



August - 2016



VAN VETERINARY JOURNAL

This journal previously published as: **Yuzuncu Yil Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**

ISSN: 2149-3359

E-ISSN: 2149-8644

Owner

Prof. Dr. Zafer SOYGUDER (Dean)

Editor-in Chief

Prof. Dr. Nihat MERT
YYU, Veteriner Fak., Dergi Editorlugu
Kampus / Van - Turkey
Tel: +90 (432) 225 10 28 Fax: +90 (432) 225 11 27
e-mail: vfd@yyu.edu.tr

Editorial Board

Prof. Dr. Zafer SOYGUDER (Language Editor)
Prof. Dr. Ebubekir CEYLAN (Editor)
Prof. Dr. Handan MERT (Proof & Quality Editor)
Assoc. Prof. Dr. Ozgur ISLEYICI (Technical Editor)
Assoc. Prof. Dr. Ismail Hakki EKIN (Electronic Journal Editor)
Assoc. Prof. Dr. Abdullah YESILOVA (Statistical Editor)
Assist. Prof. Dr. Bahat COMBA (Editor)

Publication Board

Prof. Dr. Abuzer TAS (Univ. of Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. Ali CINAR (Univ. of Ataturk)
Prof. Dr. Askarbek TULEBAEV (Manas, KYRGYZSTAN)
Prof. Dr. Axel WEHREND (Giessen, GERMANY)
Prof. Dr. Berrin SALMANOGLU (Univ. of Ankara)
Prof. Dr. Ehab Abu-Basha (Irbid, JORDAN)
Prof. Dr. Gert W NIEBAUER (Vienna, Austria)
Prof. Dr. Gursel SONMEZ (Univ. of Uludag)
Prof. Dr. Handan MERT (Univ. of Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. Hasan Altan AKKAN (Univ. of Mehmet Akif Ersoy)
Prof. Dr. Hasan Huseyin HADIMLI (Univ. of Selcuk)
Prof. Dr. James M. MAY (Nashville, TN, USA)
Prof. Dr. Kamil EKICI (Univ. of Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. Kemal Ozdem OZTABAK (Univ. of Istanbul)

Prof. Dr. Mehmet Akif KARSLI (Univ. of Kirkkale)
Prof. Dr. Taylan AKSU (Univ. of Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. Tevhide SEL (Univ. of Ankara)
Prof. Dr. Volkan AKYOL (Univ. of Uludag)
Assoc. Prof. Dr. Baris Atalay USLU (Univ. Of Cumhuriyet)
Assoc. Prof. Dr. Devrim S. AKSU (Univ. of Yuzuncu Yil)
Assoc. Prof. Dr. Hasan Huseyin ARI (Univ. of Cumhuriyet)
Assoc. Prof. Dr. Nalan OZDAL (Univ. of Yuzuncu Yil)
Assoc. Prof. Dr. Tugba BINGOL (Univ. of Yuzuncu Yil)
Assist. Prof. Dr. Bahattin ÇAK (Univ. of Yuzuncu Yil)
Assist. Prof. Dr. Zeynep KARAPINAR (Univ. of Yuzuncu Yil)
Assist. Prof. Dr. Selim CINAROGLU (Univ. of Yuzuncu Yil)
Assist. Prof. Dr. Yildiray BASBUGAN (Univ. of Yuzuncu Yil)
Assist. Prof. Dr. Kivanc IRAK (Univ. of Siirt)
Dr. Josip LOVRIC (Manchester, ENGLAND)

Scientific Board of This Issue

Assoc. Prof. Dr. Orhan AKMAN (Univ. of Ataturk)
Prof. Dr. Ali Rıza AKSOY (Univ. of Kafkas)
Prof. Dr. Muhammet ALAN (Univ. of Eskisehir Osmangazi)
Prof. Dr. Muhammed Enes ALTUĞ (Univ. of Mustafa Kemal)
Assist. Prof. Dr. Zeynep KARAPINAR (Univ. of Yuzuncu Yil)
Assoc. Prof. Dr. Zafer CANTEKİN (Univ. of Mustafa Kemal)
Assist. Prof. Dr. Bahattin ÇAK (Univ. of Yuzuncu Yil)
Assoc. Prof. Dr. Ali Osman ÇERİBAŞI (Univ. of Firat)
Prof. Dr. Yunus ÇETİN (Univ. of Mehmet Akif)
Assoc. Prof. Dr. İsmail Hakki EKİN (Univ. of Yuzuncu Yil)
Assoc. Prof. Dr. Orhan AKMAN (Univ. of Ataturk)

Assoc. Prof. Dr. Özgür İŞLEYİCİ (Univ. of Yuzuncu Yil)
Assist. Prof. Dr. Ufuk KAMBER (Univ. of Kafkas)
Prof. Dr. Oktay KESKİN (Univ. of Harran)
Assist. Prof. Dr. Seyrani MERSİN (Univ. of Siirt)
Assist. Prof. Dr. Sevda P. ÖNEN (Univ. of Mustafa Kemal)
Assoc. Prof. Dr. Nalan ÖZDAL (Univ. of Yuzuncu Yil)
Dr. Saidi RADHWANE (Univ. of Saad Dahleb Algeria)
Prof. Dr. Zafer SOYGUDER (Univ. of Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. Cem Ecmel ŞAKİ (Univ. of Firat)
Prof. Dr. Abuzer TAŞ (Univ. of Yuzuncu Yil)
Assoc. Prof. Dr. Özgür İŞLEYİCİ (Univ. of Yuzuncu Yil)

This journal is published three times a year

All articles in this journal are available free of charge from <http://vfdergi.yyu.edu.tr>

Published by Onder Ofset, Van, Türkiye

Year	Volume	Issue
2016	27	2

This journal indexed / abstracted in EBSCOhost, CAB Abstracts, DOAJ, Index Copernicus, TUBITAK-ULAKBIM, Turkiye Atif Dizini and Google Scholar



Research on the mosquito (Diptera: Culicidae) species and their activities in the basin of Van Lake

Ayşe SONA Mustafa Serdar DEĞER

Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, Van, Turkey

Received: 04.10.2015

Accepted: 09.12.2015

SUMMARY

This study was conducted between June and September 2013 in order to identify the mosquito species in Van province and around Van Lake. Collected samples of 1765 adult female mosquito as a result of this work were identified under a stereo microscope with camera in laboratory. As a result of microscopic examination six species belonging to four genera has been determined. The results presented as; *Anopheles maculipennis complex* 24.2%, *Culex theileri* 37.8%, *Culex pipiens* 23.1%, *Culiseta annulata* 4.4%, *Culiseta longiareolata* 4.8%, *Aedes (Ochlerotatus) caspius* 5.7%. Among these species it has been most intense by month were *Culex (Culex) theileri* Theobald, 1903, *Culex (Culex) pipiens* Linnaeus, 1758, *Anopheles maculipennis complex*. Both regional and months density of *Culex pipiens* and *Culex (Culex) theileri* have a very high tolerance against environmental conditions. As the found mosquito species have vector potential, it is important to take control and combat measures against them in that they are able to transmit pathogens to the people and animals in Van province and Van Lake basin.

Key Words: Mosquito, Culicidae, Diptera, Van

ÖZET

Van Gölü Havzasındaki Sivrisinek (Diptera: Culicidae) Türleri ve Aktiviteleri Üzerine Araştırmalar*

Bu çalışma Van ili ve Van Gölü çevresinde bulunan sivrisinek türlerinin tespiti için Haziran-Eylül 2013 tarihleri arasında yapılmıştır. Yapılan saha çalışmaları sonucunda elde edilen toplam 1765 ergin dişi sivrisinek numunesinin laboratuvarında kameralı stereo mikroskop ile tür identifikasyonları yapılmıştır. Mikroskopik inceleme sonucunda dört cinse ait altı tür tespit edilmiştir. Bu türlerden *Anopheles maculipennis kompleks* %24.2, *Culex theileri* %37.8, *Culex pipiens* %23.1, *Culiseta annulata* %4.4, *Culiseta longiareolata* %4.8, *Aedes (Ochlerotatus) caspius* %5.7 oranında bulunmuştur. Bu türler arasında aylara göre en yoğun bulunanlar, *Culex (Culex) theileri* Theobald, 1903 *Culex (Culex) pipiens* Linnaeus, 1758, *Anopheles maculipennis kompleks* olarak tespit edilmiştir. *Culex pipiens* ve *Culex theileri*'nin hem aylara göre hem de bölgesel olarak en baskın türler olarak bulunması, bu türlerin çevresel koşullara karşı toleransının çok yüksek olduğunu göstermektedir. Bulunan sivrisinek türlerinin vektörlük potansiyellerinden dolayı Van ili ve Van gölü çevresindeki insan ve hayvanlara hastalık etkenlerini bulaştırması, kontrol ve mücadele tedbirleri açısından önemli oldukları belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sivrisinek, Culicidae, Diptera, Van

GİRİŞ

Dünya üzerinde yaygın olarak bulunan sivrisinekler, Nematocera alt takımından olup, iki alt aile ve 112 soyu içermektedir. Bu iki alt aile Anophelinae ve Culicinae olarak sınıflandırılmış olup, 3540 türü kapsamaktadır. Mayıs 2015 tarihi itibarıyla yapılan son güncelleme sonucunda tür listesine göre geçerli tür sayısı 3546 olarak belirtilmiştir. Sivrisinekler, bulaşıcı hastalıklara vektörlük eden canlılar arasında biyolojik potansiyelleri en yüksek olan artropodlardır. Sivrisinekler insanlar dışında sıcakkanlı ve soğukkanlı birçok hayvan grubundan kan

emmeleri haricinde, dünya üzerinde kutuplar hariç her anakarada, hemen hemen tüm zoocoğrafik bölgelerde bulunmaları, hızlı üremeleri, çok sayıda verimli yumurta oluşturabilme kabiliyetleri, aktif şekilde uçabilmeleri ve larva evrelerinin çok geniş bir yaşama alanına sahip olması nedeni ile çok büyük bir öneme sahiptirler. Antik çağlardan bu yana sivrisinekler insanları etkileyen çeşitli rahatsızlıkların kaynağı olarak görülmüştür. Sivrisinekler tropikal, subtropikal ve ılıman iklim bölgelerinde çok geniş bir yayılım gösteren, vektörlükleri nedeni ile sağlık ve ekonomik önemi olan kan emici vektörlerdir (Merdivenci 1984; Alten ve Çağlar 1998; Harbach ve Kitching 1998;

Reiter 2001; Harbach 2015).

Sivrisinekler, dünyada bilinen 155 arbovirüs enfeksiyonundan 117'sinin ve endemik ülkelerde yaygın morbidite ve mortaliteye ve büyük ekonomik kayıplara neden olan Sarı Humma, Dang Humması, Filariasis gibi önemli hastalıkların vektörlüğünü de yaparlar. Bu hastalıklar arasında, malaria önemli bir yüke sahip olmaktadır ve dünya genelinde yaygın olup Anopheles türü sivrisinekler vektör olarak rol oynamaktadırlar. Büyük kitleleri etkilemesi ve birçok ülkede özellikle yoğun çocuk ölümlerine yol açması açısından bulaştırdıkları en önemli hastalık etkeni sıtmadır (Alten ve Çağlar 1998; Kiszewski ve ark. 2004; Hemingway ve ark. 2006).

1900 yılına kadar, dünyanın birçok ülkesinde yaygın olan endemik sıtma, günümüzde, 111 ülkede hiç görülmemekte, 64 ülkede kontrol altına alınmış ve 34 ülkeden de elimine edilerek sıtma haritası hızla küçültülmüştür. WHO-UNİCEF'in ortak çalışmalarına göre 2000 yılından bu yana sıtmadan dolayı meydana gelen ölüm oranları %60 düşmüştür, ayrıca 6.2 milyon adet sıtmadan kurtarılanların çoğunluğunun çocuklar olduğu belirtilmiştir (Cotter ve ark. 2013; WHO 2015).

Bu çalışma ile Van Gölü havzasındaki sivrisinek (Culicidae) türlerinin belirlenmesi ve bu türlerin mevsimsel aktivitelerinin ve dağılımlarının saptanması amaçlanmıştır. Elde edilecek verilerin Türkiye sivrisinek faunasına ve dolayısıyla sivrisinek kontrol ve mücadelesine katkı sağlaması açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bölgede sıtma başta olmak üzere sivrisineklerin vektörlüğünü yaptığı hastalıkların epidemiyolojilerinin ortaya konulması kontrol ve mücadele yöntemleri ile insan ve hayvan sağlığını koruması açısından önem arz etmektedir.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışma Van ilinin iklim şartlarının diğer bölgelere göre daha soğuk olabileceği düşünülerek ve sivrisineklerin üreme koşulları dikkate alınarak Haziran – Eylül (2013) ayları arasında yürütülmüştür.

Saha çalışmaları, Van merkeze bağlı ve Van Gölü ile bitişik olan kıyı bölgelerindeki bazı mahalle ve köylerde ve Van Gölü çevresindeki Edremit, Gevaş, Tatvan, Ahlat, Adilcevaz ve Erçiş ilçelerinde yapılmıştır. Örnekler toplanırken göle yakın bölgeler olması tercih edilmiştir. Sivrisinek türlerine rastlayabilmek amacıyla ağaçlık, koruluk, bataklık ve hayvan barınaklarının olduğu bölgelerde yapılan taramalara ağırlık verilmiştir. Özellikle hayvan barınakları ve sulak alanların bulunduğu bölgeler tespit edilip bu bölgelerdeki açık alanlarda tuzaklar kurulmuştur. Tuzaklar, yaklaşık 10-12 saat kurulu kalacak şekilde, güneş batmadan saat 18.00 gibi kurulmuş olup, sabah gün doğumuna yakın veya sabah erken saatlerde tül kafesin ağız kısmı bağlanarak toplanmıştır.

Sivrisineklerin toplanması için sahada CDC ışık tuzakları kullanılmıştır. Işık tuzağı ile yakalanan sivrisineklerin çırpınarak daha fazla zarar görmemesi için ışık tuzağının tül kafes kısmı, kloroforma batırılmış bir pamuğun bulunduğu ağız geniş bir torbaya konulmuş ve sivrisineklerin bayılması sağlanmıştır. Daha sonra bayıltilan sivrisinekler dikkatli bir şekilde cam şişelere aktarılarak buz kutularının içine yerleştirilmiş ve laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvara getirilen sivrisinekler toplandığı bölgelere göre kayıt altına alındıktan sonra tür idendifikasyonu yapılan kadar -20°C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

İdentifikasyon sırasında, önceden hazırlanmış preparatlar petri kabının içerisine bırakılarak ince uçlu bir pens yardımı ile farklı açılardan incelenmiştir. Daha sonra üstten aydınlatmalı stereo mikroskop aracılığı ile identifikasyonu yapılmıştır. Teşhis esnasında morfolojik kriterlere ait renk farklarının daha iyi algılanabilmesi için beyaz ışık kullanılmıştır. Tür teşhisleri ilgili kaynaklar (Merdivenci 1984; Schaffner ve ark. 2001) kullanılarak yapılmıştır.

Yakalanan Ergin Sivrisinek Türlerinin Çalışma Alanındaki Yoğunluklarının Hesaplanması

Alandaki sivrisinek türlerinin yoğunlukları Dzieczkowski (1972) ve Banaszak ve Wiceniowski (1999)'ye göre hesaplanmıştır.

Alanda örneklenen türlerin yoğunlukları:

$D=1/L.100$ formülü ile hesaplanmıştır. Bu formüldeki:

D= türün yoğunluk, 1= hesaplanan türün birey sayısı, L= tüm bireylerin sayısı

BULGULAR

Bu çalışmada 1765 adet sivrisinek türü içerisinde dört cinse ait altı tür tespit edilmiştir. Bu dört cinse içerisinde Anopheles maculipennis kompleks, Culex (Culex) theileri Theobald, 1903, Culex (Culex) pipiens Linnaeus, 1758, Aedes caspius (Pallas, 1771), Culiseta (Culiseta) annulata (Schrank, 1776), Culiseta (Allotheobaldia) longiareolata (Macquart, 1838) türleri tespit edilmiştir.

Aylara göre türlerin dağılımı Haziran ayında, *Anopheles maculipennis* kompleks %5.4, *Culex pipiens* %28.2, *Culex theileri* %19.8, *Culiseta annulata* %29.5, *Culiseta longiareolata* %15.5, *Aedes caspius* %29.7, Temmuz ayında *Anopheles maculipennis* kompleks %9.1, *Culex pipiens* %19.1, *Culex theileri* %22.6, *Culiseta annulata* %16.7, *Culiseta longiareolata* %17.9, *Aedes caspius* %20.8, Ağustos ayında *Anopheles maculipennis* kompleks %21.5, *Culex pipiens* %26.5, *Culex theileri* %27.1, *Culiseta annulata* %19.2, *Culiseta longiareolata* %20.2, *Aedes caspius* %14.9, Eylül ayında *Anopheles maculipennis* kompleks %63.9, *Culex pipiens* %26.2, *Culex theileri* %30.4, *Culiseta annulata* %34.6, *Culiseta longiareolata* %46.4 ve *Aedes caspius* %34.7 oranında tespit edilmiştir.

Bölgesel dağılıma göre *Anopheles maculipennis* kompleks %24.2, *Culex theileri* %37.8, *Cx. pipiens* %23.1, *Culiseta annulata* %4.4, *Cs. longiareolata* %4.8, *Ae. caspius* %5.7 olarak değerlendirilmiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Türkiye sivrisinekleri üzerinde ilk sistematik çalışmayı yapan Parrish (1959)'dir. Türkiye'de sivrisinekler ile ilgili en kapsamlı çalışmayı Merdivenci (1984) yapmıştır. En son çalışmayı Ramsdale ve ark. (2001) yapmış olup, çalışmalarında sekiz cinse ait 48 türün varlığını tespit etmişlerdir. Eski çalışmalarda Türkiye'de varlığı bildirilmiş altı türün (*An. melanoon*, *An. multicolor*, *An. sergentii*, *An. stephensi*, *Ae. aegypti* ve *Cx. adairi*) şüpheli veya hatalı kayıtlar olduğu düşünüldüğünden Ramsdale ve ark. (2001) tarafından listeye alınmamıştır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda bazı yeni türlerin varlığı kaydedilmiştir. Şimşek ve ark. (2011) Akdeniz bölgesini içeren çalışmalarında *Cs. subochrea*'nın Türkiye'de varlığını ilk kez kaydetmişlerdir.

Tablo 1. Ergin sivrisineklerin toplandığı bölgelere göre sayısal dağılımı**Table 1.** Distrubution of adults mosquitoes according to the regions

İlçe / Bölge		Tür						Toplam
		<i>An. maculipennis</i> kompleks	<i>Culiseta annulata</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>	<i>Cx. pipiens</i>	<i>Cx. theileri</i>	<i>Ae. caspius</i>	
Adilcevaz	Sayı	37	45	43	23	71	0	219
	İlçe (%)	16.9	20.5	19.6	10.5	32.4	0	100
	Toplam (%)	2.1	2.5	2.4	1.3	4.0	0	12.4
Ahlat	Sayı	27	5	16	32	25	0	105
	İlçe (%)	25.7	4.8	15.2	30.5	23.8	0	100
	Toplam (%)	1.5	3	9	1.8	1.4	0	5.9
Bardakçı	Sayı	11	0	0	25	72	29	137
	İlçe (%)	8.0	0	0	18.2	52.6	21.2	100
	Toplam (%)	6	0	0	1.4	4.1	1.6	7.8
Edremit	Sayı	13	0	15	15	35	0	78
	İlçe (%)	16.7	0	19.2	19.2	44.9	0	100
	Toplam (%)	7	0	8	8	2.0	0	4.4
Erciş	Sayı	12	0	0	58	133	0	203
	İlçe (%)	5.9	0	0	28.6	65.5	0	100
	Toplam (%)	7	0	0	3.3	7.5	0	11.5
Gevaş	Sayı	243	6	0	23	43	11	326
	İlçe (%)	74.5	1.8	0	7.1	13.2	3.4	100
	Toplam (%)	13.8	3	0	1.3	2.4	6	18.5
İskele	Sayı	22	12	0	27	52	0	113
	İlçe (%)	19.5	10.6	0	23.9	46.0	0	100
	Toplam (%)	1.2	7	0	1.5	2.9	0	6.4
Kale	Sayı	27	10	0	45	71	13	166
	İlçe (%)	16.3	6.0	0	27.1	42.8	7.8	100
	Toplam (%)	1.5	6	0	2.5	4.0	7	9.4
Mollakasım	Sayı	20	0	0	126	81	35	262
	İlçe (%)	7.6	0	0	48	31	13.4	100
	Toplam (%)	1.1	0	0	7.1	4.6	2.0	14.8
Tatvan	Sayı	15	0	10	34	84	13	156
	İlçe (%)	9.6	0	6.4	21.8	53.8	8.3	100
	Toplam (%)	8	0	6	1.9	4.8	7	8.8
Toplam	Sayı	427	78	84	408	667	101	1765
	İlçe (%)	24.2	4.4	4.8	23.1	37.8	5.7	100
	Toplam (%)	24.2	4.4	4.8	23.1	37.8	5.7	100

Farklı harf ile ifade edilen oranlar arasındaki farklılık önemlidir (p<0.05)

Ki-kare (χ^2)= 1228.4 p = 0.001

Tablo 2. Ergin sivrisineklerin aylara göre yoğunluğu**Table 2.** Distrubution of adults mosquitoes according to the months

Tür		Aylar				Toplam
		Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	
<i>An. maculipennis</i> <i>kompleks</i>	Sayı	23	39	92	273	427
	Tür (%)	5.4	9.1	21.5	63.9	100
	Ay (%)	6.8	12.3	21.5	39.9	24.2
	Toplam (%)	1.3	2.2	5.2	15.5	24.2
<i>Culiseta</i> <i>annulata</i>	Sayı	23	13	15	27	78
	Tür (%)	29.5	16.7	19.2	34.6	100
	Ay (%)	6.8	4.1	3.5	3.9	4.4
	Toplam (%)	1.3	7	8	1.5	4.4
<i>Culiseta</i> <i>longiareolata</i>	Sayı	13	15	17	39	84
	Tür (%)	15.5	17.9	20.2	46.4	100
	Ay (%)	3.9	4.7	4	5.7	4.8
	Toplam (%)	7	8	1.0	2.2	4.8
<i>Cx. pipiens</i>	Sayı	115	78	108	107	408
	Tür (%)	28.2	19.1	26.5	26.2	100
	Ay (%)	34.2	24.6	25.2	15.6	23.1
	Toplam (%)	6.5	4.4	6.1	6.1	23.1
<i>Cx. theileri</i>	Sayı	132	151	181	203	667
	Tür (%)	19.8	22.6	27.1	30.4	100
	Ay (%)	39.2	47.6	42.2	29.7	37.8
	Toplam (%)	7.5	8.6	10.3	11.5	37.8
<i>Ae. caspius</i>	Sayı	30	21	15	35	101
	Tür (%)	29.7	20.8	14.9	34.7	100
	Ay (%)	8.9	6.6	3.5	5.1	5.7
	Toplam (%)	1.7	1.2	8	2.0	5.7
Toplam	Sayı	336	317	428	684	1765
	Tür (%)	19	18	24.2	38.8	100
	Ay (%)	100	100	100	100	100

Bedir ve ark. (2011) Kars platosunda yaptıkları çalışmalarda altı yeni türün varlığını (*Cs. alaskaensis*, *Oc. cataphylla*, *Oc. pullatus*, *Oc. punctator*, *Oc. leucomelas* ve *Oc. cyprius*) Türkiye'de ilk kez bildirmişler. Öter ve ark. (2013) Trakya yöresinde yürütmüş oldukları çalışmalarında *Ae. albopictus*'un (syn. *Stegomyia albopicta*) varlığını Türkiye'de ilk kez kayıt altına almışlardır. Bu verilere göre Türkiye'de güncel olarak 56 sivrisinek türünün varlığı bilinmektedir.

Bu çalışmada Van ili ve Van gölü havzasındaki ilçelerde dört cinse bağlı altı sivrisinek türü tespit edilmiştir. Tespit edilen bu türlerin tamamı Ramsdale ve ark. (2001) ve Merdivenci (1984)'nin listelerinde mevcuttur.

Bu çalışmaya göre Van İl'inde tespit edilen sivrisinek türleri arasında sırasıyla *Culex (Culex) theileri* Theobald, 1903, *Anopheles maculipennis* kompleks ve *Culex (Culex) pipiens* Linnaeus, 1758 en baskın türler olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada elde edilen verilere göre Van ili ve Van gölü çevresinde *Culex theileri*, Haziran ayında başlayıp Eylül ayına kadar en yüksek seviyede ve ayrıca en yoğun populasyona sahip tür olarak kayıt edilmiştir. Elde edilen sonuçlar *Cx. theileri* türünün varlığı ve populasyon dinamiği açısından karşılaştırıldığında Aldemir ve ark. (2010), Alkan ve Aldemir (2010), Gündüz ve ark. (2009), Şimşek (2004), ve Şimşek (2006)'in çalışmaları ile uyumlu bulunmuştur.

Sivrisinekler malaria, filaria, dang humması, Japon ensefaliti gibi birçok hastalığa vektörlük yaparlar ve insanlığın var oluştundan beri en büyük düşmanıdır (Leonard ve Jan 1997).

Bu çalışmada *Anopheles maculipennis* kompleks türüne bölgesel olarak %24.2 oranında rastlanması Van ili ve Van gölü çevresindeki bölgelerde sıtma enfeksiyonuna vektörlük yapma olasılığını ortaya koymaktadır.

Batı Nil virüsü *Culex* cinsine ait olmak üzere 43 sivrisinek türünden izole edilmiştir. Avrupa'da Batı Nil virüsünün ana vektörü *Cx. pipiens*, *Cx. modestus*, ve *Coquillettidia richiardii*, Asya'da *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. tritaeniorhynchus* ve *Cx. vishnui* türü sivrisineklerdir (Hubalek ve Halouzka 1999). Ergünay ve ark. (2013), Edirne'de yaptıkları çalışmada *Culex pipiens* ve *Aedes caspius* türlerine ait örneklerden Batı Nil virüsünü izole etmişlerdir.

Çalışmamızda *Cx. pipiens* ve *Ae. caspius* türlerine rastlanmış olunması Van ili ve Van Gölü çevresinde Batı Nil Virus enfeksiyonlarının taşınabilirliği ihtimali açısından da önem arz etmekle birlikte bu hastalığın bölgede görülebilecek hastalıklar arasında olabileceğini göstermektedir. Konu ile ilgili kapsamlı kontrol ve eradikasyon çalışmaları yapılmalıdır.

Kore'de yapılan bir çalışmada sadece *Dirofilaria immitis*, *An. sinensis* grubu (*An. sinensis s.s.*, *An. pullus*, *An. kleini*, *An. belenrae*, ve *An. lesteri*), *Ae. vexans nipponii*, ve *Cx. pipiens*'de gözlemlenmiştir. *D. repens* ise *An. sinensis* grubu ve *Armigeres subbalatus*'da tesbit edilmiştir. Hem *D. immitis* hem de *D. repens*, *An. sinensis* grubu (*An. sinensis s.s.*, *An. pullus*, *An. kleini*, *An. belenrae*, ve *An. lesteri*), *An. sineroides* ve *Ae. vexans nipponii*'de görülmüştür (Lee ve ark. 2007).

Çalışmamızda *Cx. pipiens*'in görülmesi bu bölgede *Dirofilaria immitis*'e vektörlüğü ihtimalini de ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak bu çalışmada *Cx. theileri*, *An. maculipennis* kompleks, *Cx. pipiens*, *Ae. caspius*, *Cs. annulata*, *Cs. longiareolata* olmak üzere altı tür tespit edilmiş olup, bu türlerden bazıları morfolojik ayırım çalışması yapılmadığı için kompleks olarak belirtilmiştir. En baskın ve yaygın tür olarak *Cx. pipiens*, *Cx. theileri* ve *An. maculipennis* kompleks olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmada ergin sivrisinek türleri mevsimsel faktörlere karşı farklılık göstermiş olup, bu durum mevsimsel iklim farklılıklarının sivrisineklerin üreme potansiyeli üzerinde fazlaca etkisi olduğunu göstermektedir.

Sivrisinekler ile ilgili fauna çalışmaları hem ülkemizdeki sivrisinek tür listesine, hem de mücadele çalışmalarına temel oluşturulacak bilgiler elde edilmesine ve eradikasyon programlarının geliştirilmesine büyük katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Aldemir A, Bedir H, Demirci B, Alten B (2010).** Biting activity of mosquito species (Diptera: Culicidae) in the Turkey-Armenia border area, Ararat valley, Turkey. *J Med Entomol*, 47, 1, 22-27.
- Alkan SS, Aldemir A (2010).** Seasonal dynamics of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in animal barns and houses in Aras valley, Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16, 1, 43-48.
- Alten B, Çağlar SS (1998).** Vektör ekolojisi ve mücadelesi. "Sıtma vektörünün biyo-ekolojisi mücadele organizasyonu ve yöntemleri". Ankara, Bizim Büro Basımevi.
- Banaszak J, Winiewski H (1999).** Podstawy ekologii (Foundation of ecology). Wydawnictwo WSP, Bydgoszcz, 630.
- Bedir H, Kuçlu Ö, Erdem F, Demirci B, Aldemir A (2011).** Türkiye için altı yeni sivrisinek kaydı. İçinde: 17. ulusal parazitoloji kongresi ve Kafkasya ve Ortadoğu parazitler hastalıklar sempozyumu, Kars, Türkiye, 161.
- Cotter C, Sturrock HJW, Hsiang MS et al. (2013).** The changing epidemiology of malaria elimination: new strategies for new challenges. *Lancet*, 6736,13, 60310-4.
- Dziczekowski A (1972).** Badania ilościowe ślimaków buczyn południowo-zachodniej Polski. Studium ekologiczno-faunistyczne. Prace Komisji Biologicznej, 35, 243-332.
- Ergünay K, Günay F, Öter K, Kasap OE, Orsten S, Akkutay AZ, Erdem H, Özkul A, Alten B (2013).** Arboviral surveillance of field-collected mosquitoes reveals circulation of West Nile virus lineage 1 strains in Eastern Thrace, Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 13, 10, 744-52.
- Gündüz YK, Aldemir A, Alten B (2009).** Seasonal dynamics and nocturnal activities of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Aras Valley, Turkey. *Turk Zool Derg*, 33, 269-276.
- Harbach RE (2015).** Mosquito taxonomic inventory. <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/>.
- Harbach RE, Kitching IJ (1998).** Phylogeny and classification of the Culicidae (Diptera). *Syst Entomol*, 23, 327-370.
- Hemingway J, Beaty BJ, Rowland M, Scott TW, Sharp BL (2006).** The innovative vector control consortium: improved control of mosquito-borne diseases. *Trends Parasitol*. 22, 7.
- Hubalek Z, Halouzka J (1999).** West Nile fever: a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg Infect Dis*, 5, 643.
- Kiszewski A, Mellinger A, Spielman A, Malaney P, Sachs SE, Sachs J (2004).** A global index representing the stability of malaria transmission. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 70, 5, 486-498.
- Lee SE, Kim HC, Chong ST, Klein TA, Lee WJ (2007).** Molecular survey of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* by direct PCR for wild caught mosquitoes in the Republic of Korea. *Vet Parasitol*, 148, 2, 149-155.
- Leonard EMM, Jan EC (1997).** Systematics of mosquito disease vectors (Diptera, Culicidae): impact of molecular biology and cladistic analysis. *Ann. Rev. Entomol.* 42, 351-369.
- Merdivenci A (1984).** Türkiye Sivrisinekleri (Yurdumuzda varlığı bilinen sivrisineklerin biyo-morfolojisi, biyo-ekolojisi, yayılışı ve sağlık önemleri). İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fak Yayınları, Rektörlük No: 3215, Taş Matbaası.
- Öter K, Günay F, Tüzer E, Linton YM, Bellini R, Alten B (2013).** First record of *Stegomyia albopicta* in Turkey determined by active ovitrap surveillance and DNA barcoding. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 13, 10, 753-761.
- Parrish DW (1959).** The mosquitoes of Turkey. *Mosq News*, 19, 264-266.
- Ramsdale CD, Alten B, Çağlar SS, Özer N (2001).** A revised, annotated checklist of the mosquitoes (Diptera, Culicidae) of Turkey. *European Mosquito Bulletin*, 9, 18-28.
- Reiter P (2001).** Climate change and mosquito-borne disease. *Environ Health Perspec*, 109, S1, 141-61.
- Schaffner F, Angel G, Geoffroy B, Hervy JP, Rhaïem A, Brunhes J (2001).** "Les moustiques d'Europe, The Mosquitoes of Europe", CD-ROM. Institut de Recherche pour Development/EID, Mediterranee.
- Şimşek FM (2004).** Seasonal larval and adult population dynamics and breeding habitat diversity of *Culex theileri* Theobald, 1903 (Diptera: Culicidae) in the Gölbaşı district, Ankara, Turkey. *Turk J Zool*, 28, 337-344.
- Şimşek FM (2006).** Seasonal frequency and relative density of larval populations of mosquito species (Diptera: Culicidae) in Şanlıurfa province, Turkey. *Turk J Zool*, 30, 383-392.
- Şimşek FM, Ülger C, Akner MM, Günerkan F, Cihangir Sİ, Bardakçı F (2011).** "Mosquito species in Southern Turkey (Mediterranean Region)". In: 6th European Mosquito Control Association Workshop, Budapest, Hungary, 115.
- WHO (2015).** WHO/UNICEF report: Malaria MDG target achieved amid sharp drop in cases and mortality, but 3 billion people remain at risk. Erişim tarihi: 13.10.2015



Microbiological Quality of Packaged and Unpackaged Ice Cream Sold in Van Province

Özgür İŞLEYİCİ¹ Hakan SANCAK² Rabia Mehtap TUNCAY¹

¹ Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technologies, Van, Turkey

² Bitlis Eren University, Tatvan Vocational School, Department of Food Processing, Bitlis, Turkey

Received: 14.11.2015

Accepted: 10.12.2015

SUMMARY

This study was conducted to determine the microbiological qualities of packaged and unpackaged ice cream sold in the Van province. For this purpose, a total of 50 ice cream samples, 25 packaged and 25 unpackaged (5 units of each of fruit, creamy, cacao, chocolate and pistachio ice cream samples) were analysed. In the packaged samples of ice cream examined, pH, the number of total aerobic mesophilic microorganism, *S. aureus*, coagulase (+) *S. aureus*, yeast/mold and total psychrophilic microorganisms were found to be 6.07 ± 0.21 ; 2.46 ± 0.16 ; 0.27 ± 0.13 ; 0.18 ± 0.11 ; 0.25 ± 0.11 and 1.28 ± 0.24 log₁₀ cfu/g respectively. *E. coli*, coliforms, *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* were not isolated from the packaged ice cream samples. In the unpackaged samples of ice cream, pH, the number of total aerobic mesophilic microorganisms, *E. coli*, coliforms, *S. aureus*, coagulase (+) *S. aureus*, yeast/mold and total aerobic psychrophilic microorganisms were found to be 6.20 ± 0.23 ; 4.70 ± 0.27 ; 0.11 ± 0.08 ; 2.29 ± 0.31 ; 2.18 ± 0.38 ; 1.88 ± 0.38 ; 2.06 ± 0.26 and 1.62 ± 0.33 log₁₀ cfu/g respectively. *Salmonella* spp. has not been isolated from any of the unpackaged ice cream samples but *L. monocytogenes* have been isolated from 2 of them creamy, 2 of them chocolate and 1 of them pistachio ice cream samples. Some of the ice creams that containing different levels of pathogenic microorganisms, these products have posed a serious risk for public health. The risk is determined to be higher than ice cream sold in unpackaged. According to these results; the sanitary measures taken at all stages of production up to the sold of ice cream has to be reduced to an acceptable level of risk.

Key Words: Ice cream, *E. coli*, *S. aureus*, *Listeria monocytogenes*

ÖZET

Van İlinde Satışa Sunulan Ambalajlı ve Ambalajsız Dondurmaların Mikrobiyolojik Kalitesi

Bu araştırma, Van ilinde satışa sunulan ambalajlı ve ambalajsız dondurmaların mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, meyveli, sade, kakaolu, çikolatalı ve antepfıstıklı çeşitlerinden 5'er adet olmak üzere toplam 50 adet dondurma örneği analize alınmıştır. İncelenen ambalajlı dondurma örneklerinde pH değeri ile toplam aerobik mezofilik mikroorganizma, *S. aureus*, koagülaz (+) *S. aureus*, maya/küf ve toplam psikrofilik mikroorganizma sayıları sırasıyla; 6.07 ± 0.21 ile 2.46 ± 0.16 ; 0.27 ± 0.13 ; 0.18 ± 0.11 ; 0.25 ± 0.11 ve 1.28 ± 0.24 log₁₀ kob/g olarak bulunmuş, örneklerden koliform, *E. coli*, *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* izole edilememiştir. Ambalajsız dondurma örneklerinde ise pH değeri ile toplam aerobik mezofilik mikroorganizma, koliform, *E. coli*, *S. aureus*, koagülaz (+) *S. aureus*, maya/küf ve toplam psikrofilik mikroorganizma sayıları sırasıyla; 6.20 ± 0.23 ile 4.70 ± 0.27 ; 2.29 ± 0.31 ; 0.11 ± 0.08 ; 2.18 ± 0.38 ; 1.88 ± 0.38 ; 2.06 ± 0.26 ve 1.62 ± 0.33 log₁₀ kob/g olarak belirlenmiştir. Ambalajsız örneklerden *Salmonella* spp. izole edilemezken, 2 sade, 2 çikolatalı ve 1 tane de antepfıstıklı örnekten *L. monocytogenes* izolasyonu yapılmıştır. Satışa sunulan dondurmaların bazılarının patojen mikroorganizmaları değişik düzeylerde içermesi, bu ürünlerin halk sağlığı yönünden ciddi bir risk oluşturabileceğini göstermiştir. Bu risk, ambalajsız olarak satılan dondurmalarda daha yüksek olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre, dondurmaların üretiminden satışına kadar olan tüm aşamalarda alınacak hijyenik tedbirlerle bu riskin kabul edilebilir düzeylere indirilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Dondurma, *E. coli*, *S. aureus*, *Listeria monocytogenes*

GİRİŞ

Dondurma; süt ve ürünleri, tatlandırıcı maddeler, stabilizer ve emülsifiyerler, renk, aroma ve çeşni

maddelerinden oluşan karışımın dondurucu özel düzeneklerde işlenmesi ile elde edilen bir ürün olarak tanımlanabilir (Gürsoy 2010). Türk Gıda Kodeksi (TGK)

Dondurma Tebliği'nde (2005) dondurma karışımı, "içerisinde tat ve çeşidine göre, süt ve/veya süt ürünlerini, içme suyu, şeker ve izin verilen katkı maddelerini bulunduran, istenildiğinde salep, yumurta ve/veya yumurta ürünleri, aroma maddeleri ve çeşni maddeleri gibi bileşenleri içeren, henüz dondurulmamış haldeki karışım ürünü" şeklinde tanımlanırken, dondurma ise "dondurma karışımının pastörizasyon sonrası, tekniğine uygun olarak işlenmesi ve dondurulması ile elde edilen, yumuşak halde ya da sertleştirildikten sonra tüketime sunulan ürün" olarak tanımlanmıştır.

Çok eski tarihlerden beri üretimi yapılan dondurma; önemli bir protein, kalsiyum, vitamin A, Vitamin D ve riboflavin kaynağı olması, enerji vermesi ve kolay sindirilebilme özelliğinden dolayı tüketiciler tarafından zevkle tüketilen bir besin maddesidir. Türkiye'de gün geçtikçe artan dondurma üretimi 2014 yılında 326.500 ton ve kişi başına dondurma tüketimi de 4 litre/yıl civarında gerçekleşmiştir ve bu rakamlar gittikçe artmaktadır (Tekinşen 1993; Anonim 2012; Mert 2015).

Ülkemizde dondurma üretimi geleneksel ve endüstriyel yöntem olmak üzere iki farklı şekilde yapılmaktadır. Geleneksel üretim küçük işletmelerde ilkel yöntemlerle yapılmakta ve dondurmanın kalitesi yapan ustanın bilgi ve tecrübesine göre değişmektedir. Genellikle yaz aylarında yoğun üretilen bu tip dondurmalar kısa süre içinde tüketime sunulmaktadır. Toplam üretim içinde ağırlığı giderek artan endüstriyel üretim ise modern işletmelerde hijyenik şartlarda yapılmakta ve değişik aroma ve bileşimdeki dondurmalar bütün yılla yayılarak üretilebilmektedir (Tekinşen 1993; Aslantaş 2001; Marshall 2001; Akın 2009).

Dondurma mikroorganizmaların üremesi için elverişli bir ortamdır. Bu nedenle üretimi sırasında kullanılan hammadde ve katkı maddelerinin uygun hijyenik kalitede olması, karışıma uygulanan pastörizasyonun yeterli olması, üretimde hijyene ve sanitasyon kurallarına dikkat edilmesi, karışımın ısıl işlemde sonra en geç 24 saat içinde dondurularak +4 °C'nin altında saklanması ve tüketime kadar geçen bütün aşamalarda hijyen kurallarına dikkat edilmesi gerekmektedir (Tekinşen 1993; Marshall 2001; Kırdar 2003).

Dondurmalara pastörizasyon gibi patojen öldürücü son ısıl işlemde sonra da çeşitli katkı maddeleri katılmakta ve bundan dolayı saprofit ve patojen mikroorganizmalarla yeniden kontamine olabilmektedirler. Bunlar içerisinde psikrotrof mikroorganizmalar, özellikle de *L. monocytogenes* ile *S. enteritidis*, tehlike yaratan önemli etkenlerdir. Piyasadaki dondurmalar birçok patojen mikroorganizmayı ve toksinlerini barındırabilmekte ve

tüketicilerde çeşitli sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Yapılan çalışmalar, dondurmaların mikrobiyolojik kalitelerinin oldukça kötü olabileceğini ve birçok patojen mikroorganizmayı içerebileceğini göstermiştir (Aslantaş 2001; Marshall 2001; Güner ve ark. 2004; Korel ve ark. 2005).

Bu araştırma ile Van il merkezinde ambalajlı ve ambalajsız olarak satışa sunulan dondurmaların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi ve tüketimlerinin halk sağlığı açısından bir risk oluşturup oluşturmadıklarının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Bu çalışmada incelenen ambalajsız dondurma örnekleri Van İl merkezindeki market ve pastanelerden aseptik şartlarda 300 g civarında tartılarak, ambalajlı dondurma örnekleri ise orijinal ambalajlarıyla alınmış ve +4 °C'de soğuk zincirde en kısa sürede laboratuvara getirilmiştir. Dondurma örnekleri analizlere alınmaya kadar +4 °C'de saklanmıştır.

Örneklerin analizlere hazırlanması: Ambalajlı dondurma örnekleri aseptik şartlarda ambalajlarından çıkarılarak steril cam kavanozlara alınmış ve bütün örnekler buzdolabından (+4 °C) çıkarılarak oda ısısında erimeleri sağlanmıştır. Steril kavanozlarda aseptik olarak iyice karıştırılan dondurma örnekleri analizler için kullanılmıştır.

Mikrobiyolojik analizler için; içinde yaklaşık 45 °C sıcaklıkta 90 ml %0.1'lik (w/v) steril peptonlu su bulunan steril stomacher torbasına, 10 g tartılarak konmuştur. Stomacherde iyice homojenize edilen 10⁻¹'lik dilüsyondan %0.1'lik peptonlu su ile log 8'e kadar örneklerin desimal dilüsyonları hazırlanmış ve bu dilüsyonlar mikrobiyolojik analizlerde kullanılmıştır. *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* izolasyonu amacıyla yapılan zenginleştirme işlemleri için homojenize edilen örneklerden 25'er g alınarak analizler yapılmıştır. Örneklerin kalan kısmı da pH değerlerinin belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır (Harrigan 1998).

Metot

pH değerinin belirlenmesi: Örneklerin pH değerleri Bianco ve ark. (1972)'nin bildirdikleri yöntemle göre pH-metrede (Hanna® PH 890) tespit edilmiştir.

Mikrobiyolojik analizler: Mikrobiyolojik analizlerin yapıldığı besiyerleri, ekim şekilleri ve inkubasyon koşulları Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Mikrobiyolojik ekimde kullanılan besiyerleri, ekim şekilleri ve inkubasyon koşulları

Table 1. The microbiological culture mediums, culture methods and incubation conditions.

Mikroorganizma	Besiyeri	Ekim	İnkubasyon koşulları
TAMM	Plate Count Agar (PCA) (Oxoid CM463)	Dökme	30 °C'de 72 saat aerobik
Koliformlar	Violet Red Bile Agar (VRBA) (Oxoid CM107)	Dökme	32±1 °C'de, 24±2 saat aerobik
<i>E. coli</i>	TBX Medium (Oxoid CM0945)	Yayma	44 °C'de 18-24 saat aerobik
<i>S. aureus</i>	Baird-Parker Agar (BP) (Oxoid CM275+SR054C)	Yayma	35 °C'de 24 saat aerobik
Maya/Küf	Potato Dextrose Agar (PDA) (Oxoid CM139)	Dökme	20-25 °C'de 5-7 gün aerobik
TPM	Plate Count Agar (Oxoid CM463)	Dökme	4.5 °C'de 14 gün aerobik

TAMM: Toplam aerobik mezofilik mikroorganizma, **TPM:** Toplam psikrofilik mikroorganizma

PCA'da üreyen bütün koloniler toplam aerobik mezofilik mikroorganizma (TAMM) (Harrigan 1998), VRBA'da üreyen koyu kırmızı ve 0.5 mm çapında veya daha büyük koloniler koliform (Koburger ve Marth 1984), TBX Medium'da üreyen mavi-yeşil renkli koloniler *E. coli* (Pichhardt 1993; Anonymous 2001b), PDA'da üreyen tüm koloniler maya/küf (Harrigan 1998) ve PCA'da 4.5 °C'de 14 gün inkubasyondan sonra oluşan tüm koloniler toplam psikrofilik mikroorganizma (Harrigan 1998) olarak değerlendirilmiştir.

Koagülaz (+) *S. aureus* sayısı: BP Agar'da oluşan 1-3 mm çapındaki tipik parlak, siyah renkli (tellürit reaksiyonu) ve etrafı açık zonlu halesiz koloniler ile etrafı açık zonlu hale ile çevrili koloniler (yumurta sarısı veya lesitinaz reaksiyonu) *S. aureus* olarak değerlendirilmiştir. Bu kolonilerden Gram pozitif, katalaz pozitif, oksidaz negatif olan 5 koloni seçilerek bunlara Staphylect Plus (Oxoid® DR850M) testi uygulanmış ve testte pozitif sonuç veren koloniler koagülaz (+) *S. aureus* olarak değerlendirilmiştir. Beş kolonide koagülaz (+) *S. aureus* olarak tanımlanan koloni sayısı, kolonilerin alındığı petrideki toplam koloni sayısına orantılanarak o örnekteki koagülaz (+) *S. aureus* sayısı belirlenmiştir (Anonymous 1995).

***Listeria monocytogenes* izolasyonu:** *L. monocytogenes* izolasyonunda Food and Drug Administration tarafından önerilen metot kullanılmıştır. Örneklerden 25 g alınarak önce zenginleştirme amacıyla 225 ml Buffered *Listeria* Enrichment Broth'a (Oxoid CM 897) ilave edilmiş ve 30 °C'de 4 saat inkube edilmiştir. İnkubasyonun 4. saatinin sonunda selektif katkı (10 mg/l akriflavin, 40 mg/l nalidiksik asit) ilave edilerek inkubasyon 48 saate tamamlanmıştır. İnkubasyonun 24. ve 48. saatlerinde Oxford (Oxoid CM0856+SR140) ve PALCAM Agar (Oxoid CM0877+SR0150) besiyerlerine sürme ekim yapılmıştır. Selektif katkı besiyerlerinde 37 °C'de 48 saat inkubasyondan sonra üreyen tipik 5 koloni %0.6 Yeast Extract içeren Tryptone Soya Agar'a (TSA) (Oxoid CM131 + Oxoid L21) çizilmiş ve 30 °C'de 24-48 saat süreyle inkube edilerek saflaştırılmıştır. Saflaştırılan kolonilere Henry'nin oblik aydınlatması, Gram boyama, katalaz, oksidaz, üre, Sülfür-İndol-Motility Medium'da (Oxoid CM435) üreme, indol, metil red/Voges-Proskauer testi ile karbonhidrat (glukoz, sorbitol) fermentasyon testleri uygulanarak *Listeria* cinsine ait olup olmadıkları belirlenmiştir. *Listeria* spp. olarak tanımlanan kolonilere β-hemoliz, CAMP, nitrat ve karbonhidrat (D-mannitol, L-ramnoz, D-ksiloz) fermentasyon testleri uygulanarak tür tespiti yapılmıştır (Donnelly ve Nyachuba 2007; Hitchins ve Jinneman 2011).

***Salmonella* spp. izolasyonu:** Tamponlanmış peptonlu suda (Merck 1.07228) ön zenginleştirme ve Rappaport-Vasilliadis Broth'da (RapV, Oxoid CM866) selektif zenginleştirme işleminden sonra Brilliant-Green Phenol-Red Lactose Sucrose Agar'a (BPLS, Merck 7237) ekim yapılarak, petrilere 37 °C'de 24-48 saat inkube edilmiştir. İdentifikasyon amacıyla; BPLS Agar'da üreyen tipik kolonilerden 3'er tanesi Nutrient Agar'a (Oxoid CM0003) geçilmiş ve 37 °C'de 24 saat inkube edilmiştir. Nutrient Agar'da üreyen kolonilere TSIA'da üreme, (Triple Sugar Iron Agar, Oxoid CM0277), LIA'da üreme, (Lysine Decarboxylase Broth, Oxoid CM308), Üreaz aktivitesi (Ürea Broth Base, Oxoid CM0071+SR0020), mannitol testi, beta-galaktosidaz testi (ONPG Discs, Oxoid DD0013) ve SIM'de üreme (Oxoid CM435) testleri yapılmış ve *Salmonella* spp. olarak tanımlanan koloniler polivalan *Salmonella*

antiserumu (Microgen *Salmonella* Latex 24-C008) ile aglutinasyon testi uygulanmıştır (Flowers ve ark. 1992).

İstatistiksel analizler

Analizler sonucunda elde edilen değerler arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için korelasyon analizi ve Duncan testi analizinden yararlanılmıştır (Akgül 1997).

BULGULAR

İncelenen ambalajlı dondurmalarda pH değeri ile TAMM, *S. aureus*, koagülaz (+) *S. aureus*, maya/küf ve TPM sayıları sırasıyla; 6.07±0.21 ile 2.46±0.16; 0.27±0.13; 0.18±0.11; 0.25±0.11 ve 1.28±0.24 log₁₀ kob/g olarak bulunmuş, örneklerden koliform, *E. coli*, *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* izole edilememiştir. Ambalajsız dondurmalarda ise pH değeri ile TAMM, koliform, *E. coli*, *S. aureus*, koagülaz (+) *S. aureus*, maya/küf ve TPM sayıları sırasıyla; 6.20±0.23 ile 4.70±0.27; 2.29±0.31; 0.11±0.08; 2.18±0.38; 1.88±0.38; 2.06±0.26 ve 1.62±0.33 log₁₀ kob/g olarak belirlenmiştir. Ambalajsız örneklerden *Salmonella* spp. izole edilemezken, 2 sade, 2 çikolatalı ve 1 tane de antepfıstıklı örnekten *L. monocytogenes* izolasyonu yapılmıştır. Dondurma örneklerinde saptanan pH değerleri ile mikroorganizma sayıları ve dağılımları Tablo 2-4'te, dondurma çeşitleri arasındaki istatistiksel analiz farkları Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 2. İncelenen ambalajlı dondurmaların mikrobiyolojik analiz sonuçları (log₁₀ kob/g)

Table 2. The results of microbiological analysis of packaged ice cream samples (log₁₀ cfu/g)

Örnek Çeşidi	Örnek	pH	TAMM	Koliform	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	K(+) <i>S. aureus</i>	M/K	TPM
Meyveli	Poz. Örn.	5	5	-	0	1	1	2	3
	Min.	4.50	2.23	-	-	<100	<100	<10	<10
	Maks.	4.70	4.11	-	-	2.83	2.53	1.70	2.64
	Ortalama	4.62	2.92	-	-	2.83	2.53	1.35	2.35
	S. Sapma	0.08	0.80	-	-	0.00	0.00	0.49	0.28
Sade	Poz. Örn.	5	5	0	0	2	1	0	2
	Min.	4.70	1.00	-	-	<100	<100	-	<10
	Maks.	6.61	3.00	-	-	1.00	1.00	-	2.43
	Ortalama	5.31	2.04	-	-	1.00	1.00	-	2.30
	S. Sapma	0.80	0.91	-	-	0.00	0.00	-	0.18
Kakaolu	Poz. Örn.	5	5	0	0	0	0	1	5
	Min.	6.50	2.00	-	-	-	-	<10	2.00
	Maks.	7.82	4.49	-	-	-	-	1.48	2.78
	Ortalama	6.85	2.70	-	-	-	-	1.48	2.44
	S. Sapma	0.56	1.03	-	-	-	-	0.00	0.35
Çikolatalı	Poz. Örn.	5	5	0	0	1	1	1	1
	Min.	6.70	1.60	-	-	<100	<100	<10	<10
	Maks.	7.00	2.48	-	-	1.00	1.00	1.00	2.78
	Ortalama	6.83	2.07	-	-	1.00	1.00	1.00	2.78
	S. Sapma	0.11	0.31	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00
Antepfıstıklı	Poz. Örn.	5	5	0	0	1	0	1	3
	Min.	6.60	1.90	-	-	<100	-	<10	<10
	Maks.	6.88	3.18	-	-	1.00	-	1.00	2.30
	Ortalama	6.72	2.56	-	-	1.00	-	1.00	1.79
	S. Sapma	0.12	0.56	-	-	0.00	-	0.00	0.44

Tablo 3. İncelenen ambalajsız dondurmaların mikrobiyolojik analiz sonuçları (log₁₀ kob/g)**Table 3.** The results of microbiological analysis of unpackaged ice cream samples (log₁₀ cfu/g)

Örnek Çeşidi	Örnek	pH	TAMM	Koliform	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	K(+) <i>S. aureus</i>	M/K	TPM
Meyveli	Poz. Örn.	5	5	2	0	2	2	3	5
	Min.	3.46	3.08	<10	-	<100	<100	<10	1.00
	Maks.	4.65	4.83	3.24	-	3.68	3.43	3.20	4.28
	Ortalama	4.14	3.93	2.51	-	2.54	2.30	2.27	2.19
	S. Sapma	0.50	0.75	1.04	-	1.51	1.60	0.80	1.28
Sade	Poz. Örn.	5	5	5	0	4	4	4	5
	Min.	6.38	2.90	1.48	-	<100	<100	<10	1.30
	Maks.	6.66	6.35	3.66	-	5.17	4.56	2.70	4.03
	Ortalama	6.52	4.66	2.33	-	3.08	2.78	1.87	2.97
	S. Sapma	0.10	1.45	0.92	-	1.59	1.53	0.77	1.03
Kakaolu	Poz. Örn.	5	5	5	1	2	2	4	4
	Min.	6.35	3.29	1.60	<100	<100	<100	<10	<10
	Maks.	7.82	6.22	4.65	1.70	3.84	3.84	2.62	5.30
	Ortalama	7.02	4.97	3.33	1.70	3.10	3.06	2.35	4.71
	S. Sapma	0.59	1.29	1.18	0.00	1.05	1.10	0.27	1.01
Çikolatalı	Poz. Örn.	5	5	2	0	4	4	5	5
	Min.	6.38	3.30	<10	-	<100	<100	1.48	2.96
	Maks.	7.21	7.51	3.45	-	5.82	5.55	3.12	5.91
	Ortalama	6.89	5.06	3.08	-	4.00	3.75	1.98	3.95
	S. Sapma	0.37	1.74	0.53	-	1.53	1.59	0.71	1.18
Antepfıstıklı	Poz. Örn.	5	5	5	1	5	3	5	5
	Min.	6.33	3.20	2.61	<100	2.03	<100	2.61	3.30
	Maks.	6.54	7.40	4.69	1.00	5.60	5.38	5.37	6.92
	Ortalama	6.45	4.83	3.53	1.00	2.97	3.38	3.60	4.63
	S. Sapma	0.09	1.62	0.77	0.00	1.49	1.75	1.05	1.44

TARTIŞMA ve SONUÇ

Dondurmalar üzerine şu ana kadar yapılan mikrobiyolojik araştırmalar, dondurmaların içerdikleri patojenler ile halk sağlığı açısından tehlikeli olabileceklerini ortaya koymaktadır (Tablo 6) (Aslantaş 2001; Anonymous 2001a; Güner ve ark. 2004; El-Sharef ve ark. 2006; Akarca ve Kuyucuoğlu 2008; Akın 2009; Gönülalan ve Gönülalan, 2010; Aksoy ve ark. 2013). Dondurmalar da bulunan patojen mikroorganizmalar, *Listeria* ve *Yersinia* türleri gibi psikrofilik olanlar dışında soğukta genellikle çoğalamazlar ancak ortamdan tamamen bertaraf da olmazlar. Dondurmalar da soğuk ortam ve yüksek şeker içeriği patojenleri koruyucu bir etki yapar. Özellikle sıcak mevsimler ve hijyenik olmayan üretim koşulları, onların hızla yüksek sayılara ulaşmalarına ve tüketicilerde sağlık problemleri oluşturmalarına neden olur (Warke ve ark. 2000; Kanbakan ve ark. 2004; Walstra ve ark. 2006; El-Sharef ve ark. 2006).

Gıdalarda toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı (TAMM); maya/küf grubu mikroorganizma sayısı ile birlikte; gıdanın hijyenik durumu ve işletmelerde sanitasyonun yeterliliğinin önemli göstergeleridir. Gıda da bozulmanın başlangıcı, muhtemel raf ömrü, dondurulmuş gıdaların kontrolsüz çözündürülmesi, soğutmanın yetersizliği ve üretim aşamasındaki kontaminasyon düzeyi gibi konularda bilgi vererek gerekli önlemlerin alınmasına

yardımcı olur. Soğukta saklanan gıdalarda genellikle psikrotrof mikroorganizmalar ürettiği için, TAMM sayımlarının ürünün raf ömrünün belirlenmesinde önemli azdır. Dondurulmuş gıdalarda sayıları düşük olabileceğinden dolayı, sayıları işlem öncesindeki hijyenik koşulların tam olarak yerine getirilip getirilmediğini göstermeyebilir (Temiz 1998).

Dondurmalar da TAMM sayısı ile ilgili olarak TKG Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde (Anonim 2011) bir üst sınır değeri verilmemiştir. Bazı ülkeler ile Uluslararası Sütçülük Federasyonu, dondurmalar da TAMM sayısı ile ilgili olarak 10⁵ kob/ml üst sınır değerini vermektedirler (Tekinşen 1993; Akarca ve Kuyucuoğlu 2008). İncelenen ambalajlı dondurmaların hiçbirinde, Bostan ve Akın (2002) ile Korel ve ark. (2005)'nin da bulguları ile uyumlu olarak bu değeri aşılmazken, ambalajsız dondurmalar da sadece, çikolatalı ve antepfıstıklı örneklerin %40'ında, kakaoluların ise %60'ında 10⁵ kob/g veya daha fazla seviyede TAMM tespit edilmiştir. Korel ve ark. (2005)'da ambalajsız sade dondurmalar da %41.2, kakaolular da %70.6 ve meyveli dondurmalar da %58.3 oranında inceledikleri örneklerde 10⁵ kob/g'dan fazla seviyede TAMM tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Warke ve ark. (2000), Akarca ve Kuyucuoğlu (2008) ile Çağlayanlar ve ark. (2009) gibi araştırmacıların bulguları ile uyumlu olarak ambalajsız örneklerdeki ortalama TAMM sayısı (4.70±0.27 log₁₀ kob/g), ambalajlı örneklerdeki ortalama sayıdan (2.46±0.16 log₁₀ kob/g) daha yüksek olarak tespit edilmiştir.

Ambalajlı dondurmalar da ortalama TAMM sayısı; Bostan ve Akın (2002) ile El-Sharef ve ark. (2006) tarafından bulunan değerlerden düşük, Çağlayanlar ve ark. (2009) tarafından bulunan değerden yüksek iken, ambalajsız dondurmalar da ortalama TAMM sayısı da El-Sharef ve ark. (2006) tarafından bulunan değerden düşük, Çağlayanlar ve ark. (2009) tarafından bulunan değerden ise yüksektir. İncelenen ambalajsız sade dondurmalar da ortalama TAMM sayısı (4.66±1.45 log₁₀ kob/g) Sağdıç ve ark. (2002), Kırdar (2003) ile Patır ve ark. (2004) tarafından bulunan değerlerden yüksek, Boynukara ve Sağun (1990), Andiç (1992), Güner ve ark. (2004), Akarca ve Kuyucuoğlu (2008) ile Aksoy ve ark. (2013) tarafından bulunan değerlerden ise daha düşüktür. Ambalajsız kakaolu dondurmalar da ortalama TAMM sayısı (4.97±1.29 log₁₀ kob/g), Kırdar (2003) tarafından bulunan değerden yüksek, Güner ve ark. (2004) tarafından bulunan değere ise benzerdir. Ambalajsız çikolatalı dondurmalar da ortalama TAMM sayısı (5.06±1.74 log₁₀ kob/g) Andiç (1992) tarafından bulunan değere benzer, ambalajsız meyveli dondurmalar da ortalama TAMM sayısı ise (3.93±0.75 log₁₀ kob/g); aynı araştırmacı tarafından bulunan değerden yüksek, Güner ve ark. (2004) tarafından limonlu ve çilekli dondurmalar da bulunan değerlerden ise daha düşüktür.

Koliform grubu mikroorganizmalardan, önceleri gıdalarda olası bir fekal kontaminasyonun ve gıda sanayiinde kötü sanitasyonun, yetersiz pastörizasyonun ya da pastörizasyon sonrası yeniden kontaminasyonun göstergesi olarak yararlanılmıştır. Ancak koliform grubu mikroorganizmalar içerisinde fekal orijinli olmayan mikroorganizmaların da bulunması, bu grup mikroorganizmaların gıda güvenliği indikatörü olarak değerini önemli ölçüde azaltmıştır (Ünlütürk ve ark. 1998; Çakır 2000).

Tablo 4. Ambalajlı ve ambalajsız dondurmalarda bulunan mikroorganizmaların dağılımı**Table 4.** The distribution of microorganisms in packaged and unpackaged ice cream

Örnek Çeşidi	Ambalaj	Meyveli		Sade		Kakaolu		Çikolatalı		Antepfıstıklı	
		Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok
		5 (%)	5 (%)	5 (%)	5 (%)	5 (%)	5 (%)	5 (%)	5 (%)	5 (%)	5 (%)
TAMM	1.0x10 ¹	0	0	1(20)	0	0	0	0	0	0	0
	10-10 ²	0	0	1(20)	0	1(20)	0	1(20)	0	1(20)	0
	10 ²	3(60)	0	3(60)	1(20)	4(80)	0	4(80)	0	2(40)	0
	10 ³	1(20)	2(40)	0	1(20)	0	1(20)	0	1(20)	2(40)	1(20)
	10 ⁴	1(20)	3(60)	0	1(20)	0	1(20)	0	2(40)	0	2(40)
	10 ⁵	0	0	0	1(20)	0	1(20)	0	0	0	1(20)
	10 ⁶	0	0	0	1(20)	0	2(40)	0	1(20)	0	0
	10 ⁷	0	0	0	0	0	0	0	1(20)	0	1(20)
Koliform	<10	5(100)	4(80)	5(100)	0	5(100)	0	5(100)	3(60)	5(100)	0
	10-10 ²	0	0	0	1(20)	0	1(20)	0	0	0	0
	10 ²	0	0	0	2(40)	0	1(20)	0	1(20)	0	1(20)
	10 ³	0	1(20)	0	1(20)	0	1(20)	0	1(20)	0	3(60)
	10 ⁴	0	0	0	0	0	2(40)	0	0	0	1(20)
	10 ⁵	0	0	0	1(20)	0	0	0	0	0	0
E. coli	<10	5(100)	5(100)	5(100)	4(80)	5(100)	5(100)	5(100)	5(100)	5(100)	4(80)
	1.0x10 ¹	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1(20)
	10-10 ²	0	0	0	1(20)	0	0	0	0	0	0
S. aureus	<10	3(60)	3(60)	4(80)	1(20)	5(100)	2(40)	4(80)	1(20)	4(80)	0
	1.0x10 ¹	0	0	1(20)	0	0	0	1(20)	0	1(20)	0
	10-10 ²	1(20)	1(20)	0	1(20)	0	0	0	0	0	0
	10 ²	1(20)	0	0	1(20)	0	1(20)	0	2(40)	0	4(80)
	10 ³	0	1(20)	0	1(20)	0	1(20)	0	0	0	0
	10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	1(20)	0	0
K (+) S. aureus	10 ⁵	0	0	0	1(20)	0	1(20)	0	1(20)	0	1(20)
	<10	4(80)	3(60)	4(80)	2(40)	5(100)	3(60)	4(80)	1(20)	5(100)	2(40)
	1.0x10 ¹	0	0	1(20)	0	0	0	1(20)	0	0	0
	10-10 ²	0	1(20)	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ²	1(20)	0	0	1(20)	0	1(20)	0	2(40)	0	2(40)
	10 ³	0	1(20)	0	1(20)	0	1(20)	0	0	0	0
	10 ⁴	0	0	0	1(20)	0	0	0	1(20)	0	0
M/K	10 ⁵	0	0	0	0	0	0	0	1(20)	0	1(20)
	<10	3(60)	2(40)	5(100)	1(20)	4(80)	1(20)	4(80)	0	4(80)	0
	1.0x10 ¹	1(20)	0	0	1(20)	0	0	1(20)	0	1(20)	0
	10-10 ²	1(20)	2(40)	0	1(20)	1(20)	0	0	2(40)	0	0
	10 ²	0	0	0	2(40)	0	4(80)	0	2(40)	0	1(20)
	10 ³	0	1(20)	0	0	0	0	0	1(20)	0	3(60)
TPM	10 ⁵	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1(20)
	<10	2(40)	0	3(60)	0	0	1(20)	4(80)	0	2(40)	0
	1.0x10 ¹	0	1(20)	0	0	0	0	0	0	0	0
	10-10 ²	0	1(20)	0	1(20)	0	0	0	0	2(40)	0
	10 ²	3(60)	2(40)	2(40)	1(20)	5(100)	0	1(20)	1(20)	1(20)	0
	10 ³	0	0	0	2(40)	0	1(20)	0	3(60)	0	3(60)
	10 ⁴	0	1(20)	0	1(20)	0	0	0	0	0	0
10 ⁵	0	0	0	0	0	3(60)	0	1(20)	0	1(20)	
10 ⁶	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1(20)	

Tablo 5. Dondurma örneklerinde kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçları ile gruplar arasındaki farkların istatistiksel önemi**Table 5.** The results of chemical and microbiological analysis of ice cream samples and statistical significance of differences between the groups

Analiz parametreleri	Ambalajlı Dondurmalar (n=25)					Ambalajsız Dondurmalar (n=25)					P
	Meyveli (n=5)	Sade (n=5)	Kakaolu (n=5)	Çikolatalı (n=5)	Antepfıstıklı (n=5)	Meyveli (n=5)	Sade (n=5)	Kakaolu (n=5)	Çikolatalı (n=5)	Antepfıstıklı (n=5)	
pH	4.62±0.08 ^{ab}	5.31±0.80 ^b	6.85±0.56 ^c	6.83±0.11 ^c	6.72±0.12 ^c	4.14±0.50 ^a	6.52±0.10 ^c	7.02±0.59 ^c	6.89±0.37 ^c	6.45±0.09 ^c	<i>p</i> <0.01
TAMM	2.92±0.80 ^{abc}	2.04±0.91 ^a	2.70±1.03 ^{ab}	2.07±0.31 ^a	2.56±0.56 ^{ab}	3.93±0.75 ^{abc}	4.66±1.45 ^{bc}	4.97±1.29 ^c	5.06±1.74 ^c	4.83±1.62 ^c	<i>p</i> <0.01
Pozitif örnek sayısı (n)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
Koliform	<10 ^a	<10 ^a	<10 ^a	<10 ^a	<10 ^a	2.51±1.04 ^{ab}	2.33±0.92 ^{bc}	3.33±1.18 ^c	3.08±0.53 ^{ab}	3.53±0.77 ^c	<i>p</i> <0.01
Pozitif örnek sayısı (n)	0	0	0	0	0	2	5	5	2	5	
E. coli	<100 ^a	<100 ^a	<100 ^a	<100 ^a	<100 ^a	<100 ^a	<100 ^a	1.70±0.00 ^a	<100 ^a	1.00±0.00 ^a	<i>p</i> <0.01
Pozitif örnek sayısı (n)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	
S. aureus	2.83±0.00 ^{ab}	1.00±0.00 ^{ab}	<100 ^a	1.00±0.00 ^a	1.00±0.00 ^a	2.54±1.51 ^{abc}	3.08±1.59 ^{abc}	3.10±1.05 ^{abc}	4.00±1.53 ^c	2.97±1.49 ^{bc}	<i>p</i> <0.01
Pozitif örnek sayısı (n)	1	2	0	1	1	2	4	2	4	5	
Koagülaz (+) S. aureus	2.53±0.00 ^{ab}	1.00±0.00 ^a	<100 ^a	1.00±0.00 ^a	<100 ^a	2.30±1.60 ^{ab}	2.78±1.53 ^{ab}	3.06±1.10 ^{ab}	3.75±1.59 ^b	3.38±1.75 ^{ab}	<i>p</i> <0.01
Pozitif örnek sayısı (n)	1	1	0	1	0	2	4	2	4	3	
Maya-Küf	1.35±0.49 ^{abc}	<10 ^a	1.48±0.00 ^{ab}	1.00±0.00 ^a	1.00±0.00 ^a	2.27±0.80 ^{abc}	1.87±0.77 ^{abc}	2.35±0.27 ^{bc}	1.98±0.71 ^c	3.60±1.05 ^d	<i>p</i> <0.01
Pozitif örnek sayısı (n)	2	0	1	1	1	3	4	4	5	5	
TPM	2.35±0.28 ^{ab}	2.30±0.18 ^a	2.44±0.35 ^{abc}	2.78±0.00 ^a	1.79±0.44 ^a	2.19±1.28 ^{abc}	2.97±1.03 ^{abc}	4.71±1.01 ^{bc}	3.95±1.18 ^c	4.63±1.44 ^c	<i>p</i> <0.01
Pozitif örnek sayısı (n)	3	2	5	1	3	5	5	4	5	5	

Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası fark istatistiksel olarak önemlidir (*p*<0.01).

Tablo 6. Bazı çalışmalarda dondurma örneklerinde tespit edilen pH değerleri ve mikrobiyolojik analiz sonuçları**Table 6.** The results of microbiological analysis and pH values in some studies on the ice cream samples

Örnek çeşidi	Örnek sayısı	pH	TAMM kob/g veya log ₁₀ kob/g	Koliform kob/g veya log ₁₀ kob/g	<i>E. coli</i> kob/g veya log ₁₀ kob/g	Pozitif Örnek	<i>S. aureus</i> kob/g veya log ₁₀ kob/g	Pozitif Örnek	K(+) <i>S. aureus</i> (%)	Maya/Küf kob/g veya log ₁₀ kob/g	Pozitif Örnek (%)	TPM kob/g veya log ₁₀ kob/g	<i>L.m.</i> (+)	<i>Sal. spp.</i> (+)	Kaynak
Açık sade	12	-	88000±915.7	-	-	-	-	-	-	2650±925.2	-	-	-	-	Andiç 1990
Açık çikolata	7	-	105206±728.7	-	-	-	-	-	-	4042±32.7	-	-	-	-	Andiç 1990
Açık meyveli	4	-	-	-	-	-	-	-	-	5775±202.2	-	-	-	-	Andiç 1990
Açık sade	8	-	164.877	1723	-	-	-	-	-	4694	-	-	-	-	Boynukara ve Sağun 1990
Ambalajlı	15	-	2.3x10 ⁴ -1.3x10 ⁶	9.7x10 ¹ -6x10 ³	-	-	7.9x10 ¹ -5.6x10 ²	-	-	6.5x10 ¹ -7x10 ³	-	-	-	-	Warke ve ark. 2000
Ambalajsız	15	-	1.32x10 ⁵ -8.5x10 ⁶	2.8x10 ³ -5.8x10 ⁴	-	-	4.5x10 ³ -3.5x10 ³	-	-	4.3x10 ³ -7.4x10 ⁵	-	-	2	-	Warke ve ark. 2000
Endüstriyel	300	-	8.8x10 ² -2.5x10 ³	0.3-0.6 EMS/g	-	0	-	0	-	<10-3.5x10 ¹	-	-	-	-	Bostan ve Akın 2002
Açık	30	-	4.16x10 ³	2.6x10 ²	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	Sağdıç ve ark. 2002
Açık sade	35	-	8.2x10 ³	251.08	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	Kırdar 2003
Açık kakaolu	15	-	7.6x10 ⁴	150.35	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	Kırdar 2003
Açık sade	46	-	3.2x10 ⁶	7.9x10 ⁴	-	-	11	9	-	9.6x10 ³	23	-	-	-	Güner ve ark. 2004
Kaymaklı	50	6.68±0.25	4.51±0.8	2.85±0.6	2.27±1.0 EMS/g	-	1.74±0.6	-	-	2.43±0.7	-	4.17±0.6	-	-	Patır ve ak. 2004
Açık sade	25	-	-	-	-	6	-	-	4(5.3)	-	-	-	4	6	Ağaoğlu ve ark. 2004
Açık çikolata	25	-	-	-	-	0	-	-	2(2.7)	-	-	-	-	5	Ağaoğlu ve ark. 2004
Açık Meyveli	25	-	-	-	-	4	-	-	4(5.3)	-	-	-	2	2	Ağaoğlu ve ark. 2004
Açık sade	25	6.22-6.52	-	3.0x10 ¹ -2.4x10 ⁴	-	17	-	-	-	-	-	-	-	-	Coşkun 2005
Açık çilekli	25	3.20-6.16	-	<10-2.4x10 ⁵	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	Coşkun 2005
Açık sade	17	4.47-6.54	1x10 ³ -9.9x10 ⁶	<30-9x10 ⁴ <	-	-	-	-	-	<10-1x10 ⁴ <	-	1x10 ³ -9.9x10 ⁶	-	4	Korel ve ark. 2005
Açık kakaolu	17	6.24-7.18	1.0x10 ³ -1.0x10 ⁷ <	<30-9.0x10 ⁴	-	-	-	-	-	<10-1.0x10 ⁴ <	-	<10-1x10 ⁷ <	-	4	Korel ve ark. 2005
Açık meyveli	36	2.53-4.64	2.5x10 ² -1.0x10 ⁷ <	<30-9.0x10 ⁴	-	-	-	-	-	<10-1.0x10 ⁴ <	-	<10-1x10 ⁷ <	-	2	Korel ve ark. 2005
Kapalı sade	3	6.98-7.42	2.5x10 ² -9.9x10 ³	<30	-	-	-	-	-	<10	-	<10	-	-	Korel ve ark. 2005
Kapalı kakaolu	3	7.40-7.78	2.5x10 ² -9.9x10 ⁶	<30	-	-	-	-	-	<10	-	<10	-	-	Korel ve ark. 2005
Kapalı meyveli	9	3.11-5.80	2.5x10 ² -1.0x10 ⁷ <	<30	-	-	-	-	-	<10	-	<10	-	-	Korel ve ark. 2005
Açık	111	-	3.6x10 ² -5.0x10 ⁸	0.0-11	-	7	-	41	-	-	-	-	7	7	El-Sharef ve ark. 2006
Kapalı	49	-	3.0x10 ¹ -3.5x10 ⁸	0.0-11	-	3	-	19	-	-	-	-	-	1	El-Sharef ve ark. 2006
Açık	73	-	10 ² -10 ⁶	10 ² -10 ⁶	-	15	10 ² -10 ⁴	24	-	10 ² -10 ⁴	-	-	-	5	Yaman ve ark. 2006
Açık sade	50	-	-	1.00-4.94	-	19	-	-	-	-	-	-	-	-	Patır ve ark. 2006
Açık meyveli	50	-	-	<1.00-5.74	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	Patır ve ark. 2006
Açık sade	55	-	1.0x10 ² -7.8x10 ⁷	3.0x10 ² -4.8x10 ⁵	1.0x10 ² -1.5x10 ⁴	7	1.0x10 ² -1.2x10 ²	9	-	-	-	-	-	-	Keskin ve ark. 2007
Karışık	50	-	2.6x10 ⁵	2.5x10 ⁵	-	-	1.6x10 ²	29	-	-	-	4.0x10 ⁵	-	-	Akarca ve Kuyucuoğlu 2008
Açık kakaolu	27	-	9.8x10 ⁵	6.3x10 ³	-	-	1.2x10 ³	7	-	4.7x10 ³	18	-	-	-	Akarca ve Kuyucuoğlu 2008
Açık limonlu	19	-	5.4x10 ⁶	2.6x10 ²	-	-	1.7	2	-	3.4x10 ²	8	-	-	-	Akarca ve Kuyucuoğlu 2008
Açık çilekli	19	-	2.5x10 ⁷	6.9x10 ⁴	-	-	4.3	5	-	1.9x10 ⁴	15	-	-	-	Akarca ve Kuyucuoğlu 2008
Ambalajlı	44	-	2.7x10 ¹ -6.9x10 ²	<10	<10	-	-	-	-	<10-2.0x10 ¹	-	-	-	-	Çağlayanlar ve ark. 2009
Ambalajsız	48	-	8.1x10 ¹ -1.0x10 ⁶	<10-2.4x10 ³	<10-8.4x10 ²	-	-	-	-	<10-1.5x10 ³	-	-	-	-	Çağlayanlar ve ark. 2009
Açık sade	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	Gönülalan ve Gönülalan 2010
Açık meyveli	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	Gönülalan ve Gönülalan 2010
Sade	50	-	4x10 ⁷	1.4x10 ³	-	1	-	-	-	-	-	2.0x10 ⁵	-	-	Aksoy ve ark. 2013

K (+): Koagulaz Pozitif, **L.m.:** *L. monocytogenes*, **Sal. spp.:** *Salmonella* spp.

Ambalajlı dondurma çeşitlerinde, Warke ve ark. (2000) ile Bostan ve Akın (2002) tarafından endüstriyel dondurmalarda elde edilen değerlerin aksine, Korel ve ark. (2005) ile Çağlayanlar ve ark. (2009)'nın bulguları ile uyumlu olarak koliform grubu mikroorganizma belirlenmemiştir. Ambalajsız örneklerin Warke ve ark. (2000), Korel ve ark. (2005) ile Akarca ve Kuyucuoğlu (2008) gibi araştırmacıların bulguları ile uyumlu olarak ambalajlı dondurmalarından daha yüksek düzeyde mikroorganizma içerdiği tespit edilmiştir. Bu durum, ambalajlı örneklerde herhangi bir risk olmadığını gösterirken, ambalajsız örneklerin üretimleri veya satışa sunulmaları sırasında kontamine olduklarını düşündürmektedir.

Ambalajsız dondurma çeşitlerinde belirlenen ortalama koliform sayısı $<1 \log_{10}$ kob/g ile $4.69 \log_{10}$ kob/g arasında değişmiş ve ortalama $2.29 \pm 0.31 \log_{10}$ kob/g olarak bulunmuştur. Bu değer Çağlayanlar ve ark. (2009) tarafından bulunan değerden yüksektir. Ambalajsız sade dondurmalarındaki ortalama koliform sayısı ($2.33 \pm 0.92 \log_{10}$ kob/g); Boynukara ve Sağun (1990), Güner ve ark. (2004), Coşkun (2005) ve Patır ve ark. (2006) ile Aksoy ve ark. (2013) tarafından bulunan değerlerden düşük, Sağdıç ve ark. (2002) ile Kırdar (2003) tarafından bulunan değerlere benzerdir. Ambalajsız kakaolu dondurmalarındaki ortalama koliform sayısı ($3.33 \pm 1.18 \log_{10}$ kob/g); Kırdar (2003) tarafından bulunan değerden yüksek iken Güner ve ark. (2004)'nın bulunduğu değere benzerdir. Ambalajsız meyveli dondurmalarındaki ortalama koliform sayısı ($2.51 \pm 1.04 \log_{10}$ kob/g); Güner ve ark. (2004)'nin limonlu dondurmalarda bildirdikleri değerden yüksek, yine aynı araştırmacıların çilekli dondurmalarda bildirdikleri değerden düşük, Patır ve ark. (2006)'nın belirledikleri değere ise yakındır.

E. coli birçok araştırmacı tarafından gıdalarda fekal kontaminasyon indikatörü olarak kabul edilmektedir. Ancak sularda ve dondurarak veya soğukta muhafaza edilen gıdalar ile radyasyon uygulanmış gıdalarda *E. coli*'nin yok olmasından sonra da bazı patojenlerin canlılığını sürdürdüğü bildirilmektedir (Temiz 1998). Nitekim ambalajlı dondurma örneklerinin hiçbirinden *E. coli* izole edilmemesine rağmen *S. aureus* izole edilebilmiştir.

Ambalajlı dondurma örneklerinin hiçbirinde Bostan ve Akın (2002) ile Çağlayanlar ve ark. (2009)'nın bulguları ile uyumlu olarak *E. coli* tespit edilememiştir. Ambalajsız dondurma çeşitlerinde belirlenen *E. coli* sayısı $<2 \log_{10}$ kob/g ile $1.70 \log_{10}$ kob/g arasında değişmiş ve ortalama $0.11 \pm 0.08 \log_{10}$ kob/g olarak bulunmuştur. Bu değer Çağlayanlar ve ark. (2009) tarafından bulunan değere benzerdir. Ambalajsız sade dondurmalarındaki *E. coli* izolasyon oranı Sağdıç ve ark. (2002), Ağaoğlu ve Alemdar (2004), Coşkun (2005), Patır ve ark. (2006), Yaman ve ark. (2006) ile Aksoy ve ark. (2013) tarafından bulunan izolasyon oranından düşük, ambalajsız meyveli dondurmalarındaki izolasyon oranı Ağaoğlu ve Alemdar (2004) ile Patır ve ark. (2006) tarafından bulunan değerlerden düşük, ambalajsız çikolatalı dondurmalarındaki izolasyon oranı ise Patır ve ark. (2006) tarafından bulunan değerden düşük, Ağaoğlu ve Alemdar (2004) tarafından bulunan değer ile benzer bulunmuştur. *E. coli* sadece ambalajsız dondurmalarından kakaolu ve antepfıstıklı örneklerde tespit edilirken, diğer çeşitlerde tespit edilememesi, hammadde ve üretim hijyenindeki eksiklikler veya üretim sonrası kontaminasyonlardan çok dondurmaya katılan kakao veya antepfıstığı gibi çeşni maddelerinin kontamine olabileceğini düşündürmektedir.

S. aureus başta ısıl işlem olmak üzere birçok uygulamaya karşı yüksek bir duyarlılık göstermesine rağmen, insanlarda hastalığa neden olan ve yüksek derecede ısı stabilitesi gösteren enterotoksin üretir. Zehirlenmeye neden olan toksin üretim düzeyine *S. aureus* sayısı 10^5 kob/g'dan fazla olduğunda ulaşılır. Toksin üretimi 15°C 'nin üstündeki sıcaklıklarda ve pH 5 değerinin üstünde gerçekleşir. Bu düzeyden fazla *S. aureus* içeren gıdalar kesinlikle risklidir. Ancak gıdadaki düşük *S. aureus* sayısı da o gıdanın risksiz olduğunu göstermez. Gıdada koagulaz veya termonükleaz pozitif *S. aureus*'a rastlanmamış olması gıdanın stafilokok toksinleri açısından tehlikeli olmadığını göstermez (Tükel ve Doğan 2000).

Ambalajlı dondurma örneklerindeki *S. aureus* sayısı $<100 \log_{10}$ kob/g ile $2.83 \log_{10}$ kob/g arasında ve ortalama $0.27 \pm 0.13 \log_{10}$ kob/g olarak tespit edilmiştir. İzolasyon oranı (%20), Warke ve ark. (2000) tarafından bulunan değerden (%100) daha düşük olarak belirlenmiştir. Ambalajlı dondurmalarındaki *S. aureus* sayısı, ambalajsız dondurma örneklerine göre Warke ve ark. (2000), Keskin ve ark. (2007) ile Akarca ve Kuyucuoğlu (2008) gibi araştırmacıların bulguları ile uyumlu olarak daha düşük olarak belirlenmiştir. Ambalajsız sade dondurmalarındaki ortalama *S. aureus* sayısı ($3.08 \pm 1.59 \log_{10}$ kob/g); Güner ve ark.'nın (2004) bulunduğu değerden yüksek, Sağdıç ve ark.'nın (2002) belirlediği değerden düşük bulunmuştur. *S. aureus* izolasyon oranı (%80), Warke ve ark. (2000) tarafından bulunan değerden (%100) düşük, Patır ve ark. (2004) tarafından elde edilen izolasyon oranından (%44) ise daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Ambalajsız kakaolu ve meyveli dondurmalarındaki ortalama *S. aureus* sayıları (3.10 ± 1.05 ve $2.54 \pm 1.51 \log_{10}$ kob/g) Güner ve ark. (2004) tarafından bulunan değerlerden yüksektir. Genellikle insan kaynaklı ve ısıl işlemlere dayanıksız bir patojen olan *S. aureus*'un incelenen örneklerde tespit edilmesi, bulaşmanın ısıl işlem uygulandıktan sonra ve personel kökenli olabileceğini akla getirmektedir.

Enterotoksin üretimi sadece *S. aureus* ile sınırlı değildir. Enterotoksin ürettiği bilinen koagulaz (-) ve (+) türler de bulunmaktadır. Ancak, gıda zehirlenmelerinden büyük oranda *S. aureus* sorumludur. Önceleri sadece koagulaz (+) *S. aureus* suşlarının enterotoksin ürettiği düşünülürken ve gıdalarda koagulaz (+) *S. aureus* aranırken, artık koagulaz (-) *S. aureus*'ların da enterotoksin üretebildikleri tespit edilmiştir (Ünlütürk ve ark.1998; Temiz 1998; Tükel ve Doğan 2000). TGK Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde (Anonim 2011) *S. aureus* için bir sınır değeri verilmeyen, tüketime hazır gıdalarda koagulaz (+) *S. aureus* oranı, 5 örnekte 10^2 - 10^3 kob/g mikroorganizma içeren örnek sayısı en fazla 2 tane olacak şekilde sınırlandırılmıştır. İncelenen ambalajlı örneklerin tamamı Çağlayanlar ve ark. (2009)'nın bulguları ile uyumlu olarak bu kritere uygun bulunurken, ambalajsız örneklerden sade, çikolatalı ve antepfıstıklı dondurmaların bu kritere uygun olmadığı belirlenmiştir. Ambalajsız meyveli, sade ve çikolatalı dondurmalarındaki koagulaz (+) *S. aureus* izolasyon oranları Ağaoğlu ve Alemdar'ın (2004) bulunduğu oranlardan yüksektir. İncelenen örneklerde koagulaz (+) *S. aureus* suşlarının bulunması, özellikle ürüne yetersiz ısıl işlem uygulandığını veya ısıl işlem uygulaması sonrası kontaminasyonların olduğunu düşündürmektedir.

Maya ve küfler genellikle saprofit özellikte olup, gıdanın bozulmasına, üretimin istenmeyen şekilde sonuçlanmasına yol açmaktadırlar. Maya ve küfler, oldukça geniş pH, depolama sıcaklığı ve su aktivitesi aralıklarında üreyebilmektedirler. Yüksek tuz ve şeker konsantrasyonuna sahip ortamlarda kolaylıkla gelişebilmekte, gıdalarda kötü tat ve koku ile gaz

oluşumuna neden olabilmektedirler. Bazı maya ve küf türleri enfeksiyonlara neden olabilirken, bazıları ise gıdalarda zararlı toksinler oluşturabilmektedirler. Üründe bulunan maya/küf sayısı, üretim teknolojisi gereği açık hava ile teması fazla olan, yıkama işlemi yapılmaksızın öğütülerek paketlenen, soğutma veya dondurma gibi işlem gören gıdalar açısından önemli bir hijyen kriteridir (Durlu-Özkaya ve Kuleaşan 2000).

Ambalajlı dondurma çeşitlerinde belirlenen maya/küf sayısı ($0.25 \pm 0.11 \log_{10}$ kob/g), Warke ve ark. (2000) tarafından belirlenen değerlerden düşük, Bostan ve Akın (2002) ile Çağlayanlar ve ark. (2009) tarafından bulunan değerlerle benzer şekilde oldukça düşük olarak belirlenmiş ve hiçbir örnekte 10^1 kob/g'dan daha yüksek olarak tespit edilmemiştir. Ambalajsız dondurma çeşitlerinde maya/küf sayısı $<1 \log_{10}$ kob/g ile $5.37 \log_{10}$ kob/g arasında değişmiş ve ortalama $2.06 \pm 0.26 \log_{10}$ kob/g olarak belirlenmiştir. Bu değer Çağlayanlar ve ark. (2009) tarafından bulunan değerden yüksek, Warke ve ark. (2000) tarafından bulunan değerden ise düşüktür. İncelenen ambalajsız sade dondurmalarındaki ortalama maya/küf sayısı ($1.87 \pm 0.77 \log_{10}$ kob/g); Boynukara ve Sağun (1990), Andıç (1992) ve Patır ve ark. (2004) tarafından bulunan değerlerden düşük, ambalajsız çikolatalı dondurmalarındaki ortalama maya/küf sayısı ($1.98 \pm 0.71 \log_{10}$ kob/g); Andıç (1992) ile Güner ve ark. (2004) tarafından bulunan değerlerden düşük, ambalajsız kakaolu dondurmalarındaki ortalama maya/küf sayısı ($2.35 \pm 0.27 \log_{10}$ kob/g); Güner ve ark. (2004) tarafından bulunan değerden düşük ve ambalajsız meyveli dondurmalarındaki ortalama maya/küf sayısı ($2.27 \pm 0.80 \log_{10}$ kob/g); Andıç (1992) tarafından bulunan değerden daha düşük, Güner ve ark. (2004) tarafından limonlu dondurmalarıda bulunan değere benzer olarak tespit edilmiştir. Genel olarak maya/küf sayısının diğer araştırmacıların bulgularından daha düşük olarak belirlenmesi, incelenen örneklerin farklı olmasına, ürünün soğukta muhafazasının ve kısa sürede tüketilmesinin üremeyi engellemesine bağlanabilir.

Süt ve süt ürünlerinde psikrofil mikroorganizmalar; *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Yersinia*, *Listeria* ve *Alcaligenes* türleri gibi gruplar ile bazı Gram (-) basillerden oluşurlar. Bunlar $15 \text{ }^\circ\text{C}$ 'nin altında hatta $4 \text{ }^\circ\text{C}$ gibi düşük sıcaklıklarda bile kolaylıkla üreyebilirler. Genellikle pH değerini düşürmemelerine rağmen, sahip oldukları proteaz ve lipaz enzimleri ile aroma ve lezzet bozukluklarına neden olurlar. Bazen kendileri pastörizasyon ve sterilizasyon gibi uygulamalar ile inhibe olsalar bile ısıya dayanıklı enzimler üreterek ürünlerde bozukluklara neden olabilirler (Walstra ve ark. 2006).

İncelenen ambalajlı dondurma örneklerinde 10^2 kob/g'dan yüksek sayıda TPM sayısı tespit edilmemiştir ve bu sonuç Korel ve ark. (2005)'nin bulguları ile uyumludur. Ambalajsız örneklerin TPM sayısı yönünden daha yüksek düzeyde mikroorganizma içermesi Korel ve ark. (2005) ile Akarca ve Kuyucuoğlu (2008) gibi araştırmacıların bulguları ile paralellik göstermektedir. Ambalajsız dondurma örneklerinde 10^6 kob/g'dan fazla TPM sayısı tespit edilmemiştir. İncelenen ambalajsız sade dondurmalarıda belirlenen ortalama TPM sayısı ($2.97 \pm 1.03 \log_{10}$ kob/g); Güner ve ark. (2004), Patır ve ark. (2004) ile Aksoy ve ark. (2013) tarafından bulunan değerlerden düşüktür. Bu durum incelenen ambalajsız dondurmaların, diğer araştırmacıların inceledikleri dondurmalarla göre daha düşük oranda kontamine olduklarını, ancak yine de üretim hijyeninin istenilen seviyede olmadığını göstermektedir.

Salmonella'lar doğal olarak insan ve hayvan bağırsağı ile kanalizasyon sularında bulunur ve bütün türleri insanlar için patojendir. Bağırsak orjinli bir patojen olması nedeniyle de enterik patojen olarak bilinirler (Ünlütürk ve ark., 1998). TKG Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre (Anonim 2011), tüketime hazır gıdalarda hiç *Salmonella* spp. bulunmamalıdır. İncelenen ambalajlı ve ambalajsız hiçbir dondurma örneğinde Warke ve ark. (2000), Aslantaş (2001), Bostan ve Akın (2002), Çağlayanlar ve ark. (2009) ile Aksoy ve ark. (2013)'nin bulguları ile uyumlu olarak *Salmonella* spp. izole edilememiştir. Ancak bu bulguların aksine Ağaoğlu ve Alemdar (2004), ambalajsız meyveli dondurmalarıda %8.0, sade dondurmalarıda %24 ve çikolatalı dondurmalarıda ise %20 oranında, Yaman ve ark.'da (2006) inceledikleri örneklerde %6.8 oranında *Salmonella* spp. izole edildiğini bildirmişlerdir. Bu durum incelenen örneklerin ve izolasyon yöntemlerinin farklılığına bağlanabilir.

TKG Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre (Anonim 2011), tüketime hazır gıdalarda hiç *L. monocytogenes* bulunmamalıdır. İncelenen ambalajlı dondurma örneğinin hiçbirinden Warke ve ark. (2000) ile Çağlayanlar ve ark. (2009)'nin bulguları ile uyumlu olarak *L. monocytogenes* izolasyonu yapılamazken, ambalajsız örneklerden sade ve çikolatalı dondurmaların 2'sinde ve antepfıstıklı dondurmaların 1'inde *L. monocytogenes* bulunmuştur. Ambalajsız sade dondurmalarındaki *L. monocytogenes* izolasyon oranı (%40); Warke ve ark. (2000), Ağaoğlu ve Alemdar (2004), Çağlayanlar ve ark. (2009) ile Gönülalan ve Gönülalan (2010) tarafından elde edilen izolasyon oranlarından yüksek, ambalajsız meyveli dondurmalarındaki izolasyon oranı; Ağaoğlu ve Alemdar (2004) ile Gönülalan ve Gönülalan (2010) tarafından bildirilen izolasyon oranlarından düşük, ambalajsız çikolatalı dondurmalarındaki izolasyon oranı da (%40) Ağaoğlu ve Alemdar'ın (2004) bildirdikleri orandan daha düşük olarak saptanmıştır.

L. monocytogenes sayısının dondurmalarıda $2-4 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de muhafazada 0-3 günler arasında sabit kaldığı, 3-14 günler arasında arttığı, 14-21 günler arasında ise azaldığı bildirilmiştir. Yine $8-10 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de muhafazada; 21. güne kadar *L. monocytogenes* sayısı arttığı halde, $25-28 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 0-24 saatte süratle çoğalırken 24-72 saatlerde sabit kaldığı bildirilmiştir (Warke ve ark. 2000). İncelenen ambalajsız örneklerde yüksek oranlarda *L. monocytogenes* izole edilmesi; bu dondurmaların ısı işleminden sonra kontamine olduklarını, kontaminasyonun katkı maddeleri ve ekipman kaynaklı olabileceğini ve satış esnasındaki yüksek muhafaza sıcaklıklarının mikroorganizma sayısını artırıcı etki yapabileceğini göstermektedir. Psikrofil bir mikroorganizma olan *L. monocytogenes* dondurmalarıda düşük ısılarda avantajlı olabilmektedir (Temiz 1998).

İncelenen ambalajlı dondurma örneklerinde pH değeri ortalama 6.07 ± 0.21 olarak, ambalajsız dondurma örneklerinde ise ortalama 6.20 ± 0.23 olarak tespit edilmiştir. Ambalajsız sade dondurma örneklerindeki ortalama pH değeri (6.52 ± 0.10); Patır ve ark. (2004) tarafından bildirilen değere benzer, Sağdıç ve ark. (2002) ile Coşkun (2005) tarafından bildirilen değerlerden ise yüksektir. Ambalajlı meyveli, ambalajlı sade ve ambalajsız meyveli dondurma örnekleri ile diğer çeşitler arasında $P < 0.01$ seviyesinde önemli bir istatistiksel fark olduğu tespit edilmiştir. Özellikle meyveli dondurmaların pH değerinin Korel ve ark. (2005)'nin bulgularıyla uyumlu olarak diğer çeşitlerden daha düşük olmasında, kullanılan meyve ekstraktlarının veya meyve aroma maddelerinin etkili olduğu düşünülmektedir.

Bu araştırmada incelenen ambalajlı ve ambalajsız meyveli dondurmalar arasında incelenen tüm parametreler açısından istatistiksel düzeyde önemli bir fark saptanamamıştır. Fakat ambalajlı ve ambalajsız sade dondurma örnekleri arasında pH, TAMM ve koliform sayısı bakımından, kakaolu dondurma örnekleri arasında TAMM ve koliform sayısı yönünden, çikolatalı dondurma örnekleri arasında TAMM, *S. aureus*, koagülaz (+) *S. aureus*, maya/küf ve TPM sayısı yönünden ve antepfıstıklı dondurma örnekleri arasında ise; TAMM, koliform, *S. aureus*, maya/küf ve TPM sayısı yönünden önemli bir fark ($p<0.01$) bulunmuştur (Tablo 5). Ambalajlı ve ambalajsız dondurmalar arasında mikroorganizma sayıları açısından farkların olması, özellikle ambalajsız dondurmaların üretimlerinde hijyenik kalitesi düşük hammadde kullanılmasına ve yetersiz ısı işlem uygulamalarına, ayrıca üretim ve satışları sırasındaki hijyen uygulamalarının eksikliğine bağlanabilir (Tekinşen 1993; Marshall 2001; Kanbakan ve ark. 2004). Nitekim birçok araştırmacı da (Warke ve ark. 2000; Aslantaş 2001; Bostan ve Akın 2002; Korel ve ark. 2005; Çağlayanlar ve ark. 2009) ambalajlı dondurmaların hijyenik kalitesinin ambalajsız dondurmalarından daha iyi olduğunu bildirmişlerdir.

Diğer taraftan aynı grupta yer alan farklı çeşnili dondurmalar arasında da incelenen parametreler açısından istatistiksel düzeyde farkların olduğu gözlenmiştir (Tablo 5). Ambalajsız dondurma örneklerinde meyveli, sade ve çikolatalı dondurmalar ile kakaolu ve antepfıstıklı dondurmalar arasında koliform sayısı yönünden ve antepfıstıklı dondurmalar ile diğer çeşitler arasında maya/küf sayısı yönünden istatistiksel olarak önemli seviyede ($P<0.01$) farklılıklar bulunmuştur (Tablo 5). Bu farklılıklar, Marshall (2001) ile Patır ve ark. (2006)'nın bildirdikleri gibi dondurmaların üretimleri sırasında kullanılan çeşni maddelerinin hijyenik kalitelerinin ve kimyasal bileşimlerinin farklı olmasına bağlanabilir. Özellikle meyveli dondurmalarda pH değerinin daha düşük olması, birçok mikroorganizmanın üremesini kısıtlayıcı olabilmektedir (Coşkun 2005). Ambalajsız meyveli dondurma çeşitlerinin diğer çeşitlerden daha düşük mikroorganizma içermesi, bu grup örneklerdeki pH değerinin daha düşük olmasına bağlanabilir.

Aradan uzun bir süre geçmesine rağmen Van ilinde daha önce yapılan araştırmalar ile (Boynukara ve Sağun 1989, Andiç 1992) bu araştırmada incelenen ambalajsız dondurmalar arasında TAMM, maya/küf ve koliform grubu mikroorganizma sayısı gibi kriterlere bakılarak değerlendirilen genel hijyenik durum yönünden önemli ölçüde benzerliklerin olması, Van İli'nde ambalajsız dondurmaların üretim ve satış şartlarında hala ciddi anlamda hijyenik eksiklikler olduğunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak bu araştırmada incelenen ambalajlı dondurmalarla belirlenen bulguların diğer birçok araştırmacının (Aslantaş 2001; Korel ve ark. 2005; Akarca ve Kuyucuoğlu 2008; Aksoy ve ark. 2013) bulguları ile benzer şekilde mikrobiyolojik yönden standartlara uygun olduğu ve halk sağlığı yönünden herhangi bir risk oluşturmadığı, ancak ambalajsız olarak satışa sunulan dondurmaların mikrobiyolojik kalitelerinin düşük olduğu ve halk sağlığı açısından önemli riskler oluşturabileceği kanaatine varılmıştır. Bu nedenle özellikle ambalajsız dondurmaların, kaliteli hammadde kullanılarak üretimlerinden satışlarına kadar hijyenik şartlarda üretilmesi gerekmektedir. Çeşnili dondurmaların üretimlerinde kullanılan aroma ve katkı maddelerinin de yüksek hijyenik kalitede olması, ayrıca ambalajlı ve ambalajsız dondurmaların rutin kontrollerinin yapılarak

halk sağlığı açısından risk oluşturanların tüketimden alıkonulması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Ağaoğlu S, Alemdar S (2004).** Van'da tüketime sunulan dondurmalarla bazı patojenlerin varlığının araştırılması. *YYÜ Vet Fak Derg*, 15(1-2), 59-64.
- Akarca G, Kuyucuoğlu Y (2008).** Afyonkarahisar'da satılan dondurmaların mikrobiyolojik kalitesi üzerinde çalışmalar. *Kocatepe Vet J*, 1, 11-17.
- Akgül A (1997).** Tıbbi Araştırmalarda İstatistiksel Analiz Teknikleri, SPSS Uygulamaları. YÖK Matbaası, Ankara.
- Akın N (2009).** Dondurma Bilimi ve Teknolojisi. Damla Ofset, Konya.
- Aksoy A, Sezer Ç, Vatansver L (2013).** Kars piyasasında tüketime sunulan sade dondurmaların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. *HÜ Vet Fak Derg*, 2(1), 1-5.
- Andiç S (1992).** Van ilinde üretilen dondurmaların duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Y Lisans Tezi*, YYÜ Fen Bil Enst, 67 sayfa, Van.
- Anonim (2011).** Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. 29 Aralık 2011 tarihli ve 28157 sayılı (3. Mükerrer) Resmî Gazete, Ankara.
- Anonim (2012).** Dondurma pazarı tatlandı. *Süt Dünyası*, 7(39), 30-38.
- Anonymous (1995).** The Oxoid Manual, Compiled By EY Brveidson, 7th Ed. Oxoid Ltd. Basingstoke, Hampshire.
- Anonymous (2001a).** Microbiological Risk Assessment of Ice Cream. Risk Assessment Studies, Report No:7, Food and Environmental Hygiene Department, Risk Assessment Section, 43/F, Queensway Government Offices, 66 Queensway, Hong Kong.
- Anonymous (2001b).** Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs- Horizontal Method for the Enumeration of β -Glucuronidase-Positive *Escherichia coli*. Part 2: Colony-Count Technique A 44°C Using 5-Bromo-4-Chloro-3-Indoyl-Beta-D-Glucuronide, ISO 16649-2.
- Aslantaş Ö (2001).** Kars ilinde tüketime sunulan dondurmaların bakteriyolojik kalitesi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 7(2), 143-147.
- Bianco LJ, Peter BM, Mykleby WR, Burke JA (1972).** Supplemental Chemical Control Methods. In: Hausler WJ (Ed), Standart Methods for the Examination of Dairy Products. 3rd Ed. A.P.H.A., p. 320-322, Washington DC.
- Bostan K, Akın B (2002).** Endüstriyel dondurmaların mikrobiyolojik kalitesi üzerine bir araştırma. *Türk J Vet Anim Sci*, 26, 623-629.
- Boynukara B, Sağun S (1990).** Van ilinde satılan dondurmaların hijyenik kaliteleri üzerine bir araştırma. *YYÜ Vet Fak Derg*, 1(1), 72-75.
- Coşkun F (2005).** Tekirdağ ilinde satılan sade ve çilekli dondurmalarla fekal kontaminasyonun belirlenmesi. *Tekirdağ Zir Fak Derg*, 2(2), 135-142.
- Çağlayanlar GE, Kunduhoğlu B, Çoksöyler N (2009).** Comparison of the microbiological quality of packaged and unpackaged ice creams sold in Bursa, Turkey. *Journal of Arts and Sciences*, 12, 93-102.
- Çakır İ (2000).** Koliform Grubu Bakteriler ve *E. coli*. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Sim Matbaacılık Limited Şirketi, Ankara.
- Donnelly CW, Nyachuba DG (2007).** Conventional Methods to Detect and Isolate *Listeria monocytogenes*. Ryser ET, Marth EH (Ed). *Listeria, Listeriosis and Food Safety*. M. Dekker, New York, 225- 260.
- Durlu-Özkaya F, Kuleaşan H (2000).** Maya ve Küf. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Sim Matbaacılık Limited Şirketi, Ankara.
- El-Sharef N, Ghenghesh KS, Abognah YS, Gnan SO, Rahouma A (2006).** Bacteriological quality of ice cream in Tripoli-Libya. *Food Control*, 17, 637-641.
- Flowers RS, D'aoust JY, Andrews WH, Bailey JS (1992).** *Salmonella*. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods", (Ed: Vanderzant C and Splittstoesser DF), 3rd Ed, P371-422, American Public Health Association.
- Gönülalan S, Gönülalan Z (2010).** Kayseri ilinde satışa sunulan dondurmaların *Listeria monocytogenes* varlığı yönünden incelenmesi. *Sağlık Bil Derg*, 19(3), 191-195.
- Güner A, Ardiç M, Keleş A (2004).** Konya'da pastanelerde tüketime sunulan dondurmaların mikrobiyolojik kalitesi. *Vet Bil Derg*, 20(2), 59-64.
- Gürsoy A (2010).** Dondurma üretimi. *Standard*, 49(579): 32-38.
- Harrigan WF (1998).** Laboratory Methods in Food Microbiology 3rd Ed. San Diego, Academic Press, 532 p. ISBN/ISSN 0-12-326043-4.
- Hitchins AD, Jinneman K (2011).** Bacteriological Analytical Manual, Chapter 10, Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Food. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071400.htm>. Erişim Tarihi: 01.08.2015.

- Kanbakan U, Çon AH, Ayar A (2004).** Determination of microbiological contamination sources during ice cream production in Denizli, Turkey. *Food Control*, 15, 463-470.
- Keskin Y, Başkaya R, Özyaral O, Kıyan P (2007).** Sade dondurmaların mikrobiyolojik incelenmesi. *Türk Mikrobiol Cem Derg*, 37(1), 51-58.
- Kırdar S (2003).** Burdur ilinde satılan dondurmaların bazı nitelikleri üzerine araştırmalar. *Gıda*, 28(2), 175-181.
- Koburger JA, Marth EH (1984).** Yeasts and Molds. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food, (Ed: Speck ML), 197-201, Washington DC.
- Korel F, Ömeroğlu S, Tan G (2005).** Manisa piyasasında satılan ambalajlı ve ambalajsız dondurmaların kalitelerinin değerlendirilmesi. *J Agric Fac HR U*, 9(2), 11-18.
- Marshall RT (2001).** Frozen Dessert. In Applied Dairy Microbiology, (Ed: Marth EH, Steele JL), p:93-140, Marcel Dekker, Inc., 270 Madison Avenue, New York, NY 10016.
- Mert İ (2015).** Türkiye'de süt sektörü. Türk Ziraat Yüksek Mühendisleri Birliği 75. Yıl Kuruluş Yıldönümü-Et ve Süt Ürünleri Fiyatları. Sözlü Sunum, 16 Mayıs 2015, Ankara.
- Patır B, Öksüztepe G, İlhak İ, Bozkurt P (2004).** Elazığ'da tüketime sunulan kaymaklı (sade) dondurmaların mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi. *Vet Bil Derg*, 20(1), 23-28.
- Patır B, Öksüztepe GA, İlhak Oİ, Bozkurt P (2006).** Elazığ'da tüketime sunulan kaymaklı ve meyve aromalı dondurmalarda koliform bakterilerin dağılımı. *FÜ Sağ Bil Derg*, 20(1), 1-7.
- Pichhardt K (1993).** Lebensmittel mikrobiologie. 3. Auflage, Springer Verlag, Berlin, New York, Paris Tokyo, London, Hong Kong, Barcelona, Budapest.
- Sağdıç O, Tülüoğlu DD, Özçelik S, Şimşek B (2002).** Isparta piyasasında tüketime sunulan dondurmaların kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi. *Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg*, 33(4), 441-446.
- Tekinşen OC (1993).** Dondurma Üretim Teknolojisi. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya.
- Temiz, A (1998).** Gıda Mikrobiyolojisi. (Ed: Ünlütürk A, Turantaş F), Birinci Baskı, Mengi Tan Basımevi, İzmir.
- Tükel Ç, Doğan HB (2000).** *Staphylococcus aureus*. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Sim Matbaacılık, Ankara.
- Türk Gıda Kodeksi Dondurma Tebliği (2005).** Tebliğ No: 2004/45, Tarım ve Köyşleri Bakanlığı, 13 Ocak 2005 tarih ve 25699 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- Ünlütürk A, Karapınar M, Turantaş F (1998).** Gıdalarda Önemli Mikroorganizmalar. Gıda Mikrobiyolojisi, (Ed: Ünlütürk A, Turantaş F), Mengi Tan Basımevi, İzmir.
- Walstra P, Wouters JTM, Geurts TJ (2006).** Dairy Science and Technology. 2nd Ed, CRC Press, Taylor & Francis Group, 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300.
- Warke R, Kamat A, Kamat M, Thomas P (2000).** Incidence of pathogenic psychrotrophs in ice creams sold in some retail outlets in Mumbai, India. *Food Control*, 11, 77-83.
- Yaman H, Elmalı M, Ulukanlı Z, Tuzcu M, Genctav K (2006).** Microbial quality of ice cream sold openly by retail outlets in Turkey. *Revue Med Vet*, 157(10), 457-462.





Endoscopical (theloresectoscopy) diagnosis and treatment of teat stenosis in dairy cows

Sait ŞENDAĞ¹ Nebi ÇETİN¹ Rainer HOSPES²

¹ Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Van, Turkey

² Justus-Liebig University, Faculty of Veterinary Medicine, Obstetrics-Gynecology and Andrology Clinics of Large and Small Animal, Giessen, Germany

Received: 13.01.2016

Accepted: 03.02.2016

SUMMARY

Teat stenosis, which complicate or fully prevent of milk flow from the teat, are pathological conditions that occurs in the internal mucosa of the teat. The objective of this study was to diagnosis and treatment of teat stenosis of dairy cows with endoscopy (Theloresectoscopy). The investigation material involved 18 teats of 18 dairy cows of different breeds. All teats were examined by endoscopy for the presence of teat cistern mucosa lesions. A total 18 stenosis were determined using endoscopic examination method. Using endoscopy it was possible to determine the exact location, size and dimension of the cause of stenosis. All teats were treated by this method and could be milked without any problems ten days after the operation. The results indicate that theloresectoscopy provides an improved method for diagnosis and treatment of teat stenosis in dairy cows. Disadvantage is the high cost of the instrument.

Key Words: Cow, Teat stenosis, Theloresectoscopy

ÖZET

Süt İneklerinde Meme Başı Stenozislerinin Endoskopi (Theloresektoskopi) İle Tanı ve Tedavisi

Meme başı stenozisleri, meme başından süt çıkışını güçleştiren ya da tamamiyle engelleyen, meme başının iç mukozasında meydana gelen patolojik oluşumlardır. Bu çalışmanın amacını da, süt ineklerinde meme başı stenozislerinin endoskopi (Theloresektoskopi) ile tanı ve tedavisi oluşturdu. Çalışma materyalini farklı ırklardan 18 süt ineğine ait, süt çıkışı bozukluğu olan, 18 meme başı oluşturdu. Tüm meme başları, mukoza lezyonları açısından endoskopi ile incelendi. Meme başındaki lezyonların lokalizasyon, büyüklük ve yayılımları endoskopi ile tam olarak belirlenebildi. Stenozislere neden olan meme başı lezyonları, endoskopik minimal invaziv şirurji ile uzaklaştırıldı. Theloresektoskopi ile tedavi edilen hayvanlar operasyondan 10 gün sonra sorunsuz olarak sağlanabildi. Sonuç olarak; Theloresektoskopi'nin süt ineklerinde meme başı stenozislerinin tanı ve tedavisinde modern ve başarılı bir metot olduğu kanısına varıldı. Metodun dezavantajı ise, Theloresektoskopi cihazının şu an için pahalı oluşudur.

Anahtar Kelimeler: İnek, Meme başı stenozisleri, Theloresektoskopi

GİRİŞ

Süt ineklerinde meme başı stenozisleri (daralmalar), meme başından süt çıkışını güçleştiren ya da tamamiyle engelleyen, meme başının iç mukozasında meydana gelen patolojik oluşumlardır. Meydana gelişlerinde hayvan sahiplerinin dikkatinden kaçan "kapalı meme başı yaralanmaları" ön plana çıkar. Bu tür lezyonlar sağım güçlüklerine, süt kaybına, mastitis riskine ve sütte yüksek hücre sayısına neden olarak, süt ineklerinin zorunlu kesime sevk edilmelerinin önemli bir nedenini oluştururlar. Meme başı stenozislerinin başarılı tedavisi için, öncelikle teşhisin doğru olarak yapılması gerekmektedir. Stenozislerin tanısında uzun yıllar inspeksiyon, palpasyon, sondalama ve radyografi yöntemleri kullanılmıştır (Kubicek 1975; Sing ve ark.

1975; Witzig ve Hugelshöfer 1984; Witzig ve ark. 1984; Alaçam ve ark. 1990; Wendt 1994; Grunert ve ark. 1995; Hospes 2003). Tedavi de ise, bu tanı yöntemlerinden sonra "kapalı meme başı operasyonları" sıklıkla tercih edilmiştir. Bu yöntemler meme başında daralmalara neden olan patolojik oluşumların ayrıntısını tam olarak ortaya koyamadığı gibi, kapalı operasyonların sonuçları da hem hayvan sahiplerini hem de veteriner hekimleri memnun edememiştir (Radmacher 1980; Rüsçh 1988). Doksanlı yıllara doğru süt ineklerinde yaygınlaşan diagnostik meme ultrasonografisi (Cartee ve ark. 1986; Jenninger 1989; Stocker ve ark. 1989; Will ve ark. 1990; Dümmer 1998; Melle 1998; Şendağ ve Dinç 1999; Dinç ve ark. 2000), stenozislerin tanısında yeni bir çığır açmış, ancak bu olguların tedavi başarısına fazla bir katkı sağlayamamıştır.

Yapılan çalışmalar süt ineklerinde meme başı stenozislerinin hem tanı hem de tedavisinde Theloresektoskopi'nin başarısından bahsetmektedirler. Theloresektoskopi inek meme başında minimal invaziv şirurjiye imkan tanıyan optik ve cerrahi olmak üzere, iki parçanın birleştirilmesiyle meydana getirilmiş bir cihazdır. Başka bir ifadeyle, Theloresektoskopi bir taraftan memenin iç detayını göz önüne getirmekte, diğer taraftan da meme içerisinde operasyonun görüntülü olarak yapılmasına imkan tanımaktadır (Seeh ve Hospes 1998; Seeh ve ark. 1998; Hospes 2003; Şendağ ve ark. 2005).

Ülkemizde meme başı stenozisleri süt inekçiliğini tehdit eden, ciddi bir problem olmaya devam etmektedir. Meme endoskopisi ülkemiz pratisyen hekimler tarafından da sahada henüz denenmemiştir. Sunulan bu çalışma, Theloresektoskopi'nin ülkemizde tanınması ve saha veterinerleri tarafından pratik kullanımının yaygınlaştırılmasına katkı sağlamak amacıyla planlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışma meme başlarında süt çıkışı sorunları olan, değişik ırk ve yaşlardaki 18 süt ineğinde gerçekleştirildi (Tablo 1). Çalışma materyali, Justus-Liebig Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Büyük ve Küçük Hayvanların Ambulatorik Doğum-Jinekoloji ve Androloji Kliniği'ne süt akışı şikayeti nedeniyle getirilen hayvanlardan temin edildi. Sorunlu meme başlarında süt akışı bozukluğu dışında herhangi bir yangısal problem (mastitis, thelitis) yoktu. Hayvanların genel muayenelerinden sonra, ilgili meme başlarının klasik tanı yöntemleriyle (inspeksiyon, palpasyon, sondalama ve ultrasonografi) kontrolleri gerçekleştirildi. Bu şekilde, endoskopik muayenelerden önce, meme başlarında süt çıkışına engel olan lezyon ve bunların lokalizasyon bölgeleri ile ilgili ön bilgilere ulaşılmış olundu.

Endoskopik muayeneler:

Bu muayeneler operasyon masasına yatırılan hayvanlarda gerçekleştirildi (Şekil 4 ve 5) Meme başlarının dezenfeksiyonundan sonra, lateral (Fürstenberg rozeti çevresi ve Ductus papillaristeki lezyonlarda) ya da meme başı kanalından (meme başı sisternasındaki lezyonlarda) uygulanan endoskopi teknikleri kullanıldı. Bu tekniklerin uygulanışında takip edilen tüm işlemler Hospes'e göre (2003) gerçekleştirildi.

Endoskopi cihazı:

Endoskopi cihazı temelde görüntüleme ve meme başındaki patolojik oluşumların şirurjikal ekstirpasyonunda kullanılan, koruyucu bir kılıf içerisindeki, kesici elektrottan meydana getirilmiştir. Bu temel fonksiyonların yanında cihaza ayrıca, görüntülerin fotoğraflanması ve video kayıtları için de sistemler ilave edilmiştir. Teknik ekipmanın ayrıntısı aşağıda belirtilmiştir.

- 0°- görüntü açısına sahip, 150 mm uzunluk ve 2.7 mm çaptaki teleskop (Storz, Tuttlingen, Almanya, Şekil 1)
- Soğuk ışık kaynağı (Typ Storz 600, Storz, Tuttlingen, Şekil 2A)
- Video-kamera (Storz, Tuttlingen)
- Kamera sistemi (Surgislide VR1000+FS4, Storz, Tuttlingen).
- Video-monitör (Trinitron Color PVM-1443 MD; Sony)
- Video-printer (Panasonic NV-MP1)
- Özel objektife (Storz576A) sahip, ayna refleks kamara (RicohKR10M) ve kesici elektrot (Şekil 2B)

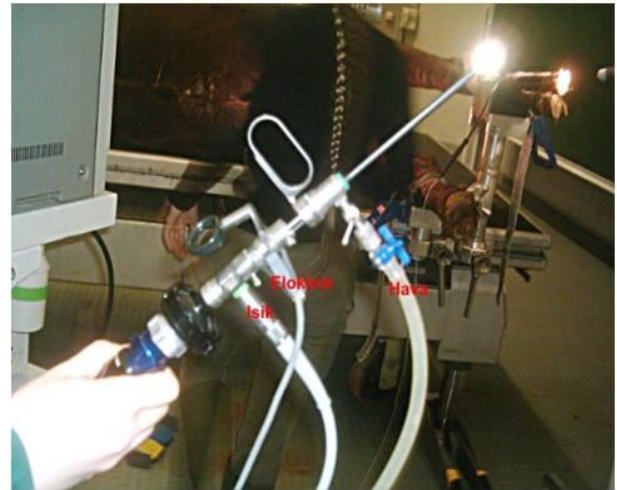
Theloresektoskopi (meme başı stenozislerinin endoskopik ekstirpasyonu):

Meme başlarında endoskopi ile görüntülenen lezyonlar, aynı anda görüntülü olarak kesici elektrot ile ekstirpe edildi. Theloresektoskopi'nin tüm uygulama ayrıntıları Hospes (2003)'e göre gerçekleştirildi.

Post operatif bakım:

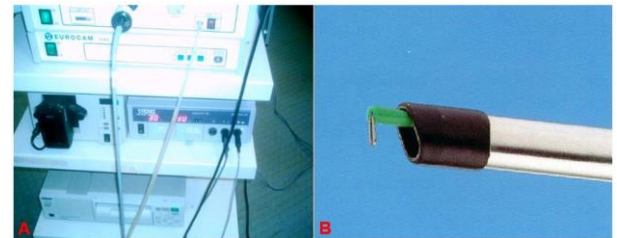
Lateral endoskopi sonrasında, meme başındaki perforasyon diagonal sultan dikişi ile kapatıldı. Lokal ve parenteral antibiotikler uygulandı. Ayrıca aşağıdaki işlemler uygulandı:

- Meme başlarına kalıcı sonda uygulaması (operasyondan 5 gün sonra değiştirildi)
- Meme başlarının mastitis açısından günlük kontrolleri yapıldı.
- İlgili meme başı lokal olarak kuruya çıkartıldı (toplam 10 gün).
- Operasyondan 5 gün sonra, süt meme başı kateteriyle boşaltılarak kontrol edildi.
- Meme başı sondası yenilendi. Meme başı lokal antibiyotik uygulamasıyla tekrar kuruya çıkartıldı.
- Operasyon sonrası 10. günde kuruya çıkartılma sonlandırıldı.



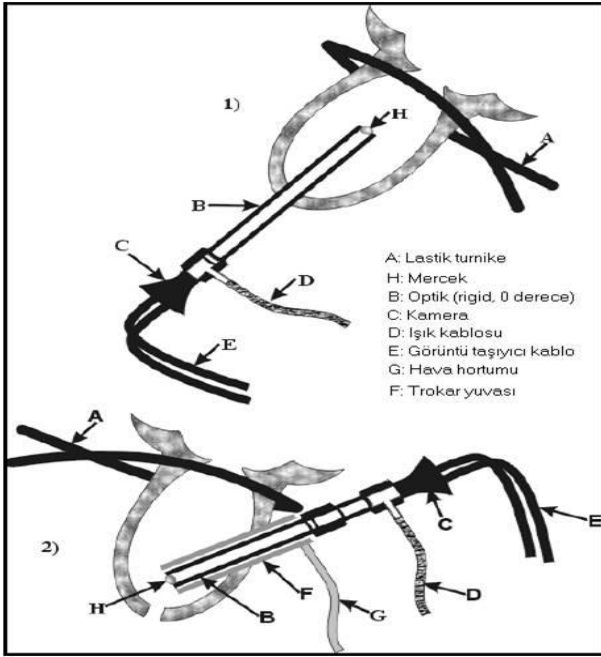
Şekil 1. Meme başı endoskopi ekipmanı (Teleskop)

Figure 1. Equipment of teat endoscopy (Teleskop)



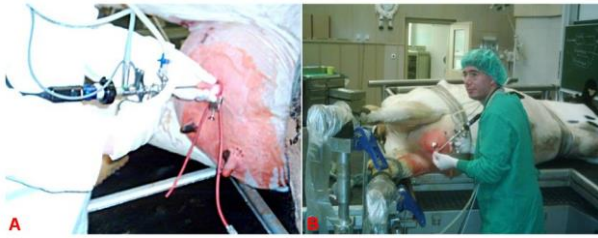
Şekil 2. Meme başı endoskopi ekipmanı. A- Soğuk ışık kaynağı (S), Yüksek frekanslı elektrik kaynağı (E) B- Minimal invaziv şirurjikal teknikte kullanılan elektrot (Hospes ve Seeh 1999)

Figure 2. Equipment of teat endoscopy. A- Source of cold light (S), Source of high frequently electric (E). B- Electrode for minimally invasive surgical technique (Hospes and Seeh 1999)



Şekil 3. Meme başında endoskopik girişimlerin şematik görünümü. 1) Meme başı kanalından, 2) Lateral meme başı endoskopisi (Foitzik 2001)

Figure 3. Diagrammatically view of teat endoscopy. 1) Endoscopy via teat canal, 2) Lateral teat endoscopy (Foitzik 2001)



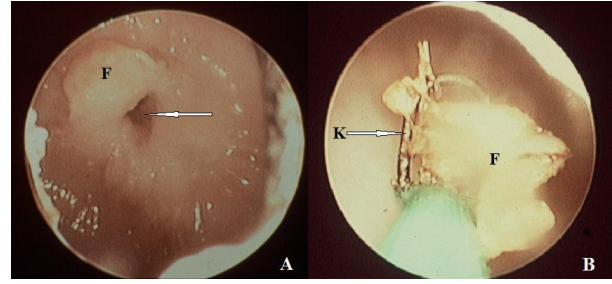
Şekil 4. Meme başı endoskopisi (in vivo). A- Meme başı kanalından, B- Lateral meme başı endoskopisi

Figure 4. Teat endoscopy (in vivo). A- Endoscopy via teat canal, B- Lateral teat endoscopy



Şekil 5. Uygulama öncesi (A) ve sırasında (B) meme başı endoskopisi cihazı

Figure 5. Full equipment of teat endoscopy. Pre (A)-and during (B) the clinically examinations



Şekil 6. Fürstenberg rozeti çevresinde fibrotik proliferasyon (A). Aynı kitlenin endoskopik ekstirpasyonu (B). F: Fibrotik kitle D: Ductus papillaris K: Kesici elektrot

Figure 6. Fibrotic proliferation at the Rosette of Fürstenberg (A). Endoscopically extirpation of the fibrotic proliferation (B). F: Fibrotic proliferation D: Ductus papillaris K: Surgical electrode

Tablo 1. Meme başlarında teşhis edilen stenozların ve endoskopik girişimlerin sınıflandırılması

Table 1. Diagnosis of the teat stenosis and their endoscopically classification

Hayvan No	Meme başı	Stenozun olduğu yer	İkonalize	Endoskopik girişim
1	B	Fürstenberg rozeti		Lateral
2	D	Fürstenberg rozeti		Lateral
3	A	Fürstenberg rozeti		Lateral
4	D	Fürstenberg rozeti		Lateral
5	B	Ductus papillaris		Lateral
6	A	Ductus papillaris		Lateral
7	C	Sisterna		Meme başı kanalı
8	B	Sisterna		Meme başı kanalı
9	C	Sisterna		Meme başı kanalı
10	D	Sisterna		Meme başı kanalı
11	C	Sisterna		Meme başı kanalı
12	B	Sisterna		Meme başı kanalı
13	A	Sisterna		Meme başı kanalı
14	D	Sisterna		Meme başı kanalı
15	B	Sisterna		Meme başı kanalı
16	A	Sisterna		Meme başı kanalı
17	D	Sisterna		Meme başı kanalı
18	B	Sisterna		Meme başı kanalı

A: Sağ ön, B: Sağ arka, C: Sol ön, D: Sol arka

BULGULAR

Endoskopik muayenelerde stenozislere neden olan patolojik oluşumlar, meme başı içerisinde üç boyutlu ve renkleriyle birlikte çevre dokulardan kolaylıkla ayırt edilerek, görüntülenebildi (Şekil 6). Theloresektoskopi, 12 hayvanda meme başı kanalından ve 6 hayvanda da lateralden uygulandı. Süt akışını engelleyen bu oluşumlar, endoskopi cihazına ait kesici koter ile operatif olarak uzaklaştırıldı. Lateral theloresektoskopide meme başı duvarında oluşturulan ilave bir giriş, önemsiz minimal bir travmaya neden oldu. Theloresektoskopi ile tedavi edilen hayvanlar operasyondan 10 gün sonra sorunsuz olarak sağlabildi.

TARTIŞMA ve SONUÇ

İneklerinde meme başından süt çıkışı bozuklukları, hayvancılığın gelişmiş olduğu endüstri ülkelerinde bile önemli bir sorun oluşturmaktadır. Meme başı stenozisleri olarak adlandırılan bu tür lezyonlar, süt ineklerinde % 3-10 arasında görülebilmektedir. Meme başı stenozisleri, meme başının daralması ya da tam olarak kapanması anlamına gelmektedir. Bu tür olgular, sütün meme başından hiç gelmemesi ya da kısmen gelmesiyle karakterizedir. Stenozisler kongenital ya da meme başındaki kapalı yaralanmalara bağlı, proliferatif reaksiyonlar sonucunda meydana gelebilmektedir (Radmacher 1980; Witzig ve ark. 1984; Rüşch 1988; Alaçam ve ark. 1990; Hospes 2003; Şendağ ve ark. 2005).

Meme başlarında şekillenen stenozislerin erken tanı ve tedavisi süt hijyeni ve ekonomik açıdan büyük önem taşımaktadır. Çünkü meme başı stenozisleri sütün memeden çıkışını engelleyerek, meme bezinin enfeksiyon riskini arttırmaktadır (Radmacher 1980; Alaçam ve ark. 1990). Meme başı stenozislerinin doğru tanısı, tedavi başarı ve tedavi sonrası prognozu her zaman olumlu yönde etkilemektedir. Meme başı lezyonlarının tanı ve tedavisi endoskopi dışındaki uygulamalarda hem hayvan sahibi hem de veteriner hekimi pek memnun edememiştir (Melle 1998). Medl ve ark. (1994), meme başı stenozislerinin teşhisinde kullanılan inspeksiyon, palpasyon, sondalama ve meme başından sütün çıkışının kontrolü yöntemlerinin, meme başındaki lezyonların hakkında şüpheli bir teşhis sağladığını bildirmektedirler. Aynı araştırmacılar, doğru bir teşhisin birçok olguda lezyonun optik (görüntülü) olarak ortaya konmasıyla mümkün olabileceğini ifade etmektedirler. Bu nedenle Theletomi (Witzig ve ark. 1984), Radyografi (Kubicek 1972; Sing ve ark. 1975; Witzig ve Hugelshöfer 1984; Alaçam ve ark. 1990) ve ultrasonografi (Cartee ve ark. 1986; Jenninger 1989; Stocker ve ark. 1989; Will ve ark. 1990; Saratsis ve Grunert 1994; Şendağ ve Dinç 1999; Dinç ve ark. 2000) gibi görüntülü yöntemler geliştirilmiştir. Dinç ve ark. (2000), ultrasonografinin meme başında süt akışı bozukluklarına neden olan patolojik oluşumların tanısında, klasik tanı yöntemlerine göre çoğu kez üstünlük oluşturduğunu bildirmektedirler. Ancak birçok araştırmacı (Stocker ve ark. 1989; Dümmer 1998; Melle 1998), özellikle Ductus papillaris'te meydana gelen stenozların tanısında ultrasonografinin de yeterli olamayacağını ifade etmektedirler. Sunulan araştırmada, meme başı kanalı ile uyguladığımız endoskopide, Ductus papillaris pürüzsüz ve beyaz renkli mukozasıyla kolaylıkla izlenebildi. Çalışmamızda, Ductus papillaris ve bu bölgedeki lezyonların endoskopi ile ayrıntılı olarak görüntülenebilmesi, Dümmer (1998), Melle (1998), Stocker ve ark. (1989), Dinç ve ark. (2000) tarafından belirtilen ultrasonografideki bu dezavantajın, endoskopi ile giderilebileceğini gösterdi. Çalışmamızda Ductus papillaris kanalı ile uygulanan endoskopide, Fürstenberg rozeti çevresi ayrıntılı olarak görüntülenemedi. Fürstenberg rozeti çevresinin izlenmesinde birçok araştırmacının (Dümmer 1998; Kiossis 2000; Foitzik 2001) vurguladığı gibi, meme başı duvarında oluşturulan yapay bir kanal ile uygulanan lateral endoskopiye ihtiyacın olacağı anlaşıldı. Bu şekildeki endoskopide Şendağ ve ark. (2005)'nin belirttiği gibi, Fürstenberg rozeti az ya da çok çıkıntılı, beyaz-solgun kırmızı renkte ve mukozasında da çok sayıda uzunlamasına kıvrımları ihtiva etmekteydi. Foitzik (2001), lateral endoskopinin (Şekil 3) invaziv bir metot olmasına karşılık, meme duvarında oluşturulan perforasyonun ciddi bir komplikasyona (yangı, sağlam güçlüğü) neden olmadığını ifade etmektedir. Ancak aynı

araştırmacı, meme başının trokar ile delinmesi sonucu, bazı olgularda Sinus papillaris'te toplanan kanın bölgenin endoskopi ile görüntülenmesinde engel teşkil ettiğini vurgulamaktadır. Sunulan çalışmada gerçekleştirilen tüm lateral endoskopide, muayene sırasında meme başı zaman zaman serum fizyolojik ile yıkanıp temizlendiği için, hiçbir sorun ile karşılaşılması.

Araştırmada meme başı tıkanıklığına neden olan patolojik oluşumlar endoskopiyle ayrıntılı olarak görüntülenebildi. Bu tür patolojik oluşumlar beyaz-pembe renkleriyle normal meme başı dokusundan ayırt edilebilmekteydi. Benzer şekilde, Medl ve ark. (1994), Seeh ve ark. (1997)'de endoskopinin meme başında süt akımını engelleyen patolojik oluşumların tanı ve tedavisinde çoğu kez uygun bir metot olduğunu; patolojik değişikliklerin detaylı ve renkleriyle birlikte ortaya konulabileceğini ifade etmektedirler. Seeh ve Hospes (1997), endoskopinin sadece kliniksel diagnostik spektrumu genişletmediğini, aynı zamanda optik kontrol altında meme başında şirurjikal girişimlere, meme başından örnek doku alınmasına ve meme içerisine ilaç verilmesine olanak sağladığını vurgulamaktadır.

Sunulan araştırmada toplam 18 akut olguda (2 Ductus papillaris'te, 4 Fürstenberg rozeti çevresinde ve 12 adet de Sinus papillaris'te) endoskopi, birçok çalışmada (Seeh ve ark. 1997; Hospes ve Seeh 1998; Melle 1998; Querengässer 1998; Seeh ve Hospes 1998; Kiossis 2000; Şendağ ve ark. 2005) uygulandığı gibi, tedavi amacıyla kullanıldı. Bu tekniğe Theloresektoskopi denmektedir. Bu tür girişimlerde meme başındaki lezyonlar endoskopi cihazındaki elektro-koter sisteminin (Şekil 2B) kullanılmasıyla ekstirpe edildi. Melle (1998), Ductus papillaris'teki 92 adet süt akışını engelleyen lezyonun tedavisinde endoskopik ekstirpasyon işlemini kullanmıştır. Aynı araştırmacı başarılı endoskopik cerrahi işlemlerin ilerleyen dönemlerde meme bezi için herhangi bir risk oluşturmadığını da vurgulamaktadır. Kiossis (2000), 51 adet meme başında endoskopi ile gerçekleştirdiği operasyondan 5 hafta sonra, ilgili meme başlarının %75'inde sağımın kolaylıkla yapılabildiğini ve aynı hayvanların kızgınlıklar sonrası tohumlandığını ifade etmektedir. Sunulan çalışmada endoskopi ile gerçekleştirilen cerrahi operasyonlardan 10 gün sonraki kontrollerde, ilgili meme başlarının elle kolaylıkla sağlabildiği görüldü.

Sonuç olarak; meme başında süt akışını engelleyen stenozislerin tanı ve görüntülü tedavisinde endoskopinin (Theloresektoskopi) başarılı bir şekilde kullanılabileceği kanısına varıldı. Metodun dezavantajı ise, cihazın şu an için pahalı oluşudur. Bu çalışmanın, Theloresektoskopi'nin ülkemizde tanınması ve saha veterinerleri tarafından pratik kullanımının yaygınlaştırılmasına katkı sağlayacağı inancındayız.

KAYNAKLAR

- Alaçam E, Dinç DA, Güler M, Elma E (1990).** Vorkommen und röntgenologische untersuchungen verschiedener zitzenveränderungen bei milchkühen. *Dtsch Tierärztl Wschr*, 97, 509-52.
- Cartee EC, Ibrahim AK, McLeary D (1986).** B-mode ultrasonography of the bovine udder and teat. *JAVMA*, 188, 1284-1287.
- Dinç DA, Şendağ S, Aydın İ (2000).** Diagnosis of teat stenosis in dairy cattle by realtime ultrasonography. *Vet Rec*, 147, 270-272.
- Dümmer N (1998).** Vergleichende Palpatorische, Sonographische Und Endoskopische Untersuchungen Der Zitzen Eutergesunder Und Euterkranker. Kühe. Diss., Med., Vet., Hannover.

- Foitzik D (2001).** Vergleich Der Postoperativen Behandlung Von Zitzenkanalstenosen Bei Milchkühen Mittels Wollzitzenstift Oder Keratelin Zäpfchen Nach Geishauser® Unter Endoskopischer Kontrolle. Diss., Med., Vet., Hannover.
- Grunert E, Hoedemarker M, Weigt U (1995).** Euterkrankheiten In: Buiatrik, Grunert E (Ed), 5. baski, Cilt 1, M & H Schaper, Hannover.
- Hospes R (2003).** Milchabflußstörungen Und Minimalinvasive Zitzenoperationen Beim Rind-Entwicklung Einer Neuen Operationsmethode (Theloresektoskopie) Und Vergleichende Studien. Habilitationsschrift, Justus-Liebig Universitaet, Giessen.
- Hospes R, Seeh C (1998).** Untersuchungen zu den operationsergebnissen nach theloresektoskopischen eingriffen an der zitze des rindes. *Tierärztl Umsch*, 53, 420-429.
- Hospes R, Seeh C (1999).** Sonographie Und Endoskopie An Der Zitze Des Rindes. Schattauer Verlag, Stuttgart.
- Kubicek J (1972).** Die röntgenologische darstellung der zitze des rindes. Beitrag zur klinik der milchabflubstörungen. *Tierärztl Umsch*, 27, 119-124.
- Jenninger S (1989).** Ultraschalluntersuchungen An Der Milchdrüse Des Rindes. Physiologische Und Pathologische Befunde. Diss. Med. Vet., München.
- Kiossis E (2000).** Diagnostische Und Therapeutische Möglichkeiten Der Zitzenendoskopie Und Ihre Auswirkung Auf Die Eutergesundheit. Diss. Vet. Med., München.
- Kubicek J (1975).** Die gedeckten zitzenverletzungen beim rind. *Tierärztl Umsch*, 30: 59-65.
- Medl M, Querengässer K, Wagner C, Paarmann S, Rüschi P (1994).** Zur abklärung und behandlung von zitzenstenosen mittels endoskopie. *Tierärztl Prax*, 22, 532-537.
- Melle T (1998).** Vergleichende Studie Zu Diagnostischen Möglichkeiten Bei Tiefen Zitzenstenosen Mittels Ultraschall Und Endoskopie, Diss. Med. Vet., Gießen.
- Querengässer K (1998).** Diagnose Und Therapie Von Zitzenstenosen Beim Rind Mittels Endoskopie, Diss. Med. Vet., Zürich.
- Radmacher D (1980).** Untersuchungen Über Ätiologie, Therapie Und Prognose Von Zitzenstenosen Beim Rind. Diss Med Vet, Hannover.
- Rüschi P (1988).** Die Gedeckten Zitzenverletzungen Beim Rind. Habilitationsschrift, Zürich.
- Saratsis P, Grunert E (1994).** Ultraschalluntersuchung zur abgrenzung der räumlichen ausdehnung von zitzenstenosen und anderen zitzenveränderungen beim rind. *Dtsch Tierärztl Wschr*, 100, 159-63.
- Seeh C, Hospes R (1997).** Zitzenendoskopie. Neue wege in der diagnose und therapie von zitzenverletzungen. *Milchpraxis*, 35, 64-66.
- Seeh C, Hospes R (1998).** Erfahrungen mit einem theloresektoskop im vergleich zur konventionellen zitzenendoskopie bei der diagnose und therapie gedeckter zitzenverletzungen. *Tierärztl Prax*, 26 (G): 110-18.
- Seeh C, Melle T, Medl M, Hospes R (1998).** Systematische einteilung der milchabflußstörungen des rindes anhand endoskopischer befunde unter besonderer berücksichtigung der gedeckten zitzenverletzungen. *Tierärztl Prax*, 26 (G): 174-86.
- Seeh C, Stengel KH, Schlenstedt R, Geishauser T, Bostedt H (1997).** Endoskopische prüfung der schleimhautverträglichkeit eines neuartigen strichkanalstabes im vergleich zu konventionellen zitzenstiften und einer verweilkanüle. *Tierärztl Praxis*, 25, 329-335.
- Sing G, Vig MM, Kumar VR (1975).** Contrast radiography in the diagnosis of teat affections. *Vet Rad*, 16, 11-12.
- Stocker H, Bättig U, Duss M, Zähner M, Flückiger M, Eicher R, Rüschi P (1989).** Die abklärung von zitzenstenosen beim rind mittels ultraschall. *Tierärztl Prax*, 17, 251-256.
- Şendağ S, Dinç DA (1999).** İneklerde memenin ultrasonografisi. *Türk J Vet Anim Sci*, Ek sayı 23, 545-552.
- Şendağ S, Hospes R, Wehrend A, Hetzel U, Failing K, Bostedt H (2005).** Vergleichende studie zu diagnostischen möglichkeiten bei zitzenschleimhautläsionen des rindes. *Tierärztl Prax* (G), 4, 232-238.
- Wendt K (1994).** Milchabflußstörungen In: Euter- Und Gesäugekrankheiten, Wendt K, Bostedt H, Mielke H, Fuchs HW (Ed), 318-326, Fischer, Jena, Stuttgart.
- Will S, Würgau T, Fraunholz J, Bouabid C, Leidl W (1990).** Sonographische befunde an der papilla mammae des rindes. *Dtsch Tierärztl Wschr*, 97, 403-406.
- Witzig P, Hugelshöfer J (1984).** Abklärung von zitzenstenosen beim rind mit hilfe des doppelkontraströntgens. *Schweiz Arch Tierheilk*, 126, 155-163.
- Witzig P, Rüschi P, Berchthold M (1984).** Diagnose und therapie von zitzenstenosen beim rind unter besonderer berücksichtigung des röntgens und der thelotomie. *Veterinärmed Nachr*, 2, 122-32.



Isolation of Some Aerobic Bacteria and *Mycoplasma* spp. from Goat Milk with Clinical and Subclinical Mastitis

Samet KOLTAŞ Ziya İLHAN

Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, Van, Turkey

Received: 02.02.2016

Accepted: 20.02.2016

SUMMARY

In this study, it was aimed to isolate some aerobic bacteria and *Mycoplasma* species from the milk samples collected from the goats with clinical and subclinical mastitis. A total of 188 milk samples were collected from the 5 different goat farms. Of the 188 samples, 13 (6.9%) were clinical mastitis and 175 (93.1%) were subclinical mastitis that was evaluated by California mastitis test (CMT). Of the 188 samples, 135 (71.8%) were positive and 53 (28.2%) were negative by bacteriological culture. When CMT and culture results were compared, of the 184 CMT positive milk samples, 135 (73.3%) were positive and 49 (26.7%) were negative by culture. As pure culture, 34 (25.1%) milk samples were positive for *Staphylococcus aureus*, 21 (15.5%) for coagulase negative staphylococci (CNS), 18 (13.3%) for *Micrococcus* spp., 9 (6.6%) for *Streptococcus* spp., 5 (3.7%) for *Staphylococcus epidermidis*, 4 (2.9%) for *Escherichia coli*, 1 (0.7%) for *Enterococcus columbae*, 1 (0.7%) for *Pasteurella multocida*, 1 (0.7%) for *Enterococcus* spp., 1 (0.7%) for *Listeria* spp., 1 (0.7%) for *Klebsiella* spp., 1 (0.7%) for *Enterobacter* spp., 1 (0.7%) for fungus. *Mycoplasma* spp. were not isolated from any of the tested samples. The results of this study can be summarized as follows: i) when CMT and culture results (49 samples tested positive by CMT, but negative by culture) were compared by two proportion method, statistical relationship between CMT and culture was statistically significant ($P < 0.001$). So, the CMT was not enough to give reliable results for the pre-detection of subclinical mastitis in goats; ii) the ideal planting method applied to goat's milk was seen as after 10 min centrifugation at 4000 rpm was streaked from the pellet by cotton swab; iii) the isolation rate from the milk samples with clinical mastitis is higher than the milk samples with subclinical mastitis; iv) the majority of the streptococci belong to serogroup D; v) the most prevalent isolated bacteria from both the milk samples with clinical mastitis and the milk samples with subclinical mastitis were *S. aureus* and CNS.

Key Words: Bacterium, Goat, Isolation, Mastitis, *Mycoplasma* spp.

ÖZET

Klinik ve Subklinik Mastitisli Keçi Sütlerinden Bazı Aerobik Bakteri ve *Mycoplasma* spp. İzolasyonu*

Bu çalışmada, Van ve Hakkâri yöresinde yetiştirilen klinik ve subklinik mastitisli keçi sütlerinden bazı aerobik bakterilerle, mikoplazmaların izolasyonu amaçlandı. Çalışma kapsamında, 5 farklı işletmede barınan 13 (%6.9) adeti klinik, California mastitis testi (CMT) ile yapılan değerlendirmeye göre ise 175 (%93.1) adeti subklinik mastitisli olan toplam 188 adet keçiden alınan aynı sayıdaki süt örneği incelendi. İzolasyon sonuçları toplam olarak değerlendirildiğinde, 188 adet süt örneğinin 135'inden (%71.8) kültür pozitif sonuç alınırken, 53 (%28.2) örnekten ise her hangi bir bakteri üremesi olmadı. CMT ve kültür sonuçları karşılaştırıldığında, CMT pozitif 184 süt örneğinden 135'i (%73.3) kültür ile de pozitif sonuç verirken, 49'u (%26.7) ise negatif sonuç verdi. Saf kültür olarak gerek klinik mastitisli gerekse subklinik mastitisli keçi sütlerinden en yüksek oranda 34 (%25.1) *Staphylococcus aureus* üredi. Bunu takiben saf kültür olarak örneklerin 21'inden (%15.5) koagulase negatif stafilkokoklar (KNS), 18'inden (%13.3) *Micrococcus* spp., 9'undan (%6.6) *Streptococcus* spp., 5'inden (%3.7) *Staphylococcus epidermidis*, 4'ünden (%2.9) *Escherichia coli*, 1'inden (%0.7) *Enterococcus columbae*, 1'inden (%0.7) *Pasteurella multocida*, 1'inden (%0.7) *Enterococcus* spp., 1'inden (%0.7) *Listeria* spp., 1'inden (%0.7) *Klebsiella* spp., 1'inden (%0.7) *Enterobacter* spp. ve 1'inden (%0.7) ise maya izole edildi. İncelenen örneklerin hiç birinden *Mycoplasma* spp. izole edilmedi. Sonuç olarak; i) CMT ve bakteriyolojik kültür sonuçları Z oran testine göre karşılaştırıldığında; CMT pozitif, kültür negatif (49 örnek) sonuçlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ($P < 0.001$) belirlendi ve bu nedenle, CMT'nin keçilerdeki subklinik mastitislerin ön teşhisinde yeteri düzeyde güvenilir sonuç vermediği, ii) keçi sütlerine uygulanan ideal ekim yönteminin, 4000 rpm'de 10 dk santrifüj işleminden sonra "tortudan svabla yapılan yayma yöntemiyle ekim" olduğu, iii) klinik mastitisli süt örneklerinden, subklinik mastitisli örneklere göre daha yüksek oranda bakteri izole edildiği, iv) izole edilen streptokokların büyük çoğunluğunun D serogrubuna ait oldukları, v) mastitisli keçi sütlerinden en yüksek oranlarda *S. aureus* ile KNS'in izole edildiği belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Bakteri, İzolasyon, Keçi, Mastitis, *Mycoplasma* spp.

GİRİŞ

Keçiler, kurak ve bitki örtüsü fakir coğrafi alanlarda beslenebilen ve bu bölgeleri diğer ruminant türlerine göre çok daha iyi değerlendirebilen kanaatkâr hayvanlardır. Bu hayvanlar, kırsal alanda yaşayan ve coğrafi şartları tarıma ve diğer ruminant yetiştiriciliğine uygun olmayan arazilerde yaşayarak, belki de toplumun en alt gelir düzeyine sahip insanlar için önemli bir geçim kaynağı olarak görülmektedir. Genel olarak keçi sütü inek sütüne benzemekle birlikte, daha düşük oranda süt yağı, laktoz ve protein içermektedir. Besin değeri oldukça yüksek olan ve özellikle çocuklarla yaşlıların beslenmesinde temel besin maddelerinden biri olan sütün, beklenen etkilerini gösterebilmesi için temiz ve sağlıklı olarak tüketilmesi gerekmektedir.

Mastitis genel olarak, memenin deriyi içermeyen glandüler dokusunun yangısı olarak tanımlanmaktadır. Mastitis; süt veriminin azalmasına, sütün yapısı ve kalitesinin bozulmasına, memenin körelmesine, bazı vakalarda tedavi edilmediğinde annenin ölümüne, süt emen yavrulara hastalığın bulaşmasına neden olabilen ve tüm dünyada yaygın olarak görülen önemli bir enfeksiyondur (Stuhr ve Aulrich 2010). Değişik şekillerde sınıflandırılan mastitislerin en önemli formları, klinik ve subklinik mastitislerdir. Subklinik mastitis, meme dokusunda henüz klinik olarak gözlemlenebilen bir değişiklik oluşmadan ve ancak özel testlerle ortaya konulabilen bir meme enfeksiyonudur. Alınan çeşitli önlemlere rağmen gerek klinik gerekse subklinik mastitisler dünyanın birçok bölgesinde süt verimi için yetiştirilen sığır, koyun ve keçilerde yaygın olarak görülen önemli bir enfeksiyondur (Ekin 1998; Bergonier ve ark. 2003; Ekin ve Gurturk 2006; Contreras ve ark. 2007; İslam ve ark. 2011; Najeeb ve ark. 2013).

Mastitislerin bakteriyel etiyolojisi dikkate alındığında, ruminant mastitislerinden 100'den fazla mikroorganizmanın izole edildiği, fakat bunların çok azının klinik mastitislerden sorumlu olduğu ifade edilmektedir (Bergonier ve ark. 2003; Quinn ve ark. 2011). Örneklerden en fazla izole edilen ajanlar arasında *Staphylococcus aureus*, çeşitli koagülaz negatif stafilkokoklar (KNS), *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *Escherichia coli*, çeşitli *Mycoplasma*, *Enterococcus*, *Pasteurella*, *Enterobacter*, *Listeria*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Kebsiella*, *Pseudomonas* türleriyle çeşitli mikotik ajanlar bulunmaktadır (Contreras ve ark. 2007; Quinn ve ark. 2011; İslam ve ark. 2012; Athina ve ark. 2015).

Dünyanın farklı bölgelerinde keçi mastitisleriyle ilgili yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda, daha çok bakteriyel etkenlerin ortaya konulmasının amaçlandığı görülmektedir. Kenya'da 7 farklı sürüde beslenen değişik ırklara ait 315 adet keçiden alınan 630 adet süt örneği; subklinik mastitis yönünden California mastitis testi (CMT) ve bakteriyolojik kültür yöntemleriyle karşılaştırmalı olarak test edilmiştir. Konvansiyonel yöntemlere göre yapılan değerlendirmede, CMT pozitif 62 örneğin 9'undan (%14.5) her hangi bir bakteri üremesinin olmadığı, 40 (%64.5) örnekten koagülaz pozitif stafilkokokların (KPS), 5 (%8.1) örnekten *Actinomyces* türlerinin, 3 (%4.8) örnekten KNS'in, 3 (%4.8) örnekten *Streptococcus* türlerinin ve 2 (%3.2) örnekten ise değişik türden Gram negatif bakterilerin ürediği bildirilmiştir. CMT negatif süt örneklerinin (568 adet) 71'nden (%12.5) KNS'in, 32'sinden (%5.6) *Micrococcus* türlerinin, 9'undan (%1.5) *Acinetobacter* türlerinin, 4'ünden (%0.7) KPS'in, 12'sinden

(%2.1) ise çeşitli Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin karışık olarak ürediği ifade edilmiştir (Ndegwa ve ark. 2000). Bangladeş'te gerçekleştirilen bir çalışmada, 242 adet keçi incelenmiş ve bunlardan 11'inin (%4.5) klinik, 90'nının (%37.1) ise subklinik mastitisli oldukları belirlenmiştir. Klinik mastitisli hayvanlara ait sütlerin tamamından, subklinik mastitisli hayvanlara ait sütlerin ise 83'ünden (%92.2) kültür pozitif sonuç alındığı bildirilmiştir. İdentifikasyonun konvansiyonel yöntemlere göre yapıldığı çalışmada, örneklerin 55'inden (%58.5) KNS, 8'inden (%8.5) *S. aureus*, 5'inden (%5.3) *Streptococcus* spp., 3'ünden (%3.1) *Bacillus* spp., 7'sinden (%7.4) *E. coli* ve 5'inden (%5.3) ise çeşitli Gram negatif bakterilerin ürediği rapor edilmiştir (İslam ve ark. 2011). Pakistan'da 2 farklı coğrafi bölgede yetiştirilen 300 adet keçiden alınan süt örnekleri, öncelikle subklinik mastitis yönünden whiteside test ile analiz edilmiş ve 90'nının (%30) pozitif sonuç verdiği saptanmıştır. Yapılan izolasyon çalışmasında, örneklerden en yüksek oranda (%61.6) *S. aureus* ve bunu takiben *E. coli* (%10.9), *Streptococcus* spp. (%9.6), *Bacillus* spp. (%6.8), *Pseudomonas* spp. (%6.8) ve *Corynebacterium* spp. (%4.1) izole edildiği ifade edilmiştir (Najeeb ve ark. 2013).

Mastitisle ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de araştırmaların daha çok sığırlarda yapıldığı, koyun ve özellikle de keçilerde çalışmaların oldukça yetersiz olduğu dikkati çekmektedir. Bu çalışmada, Van ve Hakkâri yöresinde yetiştirilen klinik ve subklinik mastitisli keçi sütlerinden bazı aerobik bakterilerle ve mikoplazmaların izolasyonu amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışma kapsamında, Van (4 adet) ve Hakkâri (1 adet) bölgelerinde yetiştirilen 5 farklı işletmede barınan keçiler, veteriner hekimler tarafından klinik olarak muayene edildi. Örnek alınan hayvanların yaklaşık 15-20 gün öncesine kadar herhangi bir antibiyotik almamış olmasına dikkat edildi. Örnekler, her keçiden 1 adet olacak şekilde, klinik mastitisli hayvanların hastalıklı meme loblarından, subklinik mastitisli hayvanların ise her iki meme lobundan alındı. İzolasyon amacıyla klinik mastitisli 13 adet ve subklinik mastitisli 175 adet olmak üzere toplam 188 adet süt örneği uygun şartlarda steril tüplere 8-10 ml miktarında alınarak, kısa sürede ve soğuk zincirde, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına ulaştırıldı (Quinn ve ark. 2011). Gerçekleştirilen bu çalışma için Yüzüncü Yıl Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığından 30.06.2015 Tarih ve 352 Sayılı yazı ile çalışma izni alınmıştır.

Klinik ve subklinik mastitisli sütlerin belirlenmesi:

Klinik mastitisli hayvanların belirlenmesi amacıyla, veteriner hekim tarafından dikkatli bir şekilde kontrol edilen hayvanlarda, meme bölgesinde görülen yangı semptomlarıyla, sütte görülen değişiklikler dikkate alındı (Quinn ve ark. 2011). Bu bulguları gösteren 13 hayvan klinik mastitisli olarak değerlendirildi. Subklinik mastitisin belirlenmesi amacıyla, ticari test solüsyonuyla CMT uygulandı. Pozitif olgularda jelleşmenin oluşum süresi, kıvamı ve rengi dikkate alındı. Buna göre pozitif örnekler +1, +2 ve +3 şeklinde skorlandı (Ekin 1988).

İzolasyon: Örneklerden kanlı agar (Blood agar base, 1.10886, Merck, Darmstadt, Germany), MacConkey agar (1.05465, Merck), Edwards medium (CM0027, Oxoid,

Basingstoke, England), mannitol salt agar (CM0085, Oxoid), *Mycoplasma* broth (211458, Becton Dickinson, Sparks, USA) ve *Mycoplasma* agara (CM0401, Oxoid) ekimler yapıldı. Kanlı agar ve Edwards medium üretici firmaların önerileri doğrultusunda, %5-7 defibrine koyun kanı ilave edilerek hazırlandı. MacConkey ve mannitol salt agarlar prosedürlerine uygun olarak hazırlanıp, kullanıldı. Ekim yapılan besiyerleri aerobik atmosferde ve 37°C'de, her gün üreme kontrolleri yapılarak 24-72 saat inkübe edildi. *Mycoplasma* broth ve *Mycoplasma* agar üretici firmaların önerileri doğrultusunda, steril edildikten sonra 40-45°C'ye kadar soğutulup, % 15 inaktive at serumu (SR0035C, Oxoid) ve kristalize penisilin (2000 IU/ml) (I.E. Ulugay İlaç Sanayi Türk A.Ş.) eklenerek hazırlandı.

Keçi sütlerinden bakteriyel etkenlerin izolasyonu amacıyla ideal ekim yönteminin belirlenmesi için örneklerden, farklı şekillerde kanlı agara ekimleri yapıldı ve aerobik atmosferde, 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Yapılan uygulama sonrasında ideal ekim yönteminin, süt örneklerinin 4000 rpm 10 dk santrifüj edilmesinden sonra steril svab ile tortudan yayma yöntemiyle yapılan ekim olduğu belirlendi ve çalışma süresince ekimler bu şekilde gerçekleştirildi.

Mikoplazmaların izolasyonu amacıyla santrifüj aşamasından sonra (4000 rpm, 10 dk) steril svablarla tortudan alınan örnekler, svabla birlikte *Mycoplasma* brotha konulup, 37°C'de ve %7 CO₂'li etüvde (MCO-17A1C, Sanyo, Japan), 14 gün inkübe edildi. İnkubasyondan sonra besiyerlerindeki svablarla *Mycoplasma* agara yayma yöntemiyle ekimler yapıldı, 37°C'de ve %7 CO₂'li etüvde, 21 gün inkübe edildi.

İdentifikasyon: Ekim yapılan besiyerlerinde üreyen ve muhtemel mastitis etkeni olarak değerlendirilen bakteriler, konvansiyonel yöntemlere göre identifiye edildi (Aydın ve ark. 2006; Quinn ve ark. 2011). İzole edilen streptokok şüpheli etkenlerin serotiplenmesinde ticari kitle (Omega Diagnostic Avipath Strep., Scotland, UK) lateks aglutinasyon testi uygulandı. Test üretici firmanın önerisine göre gerçekleştirildi.

İstatistiksel Analiz: Çalışmaya ait CMT ve bakteriyolojik kültür sonuçları, Z-oran testine göre Minitab (Demo ver. 17.0) istatistik paket programı kullanılarak, analiz edildi (Bağırkan 1993).

BULGULAR

CMT sonuçları: Çalışma kapsamında klinik olarak sağlıklı görünen keçilerden toplanan süt örneklerinin CMT ile analizinde, 175 (%34.9) adetinin pozitif verdiği görüldü ve bu hayvanlar subklinik mastitisli olarak değerlendirildi. Diğer yandan klinik olarak mastitisli oldukları belirlenen hayvanların 11'i (%84.6) CMT ile pozitif sonuç verdi.

Kültür sonuçları: İncelenen 5 farklı işletmenin tamamından kültür pozitif sonuçların alındığı çalışmada, 188 süt örneğinin 135'inden (%71.8) kültür pozitif sonuç alınırken, 53 (%28.2) örnekten ise her hangi bir bakteri üremesi olmadı. Subklinik mastitisli 175 keçinin süt örneklerinin 124'ünde (%70.8) üreme olurken, 51 (%29.2) örnekte ise üreme olmadı. Klinik mastitisli 13 hayvana ait süt örneklerinin 11'inden (%84.7) kültür pozitif sonuç alınırken, 2'sinden (%15.3) ise negatif sonuç alındı.

Toplam 14 farklı cins veya türde etkenin izole edildiği çalışmada, etkenler örneklerin 104'ünden (%77.1) saf kültür olarak, 31'inden (%22.9) ise karışık kültür olarak üredi. Sütlerin 125'inden (%92.5) Gram pozitif (96'sı saf, 29'u karışık), 11'inden (%7.4) Gram negatif (6'i saf, 5'i karışık) bakteriler ürerken, 1'inden (%0.7) ise maya üredi.

Gerçekleştirilen bu çalışmada, incelenen süt örneklerin hiç birinden *Mycoplasma* spp. üremedi. Çalışmaya ait izolasyon sonuçları Tablo 1'de sunuldu.

Süt örneklerinden izole edilen 9 adet streptokok suslarından ticari kitle yapılan serotiplendirme sonuçları tablo 2'de sunuldu.

Tablo 1. Çalışma kapsamında incelenen mastitisli keçi sütlerinden izole edilen aerobik bakteriler

Table 1. Aerobic bacteria isolated from the milk samples with mastitis

Bakteri	Klinik mastitis n (%)	Subklinik mastitis n (%)	Toplam n (%)
<i>S. aureus</i>	5 (45.4)	29 (23.3)	34 (25.1)
KNS	3 (27.2)	18 (14.5)	21 (15.5)
<i>Micrococcus</i> spp.	-	18 (14.5)	18 (13.3)
<i>Corynebacterium</i> spp.	-	10 (8.1)	10 (7.4)
<i>Streptococcus</i> spp.	-	6 (4.8)	6 (4.4)
<i>S. epidermidis</i>	1 (9.1)	4 (3.2)	5 (3.7)
<i>E. coli</i>	-	4 (3.2)	4 (2.9)
<i>E. columbae</i>	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>P. multocida</i>	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>Enterococcus</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>Listeria</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>Klebsiella</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>Enterobacter</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
Maya	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>S. aureus</i> + KNS	1 (9.1)	11 (8.8)	12 (8.8)
<i>S. aureus</i> + <i>Micrococcus</i> spp.	-	3 (2.4)	3 (2.2)
<i>S. aureus</i> + <i>E. coli</i>	-	3 (2.4)	3 (2.2)
<i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus</i> spp.	-	2 (1.6)	2 (1.4)
<i>S. aureus</i> + <i>Enterococcus</i> spp.	-	2 (1.6)	2 (1.4)
KNS + <i>Micrococcus</i> spp.	1 (9.1)	1 (0.8)	2 (1.4)
KNS + <i>Enterococcus</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
KNS + <i>E. coli</i>	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>S. aureus</i> + KNS + <i>E. coli</i>	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>S. aureus</i> + <i>Corynebacterium</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>Micrococcus</i> spp. + <i>Corynebacterium</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
<i>S. aureus</i> + KNS + <i>Streptococcus</i> spp.	-	1 (0.8)	1 (0.7)
Toplam	11(84.6)	124(70.8)	135(71.8)

CMT ve bakteriyolojik kültür sonuçlarının karşılaştırılması: Klinik ve subklinik mastitisli hayvanlara ait sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, CMT pozitif 184 hayvandan (9'u klinik, 175'i subklinik mastitisli) 135'i (%73.3) kültür pozitif, 49'u (%26.7) ise negatif sonuç verdi. Klinik mastitisli 13 hayvana ait süt örneklerinden 9'u (%69.2) CMT ile pozitif sonuç verirken, 4'ü (%30.8) ise negatif sonuç verdi. Klinik mastitisli ve CMT pozitif 9 hayvana ait örneklerin tamamı kültür ile de

pozitif sonuç verirken, subklinik mastitisli 175 hayvana ait süt örneklerinin 124'ü (%70.9) kültür pozitif, 51'i (%29.1) ise negatif olarak değerlendirildi.

Tablo 2. Mastitisli keçi sütlerinden izole edilen streptokok suşlarının serogruplandırılması

Table 2. Serogrouping of streptococci isolated from the goat milk with mastitis

İzolat no	Serogrup					
	A	B	C	D	F	G
1	+			++		+
2		+		+		
3			+	++		
4				+		
5				+		
6				+		
7	+			+		
8				+		+
9			+++			

+: Zayıf pozitif, ++ : Pozitif, +++: Güçlü pozitif

İstatistiksel analiz sonuçları: CMT ile pozitif olarak değerlendirilen, ancak kültür ile negatif sonuç veren 49 adet süt örneği dikkate alındığında, iki yöntem arasındaki farkın istatistiksel bakımdan önemli olduğu görüldü ($P < 0.001$).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Keçi sütü endüstrisi, özellikle de keçi sütünden üretilen peynir ve dondurma sektörü, son yıllarda dünyanın birçok bölgesinde önemli düzeyde gelişme gösteren bir gıda sektörü olarak görülmektedir. Bazı üstün özellikleri nedeniyle koyun ve sığır sütlerinden farklı olan keçi sütü, ülkemizde de son zamanlarda artan oranlarda bazı süt ürünlerinde kullanılmakta ve beğenilerek tüketilmektedir. Küresel ısınmaya bağlı olarak coğrafi şartların muhtemelen giderek kötüleşecek olması, daha olumsuz çevre ve iklim şartlarında barınabilen bu hayvanlara bağlı süt endüstrisinin gelecekte önemini muhtemelen daha da arttıracaktır (İlhan ve ark. 2011).

Dünya'nın farklı bölgelerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde, subklinik mastitislerin ön teşhisinde en fazla CMT'in kullanıldığı görülmektedir. Söz konusu yöntemin güvenilirliğini belirlemek ve hastalığın bakteriyel etiolojisini ortaya koymak amacıyla, Yunanistan'da, klinik olarak sağlıklı görünen 324 adet keçiden alınan süt örnekleri CMT ve kültür yöntemleriyle analiz edilmiştir. CMT ile pozitif değerlendirilen 208 örneğin 116'sı (%55.7) kültür ile de pozitif sonuç verirken, 92'si (%44.3) negatif sonuç vermiştir. Diğer yandan CMT ile negatif olan 116 örneğin 72'si (%62.1) kültür ile de negatif bulunurken, 44'ü (%37.9) ise pozitif bulunmuştur (Athina ve ark. 2015). Gerçekleştirilen bu çalışmada, CMT ile pozitif olarak değerlendirilen 184 hayvandan 135'i (%73.3) kültür ile pozitif sonuç verirken, 49'u (%26.7) ise negatif sonuç verdi. Klinik mastitisli ve CMT pozitif 9 (%69.2) hayvana ait süt örneklerinin tamamı kültür ile de pozitif sonuç verirken, CMT pozitif olan ve böylece subklinik mastitisli olarak değerlendirilen 175 hayvana ait süt örneklerinin 124'ü (%70.9) kültür pozitif, 51'i (%29.1) ise negatif sonuç verdi. Klinik mastitisli 9 ve subklinik mastitisli 124 hayvana ait süt örneklerinin hem CMT hem

de kültür ile pozitif sonuç vermeleri ve mastitisin teşhisinde kültür yönteminin "gold standart" olarak kabul edilmesi, bu hayvanların gerçekten bakteriyel nedenli mastitisli oldukları şeklinde yorumlanabilir. Mastitisin teşhisinde "gold standart" olarak kabul edilen ve bu çalışmada da uygulanan bakteriyolojik kültür yöntemine ait sonuçlar dikkate alındığında, fazla sayıdaki CMT pozitif örneğin (49 örnek, %26.7), kültür ile negatif sonuç verdiği görüldü. CMT ile pozitif olarak değerlendirilen, ancak kültür ile negatif sonuç veren 49 adet süt örneği dikkate alındığında, iki yöntem arasındaki farkın istatistiksel bakımdan önemli olduğu görüldü ($P < 0.001$). Bu veri dikkate alınarak, CMT'nin keçilerdeki subklinik mastitislerin ön teşhisinde yeteri düzeyde güvenilir sonuç vermediği düşünüldü. Ancak, konuyla ilgili daha sağlıklı yorumlar yapabilmek için farklı keçi ırklarına ait çok daha fazla sayıda örneğin incelenmesi faydalı olabilir.

Keçi mastitislerinden çeşitli Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler izole edilmektedir. Etkenler, Gram özelliklerine göre değerlendirildiğinde, vakalardan daha çok Gram pozitif bakterilerin izole edildiği görülmektedir. Toplam 324 adet süt örneğinin kullanıldığı bir çalışmada, örneklerin 166'sından kültür pozitif sonuç alındığı, bunların %84.3'ünün Gram pozitif, %15.7'sinin ise Gram negatif etkenler olduğu görülmektedir (Athina ve ark. 2015). Başka bir çalışmada, incelenen 242 adet süt örneğinin kültür pozitif sonuç verenlerin %75.5'inden Gram pozitif, %24.5'inden ise Gram negatif bakteriler olduğu görülmektedir (Islam ve ark. 2011). Gerçekleştirilen bu çalışmada, kültür pozitif 135 örneğin %92.5'inden Gram pozitif, %7.4'ünden ise Gram negatif bakteriler üredi. Konuyla ilgili literatür verileriyle (Islam ve ark. 2011; Athina ve ark. 2015) benzerlik gösteren bu durum, diğer hayvanlarda olduğu gibi, keçi mastitislerinin etiolojisinde de, Gram pozitif etkenlerin rolünü göstermesi bakımından önemli olarak değerlendirilebilir.

Yapılan çalışmalarda, keçi mastitislerinden en yüksek oranda *S. aureus*'un izole edildiği görülmektedir (Manser 1986; Bergonier ve ark. 2003; Contreras ve ark. 2007). Konuyla ilgili yapılan bir çalışmada, 5 farklı sürüye ait 510 adet keçi arasından CMT ile subklinik mastitisli oldukları saptanan, 115 adet keçiye ait süt örnekleri stafilkoklar yönünden kültür yöntemiyle analiz edilmiştir. Örneklerin 23'ünden (%20) pozitif sonuç alınmıştır. Yapılan identifikasyon çalışmasında izolatların 14'ünün (%60.8) *S. aureus*, 9'unun (%39.1) ise *S. epidermidis* olduğu rapor edilmiştir (Ebrahimi ve ark. 2004). Ruminantlarda hem klinik hem de subklinik mastitislerden en yüksek oranda izole edilen etkenlerden biri olan *S. aureus* (Contreras ve ark. 2007), Van ve Hakkâri yöresindeki keçilerde yapılan bu çalışmada da klinik ve subklinik mastitisli keçi sütlerinden gerek saf kültür olarak (34 örnek, % 25.1) gerekse karışık kültür olarak (25 örnek, %18.5) en yüksek oranda (toplam 59 örnek, %43.7) izole edildi. Bu durum, söz konusu etkenin keçi mastitisleriyle mücadele ve kontrol programlarının oluşturulmasında dikkate alınmasının gerekli olduğunu göstermektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, subklinik keçi mastitislerinden KNS'nin daha yüksek oranlarda izole edildiği bildirilmektedir (Stuhr ve Aulrich 2010). Keçi sütlerinden en yüksek oranda *S. epidermidis* ve *S. caprae*'nin ile izole edildiği görülmektedir (Maisi 1984; Contreras ve ark. 1997; Contreras ve ark. 2007; Stuhr ve Aulrich 2010). *S. epidermidis* hariç, diğer KNS'nin tür düzeyinde identifiye edilmediği bu çalışmada, incelenen örneklerden ikinci en yüksek oranda (saf kültür 21 örnek, %15.5; karışık kültür 17 örnek, %12.6; toplam 38 örnek, %28.1) diğer KNS izole edildi. Bu etkenlerin mastitis

vakalarından yüksek oranlarda izole edilmesi, söz konusu etkenlerin meme bölgesine iyi derecede adapte olduklarının bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Beslenme uzmanları ve diyetisyenlerin önerileri dikkate alındığında (Nergiz Ünal ve Besler, 2012), keçi sütüne olan talebin gelecekte daha da artacağı düşünülebilir. Artan süt ihtiyacını karşılamak amacıyla, halen yapılmakta olan intansif keçi yetiştiriciliği muhtemelen gelecekte daha da artacaktır. Bu hipotezden hareketle, KNS hayvanlar arasından direkt ya da indirekt bulaşma yollarıyla daha kolaylıkla bulaşarak, çok daha önemli enfeksiyonlara neden olabilecektir.

Stafilokoklar kadar yüksek oranlarda olmamakla birlikte, mastitisli keçi sütlerinden farklı türden streptokoklar da izole edilmektedir. Kenya'da yapılan bir çalışmada CMT ile pozitif sonuç veren 62 adet keçi sütünün bakteriyolojik analizinde, 3'ünden (%4.8) *Streptococcus* spp. ürettiği rapor edilmiştir (Ndegwa ve ark. 2000). Bangladeş'te yapılan bir çalışmada ise test edilen 101 adet keçi sütünün 5'inden (%5.3) *Streptococcus* spp. ürettiği ifade edilmiştir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, Aydın ve yöresinde barınan 116 adet keçiden alınan 232 adet süt örneği, kültür yöntemiyle test edilerek, örneklerin 24'ünden (%10.3) *S. agalactiae* ürettiği bildirilmiştir (Keskin ve ark. 2011). Gerçekleştirilen bu çalışmada, 6 (%4.4) örnekten saf kültür olarak, 3 (%2.2) örnekten ise karışık kültür olarak *Streptococcus* spp. üremesi gerçekleşti. Ticari kitle yapılan serogrublendirmede, izolatların en fazla D serogrubunda olduğu saptandı (Tablo 2). Bu bulgu, Van ve Hakkâri bölgelerinde yetiştirilen keçilerdeki mastitis vakalarından en fazla grup D streptokokların sorumlu olduğunu göstermesi bakımından önemli olarak değerlendirilebilir.

Keçi mastitislerinin en önemli bakteriyel etkenlerinden biri de mikoplazmalardır. Küçük ruminantlarda mastitise neden olan mikoplazma türlerinin başında *M. capricolum* subsp. *capricolum*, *M. mycoides* subsp. *mycoides*, *M. agalactiae* ve *M. putrefaciens* gelmektedir (Quinn ve ark. 2011). Dünya'nın değişik bölgelerinde, mastitisli keçi sütlerinde değişik oranlarda farklı mikoplazma türleri izole edilmiştir (Contreras ve ark. 2003; Bandeira ve ark. 2008). Bu çalışma kapsamında incelenen 188 adet süt örneğinin hiç birinden mikoplazma cinsine ait her hangi bir etken izole edilmedi. Bu durum, incelen hayvanların gerçekten bu bakteriden arı olmalarıyla ilgili olabileceği gibi, nazlı üreyen mikoplazmalarla ilgili bu çalışmada uygulanan izolasyon yönteminin yetersizliği ile de ilgili olabilir. Van ve Hakkâri bölgelerindeki keçi mastitislerinde mikoplazmaların öneminin ortaya konulması bakımından, farklı izolasyon yöntemlerinin uygulandığı ve daha fazla sayıda örneğin test edileceği çalışmaların yapılması, faydalı olacaktır.

Gerçekleştirilen bu çalışmada sonuç olarak; i) CMT ve bakteriyolojik kültür sonuçları Z oran testine göre karşılaştırıldığında; CMT pozitif, kültür negatif (49 örnek) sonuçlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ($P < 0.001$) ve bu nedenle de CMT'nin keçilerdeki subklinik mastitislerin ön teşhisinde yeterli düzeyde güvenilir sonuç vermediği, ii) keçi sütlerine uygulanan ideal ekim yönteminin, 4000 rpm'de 10 dk santrifüj işleminden sonra "tortudan svabla yapılan yayma yöntemiyle ekim" olduğu, iii) klinik mastitisli süt örneklerinden, subklinik mastitisli örneklere göre daha yüksek oranda bakteri izole edildiği, iv) izole edilen

streptokokların büyük çoğunluğunun D serogrubuna ait oldukları, v) mastitisli keçi sütlerinden gerek saf gerekse karışık olarak en yüksek oranlarda *S. aureus* ile KNS'ın izole edildiği belirlendi.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmayı 2015-SBE-YL231 No'lu proje kapsamında destekleyen Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine ve istatistiksel analizlerinin yapılmasına yardımcı olan Doç. Dr. Abdullah YEŞİLOVA'ya teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Athina T, Chrissa V, Ilias G, Anastasios T, Ioannis S (2015). Study on the prevalence of subclinical mastitis and the related bacterial flora in the raw milk of primiparous indigenous Greek Goats. *J J Vet Sci Res*, 1(4), 17-22.
- Aydın N, İzgür M, Diker KS, Yardımcı H, Esenal Ö, Paracıoğlu J, Akan M (2006). Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). İlke-Emek Yay, 1. Baskı, s: 5-29, Ankara.
- Bağırkan Ş (1993). İstatistiksel Analiz, Bilim Teknik Yayınevi, İstanbul.
- Bandeira DA, Castro RS, Azevedo EO, Nascimento ER, Melo LSS, Melo CB (2008). Infection by *Mycoplasma agalactiae* in dairy goat herds in the microregions of Cariri in Paraíba State, Brazil. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 60, 5, 1255-1258.
- Bergonier D, De Cremoux R, Rupp R, Lagriffoul G, Berthelot X (2003). Mastitis of dairy small ruminants. *Vet Res*, 34, 689-716.
- Contreras A, Corrales JC, Sanchez A, Sierra D (1997). Persistence of subclinical intramammary pathogens in goats throughout lactation. *J Dairy Sci*, 80, 2815-2819.
- Contreras A, Sierra D, Sanchez A, Corrales JC, Marcoc JC, Paape MJ, Gonzalo C (2007). Mastitis in small ruminants. *Small Rum Res*, 68, 145-153.
- Ebrahimi A, Shams N, Shahrokh S, Mirshokraei P (2004). Characteristics of staphylococci isolated from mastitic goat milk in Iranian dairy herds. *Vet World*, 3, 5, 205-208.
- Ekin İH (1998). İneklerde Subklinik Mastitis Olgularından İzole Edilen Streptokokların Serogrublendirmesi ve Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Ekin İH, Gürtürk K (2006). Characterization of bovine and human group B streptococci isolated in Turkey. *J Med Microbiol*, 55, 517-521.
- İhan Z, Taşal İ, Sağcan S, Solmaz H (2011). Subklinik mastitisli keçi sütlerinden aerobik bakterilerin izolasyonu. *YYÜ Vet Fak Derg*, 22, 89-91.
- Islam MA, Samad MA, Anisur AKM (2011). Bacterial pathogens and risk factors associated with mastitis in black bengal goats in Bangladesh. *Bangl J Vet Med*, 9, 2, 155-159.
- Keskin D, Atay O, Kırkan S, Gokdal O, Tekbıyık S, Kaya O (2011). Detection of *Streptococcus agalactiae* existence within milk samples of hair goats grown in West Anatolia Region. *Agril J*, 6, 1, 31-34.
- Maisi P, Mattila T, Sandholm M (1984). Mastitis whey - a good medium for bacteria? *Acta Vet Scand*, 25, 297-308.
- Manser PA (1986). Prevalence, causes, and laboratory diagnosis of subclinical mastitis in the goat. *Vet Rec*, 118, 552-554.
- Najeeb MF, Anjum AA, Ahmad MUD, Khan HM, Ali MA, Sattar MMK (2013). Bacterial etiology of subclinical mastitis in dairy goats and multiple drug resistance of the isolates. *J Anim Plant Sci*, 23, 1541-1544.
- Ndegwa EN, Mulei CM, Munyua SJ (2000). The prevalence of subclinical mastitis in dairy goats in Kenya. *J S Afr Vet Assoc*, 71, 1, 25-27.
- Nergiz Ünal R, Besler T (2012). Beslenmede Sütün Önemi. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 727, 2. Basım, s: 3-18, Ankara.
- Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, FlizPatrick ES, Fanning S, Hartigan PJ (2011). Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Second Edit, pp: 38-91, Blackwell Science Ltd, Oxford, UK.
- Stuhr T, Aulrich K (2010). Intramammary infections in dairy goats: recent knowledge and indicators for detection of subclinical mastitis. *Landbauforsch*, 4, 267-280.



Detection of Causative Agents in Goat Mastitis and their Antibiotic Resistance in Hatay Region

Zafer CANTEKIN¹ Gamze Ozge OZMEN¹ Melek DEMİR¹,
Zeynep YILMAZ ER¹ Hasan SOLMAZ² Yasar ERGUN³

¹ Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, Hatay, Turkey

² Adiyaman University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmasotic Microbiology, Adiyaman, Turkey

³ Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics & Gynecology, Hatay, Turkey

Received: 01.02.2016

Accepted: 28.03.2016

SUMMARY

Goat farming in many countries has significant economic importance. In recent years, there is a trend to goat products. Milk quality is associated with somatic cell counts that can be affected intra-mammary infections. The aim of this study is isolation and identification of causative bacterial, yeast and fungal mastitis agents in goat mastitis and detection of antibiotic resistance in bacterial isolates. Totally 220 milk samples from 110 goats in 11 farms were studied for isolation and identification of the agents. And antibacterial resistance of isolated microorganism were studied by disk diffusion method. Totally 30 strains isolated from samples and identification, isolation was made from 28 (12.73%) of 220 milk samples. Among these 30 isolates, 15 (50%) *Coagulase Negative Staphylococci*, 8 (26.67%) *S. aureus*, 5 (16.67%) *S. uberis* and 2 (6.67%) *E. coli* was identified. Identification was confirmed by molecular analyses from the direct culture of isolates. The highest resistance were found against to penicillin 21 (70%) and amoxicillin 19 (63.33%), and isolates highly sensitive to gentamicin 30 (100%), enrofloxacin 28 (93.3%), oxytetracycline 28 (93.3%) and amoxicillin + clavulanic acid 27 (90%). Periodical studies and constant monitoring of antibiotic resistance might be beneficial for therapy and prevention strategies and useful management acquisition of antibiotic resistance.

Key Words: Antibiotic resistance, Goat milk, Mastitis

ÖZET

Hatay Bölgesinde Keçi Mastitis Etkenlerinin ve Etkenlerin Antibiyotik Dirençlerinin Belirlenmesi

Birçok ülkede keçi yetiştiriciliği belirli bir ekonomik öneme sahiptir. Son yıllarda keçi ürünlerine yönelik bir eğilim vardır. Süt kalitesi meme içi infeksiyonlar tarafından etkilenen somatik hücre sayısı ile ilişkilidir. Bu çalışmanın amacı, keçilerde mastitise neden olan bakteri, maya ve mantarların izolasyonu ve identifikasyonu ve ayrıca izole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesidir. Bu amaçla, 11 farklı keçi çiftliğinde 110 keçiden alınan toplam 220 süt örneğinde etken izolasyonu ve identifikasyonu yapıldı. Ayrıca izole edilen bakteriyel izolatların antibiyotik dirençleri disk difüzyon testi ile araştırıldı. Çalışmada toplanan 220 adet süt örneğinin 28 (%12.73)'inden 30 adet bakteri izole edildi. Bu 30 izolattan, 15 (%50)'i koagülaz negatif stafilokok, 8 (%26.67)'i *S. aureus*, 5 (%16.67)'i, *S. uberis* ve 2 (%6.67)'si de *E. coli* olarak identifiye edildi. İdentifikasyonlar, izolatların direkt kültürlerinden yapılan moleküler analizler ile teyit edildi. Bu suşlarda en yüksek antibiyotik direnci penisilin 21 (%70) ve amoksisilin 19 (%63.33)'e karşı bulundu, buna karşın izolatların 30 (%100)'u gentamisin'e, 28 (%93.3)'i enrofloksasin'e, 28 (%93.3)'i oksitetrasiklin'e ve 27 (%90)'si de amoksisilin + klavulanik asit'e duyarlı bulundu. Yapılacak periyodik çalışmalarla keçi mastitislerinden etkenlerin ve antibiyotik direnç durumlarının belirlenmesi hastalığın tedavi ve korunmasında oldukça yararlı veriler sağlayabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, Keçi sütü, Mastitis

INTRODUCTION

Goat farming has significant economic importance in many countries. In recent years, there has been a trend toward goat products. In recent times, goat-related products, such

as goat's milk and goat's cheese, have become popular (Boyazoglu et al. 2005). There are about 500.000 goat farms in Turkey, and goat farming contributes to the incomes of 3.000.000 people (Dellal and Dellal 2005). Recently, it was emphasized that the rapid decreasing in

the goats presence in Turkey due to insufficient macroeconomic policies, although economic and geographical conditions was very suitable for goat breeding. And, it was suggested that supporting and increasing of effective goat breeding (Gunlu and Alasahan 2010). The number of goats in Hatay province, while it was reported as 57.568 in the 2002, it was reported 142.185 in the 2014 year (Anon. 2016).

Milk quality is associated with somatic cell counts (SCCs), which are used as a marker of milk quality payments in many European Countries (Bergonier et al. 2003). Various factors can affect the SCC of goat milk, the breed and age of the animals, lactation stage, oestrus, milk production, management conditions and intra-mammary infections (mastitis) (Poutrel et al. 1997). Therefore, goat mastitis has implications for the economy and public health (Bergonier et al. 2003).

Staphylococcus spp., particularly *Staphylococcus aureus*, are the most commonly reported bacteria in goat mastitis (Bergonier et al. 2003). Many studies have reported that *S. aureus* can cause gangrenous mastitis when *Clostridium* spp. are also present (Islam et al. 2011). Besides *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. (*S. agalactiae*, *S. uberis* and *S. dysgalactiae*), *Pasteurella* (*Manhaemia*), *haemolytica*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Mycoplasma* spp. and rarely, *Salmonella* spp. and *Listeria* spp. have been reported to cause mastitis (Bergonier et al. 2003).

Studies about goat mastitis are very rare in Turkey (Ciftci et al. 1996; Aydin et al. 2009; Dogruer et al. 2010; Ilhan et al. 2011). The detection of causative agents in goat mastitis and their susceptibility to antibiotics can assist in both goat health and public health by initiating treatment of the disease or culling infected animals. The aim of this study was to detect causative agents of mastitis and the susceptibility of these agents to antibiotics in purebred and half-bred Damascus goats in the Hatay region.

MATERIALS and METHODS

Sampling

Consist of purebred and half-bred Damascus goats farms with an average 100-500 goats per farm were selected prior to sampling in Hatay Region, Turkey. The sampled farms were randomly selected from studied provinces. Four provinces of Hatay were visited and milk samples were collected from 4 farms in Yayladagi, 2 farms in Hassa, 1 farm in Reyhanli and 4 farms in Altinozu. Ten animals were selected randomly and both udder halves sampled without California Mastitis Test (CMT). Clinically infected goats were not selected for sampling in this study. Goats were sampled before the evening or morning milking. Udder halves were cleaned and disinfected prior to sampling with 70% alcohol and dried with sterile cotton. The first 3 squirts of milk were discarded and approximately 5-10 mL of milk samples was taken in sterile tubes for microbiological examinations. Samples were collected aseptically according to a standard procedure (IDF, 1985) and transferred to the laboratory within 1-3 h in a 4-8 °C cooler. Totally 220 milk samples were collected.

Microbiological Culture

The milk samples were mixed and 100 µl of milk were streaked onto Blood Agar and Edward's Medium (supplemented with 7% defibrinated sheep blood) and Mac Conkey's Lactose Agar and Sabouraud Dextrose Agar. Bacteriological and mycological isolation and identification

were performed by the classical culture method and standard biochemical tests. For the bacterial identification, after incubation for 24 and 48 hours at 37°C, colonies in Blood Agar Plates were examined for colony characteristics, morphology and haemolysis properties. Sub-cultured pure colonies have (someone) undergo Gram staining, catalase test and oxidase test. And other biochemical tests; clumping factor, tube coagulase test, thermostable nuclease test, mannitol fermentation, the Christie-Atkins- Munch-Petersen (CAMP) reaction, esculin hydrolysis on Edwards Medium, sodium hippurate hydrolysis, nitrate reduction, gelatin hydrolyzation, urease production, Oxidation-Fermentation, motility in semi-solid medium, growing Mac Conkey Agar and Lactose fermentation test, IMVIC tests were carried out to identification of the isolates (Carter 1990; Quinn et al. 1994).

For the *Mycoplasma* spp. isolation, 1 ml of milk sample was transferred to 9 ml of PPLO broth medium (supplemented with horse sera, thallium acetate, and penicillin) and incubated at 37°C for two weeks under microaerophilic conditions. After the incubation, 100µl aliquots were transferred from the PPLO broth medium to PPLO agar (supplemented with horse sera, thallium acetate, and penicillin) and incubated at 37°C for two weeks under microaerophilic conditions according to Carter (1990) and Quinn et al. (1994).

Antibiotic susceptibility test

For the antibiotic susceptibility test, colonies from the Columbia blood agar medium were suspended in 2 ml of sterile saline and density of these suspensions was adjusted to McFarland Opacity Standard No; 0.5. The bacterial suspensions were inoculated onto Mueller-Hinton agar with the dry cotton swabs. The antibiotic disks, containing the antibiotics were dispensed on the surface of the medium and incubated aerobically at 37°C for 18 h. Antimicrobial sensitivity was tested by the disk diffusion method of Bauer et al. (1966) on Mueller Hinton Agar (Oxoid) and performed according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2013). The following antibacterial disks (Oxoid) were used: Penicillin G (10 µg, P), Amoxicillin (10 µg, AML), Amoxicillin + Clavulanic acid (30µg, AMC), Enrofloxacin (5µg, ENR), Gentamicin (10µg, CN), Oxytetracycline (30 µg, T) and Erythromycin (15µg, E). The results were recorded as resistant, intermediate or susceptible by the measurement of the inhibition zone diameter according to the interpretive standards of CLSI (2013). *S. aureus* ATCC 25923 and *S. epidermidis* (ATCC 12228) were used as control strain for the antibiotic susceptibility tests.

Molecular Diagnosis

PCR (Polymerase Chain Reaction) analyses were used for confirmation of biochemical identification of microorganisms. For the PCR analyses, *S. aureus* (ATCC 25923) and *S. epidermidis* (ATCC 12228) from department collection, and *Mycoplasma bovis* ATCC 25025 DNA (Dr. Jessie Trujillo, IOWA State University of Science and Technology, College of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Microbiology and Preventive Medicine) were used as positive control DNA.

A loopful of bacterial cells from pure subculture of isolates was suspended in 1 ml of sterile PBS (Phosphate-Buffered Saline, pH 7.4) and centrifuged at 5,000 x g for 5 min. The pellets were then resuspended in 300 µl of TE buffer (10 mM Tris-HCl pH 7.5, 1 mM EDTA) and a nucleic acid extraction was implemented according to the method of Sambrook and Russell (2001). The properties of the

primers are shown in Table 1. The simplex PCR protocols and procedures were carried out according to their references. After amplification, ten microliters of each amplification reaction mixture was analysed by

electrophoresis performed with a 1.5% (wt/vol) agarose gel stained with ethidium bromide (0.7 µg/ml). After migration with 160 volts for 30 minute, amplification products were visualized under ultraviolet light.

Table 1. Properties of primers used in the study

Agent (Target Gene)	Primer Name	Primer Sequences	Reference
<i>Staphylococcus spp.</i> (16s rRNA)	Staph294-318	5'-GCCGGTGGAGTAACCTTTTAGGAGC-3'	Cantekin et al. 2013
	Staph1522-1540	5'-AGGAGGTGATCCAACCGCA-3'	
<i>S. aureus</i> (Coa gene)	Coa 1	5'-GCTTCTCAATATGGTCCGAG-3'	Cantekin et al. 2013
	Coa 1	5'-CTTGTGAATCTTGGTCTCGC-3'	
<i>E. coli</i> (23S rRNA)	Eco 2083	5'-GCTTGACACTGAACATTGAG-3'	Riffon et al. 2001
	Eco 2745	5'-GCCTTATCTCTCCGCATT-3'	
<i>S. agalactiae</i> (16S rRNA gene)	Sag 40	5'-CGCTGAGTTTGGTGTTTACA-3'	Riffon et al. 2001
	Sag 445	5'-CACTCCTACCAACGTTCTTC-3'	
<i>S. dysgalactiae</i> (16S rRNA gene)	Sdy 105	5'-AAAGGTGCAACTGCATCACTA-3'	Riffon et al. 2001
	Sdy 386	5'-GTCACATGGTGGATTTTCCA-3'	
<i>S. parauberis</i> (23S rRNA gene)	Spa 301	5'-GCGACGTGGGATCAAATACT-3'	Riffon et al. 2001
	Spa 1219	5'-TACCATTACCTCTAAAGGTA-3'	
<i>S. uberis</i> (23S rRNA gene)	Sub 302	5'-CGAAGTGGGACATAAAGTTA-3'	Riffon et al. 2001
	Sub 396	5'-CTGCTAGGGCTAAAGTCAAT-3'	
<i>M. bovis</i> (membrane lipoprotein P81 gene)	Mb 1113-1133	5'-TATTGGATCAACTGCTGGAT-3'	Foddai et al. 2005
	Mb 1542-1560	5'-AGATGCTCCACTTATCTTAG-3'	
<i>T. pyogenes</i> (Plo gene)	Plo1	5'-GGCCGAATGTCACCGC-3'	Billington et al. 2002
	Plo2	5'-AATCCGCCTTAGCGC-3'	
<i>Candida spp.</i> (rRNA gene)	Cab1	5'-TATTAAGTTGTTGCAG-3'	Niesters et al. 1993
	Cab2	5'-CCTGCTTTGAACACTCTAATTT-3'	

RESULTS

Bacterial isolates were obtained from 28 (12.73%) of the 220 milk samples. In two samples (Sample No. 23 and 25) obtained from goats in the Yayladagi region, mixed culture were isolated. Thirty strains were isolated from these samples. Among these 30 isolates, 15 (50%) coagulase-negative *Staphylococci* (CNS), 8 (26.67%) *S. aureus*, 5 (16.67%) *S. uberis* and 2 (6.67%) *Escherichia coli* were identified. No yeast, fungi or *Mycoplasma spp.* was isolated from the samples. The identifications of isolates were confirmed by PCR from direct culture of these microorganisms. The highest resistance was found against penicillin and amoxicillin, with 21 (70%) and 19 (63.33%) isolates resistant, respectively. The isolates were also highly sensitive to gentamicin ($n=30$, 100%), enrofloxacin ($n=28$, 93.3%), oxytetracycline ($n=28$, 93.3%) and amoxicillin + clavulanic acid ($n=27$, 90%). The results of identification and antibiotic susceptibility of each strain are shown in Table 2.

DISCUSSION

In this Study, bacterial isolates were obtained from 28 (12.73%) of the 220 milk samples. Among these 30 isolates, 15 (50%) were CNS, 8 (26.67%) were *S. aureus*, 5 (16.67%) were *S. uberis* and 2 (6.67%) were *E. coli*. Among the isolated organisms in this study, CNS were the most prevalent microorganism. Similarly, White and Hinckley (1999) reported that the most prevalent agents in goat

mastitis were non-haemolytic *Staphylococcus spp.* ($n=406$, 38.2%), *S. aureus* ($n=117$, 11.0%), *Streptococcus spp.* other than *S. agalactiae* ($n=43$, 4.1%), *E. coli* ($n=17$, 1.6%) and *Pseudomonas spp.* ($n=13$, 1.2%). Aydin et al. (2009) detected pathogens in 60 samples and a prevalence of sub-clinical mastitis of 8.6% in 700 milk samples obtained from clinically healthy udder halves. They reported that CNS were the predominant organisms isolated (50%), followed by *Streptococcus sp.* (15%), *S. aureus* (11.7%) and other pathogens (23.3%). Ilhan et al. (2011) used classical bacteriological culture methods in a study of milk samples obtained from 148 goats. The bacteriological cultures were positive in 69 (46.6%) of the 148 samples. The bacterial strains isolated from the milk samples were 42 (60.8%) CNS, 11 (15.9%) *Staphylococcus aureus*, 11 (15.9%) *E. coli*, 2 (2.9%) *Corynebacterium spp.*, 1 (1.4%) *Streptococcus spp.*, 1 (1.4%) *C. pseudotuberculosis* and 1 (1.4%) *Aeromonas sp.* They concluded that CNS was the most frequently isolated bacterium in goat milk from animals with sub-clinical mastitis. Islam et al. (2011) also found that CNS were the most prevalent microorganisms in goat mastitis ($n=52$, 57.78%), followed by *S. aureus* ($n=4$, 4.44%), *Streptococcus sp.* ($n=4$, 4.44%), *Bacillus sp.*, ($n=3$, 3.33%), *E. coli* ($n=5$, 5.55%) and unidentified Gram-negative bacteria ($n=14$, 15.55%). On the other hand, some studies (Ciftci et al. 1996; Isnel and Kirkan 2012; Najeeb et al. 2013) found coagulase-positive *Staphylococci* were the most prevalent microorganisms. Ciftci et al. (1996) reported a sub-clinical mastitis prevalence of 9% (45 milk samples) in 500 goats. In their study, coagulase-positive *Staphylococci* (38.2%) were the most prevalent

microorganisms, followed by CNS (11.8%), *Corynebacterium* spp. (23.5%), *E. coli* (14.7%), yeast (5.9%) and *Flavobacterium* spp. (5.9%). Isnel and Kirkan (2012) isolated 102 (67.1%) microorganisms from 152 milk samples from hair goats. In their study, *S. aureus* (n=71, 69.6%) was the most common isolate, followed by *S. epidermidis* (n=8, 7.8%), *S. intermedius* (n=5, 4.9%), *S. hyicus* (n=6, 5.9%), *Corynebacterium* sp. (n=3, 2.9%), *Klebsiella pneumoniae* (n=4, 3.9%), *Pseudomonas* sp. (n=2, 2.0%), *E. coli* (n=2, 2.0%) and *Mannheimia haemolytica* (n=1, 1.0%). Ali et al. (2010) found that prevalence of subclinical mastitis was 71 (13%) in the 543 goats. And, they reported that among the isolated microorganism, *S. aureus* was the most common microorganism (45.34%), followed by *Streptococcus* spp. (22.74%), *E. coli* (11.55%) and *Klebsiella* spp. (3.65%). Najeeb et al. (2013) reported bacterial growth in 90 of 200 milk samples (45%) and

identified 146 strains in positive milk samples. Among these strains, the prevalence of *S. aureus* (61.64%) was the highest, followed by *E. coli* (10.96%), *Streptococcus* spp. (9.59%), *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. (6.85%) and *Corynebacterium* spp. (4.11%). In another study conducted in Hatay, Dogruer et al. (2013) reported bacterial growth in 41.4% of 200 CMT-positive milk samples from 505 goats. Among these strains, the most common microorganisms were CNS (51.1%), followed by coagulase-positive *Staphylococci* (20.4%), *Streptococcus* spp. (8%), *Bacillus* spp. (5.7%), *E. coli* (4.5%), *Corynebacterium* spp. (3.4%), *Pseudomonas* spp. (2.3%) and *Acinetobacter* spp. (2.3%). These differences might be because of milking hygiene (hygiene of parlour and the milker's hand), bedding material, climatic differences and the usage or not of post-milking teat dipping.

Table 2. Identification and antibiotic susceptibility of each isolated strain.

Samples Origin			Results of Antibiogram						
Identifications			ENR	AMC	P	AML	E	CN	OT
YAYLA DAĞI									
3	G1	<i>S. uberis</i>	S	S	R	R	S	S	S
18	G2	CNS	S	S	S	S	S	S	S
22	G3	<i>S. aureus</i>	S	S	S	S	S	S	S
23	G4	<i>S. aureus</i>	S	S	R	R	R	S	S
23	G5	<i>S. uberis</i>	S	S	R	R	S	S	S
25	G6	CNS	S	S	R	R	R	S	S
25	G7	<i>S. uberis</i>	S	S	R	R	R	S	S
26	G8	CNS	S	S	R	R	S	S	S
27	G9	<i>S. aureus</i>	S	S	S	S	S	S	S
28	G10	CNS	S	S	S	R	S	S	S
31	G11	CNS	R	S	R	R	R	S	S
64	G12	CNS	S	S	S	S	S	S	S
70	G13	<i>S. aureus</i>	S	R	R	R	S	S	S
HASSA									
2	G14	CNS	S	S	S	S	S	S	S
10	G15	CNS	R	S	S	S	S	S	S
37	G16	CNS	S	S	R	S	S	S	S
38	G17	<i>S. aureus</i>	S	S	R	R	S	S	S
39	G18	<i>S. aureus</i>	S	S	S	S	S	S	S
REYHANLI									
14	G19	CNS	S	S	R	R	R	S	S
15	G20	<i>S. uberis</i>	S	S	R	R	S	S	S
20	G21	<i>S. aureus</i>	S	S	R	R	R	S	S
ALTINÖZÜ									
2	G22	<i>S. uberis</i>	S	S	R	R	S	S	S
11	G23	<i>S. aureus</i>	S	S	R	S	S	S	S
35	G24	CNS	S	S	R	R	S	S	S
37	G25	CNS	S	S	R	R	S	S	S
40	G26	CNS	S	S	R	S	S	S	S
50	G27	CNS	S	S	R	R	S	S	S
54	G28	<i>E. coli</i>	S	R	R	R	R	S	I
57	G29	<i>E. coli</i>	S	R	R	R	R	S	I
80	G30	CNS	S	S	S	S	S	S	S
Resistant (%)			2 (6.67)	3 (10)	21 (70)	19 (63.33)	8 (26.67)	-	-
Intermediate (%)			-	-	-	-	-	-	2 (6.67)
Sensitive (%)			28 (93.3)	27 (90)	9 (30)	11 (36.67)	22 (73.33)	30 (100)	28 (93.3)

In this study, the highest antibiotic resistance was found against penicillin ($n=21$, 70%) and amoxicillin ($n=19$, 63.33%). The isolates were also highly sensitive to gentamicin ($n=30$, 100%), enrofloxacin ($n=28$, 93.3%), oxytetracycline ($n=28$, 93.3%) and amoxicillin plus clavulanic acid ($n=27$, 90%). Ali et al. (2010) reported similar results. In their study, the isolated strains were sensitive to gentamicin (96.15%), with the greatest resistance found against penicillin G (42.13%). Aydin et al. (2009) reported that most strains that were resistant to penicillin were also sensitive to gentamicin and enrofloxacin. Dogruer et al. (2013) reported that application of intramammary ampicillin dicloxacillin with intramuscular amoxicillin clavulanic acid in goats with subclinical mastitis was very effective for therapy. Isnel and Kirkan (2012) found that isolates were susceptible to amoxicillin plus clavulanic acid (100%) and resistant to penicillin (100%). Najeeb et al. (2013) recorded the highest resistance against penicillin (58.69%). In their study, most strains were also sensitive (83.33%) to amoxicillin plus clavulanic acid. Dogruer et al. (2013) reported that isolates were resistant to penicillin (77.7%), oxytetracycline (53.3%), gentamicin (53.3%), amoxicillin (51.1%), trimethoprim-sulfamethoxazole (33.3%), enrofloxacin (17.7%), amoxicillin plus clavulanic acid (11.1%), kanamycin-cefuroxime (0.06%) and cephalothin (0%).

CONCLUSION

In conclusion, this study identified goat mastitis agents in Hatay and investigated their antibacterial resistance. *Staphylococci*, especially CNS, were the most prevalent microorganisms in goat mastitis. These can be harmful to goat milk production by causing sub-clinical mastitis. The high prevalence of penicillin resistance in mastitis isolates is well known. The acquisition and spread of beta-lactamase activity among microorganisms is very easy and rapid. The use of penicillin containing the beta-lactamase inhibitor, such as clavulanic acid, can help to combat beta-lactamase activity. The use of beta-lactamase-inhibitor with penicillin can also be a useful strategy. High sensitivity to tetracycline in this study may be due to more less using this antibiotic in goat mastitis treatment. Periodical studies and constant monitoring of antibiotic resistance might be beneficial for treatment and prevention strategies and used to manage the acquisition of antibiotic resistance.

REFERENCES

- Ali Z, Muhammad G, Ahmad T, Khan R, Nazet S (2010). Prevalence of Caprine Sub-Clinical Mastitis, its Etiological Agents and their Sensitivity to Antibiotics in Indigenous Breeds of Kohat, Pakistan. *Pak J Life Soc Sci*, 8(1), 63-67.
- Anonym (2016). Hatay ili Tarımsal Yatırım Rehberi, http://www.tarim.gov.tr/SGB/TARYAT/Belgeler/il_yatirim_rehberleri/hatay.pdf Erişim Tarihi: 06 Mart 2016.
- Aydin İ, Kav K, Çelik HA (2009). Identification and antimicrobial susceptibility of subclinical mastitis pathogens isolated from hair goats' milk. *J Anim Vet Adv*, 8, 1086-1090.
- Bauer AU, Kirby WM, Sherris JC, Tack M (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *J Clin Pathol*, 45, 493-494.
- Bergonier DB, De Crémoux R, Rupp R, Lagriffoul G, Berthelot X (2003). Mastitis of dairy small ruminants. *Vet Res*, 34, 689-716.

- Billington SJ, Post KW, Jost BH (2002). Isolation of *Arcanobacterium* (*Actinomyces*) *pyogenes* from cases of feline otitis externa and canine cystitis. *J Vet Diagn Invest*, 14(2), 159-162.
- Boyazoglu J, Hatziminaoglou I, Morand-Fehr P (2005). The Role of the Goat in Society: Past, Present and Perspectives for the Future. *Small Rum Res*, 60, 13-23.
- Cantekin Z, Saidi R, Solmaz H, Ergun Y (2014). A Duplex PCR for Detection of *S. aureus* and *Staphylococcus* spp. from Culture and Bovine Milk Samples. *YYU Vet Fak Derg*, 2014, 25 (1), 11 - 13.
- Carter GR (1990). Isolation and identification of bacteria from clinical specimens. In: Carter GR, Cole JR. (Eds.) *Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology*. 5th edition, Academic Press Inc. San Diego, California.
- Çiftci MK, Berkin Ş, Erer H, Erganiş O, Kıran MM, Hatipoğlu F, Sağlam YS (1996). Keçi mastitisi üzerinde patolojik ve bakteriyolojik çalışmalar. *Vet Bil Derg*, 12(2), 105-114.
- CLSI (2013). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Dellal I, Dellal G (2005). Türkiye Keçi Yetiştiriciliğinin Ekonomisi. Süt Keçiciliği Ulusal Kongresi, 26-27 Mayıs, İzmir.
- Dogruer G, Sarıbay MK, Aslantaş O, Ergun Y, Aslantaş O, Demir C, Ates CT (2013). Treatment of subclinical mastitis in Damascus goats during lactation. *Small Rum Res* 90, 153-155.
- Dogruer G, Sarıbay MK, Aslantaş Ö, Kireççi E, Ergün Y, Ülkü A, Demir, C (2013). Keçilerde subklinik mastitiste prevalans, etiyoloji ve mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları V.Veteriner Doğum ve Jinekoloji Kongresi, 31 Ekim - 3 Kasım, Antalya, 2013.
- Foddai A, İdini G, Fusco M, Rosa N, de la Fe C, Zinellu S, Corona L, Tola S (2005). Rapid differential diagnosis of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma bovis* based on a multiplex-PCR and a PCR-RFLP. *Mol Cell Probes*, 19(3), 207-212.
- Günlü A, Alaşahan S (2010). Türkiye 'de Keçi Yetiştiriciliği ve Geleceği Üzerine Bazı Değerlendirmeler (Evaluations on the Future of Goat Breeding in Turkey). *Vet Hekim Der Derg*, 81(2), 15-20.
- IDF (1985). International Dairy Federation, Milk and Milk Products: Guidance on Sampling. International Dairy Federation, Standard 50B, Brussels, Belgium.
- İlhan Z, Taşal I, Sağcan S, Solmaz H (2011). Subklinik Mastitisli Keçi Sütlerinden Aerobik Bakterilerin İzolasyonu Isolation of Aerobic Bacteria from Goat Milk with Subclinical Mastitis. *YYU Vet Fak Derg*, 22(2), 89-91.
- İslam MA, Samad MA, Anisur Rahman AKM (2011). Bacterial Pathogens and Risk Factors Associated With Mastitis in Black Bengal Goats in Bangladesh. *Bangl J Vet Med*, 9(2), 155-159.
- Isnel NB, Kirkan S (2012). Isolation of Microorganisms from Goats with Subclinical Mastitis and Detection of Antibiotics Susceptibility. Subklinik Mastitisli Keçilerden Mikroorganizmaların İzolasyonu ve Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Araştırılması. *Animal Health Prod and Hyg*, 1(2), 106 - 112.
- Najeeb MF, Anjum AA, Ahmad MUD, Khan HM, Ali MA, Sattar MMK (2013). Bacterial etiology of subclinical mastitis in dairy goats and multiple drug resistance of the isolates. *J Anim Plant Sci*, 23(6), 1541-1544.
- Niesters HGM, Goessens WHF, Meis JFMG, Quint WGV (1993). Rapid, polymerase chain reaction-based identification assays for *Candida* species. *J Clin Microbiol*, 31, 904-910.
- Poutrel B, De Crémoux R, Ducelliez M, Verneau D (1997). Control of intramammary infections in goats: impact on somatic cell counts. *J Anim Sci*, 75, 566-570.
- Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR (1994). *Clinical Veterinary Microbiology*. Mosby-Year Book Europe Limited, Lynton House, London WC1H9LB, England. p. 209-236.
- Riffon R, Sayasith K, Khalil H, Dubreuil P, Drolet M, Lagace A (2001). Development of a Rapid and Sensitive Test for Identification of Major Pathogens in Bovine Mastitis by PCR. *J Clin Microbiol*, 39(7), 2584-2589.
- Sambrook J and Russell W (2001). *Molecular cloning: a laboratory manual* (3rd ed.), Cold Spring Harbor Press, New York. A8.9-A8.10. 2049-2050.
- White EC, Hinckley LS (1999). Prevalence of mastitis pathogens in goat milk. *Small Rum Res*, 33, 117-121.





Immunohistochemistry and PCR methods for the Diagnosis of BVDV in Cattle with Pneumonia in Erzurum Region

Mustafa ÖZKARACA¹ Mehmet Özkan TİMURKAN²

¹ Atatürk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, Erzurum, Turkey

² Atatürk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Virology, Erzurum, Turkey

Received: 04.03.2016

Accepted: 20.04.2016

SUMMARY

This study was aimed to present *Bovine Viral Diarrhea Virus* (BVDV) in bovine pneumonias with PCR and immunohistochemistry in Erzurum region, also aimed to determine what is the prevalence of agent in sampling term (01 December 2015-15 February 2016). For this purpose 600 bovine lungs were investigated in slaughterhouses that operated in Erzurum and surrounding counties. Due to evaluation of 72 (12%) lungs with pneumonia diagnosed macroscopically, the interstitial pneumonia n=43, suppurative bronchopneumonia n=23, and fibrinous pneumonia n=3 were classified according to histopathological findings. Immunopositivities of BVDV antigens were observed in 4 out of 72 (5.5%) samples. Same positive samples were confirmed with pestivirus genus specific primers to differentiate cross binding and dyeing in immunohistochemical procedures. Immunopositivity of the samples were located in bronchial epithelium, peribronchial, peribronchioler, inflammatory cells in intersitital areas; intima layer of arterioles; lymphoid cells in BALT. As a result we found that BVDV is found in 5.5% of the mature cattle pneumonia cases in Erzurum Region an it is an aetiological agent in natural cases of pneumonia in our sampling time.

Key Words: Cattle, Bovine Viral Diarrhea Virus, Immunohistochemistry, Pneumonia

ÖZET

Erzurum Yöresinde Pnömonili Sığırlarda BVDV' nin Teşhisinde İmmunohistokimya ve PCR Yöntemleri

Bu çalışmada *Bovine Viral Diarrhea Virus* (BVD)'nin Erzurum yöresi sığır pnömonilerindeki varlığının immunohistokimyasal yöntemle teşhisi ve PCR ile konfirmasyonu ayrıca örneklenen dönem içerisinde ne oranda bulunduğu tespiti amaçlanmıştır. Bu amaçla ilgili dönem içerisinde (01 Aralık 2015 - 15 Şubat 2016) Erzurum ve çevre ilçelerine hizmet veren bir mezbahada kesime alınan 600 sığır akciğer örneği incelendi. Makroskopik olarak pnömoni bulgusu gösteren 72 (%12) örneğin histopatolojik incelemesinde farklı türlerde pnömoni oldukları (43=intersitisyel pnömoni, 23=suppuratif bronkopnömoni, 3= fibrinöz bronkopnömoni) belirlendi. BVD yönünden immunohistokimyasal yöntemle tespiti yapılan 72 pnömoni örneğinden 4 (%5.5)' ünde immunpozitiflikler görüldü. Aynı pozitiflikler çapraz bağlanma ve boyanmaları ayırt etmek amacıyla pestivirus genus spesifik primerler kullanılarak PCR ile de doğrulandı. Bu dokulardaki immunpozitifliklere bronş epitel hücrelerinde, peribronşial, peribronşioler, intersitisyel alanlardaki yangısal hücrelerde, arteriollerin intima tabakasında, BALT'taki lenfoid hücrelerde rastlandı. Sonuç olarak; BVD' nin ilgili dönem içerisinde Erzurum yöresinde erişkin sığır pnömonilerinde %5.5 oranında bulunduğu ve doğal pnömoni olgularında rol oynayan etiyolojik ajanlardan birisi olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sığır, Bovine Viral Diarrhea Virus, İmmunohistokimya, Pnömoni

GİRİŞ

Bovine viral diarrhea (BVD) virusu, *Flaviviridae* ailesinde *pestivirus* genusunda bulunan bir virustur (Ridpath ve Bolin 1998). Dünya genelinde sığır endüstrisi için oldukça önemli olan bu enfeksiyon, özellikle fertilitate kaybına sebep olarak ekonomik kayıplara, gebelerde abortlara, ishale, yine solunum sistemi semptomlarına ve diğer etkenlerle karışarak şiddetli pnömonilere en son olarak ta gebe

hayvanlarda yavruya geçerek persite enfekte yavru doğumlarına sebep olmaktadır (Hilbe ve ark. 2007). Enfeksiyon ile mücadelede en büyük sorun persite olma durumudur. Persite yani kalıcı enfeksiyon sığırların yaklaşık olarak %1-3'ü oranında tespit edilmiştir. Bu hayvanlar klinik belirti göstermeksizin, hayatları boyunca sürüdeki diğer hayvanlara enfeksiyonu bulaştırırlar (Kahrs 2001) Özellikle akciğer enfeksiyonlarında bu durum sürü sağlığı açısından önem taşımakta, klinik belirti

göstermeyen hayvanlar sürekli virusu saçarak sürünün sağlığını tehlikeye sokmaktadırlar. Bu yüzden hızlı ve güvenilir bir yöntemle teşhis yapıp hasta hayvanların sürülerden uzaklaştırılması, bu enfeksiyonda bir kat daha önem arz eder.

Virüs vücuda ağız veya burun yolu ile girer. İlk replikasyonu üst solunum yolu ve barsak epitel hücrelerinde gerçekleşir (Houe 1999). Salivasyon, nazal akıntılar, mukozada ülserler ile kript hücrelerinde, kolon, rektum ve ileum lenfoid dokularında nekrozlar şekillenir (Odeón ve ark. 1999). Virüsün, fagositik hücreler ile lenfoid dokulara taşındığı ve bu bölgelerde primer çoğalma ardından viremi ile tüm vücuda yayılarak ateş, ishal, lökopeni ve immünosupresyona neden olduğu bildirilmiştir (Brownlie 1991). Etken solunum sisteminde ise bazen şiddetli pnömonilere neden olabilmektedir (Yeşilbağ ve ark. 2014). Şiddetli enfeksiyon durumlarını tetikleyen bazen viral ve bakteriyel ajanlar olabilmektedir. Bunlar içerisinde Bovine herpesvirus 1, Bovine parainfluenza virus 3, Bovine respiratory syncytial virus ve *Pasteurella haemolyticaviral* ve bakteriyel ajanlar olarak sayılabilir. Bu ajanların çoğunlukla da birlikte ve miks olarak seyrettiği ifade edilmiştir (Reggiardo ve Kaaberle 1981; Potgieter ve ark. 1984).

Hastalığın kesin tanısında direk teşhis için immunofloresans (IF) (Baker 1987; Fernandez ve ark. 1989), peroxidase linked antibody (PLA) (Fernandez ve ark. 1989), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) (Fernandez ve ark. 1989; Tan ve ark. 2006), elektronmikroskopi (EM) (Gillespie ve ark. 1990), immunohistokimya (IHC) (Wilhelmsen ve ark. 1991), revers transcriptaz- polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) (Oğuzoğlu ve ark. 2012) , indirek teşhiste ise serum nötralizasyon (SN) (Çabalar ve Karaoğlu 1999), İndirek immunofloresan (IIF) (Mogar ve ark. 1998), nötralizasyon immunperoksidaz (NPLA) (Hyera ve ark. 1987) testlerinden yararlanılmaktadır.

Yapılan literatür taramalarında etkenin Erzurum yöresinde sığır pnömonilerinde varlığının immunohistokimyasal yöntemle teşhisine yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle sunulan çalışmada BVD'nin Erzurum yöresi sığır pnömonilerindeki varlığının hem immunohistokimyasal yöntemle teşhisi ve PCR ile konfirmasyonu ayrıca örneklenen dönem içerisinde ne oranda bulunduğu tespitini amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali

Çalışma materyalini Erzurum ilinde faaliyet gösteren bir mezbahada kesimi yapılan sığırlara ait 600 adet akciğer örneği oluşturdu.

Histopatolojik İncelemeler

Makroskobik olarak pnömoni tanısı konulan 72 adet sığır akciğerine ait örnekler %10' luk nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Rutin alkol ksilol serilerinden geçirilen dokular parafin bloklara alındı. Bloklardan 5 µ kalınlığında alınan kesitler hematoksilin-eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda fibrinöz bronkopnömoni, suppuratif bronkopnömoni, intersitisyel pnömoni, granülatoz pnömoni ve embolik pnömoni şeklinde sınıflandırıldı (Lopez 2007).

İmmunohistokimyasal İncelemeler

Streptavidin-Biotin Kompleks metoduna göre ilgili firmanın önerdiği şekilde yapıldı (LSAB+ System- HRP, DAKO Carpinteria, USA). Bu amaçla polilislinli lamlara alınan 5 µm' lik kesitler ksilol ve alkol serilerinden

geçirildi. Kesitler PBS ile yıkandıktan sonra %3'lük H₂O₂' de 10 dk. tutularak endojen peroksidaz inaktivasyonu sağlandı. Dokulardaki antijeni açığa çıkarmak için antijen retrieval solüsyonu ile 2x5 dk 500 watt' da muamele edildi. Daha sonra PBS ile yıkanan dokular Anti-BVD antiserumu (VMRD, Katalog no. 210-70-BVD) ile 37° C de 1/500 dilüsyon oranında 30 dk süreyle inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda PBS ile yıkanan dokular biyotinlenmiş antikor ve Streptavidin-HRP'de 15'er dk bekletildi. Kromojen olarak 3,3 diaminobenzidine (DAB) kullanıldı. Yaklaşık 2 dk kromojende bekletilen kesitler saf su ile yıkandıktan sonra Mayer's hematoksilen ile zıt boyama yapıldı. Kesitler üzerine entellan damlatılarak ışık mikroskopunda incelendi.

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

İmmunohistokimyasal olarak pozitif belirlenen örnekler konfirmasyon amacıyla PCR ile incelendi. Ekstraksiyon öncesi akciğer doku örnekleri 25 mg olarak küçültüldü ve bir Ependorf tüpe konuldu. Üzerine çelik boncular ve lizis buffer konularak Tissue Lyser LT (Qiagen, Almanya) doku homojenizatörü ile 5000 rpm'de 15 dk boyunca parçalandı. Süre sonunda santifüj edilen örneklerin sıvı kısmı toplanarak supernatanta ekstraksiyon işlemi uygulandı. Çalışma materyalini oluşturan örneklerden pestivirus RNA'sının izolasyonu viral nükleik asit ekstraksiyon kiti (Vivantis, Malezya) ile firmanın belirttiği yöntemle uygun olarak gerçekleştirildi. İzolasyon sonunda elde edilen nükleik asitler cDNA eldesi için kalıp olarak kullanılmak üzere saklandı. RT amacıyla kullanılacak olan viral RNA'ların komplementer DNA'ya (cDNA) dönüştürülmesi amacıyla Revertaid First Strand cDNA kiti (Thermo Scientific, Almanya) kullanıldı. Firmanın öngördüğü şekilde yapılan prosedür sonunda cDNA elde edildi.

PCR reaksiyonu için Vilcek ve ark. (1994) tarafından bildirilen primerler (324 ve 326), yöntem ve optimizasyon koşulları kullanıldı. Reaksiyon sonrası elde edilen ürünler agaroz jel elektroforez işlemine tabi tutularak moleküler ağırlıklarına göre ayrıştırılıp ardından UV ışık altında 288 bp büyüklüğünde bantlar pestivirus genüsü 5'UTR gen bölgesi yönünden pozitif olarak değerlendirildi.

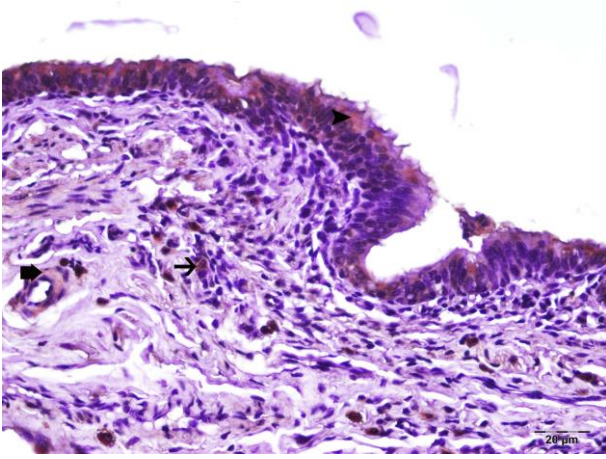
BULGULAR

Histopatolojik Bulgular

Makroskobik olarak pnömoni tanısı konulan 72 akciğer örneğinin histopatolojik incelemesinde 43'ü intersitisyel pnömoni, 23'ü suppuratif bronkopnömoni, 3'ü ise fibrinöz bronkopnömoni olarak sınıflandırıldı.

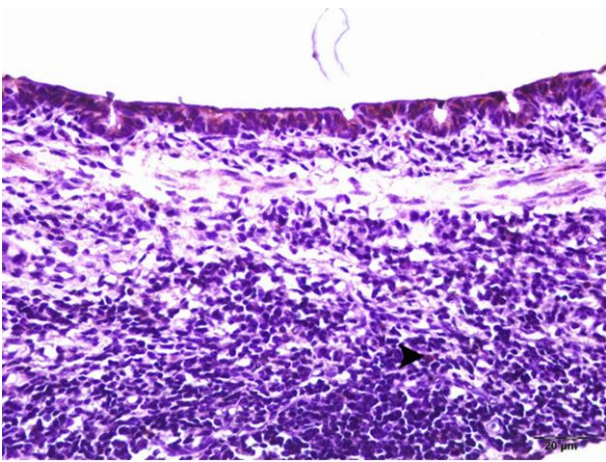
İmmunohistokimyasal Bulgular

BVD yönünden immunohistokimyasal boyama yapılan 72 pnömoni örneğinden 4 (%5.5)'ünde immunpozitiflikler görüldü. İmmunpozitiflikler intersitisyel pnömoni olarak sınıflandırılan örneklerde tespit edildi. Olguların tamamında immunpozitiflikler en şiddetli olarak, bronş epitel hücrelerinde, peribronşial alanlardaki yangısal hücrelerde sitoplazmik yerleşimli olarak ve arteriollerin intima tabakasında tespit edildi (Şekil 1). BALT' taki lenfoid hücrelerde ise daha hafif düzeyde immunpozitiflikler belirlendi (Şekil 2). Bunlara ek olarak peribronşioler ve intersitisyel alanlardaki yangısal hücrelerde de immunpozitifliklere rastlandı (Şekil 3,4).



Şekil 1. Bronş epitelinde (ok başı) ve yangısal hücrelerde (küçük ok), arteriol'ün intimasında (büyük ok) BVD immunpozitifliği.

Figure 1.BVD immunopositivity in bronch epithelium (arrowhead), inflammatory cells (small arrow), intima of arteriol (big arrow).

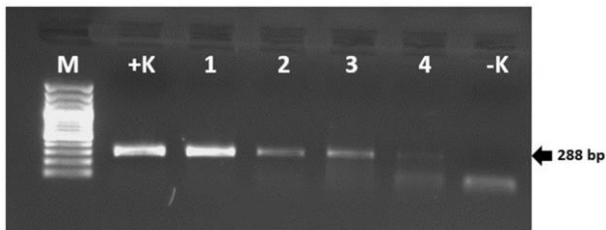


Şekil 2. BALT'taki lenfoid hücrelerde (ok başı) BVD immunpozitifliği.

Figure 2.BVD immunopositivity in lymphoid cells (arrowhead) of BALT.

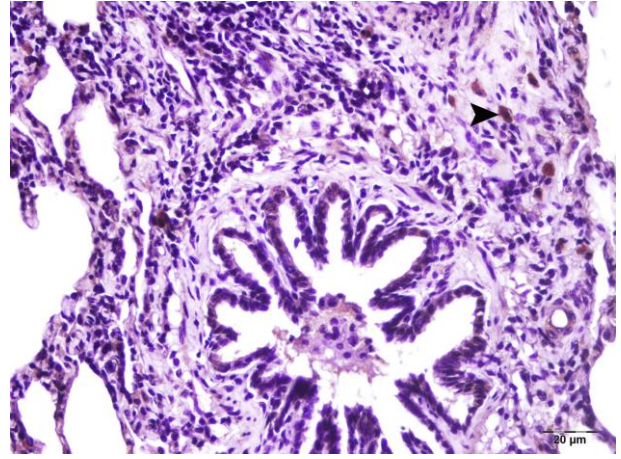
Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) Bulguları

İmmunohistokimyasal incelemede BVD immunpozitif olarak tespit edilen 4 örneğin tamamında viral nükleik asit tespit edildi (Şekil 5).



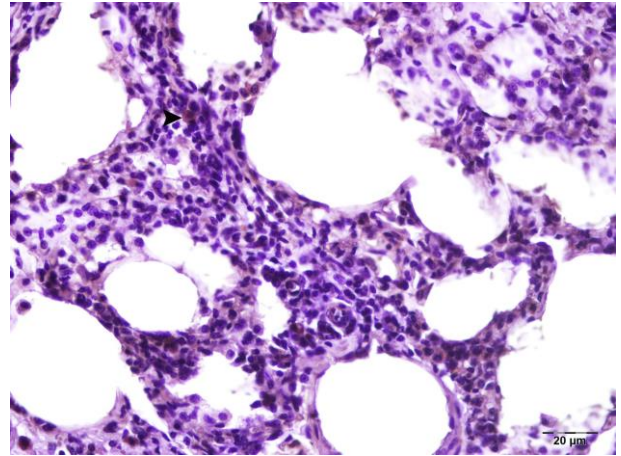
Şekil 5. Pestivirus genus 5'UTR gen bölgesi yönünden PCR sonuçları. 1, 2, 3, 4 pozitif örnekler, +K: Pozitif kontrol, -K:Negatif kontrol, M:Marker (100 bp DNA merdiveni, Thermo Scientific, Almanya), bp: Base-pair

Figure 5. PCR results of Pestivirus genus 5'UTR. 1, 2, 3, 4 positives samples. +K: Positive control., M: Marker (100 bp DNA ladder, Thermo Scientific, Germany), bp: Base-pair



Şekil 3. Peribronsioler alanlardaki yangısal hücrelerde (ok başı) BVD immunpozitifliği.

Figure 3.BVD immunopositivity in inflammatory cells of peribronchiolar.



Şekil 4. İntersitisyel alanlardaki yangısal hücrelerde (ok başı) BVD immunpozitifliği.

Figure 4.BVD immunopositivity in inflammatory cells of interstitial area.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Sunulan çalışmada 72 pnömoni örneğinden 4 (%5.5)'ünde BVD immunpozitifliği görülmüş ve immunpozitiflikler intersitisyel pnömoni olarak sınıflandırılan örneklerde tespit edilmiştir.

BVD'nin daha önce solunum sistemi hastalıklarından izole edildiği bildirilmiştir (Fulton ve ark. 2000). Sığırlardaki deneysel çalışmalarda BVD ile solunum sistemi enfeksiyonu oluşturulmuştur (Baker 1985). Bununla birlikte bazı çalışmalarda diğer viral ve bakteriyel ekenlerle sinerjistik olarak enfeksiyona dahil olduğu bildirilmiştir (Potgieter ve ark. 1984; Stott ve ark. 1980).

Sunulan çalışmada BVD pozitif 4 olgunun intersitisyel pnömoni karakterinde bulunduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde Ellis ve ark. (1998)'da buzağılarda yaptıkları deneysel BVD enfeksiyonunda intersitisyel pnömoni şekillendiğini bildirmişlerdir.

Literatür taramalarında BVD' nin immunohistokimyasal yöntemle teşhisi ile ilgili olarak bazı çalışmalar yapılmıştır (Wilhemsen ve ark. 1990; Ellis ve ark. 1998; Shahriar ve

ark. 2002; Gagea ve ark. 2006; Yeşilbağ ve ark. 2014). Shahriar ve ark. (2002) yaptıkları bir çalışmada pnömonili sığır olgularında *Mycoplasma spp.* *Haemophilus somnus* ve BVD gibi etkenleri incelemişler ve çoğunlukla *Mycoplasma spp* ile birlikte BVD'nin bulunduğu belirlenmiştir. Özellikle viral antijenlerin akciğerde yıkılanmış olan damar duvarlarında bulunduğunu tespit etmişlerdir. Gagea ve ark. (2006)'da *Mycoplasma spp.* ve *Haemophilus somnus* gibi bazı bakteriyel etkenlerle birlikte BVD'nin varlığını incelemişler ve alveolar makrofajlar, intersitisyel alanlar, damar duvarları ve bronşiol epitel hücrelerinde bulunduğunu belirlemişlerdir. Bir başka çalışmada ise bronş epitel hücrelerinde immunpozitiflikler görülmüştür (Yeşilbağ ve ark. 2014). Wilhemsen ve ark. (1990) ise akciğerde herhangi bir lezyon görülmemesine rağmen, BALT' ta viral antijenlerin bulunduğu bildirilmiştir. Sunulan çalışmada da BALT, bronş epitel hücreleri, peribronşial, peribronşioler, intersitisyel alanlardaki yangısal hücreler ve arter duvarlarında tespit edilmiş olması önceki çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur.

Ellis ve ark. (1998) yaptıkları bir çalışmada viral antijenleri arter duvarlarına ek olarak alveolar makrofajlarda da tespit etmişlerdir. Sunulan çalışmada alveolar makrofajların bulunmaması akut bir enfeksiyon döneminde olmadığından kaynaklandığı düşündürmüştür. Ellis ve ark. (1998)'nin çalışmalarındaki gibi Shahriar ve ark. (2002)'da viral antijenlerin arter duvarlarında bulunduğunu tespit etmişlerdir. Fakat Shahriar ve ark. (2002)'nin çalışmalarında BVD'nin *Mycoplasma spp.* ve *Haemophilus somnus* gibi diğer bakteriyel etkenlerle miks olarak bulunduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde sunulan çalışmada da arter duvarlarında immunpozitiflik görülmesi, BVD'nin başka bir etken ile miks olarak bulunabileceğini düşündürmüştür.

İmmunohistokimyasal olarak elde edilen pozitif olgular PCR ile konfirme edilmiştir. Çünkü BVD'nin teşhisinde kısa sürede antijen tespiti ve karakterizasyonu için PCR yönteminin son yıllarda yaygın olarak kullanıldığı bildirilmiş (Sandvik 2005; Hilbe ve ark. 2007) ve etkenin tespitine yönelik hızlı ve duyarlı bir yöntem olduğu ifade edilmiştir (McGoldrick ve ark.1999). Ülkemizde daha önceden yapılan çalışmalarda pestivirus genusu içerisinde bulunan border disease için hem immunohistokimya hemde PCR konfirmasyon çalışmaları mevcuttur (Kul ve ark. 2008; Oğuzoğlu ve ark. 2009; Toplu ve ark. 2011; Toplu ve ark. 2012). Bu çalışmalarda border disease enfeksiyonu için hedef organizma olarak kuzular olduğundan koyun ve kuzular açısından ülkemizde tespit edilen coğrafyalar içerisinde pozitif reaksiyonlar ve konfirmasyonlar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada solunum sistemi hedef organı olarak akciğerler ve duyarlı hayvan türü olarak sığırlar seçilmiştir. Daha önce değinildiği gibi Yeşilbağ ve ark. (2014) Marmara bölgesinde bir hemorajik enteritis ve ciddi pnemoni salgınında yine IHC ve PCR birlikteliğini kullanarak teşhise gitmişlerdir. Ancak çalışmamızı gerçekleştirdiğimiz Erzurum yöresi için böyle bir çalışmanın yapılmamış olması ve ilgili dönem içerisinde hastalık varlığının oransal olarak gösterildiği ilk çalışma niteliğindedir.

Sonuç olarak; bölgemizde BVD'nin doğal sığır pnömonilerindeki varlığı immunohistokimyasal yöntemle ilk kez ortaya konulmuştur. Ek olarak etkenin Erzurum yöresinde sığır pnömonilerinde %5.5 oranında bulunduğu ve doğal pnömoni olgularındaki etiyolojik ajanlardan birisi olduğu tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Baker JC (1985).** The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection, *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 11, 425-445.
- Baker JC (1987).** Bovine viral diarrhoea virus. A review, *J Am Vet Med Assoc*, 190 (11), 1449-1458.
- Brownlie J (1991).** The pathways for bovine virus biotypes in the pathogenesis of disease. *Arch Virol*, 3, 9-96.
- Çabalar M, Karaoğlu T (1999).** Sığırlarda bovine viral diarrhoea (BVD) virüs enfeksiyonuna karşı antikor varlığının araştırılmasında nötralizasyon peroksidaz(NPLA) ve serum nötralizasyon (SN) testlerinin karşılaştırılması, *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 46, 249-255.
- Ellis JA, West KH, Cortese VS ve ark. (1998).** Lesions and distribution of viral antigen following an experimental infection of young seronegative calves with virulent Bovine Virus Diarrhoea Virus-Type II, *Can J Vet Res*, 62, 161-169.
- Fernandez A, Hewicker M, Trautwein G, Pohlenz J, Liess B (1989).** Viral antigen distribution in the central nervous system of cattle persistently infected with Bovine virus diarrhoea virus, *Vet Pathol*, 26, 26-32.
- Fulton RW, Saliki JT, Confer AW ve ark. (2000).** Bovine viral diarrhoea virus cytopathic and noncytopathic biotypes and type 1 and 2 genotypes in diagnostic laboratory accessions: clinical and necropsy samples from cattle, *J Vet Diagn Invest*, 12, 33-38.
- Gagea MI, Bateman KG, Dreumel T ve ark. (2006).** Caswell Diseases and pathogens associated with mortality in Ontario beef feedlots, *J Vet Diagn Invest*, 18, 18-28.
- Gillespie JH, Schlafer DH, Foote RH ve ark. (1990).** Comparison of persistence of seven bovine viruses on bovine embryos following in vitro exposure, *Dtsch Tierarztl Wschr*, 97 (2), 65-68.
- Givens MD (2006).** A clinical, evidence-based approach to infectious causes of infertility in beef cattle, *Theriogenology*, 66, 648-654.
- Hilbe M, Stalder H, Peterhans E ve ark. (2007).** Comparison of five diagnostic methods for detecting bovine viral diarrhoea virus infection in calves. *J Vet Diagn Invest*, 19, 28-34.
- Houe H (1999).** Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet Microbiol*, 64, 89-107.
- Hyera JMK, Liess B, Frey HR (1987).** A direct neutralising peroxidase linked antibody assay for detection and titration of antibodies to bovine viral diarrhoea virus, *J Vet Med*, 34, 227-229.
- Kahrs RF (2001).** Viral Diseases of Cattle. Second edition Blackwell Publishing, 120-121.
- Kul O, Kabakci N, Ozkul A, Kalender H, Atmaca HT (2008).** Concurrent peste des petits ruminants virus and pestivirus infection in stillborn twin lambs. *Vet Pathol*, 45, 191-196.
- Lopez A (2007).** Respiratory Systems. Editors: McGavin, Zachary JF, Pathologic Basis of Veterinary Disease, 4. Edition, Mosby Elsevier, 505-517.
- McGoldrick A, Bensaude E, Ibata G, Sharp G, Paton D J (1999).** Closed one-tube reverse transcription nested polymerase chain reaction for the detection of pestiviral RNA with fluorescent probes. *J Virol Methods*, 79, 85-95.
- Mogar R, Minoncha HC, Montpetit C, Carman PS, Lecomte J (1998).** Typing of cytopathic and noncytopathic bovine viral diarrhoea virus reference and Canadian field strains using a neutralising monoclonal antibody, *Can J Vet Res*, 52, 42-45.
- Nettleton PF (1990).** Pestivirus infections in ruminants other than cattle, *Revue Scientifique et Technique de OIE*, 9, 131.
- Odeón AC, Kelling CL, Marshall DJ, Estela ES, Dubovi EJ, Donis RO (1999).** Experimental infection of calves with bovine viral diarrhoea virus genotype II (NY-93), *J Vet Diagn Invest*, 11, 221-228.
- Oğuzoğlu TC, Tan MT, Toplu N, Demir AB, Bilge-Dagalp S, Karaoğlu T, Ozkul A, Alkan F, Burgu I, Haas L, Greiser-Wilke I (2009).** Border disease virus (BDV) infections of small ruminants in Turkey: a new BDV subgroup? *Vet Microbiol*, 135, 374-379.
- Oğuzoğlu TC, Muz D, Yılmaz V, Timurkan MÖ, Alkan F, Akça Y, Burgu I (2012).** Molecular characteristics of bovine virus diarrhoea virus 1 isolates from Turkey: approaches for an eradication programme. *Transbound Emerg Dis*, 59, 303-310.
- Potgieter LND, McCracken MD, Hopkins FM, Walker RD, Guy JS (1984).** Experimental production of bovine respiratory tract disease with bovine viral diarrhoea virus. *Am J Vet Res*, 45, 1582-1585.
- Reggiardo C, Kaeberle ML (1981).** Detection of bacteremia in cattle inoculated with bovine viral diarrhoea virus, *Am J Vet Res*, 42, 218-221.
- Ridpath JF, Bolin SR (1998).** Differentiation of types 1a, 1b and 2 bovine viral diarrhoea virus (BVDV) by PCR, *Mol Cell Probes*, 12, 101-106

- Sandvik T (2005).** Selection and use of laboratory diagnostic assays in BVD control programmes, *Prev Vet Med*, 72, 3-16.
- Shahriar FM, Clark EG, Janzen E, West K, Wobeser G (2002).** Coinfection with bovine viral diarrhoea virus and *Mycoplasma bovis* in feedlot cattle with chronic pneumonia, *Can Vet J*, 43, 463-468.
- Stott EJ, Thomas LH, Collins AP ve ark. (1980).** A survey of virus infections of the respiratory tract of cattle and their association with disease, *J Hyg*, 85, 257-270.
- Tan MT, Karaoğlu T, Erol N ve Yıldırım Y (2006).** Serological and virological investigations of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle herds in Aydın province, *Turk J Vet Anim Sci*, 30, 299-304.
- Toplu N, Oguzoglu TÇ, Epikmen ET, Aydoğan A (2011).** Neuropathologic study of border disease virus in naturally infected fetal and neonatal small ruminants and its association with apoptosis. *Vet Pathol*, 48, 576-583.
- Toplu N, Oğuzoğlu TÇ, Albayrak H (2012).** Dual infection of foetal and neonatal small ruminants with border disease virus and peste des petits ruminants virus (PPRV): neuronal tropism of PPRV as a novel finding. *J Comp Pathol*, 116, 289-296.
- Vilček S, Herring AJ, Herring JA, Nettleton PF, Lowings JP, Paton DJ (1994).** Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis, *Arch Virology*, 136(3-4), 309-323.
- Wilhelmsen CL, Bolin SR, Ridpath JF ve ark. (1990).** Experimental primary postnatal bovine viral diarrhoea viral infections in six-month-old calves, *Vet Pathol*, 27, 235-243.
- Wilhelmsen CL, Bolin SR, Ridpath JF, Cheville FN, Kluge JP (1991).** Lesions and localization of viral antigen in tissues of cattle with experimentally induced or naturally acquired mucosal disease, or with naturally acquired chronic bovine viral diarrhoea, *Am J Vet Res*, 52, 269-275.
- Yazıcı Z, Okur Gümüsova S, Albayrak H (2007).** Serological profile of some viral infections in unvaccinated cattle in Turkey, *Medycyna Wet*, 63 (2), 187-189.
- Yeşilbağ K, Förster C, Özyiğit MÖ ve ark. (2014).** Characterisation of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) isolates from an outbreak with haemorrhagic enteritis and severe pneumonia, *Vet Microbiol*, 169, 42-49.
- Yıldırım Y, Burgu İ (2005).** Kuzeydoğu Anadolu bölgesindeki sığırlarda mavi dil (BT), IBR, PI-3, EBL ve BVD enfeksiyonlarının seroprevalansı, *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 52, 113-117.





Evaluation of Some Sperm Parameters with Contaminated *Escherichia coli* of Bull Semen

Akın GÜLYÜZ¹ Barış Atalay USLU²

¹ Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Reproduction and Artificial Insemination, Van, Turkey

² Cumhuriyet University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Reproduction and Artificial Insemination, Sivas, Turkey

Received: 21.01.2016

Accepted: 22.04.2016

SUMMARY

One of the common reasons disrupting spermatogenesis is infections directly affecting testes. *Escherichia coli* is the most abundant bacteria found in bovine faeces. This study was performed in order to evaluate changes in motility, dead-alive spermatozoa ratio and fertility in commercially used semen in the veterinary field which are contaminated by *E. coli*. For this purpose, 40 straws of bull semen were thawed in 37 °C and separated into 4 groups. Each group had 10 straws of thawed semen. Placebo, 10.00 *E. coli* /ml, 100.00 *E. coli*/ml and 1.000.000 *E. coli* /ml were added to 1st, 2nd, 3rd and 4th group, respectively. The initial motility was determined as 80%. Later, motility examination was performed in the first 2 hour with 10 minutes intervals and after the next 1 hour with 15 minutes intervals and finally in every hour. While dead-alive ratio was determined as 8-10% initially, all of the data were recorded in order to support motility from the outset of the study every hour. In group II, the motility was abolished faster than all test groups. The highest increase determined in dead spermatozoon rate is also group II. As a result, the importance of antimicrobial agents used against bacterial contamination and in semen production stages become prominent. Moreover, practitioners should show maximum attention towards asepsis while performing artificial insemination.

Key Words: Semen, *E. coli*, Contamination, Motility, Fertility

ÖZET

Escherichia coli ile Kontamine Edilen Boğa Spermalarında Bazı Spermatolojik Parametrelerinin Değerlendirilmesi*

Spermatogenezisi etkileyen en önemli nedenlerden birisi, testisleri direkt etkileyen enfeksiyonlardır. Bu çalışma, sığır dışkıсында en fazla bulunan bakteri olan *Escherichia coli*'nin; ticari olarak satılan ve rutinde Veteriner Hekimler'in suni tohumlamada kullandıkları spermaların, motilite ve ölü-canlı spermatozoon oranı, dolayısı ile fertilitenin, kontaminasyon sonucunu nasıl etkilediğinin ortaya konulmasını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla 40 payet boğa sperması 37 °C'de çözdürülerek 4 gruba ayrılmıştır. Her bir gruba 10 payet olacak şekilde çözdürülen spermaların üzerine 1. Grupta placebo, 2. Grupta 1 ml'de 10.000 *E. coli*, 3. Grupta 1 ml'de 100.000 *E. coli* ve 4. Grupta 1 ml'de 1.000.000 *E. coli* olacak şekilde bakteriler eklenmiştir. Başlangıç motilitesi %80 olarak belirlenmiş, daha sonra motilite muayenesi ilk 2 saat içerisinde 10'ar dakika aralıklarla, sonraki 1 saatte 15 dakika aralıklarla ve sonrasında her saat başı yapılmıştır. Ölü-canlı oranı başlangıçta %8-10 olarak belirlenirken, motiliteyi desteklemek için çalışma başından itibaren her saat başı yapılarak tüm veriler kaydedilmiştir. Deneme grupları içerisinde motilite en çabuk Grup II'de sonlanmıştır. Ölü spermatozoon oranındaki en hızlı artış da Grup II'de gerçekleşmiştir. Sonuç olarak bakteriyel kontaminasyonun ve sperma üretim aşamalarında katılan antimikrobiyel maddelerin önemi bir kez daha ortaya çıkmaktadır. Dahası suni tohumlama uygulayıcılarının asepsiye azami dikkat etmelerinin gerekliliği de ortaya çıkmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Sperma, *E. coli*, Kontaminasyon, Motilite, Fertilitite

GİRİŞ

Spermatogenezis üzerine olumsuz etki yapan birçok iç ve dış etkenin spermatozoon motilitesini ve yaşama kabiliyetini etkilediği bilinmektedir. Hatta bazı etkenler; spermatogenezis bittikten sonra da spermatozoonların

erkek ya da dişi genital kanalında taşınması sırasında etkili olabilmektedir. Spermatogenezisi etkileyen en önemli nedenlerden biri testisleri direkt etkileyen enfeksiyonlardır (Hales ve ark. 1999; Diemer ve ark. 2000a). Bu enfeksiyonlar, spermatogenezisin devamlılığını etkileyebileceği gibi oluşan spermatozoonların defektli

olmasına da sebep olabilmektedir. İnsanlarda, erkek infertilitesinin %15'inde genital sistem enfeksiyonlarının sorumlu olduğu ileri sürülmesine rağmen, klinik bulgu oluşmayan genital sistem enfeksiyonlarının etkisi hakkında fikir birliği bulunmamaktadır (Diemer ve Desjardins 1999; Weidner ve ark. 1999). Spermatozoonların çeşitli bakteriler veya immün sistem hücreleri ile direkt teması sonucunda olumsuz etkilenmesi bir olasılık olarak ileri sürülmektedir (Huwe ve ark. 1998). Genital ve üriner sistem enfeksiyonlarında rol alan mikroorganizmalar, seminal plazmada biyolojik ve kimyasal değişikliklere yol açarak spermatozoonun işlevi üzerine etkili olabilmektedir (Aydın ve ark. 1997; Weidner ve ark. 1999; Diemer ve ark. 2000a). Genital ve üriner sistem enfeksiyonlarında, sitokin ve serbest oksijen radikallerinin spermatozoon fonksiyonlarına etkili olduğu da bildirilmektedir (Depuydt ve ark. 1998; Trum ve ark. 1998).

Ürogenital sistemde infertiliteye sebep olan enfeksiyöz etkenlerin direkt ve indirekt etkilerinin olup olmadığı tartışma konusudur. Bu konuda yapılan çalışmalarda, infertil insanlardan alınan spermalarda, eklenti üreme bezlerinin enfeksiyonuna bağlı olarak yüksek oranda bakteri saptanmasına rağmen, izole edilen bakterilerin hangisinin gerçekten infertilitede etkili olduğu hakkında çok az araştırma bulunmaktadır. Spermatozoonların bakteriler veya toksinleri ile etkileşime girmelerinin yanı sıra seminal plazmadaki savunma hücreleri olan lökositlerin ve bakterilerin, ciddi bir sorun oluşturmayacağıni bildiren araştırmacılar bulunmaktadır. Bu bakteri ve toksinlerinin *in vitro* fertilizasyon uygulamalarında oosit dejenerasyonuna yol açtığı da bir gerçektir (Henkel ve Schill 1998; Seidman ve ark. 1999). Bu bilgilerin aksine, bilinen bazı patojen mikroorganizmaların spermatozoonla direkt etkileşime girebildiği, hatta aglütinasyona veya morfolojik değişikliklere yol açtığı da bildirilmektedir (Huwe ve ark. 1998; Schiefer 1998). Ancak bütün çalışmalar bu görüşleri desteklemediği gibi, bu bulguların *in vivo* enfeksiyonlarda da görülüp görülmeyeceği şüphelidir (Kohn ve ark. 1998). Bazı araştırmacılar (Paulson ve Polakowski 1997) bakterilerin spermisit etki taşıdığı görüşünü savunurken, kimileri de (Makler ve ark. 1981) bakterilerin fertiliteye bir etkisinin olmadığını ileri sürmektedir.

Bu çalışmanın amacı, siğir dışkısında en çok bulunan bakteri olan *Escherichia (E.) coli*'nin ticari olarak satılan ve rutinde veteriner hekimlerin suni tohumlamada kullandıkları spermaların, motilite ve ölü-canlı spermatozoon oranının, buna bağlı olarak da fertilitenin, kontaminasyon sonucu nasıl etkilendiğinin ortaya konulmasıdır.

MATERYAL ve METOT

Çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı Laboratuvarında ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalında çalışılmış, Lalahan Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü (LHMAE)'nde üretilen TR47-1490529 kulak numaralı Pakoil isimli boğanın 0.25 ml'lik 40 payeti kullanılmıştır.

E. coli Test Dilüsyonunun Belirlenmesi

Bu amaçla *E. coli* (ATCC 25922) derin dondurucudan alınarak oda sıcaklığında çözdürüldü. Saklama kültüründen 5 ml hacmindeki Brain Heart Infusion Broth'a (1.10498, Merck, KgaA, Darmstadt, Germany) pasajlanarak, 37 °C'de 18 saat inkübe edildi. Üreyen bakteri kültürünün steril fizyolojik tuzlu suda (FTS,

pH=7.2) 10 katlı sulandırılmaları yapılarak, her sulandırmadan 2 adet MacConkey Agar'a (1.05465, Merck, KgaA, Darmstadt, Germany) ekilip, 37 °C'de 18 saat inkübe edildi. Koloniler sayılarak, McFarland tüpleri de dikkate alınarak, sulandırmalardaki bakteri sayıları belirlendi (Arda 2011). Buzdolabında +4 °C'de bekletilen ve bakteri sayıları (cfu/ml) belirlenen sulandırmalar en kısa sürede sperma örneklerine katılarak denemeye geçildi.

Grupların Oluşturulması

LHMAE'de dondurulmuş boğa spermaları saha konteyneri ile laboratuvara getirildi. Çalışmaya başlanmadan önce 5 adet payet su banyosunda 37 °C'de çözdürülerek başlangıç motilite (20x10⁶ spermatozoon/payet %80 motilite, ml'de 500 IU penisilin, 500 mcg streptomisin) saptanmış ve payetler arasında büyük fark olup olmadığına bakılmıştır. Kullanılan bütün malzemelere önce sterilizasyon işlemi uygulanmıştır. Çalışma esnasında sıcaklıkları 37 °C'de olacak şekilde ayarlanmış, sonra yine önceden sıcaklığı 37 °C ve %5 CO₂'li etüvde deney tüplerinde muhafaza edilmiştir.

Azot tankından çıkartılan payetler 37 °C'de 30 saniye çözdürüldükten sonra, mikrobiyoloji laboratuvarında üretilen *E. coli*'nin farklı konsantrasyonlarda eklenmesi ile muayenelere başlanmıştır. Başlangıç motilitesi %80 olarak belirlenmiştir. Motilite muayenesi ilk 2 saatte 10'ar dakika aralıklarla, sonraki 1 saatte 15 dakika aralıklarla ve sonrasında her saat başı yapılmıştır. Ölü-canlı oranı başlangıçta %8-10 olarak belirlenirken, motiliteyi desteklemek için çalışma başından itibaren her saat başı yapılarak tüm veriler kaydedilmiştir.

1. Grupta; (Kontrol grubu) Deney tüpü içerisine 37 °C'de çözdürülerek konulan 10 adet 0.25 ml'lik boğa sperması üzerine 1ml placebo (%0.9 NaCl pH:7.2) eklendi ve 37 °C'ye ayarlanan %5 CO₂'li etüvde inkübe edildi. Toplamda 2.5 ml sperma, 1 ml placebo ve 8000 motil spermatozoon olacak şekilde başlandı.

2. Grupta; (Bir ml'de 10.000 adet *E. coli* grubu) aynı şekilde çözdürülen spermalar deney tüpüne boşaltılarak üzerine ml sinde 10.000 adet *E. coli* olacak şekilde ayarlanmış karışım eklendi ve 37 °C de %5 CO₂ olarak ayarlanan etüve konuldu. Burada da 8000 motil spermatozoon başına yaklaşık 1 adet *E. coli* düşecek şekilde başlandı.

3. Grupta; (Bir ml'de 100.000 adet *E. coli* grubu) 37 °C de su banyosunda çözdürülen ve deney tüpüne boşaltılan spermaların üzerine ml sinde 100.000 adet *E. coli* olacak şekilde ayarlanmış materyal katıldı, yine 37 °C de, %5 CO₂ olarak ayarlanan etüve kondu. Bu grupta 8000 motil spermatozoon başına yaklaşık 10 adet *E. coli* olacak şekilde planlandı.

4. Grupta; (Bir ml'de 1.000.000 adet *E. coli* grubu) çözdürülerek deney tüpüne boşaltılan spermaların üzerine ml sinde 1.000.000 adet *E. coli* olacak şekilde ayarlanmış karışım katıldı ve yine 37 °C de %5 CO₂ olarak ayarlanan etüve kondu. Son grupta da 8000 motil spermatozoon başına yaklaşık 100 adet *E. coli* olacak şekilde çalışma dizayn edildi.

Spermatozoon Motilitesi

Motilite muayenesi Alaçam (1994)'ün bildirdiği gibi yapılmıştır.

Ölü -Canlı Muayenesi

Ölü-canlı muayenesi Alaçam (1994)'ün bildirdiği gibi yapılmıştır.

BULGULAR

Gerçekleştirilen çalışma sonunda motilite muayeneleri ile Grup I'de, (kontrol grubunda), 20. saate kadar motilitenin %50'lerde kaldığı, 25. saate kadar hareketli oldukları ve 26. saatte yapılan motilite muayenesinde hareketli spermatozoon kalmadığı görülmüştür. Ölü - canlı muayenesi ile 24. saatte oranın %50'ye çıktığı ve 29. saatte bu oranın %85'i bulunduğu saptandı (Şekil 1).

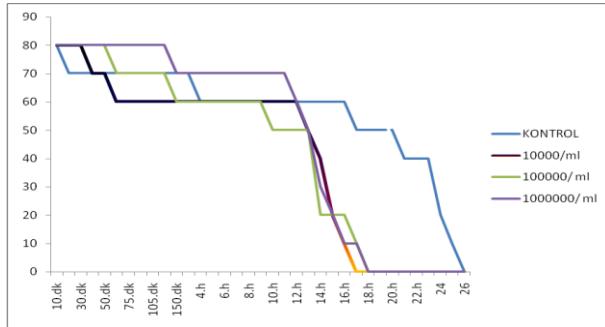
Grup II'de (10.000 adet/ml *E. coli* konulan grupta) motilitenin 13. saatte %50'lerde olduğu sonraki 4 saat içerisinde giderek azaldığını ve 17. saatte, hareketli spermatozoon kalmadığı izlendi. Ölü-canlı oranı açısından ise 15. saatte %50 iken, 17. saatte %90 olduğu belirlendi (Şekil 2).

Grup III'te (100.000 adet/ml *E. coli* konulan grupta) motilitenin 13. saatte %50 olduğu izlenirken aniden motilitenin düştüğü ve 18. saatte hiçbir hareketli spermatozoonun kalmadığı belirlendi. Ölü-canlı oranı açısından ise 13. saatte %45 iken, 18. saatte %90 olduğu saptandı.

Grup IV'te (1.000.000 adet/ml *E. coli* konulan grupta) en son 14. saatte motilite %50 iken 18. saatte hiçbir hareketli spermatozoonun kalmadığı görüldü. Ölü-canlı oranı açısından ise 14. saatte oran %55'lerde iken, 19. saatte ölü-canlı oranının %90 olduğu belirlendi.

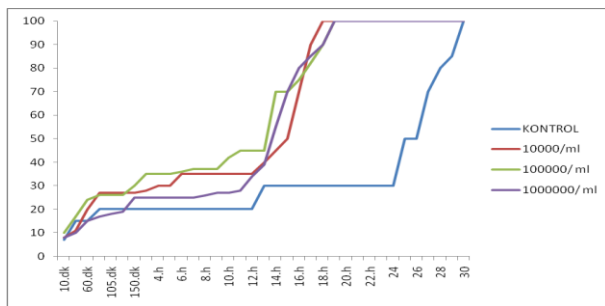
Tüm deneme grupları arasında motilite, en çabuk II. Grupta ortadan kaybolmuştur.

En hızlı ölü spermatozoon oranının artışı yine II. Grupta meydana gelmiştir.



Şekil 1. Motilite muayenesinin zamana göre değişimi

Figure 1. Changes according to the time of the motility examination



Şekil 2. Ölü-canlı sperm oranı muayenesinin zamana göre değişimi.

Figure 2. According to the exchange rate the dead-live sperm examination

TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışmamız suni tohumlama uygulama esnasında spermanın dışkı ile kontaminasyonu üzerine kurgulanmış bir çalışmadır. Laboratuvar ortamında sperma *E. coli* ile kontamine edilmiş, motilite ve ölü-canlı sperma muayeneleri yapılmıştır.

Spermatogenezin aksadığı, testisin hasarlı olduğu ve immün sistemin de aktive olarak lökosperrinin (spermaya lökosit karışması) olduğu vakalarda spermatolojik parametrelerin etkilendiği gözlenmiştir. Bu etkiler, sperm yoğunluğunda ve motilitesinde düşüş veya anormal sperm oranında artış şeklinde olabilmektedir. Enfeksiyonda özellikle spermatozoon fonksiyonunu etkileyen bazı spesifik moleküler olaylardan sorumlu medyatörlerin varlığı son zamanlardaki çalışmalarda gösterilmiştir (Diemer ve Desjardins 1999; Diemer ve ark. 2000a).

Ürogenital sistem enfeksiyonuna bağlı olarak kan-testis bariyerinin bozulması, antisperm antikor oluşumuna ve dolayısıyla immünolojik infertilitenin gelişmesine neden olabilir (Conihare ve ark. 1988). Rastgele seçilmiş 137 infertil erkekten alınan numunelerde seminal plazmada interlökin 8 (IL-8) konsantrasyonunun spermatolojik parametreler ile ters orantılı olduğu görülmüştür (Eggert-Kruse ve ark. 2001).

Oshsendorf (1999) yaptığı çalışmada erkek genital enfeksiyonun etkisini, spermatozoon ve lökositler tarafından üretilen serbest oksijen radikalleri üzerinden açıklamaya çalışmaktadırlar. Serbest oksijen radikallerinin genital sistemi enfeksiyonu sırasında ne gibi işlevinin olduğu, kaynaklandıkları odak belirsizdir fakat etkileri oldukça kısa sürmektedir (Aydın 2003).

Comhaire ve ark. (1999) spermatozoon fonksiyon bozukluklarının çoğunu normal sperma muayenesinde belirlenemediğini bildirmektedir. Bu da, bir çok araştırmacının enfeksiyon ile infertilite ilişkisine karşı çıkmasına neden olmaktadır. Spermatozoon yoğunluğu, motilitesi ve anormal spermatozoon oranı gibi klasik spermatolojik parametrelerinin genital enfeksiyonlu hastalarla sağlıklı kontrollerin verileri ile karşılaştırıldığında çelişkili sonuçların elde edilmesi, araştırmacıları seminal plazma içindeki biyokimyasal değişikliklerin incelenmesine yönlendirmiştir (Weidner ve ark. 1987; Aydın ve ark. 1997; Depuydt ve ark. 1998; Ludwig ve ark. 1998). Aydın (2003)'ün yaptığı çalışmada bazı kimyasal maddelerin sperm fonksiyonunu etkilediğini göstermekle birlikte, bu durumun direkt enfeksiyonla bağlantısının tartışmalı olduğunu bildirmişlerdir.

İnfertil hastaların seminal sıvısında çok sayıda mikroorganizma izole edilmesine rağmen bakteriosperminin önemi net değildir; zira bu hastaların çoğunda genital sistemin bakteriyel enfeksiyonuna ilişkin semptom bulunmamaktadır. Epididimis ve prostat yangısı gibi klasik ürogenital enfeksiyonların yanısıra subklinik genital sistem enfeksiyonları sıkça görülmektedir. Ürogenital enfeksiyonların fertilitate üzerine etkisi hakkındaki literatür bilgileri de çok çelişkilidir (Sigman ve Howards 1998).

İnfertil erkeklerin spermasında bakteriyel kontaminasyonun daha sık olduğu bildirilmektedir. *in vitro* fertilizasyon (IVF) programlarında da bakteriyospermi sık görülen bir problemdir. Buna rağmen, uygulanmakta olan rutin mikrobiyolojik yöntemlerle bakteriyospermi ile karşılaşma oranının tam olarak saptanamadığı bildirilmektedir (Jarvi ve ark. 1996). İnsanlarda, Villanueva-Diaz ve ark. (1999)'nın yaptığı çalışmada 65

hastanın %22'sinde rutin sperma kültürü olumlu çıkarken, aynı spermlerin santrifüj edilmesi sonrası pozitif kültür oranı %52'ye çıkmıştır.

Bakteriosperminin erkek infertilitesine yol açtığı söyleyebilmek ve bunu açıklayabilmek zordur. Saptan bakteriler ile uretrit, uretrit ile epididimitis, orşitis ve epididimoorsitis ile erkek infertilitesi arasında klinik ve patolojik bir bağlantı kurulabilir. Bazı retrospektif epidemiyolojik çalışmalar bakteriyospermi ile infertilite arasında bir ilişkiye işaret etse de, bu çalışmaların çoğu istatistiksel anlamlılık kazanacak düzeyde olmadığı bildirilmektedir (Ness ve ark. 1997). Bu patojen mikroorganizmaların spermatolojik parametreleri bozduğuna ilişkin güvenilir epidemiyolojik veri de söz konusu değildir. Mikroorganizmaların gerçekten infertilite nedeni olup olmadıkları kesinlik kazanmamıştır. Bazı araştırmacılar bakterileri spermisi olarak görürken, bazıları bakterilerin infertilite üzerine bir etkisinin bulunmadığını savunmaktadır (Makler ve ark. 1981; Paulson ve Polakowski 1997).

Bu çalışmada ticari olarak üretilen ve önceden muayenesi yapılan, motilitesi iyi olan ve tüm Türkiye'de suni tohumlamada kullanılan spermalar 37 °C'de çözdürülmüş ve 4 gruba ayrılmıştır. 1. Grup - (kontrol - Placebo grubu), 2. Grup - 10.000 *E. coli*/ml, 3. Grup - 100.000 *E. coli*/ml ve 4. Grup - 1.000.000 *E. coli* / ml ile karıştırılmış, sonra 37 °C ve %5 CO₂'li etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon başlangıcında spermatozoon motilitesi %80, ölü canlı oranı da %8-10 olduğu belirlenmiştir. Çalışmada 37 °C ve %5 CO₂'li etüv kullanmanın asıl sebebi inek genital kanalının taklit edilmesidir. Aslında oöstrüsteki bir ineğin genital kanalında bulunan sıvıların spermatozoonun yaşam ömrünü uzattığı, enerji ile bazı besin öğelerini içerdiği bildirilmektedir. Fakat tüm gruplar için aynı ortam sağlanması açısından bu model çalışma planlanmıştır.

Literatür verileri incelendiğinde genital enfeksiyonlarla ilgili çok sayıda çelişkili bulgular görülmektedir. Birçok çalışmada gruplar arasında kontrol grubu bulunmakta fakat placebo verilmemektedir (Winters 1997). Spermada aerobik ve anaerobik bakteriler ile *Mycoplasma* türleri dahil bir çok mikroorganizma izole edildiği bildirilmiştir (Swenson ve ark. 1979; Lewis ve ark. 1981; Busolo ve ark. 1984). Bunlardan *U. urealyticum* (65) ve *C. trachomatis* (Greendale ve ark. 1993), erkek ve dişi genital sistemde sık rastlanılan ajanlar olduğundan, genital enfeksiyonda özel önem kazanmışlardır. *U. urealyticum* ile sperm parametreleri genellikle ilişkisiz bulunmuştur.

E. coli ürogenital enfeksiyonlarda en sık görülen patojen olduğundan, mikroorganizmaların spermatozoon hareketi üzerine etkisini araştıran *in vitro* çalışmaların çoğu *E. coli* hakkındadır (Schiefer 1998). Kohn ve ark. (1998) spermatozoonun *E. coli* ile *in vitro* inkübasyonunun spermatozoon hareketini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Bu araştırmacılara göre *E. coli*'nin motiliteye direkt inhibitör etkisi bakteri yoğunluğu ile bağlantılıdır. Elektron mikroskopi incelemeleri *E. coli*'nin spermlerle çok sayıda yapışmalar yaptığı, böylece çeşitli ultrastruktural hasara yol açtığı ve muhtemelen bu yolla sperm hareketini durdurduğu kanısını doğurmuştur (Diemer ve ark. 1996). *E. coli* kültürlerinden düşük molekül ağırlıklı spermatozoal immobilizasyon faktörü izole edilmiştir. Bu faktör spermatozoonları hareketsiz hale getirmekte, fakat öldürmemektedir. Bu immobilizasyon faktörünün etkisi sperm yoğunluğu ile ilişkilidir. Diğer bir deyişle, bakteriyel enfeksiyonların oligospermik sperma üzerine normospermik spermadan daha fazla etkili olduğu bildirilmektedir (Paulson ve Polakowski 1997). Ancak

başka bir çalışmada, spermatozoon üzerinde inhibitör etki sadece *E. coli* serotip 06 da olduğu, diğer serotiplerin böyle bir etki göstermediği anlaşılmıştır (Huwe ve ark. 1998). Bazı araştırmacılar *E. coli*'nin sadece belirli bakteri / sperm oranında inhibitör etki gösterdiğini ileri sürmüşlerdir (Aurox ve ark. 1991; Diemer ve ark. 1996).

Sunulan çalışmada, 10.000 *E. coli* (Spermatozoon/*E. coli* oranı 2000/1) grubunda motilitenin daha erken ve istikrarlı bir şekilde düştüğü görülürken, 100.000 *E. coli* (200/1) grubunda da benzer bir tablo izlenmiştir. 1.000.000 *E. coli* (20/1) grubunda motilitenin özellikle 13. saatten sonra %70'ten %50'ye düştüğü, 14. saatten sonra ise hızlı bir kayıp yaşanmıştır.

Diemer ve ark. (1996) tarafından yürütülen bir çalışmada; 10/1, 100/1, 1000/1, 10000/1 oranında spermatozoon ve *E. coli* karıştırılmış, çalışmanın başlangıcından sonraki 2. saatte kontrol grubu dahil hiç bir grubun sperm motilitesinde herhangi bir değişiklik olmadığı, çalışmanın 4. saatinde ilk 3 grubun motilitesi belirgin bir şekilde düşerken 4. grup ve kontrol grubunda bir değişim tespit edilmediği, 6. saatinde ise 1. ve 2. grupta motilite sınırlanırken 3. ve 4. gruplarda önemli bir düşüş görülmediği bildirmişlerdir.

Bu çalışma ile Diemer ve ark. (1996)'ınca yürütülen çalışmaların bulguları benzerlik göstermektedir. Yürütülen bu çalışmanın deney yapılan grupları ile Diemer ve ark. (Diemer ve ark. 1996)'nın gerçekleştirdiği çalışmanın grupları arasında motil sperm sayısı ilk üç grup için iki katıdır. Diğer yandan sahada kullanılan spermalarla yürütülen bir çalışma olduğu için ml başına 500 IU penisilin 500 mcg streptomisin katılmış olması da antibakteriyel ortam açısından önemlidir. Bazı araştırmacılar (Aurox ve ark. 1991; Diemer ve ark. 1996) inkübasyon süresince bakterilerin çoğalmasından söz etmektedirler.

Motilitenin düşme-sınırlanma süresinin daha uzun olmasının bu gerekçelerden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Ölü sperm oranının değerlendirildiği sürece baktığımız zaman ölü spermatozoon oranındaki artışın motilitenin düşmesi ile paralellik arz ettiği görülmektedir.

Yapılan bir çalışmada (Huwe ve ark. 1998) ileri sürülen *E. coli*'nin hızlı bir şekilde spermatozoonlara yapıştığı ve bu spermatozoonları çökerttiği görüşü bu çalışmada o yönde bir araştırma yapılmadığı için ortaya konulamamıştır. Motilitenin düşmesi ve ölü spermatozoon oranının artması bu nedenlerden kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamızda *E. coli*'nin spermatozoonlar üzerine olumsuz etki yaptığı net bir şekilde ortaya konmuştur. Özellikle de deneyin 13. saatinde motilitenin %50'nin altına düştüğü bütün gruplarda bir gerçektir. Özel durumlar hariç, %50'nin altında motil spermalar tohumlamada kullanılmamaktadır. Diğer yandan doğal ortamda kontaminasyonun ne oranda ve birden fazla mikroorganizma tarafından gerçekleştirilip gerçekleştirilmeyeceği de başka araştırma konularıdır. Özellikle elektron mikroskopik görüntüler *E. coli*'nin defekt oluşturuca etkilerini net bir şekilde ortaya koyduğu bildirilmektedir (Diemer ve ark. 1996).

Bizim yaptığımız çalışmada 10.000 *E. coli*/ml, 100.000 *E. coli*/ml, 1.000.000 *E. coli*/ml yoğunluğunda karıştırılarak inkübe edilen spermaların muayenesinde, motilitenin en erken 10.000/ml *E. coli* grubunda sonlandığı en uzun Grup I olan kontrol grubunda sürdüğü izlenmiştir. Süreç incelendiğinde ise en ciddi motilite düşüşünün II. grupta olduğu bunu III, IV ve I. Grubun izlediği belirlenmiştir. En ciddi ölü-canlı oran artışı Grup II'de olduğu, sonra 2 saat

içerisinde ölümlerin yoğun olarak arttığı sonra sırasıyla III., IV. ve I. Grupta 3, 4, ve 5 saat içerisinde ise canlı spermatozoon kalmadığı, bu muayene ile ortaya konmuştur.

Tüm deneme gruplarından spermatozoon motilitesinin ilk düşmeye başladığı ve ölü sperm oranının ilk arttığı Grup II'dir.

İnsan sperması ile yapılan bir çalışmada 2 saatlik inkübasyondan sonraki *E. aerogenes* hariç, bütün mikroorganizmalarda motilite ile mikroorganizma yoğunluğu arasında anlamlı bir korrelasyon olmadığı belirlenmiştir. Bu ajanların spermatozoon hareketi üzerine bir şekilde olumsuz etki yaptığı gerçek olmakla birlikte, bu etki ajanın yoğunluğu ile yüzde yüz ilişkili olmasa da belli bir eşik yoğunluktan sonra ortaya çıktığı vurgulanmıştır. Buradan hareketle sperm fonksiyonundaki bozulmanın, direkt bakteri sperm etkileşiminden değil, sperma ortamını değiştirebilecek veya yüksek enerji tüketimine yol açabilecek düzeyde bakteri yoğunluğundan kaynaklandığı bildirilmektedir (Aydın 2003). Benzer şekilde bakteriler ile karşılaşan spermatozoonlardaki hareket azalmasının enerji ile ilgili olduğu, fruktoz tüketiminin hızlı artışından kaynaklandığı bildirmişlerdir (Swenson 1979).

Aynı şekilde; bakteriler ile karşılaşan spermatozoonlarda hareket azalması enerji, dolayısı ile fruktoz tüketimi ile ilgili olduğu bildirilmektedir (Swenson 1979). Yapılan bazı *in vitro* çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmada da, normal ejakülatta bulunamayacak kadar yüksek yoğunlukta mikroorganizma ile sperma örnekleri karıştırılarak inkübe edilmiştir. Bu yoğunluktaki spermaya bakteri karışması, ancak spermanın bir dışkı ile kontamine olması durumunda meydana gelebilir. Bulgular incelendiğinde yüksek yoğunlukta *E. coli* katılan sperma örnekleri yerine en az *E. coli* katılan grupta etkilerin daha net olduğu gözlenmiştir. Bunun sebebi ise karışımındaki mikroorganizma yoğunluğunun sonucu üremesinin kısıtlanmasından kaynaklanmış olabileceğidir. Benzer şekilde, deneysel *in vitro* çalışmalar ile gerçek *in vivo* genital enfeksiyonların karşılaştırılması için yapılan testlerde de çelişkili sonuçlar görüldüğü bildirilmektedir (Kohn ve ark. 1998). Görülüyor ki, yaptığımız bu deneysel çalışmadan elde edilen sonuçlar ve bunların *in vivo* genital enfeksiyonlar için önemi bir süre daha tartışılmaya devam edecektir.

Sonuç olarak; Veteriner Hekimlik alanında benzer bir çalışmaya rastlanmamış olması bu çalışmayı özgün kılmaktadır. Gerek ithal gerekse ülkemizde üretilen boğa spermaları sahada suni tohumlama amacıyla kullanılmaktadır. İthal spermalarda motil spermatozoon sayısı daha düşüktür. Sunulan literatürlerden de anlaşıldığı gibi esas olan spermatozoon / bakteri oranıdır. Saha şartlarında bu oranı tahmin etmek pek mümkün değildir, ancak asepsiye bağlı kalınarak minimize edilebilir. Boğa spermatozoonunun inek genital kanalında yaşama süresi 48, ovumun ise 24 saattir. Dölleme ve dölleme olaylarında ise bu süre neredeyse yarıya düşmektedir. Spermatozoon kapasitasyonu göz önüne alındığında, doğal ortamda fertilizasyonun ön şartı motilitedir. Önemli bir faktör olarak motiliteyi etkileyen bakteriyel kontaminasyonun hem literatür de hem de sunulan çalışmada belirginleşmiştir.

Araştırmanın özgünlüğü, sperma sulandırıcılarının hazırlanmasında ilave edilen antimikrobiyel maddelerin önemini bir kez daha ortaya çıkarmaktadır. Diğer taraftan ineklerde suni tohumlama uygulaması sırasında Veteriner Hekim ve Teknisyenlerin genital organ enfeksiyonlarına

yol açmaması için (bu enfeksiyonların repeat-breeder ve erken embriyonik ölümlere yol açması sebebiyle) asepsiye azami ölçüde dikkat edilmesinin önemi ortaya konmuştur.

Bu çalışma ile sadece bir bakteri türünün spermatozoonlar üzerine küçük bir etkisi çalışılmıştır. Yaygın bakterilerin benzer bir şekilde, hatta moleküler ya da toksinlerinin *in vitro* daha da önemlisi *in vivo* bazda çalışılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Alaçam, E (1994):** Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Suni Tohumlama Doğum ve İnfertilite. Ed.: Erol Alaçam, 1. Baskı. Dizgivi - Konya.
- Arda M (2011):** Temel Mikrobiyoloji. s: 217-220, MedisanYayıncıları, 4. Baskı, Ankara.
- Auroux MR, Jacques L, Mathieu D, Auer J (1991):** Is the sperm bacterial ratio a determining factor in impairment of sperm motility: an *in vitro* study in man with *Escherichia coli*. *Int J Androl*, 14, 264-270.
- Aydın S (2003):** Farklı üropatojen mikroorganizmaların sperm motilitesi üzerine etkisi: *In vitro* deneysel çalışma. YYÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi.
- Aydın S, Yılmaz Y, Odabaş Ö, Şekeroğlu MR, Tarakçıoğlu M, Atilla MK (1997):** A further study of seminal plasma: Lactate dehidrogenase and Lactate dehidrogenase-X activities and diluted semen absorbence. *Eur J Clin Chem Biochem*, 35, 261-264.
- Balmelli T, Stamm J, Dolina-Giudici M, Peduzzi R, Piffaretti-Yanez A, Balerna M (1994):** Bacteroides ureolyticus in men consulting for infertility. *Andrologia*, 26: 35-38.
- Busolo F, Zanchetta R, Lanzone E, Cusianato R (1984):** Microbial flora in semen of asymptomatic men. *Andrologia*, 16, 269-275.
- Celino FT, Yamaguchi S, Miura C, Ohta T, Tozawa Y, Iwai T, Miura T (2011):** Tolerance of spermatogonia to oxidative stress is due to high levels of Zn and Cu/Zn superoxide dismutase. *PLoS One*, 6, 2, e16938.
- Comhaire FH, Mahmoud AM, Depuydt CE, Zalata AA, Christophe AB (1999):** Mechanisms and effects of male genital tract infection on sperm quality and fertilizing potential: the andrologist's viewpoint. *Hum Reprod Update*, 5, 393-398.
- Conihair FH, Hinting A, Vermeulen L, Schoonjans F, Goethals I (1988):** Evaluation of the direct and indirect mixed antiglobulin reaction with latex particles for the diagnosis of immunological infertility. *Int J Androl*, 11, 37-44.
- Çoyan K, Ataman MB, Kaya A, Karaca F (2002):** Evcil Hayvanlarda Dölleme ve Suni Tohumlama. SÜ Vet Fak Yayın Ünitesi, 42031 Kampüs, Konya
- Del Porto GB, Derrick FC, Bannister ER (1975):** Bacterial effect on sperm motility. *Urology*, 5538-639.
- Demirci E (2007):** Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon, Suni Tohumlama ve Androloji Ders Notları. FÜ Veteriner Fakültesi Ders Teksiri No, 57.
- Depuydt C, Zalata A, Christophe A, Mahmoud A, Comhaire F (1998):** Mechanisms of sperm deficiency in male accessory gland infection. *Andrologia*, 30: 29-33.
- Diemer T, Desjardins C (1999):** Developmental and genetic disorders in spermatogenesis. *Hum Reprod Update*, 5, 120-140.
- Diemer T, Ludwig M, Huwe P, Hales DB, Weidner W (2000a):** Influence of urogenital infection on sperm function. *Curr Opin Urol*, 10, 39-44.
- Diemer T, Huwe P, Michelmann HW, Maayer F, Schiefer HG, Weidner W (2000b):** *Escherichia coli* induced alterations of human spermatozoa. An electron microscopy analysis. *Int J Androl*, 23, 178-186.
- Diemer T, Weidner W, Michelmann HW, Schiefer HG, Rovani E, Mayer F (1996):** Influence of *Escherichia coli* on motility parameters of human spermatozoa *in vitro*. *Int J Androl*, 19: 271-277.
- Eggert-Kruse W, Boit R, Röhr G, Aufenanger J, Hund M, Strowitzki T (2001):** Relationship of seminal plasma interleukin (IL) -8 and IL-6 with semen quality. *Hum Reprod*, 16, 517-528.
- Eggert-Kruse W, Rohr G, Probst S, Rusu R, Hund M, Demirakca T, Aufenanger J, Runnebaum B and Petzoldt D (1998):** Antisperm antibodies and microorganisms in genital secretions: a clinically significant relationship. *Andrologia*, 30, 61- 71.
- Garner DL, Hafez ESE (1993):** Spermatozoa and seminal plasma. In: Hafez ESE (ed.) Reproduction in Farm Animals, Philadelphia,
- Ghebreyesus A (1986):** Studies on acrosome abnormalities of frozen, stored bull spermatozoa. Fachbereich Veterinarmedizin, Justus-Liebig Universität Giessen, German Federal Republic, 19pp; 71/2pp of ref. thesis.

- Gökçen H, Minbay A, Çekgöl E (1985):** Karacabey Harası suni tohumlama boğalarında klinik, spermatozojik araştırmalar. *Uludağ Üniversitesi Vet Fak Derg*, 4, 53-62.
- Greendale GA, Haas ST, Holbrook K, Walsh B, Schachter J, Phillips RS (1993):** The relationship of *Chlamydia trachomatis* infection and male infertility. *Am J Public Health*, 83, 996-1001.
- Gump DW, Gibson M, Ashikaga T (1984):** Lack of association between genital mycoplasmas and infertility. *N Eng J Med*, 310, 937-941.
- Güney HÖ, İleri İK (1990):** Pallet yöntemine göre dondurulmuş boğa spermasının farklı ısı ve sürelerde eritilmesinin ve eritme sonrası düşük ısı uygulamalarının spermatozoitlerin motilite ve morfolojik yapıları üzerine etkisi. *İÜ Vet Fak Derg*, 17, 75-91.
- Hafez ESE (1987):** Reproduction in Farm Animals. Ed: ESE Hafez, 5th edition, Lea&Febiger, Philadelphia.
- Hales DB, Diemer T, Hales KH (1999):** Role of cytokines in testicular function. *Endocrine*, 10, 201-217.
- Henkel R, Schill WB (1998):** Sperm separation in patients with urogenital infections. *Andrologia*, 30, 91-97.
- Huwe P, Diemer T, Ludwig M, Liu J, Schiefer HG, Weidner W (1998):** Influence of different uropathogenic microorganisms on human sperm motility parameters in an *in vitro* experiment. *Andrologia*, 30, 55-59.
- İleri İK, Ak K, Pabuççuoğlu S, Birlir S (2000):** Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama. İÜ Vet Fak Yayını, Ders Notu No: 112.
- Jarvi K, Lacroix JM, Jain A, Dumitru I, Heritz D, Mittelman MW (1996):** Polymerase chain reaction-based detection of bacteria in semen. *Fertil Steril*, 66, 463-467.
- Kohn FM, Erdmann I, Oeda T, el Mulla KF, Schiefer HG, Schill WB (1998):** Influence of urogenital infections on sperm functions. *Andrologia*, 30, 73- 80.
- Lewis RH, Harrison RM, Domonique GJ (1981):** Culture of seminal fluid in a fertility clinic. *Fertil Steril*, 35, 666-670.
- Liversedge NH, Jenkins JM, Keay SD, McLaughlin EA, Al-Sufyan H, Maile LA, Joels LA, Hull GR (1996):** Antibiotic treatment based on seminal cultures from asymptomatic male partners in *in vitro* fertilization is unnecessary and may be detrimental. *Hum Reprod*, 11, 1227-1231.
- Ludwig M, Kummel C, Schroeder-Printzen I, Ringert RH, Weidner W (1998):** Evaluation of seminal plasma parameters in patients with chronic prostatitis or leukocytospermia. *Andrologia*, 30, 41-47.
- Makler A, Urbach Y, Lefler E, Merzbach D (1981):** Factors affecting sperm motility. VI. Sperm viability under the influence of bacterial growth in human ejaculates. *Fertil Steril*, 35, 666-670.
- Mazzulli T (2002):** Resistance trends in urinary tract pathogens and impact on management. *J Urol*, 168, 1720-1722.
- Mc Donald LE (1980):** Veterinary Endocrinology and Reproduction. Lea-Febiger, Philadelphia.
- Michelmann HW (1998):** Influence of bacteria and leukocytes on the outcome of *in vitro* fertilization (IVF) or *intracytoplasmic sperm injection* (ICSI). *Andrologia*, 30, 99-101.
- Moreira SG, Lipshultz LI (2000):** Management of male infertility. *Digital Urol J* "www.duj.com/article/Moreira.html". Erişim Tarihi: 10.10.2015
- Munuce MJ, Bregni C, Carizza C, Mendeluk G (1999):** Semen culture, leukocytospermia, and the presence of sperm antibodies in seminal hyperviscosity. *Arch Androl*, 42, 21-28.
- Naessens A, Foulon W, Debrucker P, Devroey P, Lauwers S (1986):** Recovery of micro-organisms in semen and relationship to semen evaluation. *Fertil Steril*, 53, 331-336.
- Ness RB, Markovic N, Carlson CL, Coughlin' MT (1997):** Do men become infertile after having sexually transmitted urethritis? An epidemiologic examination. *Fertil Steril*, 68, 205-213.
- Novy MJ, Eschenbach DA (1998):** Reproductive Endocrinology, Infertility, and Genetics. In: "Gynecology and Obstetrics", Sciarra JJ, Watkins TJ (Eds), Part 12, Vol 5. Lippincott, Williams and Wilkins.
- Ochsendorf FR (1999):** Infections in the male genital tract and reactive oxygen species. *Hum Reprod Update*, 5, 399-420.
- Özkoca A (1984):** Çiftlik Hayvanlarında İnfertilite. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, No 4. İstanbul.
- Paulson JD, Polakowski KL (1997):** Isolation of a spermatozoal immobilisation factor from *Escherichia coli* filtrates. *Fertil Steril*, 28, 182-185.
- Petrunkina AM, Waberski D, Gunzel-Apel AR, Topfer-Petersen E (2007):** Determinants of sperm quality and fertility in domestic species. *Reprod*, 134, 3-17.
- Rodriguez-Martinez H (2007):** State of the art in farm animal sperm evaluation. *Reprod Fertil Dev*, 19, 91-101.
- Salisbury GW, VanDemark NL, Lodge JR (1978):** Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle. 2nd ed. WH Freeman Co, San Francisco.
- Schiefer HG (1998):** Microbiology of male urethroadnexitis: diagnostic procedures and criteria for aetiologic classification. *Andrologia*, 30, 7-13.
- Seidman DS, Madjar I, Levron J, Levran D, Mashiach S, Dor J (1999):** Testicular sperm aspiration and intracytoplasmic sperm injection for persistent infection of the ejaculate. *Fertil Steril*, 71, 564-566.
- Sevinç A. (1984):** Dölerme ve Sun'i Tohumlama. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, No: 397 Ankara.
- Shalika S, Dugan K, Smith RD, Padilla SL (1996):** The effect of positive semen bacterial and Ureaplasma cultures on in-vitro fertilization success. *Hum Reprod*, 11, 2789-2792.
- Sigman M, Howards SS (1998):** Male Infertility. In: "Campbell's Urology", Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ (Eds), Vol. 2, Ch. 44. 7th ed. pp. 1287- 1330, WB Saunders Co. Philadelphia.
- Sönmez M (2013):** Reprodüksiyon Suni Tohumlama ve Androloji Ders Notları. FÜ Veteriner Fakültesi Yayınları. Elazığ 2013.
- Swenson CE, Toth A, O'Leary WM (1979):** *Ureaplasma urealyticum* and human infertility: The effect of antibiotic therapy on semen quality. *Fertil Steril*, 31, 660-665.
- Trum JW, Mol BW, Pannekoek Y, Spanjaard L, Wertheim P, Bleker OP, van der Veen F (1998):** Value of detecting leukocytospermia in the diagnosis of genital tract infection in subfertile men. *Fertil Steril*, 70, 315-319.
- Villanueva-Diaz CA, Flores-Reyes GA, Beltrán-Zuniga M, Echavarría-Sánchez M, Ortiz-Ibarra FJ, Arredondo-García JL (1999):** Bacteriospermia and male infertility: a method for increasing the sensitivity of semen culture. *Int J Fertil Womens Med*, 44, 198-203.
- Weidner W, Krause W, Ludwig M (1999):** Relevance of male accessory gland infection for subsequent fertility with special focus on prostatitis. *Hum Reprod Update*, 5, 421-432.
- Weidner W, Schiefer HG, Garbe C (1987):** Acute nongonococcal epididymitis. Aetiological and therapeutic aspects. *Drugs*, 34, 111-117.
- Winters SJ (1997):** Pathogenesis and medical management of male infertility. In: "infertility, A Comprehensive Text", Seibel MM (Ed). Ch. 15. pp. 261-275. Appleton and Lange, Stamford.
- Witkin SS, Tot'h A (1983):** Relationship between genital tract infections, sperm antibodies in seminal fluid and infertility. *Fertil Steril*, 40, 805-808.
- Wolin LH (1971):** On the etiology of epididymitis. *J Urol*, 105, 531-533.
- Yanagimachi R (1994):** Mammalian Fertilization. Knobil E, Neill JD (eds), The Physiology of Reproduction. Raven Press, New York, pp. 189-317.



A Research Related With Maiden Races Performed in Istanbul Veliefendi Hippodrome Between The Years of 1996-2015

İlker AKYÜZ

Karadeniz Technical University, Faculty of Engineering, Department of Forest Industry Engineering, Trabzon, Turkey

Received: 02.03.2016

Accepted: 18.05.2016

SUMMARY

The horse races contribute tremendously to the economies of countries all around the world. Today, the horse races are continuing by increasing its interest everyday as a sporting activity, a social necessity and as a game of chance. The horse races are held in Turkey, every day of the year, at least in two different provinces. The revenue generation from the races contributes to the national economy in very large amounts. Since 1996 until 15 December 2015, 68.260 races were held in total. The horse races were held in a total of 490 categories in Turkey, till the day the research is written. In this study, the Maiden races performed in İstanbul Veliefendi Hippodrome which is just one of the 490 different categories, are taken into consideration. In the study, the statistical results were examined in the computerized environment with the assistance of Excel and SPSS program according to the championships gained in these races of different race thoroughbreds, handicap score and weight category by transferring scientific results to the entire horse racing community and its aimed to improve prediction and forecasting models for the races that will be held later and the results are presented clearly. All of the races that have been performed between the years of 1996-2015 were recorded meticulously every day. A similar study is unaccomplished in Turkey and all around the world up to now. In the literature a scientific article was found related with the races held in Şanlıurfa hippodrome. The participation of the study in the literature is of great importance from a scientific perspective.

Key Words: Horse, Maiden, Race, Handicap, Distance

ÖZET

İstanbul Veliefendi Hipodromunda 1996-2015 Yılları Arasında Yapılan Maiden Yarışları İle İlgili Bir Araştırma

At yarışları tüm dünyada ülkelerin ekonomisine büyük katkılar sağlamaktadır. Günümüzde at yarışları her geçen gün ilginin arttığı bir spor dalı, sosyal ihtiyaç ve şans oyunu olarak devam etmektedir. Türkiye'de yılın her günü en az iki farklı ilde at yarışları düzenlenmektedir. Yarışlardan elde edilen gelirler ülke ekonomisine büyük miktarlarda katkı sağlamaktadır. 1996 yılından 15 Aralık 2015 tarihine kadar toplam 68260 yarış düzenlenmiştir. Araştırmanın yazıldığı güne kadar Türkiye'de toplam 490 farklı kategoride at yarışları düzenlenmiştir. Bu çalışmada 490 farklı kategoriden sadece bir tanesi olan Maiden yarışlarının İstanbul Veli Efendi Hipodromunda koşulanları ele alınmıştır. Çalışmada farklı ırk safkanların bu koşullarda elde ettiği birincilikleri handicap puanı ve ağırlık kategorisine göre Excel ve SPSS programları kullanılarak belirlenmiştir. Böylece at yarışları camiasına bilimsel sonuçların aktarılması amaçlanmıştır. 1996-2015 yılları arasında yapılmış olan tüm yarışlar titizlikle her gün kayıt altına alınmıştır. Çalışmanın benzeri şu ana kadar Türkiye'de ve Dünya'da yapılmamış olup literatürde Şanlıurfa hipodromunda yapılan yarışlarla ilgili bilimsel bir makaleye rastlanmıştır. Çalışmanın literatürde yer alması bilimsel açıdan önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: At, Maiden, Yarış, Handikap, Mesafe

GİRİŞ

At yarışları tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çok popüler bir durumdadır. 100 bini aşkın kişinin geçim kaynağı olmasının yanı sıra, çok daha büyük bir ekonomik hareketin taşıyıcısı durumundadır. 1909 yılında Osmanlı Jokey Kulübü "Jokey Club Ottoman" adıyla kuruldu. Osmanlı Jokey Kulübü'nün Padişahın himayesindeki

hipodromdaki at yarışlarını yönetmek ve Osmanlı "yani İngiliz" ve safkan Arap atı yetiştirmek amacını taşıdığı belirtilmiştir. 1912 yılından İslah-ı Feres Cemiyeti Veliefendi yarışlarını düzenlenmiştir. 1920 yılında bir İngiliz şirketi Veliefendi'de yarışlar düzenlemeye başlamıştır. Bu yarışlar 1922 yılına kadar sürmüştür. 1920 yılında TBMM Mustafa Kemal Paşa himayesinde Ankara'da yarışlar düzenlenmiştir. 1923-1926 yıllarında İstanbul'da

çeşitli yarışmalar düzenlenmiştir (Akyüz 2012), (Anonim 2015).

1927 tarihinde Ankara'da Gazi Mustafa Kemal'in de katılımıyla safkan İngiliz at ve kısraklarının katılabileceği Gazi Koşusu düzenlendi. İlk kupalı koşu 1939 yılında Cumhurbaşkanlığı Kupası Koşusu adı altında yapıldı. 1953 yılında Jokey Kulübü "Türkiye Jokey Kulübü" adını aldı. Bu tarihten itibaren, yarışlar Kulüp'ün organizasyonunda tek elden ve sistemli yönetim ile bugünlere kadar gelmiştir (Anonim 2007).

Türkiye'de toplam 9 hipodromda her gün at yarışları düzenlenmektedir. Bu yarışlar sonucunda birçok yarışsever büyük ikramiyeler kazanırken, devlet ekonomisi de büyük miktarlarda kazanç elde etmektedir. Araştırmanın hazırlandığı güne kadar yapılan yarışların illere göre dağılımları Tablo 1'de verilmiştir. Çalışmada yaklaşık 20 yıl içerisinde Türkiye'nin çeşitli illerinde yaklaşık 490 farklı kategori yarışlardan yalnızca bir tanesi olan Maiden koşuları İstanbul Veliefendi Hipodromu için ele alınmıştır. Yarış sonuçları yaklaşık 20 yıl boyunca araştırmacı tarafından özenle birçok faktör doğrultusunda tek tek kayıt altına alınmıştır. İstanbul Veliefendi Hipodromunda bu koşullarda elde ettiği birincilikleri handikap puanı ve ağırlık kategorisine göre istatistik sonuçları bilgisayar ortamında Excel ve SPSS programları yardımı ile incelenmiştir. Böylece tüm at yarışları camiasına bilimsel sonuçlar aktararak daha sonra yapılacak yarışlar için öngörü ve tahmin modeli geliştirmesi amaçlanmıştır.

Tablo 1. Türkiye'de at yarışlarının yapıldığı iller ve çim ve kum pistte yapılan yarış sayıları (1996-2015)

Table 1. The provinces where the horse races were held in Turkey and the number of races performed in grass and sand tracks (1996-2015)

Şehir	Toplam koşulan yarış sayısı	% dağılım
İstanbul	16776	24.57
Ankara	9428	13.81
İzmir	12687	18.58
Bursa	11655	17.07
Adana	10423	15.26
Şanlıurfa	3319	4.86
Elazığ	2249	3.29
Diyarbakır	892	1.30
Kocaeli	831	1.21
Toplam	68260	100.00

MATERYAL ve METOT

İstanbul Veliefendi Hipodromu, 596 dönüm arazi üzerine kurulmuştur. 2020 metre uzunluğunda 27-36 metre eninde çim yarış pisti, 1870 metre uzunluğunda 17.5-19 metre eninde kum (sentetik) yarış pisti, 1720 metre uzunluğunda 14 - 16 metre eninde kum idman pisti, mevcuttur. İstanbul Veliefendi Hipodromu'nda aydınlatma işleri tamamlanarak, 27 Temmuz 2008 tarihinden itibaren gece yarışları yapılmaya başlanmıştır (Anonim 2015) Çalışmada 1996 yılından beri yapılan Türkiye'deki tüm yarışların sonuçları titizlikle birçok faktörler ele alınarak bilgisayar ortamında Excel ve SPSS istatistik programlarına girilmiştir. Yarışlarda birinci gelen safkanların o yarıştaki handikap puanı, yaş, ağırlık, cinsiyet, yarışı kazanan jokey veya apranti, son yarışlarındaki dereceleri, yarışı kazandığı süre, pist

durumu, yarıştaki safkan sayısı, çıkış kulvarı, kazandığı yarış ganyanı gibi birçok faktör istatistik program modeline girilmiştir. Araştırmada 490 farklı yarış kategorisi (A2, A3, Grup 1, 2, 3, Handikap 13, 14, 15, 16, 17, KV6, 7, 8, 9, Şartlı 1, 2, 3, 4, 5, Maiden vb.) içerisinde sadece Maiden yarışlar ele alınmıştır. Çalışmada birçok faktör ele alınarak karmaşık istatistik programlar kullanılarak tahminleme ve sonuç analizleri yapılabilmeye rağmen, bu tip çalışmalara öncü olması amaçlanan bu araştırmada istatistik frekans analizleri handikap puanları ve ağırlık durumuna göre verilmiştir. Safkanların yarış esnasındaki ağırlıkları 3 kategoriye indirgenmiştir. Bu kategoriler 57 kilo ve üzeri için "ağır", 55 ve 56 kilolar için "orta" ve 54 ve daha az kilo grubu için "düşük" olarak kodlanmıştır. Handikap puanları ise safkanların o gün katıldıkları yarışlara kadar topladıkları derecelerden elde ettikleri toplam puanı göstermektedir. Handikap puanlarına göre safkanlar o yarış içerisinde sıralanmıştır. Yarışlara katılan safkanlar cinslerine ve yaş gruplarına göre gruplandırılmıştır. Tüm yarışlar analiz edilerek Maiden yarışlarda elde edilen birinciliklerin safkanlara ait handikap puanları ve ağırlık durumlarına göre sonuçlar verilerek yorumlar yapılmıştır.

BULGULAR

İstanbul Veliefendi Hipodromunda araştırmanın hazırlandığı güne kadar toplam 16776 yarış düzenlenmiştir. Bu yarışların toplam 2833 tanesi Maiden türleri arasında yer almaktadır. İstanbul'da yapılan maiden türleri ile ilgili yarış dağılımları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. İstanbul'da yapılan Maiden yarış türlerinin dağılımları

Table 2. The distribution of the maiden race types that held in İstanbul track

Yarış Türü	Yapılan Yarış Sayısı		Çim Pist		Kum Pist	
	n	%	n	%	n	%
Maiden	1692	59.72	919	61.88	773	57.34
Maiden DHÖW	472	16.66	227	15.28	245	18.17
Maiden DHÖW Dişi	118	4.16	50	3.36	68	5.04
Maiden Dişi	433	15.28	223	15.01	210	15.57
Maiden Erkek	15	0.54	12	0.80	3	0.26
Maiden TR	88	3.10	46	3.09	42	3.11
Maiden TR Dişi	15	0.54	8	0.58	7	0.51
Toplam	2833	100.00	1485	52.41	1348	47.59

Safkanlar başarılarına, güçlerine, cinslerine göre koşulara kayıt olurlar ve yarışlara katılırlar. Maiden koşullarda bu koşu türlerinden biridir. Maiden İngilizcede tecrübesiz anlamına gelmektedir. Maiden koşullarda, yarış hayatında hiç koşu kazanmamış safkanlar katılabilir. Maiden koşuyu kazanan safkan maiden gruptan çıkar ve bir daha maiden yarışlarına katılamaz. Koşu kazanamayan safkanlar bu yarışlara tekrar iştirak edebilir. Araştırmada sadece Maiden yarışları ile ilgili analizler yapılmıştır. Elde edilen veriler 1996 yılından günümüze kadar yapılan tüm yarışların sonuçlarına göre tek tek incelenerek ortaya çıkarılan orjinal sonuçlardır. Araştırma için kullanılan kısaltmalar şunlardır:

Kısaltmalar:**Y.Y.S:** Yapılan Yarış Sayısı**H1:** Handikap 1.si **H2:** Handikap 2.si. **H3:**Handikap 3.sü**G. ORT:** Ganyan ortalaması

2 Yaşlı İngiliz safkan Maiden Çim yarışlarında kazanan safkanların Handikap sıralamalarına göre dağılımları Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3'den görüldüğü gibi 2 yaşlı İngiliz safkanların Maiden Çim yarışlarında tüm mesafelerde handikap puanı olmayan safkanların yarışları kazanma başarısı oldukça yüksek oranlarda seyretmektedir. En yüksek oranlara bakıldığında 900 m çim pist yarışlarında handikap puanı 0 olan safkanlar %95.23 oranında yarış kazanmışlardır. Mesafe uzadıkça handikap puanı 0 olan safkanların yarış kazanma oranı düşüş göstermektedir. 1600 metre mesafede handikap puanı safkanlar %46.15 oranında yarış kazanırken, handikap 1.'si safkanların yarış kazanma oranı %23.07'dir.

Tablo 4'den görüldüğü gibi Türkiye genelinde tüm mesafelerde yapılan yarışlarda %59.05 oranında "ağır" gruptaki safkanların birinci olduğu görülmektedir. "Orta" safkanlar %35.09 oranında birinci olurken, "düşük" grupta yer alan safkanlar ancak %3.06 oranında birincilik elde edebilmiştir.

Tablo 5'de 2 Yaşlı İngiliz safkan Maiden Kum yarışlarında kazanan safkanların Handikap sıralamalarına göre dağılımları verilmiştir.

Tablo 5'den görüldüğü gibi 2 yaşlı İngiliz safkanların Maiden Kum yarışlarında handikap puanları 0 olan safkanların kazanma şansları diğer safkanlara göre oldukça yüksektir. En yüksek değer %92.00 oranı ile 1000 metre mesafede handikap puanı 0 olan safkanların birincilikleri olarak bulunmuştur. 1200 metre kum mesafede handikap birincisi safkanların kazanma oranı %16.27 olurken, 1600 metre mesafede handikap birincisi safkanlar %50.00 oranında başarılı olmuşlardır.

Tablo 6'da safkanların ağırlık gruplarına göre değişik mesafelerdeki yarış kazanma oranları gösterilmektedir.

Tablo 7'de 3 Yaşlı Arap safkan Maiden Çim yarışlarında kazanan safkanların Handikap sıralamalarına göre dağılımları verilmiştir.

Tablo 7'de görüldüğü gibi 3 Yaşlı Arap safkanların Maiden yarışlarında handikap puanlarına göre önde gelen sonuçlara göre handikap puanı 0 olan safkanların kazanma şanslarının daha yüksek olduğu görülmektedir. 1100 metre mesafede handikap puanı 0 olan safkanlar %64.15 oranında yarış kazanmışlardır. 1200 metre mesafede bu oran %42.60 iken 1300 metre mesafede %31.70'dir. Handikap birincisi safkanların en fazla yarış kazandığı mesafelere bakıldığında, %28.69 oranı ile 1200 metre, %24.39 oranı ile 1300 metre ve %25.53 oranı ile 1400 m mesafelerin ön plana çıktığı görülmektedir.

Tablo 8'de safkanların ağırlık gruplarına göre değişik mesafelerdeki yarış kazanma oranları gösterilmektedir.

3 Yaşlı Arap Safkanların maiden Çim pist yarışlarındaki başarılarına bakıldığında tüm mesafelerde "ağır" grupta yer alan safkanların yarışları kazanma oranları oldukça yüksek bulunmuştur (%72.36). "Orta" grupta safkanların yarışlardaki kazanma oranları %21.71 iken, "düşük" grupta yer alan safkanlarda bu oran %5.59'dur.

Tablo 9'da 3 Yaşlı Arap safkan Maiden Kum yarışlarında kazanan safkanların Handikap sıralamalarına göre dağılımları verilmiştir.

Tablo 9'a göre en yüksek ganyan ortalamasının 900 metre kum yarışlarında 6.15 ile sağlandığı görülmektedir. 1400 metre mesafede ise ortalama ganyan 4.09'dur. 1400 metre kum pist mesafesinde yarış kazanan safkanların handikap puanı 0 olan ve gruptaki handikap puan sıralamasında birinci olan safkanların çok yakın oranlar aldığı bulunmuştur. %28.57 oranı ile handikap puanı 0 olan, %26.53 oranında ise handikap birincisi safkanlar yarış kazanmışlardır. 1300 metre mesafede ise handikap birincisi safkanlar en çok yarış kazananlar olarak bulunmuştur (%36.36). 1200 metre mesafede handikap puanı birincisi safkanlar %35.08 oranında yarış kazanırken, handikap puanı 0 olan safkanlarda ise bu oran %43.85 bulunmuştur. Diğer sonuçlar Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 10'da safkanların ağırlık gruplarına göre değişik mesafelerdeki yarış kazanma oranları gösterilmektedir.

3 Yaşlı Arap Safkanların maiden Kum pist yarışlarındaki başarılarına bakıldığında tüm mesafelerde "ağır" grupta yer alan safkanların yarışları kazanma oranları oldukça yüksek bulunmuştur (%75.78). "Orta" grupta yer alan safkanların yarışlardaki kazanma oranları %12.63 iken, düşük gruptaki safkanlarda bu oran %10.00'dir.

Tablo 11'de 3 Yaşlı İngiliz safkan Maiden Çim yarışlarında kazanan safkanların Handikap sıralamalarına göre dağılımları verilmiştir.

3 Yaşlı İngiliz safkanların Maiden Çim yarışlarına bakıldığında en yüksek ganyan ortalamasının 1600 metre mesafede 7.76 oran ile gerçekleştiği bulunmuştur. En fazla yarışın yapıldığı 1600 metre mesafede %42.25 oranında handikap puanı 0 olan safkanlar birinci olurken, %26.76 oranı ile handikap birincisi safkanların koşu kazanma başarısı gösterdiği bulunmuştur.

Tablo 12'de 3 Yaşlı İngiliz safkan Maiden Kum pist yarışlarında kazanan safkanların Handikap sıralamalarına göre dağılımları verilmiştir.

3 Yaşlı İngiliz safkan Maiden kum yarışlarında en yüksek ganyan ortalaması 1500 metre mesafede 5.88 oranı ile bulunmuştur. 76 kez koşulan bu mesafede %47.36 oranında handikap puanı 0 olan safkanlar birinci olurken, handikap puan sıralamasında birinci olan safkanların kazanma oranı %19.73 olarak bulunmuştur. 1200 metre mesafede handikap puanı 0 olan safkanların yarış kazanma oranı %40.74 iken bu oran 1300 metrede %47.82'ye yükselmiştir.

Tablo 13'de safkanların ağırlık gruplarına göre değişik mesafelerdeki yarış kazanma oranları gösterilmektedir.

3 Yaşlı İngiliz safkanların Maiden Kum yarışlarında ağırlık durumlarına göre kazanma oranlarına bakıldığında, %69.84 oranında "ağır" grupta yer alan safkanlarının birinci oldukları bulunmuştur. "Orta" gruptaki safkanların kazanma oranı %23.66 iken, bu oran "düşük" gruptaki safkanlarda %6.48'dir.

Tablo 14'de 4 Yaşlı Arap safkan Maiden Kum yarışlarında kazanan safkanların Handikap sıralamalarına göre dağılımları verilmiştir.

4 Yaşlı Arap safkan maiden yarışları tüm mesafelerde toplam 38 kez koşulmuştur. En yüksek ganyan 4.47 oranı ile 2000 metre mesafede elde edilmiştir. 1400 metre mesafede yarış kazanan safkanların %38.46'sı grubun handikap puanı 0 olan safkanları tarafından oluşmaktadır. 1500 metrede bu oran %37.50'dir.

Tablo 3. 2 Yaşlı İngiliz safkan Maiden Çim yarışlarında kazanan safkanların Handikap puanı sıralamalarına göre dağılımları
Table 3. Two year-old English thoroughbreds the distribution of the winner thoroughbreds in the maiden grass races according to the handicap score rankings

Mesafe	800 metre		900 metre		950 metre		1000 metre		1100 metre		1200 metre	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Y.Y.S	15	4.17	21	5.84	13	3.62	16	4.45	40	11.14	132	36.76
H1	2	13.33	1	4.77	1	7.70	1	6.25	5	12.50	21	15.90
H2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2.50	9	6.81
H3	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2.50	7	3.78
H4	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2.50	1	0.77
H5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0.77
H6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H0	13	86.67	20	95.23	12	92.30	15	93.75	32	80.00	95	71.96
G.ORT	3.80		2.64		2.72		3.25		2.96		4.14	

Mesafe	1300 metre		1400 metre		1500 metre		1600 metre		1800 metre	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Y.Y.S	33	9.19	58	16.15	4	1.11	26	7.24	1	100
H1	6	18.18	7	12.06	2	50.00	6	23.07	-	-
H2	3	9.09	6	10.34	1	25.00	4	15.38	1	100
H3	1	3.04	1	1.73	1	25.00	3	11.53	-	-
H4	2	6.06	2	3.44	-	-	1	3.84	-	-
H5	-	-	1	1.73	-	-	-	-	-	-
H6	-	-	1	1.73	-	-	-	-	-	-
H0	21	63.63	40	68.96	-	-	12	46.15	-	-
G.ORT	3.92		7.71		2.58		4.95		4.60	

Tablo 4. Ağırlık durumuna göre 2 yaşlı İngiliz safkanların Çim pistte Maiden yarış kazanma oranları

Table 4. The maiden race winning rates in grass tracks of the two year-old English thoroughbreds according to their weight status

Mesafe	Kilo durumu							
	Ağır		Orta		Düşük		Eşit	
	n	%	n	%	n	%	n	%
800m	9	60.00	6	40.00	-	-	-	-
900m	11	52.38	10	47.62	-	-	-	-
950m	3	23.07	8	61.53	-	-	2	15.40
1000m	10	62.50	5	31.25	-	-	1	6.25
1100m	19	47.50	17	42.50	3	7.50	1	2.50
1200m	76	57.57	47	35.60	6	4.54	3	2.29
1300m	17	51.51	12	36.36	1	3.04	3	9.09
1400m	43	74.13	15	25.87	-	-	-	-
1500m	3	75.00	1	25.00	-	-	-	-
1600m	20	76.92	5	19.23	1	3.85	-	-
1800m	1	100.00	-	-	-	-	-	-
Toplam	212	59.05	126	35.09	11	3.06	10	2.80

Tablo 5. 2 Yaşlı İngiliz safkan Maiden Kum yarışlarında kazanan safkanların Handikap puanı sıralamalarına göre dağılımları
Table 5. Two year-old thoroughbreds the distribution of the winner thoroughbreds in the maiden sand races according to the handicap score rankings

Mesafe	800m		900m		950m		1000m		1100m		1200m	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Y.Y.S	-	-	10	3.53	-	-	25	8.83	33	11.66	86	30.38
H1	-	-	1	10.00	-	-	1	4.00	3	9.09	14	16.27
H2	-	-	-	-	-	-	-	-	2	6.06	7	8.13
H3	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3.04	1	1.16
H4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2.32
H5	-	-	-	-	-	-	1	4.00	-	-	-	-
H6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H0	-	-	9	90.00	-	-	23	92.00	27	81.81	62	72.09
G.ORT			7.39				3.79		3.85		3.35	

Mesafe	1300m		1400m		1500m		1600m		1800m	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Y.Y.S	43	15.19	51	18.02	33	11.66	2	0.70	-	-
H1	5	11.62	9	17.64	7	21.21	1	50.00	-	-
H2	5	11.62	4	7.84	7	21.21	1	50.00	-	-
H3	2	4.67	3	5.88	2	6.06	-	-	-	-
H4	-	-	1	1.96	2	6.06	-	-	-	-
H5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H0	31	72.09	34	66.66	15	45.45	-	-	-	-
G.ORT	3.37		3.37		4.68		2.45			

Tablo 6. Ağırlık durumuna göre 2 yaşlı İngiliz safkanların Kum pistte Maiden yarış kazanma oranları

Table 6. The maiden race winning rates in sand tracks of the two year-old English thoroughbreds according to their weight status

Mesafe	Kilo durumu							
	Ağır		Orta		Düşük		Eşit	
	n	%	n	%	n	%	n	%
800m	-	-	-	-	-	-	-	-
900m	9	90.00	1	10.00	-	-	-	-
950m	-	-	-	-	-	-	-	-
1000m	14	56.00	8	32.00	1	12.00	-	-
1100m	21	63.63	9	27.27	1	3.03	2	6.06
1200m	68	79.06	16	18.60	2	2.32	-	-
1300m	33	76.74	8	18.60	2	4.65	-	-
1400m	33	64.70	17	33.33	1	1.97	-	-
1500m	25	75.75	4	12.12	2	6.06	2	6.06
1600m	2	100.00	-	-	-	-	-	-
1800m	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam	205	72.43	63	22.26	9	3.18	4	1.41

Tablo 7. 3 Yaşlı Arap safkan Maiden Çim yarışlarında kazanan safkanların Handikap puanı sıralamalarına göre dağılımları**Table 7.** Three year-old Arab thoroughbreds the distribution of the winner thoroughbreds in the maiden grass races according to the handicap score rankings

Mesafe	800m		900m		950m		1000m		1100m	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Y.Y.S	5	1.64	15	4.93	8	2.63	4	1.31	53	17.43
H1	1	20.00	7	46.66	2	25.00	1	25.00	8	15.09
H2	4	80.00	8	53.33	2	25.00	3	75.00	7	13.20
H3	-	-	-	-	1	12.50	-	-	1	1.89
H4	-	-	-	-	3	37.50	-	-	1	1.89
H7	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1.89
H9	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1.89
H0	-	-	-	-	-	-	-	-	34	64.15
G.ORT	3.42		2.21		12.68		2.70		4.23	

Mesafe	1200m		1300m		1400m		1500m		1600m	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Y.Y.S	115	37.82	41	13.48	47	15.46	2	0.65	14	4.60
H1	33	28.69	10	24.39	12	25.53	-	-	5	35.71
H2	15	13.04	7	17.07	8	17.02	-	-	1	7.14
H3	6	5.21	5	12.19	4	8.51	-	-	1	7.14
H4	7	6.08	3	7.31	3	6.38	-	-	2	14.28
H5	2	1.73	2	4.87	1	2.12	-	-	-	-
H6	3	2.60	-	-	2	4.25	-	-	-	-
H7	-	-	1	2.43	-	-	-	-	-	-
H0	49	42.60	13	31.70	17	36.17	2	100	5	35.71
G.ORT	3.85		3.77		3.37		5.42		2.48	

Tablo 8. Ağırlık durumuna göre 3 Yaşlı Arap safkanların Çim pistte Maiden yarış kazanma oranları**Table 8.** The maiden race winning rates in grass tracks of the three year-old Arab thoroughbreds according to their weight status

Mesafe	Kilo durumu							
	Ağır		Orta		Düşük		Eşit	
	n	%	n	%	n	%	n	%
800m	3	60.00	1	20.00	1	20.00	-	-
900m	11	73.33	2	13.33	2	13.33	-	-
950m	3	37.50	4	50.00	1	12.50	-	-
1000m	3	75.00	1	25.00	-	-	-	-
1100m	36	67.92	16	30.18	1	1.90	-	-
1200m	86	74.78	24	20.86	5	4.34	-	-
1300m	31	75.60	5	12.19	5	12.19	-	-
1400m	37	78.72	8	17.02	2	4.25	-	-
1500m	1	50.00	1	50.00	-	-	-	-
1600m	9	64.28	4	28.57	-	-	1	7.14
Toplam	220	72.36	66	21.71	17	5.59	1	0.34

Tablo 9. 3 Yaşlı Arap safkan Maiden Kum yarışlarında kazanan safkanların Handikap puanı sıralamalarına göre dağılımları**Table 9.** Three year-old Arab thoroughbreds the distribution of the winner thoroughbreds in the maiden sand races according to the handicap score rankings

Mesafe	800m		900m		950m		1000m		1100m	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Y.Y.S	-		16	8.42	1	0.52	13	6.84	23	12.10
H1	-	-	1	6.25	-	-	-	-	6	26.08
H2	-	-	2	12.50	-	-	-	-	5	21.73
H3	-	-	1	6.25	-	-	-	-	2	8.69
H4	-	-	1	6.25	-	-	-	-	-	-
H7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H0	-	-	11	68.75	1	100.00	13	100.00	10	43.47
G.ORT	-		6.15		2.55		2.60		2.85	

Mesafe	1200m		1300m		1400m		1500m		1600m	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Y.Y.S	57	30.00	11	5.78	49	25.78	20	10.52		
H1	20	35.08	4	36.36	13	26.53	6	30.00	-	-
H2	3	5.26	2	18.18	9	18.36	3	15.00	-	-
H3	7	12.28	-	-	9	18.36	-	-	-	-
H4	1	1.75	1	9.09	3	6.12	2	10.00	-	-
H5	1	1.75	-	-	1	2.04	-	-	-	-
H6	-	-	1	9.09	-	-	2	10.00	-	-
H7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H0	25	43.85	3	27.27	14	28.57	7	35.00	-	-
G.ORT	3.20		3.82		4.09		3.81			

Tablo 10. Ağırlık durumuna göre 3 Yaşlı Arap safkanların Kum pistte Maiden yarış kazanma oranları**Table 10.** The maiden race winning rates in sand tracks of the three year-old Arab thoroughbreds according to their weight status

Mesafe	Kilo durumu								
	Ağır		Orta		Düşük		Eşit		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
800m	-	-	-	-	-	-	-	-	-
900m	13	81.25	2	12.50	1	6.25	-	-	
950m	-	-	-	-	1	100.00	-	-	
1000m	5	38.46	5	38.46	3	23.08	-	-	
1100m	17	73.91	4	17.39	1	4.35	1	4.35	
1200m	44	77.19	7	12.28	4	7.01	2	3.50	
1300m	11	100.00	-	-	-	-	-	-	
1400m	35	71.42	5	10.20	9	18.36	-	-	
1500m	19	95.00	1	5.00	-	-	-	-	
Toplam	144	75.78	24	12.63	19	10.00	3	1.57	

Tablo 11. 3 Yaşlı İngiliz safkan Maiden Çim yarışlarında kazanan safkanların Handikap puanı sıralamalarına göre dağılımları
Table 11. Three year-old English thoroughbreds the distribution of the winner thoroughbreds in the maiden grass races according to the handicap score rankings

Mesafe	1200m		1300m		1400m		1600m		1700m	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Y.Y.S	32	12.90	2	0.80	69	27.82	71	28.62	3	1.20
H1	10	31.25	-	-	19	27.53	19	26.76	1	33.33
H2	5	15.62	-	-	15	21.73	7	9.85	-	-
H3	6	18.75	1	50.00	10	14.49	4	5.63	-	-
H4	2	6.25	-	-	3	4.34	7	9.85	-	-
H5	-	-	-	-	3	4.34	1	1.40	-	-
H6	-	-	-	-	2	2.89	2	2.81	-	-
H8	-	-	-	-	-	-	-	-	1	33.33
H9	-	-	-	-	-	-	1	1.40	-	-
H10	-	-	-	-	1	1.44	-	-	-	-
H0	9	28.12	1	50.00	16	23.18	30	42.25	1	33.33
G.ORT	4,62		3.17		5.05		7.76		2.15	

Mesafe	1900m		2000m		2100m		2200m		2400m	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Y.Y.S	57	22.98	1	0.40	8	3.22	4	1.61	1	0.40
H1	11	19.29	-	-	3	37.50	3	75.00	-	-
H2	9	15.78	1	100.00	2	25.00	1	25.00	1	100.00
H3	8	14.03	-	-	-	-	-	-	-	-
H4	3	5.26	-	-	-	-	-	-	-	-
H5	5	8.77	-	-	1	12.50	-	-	-	-
H6	5	8.77	-	-	1	12.50	-	-	-	-
H7	5	8.77	-	-	-	-	-	-	-	-
H9	2	3.50	-	-	1	12.50	-	-	-	-
H0	9	15.78	-	-	-	-	-	-	-	-
G.ORT	5.05		5.30		6.96		1.72		1.95	

Tablo 12. 3 Yaşlı İngiliz safkan Maiden Kum pist yarışlarında kazanan safkanların Handikap puanı sıralamalarına göre dağılımları**Table 12.** Three year old English thoroughbreds the distribution of the winner thoroughbreds in the maiden sand races according to the handicap score rankings

Mesafe	1200m		1300m		1400m		1500m		1600m	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Y.Y.S	27	10.30	23	8.77	53	20.22	76	29.00	17	6.48
H1	4	14.81	4	17.39	13	24.52	15	19.73	6	35.29
H2	3	11.11	3	13.04	6	11.32	7	9.21	3	17.64
H3	7	25.92	4	17.39	7	13.20	6	7.89	1	5.88
H4	-	-	-	-	5	9.43	6	7.89	1	5.88
H5	1	3.70	1	4.34	6	11.32	2	2.63	1	5.88
H6	-	-	-	-	1	1.88	-	-	-	-
H7	1	3.70	-	-	-	-	4	5.26	-	-
H9	-	-	-	-	2	3.77	-	-	-	-
H0	11	40.74	11	47.82	13	24.52	36	47.36	5	29.41
G.ORT	5.82		4.01		5.02		5.88		4.05	

Mesafe	1900m		2000m		2100m		2400m	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Y.Y.S	17	6.48	45	17,17	1	0,38	3	1,14
H1	4	23.52	11	24.44	-	-	1	33.33
H2	4	23.52	8	17.77	-	-	-	-
H3	1	5.88	5	11.11	-	-	1	33.33
H4	1	5.88	7	15.55	-	-	-	-
H5	2	11.76	1	2.22	-	-	-	-
H6	-	-	-	-	1	100.00	1	33.33
H7	-	-	1	2.22	-	-	-	-
H8	-	-	1	2.22	-	-	-	-
H9	-	-	1	2.22	-	-	-	-
H0	5	29.41	10	22.22	-	-	-	-
G.ORT	3.96		3.60		1.55		5.00	

Tablo 13. Ağırlık durumuna göre 3 Yaşlı İngiliz safkanların Kum pistte Maiden yarış kazanma oranları**Table 13.** The maiden race winning rates in sand tracks of the three year-old English thoroughbreds according to their weight status

Mesafe	Kilo durumu					
	Ağır		Orta		Düşük	
	n	%	n	%	n	%
1200m	15	55.55	10	37.03	2	7.40
1300m	19	82.60	2	8.69	2	8.69
1400m	37	69.81	13	24.52	3	5.66
1500m	57	75.00	15	19.73	4	5.26
1600m	7	41.17	8	47.05	2	11.76
1900m	12	70.58	5	29.41	-	-
2000m	33	73.33	8	17.77	4	8.88
2100m	1	100.00	-	-	-	-
2400m	2	66.66	1	33.33	-	-
Toplam	183	69.84	62	23.66	17	6.48

Tablo 14. 4 Yaşlı Arap safkan Maiden Kum yarışlarında kazanan safkanların Handikap puanı sıralamalarına göre dağılımları
Table 14. Four year-old Arab thoroughbreds the distribution of the winner thoroughbreds in the maiden sand races according to the handicap score rankings

Mesafe	1200m		1300m		1400m		1500m		1600m		2000m	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Y.Y.S	2	5.26	2	5.26	13	34.21	8	21.05	7	18.42	6	15.78
H1			2	100	3	23.07	2	25.00	3	42.85	1	16.66
H2	2	100			1	7.69	1	12.50	1	14.28	2	33.33
H3					2	15.38	2	25.00				
H4					2	15.38			1	14.28	2	33.33
H6									1	14.28		
H0					5	38.46	3	37.50	1	14.28	1	16.66
G.ORT	3.07		2.12		2.94		2.42		1.85		4.47	

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada 2 ve 3 yaşlı İngiliz safkanlar ve 3 ve 4 yaşlı Arap safkanların İstanbul Veliefendi Hipodromunda çim ve kum pistte katıldıkları Maiden koşullardaki yarış kazanma başarıları, tüm mesafelerde handikap puanları sıralamalarına ve ağırlık kategorilerine göre detaylı bir şekilde incelenmiş, tüm at camiası, at sahipleri, yarış severler ve tüm ilgililere daha önce yapılmamış bilimsel sonuçlar aktarılmıştır.

2 yaşlı İngiliz safkan maiden kategori çim koşuları İstanbul pistinde toplam 39 kez yapılmıştır. Bu yarışlar 11 farklı mesafede gerçekleştirilmiştir. En fazla koşu bu kategoride 1200 metre mesafede 132 kez koşulmuştur. 1400 metre mesafede ise bu sayı 58'dir. Bu kategoride dikkat çeken sonuçlar şöyledir. En yüksek ganyan ortalaması 7.71 oranı ile 1400 mesafede elde edilmiştir. 1400 metre mesafedeki maiden çim yarışları 2 yaşlı İngiliz safkanlar için sürpriz sonuçları beraberinde getirmektedir. 1600 mesafedeki yarış sonuçlarının ganyan ortalaması 4.95 olarak tespit edilmiştir. Bu mesafede de sürpriz yada plase sonuçlar elde edilmektedir. 1200 metre mesafede yapılan yarışlarda kazanan safkanların %71.96'sı handikap puanı 0 olan safkanlardan oluşurken, handikap puan sıralamasında 1. olan safkanlarda bu oran %15.90'dır. 2 yaşlı İngiliz safkan çim pist maiden yarışlarında grubun ağır kilolu safkanlarının %59.05 oranı ile birinci oldukları bulunmuştur. Orta kilolu safkanların yarış kazanma oranları %35.09 olarak tespit edilmiştir. Düşük ağırlıklı safkanlarda yarış kazanma oranı çok düşük oranlarda kalmıştır.

2 yaşlı İngiliz safkan maiden kum yarışlarında toplam 283 koşu yapılmıştır. En yüksek ganyan ortalaması 7.39 ile 900 metre yarışlarında elde edilmiştir. Bu mesafedeki yarışlar sürpriz sonuçlara açık olmaktadır. Handikap puanı 0 olan safkanların en yüksek yarış kazandığı mesafe 1100 metre de %81.81 oranı ile olmuştur. Ağırlık kategorilerine bakıldığında %72.43 oranı ile "ağır" grupta yer alan safkanların yarış kazandıkları tespit edilmiştir.

3 yaşlı Arap safkan maiden çim yarışlarında toplam 304 koşu yapılmıştır. En yüksek ganyan ortalaması 12.68 oranı

ile 950 metre mesafede elde edilmiştir. 1500 metre mesafede ganyan ortalaması 5.42 olarak tespit edilmiştir. 1100 metre mesafede handikap puanı 0 olan safkanların kazanma oranı %64.16 oranı ile en yüksek değer olarak göze çarpmaktadır. Ağırlık sınıflamasına göre bu kategoride %72.36 ile "ağır" grupta yer alan safkanlar yarış kazanmıştır.

3 yaşlı Arap safkan maiden kum yarışlarında toplam 190 yarış yapılmıştır. En yüksek ganyan ortalaması 900 metre mesafede 6.15 oranı ile bulunmuştur. Bu mesafe sürpriz sonuçlara açık yarışlara sahne almaktadır. Bu kategoride yarış kazanma başarısı gösteren safkanlar grubun "ağır" safkanları olmaktadır. Ağır gruptaki safkanların kazanma oranı %75.78'dir.

3 yaşlı İngiliz safkan maiden çim koşuları İstanbul pistinde toplam 248 kez yapılmıştır. Bu kategoride genelde sürpriz sonuçlar elde edilmektedir. 1600 metre mesafede yapılan toplam 71 yarışın ganyan ortalaması 7.76 olarak bulunmuştur. 2100 metre mesafede yapılan yarışların ganyan ortalaması 6.96 olarak tespit edilmiştir. Ağırlık kategorilerine bakıldığında ise 3 yaşlı İngiliz safkan maiden koşullarında %64.51 oranında "ağır" grubun safkanları birincilik elde etmiştir.

3 yaşlı İngiliz safkan maiden kum yarışları İstanbul pistinde toplam 262 kez koşulmuştur. Bu kategoride yapılan yarışlarda en yüksek ganyan ortalaması 1500 metre mesafede 5.88 oranı ile tespit edilmiştir. 1200 metre mesafede ise ganyan ortalaması 5.82 olarak bulunmuştur. Bu kategoride ağır grupta yer alan safkanların birinci gelme oranı %69.84 iken "orta" grupta yer alan safkanların birinci helme oranı %23.66 olarak tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Akyüz İ (2012). Geçmişten günümüze Şanlıurfa hipodromu at yarışları ile ilgili bir araştırma. YU Veteriner Fakültesi Dergisi, 23(3), 159-166.
- Anonim (2007). Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Mahmutiye Meslek Yüksekokulu, Atçılık, 3-8.
- Anonim (2015). <http://www.tjk.org>, Erişim Tarihi: 15.12.2015



Case of Salivary Cyst in a Aseel Rooster

İsmail ALKAN¹ Yağmur KUŞCU¹ Tunahan SANCAK¹
Nazmi ATASOY¹ Hasan Hüseyin ARI² Sema USLU³

¹ Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Van, Turkey

² Cumhuriyet University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy, Sivas, Turkey

³ Cumhuriyet University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology and Embryology, Sivas, Turkey

Received: 05.11.2015

Accepted: 06.05.2016

SUMMARY

This case consists of ten months old aseel rooster that was consulted to YYU, Surgery Clinic of Veterinary Medicine. Information of swollen in cavum oris, wheezing, anorexia, loss of weight were obtained in anamnesis. Patient was examined with this anamnesis. Cystic formation that is soft and noticing with palpation was determined in the salivary glands of the palate and dorsal wall of the pharynx. Operation was performed to cystic formation which is thought in gll. mandibulares. Caseous content was emptied. Cavity was irrigated with teinture d'iode. For microbiological and histological evaluation, samples were taken from content and cyst wall. In microbiological evaluation *Streptococcus* spp was determined. In histopathologic evaluation proliferation of Stratum spinosum cells, diversity in submucosal histiocytes and proliferation in macrophages were determined. Glycerin iode and systematic antibiotics were advised.

Key Words: Salivary cyst, Aseel rooster

ÖZET

Bir Hint Horozunda Salivar Kist Olgusu

Materyali 13.05.2014 tarihinde Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Cerrahi Kliniği'ne getirilen, 1194 protokol numaralı on aylık hint horozu oluşturdu. Hasta sahibi horozun ağız bölgesinde şişlik, hırıltılı solunum, yeme güçlüğü ve kilo kaybı olduğu bilgisini verdi. Hasta muayenesinde palpasyonda alt damakta salivar bezler ve farinksin dorsalinde yumuşak damağın altında büyüyen kistik oluşum belirlendi. Gll. mandibularis rostrales'de olduğu düşünülen kiste operatif girişimde bulunuldu. Çoğunlukla yumurta akı kıvamında, az da olsa kazeöz olan içerik boşaltıldı. Kavite teinture de'iode ile irrigate edildi. Mikrobiyolojik ve histolojik kontrol amacıyla içerik ve kist duvarından parça alındı. Kist içeriğinin mikrobiyolojik incelenmesinde *Streptococcus* spp.'ye rastlandı. Kist duvarının histopatolojisinde ise; Stratum spinosum hücrelerinde proliferasyon, submukoza histiyositlerde farklılık ve makrofaj proliferasyonu olduğu belirlendi. Gliserin iode ve sistemik antibiyotik önerildi.

Anahtar Kelimeler: Salivar kist, Hint horozu

GİRİŞ

Kanatlılarda tükürük bezlerinden; gl. maxillaris, gll. palatinae ve gll. sphenoterygoideae bezleri oropharynx'in çatısında, yanaktaki tükürük bezleri ile gll. linguales, gll. mandibulares bezleri oropharynx'in tabanında bulunurlar (Dursun 2002).

Kuş türlerinde memelilerde olduğu gibi büyük, iyi tanımlanmış tükürük bezleri yoktur. Bunun yerine oral kavitenin çatı ve zemininde glanduler doku yapısında çok sayıda koleksiyonlar şeklinde yerleşmiştir. Bu bezler kuru besinlerle beslenen kuş türlerinde çok iyi gelişmişlerdir. Tükürük bezleri primer olarak mukus aynı zamanda da amilaz salgırlarlar. (Hoefer ve ark. 1997).

Tükürüğün ana görevi yiyeceklerin sindirilmesine yardım

etmek ve sindirim kanalının giriş bölgesinin korunmasıdır. Gıdaların çiğnenmesi sırasında, gıdaların ufalanması, kimyasal olarak parçalanması ve lokmanın özofagusa taşınmasında yardımcıdır. Ağızda çiğnenerek küçültülmüş besinler tükürük musini yardımı ile yumuşak kıvamlı bir kitle şekline dönüşürler. Gıdalar sulandırılıp kaygan şekle geldiklerinden yutma daha kolaylaşmış olur (Aktaş ve ark. 2009). Gll. mandibulares, ağız tabanında dilin yanı ile gaga arasında bulunur. Pek çok küçük deliklerle ağız boşluğuna açılır. Gll. mandibularis'in anterior (rostrales) ve posterior (caudales) olarak iki bölümü bulunmaktadır. Dilin apex'inin ön kısmındaki cavum sublinguale apicale'ye yerleşen bölümüne gll. mandibulares anteriores (rostrales), cavum sublinguale laterale'ye yerleşen kısmına ise gll. mandibulare posteriores (caudales) (gll.

sublingualis) adı verilmektedir (Dursun 2002).

Ductus Stenoni, Bartholini ve Whartoni gibi salya kanallarının obstrüksiyonlarına bağlı olarak oluşan retensiyon kistlerine, salya kistleri adı verilir. Şekillendikleri salya kanallarına göre de değişik adlar alırlar. Dilaltında şekillendiklerinde Ranula (Kurbagaçık, Grenouillette), boyunda veya çene altında oluştuklarında da boyun kisti adını alırlar. Ranulalar; superficial veya oral ranula ve servikal veya pulling ranula şeklinde ikiye ayrılırlar. Ranula genellikle servikal kistlerle birlikte bulunur ve ağzın tabanında dil boyunca lokalize olur. Salya kistlerinin oluşumunda, kanalın ağzını tıkayan yem artıkları, epitel döküntüleri, frenulum linguae yaraları ve salya taşları önemli rol oynarlar (Öztürkcan ve ark. 1996; Samsar 1998).

Ranula olgularında, dilaltında yuvarlak veya oval biçimde, içinde yumurta akına benzer bir sıvı bulunan, kapsulası sarı kırmızı renkte fluktan bir şişkinlik gözlenir. Bu şişkinlik frenulum lingue'nin bir veya iki tarafında şekillenir. İçeriğin fazla olduğu olgularda, kistin çeperi gerginleşir ve büyük ölçüde yem yeme ve su içmeyi engeller. Bazen kendiliğinden açılabilen olgulara da rastlanır. Bunların bazılarının içinde kanlı, koyu sarı bir içerik bulunur (Samsar 1998; Altuğ 2012).

Salivar kist olgularının insanlarda, köpeklerde, kedilerde ve papağanlarda görüldüğü bildirilmiştir (Spangler ve Culbertson 1991; Öztürkcan ve ark. 1996; Souza ve ark. 2006).



Şekil 1: Hint horozu

Figure 1. Aseel Rooster

OLGUNUN SUNUMU

Materyali 13.05.2014 tarihinde Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Cerrahi Kliniği'ne getirilen, 1194 protokol numaralı on aylık hint horozu oluşturdu (Şekil 1). Hasta sahibi horozun ağız bölgesinde şişlik, hırıltılı solunum, yeme güçlüğü ve kilo kaybı olduğu bilgisini verdi. Hasta muayenesinde palpasyonda alt damakta salivar bezler ve farinksin dorsalinde yumuşak

damağın altında büyüyen kistlik oluşum belirlendi (Şekil 2). Gll. mandibularis rostrales'de olduğu düşünülen kiste operatif girişimde bulunuldu. Çoğunlukla yumurta akı kıvamında, az da olsa kazeöz olan içerik boşaltıldı (Şekil 3). Kavite teinture de'iode ile irrije edildi (Şekil 4). Mikrobiyolojik ve histolojik kontrol amacıyla içerik ve kist duvarından parça alındı. Kist içeriğinden alınan örneklerin mikrobiyolojik incelenmesinde *Streptococcus* spp.'a rastlandı. Kist duvarından alınan parçanın histopatolojik incelenmesinde ise; Stratum spinosum hücrelerinde proliferasyon, submukoza histiositlerde farklılık ve makrofaj proliferasyonu olduğu belirlendi (Şekil 5). Gliserin iode ve sistemik antibiyotik önerildi.



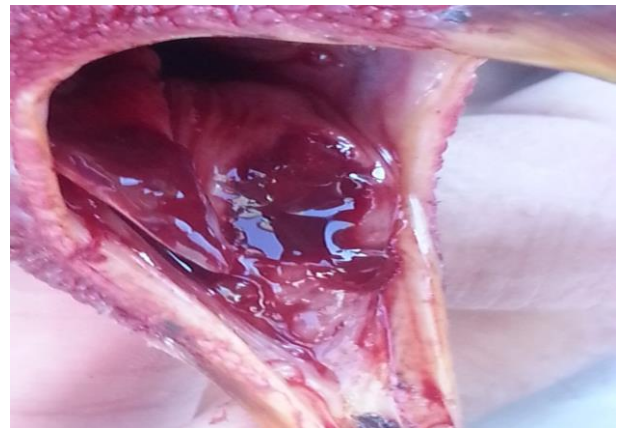
Şekil 2 : Palpasyonda salivar kistin görünümü

Figure 2. Appearance of salivar cyst on palpation



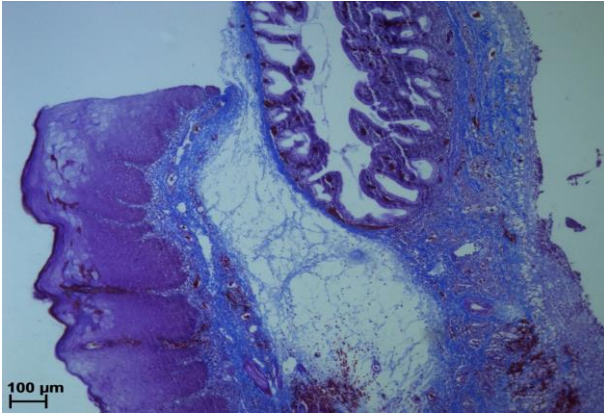
Şekil 3: Salivar kist içindeki kazeöz içerik

Figure 3. Caseous content in salivar cyst



Şekil 4: Salivar kistin şirurjikal yolla alındıktan sonraki durumu

Figure 4. Situation of salivar cyst after operation



Şekil 5: Salivar kistin histopatolojik görünümü
Figure 5. Histopathological appearance of salivary cyst

TARTIŞMA ve SONUÇ

Salivar kist tükürük bezi veya kanalı yakınlarında tükürüğün birikmesi olgusudur (Souza ve ark. 2006). Salivar kist olgusunun tetiklenmesinin nedeni her zaman bilinmemektedir. Fakat bunlar genellikle travmaya bağlı olarak salivar kanalın rupturuyla ilişkilendirilirler. Salivar kistli hayvanlar ya asemptomatiktir ya da pityalizm, disfaji veya nadiren de dispnenin mevcut olmasıyla karakterize semptomlar gösterirler (Dunning 2002). Bu vakada gözlemlenen semptomlar; ağız bölgesinde şişlik, hırıltılı solunum, yeme güçlüğü ve kilo kaybıdır.

Salivar kistler yangısal bağ doku ile örtülüdür, bu da onları epitel örtüye sahip kistlerden ayırır (Dunning 2002). Vakamızdan alınan örneklerin histopatolojisinde; Stratum spinosum hücrelerinde proliferasyon, submukoza histiyositlerde farklılık ve makrofaj proliferasyonu olduğu belirlenmiştir.

Salya kisti olgularında medikal sağaltım tek başına yeterli değildir. Bunun için dilaltı salya kisti olgularının sağaltımında şirurjikal girişim önerilir. Punksiyon gerçekleştirilir; ancak punksiyon yerinin çabuk kapanmasından dolayı kesin sonuç alınmaz. Onun için bir makas aracılığıyla kistten küçük kavun dilimi benzeri bir

kısım keserek uzaklaştırılmalıdır. Böylece tekrarlayan retensiyonlar önlenmeye çalışılır (Samsar 1998). Bundan dolayı hint horozuna şirurjikal girişim yapıldı. İçerik boşaltıldı ve irrigasyon gerçekleştirildi. Sonuç olarak şirurjikal prosedür ve sağaltım başarılı olmuş ve hasta tam iyileşmiştir.

Bu bildirimini oluşturan hint horozunda görülen semptomlar, lezyonun anatomik yeri ve kist duvarından alınan parçanın histopatolojik yapısı olgunun salivar kist olduğunun kanıtı olarak kabul edildi. Bu olguya horozlarda ilk defa karşılaşıldığından yayınlanmasına karar verilmiştir.

KAYNAKLAR

- Aktaş A, Giray B, Aktaş G (2009).** Tükürük (Salya); Özellikleri ve Görevleri Tanı Açısından Değeri. *ADO Klinik Bilimler Dergisi*, 3 (2): 361-367.
- Dunning D (2002).** Oral Cavity (In) Text Book of Small Animal Surgery: Slatter Volume I, Third Edition; 553-561, Philadelphia, PA: Saunder.
- Dursun N (2002).** Evcil Kuşların Anatomisi, 4. Baskı, Medisan Yayınevi, sh: 57-58, Ankara.
- Altuğ ME, (2012).** Ağız Boşluğunun Hastalıkları Veteriner Özel Cerrahi. Medipres Matbaacılık Yayıncılık, 127-132.
- Hofer HL, Orosz S, Dorrestein GM (1997).** The gastrointestinal tract. In: Altman RB, Clubb SL, Dorrestein GM, Quesenberry K, eds. *Avian Medicine and Surgery*. PA: WB Saunders; 412- 453, Philadelphia.
- Nickel R, Schummer A, Seiferle E, Siller WG, Wight PAL (1977).** Anatomy of the domestic birds. Blackwell Science Ltd., 95-114, New York.
- Öztürkcan S, Kunt T, Aker H, Müderris S, Kaplan Y (1996).** Plunging Ranula. *K.B.B. ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi*, 4: 88-90.
- Saito I (1966).** Comparative anatomical studies of the oral organs of the poultry. V. Structures and distribution of taste buds of the fowl. *Bulletin of the Faculty of Agriculture, Miyazaki University*, 13, 95-102.
- Samsar E, Akın F (1998).** Özel Cerrahi. Tamer Matbaacılık, 113-114, Ankara.
- Souza MJ, Wilson GH, Carmichael P (2006).** Multifocal Sialoceles and Sialoliths in a Yellow-naped Amazon Parrot (*Amazona ochrocephala auroalliata*) With Chronic Ptyalism. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 20(2):101-104.
- Spangler WL, Culbertson MR (1991).** Salivary gland disease in dogs and cats: 245 cases (1985-1988). *J Am Vet Med Assoc*.198:465-469.





The Importance of Animal Welfare Applications in Food Safety in terms of the Relevant Legislation in Turkey and the European Union

Ahmet Fatih DEMİREL Bahattin ÇAK

Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Zootechnics, Van, Turkey

Received: 11.12.2015

Accepted: 01.02.2016

SUMMARY

Feeding healthy and balanced of rapidly growing world population is one of the key challenges facing the world today. Using of knowledge and technology in the production of safe food have both advantage and disadvantage. Recently, conscious consumers profile's that quality, healthy and safe food are more questioning how the food was produced. For this reason, food safety turns into "both from farm to fork and from fork to farm" approach instead of "from farm to fork" food safety approach in recent years. EU and Turkey enact many legal regulations to ensure access to safe food of consumers. Thus, ensure food safety and protection of health with the interests of consumers and manufacturers, establishment of an effective food control system is aimed. There is a synergy between food safety and animal welfare. Animals should be far away from feelings like pain, suffering and fear to produce healthy and quality foods. The practise of unconscious and careless is falling into seriously danger about animal welfare of millions of animals raised for meat, milk and egg consumption. The importance of animal welfare in terms of food security is relevant Increasing of animal products consumption. This study provides information that the importance of food security in terms of animal welfare and the relevant legislation in EU and Turkey.

Key Words: Animal welfare, Food safety, Union acquis, Law

ÖZET

Türkiye ve Avrupa Birliği'nde İlgili Mevzuatlar Açısından Hayvan Refahı Uygulamalarının Gıda Güvenliğindeki Önemi

Hızla artan dünya nüfusunun sağlıklı ve dengeli beslenmesi, bugün dünyanın karşı karşıya kaldığı önemli sorunlarından birisidir. Güvenli gıda üretiminde bilgi ve teknoloji kullanımı, birçok avantajın yanında dezavantajlara da sahiptir. Son zamanlarda artan bilinçli tüketici profili, kaliteli, sağlıklı ve güvenli gıdaların nasıl üretildiğini daha fazla sorgulamaktadır. Bu sebeple; gıda güvenliğindeki "çiftlikten çatala" yaklaşımı, son yıllarda "hem çiftlikten çatala, hem de çataldan çiftliğe" gıda güvenliği anlayışı şeklinde bir değişim göstermiştir. AB ve Türkiye'de tüketicilerin güvenli gıdaya erişmelerini sağlamak için birçok yasal düzenleme çıkarılmaktadır. Böylece etkili bir gıda denetim sisteminin kurulması, üretici ve tüketici menfaatleri ile sağlığının korunması ve güvenli gıda temininin sağlanması amaçlanmaktadır. Gıda güvenliği ile hayvan refahı arasında bir sinerji vardır. Sağlıklı ve kaliteli gıdalar elde etmek için hayvanların acı, ıstırap ve korku gibi duygulardan uzak olması gerekmektedir. Hayvan refahı konusundaki bilinçsiz ve özensiz uygulamalar, et, süt ve yumurta tüketimi için yetiştirilen milyonlarca hayvanın refahını ciddi şekilde tehlikeye düşürmektedir. Hayvansal ürünlerin tüketimi arttıkça gıda güvenliği açısından hayvan refahının önemi de artmaktadır. Bu çalışma; AB ve Türkiye'deki hayvan refahı uygulamalarının gıda güvenliği açısından önemini ve ilgili mevzuatlar bakımından yapılan çalışmalar hakkında bilgi vermektedir.

Anahtar Kelimeler: Hayvan refahı, Gıda güvenliği, AB müktesebatı, Mevzuat

GİRİŞ

Gıda güvenliği; hem çiftlikten sofraya hem de çataldan çiftliğe anlayışı ile dönüşümsel ve tamamlayıcı bir yaklaşım içerisinde güvenli ve yeterli gıda temini, üretici menfaatleri ile tüketici sağlığının korunması, etkili bir gıda denetiminin sağlanması ve sektörde haksız rekabetin önlenmesi gibi konuları kapsamaktadır. Güvenilir gıda

üretimini sağlamak amacıyla çiftlikten başlayarak tüketiciye kadar olan hammadde temini, üretim, işleme, depolama, taşıma, dağıtım, satış ve sunum gibi tüm aşamalarda gerekli tedbirler alınmalıdır (Giray ve Soysal 2007). Hayvan refahı, hayvan ile ilgili tüm alanları ve kişileri ilgilendiren bir konudur. Konu üzerinde yürütülen her türlü çalışma, insanların hayvanlara "gereksinimi" olduğu ve onları yetiştirdikleri sürece devam edecektir

(Savaş ve ark. 2009). Günümüzde Avrupa Birliği'nde (AB) hayvan yetiştirme ile ilgili neredeyse tüm hukuki düzenlemelerde hayvan refahına atıflar bulunmaktadır. Bunun da ötesinde artık hayvan refahı başlı başına hukuki düzenlemelere konu olmaktadır. Hayvan refahı konusu, ülkemizde de, özellikle AB müktesebatına uyum sürecinde çıkarılan yasalarla hukuk açısından gündeme gelmiş ve bu anlamda bazı düzenlemeler yapılmıştır (Özgür 2007). Gelişmiş toplumlarda özellikle gıda üretimi amacıyla yetiştirilen hayvanlar için daha iyi yaşam ve yetiştiricilik şartları ortaya koyma ihtiyacı duyulmaktadır. Birçok gelişmiş ülke, tüm önemli türler için uygun yasalarla desteklenen gönenc kodları ortaya koymaktadır (Phillips 2004).

Tüketici Odaklı Gıda Güvenliği

Mal ve hizmetlerden yararlanan, satın alıp kullanan, tüketen kimse "tüketici" olarak tanımlanmaktadır (Anonim 2015a). Bilinçli tüketici; örgütlü olan, bir mal ya da hizmeti satın alırken, ondan azami derecede yarar sağlamayı amaçlayan, gerçek ihtiyaçlarını göz önünde tutan, planlı ve belgeli alışveriş yapan, alışverişin nesnesi değil öznesi olduğunun bilincinde olan, kalitesi, standardı yüksek, sağlıklı, güvenli, çevreci ürünü seçme olgunluğunu taşıyan, tüm bunlarla birlikte bütçesine en uygun ürünü seçip tasarrufa önem veren ve aynı zamanda kaliteyi denetleyen, dolayısıyla, giderek ekonomiyi verimliliğe yönlerecek olan yadsınmaz bir sosyoekonomik unsurdur (Topuzoğlu ve ark. 2007). Gıda güvenliği uygulamaları, tüketici tarafından oluşturulan kamuoyu, devlet tarafından oluşturulan mevzuat gıda üreticileri, gıda pazarlamacıları ve gıda bilimi ile uğraşanlar tarafından ortaya konulan ve kullanılan bilimsel ve teknolojik birikimlerden etkilenecek oluşmaktadır. Etkin bir gıda güvenliği yaratılabilmesi için bu unsurların sorumluluklarını yerine getirmesi gerekmektedir (Bayrak ve İlbeği 1997). Gıda maddelerinde kalitenin, tüketicinin algısı ile ilgili olması ve kalitenin tam ölçümünde tüketicinin doğrudan görüşünü alabilecek yöntemlerin de kullanılmaya başlanması, bilinçli tüketici kavramının önemini arttırmış ve gıda güvenliği ön plana çıkmıştır (Dölekoğlu 2002). Gıda güvenliği tüm ülkelerin en önemli konularının başında gelmektedir. Gelişen teknolojiyle birlikte ortaya çıkan çevresel ve sosyal sorunlar güvenli gıdaya ulaşmayı engellemektedir. Tüketiciler gıda güvenliğinin en son halkasını oluşturmaktadır. Bu nedenle, tüketicinin satın alma gücü ve bilinçli olması gıda güvenliğini sağlamanın en önemli faktördür. Tüketici topluluğunun büyük bir bölümünün alım gücü ve eğitim düzeyinin düşük olması, tüketici bilincinin oluşmaması, sağlıksız, düşük kaliteli gıdaları üreten işletmelerin artmasına neden olmaktadır (Onurlubaş 2015). Ülkemizde tüketicinin geçmişten beri süregelen alışkanlıkları, kendi sağlıklarını fazla önemsememeleri, sağlıksız gıda üreten üreticilere bile acımaları, yeterli tüketici bilincine ve gerekli bilgiye sahip olmamaları, alım gücünün düşük olması ve sosyo-ekonomik yapı ve alışkanlıklar bu konuda ki en önemli kontrol mekanizmalarından birisi olan tüketici kontrolünün işlemlerini engellemektedir. Bu nedenle genellikle kontrol mekanizmasında yer alan kurum ve kuruluşlar yalnızdırlar (Anonim 2015b). Güvenli gıda üretimi ve tüketimi konusunda, AB'ye uyum sürecinde yapılan yasal düzenlemelerin ve resmi denetimlerin yanı sıra halkın kolaylıkla ulaşabileceği "Alo Gıda Hattı" gibi uygulamalar da Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından başlatılmıştır (Onurlubaş 2015). Tüm Dünyada ve ülkemizde son yıllarda tüketicilerin eğitim seviyesindeki ve gelir düzeylerindeki artışla beraber, tüketici tercihlerinde de önemli değişiklikler olmaktadır.

Tüketiciler için artık hayvansal ürünün fiyatı, ambalajı ya da satış noktası gibi faktörlerin önemi azalırken, etin kalitesi, güvenlik ve üretim süreçlerinde izlenen yol ön plana çıkmaya başlamıştır. Tüketicilerin, kendi sağlıklarıyla ilgili kaygıları geçmişe oranla artmış; güvenli gıda ve hayvan refahı gibi konulara gösterdikleri duyarlılık, iyi vatandaş ve iyi tüketici olmanın gerekleri arasında kabul edilmeye başlanmıştır. Bu da tüketicilerin, hayvan refahı standartlarının gözetildiği üretim sistemlerini aramasına ve satın alma tercihlerini de buna göre şekillendirmeye başlamalarına neden olmuştur (Özen 2007).

Hayvan Refahı Açısından Gıda Güvenliği

Gıda üretimi için sağlıklı hammadde temininde hayvan refahı da önemli bir rol oynamaktadır. Hayvan refahının ilk resmi tanımı İngiliz hükümetinin 1965 yılında kurduğu Brambell Komitesi tarafından "hayvanın fiziksel ve duygusal bakımdan iyi olma durumu" şeklinde tanımlanmıştır. Başka bir tanımda ise refah, sadece hayvanın bulunduğu fiziksel koşulları değil aynı zamanda duygularını da kapsamaktadır (Duncan 2002; Fidan 2012). Hayvan refahı; acı, ıstırap ve stres gibi istenmeyen duygulardan uzak bir yaşamı hedeflerken, hayvanlarda strese karşı yanıtın oluşmaması ise refahın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Broom 1998; Dantzer 2001; Altınçekiç ve Koyuncu 2012). Kesim hayvanlarında kesim öncesi hayvan refahının yetersiz olması; taze karkas kalitesini olumsuz etkileyerek, etin raf ömrünün kısa olmasına, renk bozukluklarına, etlerin su tutma kapasitelerinde artma ya da azalmaya, domuz ve hindilerde PSE (pale, soft, exudative), domuz, sığır ve kuzularda ise DFD (dark, firm, dry) etlerin oluşmasına, erkek domuz etlerinde pis kokuya veya lekelerle, kanatlı etlerinde soğuma kısalığına, berelenmelere, kemik kırıklarına ve deride yırtılmalara neden olabilmektedir. Yeterli miktarda laktik asit oluşmayan ve pH'sı düşmeyen etlerde patojenler kolayca üreyebilmekte, et saprofit mikroorganizmalar tarafından kolayca bozulabilmektedir (Arslan 2013).

AB standartlarının karşılanması amacıyla, ülkemizde tarımsal gıda işletmelerinin iyileştirilmesi, hayvanların kimliklendirilmesi ve kayıt altına alınması, hayvan refahı, hayvansal yan ürünler ve hayvan hastalıkları ile mücadele konusunda kayda değer çalışmaların yürütülmesi gerekmektedir. Çiftlik hayvanlarının korunmasında ve refahının sağlanmasında ön plana çıkan ve yasal zemine oturtulan üç temel kavram; bakım ve besleme şartları, nakliyyede koruma ve kesim esnasında korumadır. Çiftlik hayvanlarının bakım ve beslenmesinde; hayvanların barınma şartlarının doğal davranışlarına ve rahatlarına yönelik olarak düzenlenmesi istenmektedir. Yine bu hayvanların yeterli ve kaliteli su, yem, havalandırma şartlarına sahip olması ve seksüel davranışlarını ve aktivitelerini kendi doğal hayatlarına özgü sergileyebilmeleri için gerekli alt yapının oluşturulması beklenmektedir. Nakil öncesinde, sonrasında ve nakil sırasında hayvanların içinde bulunduğu koşullar hayvan refahını ve et kalitesini etkilemektedir. Hayvanların nakil araçlarına yüklenmeleri, yükleme ve boşaltma rampasının özellikleri, araçta hayvan başına ayrılan alan, nakil aracının özellikleri (süspansiyon sistemi, yükseklik, kapalı araçlarda havalandırma vb.), yol ve iklim koşulları gibi faktörler refah üzerine doğrudan etkili olmaktadır. (Antalyalı 2007; DPT 2007; Anonim 2014; Demirel ve Çak 2015). Hayvan nakilleri; hayvan refahı, hayvan-insan sağlığı, hayvancılık ekonomisi ve et kalitesi açısından oldukça önemlidir. Uygun şartlarda yapılmayan nakiller hayvanlarda ölümlere, yaralanmalara, travmalara ve et

kalitesinin düşmesine sebep olarak gıda güvenliği ve kalitesi ile ekonomik yönden kayıplara yol açmaktadır. (Yıldız ve Hayırlı 2005; Altınçekiç ve Koyuncu 2010). Kesim esnasında mümkün olduğunca strese girmelerinin ve acı çekmelerinin önlenmesi gerekmektedir. Kesim anında korku, ıstırap, can çekişme ve acı verme etin kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir (Antalyalı 2007; DPT 2007). Kontrolsüz hayvan hareketleri ve hayvan pazarlarının şap, brusella, tüberküloz gibi bulaşıcı hastalıkların yayılmasında ve hayvan refahı üzerinde büyük etkisi vardır.

Kesim ya da Öldürme (İtlaf) Sırasında Hayvan Refahı

Kesimde hayvan refahının sağlanması ve hayvanın fazla acı çekmesinin önlenmesi (acıyı minimize etmek), et hijyeni ve kalitesi ile personel güvenliği açısından son derece önemlidir. Hayvanların kesimi veya öldürülmesi, evcil hayvanlar ile insanlar arasındaki ilişkide en acımasız eylem olarak görülmektedir. AB'nin kesim uygulamaları ile ilgili Birlik mevzuatı, bilimsel veriler ve uygulama deneyimlerine dayanan, uygun ve onaylanmış bayıltma ve öldürme yöntemleri yoluyla hayvanların acısını ve çektikleri eziyeti minimize etmeyi amaçlamaktadır. Mezbahaların inşaa tarzı, özellikleri, ekipmanları ve işlemleri hayvanları heyecandırmayan, herhangi bir acı vermeyen ve ıstırap çektirmeyen nitelikte olmalıdır. Sersemletici veya öldürücü amaçla kullanılan cihazlar, zapt-ı rapt aletleri ve diğer ekipmanlar ile tesisler uygun şartlarda hızlı ve etkili zapt-ı rapt ile öldürücü etkiyi sağlayacak şekilde düzenlenmeli, yapılmalı ve bakım onarımı sağlanmalıdır. Yetkililer bu cihazları kontrol etmeli, sersemletici veya öldürücü amaçla kullanılan diğer ekipmanların düzenli olarak kontrolünü yapmalı, iyi durumda ve tamir edilmiş oldukları konusunda güvence verebilmelidir. Tüm bu standartları 93/119/EC sayılı Konsey kararına göre Avrupa Birliği'ne üye ülkeler uygulamakla yükümlüdürler (Antalyalı 2007). Kesilecek hayvanlar uygun bir yöntemle (elektroşok, tabanca ve CO₂ ile bayıltma) bayıltılıp kesilmelidir. Bayıltmada hayvanlarda beyin fonksiyonları devre dışı bırakıldığı için görme, duyma ve acı algılama hissi ortadan kalkmakta sadece refleks hareketleri kalmaktadır. Avian influenza mücadelesinde kümes hayvanlarının öldürülmesi, kurban bayramında kesilecek kurbanlık hayvanlar gibi özel bazı durumlarda hayvanlar bayıltılmadan kesilebilir (Arslan 2013).

İslami usullerde kesim açısından bolzen aparatı ile bayıltma, kafaya darbe uygulaması, şok darbe ile bayıltma/sersemletme, elektrik akımı ile bayıltma, gaz uygulayarak bayıltma yöntemlerinin uygulandığı hayvanların kesilmeden önce canlı olduğu veya ölmeden önce kesildiği zaman etinin helâl olduğu ifade edilmekle beraber bu yöntemler tartışmalıdır. Kafaya darbe uygulama, bolzen aparatı ile bayıltma yöntemlerinde hayvanın kesilmese dahi bir müddet sonra öleceği anlaşılmaktadır. Şok darbe/sersemletme ile bayıltmada beyinde tahribat meydana gelmediği için hayvanın tekrar kendine gelme ihtimalinin yüksek olduğu ifade edilmektedir. Elektrik akımıyla ve gazla bayıltmada ise hayvan kesilmese bir müddet sonra ayılarak canlılığını devam ettirebilir. Elektrik akımıyla bayıltmada verilen elektriğin süresi ve voltajı önem arz etmektedir. Gazla bayıltma ise, kesilecek hayvana 20-30 saniye karbon monoksit gazı verilerek solunumun yavaşlayıp bayılması şeklinde olmaktadır. Bu bir tür narkoz işlemine benzetilmektedir (Alişarlı 2011). Günümüzde Avrupa ülkelerinde uygulanan kesim yöntemlerinin, İslami açıdan ülkemizde de uygunluğu hala tartışma konusudur.

Diyanet İşleri Başkanlığının fetvalarına göre hayvanın, kesim esnasında canlı olması kaydı ile acıyı azaltmak maksadı ile düşük voltajlı elektrik şokuna tabi tutulmasında sakınca yoktur. Ancak bazı İslam âlimlerine göre bu uygulamalarda birçok sakınca vardır. Bu âlimlerin tavsiye ettiği yöntem şok vermeden el ile kesim yöntemidir (Boran 2015).

Gıda Üretiminde Kalite Yönetim Sistemleri

Değişen ve gelişen yeni dünya anlayışı içinde insanların daha kaliteli ve daha güvenli bir hayat arzusu beraberinde bütünsel bir yaklaşım tarzını da getirmektedir. Bu yaklaşım, insanların temel ihtiyaçlarından olan beslenme kültürü üzerinde de etkili olmuştur. Bu nedenle endüstriyel üretimin daha güvenli ve daha sağlıklı modellerinin hayata geçirilmesini zorunlu kılmaktadır. Bu tüketici odaklı talep anlayışı dolayısı ile Kalite Yönetim Sistemlerinin marketlerde, tedarikçilerde, çiftlik-işletmelerinde, yem fabrikalarında ve gıda işletmelerinde güvenli gıdanın temininin hayvan refahı anlayışına göre düzenlenmesini zorunlu kılmaktadır.

Gıdaların güvenli bir şekilde tüketime hazır hale getirilmesi için başta ABD ve AB ülkeleri olmak üzere birçok ülke gıda güvenliği ile ilgili çeşitli standart ve yönetim sistemleri geliştirmiş ve uygulamaya koymuştur. İyi Üretim Uygulamaları (GMP), İyi Hijyen Uygulamaları (GHP), Standart Operasyon Uygulamaları (SOP) ve HACCP sistemi birçok ülkede uygulanması zorunlu hale getirilen sistemlerdir. ISO 22000 ise bu sistemlerin tarihsel gelişiminde ulaşılan en son aşamadır (Koçak 2007).

HACCP ve ISO 22000

Güvenli gıdanın temininde Kalite Yönetim Sistemlerinin uygulanmasının yanında Hayvan refahı kriterlerinin de dikkate alınması elzemdir. ISO 22000 kapsamı, gıda zincirinde yer alan bir kuruluştaki gıdanın tüketimi anında güvenli olmasını sağlamak ve gıda güvenliğine yönelik olan tehditleri kontrol altına alma yeteneğini göstermek için gerekli olan gıda güvenliği yönetim sistemine ait şartları kapsar. Gıda zincirinde herhangi bir şekilde yer alıp, sistemi uygulayarak, güvenli gıda üretmek isteyen büyüklüğü ne olursa olsun, her kuruluştaki uygulanabilir (Anonim 2006).

HACCP üretim sürecinin kontrolü üzerine odaklanmaktadır ve özünde bir kalite kontrol sistemidir. Gıda endüstrisinde geniş oranda tanınan HACCP gıda güvenliği tehlikelerini kontrol ya da elimine etmeyi amaçlamaktadır (Unnevehr ve Jensen 1998). HACCP gıda mevzuatının bütünleşmesi ve sağlamlaşmasına hizmet etmektedir. Gıda sanayiinde karşılaşılan sorunların HACCP gıda güvenliği sisteminin yerleştirilmesiyle daha kolay çözülebileceği ve sistemin daha etkin ve verimli işleyeceği tahmin edilmektedir. Bu amaçla HACCP kavramı, ülkelerin gıda sistemlerinde yerini almaya başlamış ve gıda sanayii tarafından da uygulamaya konulmuştur (İlbeği 2000).

Son yıllarda işletmelerin sadece HACCP sistemi uygulamaları zorunluluğu kaldırılmış, bunun yerine HACCP sistemini de kapsayan ISO 22000 uygulamalarının zorunlu hale getirilmesi görüşü ağırlık kazanmaya başlamıştır. ISO 22000 HACCP gibi sistemleri bünyesinde içselleştirirken aynı zamanda içerdiği Ön Gereksinim Programları ile gıda üretimi yapan işletmeleri, bu tür kalite yönetimi ve gıda güvenliği sağlayan sistemlerin uygulamasına hazır hale getirmektedir. Ön gereksinim Programlarının içerisinde yer alan tedarikçilerle ilgili şartlar ve kaliteli hammadde temini zorunluluğu ise; tedarikçilere ve hayvansal kökenli hammadde üreticilerine, hayvan refahı ile ilgili şartları işletmelerinde

uygulamaları mecburiyetini getirmektedir (Arvanitoyannis 2009).

Avrupa Birliği Gıda Mevzuatı

Avrupa Birliği'nde gıda güvenliğine ilişkin mevzuat, sistemler ve politikalar yeni bütünleşmiş yaklaşımlar çerçevesinde sürekli değişim ve gelişim göstermektedir. Avrupa Birliği gıda güvenliği başlığı içerisindeki mevzuat temel olarak, gıdaların çiftlikten çatala (from farm to fork) geçirdiği tüm süreçlerin insan sağlığını tehdit etmesini engellemek ve yaşam kalitesini yüksek tutmak amaçlanarak oluşturulmuştur. Gıda ile ilgili tüm süreçlerin, izlenebilir, öngörülebilir ve denetlenebilir olmasını amaçlayan bu entegre sistem için gıda güvenliği, hayvan sağlığı, hayvan refahı ve bitki sağlığı mevzuatı bir arada değerlendirilmiş ve entegre bir mevzuat oluşturulmuştur (Bozçağa ve Cihangir 2010). 1200'den fazla farklı düzenlemeden oluşan "entegre gıda mevzuatı", gıda hakkındaki kontrollerin hem birlik seviyesinde hem de üye ülkeler seviyesinde yapılmasını mecbur kılmaktadır (Bozçağa ve Cihangir 2010; Gürer 2012). AB Genel Gıda Kanunu Yönetmeliği gıda güvenliğine ilişkin 4 tedbiri içermektedir (Anonim 2015c):

- Gıda ve Yem için Hızlı Alarm Sistemi kurulması (RASFF),
- Bitkiler, Hayvanlar, Gıda ve Yem Daimi Komitesi'nin kurulması (PAFF Komitesi),
- Acil önlemlerin benimsenmesi,
- Kriz yönetimi için genel bir planının oluşturulması.

AB'de kapsamlı bir gıda mevzuatının hazırlanması için ilk adım 1997 yılında "Gıda Hukukunun Genel Prensiplerine İlişkin Yeşil Dokümanın" yayımlanması ile atılmıştır. Yeşil Dokümanın ardından 12.01.2000 tarihinde yayımlanan

Beyaz Kitap ile gıda güvenliğine ilişkin AB tarafından yeni bir yol çizilmiştir. Bu Beyaz Kitap gıda zincirinde, hijyen hükümlerinden, hayvan sağlığı, hayvan refahı ve bitki sağlığı önlemlerine kadar gıda güvenliğine ilişkin tüm konuların ilk kez bir arada toplandığı bir belge niteliği taşımaktaydı. Beyaz Kitabın yayımlanmasından iki yıl sonra, 28 Ocak 2002 tarihinde 178/2002/EC sayılı Gıda Kanununun Genel Prensiplerini ortaya koyan, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesini (EFSA) kuran ve gıda güvenliğine ilişkin konulardaki usulleri belirleyen Avrupa Parlamentosu ve Konseyi Tüzüğü kabul edilmiştir (Çeltek 2004). AB Gıda Yasası olarak da adlandırılmakta olan Tüzük, gıda güvenliği ve denetimine ilişkin çerçeveyi çizmekte, gıda zinciri, risk analizi, erken uyan sistemi ve izlenebilirlik gibi temel kavramları tanımlamakta, risk değerlendirmesi ve risk iletiliminden sorumlu Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesini (EFSA) tesis etmektedir. Bu otorite topluluğun bilimsel bilgi ve danışma ihtiyacını karşılayacaktır. Bunu yerine getirirken Dünyanın diğer bölgelerindeki ve üye ülkelerdeki yetkili otoritelerle de işbirliği yapacaktır. Otorite, hayvan sağlığı, hayvan refahı ve bitki sağlığı da dahil olmak üzere gıda güvenliğinin her alanıyla ilgili bilimsel araştırma ve görüş oluşturma yetkisine sahiptir. Böylece gıda zincirinin tüm unsurları Otoritenin sorumluluk alanına dahil edilmiş olmaktadır (Güder 2006; Önen 2008). Avrupa Parlamentosu ve Konseyi Tüzüğü'nün yanı sıra AB'de gıda ürünlerinin tümüne uygulanan genel düzenlemeler ile kahve, marmelat, bebek maması, şarap, dondurulmuş ürünler gibi bazı ürünlerde uygulanan düzenlemeler de bulunmaktadır (Özbek ve Fidan 2010).

Tablo 1. Gıda ürünlerinin tümüne uygulanan genel düzenlemelere örnekler (Özbek ve Fidan 2010).

Table 1. Examples of the general regulations which apply to all food products (Özbek and Fidan 2010).

Konular	Tüzük ve Direktifler
Gıda Hijyeni	Tüzükler; 852/2004/EC, 853/2004/EC, 854/2004/EC
Gıda ve Yemin Resmi Kontrolün Düzenlenişi	882/2004 sayılı Avrupa Parlamentosu ve Konsey Tüzüğü
Etiketleme	Direktif 2000/13/EC, Direktif 2003/89/EC, Direktif 2006/142/EC
Paketleme	Direktif 2007/19/EC, Tüzükler; 1935/2004/EC, 2023/2006/EC
Tarım İlaçları	Tüzükler; 3967/2005/EC, 178/2006/EC, Direktif 90/642/EEC
Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar	Tüzükler; 641/2004/EC, 1829/2003/EC, 1830/2003/EC
Yeni Gıdalar, Organik Üretim	Tüzükler; 2092/91/EC, 94/92/EC, 956/2006/EC
Radyoaktif Bulaşanlar	Tüzükler; 1661/1999/EC, 737/1990/EC, 1635/2006/EC
Katkı Maddeleri	Direktif 89/107/EEC, Direktif 94/36/EC, Direktif 88/388/ECC, Direktif 94/35/EC, Direktif 95/2/EC, Direktif 2006/129/EC, Direktif 96/77/EC, 23 Şubat 1999 ve 27 Mart 2006 tarihli Komisyon Kararları

AB'nin Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi'nden başka, Tüketicinin Korunması ve Sağlık Genel Müdürlüğü (DG SANCO), Gıda ve Veterinerlik Ofisi (FVO), Gıda ve Yem Hızlı Alarm Sistemi (RASFF), Bitkiler, Hayvanlar, Gıda ve Yem Daimi Komitesi (PAFF) ve Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları (HACCP) gibi denetim sistemleri ve denetim kurumları bulunmaktadır. AB'de Tüketicinin Korunması ve Sağlık Genel Müdürlüğü (DG SANCO), tüketici çıkarlarının ve insan sağlığının korunması ve geliştirilmesi, gıda güvenliğinin sağlanması, hayvan ve bitki sağlığının korunması ve hayvan refahının geliştirilmesi amacıyla görev yapmaktadır. DG SANCO gıda zincirinin güvenliği, hayvan sağlığı ve refahı alanlarında AB'de bir sorun tespit edildiğinde, sorunu çözmek üzere öneriler getirmektedir.

Bu alanlarda ulusal veya bölgesel seviyede yetkili otoritelerin bir sorunla karşılaşması durumunda, bu makamlara destek sağlamaktadır.

Gıda ve Veterinerlik Ofisi (FVO) gıda güvenliği, hayvan sağlığı, hayvan refahı ve bitki sağlığı alanlarında Topluluk mevzuatının etkin olarak uygulanmasında görev üstlenmektedir. AB içinde ve AB'ye ihracat yapan ülkelerde, AB gıda güvenliği ve kalitesi ile bitki ve hayvan sağlığı müktesebatına uyumluluğu denetlemek, gıda güvenliği ve kalitesi ile bitki ve hayvan sağlığı alanlarında AB politikalarının gelişimine katkıda bulunmak ve ilgili tarafları yaptığı değerlendirmeler hakkında bilgilendirmek, ofisin başlıca görevleri arasındadır. FVO, Topluluk içinde ve AB'ye ihracat ile ilgili olarak üçüncü

ülkelerde AB standartlarına uygunluğu değerlendirmek ve kontrol sistemlerinin etkinliğini sağlamak için denetimler gerçekleştirilmektedir. FVO denetimleri belirli bir programa bağlı kalınarak yürütülmektedir. Bu programda denetlenecek ülkeler ve öncelikli alanlar belirlenmekte ve programa uyumun sağlanması için gerektiğinde güncellemeler yapılmaktadır.

Avrupa Birliği tarafından 20 Temmuz 1998 Tarihinde (98/58/EC) sayılı "Çiftlik Hayvanlarının Korunmasına İlişkin Direktif (Yönerge)" kabul edilmiştir. Bu direktifte çiftlik hayvanlarının korunmasına ve böylece refahının sağlanmasına yönelik en düşük standartlar belirlenmiştir. Ancak buzağı büyütme, domuz ve yumurta tavuğu yetiştiriciliğinde refahla ilgili kuralların yerine getirilmesinde diğer çiftlik hayvanlarına göre daha fazla sorunlar olduğu için bu hayvanlarla ilgili olarak ilave direktifler yayımlanmıştır (Antalyalı 2007). Çiftlik hayvanlarının korunmasına ilişkin 98/58/EC sayılı Konsey Direktifi, balıklar, sürüngenler ve amfibik hayvanlar da dahil olmak üzere, gıda, yün ve deri üretimi ya da başka bir tarımsal amaçla yetiştiriciliği yapılan hayvanların korunmasına ilişkin genel kuralları belirler. Bu kurallar, Çiftlik Hayvanlarının Korunmasına İlişkin Avrupa Konvansiyonu çerçevesinde belirlenmiş olup, Çiftlik Hayvanları Refahı Konseyi'nin benimsediği beş özgürlüğü yansıtır:

- Açlık ve susuzluktan azatlık – taze suya ve hayvan sağlığı için gerekli yeme erişim;
- Rahatsızlıktan azatlık – rahat bir dinlenme alanına sahip, korunaklı, uygun bir çevrede barınma;
- Acı, yaralanma ve hastalıktan azatlık – hastalıklardan korunma ve kısa sürede sağaltım;
- Normal davranışları sergileme özgürlüğü – yeterli alan ve olanaklara sahip olma ve aynı türden bir hayvan ile bir arada bulundurulma;
- Korku ve sıkıntıdan azatlık – zihinsel acıyı önleyecek koşullar ve davranışlar altında bulundurulmadır (Antalyalı 2007; Anonim 2015d).

AB mevzuatının hayvan refahı ile ilgili ana unsurlarını vahşi ve deney hayvanları ile çiftlik hayvanları oluşturmaktadır. Çiftlik hayvanlarının refahını çiftlik de bakım, taşıma, kesim ve öldürme aşamaları şekillendirir. Çiftlik hayvanlarının refahının korunması ile ilgili üç özel direktif bulunmaktadır. 91/629/EC sayılı buzağuların korunması, 99/74/EEC sayılı yumurtacı tavukların korunması ve 91/630/EEC sayılı domuzların korunması direktifleridir. Çiftlik hayvanların taşınması esnasındaki refah 1/2005 sayılı düzenleme ile kesim ve itlaf anında hayvanların korunması 93/119/EC sayılı direktif ile sağlanmaktadır. AB'nin, bilimsel araştırma ve teknoloji geliştirme kapasitesini artırarak, sosyal ve ekonomik kalkınmayı sağlamak amacıyla yürüttüğü Çerçeve Programlar ile üye ülkeler arasında bilimsel ve teknolojik işbirliğinin geliştirilmesine de katkıda bulunuyor. 2010 yılında, dünyanın en dinamik ve rekabet gücü en yüksek bilgi ekonomisi haline gelmeyi amaçlayan AB, 2002-2006 yıllarını kapsayan 6. Çerçeve Programı (ÇP) ile Avrupa Araştırma Alanı (ERA)'nın oluşturulmasına katkıda bulunmayı temel hedef olarak belirledi. 7. Çerçeve Programı'nın hedefi ise, bilgi temelli, biyo-ekonomik bir toplum yaratmaktır. 7. Çerçeve Programı'nın gıda alanındaki konusu "Çataldan çiftliğe-Gıda, sağlık ve refah" olarak planlanmaktadır. Bu konu da davranışsal ve bilişsel bilimler kullanılarak, gıda ve yem konularının tüketici, toplum ve sağlık açısından araştırılması, obezite de dahil olmak üzere, beslenme ve diyet ile ilişkili hastalıklar, fonksiyonel gıdalar da dahil olmak üzere, yenilikçi gıda ve

yem işleme teknolojileri, gıda, içecek ve yem için, hem kimyasal hem de mikrobiyolojik kalite ve güvenliğin artırılması, gıda zincirinin bütünleştirilmesi, gıda zincirine ve gıda zinciri kaynaklı çevresel etkiler, izlenebilirlik de dahil olmak üzere tüm gıda zinciri konularında araştırma yapılması amaçlanmaktadır (Anonim 2015e).

Türk Gıda Mevzuatı

Avrupa Birliğine ve uluslararası kuruluşların çalışmalarına uyum sağlamak üzere 1995 yılında 560 sayılı "Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair" kanun hükmünde kararname çıkartılmıştır. Bu kararnameye göre, gıda güvenliği kontrolleri ve dış ticaret aşamalarında Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, gıda satış noktalarında ise Sağlık Bakanlığı yetkili kılınmıştır. 2004 yılında çıkarılan 5179 sayılı kanun ile gıda denetimi ile ilgili tüm yetkiler Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'nda toplanmıştır. Daha sonra çıkarılan belediye kanunları ile belediyelere de denetim yetkisi verilmiştir (Mutlu 2007). 5179 Sayılı Kanun, 560 Sayılı Kanuna göre daha çok gıda güvenliğine yöneliktir. Bu kanun ile Türk gıda mevzuatına; izlenebilirlik, risk yönetimi, bildirimler, kriz yönetimi gibi kavramlar ve bunlarla ilgili yetki ve sorumluluklar da girmiştir (Çoksöyler ve ark. 2005; Onurlubaş 2015). 13.06.2010 tarih ve 27610 Sayılı Resmî Gazetede yayımlanarak yürürlüğe giren 5996 sayılı "Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda Ve Yem Kanunu" 5179 sayılı kanunu yürürlükten kaldırmıştır (Anonim 2010). Türkiye 5996 sayılı kanun sayesinde AB mevzuatına uyum konusunda ilerleme kaydetmiştir. Bu kanun gıda ve yem güvenilirliğini, halk sağlığı, bitki ve hayvan sağlığı ile hayvan ıslahı ve refahını, tüketici menfaatleri ile çevrenin korunması da dikkate alınarak çıkarılmıştır (Anonim 2010; Bozçağa ve Cihangir 2010). Türkiye için gıda güvenliği ile ilgili en önemli gelişmelerinden biri de AB Mevzuatının Gıda Güvenliği, Veterinerlik ve Bitki Sağlığı başlığı, 1 Temmuz 2010 tarihinde İspanya AB Dönem Başkanlığı'nda müzakerelere açılmıştır.

Hayvan refahı 2004 yılından itibaren, hayvanların barındırılması, etolojik ihtiyaçlarının karşılanması, sağlıkları ile ilgilenilmesi ve insanların sağlığı için gerekli tedbirlerin alınması sorumluluğunu hayvan sahiplerine bırakan, 5199 sayılı *Hayvanları Koruma Kanunu* ile düzenlenmektedir. Orman ve Su İşleri Bakanlığı bu konuda yetkili otoritedir. Türkiye 2011 yılında, *Hayvanların Nakiller Sırasında Refahı ve Korunması Yönetmeliği* onaylamıştır. Türkiye'de kesimler, kesim öncesinde hayvanlar sersemletilmeksizin, kanın akıtılmasından oluşan dini vecibelerin yerine getirilmesi suretiyle yapılmaktadır. Nakillerdeki dinlendirme sürelerine ilişkin hayvan refahı mevzuatının uygulanması, önemli hayvan hareketlerinin olduğu Kurban Bayramı süresince özellikle zor olmaktadır. (Anonim 2007).

SONUÇ

Türkiye'nin gıda güvenliği, veterinerlik ve bitki sağlığı politikası alanındaki ilerlemesi sınırlı kalmıştır. Bu alandaki AB müktesebatının tam olarak uygulanmasında ilerleme sağlanması için daha fazla kayda değer çalışma yürütülmesi gerekmektedir. Hazırlıklar henüz erken aşamadır. Hayvan refahı ilkelerine küresel bağlılığın, gıda güvenliği, halk sağlığı, iklim değişikliği, yoksulluğun ortadan kaldırılmasına ve biyolojik çeşitliliğin korunmasına olumlu etkileri olacaktır. Hayvanların bakım ve besleme şartları, nakliye ve kesim esnasında maruz kaldıkları stresin düşük düzeyde olması onların refahı ve karkas kalitesi üzerine olumlu etkiye sahiptir. Yaklaşık bir

miyarın üzerinde olan dünyanın en yoksul insanların işleri, gıdaları, geliri, ulaşımı, sosyal statü ve kültürel tanımlamaları hayvanlara bağlıdır. İyi refah uygulamaları hayvanların hayatta kalmasını artırır, üretim maliyetlerini azaltır ve karlılığı artırır. Böylece fakir insanların tek üretken varlığı olan hayvanların, verimliliği artar ve yoksulluğun ortadan kaldırılmasına yardımcı olur. Hayvan refahı çağımızın en önemli konularından olan gıda güvenliğini dolaylı olarak etkiler. Hayvan refahı gıda güvenliğinin kilit faktörüdür. Gıda zincirinin ve ekosistemin ayrılmaz bir parçası olan hayvanın; ekolojik tarım, iyi tarım uygulamaları ve sürdürülebilir tarım politikaları içerisinde de yer alan ve sağlıklı gıdanın elde edilmesinde önemi olan refah kuralları çerçevesinde muamele görmesi gittikçe önem kazanmaktadır.

KAYNAKLAR

- Alişarlı M (2011).** Kesim Yöntemleri. DİB güncel dini meseleler istişare toplantısı-IV günümüzde helâl gıda, 26-28 Kasım, Afyonkarahisar.
- Altınçekiç ŞÖ, Koyuncu M (2010).** Nakil koşullarının hayvan refahı üzerine etkileri. *Hayvansal Üretim*, 51(1): 48-56.
- Altınçekiç ŞÖ, Koyuncu M (2012).** Çiftlik hayvanları ve stres. *Hayvansal Üretim*, 53(1): 27-37.
- Anonim (2006).** Türk Standardı TS EN ISO 22000, Türk Standartları Enstitüsü. <http://cisam.cu.edu.tr/tr/Belgeler/13-ISO%2022000.pdf>. Erişim Tarihi: 10.12.2015.
- Anonim (2007).** Tarama raporu http://www.ab.gov.tr/files/tarama/screening_files/12/ch_12_tarama_sonu_raporu_tr.pdf Erişim Tarihi: 30.09.2015.
- Anonim (2010).** Veteriner hizmetleri, bitki sağlığı, gıda ve yem kanunu. Resmi Gazete, Sayı:27610, 49, 10559-10606. <http://mevzuat.basbakanlik.gov.tr/Metin.Aspx?MevzuatKod=1.5.5996&MevzuatTlik=0&sourceXmlSearch> Erişim Tarihi: 01.11.2015.
- Anonim (2014).** Türkiye 2014 yılı ilerleme raporu. Komisyon Tarafından Avrupa Parlamentosuna, Konseye, Ekonomik Ve Sosyal Komiteye Ve Bölgeler Komitesine Sunulan Bildirim, Avrupa Komisyonu, Brüksel, 34-35. http://www.ab.gov.tr/files/ilerlemeRaporlariTR/2014_ilerleme_raporu_tr.pdf Erişim Tarihi: 30.09.2015.
- Anonim (2015a).** Tüketici nedir. <http://tuketici.nedir.com/#ixzz3t0S5xzE8> Erişim Tarihi: 10.11.2015.
- Anonim (2015b).** Gıda güvenliğine yaklaşımlar. <http://www.dunyagida.com.tr/haber.php?nid=1190> Erişim Tarihi: 30.09.2015.
- Anonim (2015c).** Food Law Procedures. http://ec.europa.eu/food/safety/general_food_law/procedures/index_en.htm Erişim Tarihi: 10.11.2015.
- Anonim (2015d).** Animal welfare. http://ec.europa.eu/food/animals/welfare/index_en.htm Erişim Tarihi: 10.11.2015.
- Anonim (2015e).** AB 7. Çerçeve Programı'nda, felsefe değişiyor. <http://www.dunyagida.com.tr/haber.php?nid=227> Erişim Tarihi: 04.12.2015.
- Antalyalı A (2007).** Avrupa Birliği ve Türkiye'de hayvan refahı uygulamaları. AB Uzmanlık Tezi, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Dış İlişkiler ve AB Koordinasyon Dairesi Başkanlığı, Ankara.
- Arslan A (2013).** Et Muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi. 2. Baskı, Medipres Matbaacılık Ltd Şti, Malatya.
- Arvanitoyannis IS (2009).** HACCP and ISO 22000, Application to Foods of Animal Origin. Blackwell Publishing Ltd, p: 548, ISBN 978-1-4051-5366-9, USA.
- Bayrak A, İlbeği I (1997).** Gıda güvenliğine bir bakış. *Standart Dergisi*, 3(36): 423-426.
- Boran M (2015).** Hanefi mezhebinde hayvan kesimi. *Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi*. 8(41): 1328-1341.
- Bozçağa MÖ, Cihangir D (2010).** Müzakere sürecinde açılan 13'üncü başlık: gıda güvenliği, veterinerlik ve bitki sağlığı politikası. *İktisadi Kalkınma Vakfı Dergisi*, 153, 21-28, Doruk Grafik San Tic ve Ltd Şti, İstanbul.
- Broom DM (1998).** Welfare stress and the evolution of feelings. *Adv Study Behav*, 27, 371-403.
- Çeltek EG (2004).** Avrupa Birliği'nde gıda güvenliği. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 17-24.
- Dantzer R (2001).** Stress emotions and health: where do we stand. *Dantzer Social Science Information*, 40, 61-78.
- Demirel AF, Çak B (2015).** Gıda Güvenliği Açısından Hayvan Refahı Yaklaşımları ve İlgili Mevzuatların AB Müktesebatına göre Değerlendirilmesi. VI. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, Kongre Bildiri Özetleri Kitabı, 108-109, 7-11 Ekim 2015, Van.
- Devlet Planlama Teşkilatı (2007).** Gıda Güvenliği, Bitki ve Hayvan Sağlığı Özel İhtisas Komisyonu Raporu. *Dokuzuncu Kalkınma Planı (2007-2013)*, DPT:2711 http://www.daka.org.tr/panel/files/files/belgeler/planlama/gida_guvenligi.pdf Erişim Tarihi: 16.10.2015.
- Dölekoğlu C (2002).** Tüketicilerin işlenmiş gıda ürünlerinde kalite tercihleri, sağlık riskine karşı tutumları ve besin bileşimi konusunda bilgi düzeyleri (Adana Örneği) (Doktora Tezi). ÇÜ Fen Bil Enst, Adana.
- Duncan IJH (2002).** Poultry welfare: science or subjectivity. *Br Poult Sci*, 43, 643-652.
- Fidan ED (2012).** Türkiye'de çiftlik hayvanları ile ilgili refah uygulamaları. *Animal Health, Prod and Hyg*, 1, 39-46.
- Giray H, Soysal A (2007).** Türkiye'de gıda güvenliği ve mevzuatı. *TSK Korumacı Hekimlik Bülteni*, 6 (6): 485-490.
- Güder G (2006).** Avrupa Birliği gıda güvenliği politikası ve üyelik sürecinde Türkiye'ye yansımaları. DPT uzmanlık Tezleri, AB ile ilişkiler Genel Müdürlüğü, Eylül 2006, Yayın No: DPT 2696, DPT Yayın ve Temsil Dairesi Başkanlığı Yayın ve Basım Şube Müdürlüğü.
- Gürer B (2012).** AB ve Türkiye'de gıda güvenilirliği mevzuatı. *Tarım ve Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü*, 14, 3.
- İlbeği İ (2000).** HACCP sistemini değişik gıda sektörlerinde uygulama imkanları. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, Gıda Mühendisleri Odası, Ankara.
- Koçak N (2007).** ISO 22000: Gıda güvenliği yönetim sistemleri uygulama sürecinde temel adımlar. *DEÜ SBE Dergisi*, 9 (4): 135-159.
- Mutlu S (2007).** Gıda Güvenirliği Açısından Tüketici Davranışları (Adana Kentsel Kesimde Kırmızı Et Tüketimi Örneği). Doktora Tezi, Tarım Ekonomisi Anabilim Dalı, ÇÜ Fen Bil Enst, Adana.
- Onurlubaş E (2015).** Tüketicilerin gıda güvenliği konusunda bilinç düzeylerinin ölçülmesi: Tokat ili örneği. Doktora Tezi, Tarım Ekonomisi Anabilim Dalı, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Önen E (2008).** DTÖ yükümlülükler kapsamında Türkiye ile Avrupa birliği arasındaki tarım ürünleri ticaretine bu ticarete önem arz eden tarife dışı engeller. AB Uzmanlık Tezi, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Dış İlişkiler ve AB Koordinasyon Dairesi Başkanlığı, Ankara.
- Özbek FŞ, Fidan H (2010).** Türkiye ve Avrupa Birliği'nde gıda standartları. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 24 (1): 92-99.
- Özen A (2007).** Hayvan dostu ürün (HDÜ). *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 78 (3): 20-21.
- Özgür A (2007).** Hayvan gönenci açısından Türkiye'de veteriner hekimlik ile ilgili mevzuatın değerlendirilmesi. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 78 (1): 45-48.
- Phillips C (2004).** Animal Welfare Matters. *Australian Vet J*, 82 (1&2), 63-64.
- Savaş T, Yurtman İY, Tölü C (2009).** Hayvan hakları ve hayvan refahı: felsefi bakış - nesnel arayışlar. *Hayvansal Üretim*, 50(1): 54-61.
- Topuzoğlu A, Hıdıroğlu S, Ay P, Önsüz F, İkışık H (2007).** Tüketicilerin gıda ürünleri ile ilgili bilgi düzeyleri ve sağlık risklerine karşı tutumları. *Kor Hek*, 6 (4): 253-258.
- Unnevehr LJ, Jensen HH (1998).** The Economic Implications of Using HACCP as a Food Safety Regulatory Standard. 99-WP 228, Center for Agricultural and Rural Development, Iowa State University.
- Yıldız A, Hayırlı A (2005).** Animal transportation made from the east of Turkey and their welfare. *Proceeding of First Conference on Animal Welfare and Veterinary Education in Turkey*, 140-144, Ankara.



VAN VETERINARY JOURNAL



Article Copyright Transfer Agreement Form

We, the undersigned researchers, certify that; the article we have sent; is original, wasn't sent to or disapproved of potential publication by any other journal, wasn't initially published, and we bear the responsibility concerning the Scientific content and Ethical values related to the article, and transfer any kind and form of copyright related to the Article to Van Veterinary Journal since it is published in the journal, and accept that we will not make any changes wholly or partly in the article and chose as the authorized researcher.

Title of the article:

.....
.....
.....

Authors Name	Date	Signature
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
7.		
8.		

Authorized Researcher

Title, Name-Surname :

Full Address :

e- mail :

Tel, Fax :

Date and Signature :



VAN VETERINARY JOURNAL



Instructions for Authors

- 1- This journal is the publication of the Van Veterinary Journal and published three times a year. Abbreviated title of the journal is Van Vet J.
- 2- Original articles, observations reviews, pre-reports, scientific news, introduction of scientific books, news about the faculty, letters to editor written in Turkish and English especially in the field of Veterinary Science, Health and Life science subjects (Comprehend human and animal health) are published in this journal.
- 3- Papers are accepted for publications on the understanding that they have not been published and are not going to be considered for publication elsewhere. All responsibilities from published articles merely belong to the authors and copyright fee for authors is not paid. The article sent to the journal for publication will not be send back to authors even if it is not accepted for publication.
- 4- Papers send to the journal for publication written in Turkish or in English should contain abbreviation in the context of the International Writing Procedure and measurements should be expressed in the metric system or in SI units.
- 5- Papers should be submitted electronically via <http://vanvetderg.org> Submissions send to post are not accepted.
- 6- Papers submitted for publication should be written in Times New Roman style, 12 font size, 1.5 line spacing and 2.5 cm from all edges. Including tables, figures and graphs; original papers and reviews should not exceed 15 pages and case reports should not exceed 5 pages.
- 7- Papers written in Turkish should include English summary and papers written in English should include Turkish summary. Summaries should not exceed 1000 words. Summary should include **Aim, Material and Method, Results and Conclusion**.
- 8- In the studies requiring Ethical Commission Approval; related documents should be sending via electronic submission which is present in our submission system.
- 9- Digital images (pictures, figures etc.) should be sending as TIFF or JPEG files format at a minimum resolution of 300 dpi. Digital images should not be replaced inside the main text. Of prints of the journal will be in black and white. But the images will be given in coloured in the electronic version of the journal.
- 10- **Copyright Transfer Agreement Form** which automatically sends to the authors by the submission system after acceptance of the Paper should be signed and posted to the Editorial Office of the journal.
- 11- Apart from tables and graphs all visual elements (Photographs, drawings, diagrams etc.) should be named as **figure**. Tables and graphs are named as it is.
- 12- Definitions and names of the figures, tables and graphs should be given both in **Turkish and English** in the text.
- 13- Original research articles should be lined up as; **English Heading, Author(s) name, author(s) address, Summary and key words** and then **Turkish heading, summary and key words, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and Conclusion, Acknowledgement or information** (if there is) and **References**.
- 14- References should be listed according to authors surname alphabetically. In the text; references should be written as surname of the author and the publication year (exp: Ceylan 2004; Ekin and Gurturk 2006; Isleyici et al. 2015). In the references section; short names of the journals should be written in the form approved by the [Web of Science](#). For references with more than 6 authors, only the first 3 authors should be listed, followed by 'et al.'. The references should be written as below:
Articles:
Isleyici O, Sancak YC, Sancak H, Yucel UM (2015). Determination of aflatoxin M1 levels in unpackaged sold raw cow's milk. *Van Vet J*, 26 (3), 151-155.
Ekin IH, Gurturk K, Ilhan Z, Arabaci C, Gulaydin O (2015). Detection of enzyme activities and their relation to serotypes of bovine and human group B streptococci. *J Med Microbiol*, 64, 985-989
Books:
Marrow DA (1986). Current Therapy in Theriogenology. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
Books chapters:
Bahk J, Marth EH (1990). Listeriosis and Listeria monocytogenes. In: Foodborne Diseases, Cliver DO (Ed), pp: 248-256, Academic Press, San Diego.
Electronic Material: The name of the article and available web address and access date should be written.
Who (2006). Avian Influenza, February 2006, http://www.who.int/mediacentre/factsheets/avian_influenza/en/ Access date: 10 January 2009.
- 15- Keywords of Turkish articles should be selected from, **Turkish Science Term's web site** (<http://www.bilimterimleri.com/>).
- 16- Information about the publication expenses for accepted papers will be given to the author(s) after determining cost.
- 17- Copyright fee will not be paid to the author(s).

Correspondence: Prof. Dr. Nihat MERT (Editor)

Yuzuncu Yil Universitesi, Veteriner Fakultesi, Dergi Editorlugu, 65080-Kampus/Van/TURKEY
e-mail: vfd@yyu.edu.tr Phone: +90 (432) 225 10 28 Fax: +90 432 225 11 27