ÜG. Kafes sisteminde yetiştirilen etlik piliçlerde sürü büyüklüğünün performans, bazı kan ve kemik parametreleri, musculus pectoralis pH düzeyi ve karkas kusurları üzerine etkisi. *FÜ Sağ Bil Vet Derg* 2015; 29

- (1): 1-8.
23. Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC, Cummings JH, Franck A, Gibson GR, Isolauri E, Moreau MC, Roberfroid M, Rowland I. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr* 1998; 80(S1): 147-71.
 24. Seker I, Ozen A, Guler H, Seker P, Ozden I. Red meat consumption behavior in Elazig and consumers' opinion in animal welfare. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2011; 17(4): 543-50.
 25. Takahashi SE, Mendes AA, Saldanha ESPB, Pizzolante CC, Pelícia K, Quinteiro RR, Komiyama CM, Garcia RG, Almeida Paz ICL. Efficiency of prebiotics and probiotics on the performance, yield, meat quality and presence of *Salmonella* spp. in carcasses of free-range broiler chickens. *Rev Bras Cienc Avic* 2005; 7 (3): 151-7.
 26. Toghyani M, kazem Mosavi S, Modaresi M, Landy N. Evaluation of kefir as a potential probiotic on growth performance, serum biochemistry and immune responses in broiler chicks. *Anim Nutr* 2015; 1(4): 305-9.
 27. Ulusoy BH, Çolak H, Hampikyan H, Erkan ME. An in vitro study on the antibacterial effect of kefir against some food-borne pathogens. *Turk Mikrobiyol Cem Derg* 2007; 37(2): 103-7.
 28. Wang Y, Gu Q. Effect of probiotic on growth performance and digestive enzyme activity of Arbor Acres broilers. *Res Vet Sci* 2010; 89(2): 163-7.
 29. Warriss PD, Wilkins LJ, Knowles TG. The influence of ante-mortem handling on poultry meat quality. Richardson RI, Mead GC. eds. In: *Poultry Meat Science*. Oxon: CABI Publishing, 1999; pp. 217-30.
 30. Yenice G, Celebi D, Yoruk MA, Ucar O, Saglam YS, Tunc MA, Altun S. Effect of kefir upon the performance, intestinal microflora and histopathology of certain organs in laying hens. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2014; 20: 363-70.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Güler YENİCE
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları ABD,
Erzurum-TÜRKİYE
GSM: 0 505 216 56 49
E-posta: gulerata@atauni.edu.tr



Kayseri Yöresindeki Sığırlardan Toplanmış Kene Türlerinde *Babesia bovis* ve *Babesia bigemina*'nın Real Time PCR Yöntemiyle Araştırılması*

Tuğba MEYİLLİ¹, Önder DÜZLÜ¹, Alparslan YILDIRIM¹, Zuhâl ÖNDER¹, Arif ÇİLOĞLU¹, Abdullah İNCİ¹

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

Özet: Bu çalışma, Kayseri'nin farklı lokalizasyonlarındaki sığırlardan toplanmış erişkin ixodid kenelerden oluşturulmuş genomik DNA havuzlarında *Babesia bigemina* ve *B. bovis*'in real time PCR analizleriyle araştırılması ve izolatların filogenetik karakterlerinin saptanması amacıyla gerçekleştirilmiştir. Sığırlardan toplanmış 1115 erişkin ixodid keneden oluşturulmuş DNA havuzlarında, *B. bigemina* ve *B. bovis* için *rap-1a* ve *msa-2c* gen bölgelerini amplifiye eden primerlerle TaqMan prob bazlı ve Sybergreen tabanlı real time PCR analizleri yapılmıştır. Toplam 38 genomik DNA havuzunun ikisinde (%5.2) *B. bovis* ve sekizinde (%21) *B. bigemina* pozitifliği saptanmıştır. Miks enfeksiyon belirlenmemiştir. *Babesia bigemina* pozitiflerin dördü *Rhipicephalus annulatus*, ikisi *R. turanicus*, biri *Hyalomma marginatum* ve biri *H. anatolicum* havuzlarında, *B. bovis* pozitiflerin ikisi de *H. marginatum* havuzunda saptanmıştır. Ct (cycle threshold) (dR) değerleri *B. bigemina* ve *B. bovis* için ortalama 35.75 ve 37.71 belirlenmiştir. Moleküler karakterizasyon amacıyla nested PCR analizleriyle uygun DNA bant profilleri gösteren *B. bigemina* pozitif sekiz örnekten ikisi sekanslanmış ve GenBank kayıtları (KU680419-KU680420) gerçekleştirilmiştir. BbigrapKys1 ve BbigrapKys2 izolatlarının filogenetik analizlerinde kendi aralarında %100 identiklik, Dünyadaki ve Türkiye'deki diğer benzer izolatlarla %1±0.5 ve %0.7±0.4 genetik farklılık tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmayla, Kayseri yöresindeki sığırlardan temin edilmiş kenelerde *B. bigemina* ve *B. bovis*'in varlığı ve moleküler prevalansı ile pozitif bazı izolatların moleküler karakterizasyonu ve filogenileri hakkında bilimsel veriler elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, Kayseri, kene, moleküler karakterizasyon, real time PCR

Investigation of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* by Real Time PCR in Tick Species Collected from Cattle in Kayseri Province

Summary: This study was performed to investigate *Babesia bigemina* and *B. bovis* via real time PCR analyses in genomic DNA pools constructed from adult ixodid ticks on cattle in different parts of Kayseri, and to detect the phylogenetic characters of the isolates. TaqMan and Sybergreen real time PCR analyses with *rap-1a* and *msa-2c* gene specific primers for *B. bigemina* and *B. bovis* were performed in DNA pools of 1115 adult ticks. *B. bovis* and *B. bigemina* were detected in two (5.2%) and eight (21%) out of 38 DNA pools. No mix infection was determined. *B. bigemina* was found in four *Rhipicephalus annulatus*, two *R. turanicus*, one *Hyalomma marginatum*, and one *H. anatolicum* pools whereas both two positive *B. bovis* samples were detected in *H. marginatum* pools. Ct (cycle threshold) (dR) values were determined as 35.75 and 37.71 for *B. bigemina* and *B. bovis*. Two *B. bigemina* positive samples were sequenced and deposited into GenBank (KU680419-KU680420). In phylogenetic analyses of BbigrapKys1 and BbigrapKys2 isolates, 100% identity amongst themselves and 1±0.5% and 0.7±0.4% genetic distances were found with other similar isolates from the world and Turkey. In conclusion, the scientific knowledge was obtained about the molecular prevalence of *B. bigemina* and *B. bovis* in ticks collected from cattle in Kayseri province and also about molecular characterization and phylogenies of some positive isolates.

Key words: *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, Kayseri, molecular characterization, real time PCR, tick

Giriş

Türkiye'de hayvancılığın gelişmesini olumsuz yönde etkileyen barınak, bakım ve besleme gibi yetiştiricilik hatalarının yanında, bakteriyel, viral ve paraziter orijinli hastalıklar halen daha etkili

olmaktadır. Paraziter hastalıklar arasında coğrafi konumu itibarıyla subtropik iklim kuşağında yer alan Türkiye'de yaygın olarak görülen keneler ve kene kaynaklı enfeksiyonlar büyük önem taşımaktadır. Keneler ve kene kaynaklı enfeksiyonlar hayvan sağlığını tehdit etmesi, ölümlere ve verim kayıplarına sebep olması yanında, hayvanlardan insanlara taşıdığı enfeksiyon etkenleri ile insan sağlığını da ciddi ölçüde tehdit etmektedir (3,6,14,30,36).

Geliş Tarihi/Submission Date : 12.04.2016
Kabul Tarihi/Accepted Date : 17.05.2016

*Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-2013-4305 kodu ile yüksek lisans tez projesi olarak desteklenmiştir.

Kene kaynaklı enfeksiyonların yayılmasında esas rol oynayan ixodid keneler Türkiye'nin tüm coğrafi bölgelerinde yaygın olarak görülmektedir. Uzun yıllar birçok araştırmacı Türkiye'deki kene türleri ve coğrafi dağılımları üzerinde çalışmalar yürütmüşlerdir. Bu çalışmalara (3, 6, 10, 16, 17, 22-24, 30) göre İç Anadolu Bölgesi'nde, *Ixodes ricinus* (%0.2), *Dermacentor marginatus* (%0.5-3), *D. niveus* (%0.8-15.4), *Haemaphysalis concinna* (%3.1), *Hae. inermis* (%0.1-0.6), *Hae. numidiana* (%0.1), *Hae. otophila* (%1.7-59.8), *Hae. parva* (%0.6-20.5), *Hae. punctata* (%1.4-4.2), *Hae. sulcata* (%0.6-11.8), *Hyalomma anatolicum* (%0.4-19.6), *H. excavatum* (%0.2-24.7), *H. detritum* (%0.6), *H. marginatum* (%0.2-18.5), *Rhipicephalus annulatus* (%9-42.4), *R. bursa* (%4.5-93.1), *R. sanguineus* (%2.3-55.3) ve *R. turanicus* (%4.8-52) oranlarında tespit edilmiştir. Sığırlarda babesiosis'e özellikle *Babesia bigemina* ve *B. bovis* türleri sebep olmaktadır. Bu etkenlerden, *B. bigemina*; *R. microplus*, *R. decoloratus*, *R. annulatus* ve *R. evertsi*, *B. bovis* ise *R. calcaratus*, *R. microplus*, *R. geiyi* ve *I. ricinus* tarafından nakledilmektedir (14,36).

Tropik ve subtropik iklim kuşağındaki bölgelerde sığır babesiosis etkenlerinden olan *Babesia bovis* ve *B. bigemina*, endüstriyel sığır yetiştiriciliğinde büyük ekonomik kayıplara yol açan ve ixodid keneler tarafından nakledilen intraeritrositik apicomplexan protozoonlardır (4). *Babesia* türleri, suşlar arasında immunojenik T ve B hücre epitoplarına sahip merozoit yüzey antijenlerine (VMSA) ve roptri ilişkili proteinlere (*rap-1*) sahiptir (32,37). *B. bovis*'in yüzeyinde bulunan antijenlerden biri olan *msa-2c* proteini, VMSA ailesi içerisindeki diğer antijenlerine nazaran daha yüksek korunmuşluk özelliği göstermektedir (4). Benzer şekilde *B. bigemina rap-1* antijenleri de farklı bölgelerdeki suşlar arasında yüksek korunmuşluğa sahip bir gen bölgesi olarak dikkat çekmektedir (32).

Son yıllarda sığırlarda babesiosisin teşhisinde, mikroskopik ve serolojik teşhis yöntemlerine göre daha yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip bir teknik olan real time PCR yöntemi tercih sebebi olmaya başlamıştır. Bu teknik sayesinde çok düşük parazitemiye sahip hayvanlarda bile enfeksiyon tespit edilebilmekte ve böylelikle rezervuar hayvanlar belirlenebilmektedir (8,9,28). Bu çalışmada, Türkiye'den ve Dünya'dan daha önce GenBank'a girilmiş *B. bovis* ve *B. bigemina* sığır izolatlarıyla, vektör kenelerden elde edi-

len *B. bovis* ve *B. bigemina* izolatları arasında filogenetik olarak ne gibi farklılıkların olabileceği hipotez edilmiş ve bu hipotez doğrultusunda sığırlardan elde edilmiş kene örneklerinden oluşturulmuş DNA havuzlarında *B. bovis* ve *B. bigemina* varlığının Sybergreen ve TaqMan prob tabanlı real time PCR tekniği ile kantitatif olarak araştırılması ve pozitif izolatların moleküller karakterizasyonlarının yapılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Genomik DNA havuzu ve kene materyali

Bu çalışmanın materyalini, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiş VA-05-05 kodlu ve "Sığırlarda Görülen Theileria ve Babesia Türlerinin Vektör Kenelerde Moleküler Biyolojik Teşhisi" konulu araştırma projesi kapsamında Mayıs-Ağustos ayları arasında Kayseri'nin farklı lokalizasyonlarındaki sığırlardan toplanmış toplam 1115 erişkin ixodid keneden (267 *R. annulatus*, 106 *Hae. parva*, 2 *Hae. sulcata*, 245 *H. marginatum*, 106 *H. anatolicum*, 53 *H. excavatum*, 68 *H. detritum*, 219 *R. turanicus*, 28 *R. bursa*, 1 *R. sanguineus*, 20 *D. marginatus*) elde edilmiş DNA havuzları oluşturmuştur. Havuzlar aynı türe ait erişkin dişi ve erkek kenelerden oluşturulmuştur. Örnek sayısı 10'un üzerinde olan havuzlar bölünerek DNA ekstrakte edilmiş ve elde edilen genomik DNA ekstraktları aynı havuzda birleştirilmiştir.

Real time PCR analizleri

Erişkin dişi ve erkek kenelerden oluşan genomik DNA havuzlarında sığır *Babesia* etkenlerinin araştırılmasında Sybergreen ve TaqMan real time PCR yöntemleri kullanılmıştır. Sybergreen tabanlı real time PCR analizlerinde FastStart Universal SYBR Green Master (Rox) Mix (Roche Diagnostics, Germany) ve *B. bovis*'in *msa-2c* gen bölgesine ait 97 bp'lik bölgeyi çoğaltan *msa2c2F* (GGACAAATTA AGCAACCTA-TACAAA), *msa-2c2R* (AGCTTTCCTTGTTTCGAATTTTATAA) primerleri kullanılmıştır (28). TaqMan prob bazlı real time PCR analizlerinde ise Brilliant II qPCR Master Mix (Stratagene, Agilent Technologies, USA) ve *B. bigemina*'nın *rap-1a* geninin 95 bp'lik bölgesini çoğaltan *rap1F* (TCA GCGAC-TACGTCCATTTG) ve *rap1R* (AATCAACTTGGCAGGGTCAG) primerleri ile *rap1P* (HEX-CCG CGTACAAGAG GTGG TA-

CAGGAA-BHQ1) probu kullanılmıştır (20).

***Babesia bovis msa-2c* ve *Babesia bigemina rap-1a* genlerinin amplifikasyonu**

Moleküler analizler sonucu *B. bovis* pozitif olduğu saptanan örnekler üzerinde *msa-2c* genini çoğaltan *msa-2cF* (5'-ATGGTGTCTTTTAACATAATA-3') ve *msa-2cR* (5'-AAATGCAGAGAGAACGAAGTAGCA GA-GAGT-3') primerleriyle (5), *B. bigemina* pozitif örnekler üzerinde ise *rap-1a* genini amplifiye eden primerlerle sırasıyla konvansiyonel PCR ve nested-PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. Nested PCR analizinin ilk PCR basamağında (5'-GAGTCTGC CAAATCCTTAC-3') forward ve (5'-TCCTCTACAG CTGCTTCG-3') reverse primerleri (7), ikinci PCR basamağında ise (5'-AGCTTGCTTTCCAACTC GCC-3') forward ve (5'-TTGGTGCTTTGACCGACGACAT-3') reverse primerleri kullanılmıştır (27). *Babesia bovis* için reaksiyon karışımı; 10X PCR buffer, 1,5 mM MgCl₂, 200 nM primer, 200 mM dNTP ve 1.5U Taq DNA polimerase ve 50 ng/μl template olarak hazırlanmıştır. Isı profili; ön denatürasyon: 95 °C'de 30 s; 35 siklus, denatürasyon: 95 °C'de 30 s, bağlanma: 60 °C'de 1dk, uzama: 72 °C'de 1 dk; son uzama: 72 °C'de 10 dk olarak programlanmıştır (27). *Babesia bigemina* için reaksiyon karışımı: 10X PCR buffer, 3mM MgCl₂, 100 nM primer, 200 mM dNTP ve 2.5U Taq DNA polimerase ve 50 ng/μL template şeklinde hazırlanmıştır. Isı profili her iki PCR için de ön denatürasyon: 94 °C'de 5 dk; 35 siklus, denatürasyon: 94 °C'de 1dk, bağlanma: (55 °C'de 1 dk 1. PCR; 58 °C'de 1 dk nPCR), uzama: 72 °C'de 1 dk; son uzama: 72 °C'de 10 dk olarak ayarlanmıştır (7, 34). Amplikonlar %1.5'luk agaroz jelde görüntülenip analiz edilmiştir.

***Babesia bovis msa-2c* ve *B. bigemina rap-1a* gen bölgelerinin sekansı ve filogenetik analizleri**

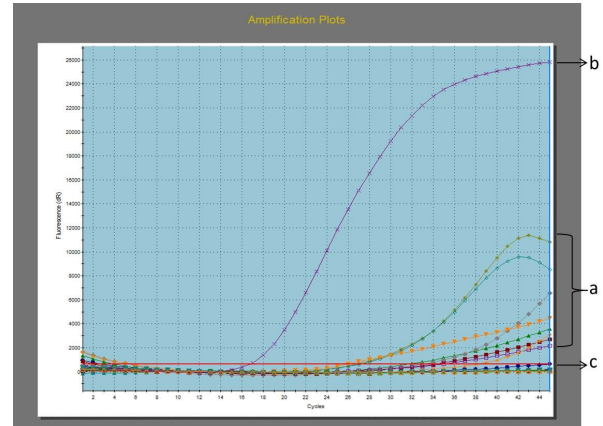
PCR analizleri sonucu jel üzerinde uygun konsantrasyonda belirlenen *B. bigemina* için iki izolata ait amplikon, High Pure PCR Product Purification Kit (Roche) kullanılarak jelden pürifiye edilmiştir. Real time PCR analizleri sonucu pozitif belirlenen *B. bovis* izolatları çok düşük Ct (dR) değeri verdiği için PCR analizlerinde *msa-2c* gen bölgesi için uygun DNA bant profili elde edilememiştir. *Babesia bigemina* izolatları pürifikasyon sonrası ilgili gen bölgelerinin analizi için amplifikasyonda kullanılan primerlerle (*rap-1a* için nested primeri) çift yönlü olarak sekanslatıl-

mıştır. Kromotogramlar dikkatlice analiz edildikten sonra Geneious 5.5.5 (12) yazılımı ile forward ve revers dizilimlerin pairwise alignmentları yapılmış son dizilimler elde edilmiştir. Elde edilen sekansların, Dünyada GenBank'a kayıtlı diğer benzer izolatlar ile Mega 5.0 (33) ve Geneious 5.5.5 (12) yazılımlarında çoklu hizalamaları yapılarak filogenetik karakterleri ortaya konmuştur. Genetik farklılıkların saptanmasında Kimura two parameter modeli seçilmiştir (33). Neighbour-joining metodu ile filogenetik ağaçlar 1000 bootstrap değeri kullanılarak Mega 5.0 yazılımında (33) oluşturulmuştur. Elde edilen tüm dizilimlerin GenBank kayıtları yapılmıştır.

Bulgular

Real time PCR sonuçları

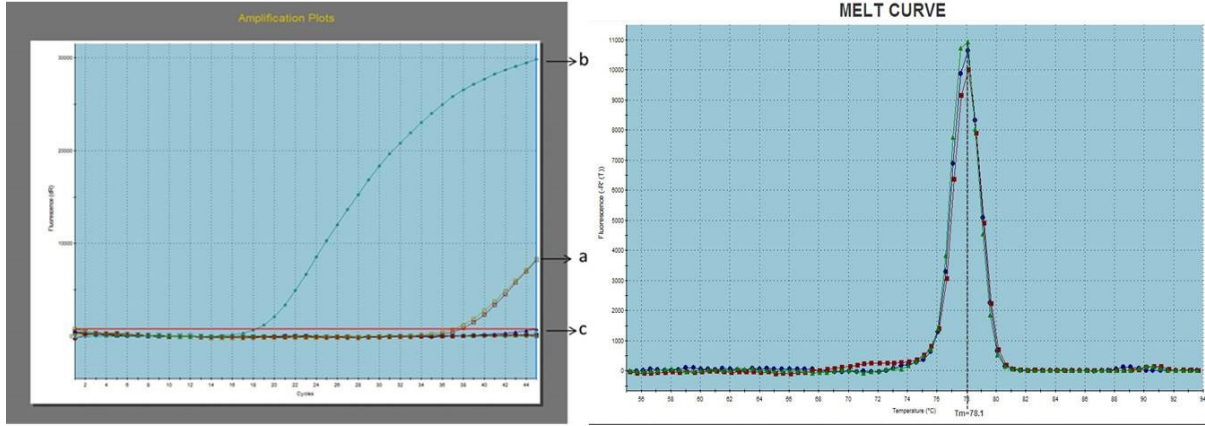
Real time PCR analizleriyle incelenen toplam 38 genomik DNA havuzundan sekizi (%21) *B. bigemina* (Şekil 1), ikisi (%5.2) *B. bovis* (Şekil 2) ile enfekte bulunmuştur. İncelenen örneklerde miks enfeksiyona rastlanmamıştır. *Babesia bi-*



Şekil 1. TaqMan Prob bazlı real time PCR analizleri sonucu *B. bigemina* pozitif saptanan örneklerin amplifikasyon eğrileri. a: *B. bigemina* pozitif örnekler; b: *B. bigemina* pozitif kontrol; c: No DNA ve negatif örnekler

gemina pozitif belirlenen sekiz örneğin dördü *R. annulatus*, biri *H. marginatum*, ikisi *R. turanicus* ve biri *H. anatolicum* havuzlarında saptanırken, *B. bovis* pozitif iki örnek de *H. marginatum* havuzunda saptanmıştır.

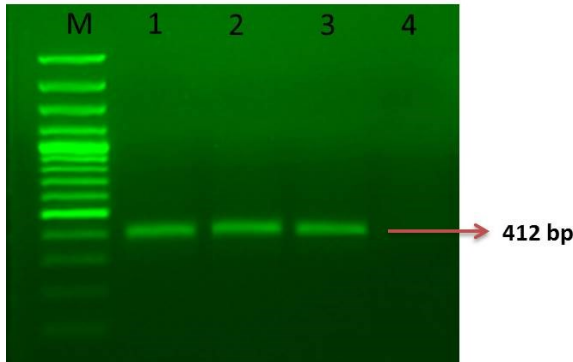
Sybergreen tabanlı qPCR analizlerinde pozitif örnekler için ortalama çözünme sıcaklığı (T_m) 78.1 °C (±0.2 °C) olarak tespit edilmiştir (Şekil 2). Ct (dR) değerleri *B. bovis* ve *B. bigemina* için ortalama 37.71 ve 35.75 olarak belirlenmiştir.



Şekil 2. Sybergreen real time PCR analizleri sonucu *B. bovis* pozitif saptanan bazı örneklerin amplifikasyon grafikleri ve erime eğrileri (melting curve); Tm=78,1. a: *B. bovis* pozitif örnekler; b: *B. bovis* pozitif kontrol; c: No DNA ve negatif örnekler

Msa-2c ve *rap-1a* gen bölgeleri sekans ve filogenetik analizleri

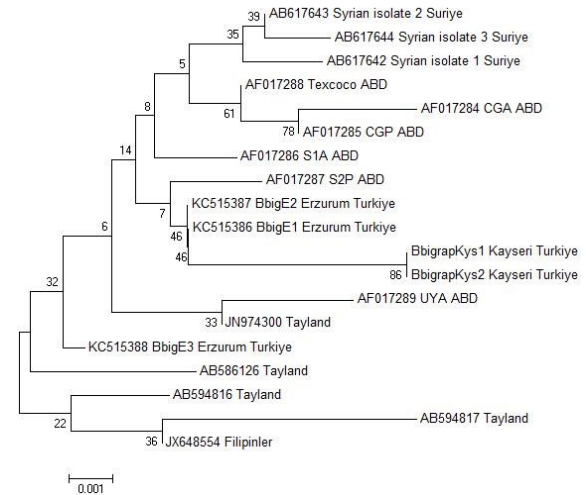
Sybergreen tabanlı Real time PCR analizlerinde *B. bovis* pozitif belirlenen iki örnekten, Ct (dR) değerlerinin çok yüksek, dolayısıyla parazitemi seviyesinin çok düşük olması nedeniyle agaroz jel üzerinde amplifikasyon elde edilememiştir. TaqMan prob tabanlı Real time PCR analizlerinde *B. bigemina* pozitif belirlenen iki örneğin agaroz jel üzerinde 412 bp büyüklüğünde amplifikasyon gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. *Babesia bigemina rap-1a* gen bölgesini amplifiye eden primerler ile nested PCR sonucu elde edilen pozitif amplikonların jel elektroferezde görünümü M: Marker (100bp); 1,2: Pozitif örnekler; 3: *B. bigemina* pozitif kontrol; 4: No DNA

Nükleotid dizileri tespit edilen izolatların *B. bigemina* için KU680419 (BbigrapKys1) ve KU680420 (BbigrapKys2) aksesyon numaraları ile GenBank kayıtları gerçekleştirilmiştir. Filoge-

netik analizlere GenBank'ta kayıtlı Suriye, Tayland, Amerika Birleşik Devletleri, Filipinler izolatları ile Türkiye'den benzer izolatlar da dahil edilmiştir. *Rap-1a* gen bölgesine göre saptanan *B. bigemina* izolatları arasında çeşitli nükleotid değişimleri belirlenmiştir. *B. bigemina* belirlenen izolatların (BbigrapKys1-BbigrapKys2) ikili kıyaslamalarına göre kendi aralarında %100 identiklik, Dünyadaki diğer bazı izolatlarla %1±0.5 ve Türkiye'deki benzer izolatlarla %0.7±0.4 genetik farklılık tespit edilmiştir. Neighbor joining metodu ile oluşturulan filogenetik ağaçta (Şekil 4),



Şekil 4. Kayseri yöresinde kene havuzlarında saptanan *B. bigemina* izolatları ile GenBank'a kayıtlı diğer *B. bigemina* izolatlarının *rap-1a* gen bölgesine göre filogenetik akrabalıkları (Neighbour Joining - Kimura 2 Parameter modeli). Ölçek çizgisi bölgeye göre nükleotid değişimini göstermektedir.

BbigrapKys1 ve BbigrapKys2 izolatlarının Türkiye'den BbigE1 ve BbigE2 izolatlarıyla, Amerika Birleşik Devletleri'nden ise S2P izolatiyle yakın oldukları belirlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Keneler insanlarda ve hayvanlarda görülen ve zoonotik öneme sahip birçok paraziter, bakteriyel ve viral patojenlerin en önemli vektörlerindedir. Keneler ve kene kaynaklı patojenler özellikle son yıllarda tüm dünyada artış göstermektedir. Kenelerin dağılımı ve yaygınlığı direkt olarak halk sağlığı problemi olup özellikle çiftlik hayvanı yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgelerde keneler insan enfeksiyonlarının rezervuar konakları olabilmekte veya direkt olarak enfeksiyonları nakledebilmektedir. Konaklarından veya sahadan toplanan kenelerin ve bu kenelerde kene kaynaklı patojenlerin moleküler olarak belirlenmesi, coğrafik bir bölgede yeni ortaya çıkan kene kaynaklı hastalıkların risk faktörlerinin değerlendirilmesinde kullanışlı olmaktadır (11,19).

Babesia bovis ve *B. bigemina*'nın vektör kenelerde moleküler olarak araştırılmasıyla ilgili olarak ise Türkiye'de sınırlı sayıda çalışma bulunmakta olup bu çalışmaların konvansiyonel PCR, reverse line blotting (RLB) gibi moleküler teşhis yöntemleriyle yapıldığı dikkati çekmiştir. Mevcut çalışma kenelerde *B. bovis* ve *B. bigemina*'nın Dünya'da, real time PCR ile araştırıldığı ilk çalışma olması açısından önem arz etmektedir. İça ve ark. (18) Kayseri yöresindeki sığırlardan ve barınaklardan toplanan kenelerden oluşturulmuş DNA havuzlarında RLB metodu ile inceleme yapmışlar ve %14 *B. bigemina*, %2.3 *Babesia* sp. ve %2.3 *T. annulata* + *B. bigemina* miks pozitifliği rapor etmişlerdir. Bu çalışmada (18) saptanan *Babesia* sp. (Kayseri 1) izolatinin sekans analizlerinde Çin'den bildirilen *Babesia* türleri ile aynı clade'te yer aldığı tespit edilmiştir. Türkiye'de yapılan bir diğer çalışmada Aktaş ve ark. (2) Karadeniz Bölgesi'ndeki sığırlardan toplanmış toplam 2160 erişkin keneden oluşturdukları 224 DNA havuzunda RLB ile *Babesia* türlerini araştırmış ve %3.33'lük *Babesia* sp. pozitifliği belirlemişlerdir. Elde ettikleri *Babesia* sp. pozitif örneklerin sekans analizlerinde bu örneklerin İça ve ark. (18)'nin çalışmasında buldukları *Babesia* sp. pozitiflerde olduğu gibi isimlendirilmemiş *Babesia* türleriyle yüksek homoloji gösterdiğini saptamışlardır. Çalışmamızda ise İça ve ark. (18)'nin araştırdığı aynı kene havuzlarında *B. bovis* ve *B. bigemi-*

na'nın varlığı RLB metoduna göre daha duyarlı olan real time PCR metodu ile incelenmiş ve incelemesi yapılan 38 adet genomik DNA havuzunun sekizinde (%21) *B. bigemina*, ikisinde (%5.2) ise *B. bovis* pozitifliği saptanmıştır. Çalışmamızda *B. bigemina* varlığı İça ve ark. (18)'nin bulduğu prevalans oranına göre daha yüksek bulunmuş ve ayrıca iki örnekte de *B. bovis* pozitifliği belirlenmiştir. Dolayısıyla aynı kene havuzlarında farklı yöntemlerle yapılan çalışmalarda real time PCR tekniğinin RLB yöntemine göre daha duyarlı olduğu teyit edilmiştir. Türkiye'de sığırlardan toplanan kenelerden oluşturulmuş DNA havuzlarında yapılan araştırmalarda İça ve ark. (18) *B. bigemina* pozitifliğini *R. annulatus* ve *R. turanicus* kenelerinde, Aktaş ve ark. (2) ise *Babesia* spp. pozitifliğini *H. marginatum*, *H. excavatum* ve *R. annulatus* kenelerinde saptamışlardır. Bu çalışmada ise *B. bigemina* pozitiflikleri *R. annulatus*, *H. marginatum*, *R. turanicus* ve *H. anatolicum* havuzlarında belirlenirken, *B. bovis* pozitif örnekler ise *H. marginatum* havuzunda saptanmış ve böylelikle kenelerin sığır babesiosisi yönünden mevcut durumları ortaya konulmuştur.

Dünyada sığır babesiosisinin kenelerde moleküler olarak araştırılmasına dair çalışmalar sınırlıdır. Tsai ve ark. (35) Tayvan'da konvansiyonel PCR ile yaptıkları çalışmada sığırlardan toplanan toplam 254 kenenin hiçbirinde *Babesia* pozitifliği saptayamamışlardır. Mısır'da sığırlardan toplanmış 5243 ixodid ve argasid kenede PCR ile %55 *B. bovis* ve %66 *B. bigemina* pozitifliği saptanmış olup saptanan pozitiflerin hepsi de *R. annulatus* kenelerinden izole edilmiştir (1). Nijerya'da sığırlardan toplanan toplam 198 kenede [*Amblyomma variegatum* (n=153), *R. decoloratus* (n=45)] RLB ile yapılan bir çalışmada *A. variegatum* kenelerinde %3.9 *Babesia* spp., %1.3 *B. bigemina* ve %0.6 *B. divergens* pozitifliği saptanmıştır (25). Brezilya'da konvansiyonel PCR ve nested PCR ile yapılan çalışmada 27 buzağıdan toplanan toplam 258 *R. microplus* kenesinin 145'i *B. bigemina* ve 12'si *B. bovis* ve 25 sığırdan toplanan toplam 245 *R. microplus* kenesinin 43'ü *B. bovis* ve 39'u *B. bigemina* ile enfekte bulunmuştur (26). Etiyopya'da sığırlardan toplanan *Amblyomma*, *Hyalomma* ve *Rhipicephalus* soylarındaki toplam 1246 kenede standart PCR ile yapılan bir çalışmada *Babesia* türlerine rastlanılmamıştır (21).

Apikal organellere sahip protozoon parazitlerin,

konak hücrelerine tutunmaları ve hücre içerisine girmeleri açısından bu organellerden salgılanan proteinlerin önem arz ettiği bildirilmiştir (29). Yapılan çalışmalarda *B. bovis* için yüzey antijenlerinden biri olan *msa-2c* geninin (38) ve *B. bigemina* için ise *rap-1* geninin (31) farklı suşlar arasındaki korunmuşluk oranlarının oldukça yüksek olduğu ve bu protozoonlara karşı yapılan aşı çalışmalarında tercih sebebi oldukları rapor edilmiştir. *Babesia bovis*'in yüzey antijenlerine özgü gen bölgeleriyle alakalı olarak Türkiye'de üç çalışma bildirilmiştir (13,15,39). Mevcut çalışmamızda ise real time PCR ile iki izolat *B. bovis* yönünden pozitif bulunmuş fakat Ct değerleri çok yüksek olduğundan agaroz jel üzerinde DNA bant profili elde edilememiştir. *Babesia bigemina* için ise real time PCR ile pozitif belirlenen sekiz örnekten sadece ikisi agaroz jel üzerinde DNA bant profili göstermiş olup bu izolatların (BbigrapKys1-BbigrapKys2) kendi aralarında %100 identik oldukları, dünyadaki benzer diğer izolatlarla %1±0.5 ve Türkiye'deki benzer izolatlarla ise %0.7±0.4 genetik farklılık bulunduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz BbigrapKys1-BbigrapKys2 izolatlarının en yüksek identikliği Amerika Birleşik Devletleri'nden bildirilen Texcoco (AF017288), S2P (AF017287) ve S1A (AF017286) suşlarıyla (%99.93) gösterdikleri saptanmıştır. Filogenetik olarak oluşturulan ağaçta *B. bigemina* BbigrapKys1-BbigrapKys2 izolatlarının, Erzurum'dan bildirilen BbigE1 ve BbigE2 izolatları ve A.B.D'den bildirilen S2P izolatıyla birlikte aynı kümede yer aldığı görülmüştür. Hücre invazyonundan sorumlu *rap-1a* ve *msa-2c* gen bölgelerinin Dünya'dan bildirilmiş benzer izolatlar arasındaki benzerlik oranları kıyaslandığında *rap-1a* için bu oranın daha yüksek olduğu ve korunmuş bölge oranının daha yüksek olduğu görülmüştür. Zira çalışmamızda, Kayseri'nin farklı yerleşim yerlerindeki sığırlardan elde edilmiş kenelerde saptanan *B. bigemina* BbigrapKys1-BbigrapKys2 izolatlarının *rap-1a* gen bölgesine ait aminoasit sekanslarının analizi sonucu protein profilleri bakımından %100 identik oldukları saptanmıştır.

Sonuç olarak bu çalışmayla, Kayseri yöresinin farklı lokalizasyonlarındaki sığırlardan temin edilmiş ixodid kene örneklerinden oluşturulmuş genomik DNA havuzlarında *B. bigemina* ve *B. bovis*'in mevcut durumu, diğer moleküler tabanlı teşhis yöntemlerine göre sensitivite ve spesifitesi oldukça yüksek olan real time PCR tekniği ile dünyada ilk kez ortaya konmuştur. *Babesia bi-*

gemina rap-1a gen bölgesi moleküler olarak karakterize edilerek GenBank'ta kayıtlı Türkiye'deki ve Dünyadaki benzer izolatlarla filogenetik kıyaslamaları yapılarak analizleri gerçekleştirilmiştir. Ct (dR) değerlerine göre enfekte kenelerde her iki türün de düşük parazitemiye sahip olduğu görülmüştür. Bu açıdan özellikle rezervuar vektörlerin ve hayvanların belirlenmesinde real time PCR tekniğinin diğer yöntemlere göre çok daha avantajlı ve güvenilir bir yöntem olduğu kanaatine varılmıştır.

Teşekkür

Yazarlar, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne verdikleri destek (Proje No: TYL-2013-4305) dolayısıyla teşekkür eder.

Kaynaklar

1. Adham FK, Abd-el-Samie EM, Gabre RM, el-Hussein H. Detection of tick blood parasites in Egypt using PCR assay I-*Babesia bovis* and *Babesia bigemina*. Parasitol Res 2009; 105(3): 721-30.
2. Aktas M, Altay K, Ozubek S, Dumanlı N. A survey of ixodid ticks feeding on cattle and prevalence of tick-borne pathogens in the Black Sea region of Turkey. Vet Parasitol 2012; 187(3-4): 567-71.
3. Aydın L, Bakirci S. Geographical distribution of ticks in Turkey. Parasitol Res 2007; Suppl 2:163-6.
4. Bock R, Jackson L, de Vos A, Jorgensen W. Babesiosis of cattle. Parasitology 2004; 129 (1): 247-69.
5. Borgonio V, Mosqueda J, Genis AD, Falcon A, Alvarez JA, Camacho M, Figueroa JV. *msa-1* and *msa-2c* gene analysis and common epitopes assessment in Mexican *Babesia bovis* isolates. Ann N Y Acad Sci 2008; 1149:145-8.
6. Bursali A, Keskin A, Tekin S. A review of the ticks (Acari: Ixodida) of Turkey: Species diversity, hosts and geographical distribution. Exp Appl Acarol 2012; 57(1): 91-104.
7. Cao S, Aboge GO, Terkawi MA, Yu L, Kamyingkird K, Luo Y, Li Y, Goo YK, Yamagishi J, Nishikawa Y, Yokoyama N, Suzuki H, Igarashi I, Maeda R, Inpankaew T, Jittapalpong S, Xuan X. Molecular detection and identification of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in cattle in Northern Thailand. Parasitol Res 2012; 111(3):1259-66.
8. Criado-Fornelio A, Buling A, Asenzo G, Beni-

- tez D, Florin-Christensen M, Gonzalez-Oliva A, Henriques G, Silva M, Alongi A, Agnone A, Torina A, Madrugá CR. Development of fluorogenic probe-based PCR assays for the detection and quantification of bovine piroplasmids. *Vet Parasitol* 2009; 162(3-4): 200-6.
9. Criado-Fornelio A. A review of nucleic-acid-based diagnostic tests for *Babesia* and *Theileria*, with emphasis on bovine piroplasmids. *Parassitologia* 2007(1); 49: 39-44.
 10. Çiçek H. Ankara yöresinde *Haemaphysalis* türleri üzerinde epizootiyolojik araştırmalar. *Türk J Vet Anim Sci* 2004; 28: 107-13.
 11. Dantas-Torres F, Chomel B, Otranto D. Ticks and tick-borne diseases: A OneHealth perspective. *Trends Parasitol* 2012; 28(10): 437-46.
 12. Drummond AJ, Ashton B, Buxton S. Geneious v5.5 <http://www.geneious.com>, Erişim tarihi: 05.05.2014.
 13. Düzlü Ö, İnci A, Yıldırım A. Karadeniz Bölgesi'ndeki sığırlardan elde edilen *Babesia bovis* suşlarının moleküler karakterizasyonu. *Erciyes Üniv Sağlık Bil Derg* 2011; 20(1): 18-28.
 14. Düzlü Ö, İnci A, Yıldırım A. Türkiye'de evcil ruminantlarda babesiosis. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci* 2012; 3(2): 27-34.
 15. Düzlü Ö, Yıldırım A, İnci A, Avcıoğlu H, Balkaya İ. Sığırlarda *Babesia bovis* ve *Babesia bigemina*'nın real-time PCR ile araştırılması ve izolatların moleküler karakterizasyonu, *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2015; 62: 27-35.
 16. Güler S. Ankara ve civarındaki koyun ve keçilerde kış Ixodidae'leri üzerine araştırmalar. *Uludağ Üniv Vet Fak Derg* 1982; 1: 45-54.
 17. Hoffmann G, Hörchner F, Schein E, Gerber H. Saisonales auftreten von zecken und piroplasmen bei haustieren in des asiatischen provinzen der turkei. *Berl Münch Tierarztl Wschr* 1971; 84: 152-6.
 18. Ica A, Vatansever Z, Yıldırım A, Duzlu O, İnci A. Detection of *Theileria* and *Babesia* species in ticks collected from cattle. *Vet Parasitol* 2007; 148(2): 156-60.
 19. Ionita M, Mitrea I, Pfister K, Hamel D, Silaghi C. Molecular evidence for bacterial and protozoan pathogens in hard ticks from Romania. *Vet Parasitol* 2013; 196(1-2): 71-6.
 20. Kim C, Iseki H, Herbas MS, Yokoyama N, Suzuki H, Xuan X, Fujisaki K, Igarashi I. Development of TaqMan-based real-time PCR assays for diagnostic detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 77(5): 837-41.
 21. Kumsa B, Signorini M, Teshale S, Tessarin C, Duguma R, Ayana D, Martini M, Cassini R. Molecular detection of piroplasmids in ixodid ticks infesting cattle and sheep in western Oromia, Ethiopia. *Trop Anim Health Prod* 2014; 46(1): 27-31.
 22. Kurtpınar H. Türkiye Keneleri, Morfoloji, Biyoloji, Konakçı Yayılışları ve Medikal Önemleri. Ankara: Güven Matbaası, 1954; s. 96-112.
 23. Merdivenci A. Türkiye keneleri üzerine araştırmalar. İstanbul Cerrahpaşa Tıp Fak Yay. 1969; 1448-53.
 24. Mımiçoğlu M. Die schildzecken (Ixoden) der haustiere in der turkei. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1954; 1: 20-35.
 25. Ogo NI, de Mera IG, Galindo RC, Okubanjo OO, Inuwa HM, Agbede RI, Torina A, Alongi A, Vicente J, Gortázar C, de la Fuente J. Molecular identification of tick-borne pathogens in Nigerian ticks. *Vet Parasitol* 2012; 187(3-4): 572-7.
 26. Oliveira-Sequeira TC, Oliveira MC, Araujo JP, Amarante AF. PCR-based detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in their natural host *Boophilus microplus* and cattle. *Int J Parasitol* 2005; 35(1): 105-11.
 27. Petrigh R, Ruybal P, Thompson C, Neumann R, Moretta R, Wilkowsky S, Draghi G, Echaide I, de Echaide ST, Farber M. Improved molecular tools for detection of *Babesia bigemina*. *Animal biodiversity and emerging diseases. Ann N Y Acad Sci* 2008; 1149:155-7.
 28. Ramos CA, Araújo FR, Souza II, Bacanelli G, Luiz HL, Russi LS, Oliveira RH, Soares CO, Rosinha GM, Alves LC. Real-time polymerase chain reaction based on msa2c gene for detection of *Babesia bovis*. *Vet Parasitol* 2011; 176(1): 79-83.
 29. Sam-Yellowe TY. Rhoptry organelles of the apicomplexa: Their role in host cell invasion and intracellular survival. *Parasitol Today* 1996; 12(8): 308-16.
 30. Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, Yukarı BA, Eren H, Değer S, Nalbantoğlu S. Status of tick infestation in sheep and goats in Turkey. *Parassitologia* 1997; 39(2): 145-52.
 31. Shebish E, Vemulapalli R, Oseto C. Prevalence and molecular detection of *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* and *Babesia bi-*

- gemma* in cattle from Puntarenas Province, Costa Rica. Vet Parasitol 2012; 188(1-2): 164-7.
32. Suarez CE, Palmer GH, Hötzel I, McElwain TF. Structure, sequence, and transcriptional analysis of the *Babesia bovis* rap-1 multigene locus. Mol Biochem Parasitol 1998; 93(2): 215-22.
33. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol Biol Evol 2011; 28(10): 2731-9.
34. Terkawi MA, Huyen NX, Shinuo C, Inpankaew T, Maklon K, Aboulaila M, Ueno A, Goo YK, Yokoyama N, Jittapalabong S, Xuan X, Igarashi I. Molecular and serological prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in water buffaloes in the northeast region of Thailand. Vet Parasitol 2011; 178(3-4): 201-7.
35. Tsai YL, Chomel BB, Chang CC, Kass PH, Conrad PA, Chuang ST. *Bartonella* and *Babesia* infections in cattle and their ticks in Taiwan. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2011; 34(2): 179-87.
36. Uilenberg G. *Babesia* – A historical overview. Vet Parasitol 2006; 138(1-2): 3-10.
37. Wilkowsky SE, Farber M, Echaide I, Torioni de Echaide S, Zamorano PI, Dominguez M, Suarez CE, Florin-Christensen M. *Babesia bovis* merozoite surface protein-2c (MSA-2c) contains highly immunogenic, conserved B-cell epitopes that elicit neutralization-sensitive antibodies in cattle. Mol Biochem Parasitol 2003; 127(2): 133-41.
38. Wilkowsky SE, Farber M, Gil G, Echaide I, Mosqueda J, Alcaraz E. Molecular characterization of *Babesia bovis* strains using PCR restriction fragment length polymorphism analysis of the *msa2-a/b* genes. Ann N Y Acad Sci 2008; 1149: 141-4.
39. Yavuz A, İnci A, Düzlü Ö, Bişkin Z, Yıldırım A. Molecular characterization of *Babesia bovis* *msa-2c* gene. Türkiye Parazitoloj Derg 2011; 35(3): 140-4.

Yazışma Adresi:

Doç. Dr. Önder DÜZLÜ
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Parazitoloji Anabilim Dalı, 38039
Kayseri-TÜRKİYE
Tel: +90 (352) 2076666/29942
E-posta: onderduzlu@erciyes.edu.tr



Kayseri’de Satışa Sunulan Tavuk Eti ve İç Organlarında Arsenik Düzeylerinin Belirlenmesi

Yeliz YILDIRIM¹, Zafer GÖNÜLALAN¹, Nurhan ERTAŞ ONMAZ¹, Harun HIZLISOY², Serhat AL¹,
Şebnem PAMUK³

¹Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi ABD, Kayseri

²Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veteriner Halk Sağlığı ABD, Kayseri

³Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD, Afyon

Özet: Arsenik doğada yaygın olarak bulunmakta ve birçok gıda grubu yoluyla gıda zincirine katılmaktadır. Bu çalışma Kayseri/Türkiye’de tüketime sunulan tavuk eti ve iç organlarındaki arsenik düzeylerinin belirlenmesi amacıyla yapıldı. Farklı marketlerden alınan toplam 21 örnekte (10 tavuk eti ve 11 tavuk iç organı) arsenik kalıntıları İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektroskopisi (ICP-MS) ile belirlendi. Tavuk etlerindeki arsenik düzeyleri ortalama 0.081 ± 0.035 µg/g bulunurken iç organlardaki arsenik düzeyleri ortalama 0.055 ± 0.012 µg/g olarak bulundu. Tavuk eti ve iç organlarının arsenik düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($p > 0.05$). Sonuç olarak ülkemizde de Amerika, Japonya ve Avrupa’da olduğu gibi belli aralıklarla geniş çaplı total diyet çalışmaları planlanarak Türk halkının arsenik ve diğer toksik iz elementlere maruziyeti değerlendirilmeli ve gerekli tedbirler alınmalıdır.

Anahtar kelimeler: Arsenik, ICP-MS, Kayseri, tavuk eti, tavuk iç organları

Arsenic Levels in Chicken Meat and Giblets Retailed in Kayseri

Summary: Arsenic is commonly present in the nature and could be introduced into the food chain by many different food groups. This study was carried out to determine the arsenic levels of chicken meat and giblets consumed in Kayseri, Turkey. The arsenic residues of a total of 21 samples (10 fresh chicken meat and 11 chicken giblets) obtained randomly from different retail markets were analyzed with Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS). The mean arsenic levels in chicken meat were determined as 0.081 ± 0.035 µg/g whereas in chicken gilet the average was found to be 0.055 ± 0.012 µg/g. No statistically significant differences were observed between the arsenic levels of chicken meat and giblets analyzed ($p > 0.05$). Therefore it is needed to monitor Turkish people expose to arsenic and other toxic trace elements by large scale total diet studies and take measures as regularly done in the USA, Japan and Europe.

Key words: Arsenic, chicken giblets, chicken meat, ICP-MS, Kayseri

Giriş

Arseniğin birçok endüstriyel işlemde kullanılması, antropojenik (insan marifetiyle; pestisit ve gübre kullanımı ile) olarak yayılması, çevrede ve hayvansal dokuda birikmesi ve toksik olması son zamanlarda halk sağlığı açısından ciddi endişelere yol açmaktadır. Arsenik çevrede yaygın bir şekilde, toprak, hava, su ve gıdada doğal olarak bulunmakla birlikte, antropojenik uygulamalarla çevredeki konsantrasyonu artmaktadır (26). Öte yandan kentsel ve endüstriyel atık sularından kaynaklanan çevre kirlilikleri de eklendiğinde hayvansal gıdaların arsenikle kontaminasyonu kaçınılmaz bir hal almaktadır (8,15).

Arsenik, kontamine toprak, yem ve su ile hayvanlara geçerek hayvansal dokularda birikmekte ve bu hayvanlara ait et ve iç organları tüketen insanlarda sağlık sorunlarına neden olabilmektedir. Hayvansal gıdaların kontaminasyonunda bazı yem katkı maddelerinin de önemli rol oynadığı, özellikle büyümeyi hızlandırıcı ve yem etkinliğini arttırıcı yemlere katılan Roxarsone ve Nitarosone benzeri fenilarsenik asit içeren bileşiklerin tavuk eti ve iç organlarında arsenik birikimine yol açtığı bildirilmektedir (12,27).

Arsenik insanlara sıklıkla su ürünleri, su, pirinç, çeşitli tahıllar, süt ürünleri ve tavuk eti gibi gıdalarla bulaşabilmektedir. İnorganik türevlerinin daha toksik olduğu bilinen arseniğin su ürünlerindeki formunun diğer formlara göre daha az toksik olduğu belirtilmektedir. ABD’nin çevre koruma ajansı (EPA) içme sularında 2001 yılında izin verilen arsenik düzeylerini beş kat azalt-

miştir (27). Gıdalarda bulunabilen bazı arsenik formlarının ısı işlemi sonucu daha toksik formlara dönüşebileceği bildirilmektedir (7).

Gıda yoluyla alınan arsenik, çok düşük düzeylerde alınsa dahi, insanlarda kansere sebebiyet verebilmekte, kalp hastalıkları ve diyabeti tetikleyebilmekte ve entelektüel fonksiyonları önemli düzeyde azaltabilmektedir (27). Akut arsenik toksikasyonunda, biyolojik ve fizyolojik sistemde görev alan birçok enzimin etkinliğinde değişimlere yol açabilmektedir (17). Arseniğe kronik maruziyet; özellikle gastrointestinal kanal, solunum kanalı, deri, karaciğer, kardiyovasküler sistem, hemopoetik sistem ve sinir sisteminde oldukça ciddi sağlık sorunlarına sebep olabilmektedir (1).

Ülkemizde 2013 yılında 1 758 363 ton üretilen ve 2012 yılında kişi başı 19.34 kg tüketilmiş olan kanatlı eti, günlük diyetle ucuz hayvansal protein kaynağı olması dolayısıyla oldukça önemli bir yere sahiptir (23). Dolayısıyla özellikle kanatlı eti ve ürünlerinin olası arsenik kontaminasyonu, halk sağlığı açısından uzun vadede ciddi risklere sebep olabilir. Ülkemizde tavuk etinde arsenik düzeylerine ilişkin yasal bir düzenleme bulunmamaktadır. Avrupa ve Amerika'da da spesifik bir gıda için belirlenmiş arsenik sınır değerleri bulunmamakla birlikte, söz konusu coğrafyalarda yaşayan insanların arsenik ve diğer toksik iz elementlere maruziyetleri belli aralıklarla yapılan total diyet çalışmaları ile belirlenerek mevcut durum ortaya konmakta ve buna göre gereken önlemler alınmaktadır. Ülkemizde özellikle kanatlı eti ve iç organlarının arsenik düzeyleri ile ilgili bilgiler sınırlıdır.

Bu çalışmanın amacı, düşük düzeylerde alınsa bile her formunun insan sağlığı üzerine olumsuz etki gösterdiği bilinen arseniğin Türkiye'de sıklıkla tüketilen tavuk eti ve iç organlarındaki varlığını ve düzeylerini ortaya koyarak halk sağlığı açısından olası riskleri belirlemektir.

Gereç ve Yöntem

Örneklerin Toplanması

Kayseri ilinde satışa sunulmuş olan farklı markalara ait 21 tavuk eti numunesi (10 tavuk eti, 11 iç organ) 2015 Kasım ayı içinde toplandı. Toplanan numuneler herhangi bir işlem yapılmadan ivedi şekilde ICP-MS analizi için Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'ne (ERÜ. TAUM) teslim edildi.

Tavuk Örneklerinin Çözdürülmesi

Numuneler Berghof Mikrodalga çözündürme sistemi (Berghof Speedwave, Germany) kullanılarak ICP-MS analizine hazır hale getirildi. Bu amaçla sistemin kapalı teflon bölümüne konulan numuneler 45 dakika boyunca mikrodalga fırında işleme tabi tutuldu. Daha sonra numunelere 10 ml %65'lik nitrik asit çözeltisi aktarıldı dikkatlice karıştırıldı. Yirmi dakika sonra tekrar mikrodalga ısıtma işlemi uygulandı. Çözdürülmüş numuneler ultradistile su ile 50 ml'ye tamamlanıp ependorf tüplerine alındı. İşlem boyunca kontaminasyon riskine karşı hiçbir numune metalik materyal ile temas ettirilmedi. Çalışma boyunca tüm malzemeler 1:10 nitrik asit ile çalkalandı, etüvde kurutulduktan sonra kullanıldı.

ICP-MS ile Tavuk Numunelerindeki Arsenik Düzeylerinin Belirlenmesi

Çözdürülmüş tavuk eti numunelerinde arsenik düzeylerinin tespiti amacıyla kapalı devre ICP-MS Agilent 7500a sistemi kullanıldı. Sistemin kalite kontrolü için numuneler ile birlikte, 200 ppb konsantrasyonda internal standartlar da (⁹Be, ⁴⁵Sc, ¹⁰³Rh, ²⁰⁸Bi) köre karşı okutuldu. Uygun kalibrasyon standartlarının ortaya koyulabilmesi ve analizin hassasiyetini ölçmek için kör numune olarak ultra distile su kullanıldı.

İstatistiksel analiz

İstatistik analizlerde SPSS 14.01 paket programı kullanıldı. Kanatlı eti ile iç organlar arasındaki total arsenik düzeyleri bakımından farklılığın istatistiksel önem kontrolü Student T test ile yapıldı.

Bulgular

Bu çalışmada, Kayseri'de perakende olarak satışa sunulan farklı markalara ait 10 tavuk eti ve 11 iç organlarından oluşan toplam 21 numune arsenik düzeyleri açısından analiz edildi. İncelenen tüm numunelerin total arsenik konsantrasyonu Tablo 1'de özetlenmiştir.

Çalışmada analiz edilen tavuk eti numunelerinden iki (2/10) ve iç organ numunelerinden ikisinin (2/11) arsenik düzeyleri tespit sınırlarının (0.003911 µg/g) altında kalmıştır. Tavuk etlerinin yedisine ait arsenik değerleri 0.006 ile 0.094 µg/g arasında değişirken sadece bir numunede 0.307 µg/g düzeyinde arsenik saptanmıştır. Bu çalışmada kanatlı eti ve iç organlarının arsenik düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (p>0.05).

Tablo 1. Kanatlı eti ve iç organlarının total arsenik düzeyleri (µg/g)

	N	$\bar{X} \pm S_x$	Min-Max	İstatistik Önem Kontrolü (Student T test)
Kanatlı eti	8	0.081±0.035	0.006 –0.307	
n<T.L	2	-	-	
İç organ	9	0.055±0.012	0.007 –0.108	P=0.454 ^{ÖD}
n<T.L	2	-	-	
Toplam	21	0.067±0.016	0.006 –0.307	

N: Numune Sayısı; n<T.L: Tespit limiti altında kalan numune sayısı; T.L: Tespit Limiti: 0.003911 µg/g; ÖD: Önemlilik Değeri; P>0.05; $\bar{X} \pm S_x$: Ortalama±Standart hata

Tartışma ve Sonuç

Dünya Sağlık Örgütü'nün (29) verilerinde, arsenik için akciğer kanser insidensini %0.5 düzeyinde artıran günlük minimal inorganik arsenik limitinin 3 µg/kg vücut ağırlığı (2-7 µg/kg vücut ağırlığı- total diyetle olarak maruz kaldığı) olduğu belirtilmekte, tolere edilebilir herhangi bir değerden bahsedilmemektedir. Söz konusu bildirmede daha önce belirlenen haftalık alım limitlerinin de geri çekildiği, arsenik için güvenli kabul edilebilecek bir limit değer belirlenemeyeceği vurgulanmaktadır. İlaveten su kaynaklarındaki arsenik düzeyleri içme suları için WHO tarafından belirlenen değerlerin (10 µg/L) altında olan bölgelerde halk sağlığı riski bulunmadığı belirtilmektedir. Buna paralel olarak tavuk et ve iç organlarında arsenik düzeylerine ilişkin ülkemiz gıda kodeksinde de herhangi bir veri bulunmamaktadır.

İngiltere'de inorganik arsenik için bir bireyin günlük maksimum tolere edilebilir alım düzeyi 120 µg olarak belirlenmiştir (14). Söz konusu çalışmada İngiltere'de yaşayan popülasyonun ortalama bir diyetle günde 65 µg total arseniğe maruz kaldığı ortaya konmuş ve birçok gıdanın uluslararası ticarete konu olması dolayısıyla diğer ülkelerde de benzer çalışmaların yapılması gerektiği vurgulanmıştır.

Birçok ülkede çeşitli gıda maddelerindeki total arsenik düzeylerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır (2,3,4,13,19,24). Bu çalışmada incelenen tavuk eti numunelerinin ikisi (% 20) ve iç organ numunelerinin ikisi (% 18) olmak üzere toplam dört numunede (% 19) arsenik düzeyleri saptama sınırlarının altında kalmıştır. Bu çalışmada kanatlı etlerinde ortalama total arsenik miktarı 0.081 µg/g olarak belirlenirken tavuk etlerinin yedisine ait arsenik değerlerinin 0.006 ile 0.094 µg/g arasında değiştiği, sadece bir numunede 0.307 µg/g düzeyinde olduğu

saptanmıştır. İç organlardaki arsenik ortalaması ise 0.055 µg/g olarak belirlenmiştir. Ortalama günde 60 gr tavuk eti tüketen bir kişinin sadece tavuk etinden ortalama 4.86 µg total arseniğe, kanatlı etindeki total arsenik düzeyinin %65'inin inorganik olduğu varsayıldığında ise (11, 28) 3.159 µg inorganik arseniğe maruz kalacağı ortaya çıkmaktadır. Amerika'da 2004 yılında yapılan benzer bir çalışmada Amerika'da yaşayan 60 kg bir bireyin sadece tavuk eti ile günde 1.38-5.24 µg arasında inorganik arseniğe maruz kalacağı hesaplanmıştır (10).

İncelenen örneklerde kalıntı düzeyinde arsenik bulunması, ürünlerin farmasötik uygulamalar ile değil yetiştirme veya kesim prosesi sırasında kullanılan sulardan kaynaklanan kontaminasyonlar ile ilişkilendirilebilir.

Türkiye'de kaşar peynirlerinin arsenik içeriğine yönelik yapılmış olan bir çalışmada ortalama total arsenik düzeyi 0.0001 µg/g olarak belirlenmiştir (18).

Bu çalışmada bulguları Nachman ve ark. (2013) tarafından Amerika'da yapılan çalışma bulgularına göre oldukça yüksektir (16). Nachman ve ark. tarafından yapılan çalışmada pişmiş kanatlı etinde total arsenik miktarları ortalama 3 µg/kg, pişmemiş ürünlerde ortalama 2.4 µg/kg düzeyinde bulunmuştur. İnorganik arsenik miktarı ise pişmiş ürünlerde 1.8 µg/kg, organik tavuk etlerinde ise 0.6 µg/kg düzeyinde rapor edilmiştir. Söz konusu çalışmada araştırmacılar ısıtma işlemi uygulanan tavuk etlerinde tespit ettikleri ortalama arsenik düzeylerinin diğerlerine oranla daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Öte yandan Lasky ve ark. (2004), piliç etlerindeki total arsenik miktarını 0.39 ppm, erişkin tavuklarda ise bunun üç-dört kat fazlası olarak belirlemişlerdir ki bu değerler bizim çalışma bulgularımızdan yüksektir (10).

Çalışmada elde edilen veriler, Saipan ve ark.

(2014) tarafından yayınlanan ortalama tavuk eti bulguları (0.045 µg/g) ile benzerlik göstermekle birlikte içorgan bulguları (0.402 µg/g) ile karşılaştırıldığında düşük bulunmuştur (20). Bahsi geçen araştırmacılar elde ettikleri sonuçların hiçbirinin Tayland ulusal organizasyonu tarafından tavuk etleri (0.5 µg/g) ve iç organları (2 µg/g) için belirlenen düzeyleri aşmadığını bildirmişlerdir. Tayland yerel mevzuatında belirtilen söz konusu limitler US FDA'nın, 1992 yılında yayınladığı limitlerle uyumakta olup söz konusu limit değerlerin artık koruyucu bir nitelik taşımadığı belirtilmiştir (25).

Ghosh ve ark. tarafından 2012'de Bangladeş'te yapılan çalışmada karaciğerdeki arsenik konsantrasyonu 0.102 µg/g ve kas dokuda ise 0.067 µg/g olarak belirlenmiş, kanatlı etindeki arsenik düzeylerinin kuyu sularındaki düzeylerle ilişkili olduğu vurgulanmış ve kanatlı etlerindeki düzeylerin Bangladeş yerel mevzuatında yer alan maksimum tolere edilebilir limitlerin altında olduğu rapor edilmiştir (5). Ghosh ve ark. (2012) tarafından belirlenen değerler bizim çalışma bulgularımızdan yüksektir. Pakistan'da yapılan gıdalarda arsenik düzeylerini belirlemeye yönelik iki çalışmanın birinde tavuk etinde total arsenik düzeyi 2.15-5.28 µg/g arasında, kanatlı iç organında ise 2.68-7.11 µg/g arasında bulunmuş (22), diğerinde ise bu değerler sırasıyla 2.15-5.28 µg/g ve 2.11-6.36 µg/g arasında bulunmuştur (9) ki her iki çalışma bulguları da bu çalışma bulgularından oldukça yüksektir.

Tavuk eti gelişmiş ülkelerde popülasyon diyetinin en önemli parçasını oluşturmaktadır. Kanatlı dokularında arsenik birikimi hayvanların muhtemelen düşük kaliteli yemlerle, mezbaha veya su ürünleri atıklarıyla beslenmelerinden kaynaklanmaktadır.

Arseniğin insan gıda zincirine dahil olmasının genel olarak insan ve hayvan beslenmesinde kullanılan tarım ürünlerinin kontamine yer altı sularıyla sulanması ve içme suları yoluyla olduğu kabul edilmektedir. Genel olarak arsenik alımı, toz ve dumanın solunması, gıda, su ve çeşitli içeceklerin ağız yoluyla alınması şeklinde olmaktadır.

Birçok farklı ülkede arsenik üzerine yapılan çalışmalar belli bir gıda üzerine yoğunlaşmaktan ziyade o bölgede yaşayan insanların gıda yoluyla aldıkları total arsenik düzeylerini belirlemeye yöneltilmiştir. Kanada'nın farklı şehirlerinden 1985-1988 yılları arasında toplanan gıdalarda ortalama arsenik düzeyinin 73.2 µg/kg düzeyin-

de olduğu (3), Japonya'da iki yıl boyunca yapılan bir total diyet çalışmasında bir insanın günde ortalama 160 ila 180 µg arsenik aldığı (24), Amerika'da gıda yoluyla alınan arsenik düzeyinin kişi başı günlük 88 µg (6), İngiltere'de ise günlük total arsenik alımının 65 µg olduğu rapor edilmektedir (14). Yapılan çalışmalarda en yüksek arsenik konsantrasyonlarının su ürünlerinde tespit edildiği fakat su ürünlerindeki arseniğin büyük bir bölümünün organik formda olduğu belirtilmektedir (21).

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) 1991 yılından itibaren gıdalardaki arsenik düzeylerini total diyet çalışmaları ile belirlemektedir (25). Ülkemizde de günlük arsenik alımına ilişkin toksisite değerlendirmeleri için detaylı total diyet çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır. Geniş çaplı total diyet çalışmalarıyla belli bölgelerde yaşayan insanların tüm diyetleri ile aldıkları arsenik ve diğer toksik elementlerin konsantrasyonlarının belirlenmesi ve gereken önlemlerin alınması mümkün olacaktır. Nitekim, arsenik hemen her yerde dağılım göstermekte olup sadece belli gıdalar yoluyla değil farklı gıda grupları yoluyla da alınmaktadır. İlave olarak sadece arsenik için değil diğer tüm toksik elementler için Avrupa, ABD ve Japonya'da yapıldığı gibi ülkemizde de belli aralıklarla total diyet çalışmalarının sürdürülmesi mevcut durumun belirlenmesi, bölge halkının konu hakkında bilgilendirilmesi ve koruyucu önlemlerin alınması gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Al Rmalli SW, Haris PI, Harrington CF, Ayub M. A survey of arsenic in foodstuffs on sale in the United Kingdom and imported from Bangladesh. *Sci Total Environ* 2005; 337(1): 23-30.
2. Alam MGM, Snow ET, Tanaka A. Arsenic and heavy metal contamination of vegetables grown in Samta village, Bangladesh. *Sci Total Environ* 2003; 308: 83-96.
3. Dabeka RW, Mckenzie AD, Lacroix GMA, Cleroux C, Bowe S, Graham RA, Conacher HB, Verdier P. Survey of arsenic in total diet food composites and estimation of the dietary intake of arsenic by Canadian adults and children. *J AOAC Int* 1993; 76(1): 14-25.
4. Das HK, Mitra AK, Sengupta PK, Hossain A, Islam F, Rabbani GH. Arsenic concentrations in rice, vegetables, and fish in Bangladesh: a preliminary study. *Environ Int* 2004;

- 30(3): 383-7.
5. Ghosh A, Awal MA, Majumder S, Sikder MH, Rao DR. Arsenic residues in broiler meat and excreta at arsenic prone areas of Bangladesh. *Bangladesh J Pharmacol* 2012; 7(3): 178-85.
 6. Gunderson EL. FDA total diet study, July 1986–April dietary intakes of pesticides, selected elements, and other chemicals. *J AOAC Int* 1991; 78(6): 1353-63.
 7. Hanaoka K, Goessler W, Ohno H, Irgolic KJ, Kaise T. Formation of toxic arsenical in roasted muscles of marine animals. *Appl Organometal Chem* 2001; 15(1): 61-6.
 8. Islam MS, Awal MA, Mostofa M, Begum F, Khair A, Myenuddin M. Effect of Spirulina on biochemical parameters and reduction of tissue arsenic concentration in arsenic induced toxicities in ducks. *Int J Poult Sci* 2009; 8(1): 69-74.
 9. Kazi TG, Shah AQ, Afridi HI, Shah NA, Arain MB. Hazardous impact of organic arsenical compounds in chicken feed on different tissues of broiler chicken and manure. *Ecotox Environ Safe* 2013; 87(1): 120-3.
 10. Lasky T, Sun W, Kadry A, Hoffman MK. Mean total arsenic concentrations in chicken 1989-2000 and estimated exposures for consumers of chicken. *Environ Health Persp* 2004; 112(1): 18-21.
 11. Levine T, Marcus W, Chen C, Rispin A, Scott CS, Gibb H. Special Report on Ingested Inorganic Arsenic: Skin Cancer, Nutritional Essentiality. Washington, DC:U.S. 1988, Environmental Protection Agency.
 12. Mandal, Kumar B, Suzuki K.T. Arsenic round the world: a review. *Talanta* 2002; 58(1): 201-35.
 13. Meharg AA, Mazibur MD. Arsenic contamination of Bangladesh paddy field soils: implications for rice contribution to arsenic consumption. *Environ Sci Technol* 2003; 37(2): 229-34.
 14. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Duplicate Diet Study of Vegetarians-Dietary Exposures to 12 Metals and Other Elements (Sheet 193). *Food Surveillance Information Sheet*; 2000.
 15. Nachman KE, Graham JP, Price LB, Silbergeld EK. Arsenic: a road block to potential animal waste management solutions. *Environ Health Perspect* 2005; 113(9): 1123-4.
 16. Nachman KE, Baron PA, Raber G, Francesconi KA, Navas-Acien A, Love DC. Roxarsone, inorganic arsenic, and other arsenic species in chicken: a US-based market basket sample. *Environ Health Perspect* 2013; 121(7): 818.
 17. Nagvi SM, Vaishnavi C, Singh H. Toxicity and metabolism of arsenic in vegetables. Nriagu JO. eds. In: *Arsenic in the Environment. Part II: Human Health and Ecosystem Effects*. New York: Wiley Publishing. 1994; pp. 55-91.
 18. Özlü H, Atasever M, Urçar S, Atasever M. Erzurum'da tüketime sunulan kaşar peynirlerinin mineral madde içeriği ve ağır metal kontaminasyonu. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2012; 18(2): 205-8.
 19. Roychowdhury T, Uchino T, Tokunaga H, Ando M. Survey of arsenic in food composites from an arsenic-affected area of West Bengal, India. *Food Chem Toxicol* 2002; 40(11): 1611-21.
 20. Saipan P, Tengjaroenkul B, Prahkarnkao K. Accumulation of arsenic and cadmium in foods of animal origin collected from the local markets in North eastern region Thailand. *Int J Anim Vet Adv* 2014; 6(4): 130-4.
 21. Schoof RA, Yost LJ, Eickhoff J, Crecelius EA, Cragin DW, Meacher DM, Menzel DB. A market basket survey of inorganic arsenic in food. *Food Chem Toxicol* 1999; 37(8): 839-46.
 22. Shah AQ, Kazi TG, Arain MB, Jamali MK, Afridi HI, Jalbani N, Baig JA. Comparison of electrothermal and hydride generation atomic absorption spectrometry for the determination of total arsenic in broiler chicken. *Food Chem* 2009; 113(4): 1351-5.
 23. T.C. Gıda, Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Ekonomi Ve Politika Geliştirme Enstitüsü (TEPGE). Ürün Raporu Kümes Hayvancılığı 2014. Erişim tarihi: Aralık, 2015. http://arastirma.tarim.gov.tr/tepge/Lists/Haber/Attachments/18/KANATLI_URUN_RAPORU_2014.pdf
 24. Tsuda T, Inoue T, Kojima M, Akoi S. Market basket and duplicate portion estimation of dietary intake of cadmium, mercury, arsenic, copper, manganese, and zinc by Japanese adults. *J AOAC Int* 1995; 78(6): 1363-8.
 25. U.S. Food and Drug Administration (FDA) 2016. İnternet Erişimi: Şubat 2016. <http://www.fda.gov/Food/FoodbornellnessContaminants/Metals/ucm319870.htm>

26. Villa-Lojo MC, Rodriguez E, Mahia PL, Mnuategui MS, Rodriguez DP. Coupled high performance liquid chromatography–microwave digestion–hydride generation–atomic absorption spectrometry for inorganic and organic arsenic speciation in fish tissue. *Talanta* 2002; 57(4): 741-50.
27. Wallinga D. Playing chicken: Avoiding arsenic in your meat. The Institute for Agriculture and Trade Policy, Food and Health Program, Minnesota 55404, USA, 2006.
28. Weiler R. Percentage of Inorganic Arsenic in Food: A Preliminary Analysis. Report No. 87-48-45000-057. Toronto, Canada:Ontario, Canada Ministry of the Environment, 1987.
29. World Health Organization (WHO). Preventing Disease Through Healthy Environments Exposure to Arsenic: A Major Public Health Concern. 2010. Public Health and Environment World Health Organization 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland.

Yazışma adresi:

Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM
Erciyes Üniversitesi veteriner Fakültesi
Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
38039 Melikgazi/Kayseri
E-posta: yyildirim@erciyes.edu.tr



Sığırlarda Barınak, Nakil ve İnsan-Hayvan Etkileşimi gibi Bazı Faktörlerin Hayvan Refahı Üzerine Etkileri

Gökçe ÖZDEMİR¹, Enes SİNGİN²

¹Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Zootehni Anabilim Dalı, Bingöl-TÜRKİYE

²Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootehni Anabilim Dalı, Bingöl-TÜRKİYE

Özet: Son yıllarda hayvan refahına olan ilginin artması, ulusal ve uluslararası alanda hayvancılık sektöründe konuyla ilgili mevzuatlarda düzenlemeler yapılmasına ve bu konuda birçok bilimsel çalışmanın yürütülmesine yol açmıştır. Bu çalışmada, hayvanlarda strese yol açarak refah düzeylerini etkileyen ve hayvan refahının temel belirleyici unsurlarından olan barınak, nakil ve insan-hayvan etkileşimi gibi konularda sığır yetiştiriciliğinde faydalı olabilecek literatür bilgileri özetlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Barınak, hayvan refahı, insan-hayvan etkileşimi, nakil, sığır

The Effects on Animal Welfare of Some Factors Such As Shelter, Transportation and Human-Animal Interactions in Cattle

Summary: In recent years, the increase in interest on animal welfare has led to the production of many scientific studies on this issue and to make changes in legislation regarding the livestock sector both the national and international areas. In this study, the main determinants of welfare in cattle such as shelter, transport and human-animal interactions, which led to stress, are summarized through the literature as they can be practical for the studies on cattle breeding.

Key words: Animal welfare, cattle, human-animal interaction, shelter, transport

Giriş

Avrupa'da 19. yüzyılda kurulan sivil toplum kuruluşlarının, yüzyıllardır süren faaliyetlerinin yanı sıra hayvansal ürünlerde kendi kendine yeterliliğin sağlanmış olması, hayvan refahı kavramının üretimi artırma çabasının önüne geçmesini kolaylaştırmıştır. Hayvan refahı kavramıyla çiftlik sistemlerinde meydana gelen değişim yüksek maliyet unsurlarını içermektedir. Aynı zamanda bu konu ekonomik yönlerinin yanı sıra etik açıdan da ele alınmaya başlanmıştır (2,28). Son zamanlarda, tüketici talebinin ekolojik hayvansal ürünlere kayması, hayvancılıkta yoğun üretim sistemlerinin oluşturduğu sorunları (sağlık, çevre ve hayvan hakları) gündeme getirirken, bu sorunların çözümü doğrudan hayvan refahı kavramı ve bu kavrama bağlı olarak geliştirilen hayvan refahı kriterleri ile ilişkili olmuştur (28). Hayvan refahı, hem birbirinden bağımsız hem de etkileşim içinde olan faktörlerin etkisiyle şe-

killenmektedir (24). Bu noktada, refah konusunda etkili faktörler üzerindeki tartışmalar bu makalenin sınırlarını aşacak genişliktedir. Türkiye'de özellikle yoğun üretim yapılan çiftlik hayvancılığının içerisinde bulunduğu sorunlar ve bilim insanlarının üzerinde durduğu konular dikkate alındığında; bu çalışmada, özellikle sığır yetiştiriciliğinde hayvan refahı üzerine etki eden barınak koşulları, nakil ve insan gibi bazı faktörler üzerinde durulacaktır.

Barınak Koşullarının Hayvan Refahı Üzerine Etkisi

Çiftlik hayvanlarının refahı düzeyini etkileyen sorunlar çoğunlukla çevre ile ilgilidir. Hayvanlar ile insanlar arasındaki etkileşimin artmasıyla, hayvanların yaşantıları daha fazla sorgulanır olmuş; zaman içerisinde hayvanların buldukları ortamdaki rahatları tartışılmıştır (1,8). İzmirli ve Yaşar (16), tarafından Türk toplumunun hayvanlar ve kullanımları hakkındaki tutumlarını incelemek, hayvan refahı sorunlarının anlaşılması ile farkındalığını artırmak amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmada; hayvan refahı ile ilgili en endişelenilen konunun barınaklar olduğu ve

Özellikle barınak koşullarının iyileştirilmesinin hayvan refahı açısından faydalı olacağı sonucuna varılmıştır. Nitekim Şanlıurfa'da gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise, yetiştiricilerin ahırları modern sisteme göre inşa ettikleri ancak biyogüvenlik ve hayvan refahı konularında yeterli düzeyde teknik bilgi ve danışmanlık hizmeti almadıkları, geleneksel yöntemlerle yetiştiricilik yapmaya devam ettikleri bildirilmiştir (10,35).

Refahın sağlanmasında barınak ve çiftlik yönetimi ile ilgili uygulamaların birlikte el alınması ve titizlikle üzerinde durulmasının önemi büyüktür. Çiftlik yönetimi ve şartları hayvanlar için uygun değil ise hayvanlarda stres oluşacaktır (20). Özellikle yetersiz barındırma koşulları hayvanlar için önemli bir stres faktörüdür ve barınaklarda hayvanların refahının sağlanabilmesi için yerleşim planı, hayvan hareketleri, iş etkenliği ve iş kolaylığı gibi konular dikkate alınarak yapılmalıdır. Sığırlar birçok farklı yetiştirme koşullarında yetiştirilmektedirler. Ancak, hayvanların refahı barınakların tasarımlarındaki detaylarda gizlidir (7,8,19,35).

Türkiye'de sığır yetiştiriciliğinde çoğunlukla barınak tipi olarak bağlı duraklı barınaklar kullanılmaktadır (4,21). Hayvanların bağlanması sürü idaresi bakımından bazı avantajlar sağlasa da hayvan refahı ve et kalitesi üzerine olumsuz etkisi vardır. Bağlı hayvanların yürümleri engellenerek hareketleri kısıtlanmakta ve diğer hayvanlarla olan sosyal ilişkileri sınırlandırılmaktadır. Ayrıca hayvanların bağlanması, onların yatma-kalkma ve dinlenme gibi davranışları üzerinde de etkili olmaktadır (20). Bağlı olarak yetiştirilen besi sığırlarının yatma periyodu sayısının daha az olduğu; yatmadan önce de yatacağı alanı araştırma frekansının arttığı belirlenmiştir. Bağın kısa, alanın yetersiz ve zeminin beton olması hayvanların konforunu olumsuz etkilemektedir. Bağlı hayvanlarda genellikle serbest dolaşımılara göre ayak sorunları ve osteokondrozis daha fazla görülmektedir. Bu sebeple, bağlı hayvanlarda belli aralıklarla tırnakların kesilmesi, verim ve refah düzeyleri açısından önemlidir (8).

Son zamanlarda sığır yetiştiriciliğinde bağlı duraklı barınakların sahip olduğu olumsuzluklara karşılık birçok avantaja sahip serbest duraklı barınak tipi yaygınlaşmaktadır. Serbest duraklı barınak sistemlerinin planlanmasında temel amaç, sığırların kendilerine ve diğerlerine zarar vermeden kullanabilecekleri ve yatabilecekleri temiz bir dinlenme alanı oluşturmaktır (21). Ser-

best durakların uygun biçimde tasarlanmasında işletmede yetiştirilen sığır ırkının boyutları, normal yatma pozisyonları ile yatma-kalkma gibi davranışlarının göz önünde bulundurulması gerekmektedir (9). Yatma, ineklerin dinlenmesine imkân sağlayan önemli bir davranıştır. İyi tasarlanmış ve düzenli olarak bakımı yapılan serbest duraklar, ineklere rahat, temiz, kuru bir yatma alanı sağlamak ve yaralanmaları en aza indirmek suretiyle inek konforu üzerinde oldukça önemli etkiye sahiptirler. İnek sağlığı ve işletme karlılığı için inek konforu son derece önemlidir (7,8,9,19). Bu kapsamda, inekler günün 10-14 saatini yatarak geçirdikleri için barınaklarda yatak kaplamalı duraklar tercih edilecekse mutlaka yatak kaplaması üzerine 5-10 cm altlık serilmelidir. Özellikle altlık malzemenin kullanıldığı serbest duraklarda, altlık ilave edilmesi veya eksilen altlığın tamamlanması, ineklerin daha uzun süre yatmasını ve durakların kullanım oranının artmasını teşvik etmekte ve bu durum, inek konforunu artırmaktadır (9). Sığırlarda, altlık materyali olarak; organik (kuru saman, sap, ağaç ürünleri, odun talaşı vb.), inorganik (deniz kumu, kireç taşı, killi toprak vb.) veya sentetik (kauçuk paspas, yataklar vb.) malzemeler kullanılmaktadır. Kumun sağladığı avantajlardan dolayı (inorganik materyal olması, hayvanın şeklini alabilmesi, nemi drene etmesi, ayak-bacak ve meme sağlığı üzerindeki olumlu etkileri gibi) kum altlıklı durakların yatak kaplamalı duraklara göre hayvan konforu açısından daha uygun olduğu bildirilmektedir (9,35).

Modern hayvan yetiştiriciliğinde kullanılan yöntemler ve koşullar hayvanlar üzerinde zayıf refaha neden olmaktadır (20). Bu tip işletmelerdeki en önemli etkenlerden biri de barınak içerisinde hayvan başına ayrılan alanın az olmasıdır. Yerleşim sıklığı arttıkça hayvanlarda saldırganlık davranışları artmaktadır (8,20). Bu durum ise dinlenme için harcanan sürenin azalmasına sebep olmaktadır. Çünkü yatan hayvanlara karşı saldırganlık davranışı daha fazladır. Etlik piliç ve sığır besiciliğinde hayvan başına ayrılan alanın ve hava hacminin artması ölüm oranını azaltmaktadır. Bu bakımdan organik hayvancılık sistemleri, geleneksel sistemlerle karşılaştırıldığında hayvan refahı sağlamak için daha iyi bir konumda bulunmaktadır. Organik besi sığırcılığında hayvan başına ayrılan alan 350-500 kg canlı ağırlık için en az 5 m², 500 kg'dan sonra her 100 kg için 1 m² ilave edilir. Geleneksel yetiştiricilikte ise 500 kg'a ulaşması beklenen hayvan

için en az 3 m² ve 800 kg'a kadar çıkması beklenen hayvanlar için her 100 kg için 0.5 m² ilave edilir (8,26).

Barınak içerisinde yapılan düzenlemeler ve ekipmanların yerleşim düzeni de hayvan refahı üzerine etkilidir. Hayvan başına ayrılan yemlik alanının azalması, hayvanlarda saldırganlık davranışının artmasına ve bazı hayvanların daha az yem tüketmesine sebep olmaktadır. Özellikle sosyal hiyerarşik yapı içerisinde alt sıralarda yer alan hayvanların yeterli düzeyde beslenemedikleri gözlenmiştir. Bu durum ise hayvanın verim ve refahını olumsuz etkilemektedir. Bu olumsuzlukların önlenmesi amacıyla; otomatik suluk kullanılması durumunda işletmede 25 inek için bir otomatik suluk olacak şekilde bir hesaplama yapılmalıdır. İnek başına yemlik uzunluğu ise 65-75 cm arasında olmalıdır. Barınak içerisindeki bölmeler ve ekipman hayvanların ihtiyaçlarından fazla veya eksik olmamalı, yaralanmaya sebebiyet verecek şekilde köşeli veya sivri kenarları olmamalı ve kolayca temizlenip dezenfekte edilecek şekilde yapılmalıdır. Ayrıca barınak içi aydınlatma hayvanların yem, su gibi temel ihtiyaçlarını görmeleri ve aynı zamanda bakıcıların hayvanları kontrol etmeleri için gereklidir. Barınakta yeterli aydınlatma için pencere yüzey alanı, tabanının 1/15-1/20'si genişliğinde olacak şekilde hesaplanmalıdır. Soğuk bölgelerde bu oran 1/25'e kadar düşürülebilmektedir. Barınakta yapay aydınlatma için ise ahır tabanının 1m²'sine 25-30 watt'lık ışık kaynağı kullanımı tavsiye edilmektedir (2,8,23).

Barınak içerisindeki sıcaklığın hayvanın türüne, yaşına ve yetiştirme şekline göre optimal değer aralığında sağlanması refah bakımından önemlidir. Sığırlarda sıcaklık-nem indeksine bağlı oluşacak sıcaklık stresinin azaltılabilmesi ve barınak içerisindeki zararlı gazların uzaklaştırılabilmesi için sığağa karşı gerekli önlemlerin alınarak havalandırmanın iyi yapılması gereklidir. Sığırlar için en uygun çevre sıcaklığı 10-15 °C arası olmakla birlikte, bu hayvanlar -18 °C ile +24 °C arasındaki sıcaklıklara da adapte olabilmektedirler. Barınaktaki nem oranı %60-80 arasında olmalıdır. Ayrıca bir buzağı için saatte 10 m³, sağmal bir inek için saatte 50 m³ civarında bir havalandırma sağlanmalı ve ortamda hayvan başına 20 m³ temiz hava temin edilmelidir (3,8,35).

Nakil'in Hayvan Refahı Üzerine Etkisi

Hayvancılık işletmelerinde önemli aktivitelerden biri olan nakil, hayvanlar üzerinde stres yaratan ve refahını etkileyen önemli unsurlardan biridir. Canlı hayvan ithalat ve ihracatının yaygın hale gelmesiyle çiftlik hayvanlarının işletmeden işletmeye veya işletmeden kesimhaneye taşınması rutin bir yönetim uygulaması haline almıştır. Nakil sırasında, öncesinde ve sonrasında ortaya çıkan bazı unsurlar hayvanlar için stres kaynağı olabilmekte, bu durum ise et kalitesini ve hayvan refahını etkilemektedir (5,15,17,36). Nitekim hayvan nakilleri esnasında hayvan refahı standartlarının göz ardı edilmesinin sonucu olarak ölüm oranlarında artma, hayvanlarda ağırlık kaybı ile karkaslarda deformasyonların olması ve etlerin kalitesinde azalma gibi bir takım sorunların oluşması hayvan refahı kurallarının önemini ortaya koymaktadır (5,17,30). Damızlık hayvanlara göre kasaplık hayvanlarda gerek nakilleri esnasında gerekse üretim süreçlerinde refahla ilgili problemler daha fazla görülmektedir (25,30). Türkiye'de tüketicilerin görüşlerini belirlemek amacıyla düzenlenmiş bir çalışmada, çiftlik hayvanları içerisinde, en fazla refah sorunu yaşayan hayvanların "besi sığırları" olduğu sonucuna ulaşılmıştır (27).

Hayvan refahı, nakil sırasındaki uygulamaların bir veya birkaçından etkilenmektedir. Literatürlerde, nakil sırasında hayvanlar üzerinde yoğun stres yaratarak refah üzerine doğrudan etkili olabilen faktörlerden bazıları şu şekilde sıralanmaktadır. Hayvanların nakil araçlarına yüklenmeleri (yükleme-boşaltma rampasının özellikleri), nakil aracının özellikleri (süspansiyon sistemi, yükseklik, kapalı araçlarda yetersiz havalandırma ve egzoz gazları) ile sürüş kalitesi, araçta hayvan başına ayrılan alan (hareketli ya da hareketsiz olarak tutulmaları), nakil süresi (su ve yem kısıtlaması), yol ve iklim koşulları (ortam sıcaklığı ve nem düzeyi). Bu faktörlerden özellikle nakil araçlarında hayvan başına ayrılan alan (yükleme yoğunluğu), yükleme ve boşaltma rampaları ile nakil süresi üzerinde önemle durulması gerekmektedir (5,13,15,17,29,30,36). Nakil sırasında araçta hayvanların denge kayıpları ve düşmeleri beklenmedik yaralanma veya ezilmelere sebep olduğu için araçlarda hayvan başına ayrılan alan hesaplanmasında çeşitli ölçü birimlerinden faydalanılmaktadır. Bunlar hayvan başına ayrılan alan (m²/hayvan), belli bir canlı ağırlığa ayrılan alan (m²/100 kg) veya birim alana düşen canlı ağırlık (kg/m²) ile ifade

edilmektedir. Sığırlarda hayvan başına ayrılması gereken minimum alanın hesaplanmasında çeşitli formüller tavsiye edilmektedir. Bu konuda, Avrupa Birliği düzenlemelerinde farklı türlerin değişik yollarla taşınmasıyla ilgili olarak canlı ağırlığa göre gerekli olan alanlar belirlenmiştir. Çiftlik Hayvanları Refah Komitesi (FAWC) tarafından nakil araçlarında hayvan başına ayrılması gereken minimum alanın hesaplanmasında; $A=0.021 \times W^{0.67}$ eşitliğinin kullanılması önerilmektedir. Eşitlikte A: Bir hayvana ayrılması gereken

Tablo 1. Karayolu ile nakliye esnasında büyükbaş hayvanlar için yeterli alan

Kategori	Yaklaşık ağırlık (kg)	Alan (m ² /hayvan)
Küçük danalar	50	0.30 ila 0.40
Orta boy danalar	110	0.40 ila 0.70
Ağır danalar	200	0.70 ila 0.95
Orta boy sığır	325	0.95 ila 1.30
Ağır sığır	550	1.30 ila 1.60
Çok ağır sığır	> 700	> 1.60

minimum zemin alanı (m²); W: Hayvanın canlı ağırlığı (kg); Eşitlikteki 0.021 sabiti ise hayvanın vücut yapısına bağlı olarak vücut uzunluğunun vücut genişliğine oranını temsil etmektedir. Hayvan başına ayrılan alan hesaplanırken tür, yaş, canlı ağırlık, cinsiyet, gebelik durumu, nakil süresi, çevre sıcaklığı, sığırlarda ve koyunlarda boynuz gibi faktörler de dikkate alınmalıdır (5,17,29,30). Bu konuda Türkiye’de ise “Hayvanların Nakilleri Sırasında Refahı ve Korunması Yönetmeliği”ne göre büyükbaş hayvanlar için cinsiyetlerine, türlerine, yaş gruplarına, canlı ağırlıklarına ve öngörülen yolculuğa uygun olarak Ek-2’de belirtildiği şekilde hayvan başına ayrılan yeterli alan Tablo 1’de verilmiştir (22).

Yükleme koşulları özellikle de yükleme rampası ve iskelesi gibi yükleme elemanları hayvanlarda fiziksel efor ve psikolojik stres düzeyini önemli ölçüde etkileyebilen faktörlerdendir. Kaygan zeminler, keskin köşeler veya metal yapılar hayvanları yaralayabilir, psikolojik ve fiziksel strese neden olabilir. Yükleme ve boşaltma esnasında kullanılan rampanın açısı ve diğer özellikleri refah bakımından önemlidir. Rampaların açısı

buzağılar için 20 dereceden, sığırlar için 26 dereceden daha fazla olmaması gerekir. Eğer kullanılacak yüzey meyilli olacaksa, yüzey yeterli derecede geniş olmalı, kaygan olmamalı ve hayvanların vücutlarını çarpıp zedelememeleri için yan kısımları çıkıntılı olmamalıdır (5,17,22,30).

Sığırlarda nakil sırasında kullanılacak araçlar tek ya da en çok iki katlı olmalı, özellikle tek katlı araçlar tercih edilmelidir. Nakil sırasında hayvanlara, araçta normal pozisyonlarında ayakta durma olanağı sağlanmalıdır. Sığırlarda normal pozisyonda vücudun en yüksek noktası olan başın en üst noktası ile tavan arasındaki mesafe ergin hayvanlar için 20 cm, buzağılar için 10 cm olmalı ve kat yüksekliği ise bu ölçülere göre ayarlanmalıdır. Nakil koşulları (sıcaklık, hava akımı, aracın hızı), araçtaki hayvanların duruşu ve yoğunluğu gibi faktörler buzağılarda psikolojik ve davranışsal yanıtları etkilemektedir. Bu sebeple, nakil araçları, hayvanların güvenliğini, ısı konforunu ve yeterli düzeyde hareketlerini sağlayacak şekilde düzenlenmesi gerekmektedir. Karayolu ile nakillerde araçların virajlara hızlı girmeleri, ani fren veya hızlanmaları gibi sürüş kalitesi de hayvan refahını olumsuz etkileyen önemli faktörlerdendir (15,17,30).

Nakilde refahı etkileyen diğer bir faktör de nakil süresidir. Yüklene ve taşınmaya alışık olmayan hayvanlar yüklemeye hemen sonra ilk birkaç saat içinde yoğun olarak strese girerler. Daha sonra hayvanlarda türlere ve mevcut koşullara göre ortama belli bir dereceye kadar adaptasyon oluşabilmektedir. Nakil süresi ve konaklama aralıklarının uzaması, hayvanlarda stresin artmasına ve refahın kötüleşmesine neden olduğundan hayvanlarda yorgunluk, enerji yetersizliği ve hastalıklara karşı duyarlılık artmakta, ayrıca hayvanların karkas ağırlıkları azalmaktadır. Bu sebeple, nakil süresi mümkün olduğunca kısa tutulmalıdır. Avrupa Birliği düzenlemelerinde karayoluyla nakilde sürenin 8 saati geçmemesi gerektiği; bu sürenin aşılması durumunda ise ek tedbirlerin alınmasının zorunlu olduğu bildirilmektedir (5,13,17,30). Türkiye’de ise hayvanların nakli sırasında hayvan refahı standartları ile ilgili olarak yayınlanan 24 Aralık 2011 tarihli ve 28152 Sayılı “Hayvanların Nakilleri Sırasında Refahı ve Korunması Yönetmeliği”nde, hayvanların nakilleri esnasında dikkat edilmesi gereken konulardan olan su verme ve besleme aralıkları, yolculuk saatleri ve dinlenme süreleri gibi konularda tüm evcil hayvan-

lar için sınırlamalara yer verilmiştir. Ancak bu makalenin konusu olan sığır cinsi için yönetmelikte ilgili konularda "Sığır cinsi hayvanların hareketleri için azami yolculuk süresi, sekiz saati geçemez. Ancak yönetmelikte belirtilen azami yolculuk süresi, ilgili ek şartlar yerine getirildiği takdirde uzatılabilir. Hayvanların karayolu araçları ile naklinde, yönetmeliğin ilgili maddelerinde belirtilen hususlar karşılanmak şartı; Sütle beslenmeye devam eden süttten kesilmemiş buzağular dokuz saatlik bir yolculuktan sonra, kendilerine özellikle sıvı ve gerektiğinde de yem verilmesine yetecek şekilde en az bir saat süre ile dinlendirilmesi gerekir. Bu dinlenme süresinden sonra, 9 saat daha taşınabilirler. Diğer sığır cinsi hayvanların, 14 saatlik bir yolculuktan sonra, kendilerine sıvı ve gerektiğinde de yem verilmesine yetecek şekilde en az bir saat süre ile dinlendirilmesi gerekir. Bu dinlenme süresinden sonra, 14 saat daha taşınabilirler. Öngörülen yolculuk süresinin bitiminde, hayvanların nakil aracından indirilmesi, yem ve su verilmesi ve en az 24 saat süre ile dinlendirilmesi gerekir" ibarelerine yer verilmiştir (22).

Bu noktada, yukarıda bahsedilen nakil koşulları ile ilgili literatür bilgilerine ek olarak; yine "Hayvanların Nakilleri Sırasında Refahı ve Korunması Yönetmeliği"nin 5. ve 33. maddelerinde yer alan hayvan nakillerine ilişkin genel şartlar ile nakliyesi uygun hayvanlara ait (özellikle sığır cinsi için) bazı ibarelerde aşağıda verilmiştir.

Hayvan nakillerine ilişkin genel şartlar: "Hayvanlar gereksiz yere yaralanacak ya da acı hissedecek biçimde nakledilmez, naklettirilmez. Yolculuk süresini asgariye indirmek ve yolculuk sırasında hayvanların ihtiyaçlarını karşılamak için önceden gerekli tüm düzenlemeler yapılır. Hayvanların sağlık şartları bakımından yolculuk yapmaya uygun durumda olması gerekir. Nakil araçları ile hayvanların nakil aracına bindirilmesi ve nakil aracından indirilmesinde kullanılan araç ve gereç; hayvanların güvenliğini sağlayacak, yaralanmalarını ve acı çekmelerini önleyecek şekilde tasarlanır, imal edilir, bakımları yapılır ve işletilir. Hayvanlarla ilgilenen personelin bu alanda eğitilmiş ya da deneyimli olması ve görevlerini gereksiz korku, yaralanma ya da acıya neden olabilecek herhangi bir şiddet ya da yöntem kullanmadan yerine getirmesi gerekir. Nakliye esnasında hayvanların refah durumları düzenli olarak kontrol edilir ve hayvanlar varış yerine gecikme olmadan ulaştırılır" (22).

Nakliyesi uygun olan hayvanlar: "Hayvanlar yaralanmamaları ya da gereksiz yere acı çekmelerini güvence altına alınan koşullarda nakledilir. Planlanan yolculuk için uygun durumda olmayan hiçbir hayvan nakledilemez. Yaralı olan veya fizyolojik zayıflık ya da patolojik rahatsızlık belirtileri gösteren hayvanlar; özellikle acı çekmeden kendi başlarına hareket edemeyen ya da yardım olmadan yürüyemeyen; üzerlerinde ciddi açık bir yara ya da şişlik/sarkıklık varsa; tahmini gebelik süresinin %90'ı geçmiş gebe hayvanlar ya da nakilden önceki son hafta içinde doğum yapmış hayvanlar ise; göbekleri tamamen iyileşmemiş yeni doğan memeli yavruları ise; 100 kilometrenin altında bir mesafeye taşınmadıkça, on günlükten küçük buzağular ise nakliye için uygun kabul edilmez" (22).

"Hayvanların refahını temin etmek için gerekli olmadıkça nakledilecek hayvanlara sakinleştirici verilmez. Sakinleştirici verilmesi gereken durumlarda bu tür uygulamalar veteriner hekim gözetimi altında yapılır. Laktasyon döneminde olan fakat yanlarında yavruları bulunmayan sığır cinsi ve koyun keçi türü hayvanlar 12 saati geçmeyecek aralıklarla sağılır" (22).

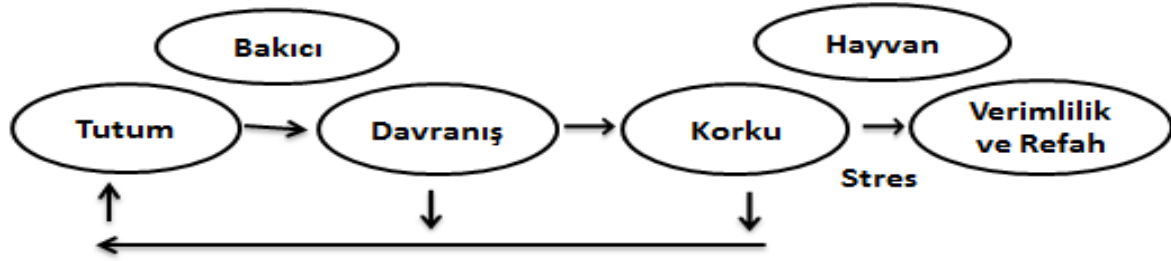
İnsan-Hayvan Etkileşimlerinin Hayvan Refahı Üzerine Etkisi

Son yıllarda hayvan refahına olan ilginin artması, ulusal ve uluslararası alanda hayvancılık sektöründe konuyla ilgili mevzuatlarda düzenlemeler yapılmasına ve bu konuda birçok bilimsel çalışmanın yürütülmesine yol açmıştır. Çiftlik hayvanlarının refahı ile çevre arasındaki ilişki önemli düzeyde tüketicilerinde ilgisini çekmekle birlikte hayvan ile çevre arasındaki ilişkiyi oluşturan önemli bileşenlerden biri de yetiştirici ve hayvan (etkileşimleri) interaksyonlarıdır. İnsan ve hayvan interaksyonlarının çiftlik hayvanlarının davranışı, fizyolojisi ve verimi üzerine önemli etkisinin olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (1,6,11,18,26,32). İnsan-hayvan ilişkisi (insanların kendi algısına göre), hayvan refahı ve üretimini önemli derecede etkilemektedir. Bu sebeple, insan-hayvan ilişkisi çiftlikte refahı değerlendirme planlarına dâhil edilecek önemli bir parametredir. Geçmişte toplum sadece kendi ihtiyaçlarının karşılanması ve üreticiler ise üretimin artırılması çabası içerisindeyken, günümüzde ürün kalitesinin artırılması ve bunun da refah standartları doğrultusunda gerçekleştirilmesi gerektiği görüşünün ön plana çıktığı bildirilmektedir (1,14,18,24,31-34).

Hayvanların buldukları ortama uyumlarının bir parçası olarak insanlarla olan etkileşimleri oldukça önemlidir. İşletmelerde uygulanan bazı sürü idaresi yöntemleri hayvanlar üzerinde önemli problemlere neden olmaktadır. Hayvanlarda oluşabilecek korku, stres durumları verimlerinin düşmesine, ürünlerin pazarlanabilirliğinin azalmasına ve refahtaki düşüşe neden olmaktadır ve çiftlik hayvanlarında bakıcının sık değişmesi, alışık olmadığı kişilerle temas etmesi ve köpeklerin kullanılması hayvanları olumsuz etkilemektedir (1,5,7,18,26,32). Demografik özellikler, hayvanların zihin yeteneklerine ilişkin kanıtlar, dini ve kültürel inanışlar, değerler ve normlar hayvan bakıcılarının hayvanlara yönelik tutum ve davranışlarını etkilemektedir (6,11). Bu nedenle, hayvanların hassas ve duyarlı oldukları hususunda bakıcıların daha eğitilmiş olması büyük önem taşımaktadır (1,5,18,32). İyi bir bakıcı sorumlu olduğu hayvanları tek tek tanır, her biri-

ve insanlara karşı (insan korkusu) hayvanların davranışsal tepkileri, hayvanlarla karşı bakıcı davranışı, hayvanlarda etkileşimine yönelik bakıcının tutumu arasında sıralı ilişki ortaya konmuştur (12,14).

Hayvan refahı koşullarının iyileştirilebilmesine yönelik son düzenleme olan 22.11.2014 tarih ve 29183 Sayılı "Çiftlik Hayvanlarının Refahına İlişkin Genel Hükümler Hakkında Yönetmelik"te insan ve hayvan interaksyonlarının önemi sebebiyle "Çiftlik hayvanlarının bakımı; uygun kabiliyet, bilgi ve mesleki yeterliliğe sahip yeterli sayıda personel tarafından gerçekleştirilir. Hayvan sahibi veya bakıcısı tarafından sıklıkla dikkat edilmesinin gerekli olduğu yetiştirme sistemlerinde barındırılan çiftlik hayvanlarının refahlarının sağlanması amacıyla, günde en az bir kere kontrol edilir. Hayvanlara tedavi amaçlı olmayan müdahaleler yapılmaz" ibarelerine yer verilmiştir (23).



Şekil 1. İnsan-Hayvan İlişkinin Modeli

si ile sevgi bağları oluşturur ve hayvanlarını düzenli ve dikkatli şekilde kontrol eder. Bakıcının bu davranışı refah bakımından çok önemlidir. Oysa modern yönetim tekniklerinin uygulandığı işletmelerde hayvanlarla insanlar arasındaki ilişkilerin azaldığı ve zayıfladığı görülmektedir. Bakıcı ve hayvan arasında ilişkiler, hayvanlara dokunma, görme, koklama ve işitme şeklinde oluşmaktadır. Bakıcıların durumu ve hayvanlara karşı davranışları hayvanlar üzerinde olumlu, olumsuz veya nötr şeklinde etki yapmaktadır. Hayvanlara ihtiyaç duydukları optimum çevre şartlarının sağlanmasının yanı sıra onlara karşı iyi davranılması da gerekmektedir. Örneğin inekler korkutulmadığı ve iyi davranıldığında daha fazla süt verdikleri araştırmalarla ortaya çıkarılmıştır (8,14,33). Çiftlik hayvanlarının verimlilik ve refahı üzerine insan-hayvan ilişkisinin etkisini açıklamak için, Hewsworth ve Coleman tarafından geliştirilen basit model Şekil 1'de gösterilmiştir (14). Çiftlik hayvanlarının verimlilik

Sonuç ve Öneri

Son yıllarda dünyada özellikle de Avrupa ülkelerinde hayvanların korunması ve hayvan refahı konularında önemli atılımlar yapılırken, Türkiye'de de bu konuda önemli çalışmalar yürütülmekte ve birçok düzenlemeler ile yeni mevzuatlar sayesinde yasal çerçevede de gelişmeler sağlanmaktadır. Ancak, toplumda hayvan refahıyla ilgili oluşan kaygıların giderilerek, çiftliklerdeki hayvanların yaşam şartlarının iyileştirilmesi ve refah koşullarının geliştirilmesi için sadece yasal düzenlemeler yeterli olmayacaktır. Bu yasal düzenlemelerin pratikte uygulamaya geçebilmesi ve sürdürülebilirliği için bu süreç içerisinde bulunan çiftçilerin ve ilgili birimlerde çalışarak aktif rol alan personellerin, hayvan refahı konusunda eğitime tabi tutulmaları ve bu konudaki bilinç düzeylerinin artırılması gerekmektedir. Sonuç olarak; Türkiye'de gerek tüketici (bilinç düzeyi ve alım gücü düşüklüğü) gerekse üretici (bilinç düzeyi düşüklüğü ve üretimde maliyet

yüksekliği) cephesinde hayvan refahı kavramının ve algısının iyi anlaşılabilmesi için; bir yandan ulusal refah kalite değerlendirme programı, refah standartları ve uygulama kılavuzu ile sertifikasyon programlarının gerçekleştirilmesi gibi konuyla ilgili çalışmalar artırılarak hayvan sağlığı ve gıda güvenliği ile ilgili altyapı oluşturulmaya devam edilmeli, diğer yandan devletin ilgili birimleri tarafından üreticilerin işletmelerinde refah kriterlerini sağlaması için teşvik edilmesinin ve desteklenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Akbaş AA. Çiftlik hayvanlarında davranış ve refah ilişkisi. MAKÜ Sag Bil Enst Derg 2013; 1(1): 42-9.
2. Akbay AH, Tuna YT. Tekirdağ ili süt sığırları işletmelerinin hayvan refahına uyumu, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, 2010.
3. Akman N. Pratik sığır yetiştiriciliği. Ankara Üniversitesi Zootekni Bölümü, Ankara, Türk Ziraat Mühendisleri Birliği Vakfı, 1998; ss. 100-2.
4. Alpan O. Sığır yetiştiriciliği ve besiciliği. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootekni Bölümü. 4. Baskı. Ankara, 1998; s. 294.
5. Altınçekiç ŞÖ, Koyuncu M. Nakil koşullarının hayvan refahı üzerine etkileri. Hayvansal Üretim 2010; 51(1): 48-56.
6. Altınçekiç ŞÖ, Koyuncu M. Organik hayvancılık işletmelerinde insan-hayvan ilişkileri. Türkiye I. Organik Hayvancılık Kongresi. Temmuz 1-4, 2010, 484-489, Kelkit-Türkiye.
7. Altınçekiç ŞÖ, Koyuncu M. Çiftlik hayvanları ve stres. Hayvansal Üretim 2012; 53(1): 27-37.
8. Atasoy F. Hayvan refahının tanımı, önemi ve yetiştiricilikte refahın değerlendirilmesi. Modern hayvan yetiştiriciliği ve refah ilişkileri, deney hayvanlarında refah. Eskişehir, Anadolu Üniversitesi Yayını No: 2332, Web-Ofset Tesisleri, 2011; ss.108-56,
9. Ayyılmaz T, Uzmay C, Kaya İ. Süt sığırları ahırlarında inek konforu esaslı serbest durak tasarımı. Hayvansal Üretim 2011; 52(2): 46-57.
10. Baylan M, Canoğulları S, Ayaşan T. Tavukçulukta farklı yetiştirme sistemleri ve hayvan refahı. Türkiye I. Organik Hayvancılık Kongresi. Temmuz 1-4, 2010, 422-9, Kelkit-Türkiye.
11. Bozkurt Z, Kılıç İ, Hacı Gücüyener Ö, Lenger ÖF. İnsan-hayvan etkileşimlerinin hayvan refahına etkisi. Kocatepe Vet J 2013; 6(1): 41-50.
12. Breuer K, Hemsworth PH, Coleman GJ. The effect of positive or negative handling on the behavioural and physiological responses of nonlactating heifers. Appl Anim Behav Sci 2003; 84(1): 3-22.
13. Gallo C, Lizondo G, Knowles TG. Effects of journey and lairage time on steers transported to slaughter in Chile. Vet Rec 2003; 152(12): 361-4.
14. Hemsworth PH. Human-animal interactions in livestock production. Appl Anim Behav Sci 2003; 81: 185-9.
15. Huertas SM, Gil AD, Piaggio JM, Eerdenburg FJCM Van. Transportation of beef cattle to slaughterhouses and how this relates to animal welfare and carcass bruising in an extensive production system. Anim Welfare 2010; 19(3): 281-5.
16. İzmirli S, Yaşar A. A survey on animal welfare attitudes of veterinary surgeries, veterinary students, animal owners and society in Turkey. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2010; 16(6): 981-5.
17. Kara Karşlıoğlu N, Koyuncu M. Sığırlarda taşıma sırasında hayvan refahına etki eden faktörler. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2011; 17(3): 511-6.
18. Kılıç İ, Bozkurt Z, Tekerli M, Koçak S, Çelikeloğlu K. Afyonkarahisar ili koyunculuk işletmeleri çalışanlarının hayvan refahını etkileyen faktörlerle ilgili algıları. Lalahan Hayv Araş Enst Derg 2013; 53(1): 29-38.
19. Koyuncu M, Altınçekiç ŞÖ. Çiftlik hayvanlarında refah. Ulud Üniv Zir Fak Derg 2007; 21(2): 57-64.
20. Ninomiya S. Satisfaction of farm animal behavioral needs in behaviorally restricted systems: Reducing stressors and environmental enrichment. Anim Sci J 2014; 85(6): 634-8.
21. Özhan M, Tüzemen N, Yanar M. Büyükbaş hayvan yetiştiriciliği (Süt ve et sığırcılığı). Erzurum, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi 2009; s. 176.
22. Resmi Gazete, 24.12.2011, Hayvanların Nakilleri Sırasında Refahı ve Korunması Yönetmeliği, <http://www.resmigazete.gov.tr/>

- eskiler/2011/12/20111224-2.htm, Erişim tarihi: 13.07.2015.
23. Resmi Gazete, 23.12.2011, Çiftlik Hayvanlarının Refahına İlişkin Genel Hükümler Hakkında Yönetmelik, <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2014/11/20141122-6.htm>, Erişim tarihi: 08.12.2014.
 24. Savaş T, Yurtman Yİ, Tölü C. Hayvan hakları ve hayvan refahı: Felsefi bakış-nesnel arayışlar. Hayvansal Üretim 2009; 50(1): 54-61.
 25. Schwartzkopf-Genswein K, Stookey JM, Berg J, Campbell J, Haley DB, Pajor E, McKillop I. Code of practice for the care and handling of beef cattle: review of scientific research on priority issues. Beef Code of Practice Scientists' Committee. The National Farm Animal Care Council (NFACC). November 19, 2012, Canada. Erişim Adresi: www.nfacc.ca, Erişim tarihi: 23.06.2015.
 26. Spoolder HAM. Animal welfare in organic farming systems. J Sci Food Agr 2007; 87(15): 2741-6.
 27. Şeker İ, Özen A, Güler H, Şeker P, Özden İ. Elazığ'da kırmızı et tüketim alışkanlıkları ve tüketicilerin hayvan refahı konusundaki görüşleri. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2011; 17(4): 543-50.
 28. Şentürk B. Hayvan refahı. Vet Hekim Der Derg 2006; 77(4): 46-51.
 29. Ünal N. Hayvan refahı ders notları. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı, Ankara, 2007.
 30. Ünal N, Teke B, Özbeyaz C. Ankara Ticaret Borsası Kesimhanesi'ne yapılan kasaplık hayvan nakillerinde bazı koşulların hayvan refahı bakımından incelenmesi. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2008; 55(1): 51-6.
 31. Van Horne PLM, Achterbosch TJ. Animal welfare in poultry production systems: Impact of EU standarts on world trade. World's Poultry Sci J 2008; 64(1): 40-52.
 32. Waiblinger S, Boivin X, Pedersen V, Tosi M, Janczak AM, Visser EK, Jones RB. Assessing the human-animal relationship in farmed species: A critical review. Appl Anim Behav Sci 2006; 101(3-4): 185-242.
 33. Waiblinger S, Menke C, Coleman G. The relationship between attitudes, personal characteristics and behaviours of stockpeople and subsequent behaviour and production of dairy cows. Appl Anim Behav Sci 2002; 79(3): 195-219.
 34. Windschnurer I, Schmied C, Boivin X, Waiblinger S. Reliability and inter-test relationship of tests for on-farm assessment of dairy cows' relationship to humans. Appl Anim Behav Sci 2008; 114(1-2): 37-53.
 35. Yener H, Atalar B, Mundan D. Şanlıurfa ilindeki sığırcılık işletmelerinin biyogüvenlik ve hayvan refahı açısından değerlendirilmesi. Harran Üniv Vet Fak Derg 2013; 2(2): 87-93.
 36. Yıldız U, Saatçı M. An evaluation of the welfare in the large and small animal transportations made from Sarıkamış. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2009; 15(3): 363-8.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Gökçe ÖZDEMİR
 Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
 Zootečni Anabilim Dalı, Bingöl / TÜRKİYE
 Tel: +90 (426) 216 00 12-1193
 E-posta: gozdemir@bingol.edu.tr



Türkiye’de Köpeklere Kene Aracılığıyla Bulaşan Hastalıklar*

Hümmam Ömer TUNÇ¹, Mustafa Sinan AKTAŞ¹

¹Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 25240, Erzurum-TÜRKİYE

Özet: Köpeklerde dünya genelinde yaygın olarak görülen ve keneler aracılığıyla bulaşan hastalıklar anaplasmozis, babesiozis, ehrlichiozis, hemoplasmozis, hepatozoonozis, Lyme borreliozis, kene kaynaklı ensefalitis ve rickettsiozistir. Bulaşmada Ixodidae familyasındaki keneler rol oynamaktadır. Kene kaynaklı ensefalitis hariç, diğerleri ile ilgili Türkiye’den de bildirimler bulunmaktadır. Bu hastalıklardan bazıları (anaplasmozis, babesiozis, ehrlichiozis, hepatozoonozis ve rickettsiozis) erken dönemde uygun tedavi uygulanmadığında ölümcül olabildiği gibi, bazıları ise (hepatozoonozis ve Lyme borreliozis) subklinik bir seyir de gösterebilmektedir. Anaplasmozis, ehrlichiozis, Lyme borreliozis, rickettsiozis gibi zoonoz karakterde olanlar hem hayvan hemde insan sağlığını tehdit etmektedir. Lyme borreliozis hariç diğerlerinde kullanılan etkili bir aşı olmadığından hastalıklardan korunmada en etkili yol kene mücadelesidir. Bu derlemede Türkiye’de köpeklerde görülen kene kaynaklı hastalıklar ve bu hastalıkların Türkiye’deki seroprevalansları hakkında güncel bilgiler sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: Kene kaynaklı hastalıklar, köpek, Türkiye

Tick-Borne Diseases in Dogs in Turkey

Summary: Diseases commonly occurring and transmitted from ticks to dogs worldwide are anaplasmosis, babesiosis, ehrlichiosis, hemoplasmosis, hepatozoonosis, Lyme borreliosis, tick-borne encephalitis, and rickettsiosis. Ticks of the family Ixodidae have a role in transmission of disease agents. Except for tick-borne encephalitis, there are also reports from Turkey related to other diseases. Some of these diseases (anaplasmosis, babesiosis, ehrlichiosis, hepatozoonosis, and rickettsiosis) may be fatal if suitable treatment is not administered in the early phase, as well as some of these diseases (hepatozoonosis and Lyme borreliosis) have also subclinical course. Zoonotic diseases such as anaplasmosis, ehrlichiosis, Lyme borreliosis, rickettsiosis pose a risk for both animal and human health. Excluding Lyme borreliosis vaccine, there are not effective vaccines against the other diseases; therefore the most effective way is the tick control in prevention of these diseases. In this review, current knowledge is presented on tick-borne diseases in dogs and seroprevalences of these diseases in Turkey.

Key words: Dog, tick-borne diseases, Turkey

Giriş

Köpeklerde vektör kaynaklı hastalıklar ülkemiz dâhil olmak üzere dünya genelinde yaygın olarak görülmektedir. Bu hastalıklardan birçoğu subklinik seyredebilmeleri ve zoonoz karakterde olmaları nedeniyle insan ve hayvan sağlığını tehdit etmektedirler (10).

Keneler, tropik ve subtropik bölgelerde yaygın olarak yaşarlar (16). Kan emme sırasında konak derisinde irritasyon, sekonder bakteriyel enfeksiyonlara yatkınlık, tükürük salgılarıyla konakların da zehirlenme ve felç, çok sayıda olduklarının

da ise anemiye neden olurlar. Asıl zararlı etkileri ise virüs, bakteri ve protozoon gibi hastalık etkenlerini nakletmeleridir (16,45).

Dünya genelinde keneler tarafından bulaştırılan etkenlerin neden olduğu ve köpeklerde görülen hastalıklar anaplasmozis, babesiozis, ehrlichiozis, Lyme borreliozis, rickettsiozis, hepatozoonozis, hemoplazmozis ve kene kaynaklı ensefalitistir (16). Yapılan literatür taramasında ülkemizde köpeklerde kene kaynaklı ensefalitis ile ilgili bir bildirimle rastlanmazken, diğerleriyle ilgili bildirimler bulunmaktadır. Bu derlemede, Türkiye’de köpeklerde görülen kene kaynaklı hastalıklar ve bu hastalıkların Türkiye’deki seroprevalansları hakkında güncel bilgiler verilmesi amaçlandı.

Geliş Tarihi/Submission Date : 29.09.2015

Kabul Tarihi/Accepted Date : 05.04.2016

* Bu Derleme Veteriner Hekim Hümmam Ömer Tunç’un Mezuniyet Tezinden Özetlenmiştir.

1. Anaplazmozis

Anaplazmalar gr (-), hareketsiz, kapsülsüz, sporsuz, 0.2-0.9 µm boyutunda küçük, kokoid, yüzük şeklinde zorunlu intraselüler ve zoonoz karakterde olan bakterilerdir (13). Köpeklerde hastalık oluşturan türler *Anaplasma phagocytophilum* (*A. phagocytophilum*) ve *Anaplasma platys* (*A. platys*)'tir (45). *Ixodes ricinus* (*I. ricinus*), *Ixodes persulcatus* (*I. persulcatus*), *Ixodes pacificus* (*I. pacificus*) ve *Ixodes scapularis* (*I. scapularis*) türü keneler ile bulaştırılan *A. phagocytophilum* (13) özellikle nötrofil, eozinofil, nadiren de monosit ve lenfositlere yerleşirken, *Rhipicephalus sanguineus* (*R. sanguineus*) ve *Dermacentor spp* türü keneler ile bulaştırılan *A. platys* ise trombositlere yerleşir (45).

A. phagocytophilum'un neden olduğu enfeksiyonda (granulositik anaplazmozis) klinik belirtiler yüksek ateş (>39°C), anoreksi, depresyon ve letarjidir (18). Bazı hayvanlarda hareket etmede isteksizlik, topallık, kusma, ishal, öksürük ve hemoraji görülebilir (13,18). *A. platys*'in neden olduğu enfeksiyonda (siklik trombositopeni) görülen belirtiler ise ateş, anoreksi, letarji, hemostatik hastalıklar ve anemidir (45).

Granulositik anaplazmozisin tanısı kan frotilerinde nötrofillerde (nadiren eozinofillerde) morularının belirlenmesi, immunfloresan antikor testi (IFA), enzim bağlı immunosorbent deneyi (ELISA), polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) veya *A. phagocytophilum*'un kandan izolasyonu ile yapılır (13). *A. platys*'in tanısı giemsa gibi boyama yöntemleriyle organizmanın trombositler içerisinde görülmesi ile yapılabilir. IFA ve PCR'da kullanılacak diğer yöntemlerdir (45).

Tedavide *A. phagocytophilum* için doksisisiklin, rifampin ve levofloksasin etkilidir. Doksisisiklin ile yapılacak tedavide (5 mg/kg/12 saat PO 2-3 hafta süre ile) 24-48 saat içerisinde klinik iyileşme başlamaktadır (13). *A. platys* enfeksiyonu doksisisiklin 5-10 mg/kg/12 saat PO 10 gün ve enrofloksasin 5 mg/kg/12 saat, 14-21 gün ile başarılı bir şekilde tedavi edilebilmektedir (45).

A. phagocytophilum'un seropozitiflik oranı Sınop'ta %30.1 (24), Kayseri'de %7.8 (17), Ege bölgesinde değişik illeri kapsayan bir çalışmada *A. phagocytophilum* %7.49, *E. canis* + *A. phagocytophilum* ise %10.42 olarak belirlenmiştir (54).

Ulutaş ve ark. (50) Aydın ilinde bir köpekte *A. platys* enfeksiyonunu rapor etmiş ve bunun Türkiye'de ilk vaka olduğunu belirtmişlerdir. Aktaş ve ark. (1), Sakarya, Kocaeli, Mersin, Giresun,

İzmir, Elazığ, Diyarbakır, Erzurum, Ankara ve Nevşehir illerini kapsayan 757 köpek üzerinde yaptıkları bir çalışmada *A. platys* seropozitifliğini dört köpekte (%0.5) belirlemişler, bu köpeklerin iki tanesinin Mersin'de, iki tanesinin ise İzmir'de olduğunu bildirmişlerdir.

2. Babesiozis

Babesia genusuna bağlı protozoonların neden olduğu, tropik ve subtropik bölgelerde görülen bir enfeksiyondur. Köpeklerde büyük Babesia türlerinden; *B. canis canis*, *B. canis vogeli*, *B. canis rossi*, küçük Babesia türlerinden ise *B. gibsoni* hastalığa neden olup, *R. Sanguineus* ve *D. reticulatus* türü kenelerle bulaştırılır (19).

Etkenler eritrositler içerisinde çoğalarak eritrositlerin yıkımına neden olurlar. Bu nedenle Babesiozisin patogeneğinde birincil faktör hemolitik özellikteki anemidir (12).

Hastalığın perakut formunda eritrositlerin yoğun hemolizine bağlı olarak hemoglobinüri oluşmaktadır (19). Akut formda anemiye iştahsızlık, ikter, uyuşukluk hali, depresyon ve kusma gibi atipik belirtiler eşlik etmektedir. Hayvanın idrarı kahverengi ya da sarı-turuncu renkte (hemoglobinüri+bilirubinüri), kaslarda myositis, çoklu eklem yangısı gibi belirtilere de rastlanmaktadır. Subklinik enfeksiyonlar, düşük parazitemide şekillenmektedir. Kronik enfeksiyonlarda ateş, anemi, trombositopeni, glomerulonefritis, kilo kaybı ve lenfadenopati görülmektedir (12,19).

PCR ve reserve line blotting (RLB) gibi moleküler tanı yöntemleri, serolojik testlerden ise özellikle IFAT, köpek babesiozisinin tanısında kullanılan yöntemlerdir (12,19).

Babesiozisin tedavisinde kullanılan başlıca bileşikler; imidokarb dipropiyonat, diminazen, fenamidin, tripan mavisini, atavakuon-azitromisin kombinasyonu olup, imidokarb dipropiyonat, büyük Babesia türlerinin neden olduğu enfeksiyonlarda oldukça etkili, 5 mg/kg dozda deri altı ya da kas içi yolla uygulanmaktadır. İki hafta sonra doz tekrarlanmalıdır. Diminazen, *B. gibsoni* gibi küçük Babesia türleri yanında, büyük Babesia türlerinin neden olduğu enfeksiyonlarda da tercih edilmekte, 3.5 mg/kg dozunda kas içi yolla ve tek doz uygulanmaktadır (28).

Türkiye'de köpeklerde *B. gibsoni*'nin (3,4), *B. vogeli*'nin (41) ve *B. canis*'in (20,51,53) neden olduğu hastalık bildirimleri bulunmaktadır. Serolojik olarak ise Aktas ve ark. (1), Sakarya, Kocaeli, Mersin, Giresun, İzmir, Diyarbakır, Erzurum,

Ankara ve Nevşehir illerinden toplamda 757 köpek üzerinde yaptıkları bir araştırmada sadece bir köpekte (Erzurum) seropozitiflik belirlenmiştir. Kayseri yöresinde 400 köpekte yürütülen bir başka çalışmada ise (17), *B. canis canis*, *B. gibsoni*, *B. canis vogeli* seroprevalansı sırasıyla %12, %9 ve %2.3 olarak bulunmuş olup *B. canis rossii*'ye ise rastlanmamıştır.

3. Ehrlichiozis

Günümüzde Ehrlichia genusuna bağlı ve köpeklerde hastalık oluşturduğu bilinen üç tür bulunmaktadır. Bunlar *Ehrlichia canis* (*E. canis*), *Ehrlichia ewingii* (*E. Ewingii*) ve *Ehrlichia chaffeensis* (*E. chaffeensis*)'dir. *E. canis*, monositlere yerleşerek monositik ehrlichiozise neden olurken, *E. ewingii*, granüositlere yerleşir ve köpeklerde canine granulocytic ehrlichiozise neden olur. *E. chaffeensis* ise monositlere yerleşerek köpek ve insanlarda hastalık oluşumuna neden olur (42). Ehrlichia türleri *Ixodidea* türü keneler ile bulaştırılır (6,26).

Canine monocytic ehrlichiosis, akut, subklinik ve bazen kronik formda seyrederek (27). Akut form klinik olarak ateş, depresyon, dispne, anoreksi, hemoraji, ödem ve kilo kaybı ile karakterizedir (26). Menenjit ve meningeal kanamalar oluşabilecek nörolojik bulgular arasındadır (27). Subklinik form herhangi bir klinik belirti görülmeden yıllarca sürebilir ve bu da konakçıda oluşan persiste enfeksiyona işaret eder. Kronik form ise kanama bozuklukları ile eritrosit, lökosit ve trombosit sayılarının azalmasıyla karakterizedir (26). *E. ewingii*'nin neden olduğu hastalıkta ateş, topallık, nötrofilik poliartrit, periferik ödem, lenfadenopati, trombositopeni ve anemi belirlenebilmektedir. *E. Chaffeensis*'in neden olduğu hastalık tablosu *E. canis* ile benzerdir (45).

Tanı giemsa ile boyanmış kan frotilerinde monosit, nötrofil veya trombositlerde morulanın görülmesiyle (27), IFA (34) ya da PCR ile konulabilmektedir. Etkenlerin hücre kültürü ile izolasyonu ise tanıda altın standart olarak kabul edilmektedir (27).

Doksisisiklin oral yolla 5 mg/kg/12 saat en az dört hafta süreyle kullanımı tedavide etkilidir. Ancak kronik enfekte köpeklerde daha uzun süreli bir kullanım gerekebilemektedir (37).

Türkiye'de hastalığın tespit edildiği vaka bildirimleri (15) ve hastalık üzerinde değişik araştırmaların yapıldığı çalışmalar bulunmaktadır (2,41,52). Konu ile ilgili farklı illerde yapılmış serolojik çalışmalarda ise *E. canis*'e karşı Diyar-

bakır'da %4.8 (29), Iğdır'da %1 (43), Kayseri'de %14.5 (17), Kırıkkale'de %14.75 (55), Ege bölgesinde bazı illeri kapsayan bir çalışmada %24.42 (54), Ege Bölgesinde yapılan diğer bir çalışmada ise %41.5 (30), Marmara, Ege, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerini kapsayan bir çalışmada da %20.77 (9) oranında seropozitiflik belirlenmiştir. Yapılan literatür taramasında Türkiye'de *E. ewingii* ve *E. chaffeensis*'in neden olduğu hastalık bildirimine ya da seroprevalans çalışmasına ise rastlanmamıştır.

4. Lyme Borreliozis

Borrelia burgdorferi, köpeklere ve insanlara *Ixodes* türü kenelerle bulaştırılan, gr(-), sporsuz, kapsülsüz, hareketli ve mikroaerofilik bir mikroorganizmadır (5,11). Etken vücuda girdikten sonra derideki bölgesel lenf yumrularına daha sonrada asıl yerleşeceği doku ve organlara giderek çoğalır ve hastalık belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olur (11).

Eklem yangısının neden olduğu topallık bölgede hassasiyet, ısı artışı ve şişkinlikle karakterize olup hastalıkta önemli bir klinik belirtidir. Ayrıca anoreksi, dalgalı ateş, mizaç değişikliği gibi atipik semptomlar da görülebilir (56). Köpeklerde vakaların %95'i asemptomatiktir (33). Hastalıkla ilgili bazı vakalarda Lyme nefropati olarak adlandırılan böbrek yetmezliği şekillenmektedir. Bunun nedeni immun kompleksin böbrek dokusunda şiddetli inflamasyona neden olmasıdır. Lyme nefropati anoreksi, kusma, dehidrasyon, poliüri, polidipsi ve zayıflama ile karakterize olup, ölümcüldür (14).

Tanı kültür, sitoloji ya da PCR ile yapılabilir. Antikorların belirlenmesine yönelik kullanılan testlerin başında ELISA ve IFA gelmektedir (5).

Tedavide, tetrasiklin gurubu antibiyotiklerden doksisisiklin, amoksisilin, azitromisin ve sefalosporin gurubu antibiyotiklerden ise seftriakson kullanılabilir (5). Doksisisiklinin 10 mg/kg/gün oral yolla en az bir ay süreyle uygulanması önerilmektedir. Doksisisiklin hem Lyme borreliozise hemde anaplazmozis, ehrlichiozis ve leptospirozise etkili olduğu için tercih edilmektedir (46).

Türkiye'de hastalığın tespit edildiği vaka bildirimleri bulunmaktadır (23). Konu ile ilgili farklı illerde yapılmış serolojik çalışmalarda ise Bursa yöresinde %23.2 (11) ve Sinop'ta %28 (24) oranında seropozitiflik belirlenirken, Diyarbakır (29) ve Iğdır'da (43) ise seropozitiflik saptanmamıştır.

5. Hepatozoonosis

Hepatozoonlar, elipsoidal şeklinde ve büyüklükleri 11x4 µm kadardır (45). Köpeklerde enfeksiyondan sorumlu türler *Hepatozoonosis canis* (*H. canis*) ve *Hepatozoonosis americanum* (*H. americanum*)'dur. Etken, *Ixodidae* ailesine bağlı kene türleri ile nakledilmektedir (45,48).

Etkenin bulaşması, diğer kene kaynaklı hastalıklardan farklı olarak parazitin ookistlerini taşıyan kenelerin köpekler tarafından yenmesiyle olmaktadır. *H. canis* enfeksiyonunda dalak, lenf düğümleri ve kemik iliği primer etkilenen dokular olup, karaciğer, akciğer ve böbreklerde etkilenebilmektedir (7). *H. americanum*'da ise etkilenen primer dokular kalp ve iskelet kasları olmakta, etkenler bu doku hücrelerine yerleşerek kistlenirler (6,48).

Sushma ve ark. (47), hastalığın özellikle bir yaştan altındaki genç hayvanlarda görülme olasılığının daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. *H. canis* enfeksiyonlarının çoğunluğu subklinik seyretmekte birlikte, ölümlü sonuçlanabilen hastalık tablosu da oluşabilmektedir. Kronik ateş, uyusukluk ve kaşeksi belirgin semptomlardır. Yüksek parazitemi köpeklerde, nötrofil ile normositik, normokromik, non-rejeneratif anemi görülmektedir (45,48).

H. americanum enfeksiyonlarının en önemli belirtileri ateş, ağrı, kas atrofisi, halsizlik, depresyon, anemi ve mukopulenta gözyaşı akıntısıdır (6). Kronik enfeksiyonlarda kaşeksi, kaslarda atrofi ve kemik yüzeylerinde osteoproliferatif lezyonlar şekillenmekte olup, kas dokusu başta olmak üzere çeşitli doku ve organlarda pyogranülomatöz lezyonlara rastlanmaktadır. Böbreklerde amiloidosis oluşabileceği de bildirilmiştir (6,48).

H. canis enfeksiyonlarında giemsa boyama ile hazırlanan preparatlarda nötrofil ve daha az oranda monositler içindeki etkenlerden gametlerin görülmesiyle teşhis konulmaktadır. *H. americanum* enfeksiyonlarında ise kanın buffy coat tabakasından hazırlanan preparatların mikroskopta incelenmesi önerilmektedir. Köpeklerde hepatozoonosisin tanısında IFA, ELISA ve PCR'da kullanılmaktadır (48).

H. canis enfeksiyonlarında, imidokarb dipropionat, kas içi yolla 5-6 mg/kg dozunda, 14 gün arayla kan muayenelerinde etkenler görülmeyinceye kadar kullanılabilir (6). Mazuz ve ark. (35), trimetoprim sulfadiazin ve klindamisin kombinasyonunun 6 hafta kullanımının etkili olduğunu belirttiktedirler. *H. americanum*'un

trimetoprim-sülfadiazin ile 15 mg/kg dozda oral yolla günde iki defa, 0.25 mg/kg dozda 24 saatte bir primetamin ve 10 mg/kg dozda günde üç defa klindamisin kombinasyonu 14 gün süreyle kullanımının etkili olduğu bildirilmiştir (6,48).

Türkiye'de köpeklerde *H. canis*'in neden olduğu doğal enfeksiyonlar üzerinde yapılmış araştırmalar bulunmaktadır (40,44). Aydın merkez, Kusadası, Selçuk, Manisa merkez, Bodrum ve Marmaris'i içeren Ege Bölgesi'nde 349 köpekte *H. canis* üzerine yapılmış bir araştırmada periferik kan smearında parazitemi %10.6 olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada PCR ile %25.7, IFAT ile ise %36.8 oranında pozitiflik bulunmuştur (31). Kayseri'de yapılmış bir çalışmada ise *H. canis*'e karşı köpeklerde %5.3 seropozitiflik belirlenmiştir (17).

6. Rickettsiozis

Rocky mountain spotted fever olarak bilinen hastalığın etkeni olan *Rickettsia rickettsii* (*R. rickettsii*) küçük, Gram (-), çubuk şeklinde, 0.2 x 0.5 µm-0.3 x 2.0 µm büyüklüğünde zorunlu hücre içi bir bakteridir (45). *R. rickettsii*, vaskülit ile iskelet kasları ve beyin, deri, kalp, akciğer ve böbrek gibi bazı organlarda tromboz oluşumuna neden olur (49). *Dermacentor variabilis* ve *Dermacentor andersoni* etkenin bulaştırılmasında rol oynayan kene türleridir. *Rickettsia conorii* (*R. conorii*) ise insanlarda benekli akdeniz humması olarak bilinen (*Boutonneuse veya Mediterranean spotted fever*) hastalığın etkeni olup, köpekleri de enfekte ettiği bildirilmektedir (45).

R. rickettsii ile enfekte köpeklerde görülen ilk belirti yüksek ateştir. Mukoz membranlarda peteşi ve ekimozlar, ekstremite, dudaklar, kulak kepçesi, penis kılıfı ve skrotumda ödem şekillenir. Hastalığın ilerlemiş evrelerinde köpeklerde ekstremite, nekrozlar oluşur (22). *R. conorii*'nin neden olduğu hastalığın köpeklerde klinik belirtileri ile ilgili herhangi bir bildirim bulunmamaktadır (45).

R. rickettsii'nin neden olduğu hastalığın kesin tanısında IFA yaygın olarak kullanılmaktadır (45). Histolojik kesitlerde etkenin belirlenmesi giemsa ya da immunohistokimya gibi boyama yöntemleri ile yapılmaktadır (22,49). *R. conorii*'nin neden olduğu enfeksiyonun tanısında benzer şekilde yapılmaktadır (45).

Diğer riketsiyal enfeksiyonlarda olduğu gibi bu hastalıklarda da tetrasiklin (25-30 mg/kg 8 saatte bir), doksisisiklin (10-20 mg/kg 12 saatte bir) ya da kloramfenikol (15-30 mg/kg 8 saatte bir) kul-

lanılabilecek antibiyotiklerdendir. Dehidrasyon, böbrek yetmezliği, şok ya da hemorajik diatezis şekillenen vakalarda destekleyici tedavi önemlidir. Hastalığa bağlı ölüm nedeni, geç tanı veya uygun olmayan tedavidir (22,49).

Türkiye’de köpeklerde *R. rickettsii*’nin neden olduğu hastalık bildirimine rastlanmamakla birlikte Aydın, İzmir ve Muğla illerini kapsayan Batı Ege bölgesinde yapılmış sadece bir tane seroprevalans çalışmasına rastlanmış olup, bu çalışmada da %54 oranında seropozitiflik belirlenmiştir (32). Türkiye’de köpeklerde *R. conorii*’nin neden olduğu hastalık bildirimine rastlanmamakla beraber, serolojik olarak ise sadece Güneş ve ark. (25), Sinop yöresinde sağlıklı köpeklerde yaptıkları bir çalışmada %73.12 oranında pozitiflik belirlemişlerdir.

7. Hemoplazmozis

Eski adıyla hemobartonellosis olarak bilinen hemoplazmozis, keneler nadiren de pirelerle bulaştırılan, kedi ve köpekleri etkileyen bir hastalıktır. Yapılan araştırmalarda *Haemobartonella*’ların *Mycoplasma* soyuna ait oldukları anlaşılmıştır (38). Köpeklerin *Mycoplasmataceae* familyası ve *Mycoplasma* genusunda bulunan 2 farklı bakteriyel tür tarafından enfekte edilmektedir ki bunlar *Mycoplasma haemocanis* (eski adıyla *Haemobartonella canis*) ve *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*’dur. Hemotropik mycoplazmalar 0.3-0.8 µm büyüklüğünde, gr(-) bakterilerdir (8). Etken, *Rhiphicephalus sanguineus* türü kenelerle nakledilmektedir. Eritrositlere yerleşen organizmalar olarak mycoplazmalar kan nakli ile de bulaştırılabilirler (36).

Hastalık asemptomatikten şiddetli hemolize varan değişken bir seyir gösterir. Yavru köpekler enfeksiyona çok duyarlıdır. Deri, konjunktiva ve mukozalar ikteriktir. Vücut ısısı 37.7 °C, solunum sayısı 40/dak., nabız sayısı 126/dak. ve hemotokrit değer % 14 düzeyindedir (36).

Etkenler kan sürme frotilerinde hücre içerisinde Romanovsky boyama yöntemi ile belirlenebilmektedir (36). Real time-PCR tanı ve prognozun değerlendirilmesinde de kullanılmaktadır (8).

Hastalığın tedavisinde glikokortikoidlerle birlikte ya da tek başına tetrasiklin, oksitetrasiklin ve doksisisiklin gibi antibiyotiklerin üç hafta süreyle kullanımı etkilidir. Bazı hayvanlarda aneminin düzeltilebilmesi için kan nakli endike olabilir (36).

Hastalıkla ilgili ülkemizde, köpeklerde hemoplazmozis adlandırmasıyla hastalık bildirimini ya da serolojik bir çalışmaya rastlanmamakla beraber, hemobartonella adlandırmasıyla 1978 yılında Göksu ve ark. (21) tarafından “Bir Köpekte Hemobartonellozis” başlıklı çalışmada sadece bir vaka bildirimine rastlanmıştır.

Korunma

Kenelerle nakledilen etkenlerin neden olduğu hastalıklardan Lyme borreliozis hariç diğerleri için ticari bir aşı bulunmadığından kenelerle mücadele, yapılacak en önemli korunma yöntemidir. Kenelerin aktivitelerinin yıl boyunca sürebilmesi veya köpeklerin kenelerin aktif olduğu bölgelere götürülebilmesi ihtimalleri de dikkate alındığında kene mücadelesinin yıl boyunca devam ettirilmesi önerilmektedir (39). Köpeklerde kene enfestasyonunu engellemek amacıyla tasmalar, akarisidal spreyle, banyolar ve daldırmalar uygulanabilmektedir (5). Ayda bir kez imidaklopid/permetrin ve fipronil uygulamalarının doğal veya deneysel enfekte hayvanlarda serokonversiyon oranını düşürdüğü bildirilmektedir (39). Ayrıca kenelerin muhtemel patojenleri aktarmasını engellemek amacıyla hijyen kurallarına uyulmalı ve köpeklerin yaşam alanlarının kenelerin barınamayacağı şekilde düzenlenmesi gerekmektedir.

Sonuç

Dünya genelinde kene varlığı devam ettikçe, etkenlerini kenelerin naklettiği hastalıkların her geçen gün arttığı görülmektedir. Köpeklerde etkenlerini kenelerin bulaştırdığı hastalıklar, ölümcül olabilmeleri, hayvanların refahını olumsuz yönde etkilemeleri ve birçoğunun da zoonoz özellikte olmaları nedeniyle önemli hastalıklardır. Bu hastalıkların neredeyse tamamının ülkemizde de görüldüğüne dair literatür verileri de bulunmaktadır. Dolayısıyla hem hayvan sağlığını hem de halk sağlığını korumak amacıyla kenelerle mücadele, hastalıklarda erken tanı ve uygun tedavi prosedürlerinin uygulanması gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Aktas M, Özübek S, Altay K, Ipek NDS, Balkaya İ, Utuk AE, Kırbas A, Şimsek S, Dumanlı N. Molecular detection of tick-borne rickettsial and protozoan pathogens in domestic dogs from Turkey. *Parasites Vectors* 2015; 14(8): 1-6.

2. Aysul N, Ural K, Cetinkaya H, Kuşkucu M, Toros G, Eren H, Durum C. Doxycycline-Chloroquine combination for the treatment of canine monocytic ehrlichiosis. *Acta Sci Vet* 2012; 40 (2): 1-7.
3. Aysul N, Ural K, Ulutaş B, Eren H, Karagenç T. Aydın ilinde bir köpekte *Babesia gibsoni* olgusu. 16. Ulusal Parazitoloji Kongresi. 1-7 Kasım, 2009; Adana-Türkiye.
4. Aysul N, Ural K, Ulutaş B, Eren H, Karagenç T. First detection and molecular identification of *Babesia gibsoni* in two dogs from the Aydın province of Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2013; 37(2): 226-9.
5. Aytuğ N. Köpek ve Kedilerin İç Hastalıkları. Birinci Baskı. Malatya, Medipres Matbaacılık, 2012; s. 277.
6. Baneth G, Vincent-Johnson N. Hepatozoonosis. SE Shaw, MJ Day, eds. In *Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Third Edition. London: Manson Publishing, 2005; pp. 78-88.
7. Baneth G. Hepatozoonosis. F. Beugent, eds. In *Guide to Vector Borne Diseases of Pets*. Lyon: Merial, 2013; pp. 281-291.
8. Barker EN, Tasker S, Day MJ, Warman SM, Wolley K, Birtles R, Georges KC, Ezeokoli CD, Newaj-Fayzul A, Campbell MD, Spargano OAE, Cleaveland S, Helps CR. Development and use of real-time PCR to detect and quantify *Mycoplasma haemocanis* and "*Candidatus mycoplasma haematoparvum*" in dogs. *Vet Microbiol* 2010; 140(1-29): 167-70.
9. Batmaz H, Nevo E, Waner T, Sentürk S, Yılmaz Z, Harrus S. Seroprevalence of *E.canis* antibodies among dogs in Turkey. *Vet Rec* 2001; 148(21): 665-6.
10. Beugnet F, Marié JL. Emerging arthropod-borne diseases of companion animals in Europe. *Vet Parasitol* 2009; 163(4): 298-305.
11. Bhide M, Yılmaz Z, Golcu E, Torun S, Mikula I. Seroprevalence of anti-Borrelia burgdorferi antibodies in dogs and horses in Turkey. *Ann Agri Environ Med* 2008; 15(1): 85-90.
12. Carli E, Tasca S, Trotta M, Furlanello T, Caldin M, Solano-Gallego L. Detection of erythrocyte binding IgM and IgG by flow cytometry in sick dogs with *Babesia canis canis* or *Babesia canis vogeli* infection. *Vet Parasitol* 2009; 162(1-2): 51-7.
13. Carrade DD, Foley JE, Borjesson DL, Saykes JE. Canine granulocytic anaplasmosis: A review. *J Vet Int Med* 2009; 23(6): 1129-41.
14. Dambach DM, Smith CA, Lewis RM, Van Winkle TJ. Morphologic, immunohistochemical, and ultrastructural characterization of a distinctive renal lesion in dogs putatively associated with *borrelia burgdorferi* infection: 49 cases (1987-1992). *Vet Pathol* 1997; 34 (2): 85-96.
15. Dodurka HT, Bakırel U. Bir köpekte ehrlichiosis olgusu. *İstanbul Univ Vet Fak Derg* 2002; 28(1): 11-6.
16. Durden LA, Beati L. Modern tick systematics. DE. Sonenshine, MR Roe, eds. In *Biology of Ticks*. Second edition. New York: Oxford University Press, 2014; pp. 17-59.
17. Düzlü Ö, İnci A, Yıldırım A, Önder Z, Çiloğlu A. Köpeklerde kene kaynaklı bazı protozoon ve rickettsial enfeksiyonların real time PCR ile araştırılması ve saptanan izolatların moleküler karakterizasyonları. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2014; 61(4): 275-82.
18. Eberts MD, Diniz PPVD, Beall MJ, Stillman BA, Chandrashekar R, Breitschwerdt EB. Typical and atypical manifestations of *Anaplasma phagocytophilum* in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2011; 47(6): 86-94.
19. Gallego LS, Baneth G. Babesiosis in dogs and cat-expanding parasitological and clinical spectra. *Vet Parasitol* 2011; 181(1): 48-60.
20. Gökçe E, Kırmızıgül AH, Taşcı GT, Uzlu E, Gündüz N, Vatanserver Z. Türkiye'de köpeklerde *Babesia canis canis* klinik ve parazitolojik olarak ilk tesbiti. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2013; 19(4): 717-20.
21. Göksoy K, Tüzer E, Bilal T. Bir köpekte haemobartonellosis. *İst Üniv Vet Fak Derg* 1978; 4(1): 79-85.
22. Greene CE, Breitschwerdt EB. Rocky Mountain spotted fever, Q Fever, and typhus. CE. Greene, eds. In *Infectious diseases of the dog and cat*. Second edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 1998; pp. 155-62.
23. Gülanber EG, Gülanber A, Albayrak R, Gülanber NG, Polat E. Lyme disease (borreliosis) in a Saint Bernard dog: First clinical case in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2007; 31(5): 367-9.
24. Güneş T, Poyraz O, Babacan A. The seroprevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Anaplasma phagocytophilum* in clinically healthy dogs from Sinop region of Turkey. *Cumhuriyet Med J* 2011; 33(4): 396-401.
25. Güneş T, Poyraz Ö, Babacan A. Sinop yöre-

- sinde klinik olarak sağlıklı görülen köpeklerde *Ehrlichia canis* ve *Rickettsia conorii*'nin seroepidemiolojik araştırılması. Cumhuriyet Tıp Derg 2012; 34(1): 17-22.
- 26.Harrus S, Waner T, Bark H, Jongejan F, Cornelissen AWCA. Minireview. Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis. J Clin Mic 1999; 37(9): 2745-9.
 - 27.Harrus S, Waner T. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*E.canis*): An overview. Vet J Mar 2011; 187(3): 292-6.
 - 28.Irwin P. Babesiosis and cytauxzoonosis. SE. Shaw, MJ. Day, eds. In Arthropod-born Infectious Diseases of the Dog and Cat. Third Edition. London: Manson PUBLISHING, 2005; pp. 63-72.
 - 29.İcen H, Sekin S, Simsek A, Kochan A, Çelik OY, Altas MG. Prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* infection in dogs from Diyarbakir in Turkey. Asian J Anim Vet Adv 2011; 6(4): 371-8.
 - 30.Karagenc T, Hoşgör M, Bilgiç HB, Paşa S, Kırılı G, Eren H. Ege bölgesinde köpeklerde *E. canis*, *A. phagocytophilum* ve *A. platys*' in prevalansının nested-PCR ile tespiti. 14. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 18-25 Eylül, 2005, İzmir, Türkiye.
 - 31.Karagenc T, Paşa S, Kirli G, Hoşgör M, Bilgiç HB, Ozon YH, Atasoy E, Eren H. A parasitological, molecular and serological survey of *Hepatozoon canis* infection in dogs around the Aegean coast of Turkey. Vet Parasitol 2006; 135(2): 113-9.
 - 32.Kıran Ş, Savaşan S, Erbaş G, Parın U. Prevalance of *Rickettsia rickettsii* infection in dogs from the urban and rural areas of western Turkey. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2013; 60(3): 165-9.
 - 33.Levy SA, Magnarelli LA. Relationship between development of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in dogs and the subsequent development of limb/joint borreliosis. JAVMA 1992; 200(3): 344-7.
 - 34.McBride JW, Corstvet RE, Gaunt SD, Boudreaux C, Guedry T, Walker DH. Kinetics of antibody response to *Ehrlichia canis* immunoreactive proteins. Infect Immun 2003; 71(5): 2516-24.
 - 35.Mazuz LM, Wolkomirsky R, Sherman A, Saitzsky I, Waner T, Golenser J, Shkap V. Concurrent neosporosis and hepatozoonosis in a litter of pups. Israel J Vet Med 2015; 70(1): 53-6.
 - 36.Messick JB. New perspectives about *Hemotrophic mycoplasma* (formerly, Haemobartonnella and Eperythrozoon species) infections in dogs and cats. Vet Clin North Am-Small Anim Pract 2003; 33(6): 1453-65.
 - 37.Neer TM, Breitschwerdt EB, Green RT, Lappin MR. Consensus statement on ehrlichial diseases of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. J Vet Int Med 2002; 16(3): 309-15.
 - 38.Neimark H, Johanson KE, Rikihisa Y, Tully JG. Revision of haemotrophic *Mycoplasma* species names. Int J Syst Evol Micr 2002; 52(2): 683.
 - 39.Otranto D, Paradies P, Testini G, Latrofa MS, Weigl S, Cantacessi C, Mencke N, de Caprariis D, Parisi A, Capelli G, Stanneck D. Application of 10% imidocarpil 50% permethrin to prevent *Ehrlichia canis* exposure in dog under natural conditions. Vet Parasitol 2008; 153(3-4): 320-8.
 - 40.Paşa S, Kırılı F, Karagenc T, Atasoy A, Seyrek K. Description of dogs naturally infected with *Hepatozoon canis* in the Aegean region of Turkey. Turk J Vet Anim Sci 2009; 33(4): 289-95.
 - 41.Pekmezci D, Ural K, Aysul N, Guzel M. Assessment of renal function using canine cystatin-c levels in canine babesiosis and ehrlichiosis. Acta Vet-Beograd 2015; 65(1): 56-65.
 - 42.Rikihisa Y. Mechanisms to create a safe haven by members of the family Anaplasmataceae. Ann N Y Acad Sci 2003; 990: 548-55.
 - 43.Sari B, Taşçı GT, Kılıç Y. Seroprevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis* and *Borrelia burgdorferi* in dogs in Iğdır province, Turkey. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2013; 19(5): 735-9.
 - 44.Seyrek K, Karagenc T, Paşa S, Kırılı F, Atasoy A. Serum zinc, iron and copper concentrations in dogs infected with *Hepatozoon canis*. Acta Vet Brno 2009; 78(3): 471-5.
 - 45.Shaw SE, Day MJ, Birtles RJ, Breitschwerdt EB. Tick-borne infectious diseases of dogs. Trends Parasitol 2001; 17(2): 74-80.
 - 46.Steere AC. Duration of antibiotic therapy for Lyme disease. Ann Int Med 2003; 138(9): 761-2.
 - 47.Sushma C, Uppal SK, Singla LD. Retrospective study of clinical and hematological aspects associated with dogs naturally infected by *Hepatozoon canis* in Ludhiana, Punjab,

- India. Asian Pac J Trop Biomed 2013; 3(6): 483-6.
48. Taylor MA, Coop RL, Wall RL. Parasites of dogs and cats. Taylor MA, Coop RL, Wall RL, eds. In Veterinary Parasitology. Third Edition. Iowa: Blackwell Publishing, 2007; pp. 356-453.
49. Thorner AR, Walker DH, Petri WA Jr. Rocky mountain spotted fever. Clin Infect Dis 1998; 27(6): 1353-9.
50. Ulutas B, Bayramlı G, Karagenc T. First case of anaplasma (ehrlichia) platys infection in a dog in Turkey. Turk J Vet Anim Sci 2007; 31 (4): 279-82.
51. Ulutas B, Bayramli G, Ulutas PA, Karagenc T. Serum concentration of some acute phase proteins in naturally occurring canine babesiosis: A preliminary study. Vet Clin Pathol 2005; 34(2): 144-7.
52. Unver A, Yasuko R, Borku K, Ozkanlar Y, Hanedan B. Molecular detection and characterization of *Ehrlichia canis* from dogs in Turkey. Berl Münch Tierarztl Wochenschr 2005; 118(7-8): 300-14.
53. Ural K, Aysul N, Tuna GE, Atasoy A, Ulutas B. Abdominal compartment syndrome in a *Babesia canis* infected dog. Proceedings of 1st National Symposium on Vectors and Vector Borne Diseases with International Participation. 9-10 September, Avanos, Capadocia, Nevsehir, Turkey.
54. Ural K, Gültekin M, Atasoy A, Ulutas B. Spatial distribution of vector borne disease agents in dogs in Aegean region, Turkey. Revista MVZ Córdoba 2014; 19(2): 4086-98.
55. Yağci BB, Yasa Duru S, Yıldız K, Öcal N, Gazyağci AN. The spread of canine monocytic ehrlichiosis in Turkey to Central Anatolia. Israel J Vet Med 2010; 65(1): 15-8.
56. Yücel A, Çalışır B. Lyme hastalığı ve vektörleri. Özcel MA, Daldal N, eds. In Artropod Hastalıkları ve Vektörler. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 13. Ege Üniv. Basımevi, 1997; İzmir, Türkiye.

Yazışma Adresi

Doç. Dr. Mustafa Sinan AKTAŞ
Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum
Tel: 0442-2315530
Fax: 0442-2315563
E-posta: sinanaktas@atauni.edu.tr



Outcomes of Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis (CAPD) in Amyloidosis Induced End Stage Renal Failure Cat: Case Report*

Murat KARABAGLI¹, Gamze KARABAGLI², Kürşat OZER¹, Yeşim TOLA³, Orhan ZIYLAN⁴, Aydın GUREL⁵, Ozge ERDOĞAN BAMAC⁵

¹Department of Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, University of Istanbul, 34320, Avcılar, Istanbul-TURKEY

²Istanbul Municipality, Cebeci Provisional Animal Shelter, Istanbul-TURKEY

³Department of Home Care, Faculty of Medical, University of Istanbul, 34104, Fatih, Istanbul-TURKEY

⁴Department of Urology, Faculty of Medical, University of Istanbul, 34104, Fatih, Istanbul-TURKEY

⁵Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Istanbul, 34310, Avcılar, Istanbul-TURKEY

Summary: A 10 year old, 4.4 kg bodyweight, mixed breed castrated male cat was brought to our clinics with a history of halitosis, weakness, anorexia and polyuria. According to clinical and laboratory examination results, amyloidosis induced end-stage renal failure was diagnosed. Since the patient did not respond the medical therapy, we decided to perform peritoneal dialysis. The serum urea and creatinine levels were gradually decreased. Urea reduction rate was 59.9%. Serum potassium, bicarbonate and chlor levels reached the reference interval. However, phosphor level was still high. Application process and clinical results of the 20 day continuous ambulatory peritoneal dialysis process was aimed to share in an amyloidosis induced end stage renal failure cat with this case report.

Key words: Cat, end stage renal failure, peritoneal dialysis

Amiloidozis Kaynaklı Son Dönem Böbrek Yetmezliği Hastası Bir Kedide Sürekli Ayakta Periton Diyaliz Uygulamasının Sonuçları: Olgu Sunumu

Özet: Olgumuzu, kliniğimize ağız kokusu, iştahsızlık, güçsüzlük ve poliüri şikayetleriyle getirilen 10 yaşında 4.4 kg ağırlığında kastre edilmiş erkek, melez ırk bir kedi oluşturdu. Hastaya klinik, laboratuvar ve histopatoloji bulguları ışığında amiloidozis kaynaklı son dönem böbrek yetmezliği tanısı kondu. Medikal tedaviye cevap vermeyen hastaya periton diyaliz uygulaması yapılmasına karar verildi. Serum üre ve kreatinin değerleri zaman içerisinde geriledi. Üre azalma oranı %59.9 olarak hesaplandı. Serum potasyum, bikarbonat ve klor değerleri referans aralığa getirildi ancak fosfor seviyesi düşürülemedi. Bu olgu sunumuyla, amiloidozis kaynaklı son dönem böbrek yetmezliği hastası bir kedide, 20 günlük periton diyaliz uygulamasının aşamalarını, ve klinik sonuçlarını paylaşmak amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Kedi, periton diyaliz, son dönem böbrek yetmezliği

Introduction

Chronic renal failure is a very common cause of illness and death in cats (8). There are many renal replacement therapies used in veterinary medicine for use in case of this situation. These are hemodialysis, peritoneal dialysis, continuous renal replacement therapy and renal transplantation (7). Peritoneal dialysis has some advantageous aspects for animals compared to other replacement therapies, because it is

cheap, does not require specific or complex equipment and it is easy to use especially in patients with low body weight (1). Also it is known that, it has some advantages like longer survival times and improved animal welfare when compared to symptomatic medical therapies which we routinely use in our clinics.

Case

A 10 year old, 4.4 kg bodyweight, mixed breed castrated male cat was presented to the our clinics with a history of halitosis, weakness, anorexia and polyuria. According to clinical and laboratory examination results, end-stage chronic renal failure was diagnosed. Toxoplasma IgG and IgM were found to be positive. Am-

Geliş Tarihi/Submission Date : 05.01.2016

Kabul Tarihi/Accepted Date : 23.02.2016

*The content of this case report was presented in XIIIth National Veterinary Congress by oral presentation and contributed by Fresenius Medical Care, Turkey.

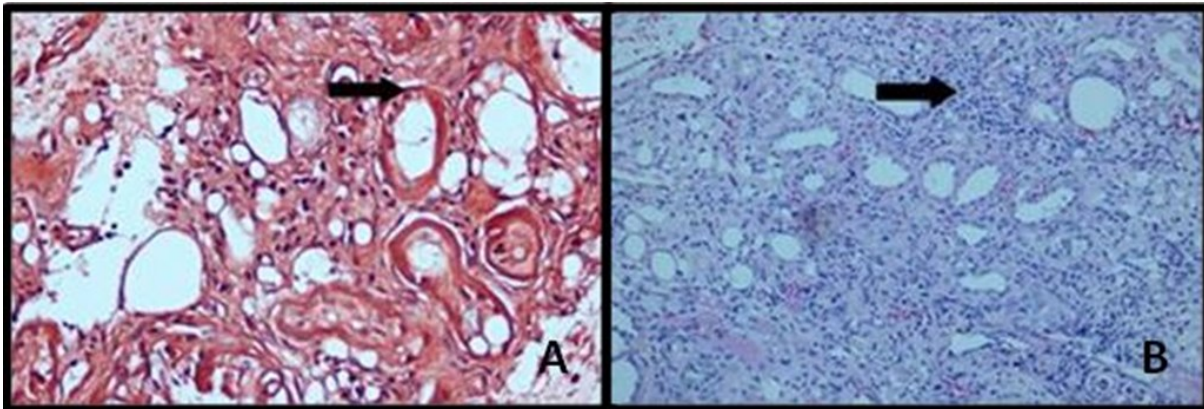


Figure 1. A: Amyloid accumulation in glomerulus (black arrow) (Congo-Red); **B:** Diffuse inflammatory cell infiltration (black arrow) and tubulointerstitial nephritis (H.E.)

lyoidosis was diagnosed according to the histopathological evaluation of tru-cut biopsy samples taking from both kidneys (Figure 1A). Tubulointerstitial nephritis was also determined in the sections (Figure 1B).

After the end-stage renal failure was diagnosed, medical therapy (fluid therapy, vitamins, antiacids, kidney diet...) was started. Since the patient did not respond the medical therapy, we decided to perform peritoneal dialysis as a renal replacement therapy. A written consent was taken from the owner of the cat.

Catheter placement was performed under general anesthesia. Patient positioned in dorsal recumbency, dorsal and left lateral abdomen was clipped between the xiphoid to the pubis and aseptically prepared. Animal was draped and aseptic technique maintained to avoid catheter contamination and peritonitis.

Mini-surgical approach was chosen for the placement of the peritoneal dialysis catheter. Two centimeters long, paramedian skin and subcutaneous tissue incision was made three cm lateral to umbilicus. Rectus abdominis muscle was incised and the partial omentectomy was performed. A pediatric bent neck coiled tenckhoff peritoneal dialysis catheter with two cuffs (KIMAL, Arundel Road, Uxbridge, Middlesex, England) was inserted in the abdominal cavity through the pelvis. In order to prevent the catheter from the omental entrapment, the intra-abdominal part of the catheter was placed between colon descendens and urinary bladder. The inner cuff was attached to rectus abdominis muscle with purse-string suture. Distal tip of the catheter was tunneled through the subcutaneous tissues to exit the skin five cm away from

the abdominal incision. In order to prevent the surrounding tissues from tunnel infection, no suture attachment was performed to outer cuff. Catheter placement was verified by infusing and retrieving 20 ml dialysis solution (dialysate) into abdominal cavity. Catheter Adaptor Luer-Lock with closure Cap (Fresenius Medical Care) and stay safe Catheter Extension Luer-Lock 32 cm (stay safe®, Fresenius Medical Care) were attached to the peritoneal dialysis catheter and the extra-abdominal part of the catheter was bandaged to the abdominal wall.

CAPD was performed ninety five times in 20 days period. Body temperature, systolic blood pressure and body weight measurements of the patients were recorded before every session. Pediatric pd-paed (Fresenius Medical Care) system was used for the filling and draining of dialysate. The application was started by draining of the dialysate (effluent) within the abdomen. In order to prevent peritonitis, 125mg/L cephazoline sodium (Cefamezin®, Eczacıbasi, Turkey) was added into the dialysate inside the pd-paed's inflow burette, for each session. Also, 500 U/L heparine sodium (Nevparin®, Mustafa Nevzat, Turkey) was added into dialysate bag in order to prevent the catheter flow problems. Serum potassium level was measured by certain intervals and 4.5 mEq/L KCL (Potassium Chloride®, Biofarma, Turkey) was added into the dialysate bag when necessary. Catheter exit side leakage and any urination and defecation between sessions were recorded. The suture area and catheter exit side were disinfected by using 10% povidone iodine (Betakon®, Aroma, Turkey). The catheter exit side was closed by sterile gauze, and the catheter was bandaged to

the abdominal wall. Hands were cleaned by aseptic technique for three minutes and used mask before all applications.

Peritoneal dialysis was started using a dialysate containing 1.5% glucose (Fresenius CAPD 2 Stay Safe Peritoneal Dialysis Solution 1.5% glucose, 1.75 Ca, 2000 ml). Initial exchange volume was started at 10 mL/kg. This amount gradually increased to 30 mL/kg in time. The volume and composition of the dialysate was decided according to several factors including the patient's body weight, effluent volume, hydration status estimated by skin turgor, reduction rate of serum urea and creatinine levels, blood pressure and dwell time (waiting time of dialysate into abdominal cavity). Dialysates including 1.5% and 2.3% glucose (Fresenius CAPD 4 Stay Safe Peritoneum Dialysis Solution 2.30% glucose, 1.75 Ca, 2000 mL) were used through 20 day period.

Peritoneal dialysis solution which contains 1.5% glucose was used (10mL/kg) once every two hours for the first three days in order to prevent

any catheter exit side leakage and to provide sufficient dialysis. The chosen treatment model for first three days was, six hour dwell at night, followed by frequent exchange during day time. Then the treatment model was changed to classical CAPD (four times in a day). Dialysis solution which contains 2.3% glucose was used generally in night exchanges and rarely in day time to ultrafiltration of free water and increase the effectiveness of the dialysis.

No parenteral drug administration was performed other than 12.5 mg/kg IM clindamycin phosphate (Klindan[®], Bilim, Turkey) during the 20 days period. On the third, sixth and 11th days of peritoneal dialysis, whole blood which were taken from major and minor cross-matches compatible donors were administered. In order to prevent the catabolism and to provide sufficient calories, half of a dietary canned food (Hill's feline k/d) was homogenized in 25 ml water and then one dosing spoon enteric phosphate binder (Ipakitine[®], Vetoquinol, France) were added into the mixture, and the patient

Table 1. Change in hemogram and serum biochemistry parameters in 20 days peritoneal dialysis period.

Parameters	1th day	3th day	7th day	15th day	20th day
pH (7.24-7.4)	7.24	7.31	7.4	7.4	7.4
Na (151-161mmol/L)	157	158	143	150	150
Cl (117-129 mmol/L)	112	111	98	123	123
Ca (9.3-11 mg/dl)	9.7	9.5	8.7	9.8	10.0
Mg (1.5-2.7 mg/dl)	2.1	2.0	2.65	2.3	2.5
P (2.9-7.7 mg/dl)	9.0	12.7	11.6	13.1	9.7
HCO ₃ (24-34 mEq/L)	12.9	18.3	29.1	24.0	27.0
K (3.5-5.1 mmol/L)	3.0	2.3	5.1	4.6	4.5
TP (6.1-8.8 g/dl)	6.5	6.4	10.5	6.9	6.8
Alb (2.6-4.3 g/dl)	2.2	2.4	2.5	2.6	2.2
RBC (4.95-10.5*10 ⁶ µl)	3.17	3.40	3.88	5.7	4.2
HCT (25.8-41.8 %)	14	18	18.5	27.0	13.2
HGB (8.5-14.4 g/dl)	4.2	5.3	5.8	9.0	4.2
WBC (3.8-19 *10 ³ µl)	35.9	42.0	24.1	21	21.4
PLT (160-600 *10 ³ µl)	186	210	143	312	358
Urea (13.4-32.5) mg/dl)	295	254	246.8	171.7	118.1
Creatinine (0.6-2.4) mg/dl)	13.5	12.2	9.8	11.2	6.8

was tried to be fed by feeding force.

Urea and creatinine levels of the serum and the effluent were measured and recorded following each peritoneal dialysis session, within the first seven days. This procedure was repeated once a day during the next 13 days. Blood pH, serum Na, Cl, Ca, Mg, P, bicarbonate, K, total protein and albumin levels and complete blood counts result were recorded on the first, third, seventh, 15th and 20th days (Table 1).

Serum K, bicarbonate and Cl levels reached the reference interval at the end of the 20th day. However, P level was still high. Serum albumin level was low as like as the pre-dialytic period. Total protein, Mg and Ca levels were normal both before and after the dialysis. Erythrocyte, hematocrit and hemoglobin levels followed a fluctuating course throughout the treatment and the leukocyte levels gradually decreased but never turned in reference interval. The venous pH was in the reference interval both pre-dialytic period and at the end of the dialysis. Serum urea level decreased from 285 mg/dL to 118.1 mg/dL and serum creatinine level decreased from 13.5 to 6.8mg/dL at the end of the peritoneal dialysis.

Catheter plugging, bleeding, catheter exit side or tunnel infection, dialysate leakage, acute pleural effusion or peritonitis like complications were not observed. Urea reduction rate (URR) was measured as 59.9% according to the following formula: $URR = [(Pre\ BUN - Post\ BUN) / Pre\ BUN] \times 100$

The owner of the patient desired to continue peritoneal dialysis at home. The owner was properly educated and the cat was discharged. However, the owner could not be able to apply peritoneal dialysis at home. The cat lost his life after the ninth day of discharge.

Discussion

Peritoneal dialysis is a technique used to remove toxins or excess solutes from the body by using the peritoneal membrane's semipermeable character (3-6). It has been used since 1920s in human medicine (3,9) and commonly use for treatment of chronic kidney disease and end stage renal failure both humans (2) and animals (3).

The clinical improvement provided by CAPD in end-stage renal failure patient cat which could not be able to respond to the environmental stimuli, was satisfactory. When it is considered

that hemodialysis can not be performed in animals as a renal replacement therapy in our country, this first clinical trial clearly demonstrated that, peritoneal dialysis can be used in order to regulate the electrolyte and acid-base balance, improve the clinical status, and to decrease the mortality of patients.

Acknowledgements

We appreciate to Murat Bal and Fresenius Medical Care, Turkey for their contributions.

References

1. Chew DJ, Dibartola SP, Crisp MS. Peritoneal Dialysis. DiBartola SP. eds In: Fluid Therapy in Small Animal Practice. Philadelphia: Saunders, 2000; pp. 507-28.
2. Cooper RL, Labato MA. Peritoneal dialysis in veterinary medicine. *Vet Clin Small Anim* 2011; 41(1): 91-113.
3. Dzyban LA, Labato MA, Ross LA, Murtaugh RJ. Peritoneal dialysis: a tool in veterinary critical care. *J Vet Emerg Crit Care* 2000; 10(2): 91-102.
4. Garcia-Lacaze M, Kirby R, Rudloff E. Peritoneal dialysis: not just for renal failure. *Compend Cont Educ Pract Vet* 2002; 24 (10): 758-72.
5. Labato MA. Peritoneal dialysis in emergency and critical care medicine. *Clin Tech Small Anim Pract* 2000; 15(3): 126-35.
6. Lane IF, Carter LJ, Lappin MR. Peritoneal dialysis: an update on methods and usefulness. Kirk RW, Bonagura JD. eds. In: *Current Veterinary Therapy XI*. Philadelphia: WB Saunders, 1992; pp. 865-70.
7. Langston C. Hemodialysis. Barges J, Polzin DJ. eds. In: *Nephrology and Urology of Small Animals*. West-Sussex: Wiley- Blackwell, 2011; pp. 255-86.
8. Syme HM, Markwell PJ, Pfeiffer D, Elliott J. Survival of cats with naturally occurring chronic renal failure is related to severity of proteinuria. *J Vet Intern Med* 2006; 20(3): 528-35.
9. Wojick K, Berube D, Barr J. Clinical technique: Peritoneal dialysis and percutaneous peritoneal dialysis catheter placement in small mammals. *J Exotic Pet Med* 2008; 17 (3): 181-88.

Corresponding Author

Dr. Murat Karabagli
Faculty of Veterinary Medicine,
Istanbul University, Avcilar Campus, 34320,
Avcilar, Istanbul-Turkey
Phone: +90 212 473 7070 / 17019 (extension)
GSM: +90 544 7812148
Fax: +90 212 473 7241.
E-Posta: muratkarabagli@yahoo.com



Bir Kedide Kutanöz Mast Hücreli Tümörünün Terapotik Lazer Kullanılarak Tedavisi*

Asiye Nur Meltem KABLAN KAL¹, Murat KARABAĞLI², Ali Evren HAYDARDEDEOĞLU³,
Gamze ŞEKERCİ², Funda YILDIRIM⁴, İbrahim FIRAT⁴, Abdülkadir UYSAL¹

¹İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, TÜRKİYE

²İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul, TÜRKİYE

³Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Aksaray, TÜRKİYE

⁴İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, TÜRKİYE

Özet: Olgumuzu, kliniğimize boyun bölgesinde iyileşmeyen yara şikâyetiyle getirilen, üç yaşında, melez, kısırlaştırılmış dişi bir kedi oluşturdu. Klinik muayenede, boyun bölgesinde, düzensiz, eksüdatif karakterli, 4.5x5 cm büyüklüğünde tüysüz bir deri bölgesi mevcuttu. Lezyonlu bölgeden alınan punch biyopsi örneğinin histopatolojik incelemesi sonucu kutanöz mast hücreli tümör tespit edildi. Kronik yara görüntüsündeki mast hücreli tümörünün cerrahi yaklaşımla uzaklaştırılması düşünüldüyse de, hastanın mizacının postoperatif bakıma imkân vermeyeceği görüldüğünden, yara iyileşmesini hızlandırdığı bilinen terapotik lazer uygulanması yapılmasına karar verildi. Sonuç olarak, kutanöz mast hücreli tümörüne bağlı olarak oluşan kronik yaranın, lazer terapi uygulaması ile iyileşebildiği gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: Kedi, kutanöz mast hücreli tümör, lazer terapi, yara

Therapeutic Laser Treatment on Cutaneous Mast Cell Tumor in a Cat

Summary: Three years old sterilized female cat was referred to our clinic with the complaint of unhealing wound for two years on the neck in our case. Under clinical examination there was irregular wound with exudative character, 4.5x5 cm in size hairless skin area was available on the neck. Cutaneous mast cell tumour has been identified from the sample received by punch biopsy of the lesion's histopathological evaluation. Removal of the mast cell tumour with chronic wound image was considered for the surgical approach, because general condition of the patients was not suitable postoperatively. Therefore, therapeutic laser application was decided. Consequently, it was observed that chronic wounds arising from cutaneous mast cell tumours might be cured with laser therapy application.

Key words: Cat, cutaneous mast cell carcinoma, laser therapy, wound

Giriş

Lazer terimi, "radyasyon emisyonuyla uyarılan ışık amplifikasyonu" nun kısaltılmasıdır. Düşük seviyeli lazerler, yüksek seviyeli lazerlerin aksine cerrahi müdahale amacıyla kullanılmayan, sadece vücudun kendi doğal fizyolojik süreçlerini uyarmak için kullanılan tedavi araçlarıdır (7,17) ve günümüzde deri hastalıklarının tedavisinde, kendisine yaygın bir kullanım alanı bulmaktadır (7).

Tanımlanmış bir dalga boyundaki lazer ışığı, hücre düzeyinde fizyolojik süreçleri harekete geçirir. Hayvan modelleriyle yapılan çalışmalarda, farklı dalga boyları ve dozlarda lazer ışını

uygulanmasının, oksidatif stres ve fibrojenizasyon parametreleri üzerine olumlu etkileri olduğu görülmüştür (17). Işıklı biyolojik süreçlerin stimüle edilebildiği (fotobiyostimülasyon) ve lazer terapinin etkili ve güvenli bir tedavi seçeneği olduğu uzun yıllardır bilinen bir gerçektir (1). Aynı zamanda ağrı kontrolü, inflamasyon, kollajen üretiminin stimülasyonu, fibroblast proliferasyonu ve lokal mikrovaskülarizasyonda da etkilidir. Ayrıca hücreli metabolizmayı stimüle eder, rejeneratif potansiyeli kuvvetlendirir ve analjezi ve vasodilatasyon etkisiyle inflamasyonu dengelediği gösterilmiştir (17,18). Lazer tedavinin potansiyel yan etkileri; ağrı, kanama, kabuklanma ve pigmentasyon şeklinde çeşitlilik gösterebilir (20).

Mast hücreleri, çeşitli uyarılara yanıt olarak, depolarında hazır bulunan ya da yeni üretilen ve proinflamatuvar ve/veya immunsupresif fonksiyon

Geliş Tarihi/Submission Date : 01.03.2016

Kabul Tarihi/Accepted Date : 19.04.2016

* Bilimsel Araştırma Projelerinden, UDP-52246 sayılı destek alınmış ve Vetİstanbul Group Congress 2015, St.Petersburg-Rusya'da poster olarak sunulmuştur.

yonlar gösterebilen biyolojik olarak aktif birçok mediyatör salgılar. Bunlardan bazıları anjiyogenezi uyarır böylece fizyolojik koşullarda yara iyileşmesi, patolojik koşullarda ise tümör gelişimi üzerinde etki gösterir (3,10,14). Tümör gelişimindeki rolleri ne olursa olsun, tümörlerdeki mast hücreleri sayısı prognostik varyasyon için önemli bir faktör olarak değerlendirilebilir (10,19). Kutanöz ve visseral olarak sınıflandırılan ve deri tümörleri içinde en sık görülen ikinci tümör çeşididir (4,5,8,9,13). Mast hücre tümörleri kedilerin deri tümörleri arasında tüm kutanöz neoplazmaların %21 kadarını oluşturur. Bu tümörler, eğilimi olmamakla birlikte gözde ve bacakları takiben daha çok başta ve ensede gözlemlenir (5,8,9,13,16).

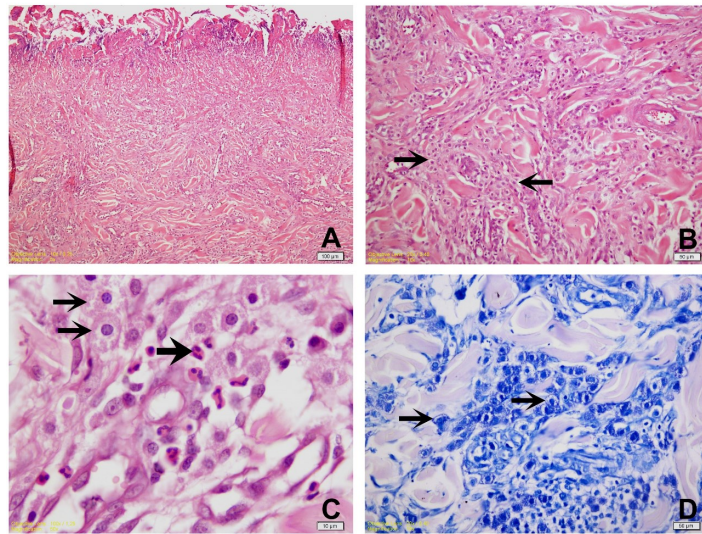
Kedilerde kutanöz mast hücre tümörleri, histolojik olarak mastositik (pleomorfik) ya da atipik (zayıf granülasyon gösteren) olarak sınıflandırılırlar. Genelde benign olmakla birlikte az da olsa malign olabilirler fakat prognostik faktörleri tam olarak tanımlanamamıştır (9,16). Bunun yanı sıra erken tanı ve sağaltım, hastanın yaşam kalitesini ve prognozu olumlu yönde etkiler (2). Deride gözlenen lezyonlar semptomatik ya da kozmetik durum göz önünde bulundurularak tedavi edilir (20). Bu tarz benign tümörler kozmetik olarak istenmeyen görünüme sahiptir. Epidermal büyüme faktörü bu tümörlerin farklılaşması ya da mitotik aktivite üzerinde etkili değildir (15). Tedavi olarak kriyoterapi, cerrahi eksizeyon ve kabuklanma, atrofi ve hipopigmentas-

yonla sonuçlanan lezyon içi steroid enjeksiyonları kullanılır (20).

Tanı genellikle lezyonun görünümüne, hastanın klinik hikâyesine dayansa bile mast hücre tümörü olup olmadığını anlamak için lezyondan biyopsi alınması gerekir (11).

Olgu

Olgumuzu, kliniğimize boyun bölgesinde iyileşmeyen yara şikâyeti ile getirilen, üç yaşında, melezi, kısırlaştırılmış dişi bir kedi oluşturdu. Boyun bölgesindeki yaranın iki yıl önce oluştuğu ve bu süre içerisinde farklı lokal ve parenteral ilaç uygulamaları yapılmasına karşın yaranın hiçbir şekilde küçülmediği ve iyileşmediği anamnez bilgisi olarak verildi. Klinik muayenede, boyun bölgesinde, düzensiz, eksüdatif karakterli, 4.5x5 cm büyüklüğünde tüysüz bir deri bölgesi mevcuttu. Hasta, agresif mizacından ötürü 2 mg/kg dozda xylazine hidroklorür (Rompun®, Bayer) intramuskuler uygulaması ile sedasyona alındı. Hasta sakinleştikten sonra, tam kan sayımı ve serum biyokimyası testleri için kan alındı. Aynı zamanda lezyonlu deri bölgesinden steril sürüntü çubukları ile alınan örnekler bakteriyolojik ve mikolojik, punch biyopsi ile alınan doku parçası ise histopatolojik açıdan incelemeye gönderildi. Hemogram ve serum biyokimyası sonuçları normal çıkan hastanın, bakteriyolojik ve mikolojik kültür sonuçlarında etken üremesi olmadı.



Şekil 1. A: Derinin üst tabakalarında-kollajen fibril dermiste demetleri ve yüzeysel ülser arasındaki pleomorfik neoplastik hücreler (H&E), Bar=100 µm; **B:** Kordon olarak düzenlenmiş neoplastik mast hücreleri (oklar) (H&E), Bar=50 µm; **C:** Neoplastik mast hücreleri kordonlar ve az sayıda eozinofil lökosit (kalın ok) (H&E), Bar=10 µm; **D:** Neoplastik mast hücreleri zayıf metakromasi gösteriyor (oklar) (Giemsa), Bar=50 µm

Histopatolojik Bulgular

Formalin fiksasyonu ve rutin histopatolojik işlemlerden sonra, parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alındı ve hematoxilen ve eosin (H&E) ve Giemsa boyaları ile boyandı. Boyamayı takiben kesitler ışık mikroskopunda incelendi. Histolojik açıklamalar ve tümör derecelendirmesi, Goldschmidt ve Hendrick (12) tarafından bildirilen derecelendirme tanımına dayalı olarak yapıldı.

Histopatolojik değerlendirmede, büyük poligonaldan yuvarlak şekilliye doğru, çok parlak pembe sitoplazması olan, epidermis de dâhil derminin üst katmanlarında yüzeysel ülserasyonlu; dermiste ise yuvarlak, hipokromatik çekirdekli, yaygın pleomorfik neoplastik hücreler tespit edildi (Şekil 1A). Neoplastik hücrelerin, kollajen fibril demetleri arasında, yaprak ve kordonlar olarak sıralandığı gözlemlendi (Şekil 1B). Neoplastik hücreler arasında birkaç eozinofil vardı (Şekil 1C). Sitoplazmik granüller daha az sayıdaydı ve Giemsa boyama ile zayıf metakromatik reaksiyon gösterdi (Şekil 1D). Literatür bilgileri ışığında yapılan histopatolojik inceleme sonucunda, ku-

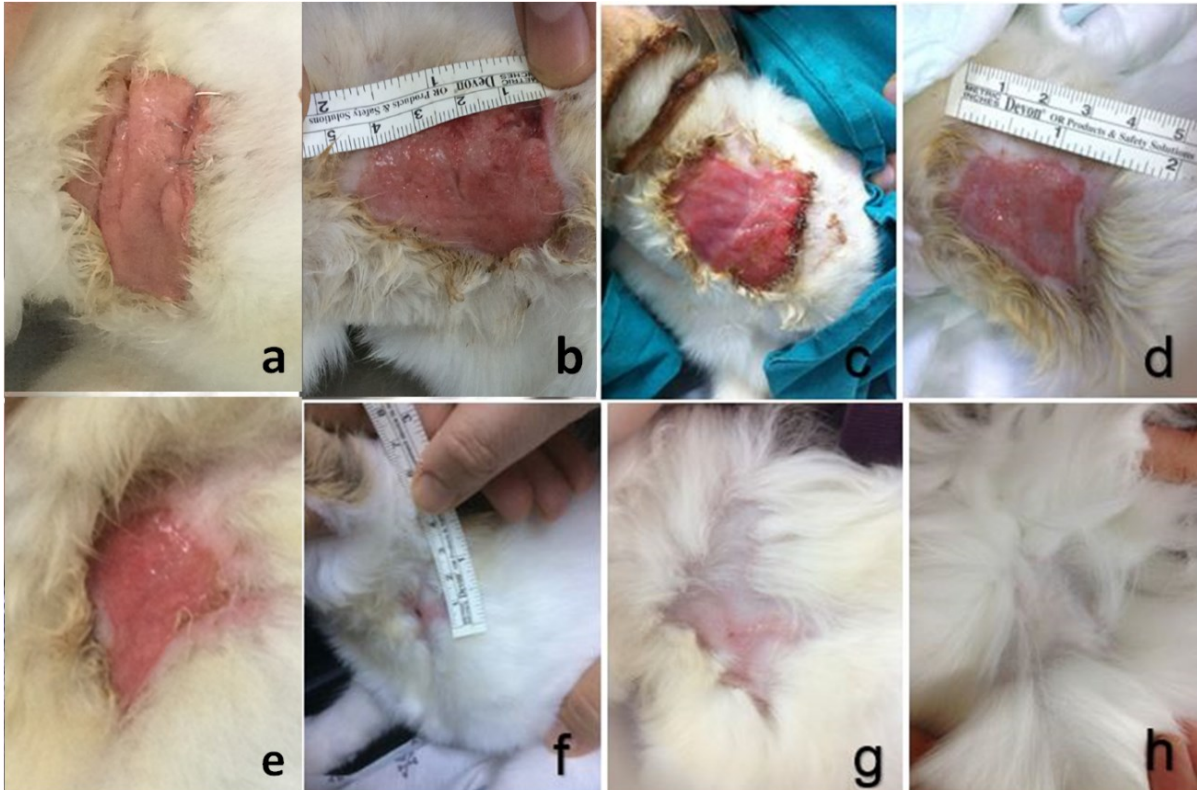
tanöz mast hücre tümörü tanısı konuldu (15).

Lazer Terapi

Hastanın agresif bir mizaca sahip olması ve cerrahi eksizyon sonrası, hasta sahibinin kedinin postoperatif bakımını yaptıramayacağını beyan etmiş olmasından ötürü, hasta sahibine terapötik lazer uygulaması önerildi. Hasta sahibinin onayı alındıktan sonra terapiye başlandı. Bu maksatla 4. sınıf düşük doz lazer sistemi (CTC Companion Compact®, Litecure) kullanıldı.

Kliniğimizde rutin olarak çeşitli endikasyonlar için kullanılan bu cihazın türü, 4.Sınıf Solid State lazer olarak tanımlanmıştır. Bu cihaz, 0.5W-12W gücünde, 980/810 dalga boyunda lazer ışını üretebilmektedir. Cihazın menüsünde lezyonların türü ve büyüklüğüne göre, farklı güç, dalga boyu ve sürelerin kayıtlı olduğu programlar bulunmaktadır.

Hastaya ilk ay haftada üç kez, ikinci ay haftada iki kez terapötik lazer uygulaması yapıldı. Her tedavi seansından önce, yara serum fizyolojikle temizlendi ve hafif nemli bir şekilde bırakılması-



Şekil 2. A: Kutaneus Mast Hücre Karsinomu (0.Hafta); **B:** Tedavi süreci (1.Hafta); **C:** Tedavi süreci (3.Hafta); **D:** Tedavi süreci (5.Hafta); **E:** Tedavi süreci (7.Hafta); **F:** Tedavi süreci tamamlandıktan bir hafta sonra (9.Hafta); **G:** Tedavi süreci tamamlandıktan üç hafta sonra (11.Hafta); **H:** Tedavi süreci tamamlandıktan bir yıl sonra (52.Hafta)

na özen gösterildi. Seansın süresi lezyonun büyüklüğüne göre değişiklik gösterdi. İlk seanslarda başlangıç süresi 2.30 saniye, yaranın büyüklüğü ise 5 cm civarında (4.5-5cm) idi. Lezyon haftalık olarak küçülme göstermekle birlikte, seans süresi ve yara büyüklüğü değerleri değiştirilmedi. Üç haftalık terapinin ardından doz, yarada standart olan 2.5 watt olarak ayarlanarak terapi sürdürüldü. Seans süresi ise 1.35 saniyeye düşürüldü. Bu doz ve sürede tedavi son haftaya kadar devam ettirildi. Sekizinci haftaya geldiğinde yaranın 1 cm' ye kadar küçüldüğü görüldü ve seans süresi bir dakika olarak belirlendi. Sekiz hafta boyunca yapılan tedavide, dört kez çift doz uygulaması yapılmak durumunda kalındı. Bunun nedeni hastanın zapt-ı raptında yaşanan zorluklardan ötürü, terapiden tam yararlanamadığını düşünmemizdi. Lazer terapiyle tedaviden iki ay sonra yarada belirgin bir küçülme gözlemlendi ve tedaviye ara verildi. Hastanın bir yıl sonra yapılan kontrolünde, derinin normal görünümüne sahip olduğu, lezyonlu bölgedeki tüylerin uzamış olduğu gözlemlendi. Bu süreç içerisinde lezyonda nüks şekillenmedi.

Tartışma ve Sonuç

Mast hücre tümörlerinde, kemoterapinin bir tedavi seçeneği olduğu bilinmektedir (13). Yan etkileri göz önüne alındığında lazer terapinin kemoterapiden çok daha az yan etkisi olduğu aşikârdır. Olgumuzda tek başına lazer terapi kullanılarak kutanöz mast hücre tümörü kaynaklı kronik yaranın iyileştirilebildiği görülmüştür. Lazer terapinin malign tümörlerde kullanılmasının kontraendike olduğu bazı kaynaklarda bildirilmiş olsa da lazerin endikasyon alanı olan inflamasyon hücrelerini durdurması, azaltması gibi inflamatorik hücreleri inhibe edici etkilerinin olduğu da bilinmektedir (6,11). Histamin salgıladığı bilinen mast hücre tümörlerinde lazer terapi tedavisinin mast hücre tümöründeki histamin sentezini inhibe edici özelliği göz önünde bulundurularak kutanöz mast hücre tümöründe lazer terapi kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Sonuçta olgumuz, kutanöz mast hücre tümörlerinin, cerrahi eksizyon ve/veya kemoterapi gibi komplikasyon riski daha yüksek tedavi seçenekleri yerine, lazer terapi ile sağaltılması hususunda deneysel ve klinik çalışmaların yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Kaynaklar

1. Alonso-Castro L, Boixeda P, Segura-Palacios JM, De Daniel-Rodriguez C, Jimenez-Gomez N, Ballester-Martinez A. Dermatofibromas treated with pulsed dye laser: Clinical and dermoscopic outcomes. *J Cosmet Laser Ther* 2012; 14(2): 98-101.
2. Aydın D, Erdikmen DO, Ülgen S, Demirutku A, Durmuş D. Kedi ve köpeklerde paraneoplastik sendromlar. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2011; 8(2):127-37.
3. Bayramgürler D, Demirsoy EO. Mast hücreleri ve aktivasyonu. *Turkderm* 2013; 47: (Özel Sayı 1): 37-40.
4. Blackwood L, Murphy S, Buracco P, De Vos JP, De Fornel-Thibaud P, Hirschberger J, Kessler M, Pastor J, Ponce F, Savary-Bataille K, Argyle DJ. European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Vet Comp Oncol* 2012; 10(3):1-29.
5. Blackwood L. Feline mast cell tumours. *J BVA* 2015; 37:391-400.
6. Henry C.J., Higginbotham M.L. Cancer management in small animal practice, Canada, Saunders Elsevier, 2010; p.163-317.
7. Deri Hastalıklarında Lazer Tedavisi ve Öneriler, <http://hastaneeski.akdeniz.edu.tr/deri-hastaliklarinda-lazer-tedavisi-ve-oneriler>. Erişim tarihi: 25.01.2016.
8. Dobromylskyj M. 2013 Prognostic Testing into Feline Cutaneous Mast Cell Tumours. <http://www.vettimes.co.uk/article/prognostic-testing-into-feline-cutaneous-mast-cell-tumours/> Erişim tarihi: 10.02.2016.
9. Füchtenbusch A, Rosin P. Laser therapy and Laser puncture in Dogs and Cats. First Edition. Germany: Füchtenbusch Fachkommunikation; 2010; p.6-9.
10. Henry C, Herrera C. Mast cell tumors in cats clinical update and possible new treatment avenues. *JFMS Clinical Practice* 2013; 15: 41-47.
11. Kulaçoğlu S, Orhun S, Bebitoğlu İ. Yumuşak doku tümörlerinde mast hücrelerinin varlığı ve önemi. *Türk Patoloji Derg* 1995; 11(2): 219-21.
12. Luba MC, Bangs SA, Mohler AM, Stulberg DL. Common benign skin tumors. *Am Fam Physician* 2003; 67(4): 729-38.
13. Melville K, Smith KC, Dobromylskyj MJ. Feline cutaneous mast cell tumours: A UK-based study comparing signalment and histological features with long-term outcomes.

- J Feline Med Surg 2015; 17(6): 486-93.
14. Özdemir Ö. Mast hücresi ve kanser: Tümör dokusunda mast hücre yoğunluğu, etkileyen faktörler ve mast hücre-tümör etkileşimleri. Kocatepe Med J 2004; 5: 1-8.
 15. Sabattini S, Marconato L, Zoff A, Morini M, Scarpa F, Capitani O, Bettini G. Epidermal growth factor , receptor expression is predictive of poor prognosis in feline cutaneous squamous cell carcinoma. J Feline Med and Surg 2010; 760-8.
 16. Sabattini S, Bettini G. Prognostic value of histologic and immunohistochemical features in feline cutaneous mast cell tumors. Vet Pathol 2010; 47(4): 643-53.
 17. Silveira PC, Silva LA, Freitas TP, Latini A, Pinho RA. Effects of low-power laser irradiation (LPLI) at different wavelengths and doses on oxidative stress and fibrogenesis parameters in an animal model of wound healing. Lasers Med Sci 2011; 26(1):125-31.
 18. Stephens B. Laser treatment of a shar-pei with immuno-mediated neutrophilic vasculitis. Vet Practice News 2013; 9: 28.
 19. Vural SA, Aydın Y. Köpeklerin mast hücre tümörleri: 19 olguya ait patolojik survey. Turk J Vet Anim 2001; 25: 887-93.
 20. Wang AS, Larsen L, Chang S, Phan TBA, Jagdeo J. Treatment of a symptomatic dermatofibroma with fractionated carbon dioxide laser and topical corticosteroids. J Drugs in Dermatol 2013; 12(12): 1483-4.

Yazışma Adresi:

Dr. Asiye Nur Meltem KABLAN KAL
Gıda Tarım Ve Hayvancılık İl Müdürlüğü
Hayvan Sağlığı Şube Müdürlüğü,
Aksaray-Türkiye
E-posta: meltemkablan@yahoo.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://ercvet.gmail.com> 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 10 punto (Arial) 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://ercvet.gmail.com>).
- 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 10 pt (Arial).
- 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.

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

Makale Türü/ Article Type:

.../.../20..

(...) 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: ercvet@gmail.com

Yazım Kuralları

1. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'nde veteriner bilimlerini ilgilendiren alanlarda orijinal araştırmalar, olgu sunumları, araştırma notları, kısa bildiri, derleme ve editör mektup yayımlanır.
2. Bütün eserler yayın kurulunun ve danışma kurulunun onayından geçtikten sonra yayımlanır.
3. Dergide yayımlanacak yayınlar için resmi dil Türkçe'dir. İngilizce yazılmış eserlerde yayımlanabilir. **İngilizce hazırlanmış makalelerin yayımlanmasına öncelik verilir.**
4. Yayınlar A4 tipi formatta, çift aralık, Arial ve 10 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 belirtmek 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 numaraları 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: Kaldhove 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; Izmir-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.Aspx?MevzuatKod=7.5.185.32&MevzuatTliski=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.
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: Kaldhane 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.