



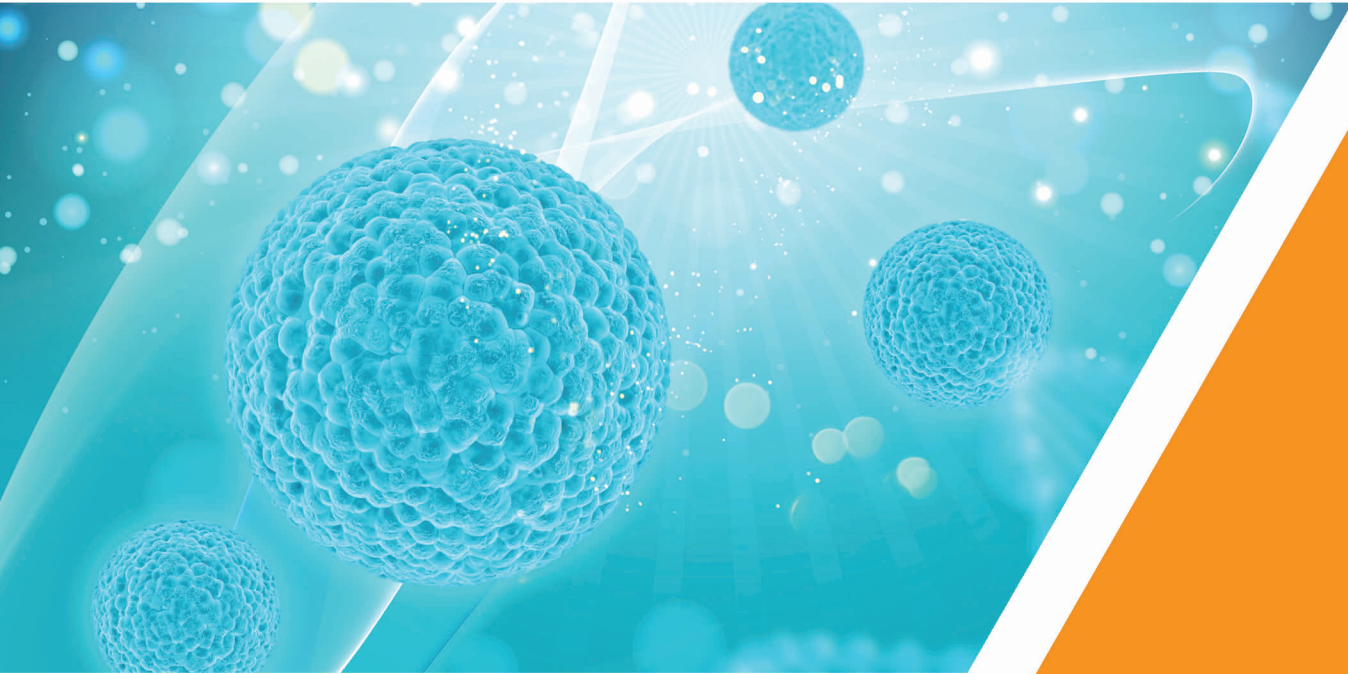
ISSN: 1306-6137
e-ISSN: 2147-9615

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ

Veteriner Bilimleri Dergisi

ATATURK UNIVERSITY

Journal of Veterinary Sciences



<http://dergipark.gov.tr/ataunivbd>

Yıl/Year : 2018

Cilt/Volume : 13

Sayı/Issue : 2

ISSN: 1306-6137
e-ISSN: 2147-9615

**Atatürk Üniversitesi
Veteriner Bilimleri Dergisi**

**Atatürk University
Journal of Veterinary Sciences**

<http://dergipark.gov.tr/ataunivbd>

Ekim / October

Yıl/Year: 2018

Cilt/Volume: 13

Sayı/Issue : 2



**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER BİLİMLERİ DERGİSİ**

ISSN: 1306 – 6137 / e-ISSN: 2147 - 9615

**ATATÜRK UNIVERSITY
JOURNAL OF VETERINARY SCIENCE**



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ ADINA SAHİBİ / OWNER

Prof. Dr. Hamza AVCIOĞLU

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Baş Editör / Editor-in-Chief

Prof. Dr. Mustafa Sinan AKTAŞ

Editör Yardımcıları / Associate Editors

Doç. Dr. Özgür Kaynar
(Bölüm Editörü / Section Editor)

Doç. Dr. Elif DOĞAN
(Bölüm Editörü / Section Editor)

Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Serkan EROL
(Bölüm Editörü / Section Editor)

Doç. Dr. Serkan YILDIRIM
(Bölüm Editörü / Section Editor)

Dr. Öğr. Üyesi Serdar ALTUN
(Bölüm Editörü / Section Editor)

YAYIN KURULU ÜYELERİ / EDITORIAL BOARD MEMBERS

Dr. Mustafa Atasever, TÜRKİYE / TURKEY

Dr. Zekai Halıcı, TÜRKİYE / TURKEY

Dr. Mustafa Alisharlı, TÜRKİYE / TURKEY

Dr. Aleksandra Gorecka-Bruzda, POLONYA / POLAND

Dr. Ardita Jahja-Hoxha, KOSOVA / KOSOVO

Dr. Daniel Zahner, ALMANYA / GERMANY

Dr. Eva Voslarova, ÇEK CUMHURİYETİ / CZECH REPUBLIC

Dr. Tanvir Rahman, BANGLADEŞ / BANGLADESH

**İngilizce Danışmanı
English Adviser**

Arş. Gör. Çiğdem SEVİM

**Sekreteryası ve Web Tasarım
Secretariat and Web Design**

Dr. Öğr. Üyesi Serdar ALTUN

**Dizgi
Typesetter**

Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Serkan EROL

Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., ulusal hakemli bir dergi olup Nisan, Ekim ve Aralık aylarında olmak üzere yılda 3 kez yayımlanır. Bu dergi, **ELSEVIER-Scopus**, **CAB Abstract**, **CABI full text**, **EBSCO**, **TÜBİTAK-ULAKBİM-Yaşam Bilimleri Veritabanı** ve **Türkiye Atıf Dizini** tarafından taranmaktadır.

Atatürk University J. Vet. Sci., is a refereed national journal, is published tri-annually in April, October and December. This journal is abstracted in **ELSEVIER-Scopus**, **CAB Abstract**, **CABI full text**, **EBSCO**, **TUBİTAK-ULAKBİM-Life Science Database** and **Türkiye Citation Index**.

Yazışma Adresi / Correspondence Address

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü, 25240, Kampüs
Erzurum / TÜRKİYE

Tel : +90 442 2317222, Fax: +90 442 2317244

E-posta: atavetderg@atauni.edu.tr; vetdergisi@atauni.edu.tr

Yıl / Year: 2018

Cilt / Volume: 13

Sayı / Issue : 2

Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 2018; 13(2)

Bu Sayının Hakem ve Danışman Listesi / List of Referees and Advisors for This Issue

- Prof. Dr. Ahmet YILDIZ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Armağan ÇOLAK, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Aytekin GÜNLÜ, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Dursunali ÇINAR, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Ferda BELGE, Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Fikri BALTA, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Gürkan UÇAR, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Kamil BEŞOLUK, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Mehmet GÜL, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Meryem EREN, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Murat ASLAN, Atatürk Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Mustafa GÜL, Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Nilüfer SABUNCUOĞLU ÇOBAN, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Sait ŞENDAĞ, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Şükrü Hakan ATALGIN, Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Taylan AKSU, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Utku BAKIREL, İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Yavuz CEVGER, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Devrim SARIPINAR AKSU, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Gülşah ÇANAKÇI ADIGÜZEL, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Mehmet CENGİZ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Özgür KAYNAR, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. R. Gözde ÖZALP, Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Saime GÜZEL, Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Şebnem PAMUK, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Yavuz DODURGA, Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, TÜRKİYE.
- Dr. Anoja WANIGASEKARA, University of Peradeniya, Faculty of Veterinary Medicine & Animal Science, SRI LANKA.
- Dr. Öğr. Üyesi Demet ÇELEBİ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Nergis ULAŞ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Volkan GELEN, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Zeynep KARAPINAR, Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.

* Hakem listesi akademik unvan ve isme göre alfabetik olarak sıralanmıştır.

Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi / Atatürk University Journal of Veterinary Sciences İÇİNDEKİLER / CONTENTS Araştırma Makaleleri / Research Articles		Sayfa Page
▶ Derviş ÖZDEMİR, Zekeriya ÖZÜDOĞRU, Hülya BALKAYA. Arterial Vascularization of Kidneys in the Hasmer Sheep (<i>Hasmer Koyununda Böbreklerin Arteriyal Vaskularizasyonu</i>)		121-127
▶ Hasan Ceyhan MACUN, Miyase ÇINAR, Ahmet Kürşat AZKUR, Hakan KALENDER, Serkan ERAT. Oxidative Stress in Akkaraman Ewes with Seropositive for Schmallenberg Virus (<i>Schmallenberg Virüs Seropozitif Akkaraman Koyunlarda Oksidatif Stres</i>)		128-134
▶ Nazlı TURKMEN, Halit KANCA, Ayşe GURSOY. Effects of Somatic Cell Count in Goat Milk on Some Physical, Chemical and Sensory Properties of Vanilla Ice Cream (<i>Keçi Sütü Somatik Hücre Sayısının Vanilyalı Dondurmanın Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkileri</i>)		135-140
▶ Serkan YILDIRIM, Saadet BELHAN, Hasan UYAR, Zübeyir HUYUT, Gökhan OTO, Yavuz Selim SAĞLAM. Kronik Olarak Flor ve 7,12-Dimetilbenzantrasene (DMBA) Maruz Kalmanın Ratlarda Spermatogenezis ve Testisin Histopatolojisine Etkileri (<i>Effects of Chronically Exposure to Flor and 7,12-Dimethylbenzanthracene (DMBA) on Spermatogenesis and Testicular Histopathology in Rats</i>)		141-148
▶ Jale KORUN, Gülşen TİMUR, Remziye Eda YARDIMCI, Beytullah Ahmet BALCI. Kültür Gökkuşığı Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i> , W.)'nda Bazı Kok Türlerinin Neden Olduğu Enfeksiyonların Tespiti Üzerine Bir Çalışma (<i>A Study on Detecting Infections Caused by Some Coccal Species on the Cultured Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss, W.)</i>)		149-158
▶ Başar ALTINTERİM, Ekrem ÖZTÜRK, Filiz KUTLUYER, Önder AKSU. Yeşil Çay Yağının Gökkuşığı Alabalıklarının (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Yem Değerlendirme Oranına ve Hematolojik Parametrelerine Etkileri (<i>Effects of green tea (Camellia sinensis) Oil on Feed Utilization and Hematological Parameters of Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss)</i>)		159-164
▶ Gülşah GÜNDOĞDU, Ali TAGHİZADEHGHAEHJOUGHİ, Betül ÇİÇEK, Onur ŞENOL, Kemal Alp NALCI, Alper Kürşat DEMİRKAYA, Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU. Glutamat Eksitotoksitesitesi Oluşturulan Primer Kortikal Nöron Kültürlerinde Parietinin Nöroprotektif Etkisinin İncelenmesi (<i>Investigation of Protective Effect of Parietin Against Glutamate Excitotoxicity in Primary Cortical Neuron Culture</i>)		165-173
▶ Menekşe SOYDAN, Necati UTLU. Yumurta Tavuğu Rasyonlarına Organik Selenyum ve Vitamin E İlavasının Kan ve Yumurtada Bazı Biyoelement Düzeyleri Üzerine Etkileri (<i>Effects of Organic Selenium and Vitamin E Supplementation on Some Bioelements in Blood and Egg of Laying Hens</i>)		174-181
▶ Gözde YAMAN BÜLBÜL, Leyla MİS, Emin ŞENGÜL, Serkan YILDIRIM, Fikret ÇELEBİ, Ali ÇINAR. Cyclophosphamide İle İndüklenmiş Ratlarda Karaciğer Enzimleri (AST, ALT, ALP) ve Histopatolojisi Üzerine Naringin'in Protektif Etkileri (<i>Protective Effects of Naringin on Liver Enzymes (AST, ALT, ALP) and Histopathology in Cyclophosphamide-Induced Rats</i>)		182-190
▶ Sefer KÜÇÜKER, Şima ŞAHİNDURAN. Antalya İlinde Bulunan Köpeklerde Dirofilariasis, Borreliozis, Ehrlichiazis ve Anaplazmozis'in Hızlı Test Kitleri ile Teşhisi ve İnsidansı Üzerine Araştırmalar (<i>Research in to the seroprevalance of Dirofilariasis, Borreliosis, Ehrlichiosis and Anaplasmosis in Antalya</i>)		191-200
▶ Durhasan MUNDAN, Burhan ATALAR, Bayram Ali MERAL, Mehmet Mahfuz YAKIŞAN. Modern Süt Sığırı İşletmelerinin Yapısal ve Teknik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma (<i>A Research on the Determination of the Structural and Technical Characteristics of Modern Dairy Cattle Enterprises</i>)		201-210
▶ Hakan AYDIN, Mehmet Özkan TİMURKAN. Buzağı İshallerinde Coronavirusun Nükleoprotein Gen ve Rotavirusun VP7/VP4 Gen Bölgelerinin Kısmi Sekansı ve Filogenetik Analizi (<i>Partial Sequence and Phylogenetic Analysis of The Nucleoprotein Gene of Coronavirus and VP7/VP4 Gene of Rotavirus in Calf Diarrhea</i>)		211-218
▶ Yusuf DAĞ, Emin ŞENGÜL, Muzaffer SELÇUK, Serkan YILDIRIM, Fikret ÇELEBİ, Ali ÇINAR. Ratlarda Cyclophosphamide ile İndüklenen Nefrotoksisitede Bazı Hematolojik Parametreler ve Böbreğin Histopatolojisi Üzerine Naringinin Protektif Etkileri (<i>The Protective Effects of Naringin on Some Blood Parameters and Kidney Histopathology in Cyclophosphamide Induced Nephrotoxicity in Rats</i>)		219-228
Derlemeler / Reviews		Sayfa Page
▶ Korhan ÖZTURAN, Mustafa ATASEVER. Süt ve Ürünlerinde Mineral Maddeler ve Ağır Metaller (<i>Mineral Elements and Heavy Metals in Milk and Dairy Products</i>)		229-241
▶ Mehmet Ferit CAN. Türkiye Hayvancılık Politikalarının AB ile Etkileşimi ve Olası Sonuçları (<i>The Interaction of Turkey Livestock Policies with the EU and Its Potential Outcomes</i>)		242-250
▶ Taha Burak ELİFOĞLU, Ayhan BAŞTAN. İneklerde Mikoplazmalara Bağlı Mastitisler: Risk Faktörleri, Kontrol ve Korunma Stratejileri (<i>Bovine Mycoplasma Mastitis: Risk Factors, Control and Prevention Strategies</i>)		251-256
Yıl / Year: 2018		Cilt / Volume: 13
		Sayı / Issue: 2



Arterial Vascularization of Kidneys in the Hasmer Sheep

Derviş ÖZDEMİR¹, Zekeriya ÖZÜDOĞRU²✉, Hülya BALKAYA¹

1. Atatürk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy, Erzurum, TURKEY.
2. Aksaray University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy, Aksaray, TURKEY.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
31.03.2017	22.06.2017	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Özdemir M, Özudoğru Z, Balkaya H: Arterial Vascularization of Kidneys in the Hasmer Sheep. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 121-127, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.303147

Abstract: The study was conducted to investigate the variations of renal arteries in Hasmer sheep. Six animals were used in the study. Renal artery and its segments were prepared using standard corrosion cast techniques and examined. An electronic calibrator was used to measure the length and diameter of the renal arteries. Renal arteries were originating from the abdominal artery, right and left. The left renal artery was longer than the right. Renal arteries were also divided into dorsal and ventral branches. Dorsal and ventral branches respectively; interlobar, arcuate and interlobular arteries were separated. An interlobar artery originating from the ventral branch of both kidneys fed both the dorsal and ventral surfaces of the kidney. None of the materials had anastomosis. As a result; Such studies may shed light on research such as renal transplantations, surgical operations of the kidneys and urinary diseases.

Keywords: Arterial vascularization, Hasmer sheep, Ren.

Hasmer Koyununda Böbreklerin Arteriyal Vaskularizasyonu

Öz: Çalışma, Hasmer koyunlarında renal arterlerin varyasyonlarını araştırmak amacıyla yapıldı. Araştırmada altı adet hayvan kullanıldı. Renal arter ve segmentleri standart korozyon kast teknikleri kullanılarak hazırlandı ve incelendi. Renal arterlerin uzunluk ve çap ölçümleri için elektronik kalibratör kullanıldı. Arteria renalis'lerin, aorta abdominalis'ten sağlı ve sollu olarak orijin aldıktan sonra dorsal ve ventral iki dala ayrıldığı tespit edildi. Sol renal arterin, sağ renal arterden daha uzun olduğu belirlendi. Renal arterler dorsal ve ventral iki dala ayrılmaktaydı. Dorsal ve ventral dallar sırasıyla; interlobar, arcuate ve interlobuler arterlere ayrıldığı gözlemlendi. Ayrıca, her iki böbreğin ventral kolundan orijin alan bir interlobar arterin, böbreğin hem dorsal hem de ventral yüzünü beslediği belirlendi. Materyallerin hiçbirinde anastomoz görülmedi. Sonuç olarak; Bu tür çalışmalar böbrek transplantasyonları, böbreklerin cerrahi operasyonları ve üriner hastalıklar gibi araştırmalara ışık tutabilir.

Anahtar Kelimeler: Arterial vascularizasyon, Hasmer koyunu, Ren.

INTRODUCTION

Due to the need for genetic material with high breeding value in breeding Turkish sheep, the Hasmer genotype was obtained at the Bahri Dağdaş International Agricultural Research Institute by cross-breeding using meat varieties with good meat quality and good quality, with low fat and carcass quality (1). Hasmer genotype is a sheep breed formed by triple crossbreed of German Black Head, Hampshire and Merinos sheep breeds (2).

Anatomical information of the renal arteries is very important for experimental and surgical operations. Most species of mammals have been used as experimental animals in the study of variable diagnostic or surgical techniques in vascular and urologic field. To the most used species belong the rabbits (3-4), pig (5-7), dogs (8-13) and small ruminant (14-15).

We have aimed to determine that anatomical pattern type of intrarenal vascular structures of the Hasmer sheep. It is the first study on the distribution of renal arteries in the Hasmer sheep.

MATERIALS and METHODS

The study was carried out on six adult Hasmer sheep. We used Hasmer sheep, a genetically new

race in our country. The kidneys were obtained along with the renal arteries, followed by the injection of the takilon prepared in 20% powder monomethylmethacrylate and 80% liquid polymethylmethacrylate. Corrosion cast method (16-17) was applied to the kidney. For polymerization, materials were kept at room temperature for 24 hours. They were corrosion casted in 30% KOH at 60°C for 24-48 hours. After the dissolution of surrounding soft tissues, were their rests removed from the corrosion casts in running water. These materials had photographed. An electronic calibrator was used for measurements. The study was conducted in accordance with the ethical principles for animal experiments.

RESULTS

Renal arteries as branches arising from the ventral walls of abdominal aorta were supplied the kidneys. Left renal artery was longer than right renal artery. In all studied corrosion casts, the origin of right renal artery was located cranially to the origin of left renal artery. Distance between both renal arteries was 9.82-10.57mm. The diameter of abdominal artery was 6.92 mm (Figure 1-2).

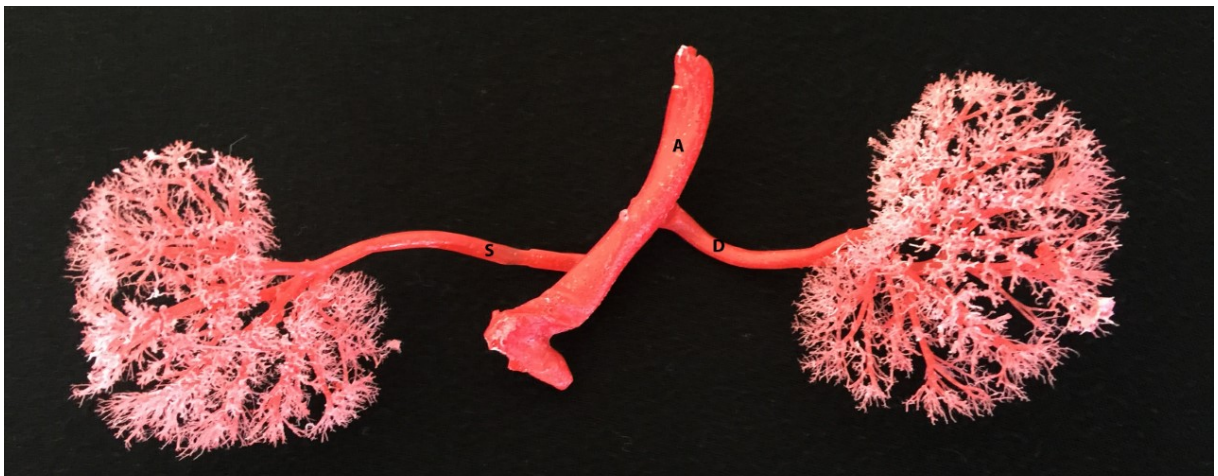


Figure 1. Dorsal view of the renal arteries; A-abdominal aorta, D-right renal artery, S-left renal artery.

Şekil 1. Renal arterlerin dorsal'den görünümü; A-aorta abdominalis, D-sağ renal arter, S-sol renal arter.



Figure 2. Ventral view of the renal arteries; A-abdominal aorta, D-right renal artery, S-left renal artery.

Şekil 2. Renal arterlerin ventral'den görünümü; A-aorta abdominalis, D-sağ renal arter, S-sol renal arter.

The right renal artery gave rise to the dorsal and ventral branches 33.2–34.3 mm from the hilus of kidney, and the left renal artery 46.2–48.4 mm. The average diameter of right renal artery was 3.46-3.69 mm and the average diameter of left renal artery 3.12-3.26 mm (Figure 3-4). These arteries were divided into two dorsal and ventral branches before entering the hilus of kidney.



Figure 3. Dorsal view of the right renal artery; D-right renal artery, I-right dorsal branch, II-right ventral branch, 1-interlobar artery, 2-arcuate artery, 3-interlobular artery.

Şekil 3. Sağ renal arterin dorsal'den görünümü; I-sağ dorsal dal, II-sağ ventral dal, 1-arteria interlobaris, 2-arteria arcuate, 3-arteria interlobularis.



Figure 4. Ventral view of the right renal artery; D-right renal artery, J-An artery that feeds both the dorsal and ventral surfaces of the kidney, I-right dorsal branch, II-right ventral branch, 1-interlobar artery, 2-arcuate artery, 3- interlobular artery.

Şekil 4. Sağ renal arterin ventral'den görünümü; J-böbreğin hem dorsal hem de venral yüzeyini besleyen bir arter, I-sağ dorsal dal, II-sağ ventral dal, 1-arteria interlobaris, 2-arteria arcuate, 3-arteria interlobularis.

The right dorsal branches were about 2.14 to 2.45 mm in diameter and 9.28 to 9.56 mm in length. These vessels were giving five or six right interlobar arteries (Figure 3). The left dorsal branches were

about 2.49 to 2.72 mm in diameter and 9.17 to 9.68 mm in length. These arteries were giving four or five left interlobar arteries (Figure 4). The right ventral branch was about 2.59 to 2.78 mm in diameter and 2.19 to 2.35 mm in length and ramified as seven–eight right interlobar arteries (Figure 5). The left ventral branch was about 2.4 to 2.58 mm in diameter and 6.73 to 6.99 mm length and ramified as five–six left interlobar arteries (Figure 6).

At medulla-cortex junction, right and left interlobar arteries gave off arcuate arteries that arch over the base of the medullary pyramids. The interlobular arteries originating from the arcuate arteries were spread over the entire surface of the kidney. An interlobar artery originating from the ventral branch of both kidneys fed both the dorsal and ventral surfaces of the kidney (Figure 3, 6). None of the materials had anastomosis.



Figure 5. Dorsal view of the left renal artery; S-left renal artery, I-left dorsal branch, II-left ventral branch, 1-interlobar artery, 2-arcuate artery, 3-interlobular artery.

Şekil 5. Sol renal arterin dorsal'den görünümü; S-sol renal arter, I-sol dorsal dal, II-sol ventral dal, 1-arteria interlobaris, 2-arteria arcuate, 3-arteria interlobularis.



Figure 6: Ventral view of the left renal artery; S-left renal artery, J-An artery that feeds both the dorsal and ventral surfaces of the kidney, I-left dorsal branch, II-left ventral branch, 1-interlobar artery, 2-arcuate artery, 3-interlobular artery.

Şekil 6: Sol renal arterin ventral'den görünümü; S-sol renal arter, J-böbreğin hem dorsal hem de ventral yüzeyini besleyen bir arter, I-sol dorsal dal, II-sol ventral dal, 1-arteria interlobaris, 2-arteria arcuate, 3-arteria interlobularis.

DISCUSSION and CONCLUSION

In this study showed that the renal arteries observed that their origins to be from the ventral surface of the abdominal aorta, in relation with the literature (18). While, some literature (14,19-21) described that the renal arteries observed that originated from each side of the abdominal aorta.

Although multiple renal arteries for each kidney have been reported in dogs (22) and humans (23), in all kidneys examined study we observed only a single renal artery, as has also been reported for goats and sheep (15), small laboratory animals (24-26).

In all studied specimens, left renal artery was longer than left renal artery which is consistent with the findings literature (18,26-28). While, some researcher reported that right renal artery was longer than the left renal artery (12,14,29).

In this study, the primary divisions of renal arteries were a dorsal and a ventral branch, as also reported in most mammals (12,14,21,30-31).

Though, two or more branches have been noted in the dog (31-32), it had been reported that the primary division of the pig renal artery forms a cranial and a caudal branch in 93.4% of cases (6,33). After that, the dorsal and ventral branches of renal arteries emerged from multiple arterial arteries. However, the dorsal and ventral branches for rabbits (25), rats (21), goats (15), sheep (14) and Kangal dog (12) have no cranial and caudal branches of the renal arteries, Hasmer sheep resembles its kidneys.

In the kidney of Hasmer, at the medulla-cortex junction the interlobular arteries gave rise to arcuate arteries. Each arcuate artery was giving interlobular arteries, as reported for small laboratory animals (21,24-25), canines (8,12,27,30-31,33), and sheep (14-15). Some researcher (15-34) reported that an anastomosis between the dorsal and ventral branches in one kidney. No such findings were found in the study.

Aksoy et. al (14) stated that, the right dorsal branch divided into three-five interlobar subbranches, while the right ventral one gave off four-six interlobar ones, and the left dorsal branch, on the other hand, branched out three-six and the left ventral branch three-four interlobar arteries. We have noted that right dorsal branch divided into five-six interlobar subbranches, while the right ventral one gave off four-five interlobar ones, and the left dorsal branch, on the other hand, branched out four-five and the left ventral branch five-six interlobar arteries.

Aslan and Nazli (15) reported that, the dorsal branch gave two interlobar arteries for the ventral surface and the ventral branch delivered one interlobar artery for the dorsal surface in one goat and one Morkaraman sheep. Aksoy et al. (14) mentioned that, one right kidney, a third branch arising from the junction of the dorsal and ventral branches and supplying the dorsal surface of the kidney. Furthermore, he was observed that in one left kidney, an interlobar artery arose from the dorsal branch nourishing the ventral surface of the caudal extremity, and the interlobar artery of the ventral

branch normally supplying the ventral surface of the caudal extremity was absent. In this study, we have identified an interlobar artery originating from the ventral branch of both kidneys fed both the dorsal and ventral surfaces of the kidney.

Although many researchers (12,14,27,30) weren't mentioned that interlobar arterial anastomosis, Aslan and Nazli (15) found that, an anastomosis between a dorsal and ventral branches of a sheep and two interlobar arteries originating directly from the renal artery in two sheep. Anastomosis was not detected in any of the lower parts of the renal arteries.

In conclusion, such studies can be used as reference in that kidney arteries are an important anatomic feature that surgeons need to know in order to prevent damage to these arteries during renal transplantation, to evaluate donor kidneys for kidney transplantation and urological fields.

REFERENCES

1. Tekin ME., Gürkan M., Karabulut O., Düzgün H., 2005. Performance testing studies and the selection of Hasmer, Hasak, Hasiv and Linmer crossbreed sheep types. III. Fattening Performance. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 67-73.
2. Kaymakçı M., Taşkın T., 2008. Türkiye Koyunculugunda Melezleme Çalışmaları. *Hayvansal Üretim*, 49, 43-51.
3. Fernandez F., Fernandez G., Loske AM., 2009. Treatment time reduction using tandem shockwaves for lithotripsy: an in vivo study. *J Endourol*, 23, 1247-1253.
4. Styn NR., Wheat JC., Hall TL., Roberts WW., 2010. Histotripsy of VX- 2 tumor implanted in a renal rabbit model. *J Endourol*, 24, 1145-1150.
5. Evan AP., Connors BA., Lingeman JE., Blomgren P., Willis LR., 1996. Branching patterns of the renal artery of the pig. *Anat Rec*, 246, 217-23.
6. Pereira-Sampaio MA., Marques-Sampaio BPS., Henry RW., Favorito LA., Sampaio FJB., 2009. The dog kidney as experimental model in endourology: anatomic contribution. *J Endourol*,

- 23, 989-993.
7. Bagetti Filho HJ., Pereira-Sampaio MA., Favorito LA., Sampaio FJ., 2007. Pig kidney: anatomical relationships between the renal venous arrangement and the kidney collecting system. *J Urol*, 179, 1627-1630.
 8. Aslan K., 1995. Macroanatomic investigations on the intrarenal segmentation of the renal artery in the mongrel dog. *J Fac Vet Med, Selcuk Univ*, 11, 149-154.
 9. Bakir B., Odabas O., Genccelep M., Kosem M., Aslan L., 2004. Use of fibrin glue in dog kidney model. *Indian Vet J*, 81, 276-279.
 10. Christie BA., 1980. Collateral arterial blood supply to the normal and ischemic canine kidney. *Am J Vet Res*, 41, 1519-25.
 11. Groman RP., Bahr A., Berridge BR., Lees GE., 2004. Effects of serial ultrasound-guided renal biopsies on kidneys of healthy adolescent dogs. *Vet Radiol Ultrasound*, 45, 62-69.
 12. Ozdemir D., Ozudogru Z., Malkoc I., 2009. Intrarenal segmentation of the renal arteries in the Kangal dog. *J Fac Vet Med, Kafkas Univ*, 15, 41-44.
 13. Shively MJ., 1978. Origin and branching of renal arteries in the dog. *Journal of Am Vet Med Assoc*, 173, 986-989.
 14. Aksoy G., Kurtul I., Ozcan S., Aslan K., Ozudogru Z., 2004. Intrarenal arteries and their patterns in the Tuj sheep. *Vet Med*, 49, 57-60.
 15. Aslan K., Nazli MA., 2001. Comparative macro-anatomic investigation on the intrarenal segmentation of the renal artery in goats and morkaraman sheep. *Indian Vet J*, 78, 139-143.
 16. Nerantsiz C., Antonakis E., Avgaustakis D., 1978. A new corrosion casting technique. *Anat Rec*, 191, 321-325.
 17. Tompset DH., 1970. *Anatomical Techniques*. 2th., ed. E. and S. Livingstone, Edinburgh and London.
 18. Ghoshal NG., 1975. Ruminant heart and arteries. In "Sisson and Grossman's the Anatomy of the Domestic Animals", Ed., R Getty, 5th ed., 528, WB Saunders Company, Philadelphia.
 19. Nickel R., Schummer A., Seiferle E., 1981. The Circulatory System. In "The Anatomy of the Domestic Animals" Vol.3. Verlag Paul Parey, Berlin and Hamburg.
 20. Mohammed RAA., 2014. Double renal artery in Baladi rabbit. *Inter j Vet Sci*, 33, 105-108.
 21. Yoldas A., Aydin A., Ilgun R., 2014. Macroscopic distribution of the renal artery and intrarenal arteries in mole rats (*Spalax leucodon*). *Vet Med*, 59, 382-387.
 22. Jain RK., Dhingra LD., Kumar S., Sharma DF., 1985. Vascularization of kidneys in dogs (*Canis familiaris*). *Indian J Anim Sci*, 55, 406-409.
 23. Satyapal KS., Haffejee AA., Singh B., Ramsaroop L., Robbs JV., Kalideen JM., 2001. Additional renal arteries: incidence and morphometry. *Surg Radiol Anat*, 23, 33-38.
 24. Fuller PM., Huelke DF., 1973. Kidney vascular supply in the rat, cat and dog. *Acta Anat (Basel)* 8, 516-522.
 25. Ertas N., 2006. Anatomy of intrarenal circulation in rabbit kidneys. Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Turkey.
 26. Popesko P., Rajtova V., Horak J., 1990. Anatomic atlas of small laboratory animals. 1th., ed. Priroda, Bratislava, Slovak Republic.
 27. Aksoy G., Ozudogru Z., 2003. A macroscopical investigation on the intrarenal segmentation of the renal arteries in the Van cat. *J Fac Vet Med, Kafkas Univ*, 9, 9-13.
 28. Mazensky D., Flesarova S., 2017. Arrangement of renal arteries in guinea pig. *Anat Rec*, 300, 556-559.
 29. Paryani MR., 2012. Intrarenal patterns of the vascular supply in one humped camel (*Camelus dromedarius*). *Ann Biolog Res*, 3, 4947-4950.
 30. Ozudogru Z., Ozdemir D. 2005. Intrarenal arterial patterns in the wolf. *Vet Med*, 50, 411-414.
 31. Khamanarong KP., Prachaney A., Utravichien T., Tong U., Sripaoraya K., 2004. Anatomy of renal arterial supply. *Clin Anat*, 17, 334-336.
 32. Christensen GC., 1952. Circulation of blood through the canine kidney. *Am J Vet Res*, 13, 236-

245.

33. Marques-Sampaio BP., Pereira-Sampaio MA., Henry RW., Favorito LA., 2007. Dog kidney: anatomical relationships between intrarenal arteries and kidney collecting system. *Anat Rec*, 290, 1017-1022.
34. Nur IH., Yoldas A., 2011. The branches variation of the renal artery in a Wistar rat. *J Fac Vet Med, Erciyes Univ*, 8, 211-216.



Oxidative Stress in Akkaraman Ewes with Seropositive for Schmallerberg Virus

Hasan Ceyhun MACUN¹✉, Miyase ÇINAR², Ahmet Kürşat AZKUR³, Hakan KALENDER¹, Serkan ERAT⁴

1. Kırıkkale University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Kırıkkale, TURKEY.
2. Kırıkkale University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry, Kırıkkale, TURKEY.
3. Kırıkkale University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Virology, Kırıkkale, TURKEY.
4. Kırıkkale University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Breeding and Husbandry, Kırıkkale, TURKEY.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
24.05.2017	15.12.2017	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Macun HC, Çınar M, Azkur AK, Kalender H, Erat S: Oxidative Stress in Akkaraman Ewes with Seropositive for Schmallerberg Virus. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 128-134, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.315776

Abstract: The aim of this study was to determine oxidant-antioxidant status by evaluating some oxidative stress parameters (nitric oxide (NO), malondialdehyde (MDA), total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS), catalase activity) in clinically healthy Akkaraman ewes with seropositive for Schmallerberg virus (SBV). The study consisted of four positive, six suspected and seven negative-control blood sera in terms of specific antibody for SBV by using commercial ELISA kits. Even though there were no significant statistical differences ($P>0.05$), the highest NO level was in sera with SBV specific antibody positive while the lowest TOS level was in sera with SBV specific antibody negative. The values of TAS in sera were very similar in the groups ($P=0.981$). While the MDA levels of sera with SBV specific antibody positive and suspected were similar, the statistical difference was found between the MDA level of sera with SBV specific antibody positive and negative ($P=0.021$). The catalase activity of sera with SBV specific antibody positive was lower ($P=0.030$) than the catalase activity of sera with SBV suspected whereas the catalase activities in positive and negative groups and the catalase activities in suspected and negative groups were similar. In conclusion, it was determined that MDA level was affected in Akkaraman ewes that are SBV specific antibody positive without clinical symptoms.

Keywords: Oxidative stress, Schmallerberg virus, Sheep.

Schmallerberg Virüs Seropozitif Akkaraman Koyunlarda Oksidatif Stres

Öz: Bu çalışmanın amacı Schmallerberg virüs (SBV) seropozitif belirlenen klinik olarak sağlıklı Akkaraman koyunlarda bazı oksidatif stres parametrelerinin (nitrik oksit (NO), malondialdehid (MDA), total antioksidan kapasite (TAK), total oksidan kapasite (TOK), katalaz aktivitesi) değerlendirilmesiyle oksidan-antioksidan durumun belirlenmesidir. Çalışmanın materyalini, ELISA yöntemiyle SBV özgül antikorları yönünden 4 pozitif, 6 şüpheli ve 7 negatif-kontrol kan serumu oluşturdu. Gruplar arasında istatistiksel bir fark olmamasına rağmen ($P>0.05$) en yüksek NO seviyesi SBV seropozitif serumlarında, en düşük TOK seviyesi SBV negatif serumlarında bulundu. Gruplardaki TAS değerleri oldukça benzerdi ($P=0.981$). SBV seropozitif ve şüpheli serum MDA seviyeleri benzerken SBV seropozitif ve negatif serumların MDA seviyeleri istatistiksel olarak farklı bulundu ($P=0.021$). SBV seropozitif olan serumların katalaz aktiviteleri, SBV şüpheli serumların katalaz aktivitelerinden daha düşük ($P=0.030$) iken pozitif ve negatif grupların katalaz aktiviteleri ile şüpheli ve negatif grupların katalaz aktiviteleri benzer bulundu. Sonuç olarak; hastalığa ait klinik semptom bulunmayan SBV seropozitif Akkaraman ırkı hayvanlarda MDA seviyesinin etkilendiği belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Koyun, Oksidatif stres, Schmallerberg virüs.

✉ Hasan Ceyhun MACUN

Kırıkkale University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Kırıkkale, TURKEY.
e-mail: hceyhunmacun@yahoo.com

INTRODUCTION

Oxidative stress is the shift in balance between oxidants and antioxidants for the favor of the oxidants and eventually causing damage (1). Oxidative damage can cause cell death due to apoptosis or necrosis leading to destruction of structural tissues (2). The damage of biological structures such as protein, lipid, carbohydrate and DNA are closely related to many diseases including cancer, atherosclerosis, Alzheimer's disease, arthritis, diabetes, even aging (3). Some viral infections can also cause oxidative stress such as influenza virus, picornavirus, pox virus, caraparu virus, crimean-congo hemorrhagic fever virus and Rift Valley fever virus (4-11).

Nitric oxide (NO) is within free radicals due to its odd numbered electrons and synthesized from L-arginine, which an amino acid by NO-synthase (12,13). The NO plays role in neurotransmission and regulation of blood pressure and immune system and it can be converted to peroxynitrite, which is very harmful for tissues and organs (14). Lipids, especially the polyunsaturated ones, tend to oxidation. Although there are many procedures for determining the lipid oxidation, two groups of assays are remarkable. These are malondialdehyde (MDA) and isoprostane analyses (2). MDA, used to determine of cellular damage severity, causes to disturbance of ion transport, enzyme activity and cell membrane (14).

Measurements of antioxidants are determined both approximately for all antioxidants and definitely for each antioxidant. Total antioxidant status (TAS), Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC), total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP) and ferric reducing-antioxidant power (FRAP) are measured by colorimetric or cyclic voltammetry methods for determining antioxidants capacity. The common feature of these measurements is to summarize the activity of all antioxidants with a single value (2). Total oxidant status (TOS) can be used as an indicator for the oxidants produced by the organism as well as taken by environmental factors (15).

Catalase is also among the enzymatic antioxidants such as superoxide dismutase, glutathione peroxidase, mitochondrial cytochrome oxidase and glutathion-S-transferases. The role of catalase enzyme is breaking down of hydrogen peroxide into water and oxygen (12,13,16).

Schmallenberg virus (SBV), which is a member of the *Bunyaviridae* family, was firstly detected in Europe in 2011. SBV affects ruminant animals and is transmitted by vectors (*Culicoides* spp.) (17-20). SBV causes fever, reduced milk production, watery diarrhea, abortion, and malformed stillbirths (hydranencephaly – arthrogryposis) in cows, sheep and goats (21-25).

Oxidative stress were investigated in some *Bunyaviridae* members including caraparu virus, crimean-congo hemorrhagic fever virus and Rift Valley fever virus in mice, human and human small airway lung cells, respectively (5,6,8). There are no study showing relationship between SBV and oxidative stress in sheep. Therefore, the aim of this study was to determine oxidant-antioxidant status by evaluating some oxidative stress parameters (NO, MDA, TAS, TOS, catalase activity) in clinically healthy Akkaraman ewes with seropositive for SBV.

MATERIALS and METHODS

The study consisted of four positive (3 ewes, 1 ram), six suspected (5 ewes, 1 ram) and seven negative-control (6 ewes, 1 ram) blood sera in terms of specific antibody for SBV. Blood sera were collected from clinically healthy animals ranging in age from 2 to 5. The investigation was approved by the local Ethics Committee of Kırıkkale University (14/32).

Indirect ELISA (IDEXX, Schmallenberg Virus Antibody Test Kit, Liebefeld-Bern, Switzerland) was used to detect antibody response to SBV infection according to manufacturer's instruction. Briefly, positive and negative control of sera were diluted as 1:10 in sample diluent and added coated SBV plate

incubated for 60 minutes at room temperature. After three times washing the plates conjugate was dispensed and plates were incubated for 60 minutes at room temperature. Substrate (100 μ l) was added to wells and incubated for 10 minutes at room temperature after second washing step. Reaction was stopped by adding stop solution. Plates were read at 450 nm wavelength in spectrophotometer (SIRIO S ELISA reader, Jakarta Raya, Indonesia). Results calculated according to given formula ($S/P\% = 100 \times \{\text{sample OD} - \text{negative control OD}\} / \{\text{positive control OD} - \text{negative control OD}\}$) and were interpreted as negative if $S/P\% < 30\%$, suspect if $S/P\%$ in between $\geq 30\%$ and $< 40\%$, positive if $S/P\% \geq 40\%$.

Total Antioxidant Status Assay

TAS absorbance was spectrophotometrically in serum with a commercial kit (Rel Assay Diagnostic, Gaziantep, Turkey). The procedure was based on the reduction of colored 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonic acid) radical to a colorless reduced form with the antioxidants present in the sample. The absorbance of standard and samples was read at 660 nm against de-ionized water with the ELISA Reader (SIRIO S ELISA reader, Jakarta Raya, Indonesia). This procedure was calibrated using Trolox which is a vitamin E analog. The data were presented as mmol Trolox equivalent per liter (mmol Trolox Eq/L). The sample to be measured was repeated more than 5 times. The coefficient of variation (CV) values were $\pm 10\%$ range (26).

Total Oxidant Status Assay

TOS absorbance was spectrophotometrically measured in serum with a commercial kit (Rel Assay Diagnostic, Gaziantep, Turkey). The method was based on the principle that the oxidants in the sample oxidized ferrous ions, to ferric ions. In the acidic medium of the assay, these ferric ions formed a colored complex with a chromogen. The absorbance of standard and samples was read at 546 nm against de-ionized water with the ELISA reader. This assay was calibrated with hydrogen peroxide

(H_2O_2), and the results were presented as $\mu\text{mol } H_2O_2$ Eq/L. The same sample to be measured was repeated more than 5 times. The CV values were $\pm 10\%$ range (27).

Determination of Malondialdehyde Concentrations

Concentrations of MDA in serum were determined as thiobarbituric acid reactive substances using the spectrophotometric method as described by Buege and Aust (28). This method is based on the formation of a pink color under the acidic condition upon the reaction of MDA and thiobarbituric acid (TBA). Briefly, TBA (0.375 m/v), hydrochloric acid (0.25 N), trichloroacetic acid solution (15%, w/v) were combined to 1:1:1 (A solution) and mixed. A solution (1000 μ l) and butylated hydroxytoluene (10 μ l) were put into centrifuge tubes of whole serum containing samples of 0.5 ml each. Whole tubes were mixed with vortex. The tubes were then put in a boiling water at 95 $^\circ\text{C}$ bath for 25 minutes. After this incubation, all the test tubes were cooled in an ice bath. The tubes were centrifuged at 14000 rpm, 5 minutes 4 $^\circ\text{C}$. Supernatant samples were then transferred to test tubes. The absorbance of samples was measured at 536 nm using a spectrophotometer (Shimadzu UV 1700, Japan). The MDA concentration was calculated based on the absorbance coefficient of the TBA-MDA complex ($\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$) and expressed $\mu\text{mol/L}$.

Catalase Activity Assay

Catalase activity was spectrophotometrically measured in serum with a commercial kit (Cayman Chemical Company, Ann Arbor MI, USA) by double reading. The method was based on the reaction of the enzyme with methanol in the presence of an optimal concentration of H_2O_2 . The formaldehyde produced was measured colorimetrically with 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole (Purpald) as the chromogen. This method used a formaldehyde solution as standard. The absorbance of standard and samples was read at 540 nm with the ELISA

reader. Catalase activity was presented as nmol/min/ml.

Determination of Nitric Oxide Level

NO levels in serum were determined by the spectrophotometric method described in Miranda et al. (29). Total NO concentrations (nitrate and nitrite) were determined calorimetrically by the acidic Griess reaction via reaction involving reduction of nitrate to nitrite by vanadium (III) chloride (29). Samples were briefly deproteinized before the assay. For this; serum was added to 96% cold ethanol at 1:2 (v/v) and the solution was mixed with vortex for 5 minutes. The mixture was incubated for 30 minutes at 4 °C. Then, mixture was centrifuged at 8000 × g for 5 minutes and the supernatants obtained were used for the Griess assay. Analysis was done in a microtiter plate. One hundred microliter of filtrated serum was mixed with 100 µl of vanadium (III) chloride and rapidly followed by the addition of the Griess reagents (50 µl Sulfanilamid and 50 µl N-(1-Naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride). The determination was done at 37 °C for 30 minutes. The

absorbance was measured by the ELISA Reader at 540 nm. Nitrite/nitrate concentration was calculated using a sodium nitrite standard curve and expressed in µmol/L.

Statistical Analysis

The SPSS v15.0 packet program (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) was used to analyze the data. The normality of the data was tested by the Shapiro-Wilk test. The Kruskal-Wallis test was used to see if the group differences exist. Then, the Mann-Whitney U test was used for pairwise group comparison after the Bonferroni adjustment to determine which of the three groups differed from the others. The differences were significant when $P < 0.05$ in the Kruskal-Wallis tests and $P < 0.017$ in the Mann-Whitney U test with a Bonferroni adjustment.

RESULTS

The levels of NO, MDA, TOS, TAS and catalase activity in groups were summarized in Table 1.

Table 1. The levels of NO, MDA, TOS, TAS and catalase activity in groups.

Tablo 1. Grupların NO, MDA, TOK, TAK seviyeleri ve katalaz aktiviteleri.

Groups (n)		Parameters				
		NO (µmol/L)	MDA (µmol/L)	TOS (µmol H ₂ O ₂ Eq/L)	TAS (mmol Trolox Eq/L)	Catalase (nmol/min/ml)
Positive (4)	Mean±standard error	50.47±6.58	1.13±0.05 ^a	5.21±1.36	1.49±0.05	49.03±8.78 ^b
	Median±range	54.17±30.28	1.12±0.23	4.95±6.16	1.49±0.26	52.11±39.42
	Mean rank	11.63	12.73	9.75	8.75	3.88
Suspected (6)	Mean±standard error	43.74±2.37	1.14±0.24 ^{a,b}	5.32±1.57	1.48±0.04	96.46±13.33 ^a
	Median±range	41.05±12.11	1.07±1.60	4.33±10.95	1.49±0.31	86.60±87.46
	Mean rank	7.83	11.17	9.17	8.83	12.50
Negative (7)	Mean±standard error	45.09±3.82	0.62±0.04 ^b	4.65±0.71	1.48±0.03	79.39±12.82 ^{a,b}
	Median±range	45.09±28.26	0.67±0.25	4.65±5.23	1.51±0.20	69.36±91.16
	Mean rank	8.5	5.00	8.43	9.29	8.93
	p	0.475	0.021	0.912	0.981	0.030

a, b: Means within column with different superscripts are significantly different; $P < 0.05$
NO: nitric oxide, MDA: malondialdehyde, TOS: total oxidant status, TAS: total antioxidant status.

DISCUSSION and CONCLUSION

SBV, which is a member of *Bunyaviridae* family, causes fever, reduce milk production, watery diarrhea, abortion, stillbirth malformed offspring in cows, sheep and goats (21-25). The information about oxidative stress in sheep with SBV has not been reported so far.

NO is usually increased in viral infections and has got physiological roles and also functions in immune system by activating macrophages. MDA is the most important indicator of lipid peroxidation (9). In this study, the highest NO level was determined in sera with SBV specific antibody positive ($50.47 \pm 6.58 \mu\text{mol/L}$), NO value of sera with SBV specific antibody suspected ($43.74 \pm 2.37 \mu\text{mol/L}$) was lower than the SBV specific antibody negative ($45.09 \pm 3.82 \mu\text{mol/L}$). However, there were no significant differences in any groups. The MDA levels of sera with SBV specific antibody positive ($1.13 \pm 0.05 \mu\text{mol/L}$) and suspected ($1.14 \pm 0.24 \mu\text{mol/L}$) were detected to be higher than sera with SBV specific antibody negative ($0.62 \pm 0.04 \mu\text{mol/L}$). Difference was detected between MDA level of sera with SBV specific antibody positive and negative. Even though there was no study about NO and MDA in sheep with SBV, these parameters were evaluated in some viral infections including pox virus and ecthyma contagiosa (orf). Levels of NO and MDA were increased in sheep with pox virus [NO; control= $11.05 \pm 0.37 \text{ nmol/ml}$, affected= $36.65 \pm 1.10 \text{ nmol/ml}$. MDA; control= $2.77 \pm 0.10 \mu\text{mol/L}$, affected= $5.87 \pm 0.14 \mu\text{mol/L}$, Kirmizigul *et al.* (9) and MDA; control= $1.27 \pm 0.21 \text{ mmol/L}$, affected= $5.37 \pm 0.32 \text{ mmol/L}$, Issi *et al.* (30)] and ecthyma contagiosa [NO; control= $7.78 \pm 1.02 \mu\text{mol/L}$, affected= $12.44 \pm 1.90 \mu\text{mol/L}$. MDA; control= $8.58 \pm 0.80 \mu\text{mol/L}$, affected= $11.26 \pm 1.06 \mu\text{mol/L}$, Devci *et al.* (11)]. The enhanced lipid peroxidation products may cause peroxidative damage which may resulted in SBV infection.

In the present study, the levels of TOS in sera with SBV specific antibody positive ($5.21 \pm 1.36 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$) and suspected ($5.32 \pm 1.57 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$) were detected higher than sera with SBV

specific antibody negative ($4.65 \pm 0.71 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$). These differences were not statistically significant. The values of TAS in sera were very similar in groups (SBV specific antibody positive: $1.49 \pm 0.05 \text{ mmol Trolox Eq/L}$, suspected: $1.48 \pm 0.04 \text{ mmol Trolox Eq/L}$, negative: $1.48 \pm 0.03 \text{ mmol Trolox Eq/L}$). There was no study evaluating the levels of TOS and TAS in sheep with SBV. However, the level of TOS was increased and the level of TAS was decreased in sheep with pox virus [TOS; control= $457.80 \pm 22.48 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$, affected= $685.05 \pm 10.84 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$. TAS; control= $1.50 \pm 0.03 \text{ mmol Trolox Eq/L}$, affected= $1.01 \pm 0.03 \text{ mmol Trolox Eq/L}$, Kirmizigul *et al.* (9)] and bluetongue [TAS; control= $0.57 \pm 0.01 \text{ mmol Trolox Eq/L}$, affected= $0.48 \pm 0.01 \text{ mmol Trolox Eq/L}$, Aytakin *et al.* (31)] and a significant negative correlation was reported between TOS and TAS (27). In this study, the values of TOS and TAS in sera were not different between the groups and this could be due to the absence of clinical symptoms when blood was collected. SBV causes a short viremia of 2-4 days in goat and sheep (32).

Catalase, which is concentrated in aerobic cells such as liver and erythrocyte, plays a role in preventing damage caused by free radicals and lipid peroxidation (14,16). In this study, the catalase activity of sera with SBV specific antibody positive ($49.03 \pm 8.78 \text{ nmol/min/ml}$) was found to lower than sera with SBV specific antibody negative ($79.39 \pm 12.82 \text{ nmol/min/ml}$). On the other hand these level of sera with SBV specific antibody suspected ($96.46 \pm 13.33 \text{ nmol/min/ml}$) was higher than sera with SBV specific antibody negative. Difference was detected between catalase activity of sera with SBV specific antibody positive and suspected. There was also no study about catalase activity in sheep with SBV. However catalase activity was investigated in pox virus and in Peste des petits ruminants. The catalase activity was increased in pox virus [control= $1.23 \pm 0.09 \cdot 10^3 \text{ k/L}$, affected= $1.54 \pm 0.07 \cdot 10^3 \text{ k/L}$, Issi *et al.* (30)] and in Peste des petits ruminants [control= $71.00 \pm 9.00 \text{ kU L}^{-1}$, affected= $140.00 \pm 8.00 \text{ kU L}^{-1}$, Kataria and Kataria

(33)]. Increased catalase activity may explained by compensatory nature responding to the increased peroxide load in SBV infection.

In conclusion, it was determined that MDA level was affected in Akkaraman ewes that are SBV specific antibody positive without clinical symptoms. The results of the evaluated parameters will contribute to literature and support to new studies about SBV.

REFERENCES

1. Sies H., 1997. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*, 82, 291-295.
2. Lykkesfeldt J., Svendsen O., 2007. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *Vet J*, 173, 502-511.
3. Matsufuji H., Ochi H., Shibamoto T., 2006. Formation and inhibition of genotoxic malonaldehyde from DNA oxidation controlled with EDTA. *Food Chem Toxicol*, 44, 236-241.
4. Han SN., Meydani M., Wu D., Bender BS., Smith DE., Vina J., Cao G., Prior RL., Meydani SN., 2000. Effect of long-term dietary antioxidant supplementation on influenza virus infection. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 55, 496-503.
5. Aydın H., Yıldız G., Engin A., Yılmaz A., Çelik K., Bakır S., 2010. Malondialdehyde, vitamin E, and anti-oxidant enzyme activity levels in patients with crimean-congo hemorrhagic fever. *AJMR*, 4, 2402-2409.
6. Narayanan A., Popova T., Turell M., Kidd J., Chertow J., Popov SG., Bailey C., Kashanchi F., Kehn-Hall K., 2011. Alteration in superoxide dismutase 1 causes oxidative stress and p38 MAPK activation following RVFV infection. *PLoS One*, 6, e20354.
7. Bozukluhan K., Atakisi E., Atakisi O., 2013. Nitric oxide levels, total antioxidant and oxidant capacity in cattle with foot-and-mouth-disease. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19, 179-181.
8. Camini FC., Almeida LT., Bernardes CS., Silva M., Pedrosa ML., Costa DC., de Lima WG., do Amaral Pinto C., Ferreira PCP., de Magalhaes JC., de Brito Magalhaes CL., 2014. Caraparú virus induces damage and alterations in antioxidant defenses in the liver of BALB/c mice after subcutaneous infection. *Arch Virol*, 159, 2621-2632.
9. Kirmizigül AH., Ogun M., Ozen H., Erkilic EE., Gokce E., Karaman M., Kukurt A., 2016. Oxidative stress and total sialic acid levels in sheep naturally infected with pox virus. *Pak Vet J*, 36, 312-315.
10. Uzlu E., Karapehlivan M., Erdoğan HM., Kızıltepe Ş., Erkilic EE., Deveci HA., Gökçe E., Kaya İ., Çitil M., 2016. Serum and saliva sialic and oxidative stress parameters changes in bulls with foot and mouth disease. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 22, 321-325.
11. Deveci AH., Kükürt A., Uzlu E., Sözdutmaz İ., Merhan O., Aktaş S., Alpay M., Kaya İ., Karapehlivan M., 2017. Evaluation of paraoxonase activity, total sialic acid and oxidative stress in sheep with ecthyma contagiosa. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 23, 453-457.
12. Akkuş İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1st ed., 42-112, Mimoza Yayınları, Konya.
13. Gutteridge JMC., 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*, 41, 1819-1828.
14. Bozukluhan K., Merhan O., Öğün M., Cihan M., Gökçe G., 2016. Omfalitisli buzağılarda bazı oksidatif stres parametre düzeylerinin belirlenmesi. *F Ü Sağ Bil Vet Derg*, 30, 79-81.
15. Özbek Ö., 2013. Testis iskemi/reperfüzyonu oluşturulmuş ratlarda apocyninin testis dokusu üzerine koruyucu ve tedavi edici etkilerinin araştırılması. İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Türkiye.
16. Çaylak E., 2011. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *TAD*, 9, 73-83.
17. Hoffmann B., Scheuch M., Hoper D., Jungblut R., Holsteg M., Schirrmeyer H., Eschbaumer M., Goller KV., Wernike K., Fischer M., Breithaupt A., Mettenleiter TC., Beer M., 2012. Novel orthobunyavirus in cattle, Europe, 2011. *Emerg Infect Dis*, 18, 469-472.

18. Veldhuis AMB., van Schaik G., Vellema P., Elbers ARW., Bouwstra R., van der Heijden HMJF., Mars MH., 2013. Schmallenberg virus epidemic in the Netherlands: Spatiotemporal introduction in 2011 and seroprevalence in ruminants. *Prev Vet Med*, 112, 35-47.
19. Azkur AK., Tonbak Ş., 2015. Schmallenberg virüsü. *F Ü Sağ Bil Vet Derg*, 29, 129-135.
20. Helmer C., Eibach R., Humann-Ziehanck E., Tegtmeyer PC., Burstel D., Mayer K., Moog U., Stauch S., Strobel H., Voigt K., Sieber P., Greiner M., Ganter M., 2016. Seroprevalence of Schmallenberg virus infection in sheep and goats flocks in Germany, 2012-2013. *VMS*, 2, 10-22.
21. Lievaart-Peterson K., Luttikholt SJM., Van den Brom R., Vellema P., 2012. Schmallenberg virus infection in small ruminants – First review of the situation and prospects in Northern Europe. *Small Ruminant Res*, 106, 71-76.
22. Muskens J., Smolenaars AJG., van der Poel WHM., van Wuijckhuise L., Holzhauser M., van Weering H., Kock P., 2012. Diarree en productiedaling op Nederlandse melkveebedrijven door het Schmallenbergvirus. *Tijdschr Diergeneeskd*, 137, 112-115.
23. Hechinger S., Wernike K., Beer M., 2013. Evaluating the protective efficacy of a trivalent vaccine containing Akabane virus, Aino virus and Chuzan virus against Schmallenberg virus infection. *Vet Res*, 44, 114.
24. Martinelle L., Dal Pozzo F., Gauthier B., Kirschvink N., Saegerman C., 2014. Field veterinary survey on clinical and economic impact of Schmallenberg virus in Belgium. *Transbound Emerg Dis*, 61, 285-288.
25. Meroc E., De Regge N., Riocreux F., Caij AB., van den Berg T., van der Stede Y., 2014. Distribution of Schmallenberg virus and seroprevalence in Belgian sheep and goats. *Transbound Emerg Dis*, 61, 425-431.
26. Erel O., 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*, 37, 277-285.
27. Erel O., 2005. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*, 38, 1103-1111.
28. Buege JA., Aust SD., 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 52, 302-310.
29. Miranda KM., Espey MG., Wink DA., 2001. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*, 5, 62-71.
30. Issi M., Gul Y., Yilmaz S., 2008. Clinical, haematological and antioxidant status in naturally poxvirus infected sheep. *Revue Med Vet*, 159, 54-58.
31. Aytekin I., Aksit H., Sait A., Kaya F., Aksit D., Gokmen M., Unsal Baca A., 2015. Evaluation of oxidative stress via total antioxidant status, sialic acid, malondialdehyde and RT-PCR findings in sheep affected with bluetongue. *Vet Rec Open*, 2: e000054.
32. Van der Poel WHM., Parlevliet JM., Verstraten ERAM., Kooi EA., Hakze-van der Honing R., Stockhofe N., 2014. Schmallenberg virus detection in bovine semen after experimental infection of bulls. *Epidemiol Infect*, 142, 1495-1500.
33. Kataria AK., Kataria N., 2012. Evaluation of oxidative stress in sheep affected with Paste des petits ruminants. *JSPB*, 8, 72-77.



Effects of Somatic Cell Count in Goat Milk on Some Physical, Chemical and Sensory Properties of Vanilla Ice Cream*

Nazli TURKMEN¹, Halit KANCA², Ayse GURSOY³

1. Ankara University, Faculty of Agriculture, Department of Dairy Technology, Ankara, TURKEY.
2. Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynaecology, Ankara, TURKEY.
3. Ankara University, Faculty of Agriculture, Department of Dairy Technology, Ankara, TURKEY.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
01.12.2017	21.12.2017	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Turkmen N, Kanca H, Gursoy A: Effects of Somatic Cell Count in Goat Milk on Some Physical, Chemical and Sensory Properties of Vanilla Ice Cream. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 135-140, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.360130

Abstract: In this study, the effects of somatic cell count (SCC) in goat milk on some physical, chemical and sensory properties of vanilla ice cream were investigated. Milk samples with low (1200×10^3 cells/ml), medium (1500×10^3 cells/ml) and high (1800×10^3 cells/ml) SCC were used for ice cream manufacture. The composition and some properties of raw milk (pH, fat content, non-fat solid content, titratable acidity) and ice cream mix (pH, titratable acidity, viscosity) were recorded. Fat content, total solid content, overrun, melting rate and sensory properties of ice cream samples were also analyzed. Results indicated that raw milk with high SCC had low fat content and high pH and titratable acidity ($P < 0.01$). However, non-fat milk solid contents were not different ($P > 0.05$). Ice cream mix was not affected (pH, titratable acidity, viscosity) by SCC variations. Overrun, melting rate, fat and total solid contents of ice cream samples were similar among 3 groups. Appearance and texture scores were not different. However, flavor score decreased as SCC in milk increased ($P < 0.05$). In conclusion, SCC in goat milk affected some properties of raw milk and flavor of vanilla ice cream.

Keywords: Goat milk, Somatic cell count, Vanilla ice cream.

Keçi Sütü Somatik Hücre Sayısının Vanilyalı Dondurmanın Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkileri

Öz: Bu çalışmada keçi sütü somatik hücre sayısının (SHS) vanilyalı dondurmanın bazı fiziksel, kimyasal ve duyusal özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Dondurma üretiminde düşük (1200×10^3 hücre/ml), orta (1500×10^3 hücre/ml) ve yüksek (1800×10^3 hücre/ml) SHS'ye sahip süt örnekleri kullanılmıştır. Çiğ sütün (pH, yağ içeriği, yağsız kuru madde içeriği, titrasyon asitliği değeri) ve dondurma miksinin (pH, titrasyon asitliği değeri, viskozite değeri) bileşim ve bazı özellikleri kaydedilmiştir. Ayrıca, dondurma örneklerinin yağ içeriği, toplam kuru madde içeriği, hacim artışı, erime oranı ve duyusal özellikleri belirlenmiştir. Sonuçlar, yüksek SHS'ye sahip çiğ sütün yağ içeriğinin düştüğünü, pH ve titrasyon asitliği değerinin arttığını göstermiştir ($P < 0.01$). Ancak, sütlerin yağsız kuru madde içerikleri farklılık göstermemiştir ($P > 0.05$). Dondurma miksleri (pH, titrasyon asitliği değeri, viskozite değeri) SHS değişiminden etkilenmemiştir. Dondurma örneklerinin hacim artışı, erime oranı, yağ ve toplam kuru madde içeriği 3 grup arasında benzer bulunmuştur. Görünüş ve tekstür skorları farklılık göstermemiştir. Ancak, SHS arttıkça aroma skorunun azaldığı belirlenmiştir ($P < 0.05$). Sonuç olarak, keçi sütü SHS çiğ sütün bazı özelliklerini ve vanilyalı dondurmanın aromasını etkilemiştir.

Anahtar Kelimeler: Keçi sütü, Somatik hücre sayısı, Vanilyalı dondurma.

[✉]Nazli TURKMEN

Ankara University, Faculty of Agriculture, Department of Dairy Technology, Ankara, TURKEY.
e-mail: nazli.turkmen@ankara.edu.tr

*The results of the research was presented in "IDF World Dairy Summit", 20-24 September 2015, Vilnius, Lithuania.

INTRODUCTION

Dairy goat industry has been growing rapidly for the past few years, and the consumer demand on goat milk and milk products has been increasing (1). Somatic cell count (SCC) has become a worldwide accepted milk quality criterion and a management tool. In many of industry type goat milk producing countries, milk quality criteria have been established and quality payment systems are implemented at national and regional scale (2).

High SCC in goat milk negatively affects some characteristics of cheese, the most consumed milk product, both during the manufacture and the storage stages (3,4). Although a considerable amount of goat milk is used for ice cream making, little is known about the relationship of SCC and the suitability of the milk for ice cream making and the quality of the finished product. We therefore, investigated the effect of SCC in goat milk on some properties of vanilla ice cream.

MATERIALS and METHODS

Somatic cell count of different batches of Saanen goat milk from a private farm (Tossaanen Goat Farm, Golbasi, Ankara-Turkey, Latitude 39°41' N, Longitude 32°47' E) was estimated by Fossomatic method (IBC-M Bactocount® Bentley Instruments, Inc., Chaska, USA) and milk samples with low (1200×10^3 cells/ml), medium (1500×10^3 cells/ml) and high (1800×10^3 cells/ml) SCC were prepared. One liter of milk per batch was used for ice cream manufacture in duplicate.

Non-fat vanilla ice cream mixes with the following compositions were prepared: >2% milk fat, 16% sucrose, 21% milk solids-not-fat (from goat skimmilk powder), 0.5% fully integrated blend of food-grade emulsifier and stabilisers (Danisco, Turkey). All ingredients were mixed into goat milk and heated to temperature of 85°C, held at that temperature for 20 minutes, mixed for 5 minutes with Ultra Turrax (Janke and Kunkel, Germany), cooled to 4°C and aged for one day at 4°C. Batches of

ice cream mix (1 liter) were frozen in a batch ice cream freezer at -6°C (DeLonghi II Gelatatio ICK 5000, Italy). Ice cream samples were then hardened at -25 °C for at least 24 hours before further testing was performed.

The composition of raw milk (pH, fat content, non-fat solid content, titratable acidity) and ice cream mix (pH, titratable acidity, viscosity) were recorded. Fat content, total solid content, overrun, melting rate and sensory evaluation of ice cream samples were analyzed.

pH values of raw milk and ice cream mix were measured by using a pH-meter (Mettler Toledo, Switzerland). Titratable acidity was measured by titrating 9 grams of samples with 0.1 N NaOH solution. The total solids of samples were determined by drying samples at $105 \pm 1^\circ\text{C}$ overnight to constant weight, using an air oven (Mettler, Germany). Fat contents of raw milk and ice cream were determined by Gerber method (5). Non-fat solid content of raw milk was determined by a refractometer (Reichert AR, USA). Viscosity was measured using a viscosimeter (Haake, Germany).

Overrun was calculated based on the weight of a certain volume of ice cream mix and ice cream. A container was filled with either ice cream mix or ice cream and the weight was recorded. Overrun measurements were taken using the equation below:

$$\text{Overrun (\%)} = \frac{[(\text{Weight of mix} - \text{Weight of ice cream}) / (\text{Weight of ice cream})] \times 100}{1}$$

Melting rate at 120 minutes were calculated at room temperature ($\sim 24^\circ\text{C}$) (6). Sensory quality was determined by consumer test using 5-point hedonic scale (7). Appearance, flavor and texture scores of ice cream samples were recorded by 100 panelists.

Statistical Analysis

All statistical analyzes were performed with SPSS 14.0 for Windows software (SPSS Inc) to check

if there was a difference between the samples at a 5% significance level ($P \leq 0.05$). Data were presented as means \pm standard deviations ($X \pm SD$). The assumptions of normality and homogeneity of variance of the data were tested using the Shapiro-Wilks test and the Levene's test, respectively. The results were evaluated using a univariate statistical analysis (analysis of variance - ANOVA) and Tukey's mean test.

Table 1. Some properties of raw milk with different somatic cell counts (SCC).

Tablo 1. Farklı somatik hücre sayılarına (SHS) sahip çiğ sütlerin bazı özellikleri.

Classification*	pH	Fat (%)	Non-fat solid (%)	Titrateable acidity (°SH)
Low SCC	6.71 \pm 0.01 ^c	4.7 \pm 0.07 ^a	10.00 \pm 0.00 ^a	6.72 \pm 0.01 ^b
Medium SCC	6.74 \pm 0.01 ^b	4.1 \pm 0.14 ^b	10.00 \pm 0.00 ^a	6.71 \pm 0.01 ^b
High SCC	6.79 \pm 0.01 ^a	3.7 \pm 0.14 ^c	10.00 \pm 0.00 ^a	7.06 \pm 0.03 ^a
P	P<0.01	P<0.01	P>0.05	P<0.01

Within columns, values with different superscripts (a, b, c) are significantly different.

*Somatic cell count was classified as low SCC (1200 x 10³ cells/ml), medium SCC (1500 x 10³ cells/ml) and high SCC (1800 x 10³ cells/ml).

*Somatik hücre sayıları düşük SHS (1200 x 10³ hücre/ml), orta SHS (1500 x 10³ hücre/ml) ve yüksek SHS (1800 x 10³ hücre/ml) olarak sınıflandırılmıştır.

There are conflicting reports in the literature concerning affect of SCC on goat milk fat content. In some reports it was indicated that SCC does not affect fat content of goat milk (8,9). On the contrary, significantly lower fat content in goat milk infected with *S. aureus* (mean SCC 4.650.000 cells/ml) compared to non-infected milk (mean SCC 1.030.000 cells/ml) was reported (10). In another study, a decrease in fat content for high SCC in goat milk was reported (11). A decrease of fat concentration during intramammary infection, which may result in high SCC, seems logical considering the reduced synthetic and secretory capacity of the mammary gland. Intramammary infection is the main factor affecting SCC in goat milk, however, the prediction of goat udder half infection by SCC is unreliable and even goat udder halves with high milk SCC may show sign of mastitis (12). It was reported that no histological and pathological differences in the mammary glands or other evidence of mastitis were detected on fresh udder half tissues of goats with low (950.000 cells/mL), medium (1.500.000 cells/mL), and high (3.300.000 cells/mL) SCC. The SCC in goat milk may be affected by numerous factors such as stage of

RESULTS and CONCLUSION

The results of the current study indicated that raw milk properties changed when milk SCC varied from 1200 x 10³ cells/ml to 1800 x 10³ cells/ml. Milk with high SCC had a lower fat content and higher pH and titrateable acidity ($P < 0.01$). However, non-fat milk solids did not change (Table 1).

lactation, estrus, milking routine (13,14). Therefore, regardless of intramammary infection status, high SCC in raw goat milk, which result in low fat content, might have cause economical losses during ice cream manufacture. The effect of SCC on fat composition was not evaluated in the current study however, in a study no difference was reported in fatty acid profiles in goat milk with different SCC (15).

The results of the current study indicate that raw goat milk pH significantly increases as SCC increase. Similar results were commonly reported in the literature (16). This effect is attributed to increased permeability of the mammary epithelium, which leads to transfer of components from blood to milk, including citrates, bicarbonates, and Na and Cl ions. Higher levels of citrate and bicarbonate were reported to be responsible for elevated pH levels (17). Titrateable acidity plays a fundamental role and represents an important parameter for evaluation of the technological quality of milk (18). A correlation between the acidity and SCC that shows the direct effect of SCC on the acidity was reported for cow milk, as well (19).

Table 2. Some properties of ice cream mix obtained from milk with different somatic cell counts (SCC).**Tablo 2.** Farklı somatik hücre sayılarına (SHS) sahip sütlerden elde edilen dondurma mikslерinin bazı özellikleri.

Classification*	pH	Titratable acidity (°SH)	Viscosity (cp)
Low SCC	6.62 ± 0.03 ^a	6.22 ± 0.02 ^a	172.5 ± 3.54 ^a
Medium SCC	6.64 ± 0.02 ^a	6.23 ± 0.13 ^a	170 ± 0.00 ^a
High SCC	6.63 ± 0.02 ^a	6.25 ± 0.07 ^a	172.5 ± 10.61 ^a
P	P>0.05	P>0.05	P>0.05

*Somatic cell count was classified as low SCC (1200 x 10³ cells/ml), medium SCC (1500 x 10³ cells/ml) and high SCC (1800 x 10³ cells/ml).*Somatik hücre sayıları düşük SHS (1200 x 10³ hücre/ml), orta SHS (1500 x 10³ hücre/ml) ve yüksek SHS (1800 x 10³ hücre/ml) olarak sınıflandırılmıştır.

Ice cream mix was not affected (pH, titratable acidity, viscosity) by SCC variations (Table 2), probably due to the standardization of mix

ingredients. Likewise, ice cream overrun, melting rate at 120 minutes, fat and non-fat milk solids among 3 groups were similar (Table 3).

Table 3. Some properties of ice cream samples obtained from milk with different somatic cell counts (SCC).**Tablo 3.** Farklı somatik hücre sayılarına (SHS) sahip sütlerden elde edilen dondurma örneklerinin bazı özellikleri.

Classification*	Fat (%)	Total solid (%)	Overrun (%)	Melting rate at 120 minutes (%)
Low SCC	0.45 ± 0.07 ^a	38.08 ± 0.25 ^a	32.35 ± 0.99 ^a	91.48 ± 1.03 ^a
Medium SCC	0.4 ± 0.00 ^a	38.07 ± 0.07 ^a	31.175 ± 0.53 ^a	90.965 ± 1.99 ^a
High SCC	0.45 ± 0.07 ^a	38.09 ± 0.16 ^a	32.68 ± 0.68 ^a	91.665 ± 0.71 ^a
P	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05

*Somatic cell count was classified as low SCC (1200 x 10³ cells/ml), medium SCC (1500 x 10³ cells/ml) and high SCC (1800 x 10³ cells/ml).*Somatik hücre sayıları düşük SHS (1200 x 10³ hücre/ml), orta SHS (1500 x 10³ hücre/ml) ve yüksek SHS (1800 x 10³ hücre/ml) olarak sınıflandırılmıştır.

Although a non-significant effect of SCC was observed appearance and texture scores of ice cream samples were not different (P>0.05). However, flavor score decreased as SCC in milk increased (low SCC>medium SCC>high SCC; P<0.05). To our knowledge, this is the only study on the effects of SCC on sensory quality of ice cream. The effect of SCC milk on sensory characteristics of goat cheese is

documented to some extent. Total sensory and texture scores for cheeses made from the high SCC milk were reported to be lower than those for cheeses made from the low and medium SCC milk (12). In another study with fresh lactic goat cheese, the proteolysis index (non-casein nitrogen/total nitrogen), which causes undesirable sensory changes was significantly higher for high SCC milk (20).

Table 4. Sensory characteristics of ice cream obtained from milk with different somatic cell counts.**Tablo 4.** Farklı somatik hücre sayılarına (SHS) sahip sütlerden elde edilen dondurma örneklerinin duyuşal özellikleri.

Classification*	Appearance	Flavor	Texture
Low SCC	3.26 ± 1.40 ^a	3.71 ± 1.18 ^a	3.28 ± 1.27 ^a
Medium SCC	3.33 ± 1.26 ^a	3.25 ± 1.26 ^b	3.12 ± 1.22 ^a
High SCC	3.05 ± 1.38 ^a	2.38 ± 1.44 ^c	3.01 ± 1.30 ^a
P	P>0.05	P<0.01	P>0.05

Within columns, values with different superscripts (a, b, c) are significantly different.

*Somatic cell count was classified as low SCC (1200 x 10³ cells/ml), medium SCC (1500 x 10³ cells/ml) and high SCC (1800 x 10³ cells/ml).*Somatik hücre sayıları düşük SHS (1200 x 10³ hücre/ml), orta SHS (1500 x 10³ hücre/ml) ve yüksek SHS (1800 x 10³ hücre/ml) olarak sınıflandırılmıştır.

In conclusion, SCC in goat milk affected some properties of raw milk and flavor of vanilla ice cream. High SCC results in a lower fat content and higher pH and titratable acidity in raw goat milk and the flavor score of vanilla ice cream decreases as SCC in milk increases.

REFERENCES

1. FAO, 2015. World Livestock Primary Production Statistics. United Nations Food and Agriculture Organization, Rome.
2. Pirisi A., Lauret A., Dubeuf JP., 2007. Basic and incentive payments for goat and sheep milk in relation to quality. *Small Rumin Res*, 68, 167-178.
3. Albenzio M., Santillo A., Kelly AL., Caroprese M., Marino R., Sevi A., 2015. Activities of indigenous proteolytic enzymes in caprine milk of different somatic cell counts. *J Dairy Sci*, 98, 7587-7594.
4. Silanikove N., Merin U., Shapiro F., Leitner G., 2014. Subclinical mastitis in goats is associated with upregulation of nitric oxide-derived oxidative stress that causes reduction of milk antioxidative properties and impairment of its quality. *J Dairy Sci*, 97, 3449-3455.
5. Goff HD., Hartel RW., 2013. Analyzing frozen desserts. In "Ice cream", Eds., HD Goff, RW Hartel, 7th ed., 403-436, Springer, New York.
6. Akin MB., Akin MS., Kirmaci Z., 2007. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice cream. *Food Chem*, 104, 93-99.
7. Meilgaard MC., Civille GV., Carr BT., 2007. Affective Tests: Consumer Tests and In-House Panel Acceptance Tests. In "Sensory Evaluation Techniques", Eds., MC Meilgaard, GV Civille, BT Carr, 4th ed., 201-235, CRC Press, Boca Raton.
8. Pasquini LU., Ballou RD., Bremel RD., Greppi GF., 1996. Detection of proteolytic degradation of milk proteins and relationship with different levels of SCC in Italian goats. In "Proceedings of the International Symposium on Somatic Cells and Milk of Small Ruminants", Bella, Italy, September 25-27, 1994, pp. 275-281.
9. Ying C., Wang HT., Hsu JT., 2002. Relationship of somatic cell count, physical, chemical and enzymatic properties to the bacterial standard plate count in dairy goat milk. *Liv Prod Sci*, 74, 63-77.
10. Pisoni G., Fusi E., Cheli F., Rebucci R., Moroni P., Baldi A., 2004. Mammary gland health status and plasmin-plasminogen system in dairy goat. In "Book of Abstracts of the Eighth International Conference on Goats", South Africa, July 4-9, 2004, p. 90.
11. Baudry C., De Crémoux R., Chartier C., Perrin G., 1997. Impact of mammary gland inflammation on milk yield and composition in goats. *Vet Res*, 28, 277-286.
12. Chen SX., Wang JZ., Van Kessel JS., Ren FZ., Zeng SS., 2010. Effect of somatic cell count in goat milk on yield, sensory quality, and fatty acid profile of semisoft cheese. *J Dairy Sci*, 93, 1345-1354.
13. Haenlein GFW., 2002. Relationship of somatic cell counts in goat milk to mastitis and productivity. *Small Rumin Res*, 45, 163-178.
14. Torres A., Hernandez-Castellano LE., Morales-delaNuez A., Sanchez-Macias D., Moreno-Indias I., Castro N., Capote J., Argüello A., 2014. Short-term effects of milking frequency on milk yield, milk composition, somatic cell count and milk protein profile in dairy goats. *J Dairy Res*, 81, 275-279.
15. Laurinaviciute V., Siugzdaite J., Urbsienne D., 2004. Quality and composition of milk with different somatic cell count of two breeds of dairy goats. *Med Weter*, 60, 1137-1248.
16. Raynal-Ljutovac K., Pirisi A., de Cremoux R., Gonzalo C., 2007. Somatic cells of goat and sheep milk: analytical, sanitary, productive and technological aspects. *Small Rumin Res*, 68, 126-144.
17. Harmon RJ., 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J Dairy Sci*, 77, 2103-2112.
18. Harris B., Bachman KC., 1988. Nutritional and

management factors affecting solids-not fat, acidity and freezing point of milk. 1-5, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Florida.

19. Salman AMA., Elnasri HA., 2011. Somatic cell count, total bacterial count and acidity properties of milk in Khartoum State, Sudan. *J Cell Anim Biol*, 5, 223-230.
20. Morgan F., Gaspard CE., 1999. Influence of somatic cells on technological properties of goat milk and on characteristics of goat cheese. *Renc Rech Rumin*, 6, 317.



Kronik Olarak Flor ve 7,12-Dimetilbenzantrasene (DMBA) Maruz Kalmanın Ratlarda Spermatogenezis ve Testisin Histopatolojisine Etkileri

Serkan YILDIRIM¹✉, Saadet BELHAN², Hasan UYAR³, Zübeyir HUYUT⁴, Gökhan OTO³, Yavuz
Selim SAĞLAM¹

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
2. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE.
3. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE.
4. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
21.10.2017	15.12.2017	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Yıldırım S, Belhan S, Uyar H, Huyut Z, Oto G, Sağlam YS: Kronik Olarak Flor ve 7,12-Dimetilbenzantrasene (DMBA) Maruz Kalmanın Ratlarda Spermatogenezis ve Testisin Histopatolojisine Etkileri. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 141-148, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.345511

Öz: Bu çalışmada, sıçanlarda florür ve polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) türevi olan 7,12-dimetilbenz [a] antrasen (DMBA)'in spermatogenezis ve testisin histopatolojisi üzerine tek tek ve kombinasyon halinde etkilerinin araştırılması amaçlandı. 250-300 g ağırlığında 40 erkek Wistar albino sıçanı kullanıldı. Deneyin 90. gününde intrakardiyak kan örnekleri ve testis doku örnekleri alındı. Gruplarda ki FSH ve LH düzeylerinde her hangi bir değişiklik gözükmezken testosteron düzeylerinin kontrol grubuna göre diğer gruplarda önemli ölçüde düştüğü belirlendi ($P < 0.001$). Kronik flor ve DMBA toksikasyonu ratlarda sperm motilite oranını, yoğunluğunu önemli ölçüde düşürmekte ve anormal sperm oranı ise yükseltmektedir. Histopatolojik incelemelerde; NaF (30 ppm) grubunda ki ratların testislerinin tubulus duvarında spermatosit ve spermatozoa sayısında azalma görüldü. DMBA (10 mg/kg) grubunda bulunan ratların testis dokuları incelendiğinde, tubuluslarda atrofi, intertubuler aralıklarda ödem ve tubulus duvarında bulunan spermatosit sayısında şiddetli azalma tespit edildi. NaF (30 ppm) + DMBA (10 mg/kg) grubunda ki ratların testis dokuları incelendiğinde ise, seminifer tubüllerde atrofi, tubüllerin duvarında spermatogoniumlarda şiddetli dejeneratif ve nekrotik değişiklikler ve buna bağlı olarak tubul duvarlarında inceleme saptandı. Tubul lümenlerinde spermatozoa rastlanmadı. İntertubuler aralıklarda şiddetli ödem, bu bölgelerde bulunan damarlarda dilatasyon ve hiperemi saptandı. Sonuç olarak NaF ve DMBA'nın testis dokusu ve döl verimi üzerine her birinin tek tek olumsuz etki ettiği ve birlikte kombinasyon halinde ise bu etkinin daha da şiddetlendiği görüldü.

Anahtar Kelimeler: Kronik Florozis, 7,12-dimethylbenzanthracene (DMBA), Rat, Spermatogenezis, Testis.

Effects of Chronically Exposure to Flor and 7,12-Dimethylbenzanthracene (DMBA) on Spermatogenesis and Testicular Histopathology in Rats

Abstract: This study aimed to investigate the effects of both sodium fluoride (NaF) and polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) derivative such as 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) singly and in combination on spermatogenesis and testis histopathology in rats. Forty male Wistar albino rats weighing 250–300 g used. On the 90th day of the experiment, intracardiac blood samples and testes were taken. While there was no change in FSH and LH levels in the groups, testosterone levels were significantly decreased in the other groups according to the control group ($P < 0.001$). It was decreased the ratio of motility of sperm, sperm density and, increased the abnormal sperm rate by chronic fluorosis and DMBA toxicity in rats significantly. In histopathological examinations; A decrease in the number of spermatocytes and spermatozoa in the tubulus wall of the testes of rats in the NaF (30 ppm) group was observed. When testicular tissues of rats in the DMBA (10 mg / kg) group were examined, atrophy in tubulus, edema in intertubular spaces and a decrease in the number of spermatocytes in the tubulus wall were found. When testes tissues of rats in the group of NaF (30 ppm) + DMBA (10 mg / kg) were examined, atrophy in seminiferous tubules, severe degenerative and necrotic changes in spermatogoniums on the walls of tubules and thinning in tubule walls were observed. There is not found spermatozoon in the tubul lumens. Severe edema in the intertubular spaces, dilatation and hyperemia in the veins found in these regions. As a result, it was observed that NaF and DMBA had a negative effect on testicular tissue and fertility singly, and in combination, this effect was further exacerbated.

Keywords: Chronic Fluorosis, 7,12-dimethylbenzanthracene (DMBA), Rat, Spermatogenesis, Testis.

✉Serkan YILDIRIM

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
e-posta: syildirim@atauni.edu.tr

GİRİŞ

Yüksek florür konsantrasyonları çevreye zararsız olmasına rağmen canlılar tarafından akut ve kronik bir biçimde alınması insan ve hayvan sağlığını olumsuz etkileyebilmektedir (1-4). Kronik florozis hayvansal üretimde büyük ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Yüksek miktarda flor alımı, iskelet, dişler ve yumuşak dokular üzerinde mineralizasyon sürecine etki eder ve genellikle geri döndürülemez olan kusurlar oluşturmaktadır (5,6). Volkanik bölgeler genelde flor açısından zengindir ve bu nedenle bu bölgelerde kronik florozis sıklıkla görülür (5,7-9).

Günümüzde endüstriyel gelişmeye bağlı olarak çevresel sorunlar da artmaktadır. Endüstriyel kirleticiler, havada, suda, toprakta ve yiyeceklerde birikmesi sonucunda çevre ve canlı sağlığını tehdit etmektedir. En önemli çevre kirleticilerden birisi de polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) dır. PAH lar; içten yanmalı motorlarda fosil yakıtlarının eksik yanmasıyla birlikte, kola üretimi, konut ısıtması, orman yangınları ve yanardağlar gibi doğal olaylarla meydana gelebilmektedirler (10,11). PAH'lar oluşup atmosfere girdikten sonra, yağmur suyu ile tekrar yeryüzüne aktarılmaktadırlar. PAH'ların yüksek Avrupa dağlarında ve dünyanın pek çok bölgesinde biriktiği bildirilmektedir (12,13). Bu nedenle, atmosferik ulaşım ve PAH depolaması ekosistemde yaygın bir şekilde görülmektedir. PAH'lar ve PAH'ların 7,12-dimetilbenz [a] antrasen (DMBA) gibi türevleri, insanlar ve hayvanlar da toksik ve kanserojenik olarak tanımlanan ilk atmosferik kirleticilerden birisidir (10,12).

Volkanik patlamalar, atmosferde oluşan PAH'lara önemli miktarda katkıda bulunmaktadır. Volkanik bölgelerde yaşayan canlılar, doğal olarak oluşan florokarbonlara ve insan yapımı toksik PAH türevlerine doğrudan ve dolaylı bir şekilde maruz kalmaktadırlar (11-13).

Yapılan literatür taramalarında florokarbon ve PAH türevlerine birlikte maruz kalan sıçanlarda spermatogenesis ve testisin histopatolojisi üzerine etkilerini inceleyen herhangi bir araştırmaya

rastlanılamamıştır. Bu nedenle, bu araştırmada, sıçanlarda florür ve PAH türevi 7,12-dimetilbenz [a] antrasen (DMBA)'in spermatogenesis ve testisin histopatolojisi üzerine tek tek ve kombinasyon halinde etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada, 250-300 g ağırlığındaki 40 adet erkek Wistar albino sıçan kullanıldı. Hayvanlar rastgele, bir kontrol ve üç deney grubu olmak üzere dört gruba ayrıldı ($n=10$). Sıçanlar, bağımsız olarak ayarlanabilen ışık-karanlık döngüsü (12 saat aydınlık /12 saat karanlık döngüsü) ve sıcaklık düzenleme sistemleri ile sağlanan iyi havalandırılmış ve klimalı bir bölgede barındırıldı. Sıcaklık 22 ± 2 °C'de muhafaza edildi ve nem %45-70'de tutuldu. Odalar ve hayvan kafesleri her gün temizlendi ve hayvanlara günlük olarak taze yiyecek ve su verildi.

Gruplar aşağıdaki şekilde oluşturuldu: 1. grup sıçanlar kontrol olarak alındı. 2. grup sıçanlara 90 gün süreyle içme suyunda sodyum florid (NaF) 30 ppm florür olarak verildi (14). 3. grup sıçanlara 90 gün boyunca DMBA (10 mg/kg/po/haftalık) şeklinde uygulandı (Ozdemir ve ark., 2017). 4. Gruba ise 30 ppm NaF ve DMBA (10 mg/kg/po/haftalık) 90 gün süreyle uygulandı. Deneyin 90. gününde hayvanlar tiyopental sodyum (20 mg/kg) ile anestezi altına alındıktan sonra intrakardiyak kan örnekleri alındı ve servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. Sperm muayeneleri ve histopatolojik incelemeler için testis doku örnekleri alındı.

Serum örneklerinde lüteinizan (LH) ve folikül sitümile edici hormon kit prospektüsüne uygun olarak (FSH) Abbott ARCHITECT C 16200 modüler rutin cihazında kemilüminesans mikropartikül immünolojik metod ile ölçüldü. Elde edilen sonuçlar IU/mL olarak ifade edildi. Testosteron ise kit prospektüsüne uygun olarak Abbott ARCHITECT İ 4000 SR rutin analizöründe aynı yöntem ile ölçüldü. Elde edilen sonuçlar mmol/L olarak ifade edildi.

Sperm yoğunluğu ve motilitesi Sonmez ve ark. (16) tarafından tarif edilmiş olan modifiye metod kullanılarak saptandı. Morfolojik olarak anormal sperm hücrelerini değerlendirmek için, Turk ve ark. (17) nın bildirdiği metod kullanıldı.

Yapılan nekropsi sonucu histopatolojik değerlendirme amacıyla alınan testis dokuları %10'luk formalin solüsyonunda 48 saat süreyle tespit edildikten sonra, akan çeşme suyunda 10 saat yıkandı. Rutin doku takibinde alkol ve ksilol serilerinden geçirildikten sonra parafinde bloklara gömüldü. Her bloktan 4 µm kalınlığında kesitler alınıp lam üzerinde preparatlar hazırlandı. Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar hematoksilin-eozin (HE) ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi (Leica DM 1000, Germany) (18). Histopatolojik bulgulara göre negatif (-), hafif (+), orta (++) veya şiddetli (+++) olarak derecelendirildi.

Deney protokolü, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu (İzin Numarası: 2015 / 06-01) tarafından onaylandı.

Tablo 1. Kronik olarak flor ve 7,12-dimetilbenzantrasene (dmba) maruz kalmanın ratlarda FSH, LH ve testosteron düzeylerine etkileri.

Table 1. Effects of exposure of chronically flor and 7,12-dimethylbenzanthracene (dmba) on FSH, LH and testosterone levels in rats.

Gruplar (n=10)	FSH (IU/mL)	LH (IU/mL)	Total Testosteron (mmol/mL)
Kontrol	0.4330±0.0081	0.0033±0.0052	10.76±0.87 ^a
NaF (30 ppm)	0.4167±0.0075	0.0066±0.0082	6.81±1.17 ^b
DMBA (10 mg/kg)	0.4333±0.0052	0.0005±0.0005	5.88±0.91 ^b
NaF (30 ppm)+ DMBA (10 mg/kg)	0.4500±0.0054	0.0007±0.0005	5.54±0.093 ^b
P	Ns	Ns	0.001

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasında fark anlamlıdır, ^{a,b} P<0.001.

Kronik flor ve DMBA toksikasyonu ratlarda sperm motilitesi ve yoğunluğunu önemli ölçüde

İstatistiksel Analiz

Elde edilen parametrelerinin istatistiksel analizi ortalama ± standart sapma (X ± SD) olarak sunuldu. İstatistiksel analiz için SPSS 20 sürümü kullanıldı. ANOVA ve DUNCAN testleri karşılaştırıldı. Histopatolojik incelemede semikantitatif olarak elde edilen verilerin gruplar arasındaki farklılıkların analizi için nonparametrik testlerden Kruskal-Wallis testi, ikili grupların karşılaştırılması için Mann Whitney U testi kullanıldı. Bu istatistik analizleri için SPSS 13.0 paket programı kullanıldı.

BULGULAR

Bu çalışmada, spermatogeneziste etkili hormonlardan FSH, LH ve testosteronun kanda ki seviyeleri, sperm motilitesi, yoğunluğu ve morfolojisi Tablo 1, 2, 3 ve 4' te testisin histopatolojik yapısı ise Şekil 1' de verilmiştir. Hormonlardan testosteron miktarları kontrol grubuna göre diğer gruplarda önemli ölçüde düşük bulundu (P<0.001). FSH ve LH düzeylerinde ise istatistiki bağlamda her hangi bir fark saptanamamıştır (Tablo 1).

düşmesine yol açtığı görülmektedir (Tablo 2). Bu düşüş istatistiki bağlamda anlamlıdır (P<0.001).

Tablo 2. Kronik olarak flor ve 7,12-dimetilbenzantrasene (DMBA) maruz kalmanın ratlarda sperm motilitesi ve yoğunluğu üzerine etkileri.

Table 2. Effects of exposure of chronically flor and 7,12-dimethylbenzantrasene (DMBA) on sperm motility and intensity in rats.

Gruplar (n=10)	Motilite Oranı (%)	Yoğunluk ($\times 10^6$)
Kontrol	75.25 \pm 0.45 ^a	61.50 \pm 1.23 ^a
NaF (30 ppm)	52.75 \pm 0.79 ^b	59.50 \pm 1.01 ^b
DMBA (10 mg/kg)	51.87 \pm 2.58 ^b	49.62 \pm 1.18 ^c
NaF (30 ppm)+ DMBA (10 mg/kg)	37.50 \pm 2.67 ^c	44 \pm 1.51 ^d

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasında fark anlamlıdır, ^{a,b}:^{b,c}:^{c,d}: P<0.001, ^{a,c}:^{b,d}: P<0.0001.

Kronik flor ve DMBA toksikasyonundan sperm morfolojisi önemli düzeyde ve negatif yönde etkilenmektedir. Sperma hücrelerinin baş ve kuyruk bölgelerinde bozulmalar artmakta, anormal sperm oranı yükselmektedir (Tablo 3). Kontrol grubunda ki anormal sperm oranı toplamda % 8.25 \pm 0.25 iken, bu

oran, NaF (30 ppm) lı grupta % 20.87 \pm 0.44; DMBA (10 mg/kg) lı grupta %20.98 \pm 1.24 ve NaF (30 ppm) + DMBA (10 mg/kg) lı grupta %36 \pm 2.50 düzeyine çıkmaktadır. Bu yükseliş istatistiki anlamda büyük önemlilik arz etmektedir.

Tablo 3. Kronik olarak flor ve 7,12-dimetilbenzantrasene (DMBA) maruz kalmanın ratlarda sperm morfolojisi (anormal sperm) üzerine etkileri.

Table 3. Effects of chronically exposed floride and 7,12-dimethylbenzantracene (DMBA) on sperm morphology (abnormal sperm) in rats.

Gruplar (n=10)	Anormal Sperm Oranı (%)		
	Baş	Kuyruk	Toplam
Kontrol	3.37 \pm 0.37 ^a	5.25 \pm 0.45 ^a	8.25 \pm 0.25 ^a
NaF (30 ppm)	8.62 \pm 0.46 ^b	12.25 \pm 0.64 ^b	20.87 \pm 0.44 ^b
DMBA (10 mg/kg)	8.84 \pm 1.30 ^b	12.50 \pm 1.41 ^b	20.98 \pm 1.24 ^b
NaF (30 ppm)+ DMBA (10 mg/kg)	17.62 \pm 1.92 ^c	18.37 \pm 1.50 ^c	36 \pm 2.50 ^c

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasında fark anlamlıdır, ^{a,b}:^{b,c}: P<0.001, ^{a,c}: P<0.0001.

Histopatolojik incelemelerde; Kontrol grubunda testislerin normal histolojik yapıda olduğu tespit edildi (Şekil 1-A). NaF (30 ppm) grubunda bulunan ratların testislerinin tubulus duvarında spermatosit ve spermatozoa sayısında azalma görüldü (Şekil 1-B). DMBA (10 mg/kg) grubunda bulunan ratların testis dokuları incelendiğinde ise, tubuluslarda atrofi, intertubuler aralıklarda ödem ve tubulus duvarında bulunan spermatosit sayısında şidetli azalma tespit edildi (Şekil 1-C). NaF (30 ppm) + DMBA (10 mg/kg)

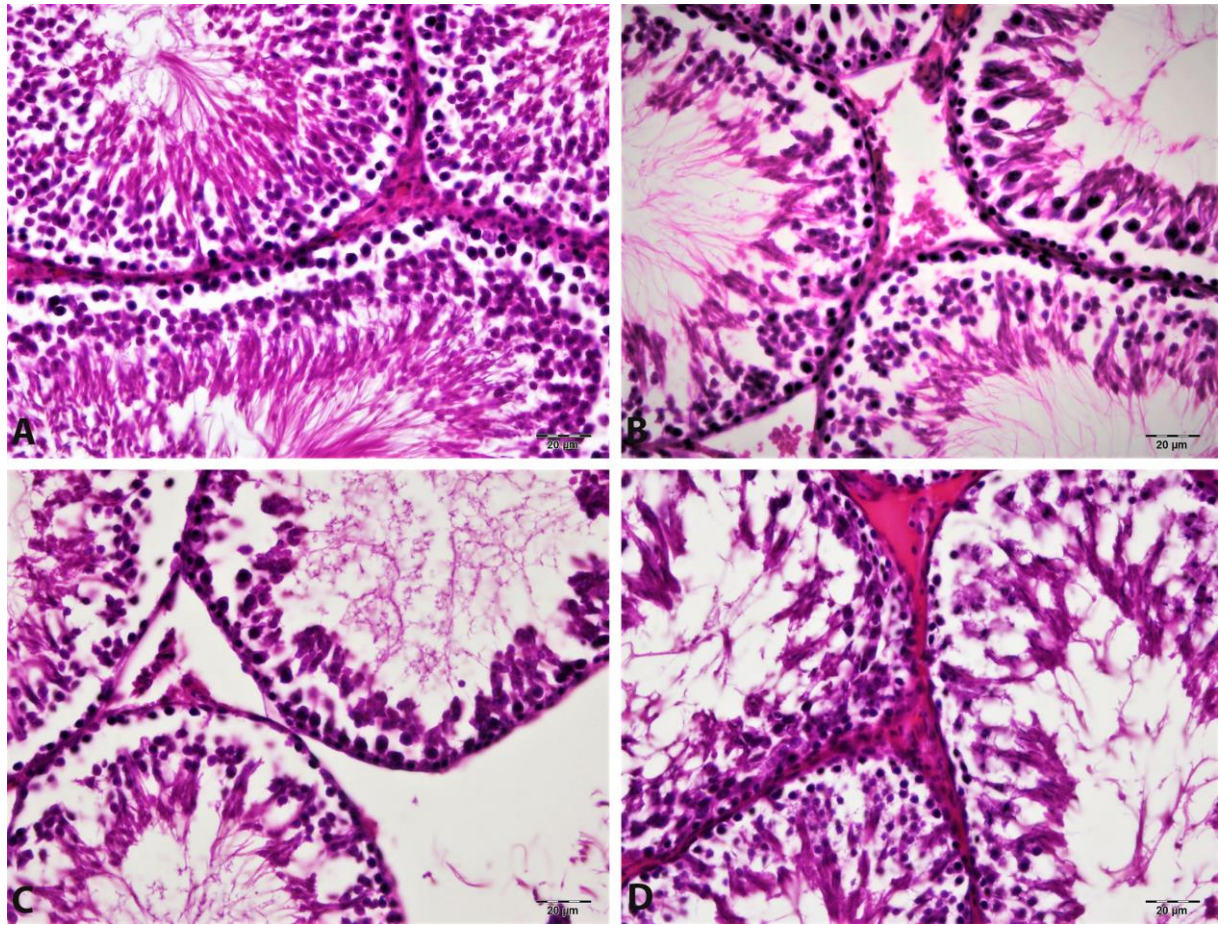
grubunda ki ratların testis dokuları incelendiğinde ise, seminifer tubullerde atrofi, tubullerin duvarında spermatogoniumlarda şidetli dejeneratif ve nekrotik değişiklikler ve buna bağlı olarakta tubul duvarlarında incelmeye saptandı. Tubul lümeninde aktif spermatozoona rastlanmadı. İntertubuler aralıklarda şidetli ödem, bu bölgelerde bulunan damarlarda dilatasyon ve hiperemi saptandı (Şekil 1-D). Histopatolojik bulgular Tablo 4' te özetlendi.

Tablo 4: Kronik olarak flor ve 7,12-dimetilbenzantrasene (DMBA) maruz kalmanın ratlarda testis dokusu histopatolojisine etkileri.

Table 4: Effects of exposure to chronically fluoride and 7,12-dimethylbenzantrasene (DMBA) on testicular tissue histopathology in rats.

Gruplar	Kontrol	NaF 30 ppm	DMBA	NaF 30 ppm + DMBA	P Değeri
Tubuluslarda atrofi	-	+	+	+++	<0.05
Tubul duvarında incelme	-	++	++	+++	<0.05
İntertubuler aralıklarda ödem	-	+	+	+++	<0.05
Tubul lümenlerinde spermatozoon sayısı	+++	++	+	-	<0.05

P< 0.05 Kruskal-Wallis test sonuçlarına göre gruplar arasında fark önemlidir.



Şekil 1. A; Kontrol grubu: Testis dokusu, normal histolojik yapıda, B; NaF grubu, Tubulus duvarında incelme intertubuler aralıkta bulunan damarlarda hiperemi, C; DMBA grubu, Tubuluslarda atrofi intertubuler aralıklarda hafif ödem, tubulus duvarında spermatozoon sayısında azalma, D; NaF+DMBA grubu, İntertubuler aralıklarda şiddetli ödem, tubul duvarında spermatozoonlarda şiddetli dejeneratif, nekrotik değişiklikler, H&E, Bar:20µm.

Figure 1. Control group: Testicular tissue, in normal histological structure, B; NaF group, thinning in the tubulus wall, hyperemia in veins in the intertubular space, C; DMBA group, mild edema in atrophy intertubular interval in tubulus, decrease in number of spermatozoon in tubulus wall, D; NaF + DMBA group, Severe edema in intertubular spaces, Severe degenerative, necrotic changes in spermatozoon in the tubule wall, H & E, Bar: 20µm.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Son yıllarda, araştırmacılar, florürün sadece kemiklerde ve dişlerde değil, yumuşak dokularda, özellikle kardiyovasküler sistemde biriktiğini fark etmişlerdir. Florür hücre zarını hızla geçebilir ve diş, kemik, miyokard, karaciğer, deri ve eritrositlere dağılır. Yüksek florür konsantrasyonları sağlığa zararlıdır (1,4,6,7,9). Volkanik bölgeler florid ve PAH'lar açısından zengindir. Bu bölgelerde yaşayan canlılar bir yanda flor toksikasyonuna, diğer yandan da PAH toksisitesine maruz kalabilirler (10,19,20).

Organik bileşiklerin eksik yanmasından kaynaklanan PAH'lar, toksik ve kanserojenik etkilere sahip organik olarak yapılandırılmış bileşiklerdir. PAH'lar vücuda hava, su, yiyecek ve dumanla alınır ve DNA'da mutasyona neden olurlar. Doğada 100'den fazla PAH bileşiği bulunmaktadır. Bunların 16'sının kanserojenik ve toksik etkileri çok yüksektir (10-13).

İrk, yaş, kas aktiviteleri, bölge, mevsim, çevre ısısı, bakım ve beslenme gibi faktörler spermatogenezise etki etmektedir. Yapılan literatür taramalarında florürün döl verimi üzerine etkilerini inceleyen bazı çalışmalara (21,22,23,24) rastlanılmasına rağmen sıçan testisinde spermatogenezis ve histopatolojik bulgulara ait bilgilerin tartışmalı ve yeterince açık olmadığı görülmektedir. Narayana ve Chiony (24) yaptıkları çalışmalarında NaF' ın ratlarda testosteron düzeyini azalttığını, kolesterol düzeyine ise her hangi bir etkisinin olmadığını ifade etmektedirler. Bu araştırmacıların bildirdiği araştırma bulgularımızla benzerlik göstermektedir (24). Yapılan bu çalışmada, gruplardan elde edilen değerlerden FSH ve LH düzeylerinde her hangi bir değişiklik gözükmezken testosteron miktarları Kontrol grubuna göre diğer gruplarda önemli ölçüde düştüğü belirlendi. Kronik flor ve DMBA toksikasyonu ratlarda sperm motilitesi, yoğunluğu ve morfolojisi üzerine olumsuz etki ettiği görüldü. Motilite oranını, yoğunluğunu önemli ölçüde düşürmekte ve anormal sperm oranı ise yükseldiği saptandı. Testosteron düzeyindeki bu düşüş, sperm motilitesi ve yoğunluğunda ki azalış ile anormal sperm oranındaki artış tubuluslar ve leyding

hücrelerindeki hasardan kaynaklanmış olabilir. Histopatolojik bulgularda testiste şiddetli düzeyde tahribatın olduğu izlenmiştir.

Drozdz ve ark (25) ratlara 90 gün boyunca oral olarak 0, 1, 10, ve 100 ppm NaF vererek yaptıkları araştırmalarında 10 ve 100 ppm dozlarının sperm kapasitasyonunda olumsuz etki ettiğini ve infertilitede önemli rol oynadığını bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada ise 30 ppm NaF içme sularına katılarak 4 ay boyunca verildiğinde, spermatogenezisin önemli ölçüde etkilendiği, seminifer tubul duvarında şiddetli dejeneratif değişikliklerin olduğu bildirilmiştir (25). Wang ve ark. (27) yaptıkları çalışmada da, günlük 30 ppm NaF 90 gün boyunca tüketiminin testiküler hücrelerde apoptozise ve sperm motilitesinde azalmaya sebep olarak reproduktif fonksiyonlarda azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Yapılan bu araştırmada ise NaF grubunda bulunan ratların sperm motilitesinin azaldığı, ayrıca DMBA ile birlikte verilen grupta ise daha da azaldığı tesbit edildi. NaF grubunda testisin histopatolojisi incelendiğinde, spermatosit ve spermatozoon sayısında çok önemli miktarda azalma tesbit edilirken NaF + DMBA verilen grupta seminifer tubullerde atrofi, tubullerin duvarında spermatositlerde şiddetli dejeneratif ve nekrotik değişiklikten dolayı tubul duvarları şiddetli bir şekilde incelendiği ve İntertubuler aralıklarda şiddetli ödem görüldü. Bu bulgular daha önce yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir (25-27).

Sonuç olarak, NaF ve DMBA toksikasyonlarına hem ayrı ayrı ve hemde birlikte maruz kalınması testis dokusunda hasar oluşturduğu ve testosteron düzeylerini baskıladığı saptanmıştır. Ayrıca bu durumun infertiliteye yol açacağı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Choubisa SL., 1999. Some observations on endemic fluorosis in domestic animals in Southern Rajasthan (India). Vet Res Com, 23, 457-465.
2. Donmez N., Cinar DA., 2003. Effects of chronic

- fluorosis on electrocardiogram in sheep. *Biol Trace Elem Res*, 92, 115-122.
3. Mert H., Comba B., Mert N., Çınar DA., Apaydın Yıldırım B., 2016. Advanced oxidation protein products AOPP levels and kidney function in fluorotic sheep. *Fluoride*, 49, 336-342.
 4. Yıldırım S., Oto G., Comba B., Ekin S., Cinar DA., 2017. The investigation of protective effects of resveratrol on biochemical and histopathological parameters in induced experimentally chronic fluorosis in rats. *Fluoroide*, 50(2 Pt 2): (in press).
 5. Suska M., 2002. Energy metabolism of erythrocytes in lambs chronically exposed to fluorine compounds. *Acta Vet Brno*, 71, 313-317.
 6. Kilicalp D., Cinar A., Belge F., 2004. Effects of chronic fluorosis on electrocardiogram in dogs. *Fluoride*, 37, 96-101.
 7. Cinar DA., Selcuk M., 2005. Effects of chronic fluorosis on thyroxine, triiodothyronine, and protein-bound iodine in cows. *Fluoride*, 38, 65-68.
 8. Comba B., Cinar DA., 2016. Investigation of effects of fluorosis on some minerals and hormones in sheep. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 63, 223-227.
 9. Yıldırım S., Ekin S., Huyut Z., Oto G., Comba A., Uyar H., Sengul E., Cinar DA., 2017. Effect of chronic exposure to sodium fluoride and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene on some blood parameters and histopathological findings in rats. *Fluoroide*, 50(3 Pt 2): (in press).
 10. Baek SO., Field RA., Goldstone ME., Kirk PW., Lester JN., Perry R., 1991. A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: sources, fate and behavior. *Water Air Soil Pollut*, 60, 279-300.
 11. Dickhut RM., Gustafson KE., 1995. Atmospheric washout of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Southern Chesapeake Bay region. *Environ Sci Technol*, 29, 1518-1525.
 12. Hillery BR., Simcik MF., Basu I., Hoff RM., Strachan WMJ., Burniston D., Chan CH., Brice KA., Sweet CW., Hites RA., 1998. Atmospheric deposition of toxic pollutants to the Great Lakes as measured by the integrated atmospheric deposition network. *Environ Sci Technol*, 32, 2216-2221.
 13. Carrera G., Fernandez P., Vilanova RM., Grimalt JO., 2001. Persistent organic pollutants in snow from European high mountain areas. *Atmos Environ*, 35, 245-254.
 14. Ersan Y., Koç E., Ari İ., Karademir B., 2010. Histopathological effects of chronic fluorosis on the liver of mice (Swiss albino). *Turk J Med Sci*, 40, 619-622.
 15. Ozdemir H., Oto G., Ekin S., Yener Z., Yıldırım S., 2017. The protective effects of *Lepidium sativum* L. In 7,12-dimethylbenz(a) anthracene applied rats. *Fresen Environ Bull*, 26, 2446-2453.
 16. Sonmez M., Turk G., Yuce A., 2005. The effect of ascorbic acid supplementation on sperm quality, lipid peroxidation and testosterone levels of male Wistar rats. *Theriogenology*, 63, 2063-2072.
 17. Turk G., Atessahin A., Sonmez M., Ceribas AO., Yuce A., 2008. Improvement of cisplatin-induced injuries to sperm quality, the oxidant-antioxidant system, and the histologic structure of the rat testis by ellagic acid. *Fertil Steril*, 89, 1474-1481.
 18. Çakmak G., Karadağ H., Ragbetli MC., Yıldırım S., Yilmaz O., 2018. A morphometric and stereological study on cervical spinal cord segment of goose. *Anat Histol Embryol*, 47, 346-357.
 19. Dobaradaran S., Fazelinia F., Mahvi AH., Hosseini SS., 2009. Particulate airborne fluoride from an aluminium production plant in Arak, Iran. *Fluoride*, 42, 228-232.
 20. Choi AL., Sun G., Zhang T., Grandjean P., 2012. Developmental fluoride neurotoxicity: a systemic review and meta-analysis. *Environ Health Perspect*, 120, 1362-1368.
 21. Vogel E., 1973. Strong antimutagenic effect of fluoride on mutation induction by trenimon and 1-phenyl-3-dimethyltriazene in *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res*, 20, 339-352.
 22. Tokar VI., Savchenko ON., 1977. The influence of inorganic fluorine compounds on functional

- condition of the hypophysis-tetis system. *J Endocrinol*, 23, 104-107.
23. Li Y., Dunipace AJ., Stookey GK., 1987. Effect of fluoride on the mouse sperm morphology test. *J Dent Res*, 66, 1509-1511.
24. Narayana MV., Chinoy NJ., 1994. Effect of fluoride on rat testicular steroidogenesis. *Fluoride*, 27, 7-12.
25. Drozd M., Kucharz E., Grucka-Mamczar E., 1980. Effect of sodium fluoride on colla-gen content in skin and lungs of growing rats. *Acta Biol Med Ger*, 39, 287-293.
26. Oncu M., Kocak A., Karaoz E., Darici H., Savik E., Gultekin F., 2007. Effect of long-term fluoride exposure on lipid peroxidation and histology of testes in first andsecond generation rats. *Biol Trace Elem Res*, 118, 260-268.
27. Wang JL., Zhang YM., Zhang HJ., Zhang K., Zhang ZW., Li J., 2009. Toxic effectsof fluoride on reproductive ability in male rats, sperm motility, oxidative stress, cell cycle, and testicular apoptosis. *Fluoride*, 42, 174-178.



Kültür Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W.)'nda Bazı Kok Türlerinin Neden Olduğu Enfeksiyonların Tespiti Üzerine Bir Çalışma*

Jale KORUN¹✉, Gülşen TİMUR², Remziye Eda YARDIMCI², Beytullah Ahmet BALCI¹

1. Akdeniz Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Antalya, TÜRKİYE.
2. İstanbul Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, İstanbul, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
23.05.2017	15.12.2017	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Korun J, Timur G, Yardımcı RE, Balcı BA: Kültür Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W.)'nda Bazı Kok Türlerinin Neden Olduğu Enfeksiyonların Tespiti Üzerine Bir Çalışma. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 149-158, 2018.
DOI: 10.17094/ataunivbd.315542

Öz: Bu çalışmanın amacı; *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus agalactiae* (sinonim *S. difficilis*) ve *S. iniae*'nin Türkiye'nin Akdeniz bölgesindeki farklı gökkuşluğu alabalığı işletmelerinde gözlenen hastalık çıkışlarından sorumlu etkenler olup olmadıklarını araştırmaktır. Saha çalışmaları 2012 yılının Nisan ayında başlanmış ve Eylül ayında tamamlanmıştır. İzole edilen 55 suşu tanımlamak için fenotipik testler, API 20 strep ve PZR tekniği kullanılmıştır. Hasta balık örneklerinde deri renginin koyulaşması, kornea opaklaşması, ekzoftalmus, inoküler kanama, solgun solungaçlar ve yüzgeçlerin tabanında kanamalar gözlenmiştir. Histopatolojik olarak böbrek glomerulus ve tübüllerinde nekroz, hiperplazi ve füzyondan dolayı solungaç yapısının değişmesi, böbrekte MMC'lerinde ağır birikimlerin bulunması, karaciğer hücrelerinde nekrotik dejenerasyonlar, dalak hücrelerinde ve midenin mukoza epitelyumunda boşalmalar tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, hasta gökkuşluğu alabalıklarından *Lactococcus garvieae* izole edilirken, *Streptococcus agalactiae* ve *S. iniae* izole edilmemiştir. Bu sonuç ile, *L. garvieae*'nin bölgede örneklemeye çalışması yapılan alabalık işletmelerinde görülen hastalık çıkışlarından sorumlu başlıca etken olduğu anlaşılmıştır. Çalışmada izolatların en az iki antimikrobiyal ajana dirençli oldukları bulunmuştur. Bu durum işletme koşullarında kullanılan antimikrobiyal ajanlara karşı bakteride artan direnç ile açıklanabilir. Antibiyogram duyarlılık testi sonuçları hastalığa karşı mevcut aşı geliştirme çalışmalarının artırılması gerektiğini çünkü bakteride direnç gelişimi artmakla birlikte, bu direnç gelişiminin ortamda bulunan diğer bakteri türlerine de aktarabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Oncorhynchus mykiss*, *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus iniae*.

A Study on Detecting Infections Caused by Some Coccal Species on the Cultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.)

Abstract: The aim of this study was to investigate whether *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus agalactiae* (synonym *S. difficilis*) and *Streptococcus iniae* were causative agents of disease outbreaks observed in different rainbow trout fish farms in the Mediterranean region of Turkey. The field studies were started in April of 2012 and completed in September. Phenotypic tests, the API 20 strep and PCR technique were used to identify the isolated 55 strains. Darkening of the skin colour, clouding of cornea, exophthalmus, intraocular hemorrhagy, pale gills and haemorrhages at the base of fins were observed in the diseased fish samples. Histopathologically, necrosis on the kidney glomeruli and tubules, change of gill structure due to hyperplasia and fusion, presence of heavy depositions in the MMCs in the kidney, necrotic degenerations in the hepatocytes, depletions of splenocytes and mucosa epithelium of the stomach were determined. According to the results of the study, *Lactococcus garvieae* was isolated from sick fish while *Streptococcus agalactiae* and *S. iniae* were not isolated. With this result, it was understood that *L. garvieae* was the main responsible agent for disease outbreaks in the trout farms that were sampled in the region. In the study, it was found that the isolates were resistant to at least two antimicrobial agents. This state can be explained by the increased resistance of bacteria against antimicrobial agents used in the farm conditions. The results of antibiogram susceptibility testing suggest that current vaccine development studies against disease should be increased because the development of resistance of bacteria increases, preoccupying that this resistance development may also be transmitted to other bacterial species in the environment.

Keywords: *Oncorhynchus mykiss*, *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus iniae*.

✉ Jale KORUN

Akdeniz Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Antalya, TÜRKİYE.
e-posta: jalekorun@akdeniz.edu.tr

*Bu çalışma, Jale KORUN'un Akdeniz Üniversitesi BAP tarafından 201101.0111.001 proje kodu ile desteklenen, 'Kültürü Yapılan Gökkuşluğu Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, W.) Bazı Streptokok Türlerinin Neden Olduğu Enfeksiyonların Tespiti Üzerine Bir Çalışma' başlıklı Araştırma Projesinin bir kısmından özetlenmiştir.

GİRİŞ

B alıklarda gözlenen hastalık gelişimi; hassas konak, virulent mikroorganizma ve çevresel faktörlerin karşılıklı etkileşimini içeren karmaşık bir süreç (1) olup işletme koşullarında bulaşıcı hastalıklar su ürünleri üretimi üzerinde sınırlayıcı bir etkiye sahiptir. Bu hastalıklar arasında yer alan bakteriyel enfeksiyonlar, ülkemizde dahil olmak üzere dünyanın çeşitli bölgelerinde yetiştiriciliği yapılan kültür balıklarında görülmüştür (2-4). Streptokokkozis ve/veya Laktokokkozis tüm dünyada gökkuşığı alabalığı, tavşan balığı, Asya levreği, çipura ve doğal kefal dahil çeşitli balık türlerini etkileyen yaygın bir hastalık olup ilk streptokok enfeksiyonu 1958 yılında Japonya da kültür gökkuşığı alabalığında gözlenmiştir (5-7). Hastalığın etkenleri olarak çok sayıda bakteri türünün bildirilmesine karşın en yaygın olarak *Streptococcus iniae*, *S. agalactiae* (sinonim *S. diffcilis*), *S. dysgalactiae*, *S. parauberis* ve *Lactococcus garvieae* türlerinin izole edildiği bildirilmiştir (6,7). Streptokokkozis ve/veya Laktokokkozis hemorajik septisemi ile karakterize olup hastalıkta gözlenen klinik bulgular olarak iki taraflı ekzoftalmi, gözlerde kanama ve opaklaşma, deri renginde koyulaşma ile vücudun yan kısımlarında ve yüzgeç tabanlarında peteşiyal kanamaların varlığı rapor edilmiştir (7). Hasta balıklarda dalak, kalp, böbrek, beyin ve bağırsak başlıca etkilenen organlar olduğu bildirilmiştir (8). Ülkemizde *L. garvieae*'nin ilk izolasyonu Diler ve ark. (9) tarafından 2002 yılında gökkuşığı alabalığından bildirilmiştir. O tarihten günümüze kadar, etken Türkiye'nin farklı bölgelerinde kültürü yapılan gökkuşığı alabalığı, kalkan ve levrek balıklarından da rapor edilmiştir (10). Bu çalışma ile Muğla ve Antalya civarındaki farklı alabalık işletmelerindeki hastalık çıkışlarından *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus agalactiae* (sin. *S. diffcilis*) ve *S. iniae* türlerinin

sorumlu olup olmadıklarının araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışma Antalya iline kayıtlı iki, Muğla çevresinde dört olmak üzere toplam altı farklı alabalık işletmesinde gerçekleştirildi. Örnekleme çalışmalarına su sıcaklığının 18 °C olduğu Nisan ayında başlanılıp su sıcaklığının 25 °C olduğu Eylül ayında tamamlandı. Çalışma süresince vücut ağırlıkları 100 g'dan 295 g'a kadar değişen toplam 145 hasta balık kullanılmıştır.

Parazitolojik ve Bakteriyolojik İnceleme

Bakteriyolojik çalışma öncesi balıklar ekto ve/veya endoparazit yönünden incelenmiştir. Daha sonra, hasta balıkların karaciğer, dalak ve ön böbreğinden Brain Heart Infusion Agar (BHIA)'a ekimler yapılarak 48 saat süre ile 24±2°C de inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda gelişme gösteren bakteri kolonilerinden altkültürler yapılmıştır. Suşların fenotipik özelliklerini belirlemek amacı ile Gram boyama, hareket, sitokrom oksidaz ve katalaz ile %5 koyun kanı içeren Nutrient Agar da (NA) hemoliz testleri de dahil olmak üzere bir dizi standart biyokimyasal testler uygulanmıştır (4,11). Bakteri suşlarının hızlı tanımlanmasında API web referans tanı sistemi de uygulanmıştır. Çalışmada pozitif kontrol olarak *Streptococcus agalactiae* (ATCC 12401-20), *S. pyogenes* (ATCC 19615) ve *Lactococcus garvieae* (ATCC 43921), negatif kontrol olarak ise *Aeromonas hydrophila* (ATCC 1950) çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmanın yapılabilmesi için Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'nun onayı alınmıştır. Sayı: 2011.10.01.

Antimikrobiyal Duyarlılığını Belirleme

Hasta balıklardan izole edilen 55 suşun antimikrobiyal hassasiyet durumları Mueller-Hinton agar (MHA) da disk difüzyon yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir (12). Çalışmada sırasıyla şu

antimikrobiyaller kullanılmıştır: ampisilin (AMP, 10 µg), basitrasin (BCD, 0.04 µg), eritromisin (E15, 15 µg), flumekuini (UB30, 30 µg), furazolidon (FR15, 15 µg), kanamisin (K30, 30 µg), oksitetrasiklin (OT30, 30 µg), streptomisin (S10, 10 µg) ve trimetoprim (W5, 5 µg).

DNA Ekstraksiyonu ve Moleküler Tanımlama

Bakteriyel izolatların konfirmasyonu polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) tekniği kullanılarak yapılmıştır. Bu amaçla, ticari olarak satın alınan Ready-To-Go™ PCR Beads kiti (0.5 ml tüpler içerisinde boncuk şeklinde liyofilize buffer, nükleotid ve Taq DNA polimeraz içeren 100 reaksiyonluk) kullanılmıştır. Liyofilize boncuklar son konsantrasyonu 25 µl olacak şekilde hesaplanarak 22 µl distile suda çözündürülerek, üzerine ileri ve geri primer çiftinden 2 µl ve 1 µl DNA örneği eklenmiştir. *L. garvieae*'nin tanımlanması için türe özgü 1100 bp uzunluğunda bant oluşturan primer çifti PLG-1 (5'-CATAACAATGAGAATCGC-3') ve PLG-2 (5'-GCACCCTCGCGGGTTG-3') kullanılmıştır (13). Zlotkin ve ark. (13)'nin uyguladığı yöntemde minör değişiklikler yapmış olan Ravelo ve ark. (14)'nin uyguladığı döngüler kullanılarak, ilk denatürasyon 94 °C de 3 dk, diğerleri 94 °C de 1 dk, primer bağlanması 56 °C de 1 dk ve uzama (polimerizasyon) 72 °C de 1.5 dk, son uzamada ise 72 °C de 10 dk olacak şekilde toplam 35 döngü gerçekleştirilmiştir. PZR yöntemi ile *Streptococcus agalactiae*'in tanımlanması için Mata ve ark. (7)'nin tanımladığı 192 bp'lik Sdi61 (5'-AGGAAACCTGCCATTTGCG-3') ve Sdi252 (5'-CAATCTATTTCTTA-3') spesifik primer çiftleri ve uyguladığı döngüler, *S. iniae*'nin tanımlanması içinse Pourgholam ve ark. (15)'nin tanımladığı 554 bp'lik ileri ve geri primer çiftleri F (5'-CTCTGTCCCGAAGCAAATC-3') ve R (5'-AACTAACGAAAGGGACGC-3') ile uyguladığı döngüler kullanılmıştır. Bu çalışmada *S. agalactiae* (ATCC 29178), *S. pyogenes* (ATCC 19615) ve *L. garvieae* (ATCC 43921) referans bakteri türlerinden elde edilen 1 µl'lik DNA örnekleri pozitif kontrol, *A. hydrophila* (ATCC 19570) suşundan elde edilen 1 µl'lik DNA örnekleri negatif kontrol olarak jelde

yürütülmüştür. Elde edilen PZR ürünleri özel bir laboratuvara gönderilerek dizi (sekans) analizleri yaptırılarak her suş için Gen Bankası nükleotid blast işlemi ile en yakın ve benzerlik oranları tespit edilmiştir.

Histopatolojik Analizler

Nekropsi sonrasında hasta balıkların solungaçları ile iç organlarından örnekler alınarak %10'luk tamponlanmış formalin solüsyonunda fikse edilmiştir. Fiksasyon sonrası dokular çeşitli alkol serilerinden geçirilerek sıvı parafine gömülmüştür. 5 µm kalınlığında kesitler alınarak hematoksilin ve eosin ile boyanmıştır (16). Dokularda gözlenen patolojik değişiklikler tespit edilerek fotoğrafları çekilmiştir.

BULGULAR

Bu araştırmada hastalıktan etkilenen balıklarda iştah kaybı ile birlikte yem alımında azalma ve hareketlerinde durgunluk gözlenmiştir. Balıkların dış muayenesinde gözlerde bilateral ekzoftalmi, hemoraji ve opaklaşma, solungaçlarda solgunluk, deri renginde koyulaşma, karın kısmında şişkinlik, bazı balıklarda çenelerde hemoraji ve anal prolapsus da tespit edilmiştir. Nekropside, vücut kasında, hava kesesinde hemoraji, karaciğerde ekimoz, dalağın renginde koyulaşma, splenomegaly, böbrekte erime ile bağırsağın sarımsı kanlı sıvı içerdiği de gözlenmiştir. Enfekte balıkların bakteriyolojik muayenesinde hareketsiz, Gram-pozitif ve kısa zincir oluşturan kok şekilli bakterilerin varlığı tespit edilmiştir. Bakteriler fenotipik özelliklerine göre *Lactococcus garvieae* olarak tanımlanmıştır. İzole edilen 55 *L. garvieae* suş fermentatif, sitokrom oksidaz ve katalaz negatif, Voges-Proskauer (VP) pozitif olup 45 °C de gelişme gösterirken %5 koyun kanı ilaveli nutrient agarda α-hemolitik koloniler oluşturmuştur. Suşların %6.5 NaCl de üredikleri ve arabinoz, mannitol, sorbitol ve ksilozdan asit ürettikleri tespit edilmiştir. MacConkey agarda ise koloni oluşumu tespit edilmemiştir. Suşların diğer özellikleri Tablo 1 de verilmiştir.

Tablo 1. Hasta gökkuşığı alabalıklarından izole edilen 55 *L. garvieae* suşu ile referans türlerin biyokimyasal özellikleri.**Table 1.** Biochemical characteristics of the 55 *L. garvieae* strains and reference bacterial species.

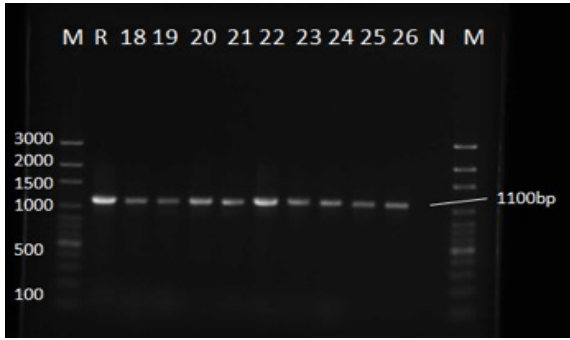
Özellik	izolatlar	<i>L. garvieae</i> (ATCC 43921)	<i>S. agalactiae</i> (ATCC 12401-20)	<i>S. pyogenes</i> (ATCC 19615)	<i>S. iniae</i> *	<i>A. hydrophila</i> (ATCC 1950)
Gram	+	+	+	+	+	-
Hareket	-	-	-	-	.	+
Katalaz	-	-	-	-	-	+
Oksidaz	-	-	-	-	.	+
O/F	F	F	F	F	.	F
H ₂ S	-	-	-	-	-	+
ADH	+	+	+	+	%71+	-
LDC	-	-	-	-	.	-
ODC	-	-	-	-	.	-
Hemoliz	α	α	β	α	β	β
VP	+	+	-	-	.	-
MR	+	+	+	+	.	+
Hidroliz:						
Jelatin	-	-	+	-	.	+
Nişasta	-	-	+	+	.	+
Nitrat indirgeme	-	-	-	-	.	+
ONPG	-	-	-	-	.	+
Sitrat	-	-	-	-	.	+
Gelişme:						
4 °C	-	-	+	+	.	+
37 °C	+	+	+	+	.	+
45 °C	+	+	-	-	.	+
Gelişme:						
%0 NaCl	+	+	+	+	.	+
%2 NaCl	+	+	+	+	.	+
%4 NaCl	+	+	+	+	.	+
%6 NaCl	+	+	+	+	.	+
%6.5 NaCl	+	+	-	-	.	+
%8 NaCl	-	-	-	-	.	-
Şekerlerden asit üretimi:						
Arabinoz	-	-	+	+	.	+
Früktoz	+	+	+	+	+	+
Galaktoz	+	+	+	+	+	+
Glukoz	+	+	+	+	+	+
İnositol	+	+	+	+	.	+
Mannitol	+	+	-	-	+	-
Mannoz	+	+	+	+	.	+
Sorbitol	+	+	-	-	-	-
Sakkaroz	+	-	+	+	+	+
Ksiloz	+	+	-	-	-	-
MacConkey Agar	-	-	-	-	.	+

+: Pozitif, -: Negatif, F: Fermentatif, .: belirtilmemiş, * Buller (11).

API 20 strep sonuçlarına göre, 50 izolat %92.4 olasılık ile *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* olarak tanımlanırken (profil no: 1043011), 5 izolat %89.3 olasılık ile *Lactococcus* spp. (profil no: 1003010)

olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada suşların tür tespitinde PZR tekniğinden de yararlanılmıştır. PZR sonuçlarına göre, *L. garvieae* için hedef genin çoğaltılması ile PZR ürünleri 55 suş için 1100 bç'lik

amplikon verdiği (Şekil 1) ancak *Streptococcus agalactiae* ve *S. pyogenes* türleri için amplikon ürünlerinin gözlenmediği tespit edilmiştir. Suşların sekans analizlerine ait ham dizi verileri Chromas-Pro 1.7,5 programı kullanılarak pasta formatına çevrilip temizlenerek, tek dizi haline getirilmiştir. Gen Bankası nükleotid blast işlemi ile en yakın türler ve benzerlik oranları her suş için tespit edilmiştir. Sonuçlar *L. garvieae* için yüksek benzerlik gösterdiği (%98-100) anlaşılmıştır.

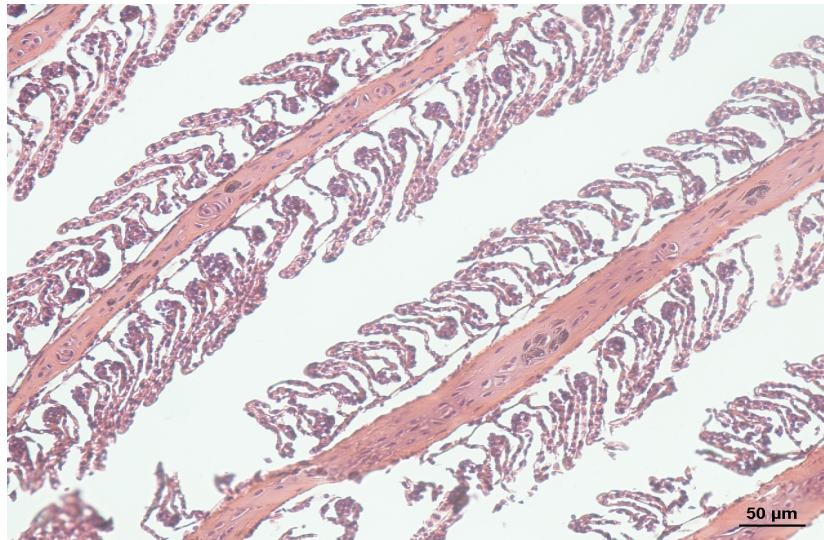


Şekil 1. Uygulanan PZR tekniği sonrası oluşan ürünlerin agaroz jel elektroforez sonucu. M: marker, 100 bç'lik DNA ladder, R: pozitif kontrol *L. garvieae* (ATCC 43921) suşu, N: negatif kontrol *A. hydrophila* (ATCC 19570) suşu, 18-26: pozitif suşlar.

Figure 1. Results of agarose gel electrophoresis of the amplification products after PCR technique. M: marker, 100 bp DNA ladder, R: positive control *L. garvieae* (ATCC 43921) strain, N: negative control *A.*

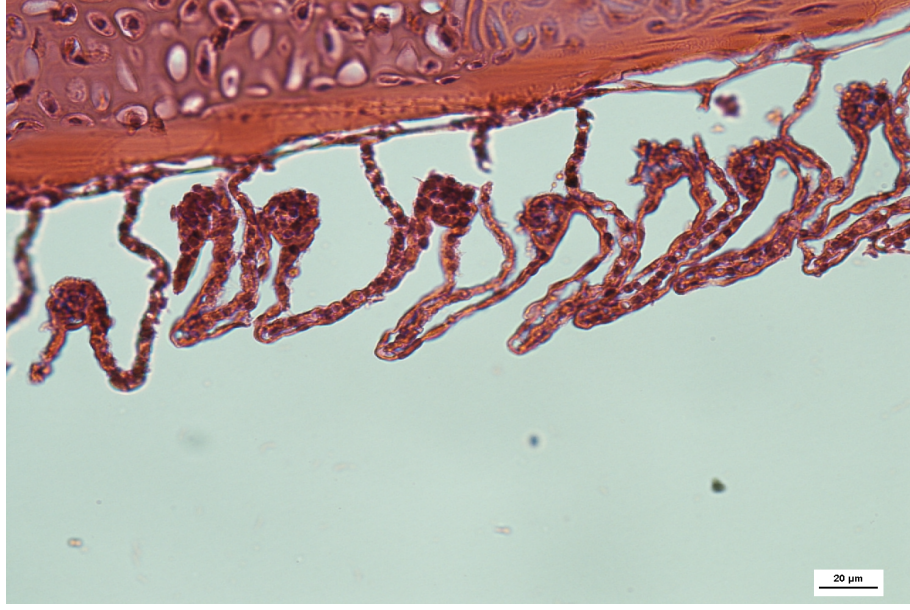
hydrophila (ATCC 19570) strain, 18-26: positive strains.

Bu çalışmada 55 suşun antimikrobiyal duyarlılık test sonuçlarına göre, suşların tamamının basitrasın, kanamisin ve trimetoprim'e dirençli olduğu, 40 suşun flumekuin'e direnç gösterirken 54 suşun ise eritromisin'e duyarlı olduğu tespit edilmiştir. 55 suştan 20'si oksitetrasiklin'e orta düzeyde, 50 suşun ise furazolidon'a orta düzeyde dirençli oldukları belirlenmiştir. Antimikrobiyal duyarlılık test sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde suşların basitrasın, kanamisin, trimetoprim, flumekuin, streptomisin, ampicilin, oksitetrasiklin ve furazolidon'a dirençli oldukları tespit edilmiştir. Hasta balıkların histopatolojik muayenesinde solungaçlarda hiperplazi ve füzyondan kaynaklanan doku bozulması (Şekil 2), solungaç filamentlerinde telangiectasia (Şekil 3), böbrek glomeruli ve tübüllerinde nekroz, hepatositlerde dejeneratif ve nekrotik dejenerasyonlar, midenin *Lamina probria* ve mukoza epitelyumunda boşalmalar tespit edilmiştir. Dalak ve böbrekte yoğun hemosiderin birikimi ile melanomakrofaj merkezlerinin aktivasyonunda artış da gözlenmiştir (Şekil 4, 5). Bazı balıklarda ise böbrek dokusu etrafında bakteriyel kolonilerin bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 6).

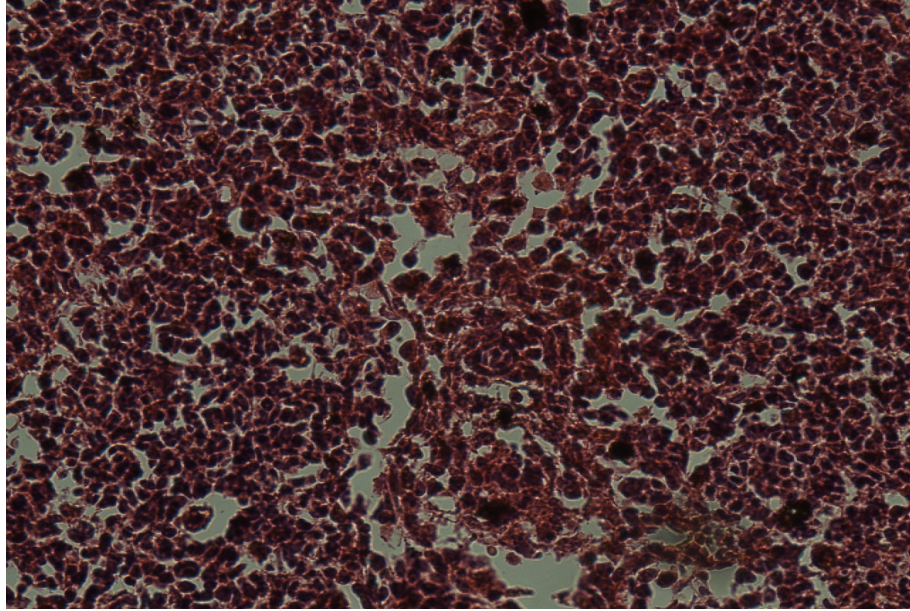


Şekil 2. Hiperplazi ve füzyon gösteren gökkuşığı alabalığı solungacı (H+E, Bar=50 µm).

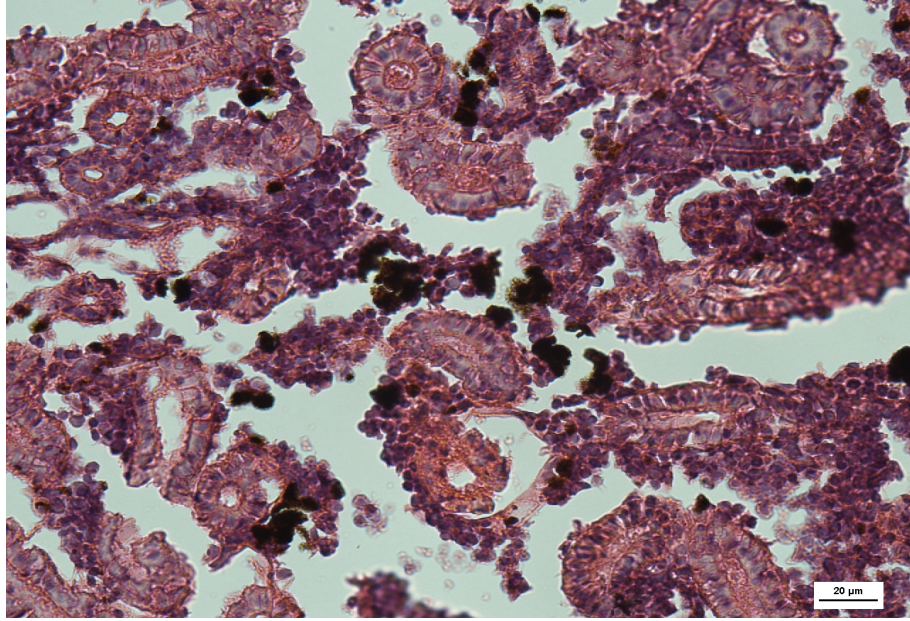
Figure 2. Gill of rainbow trout showing hyperplasia and fusion (H+E, Bar=50 µm).



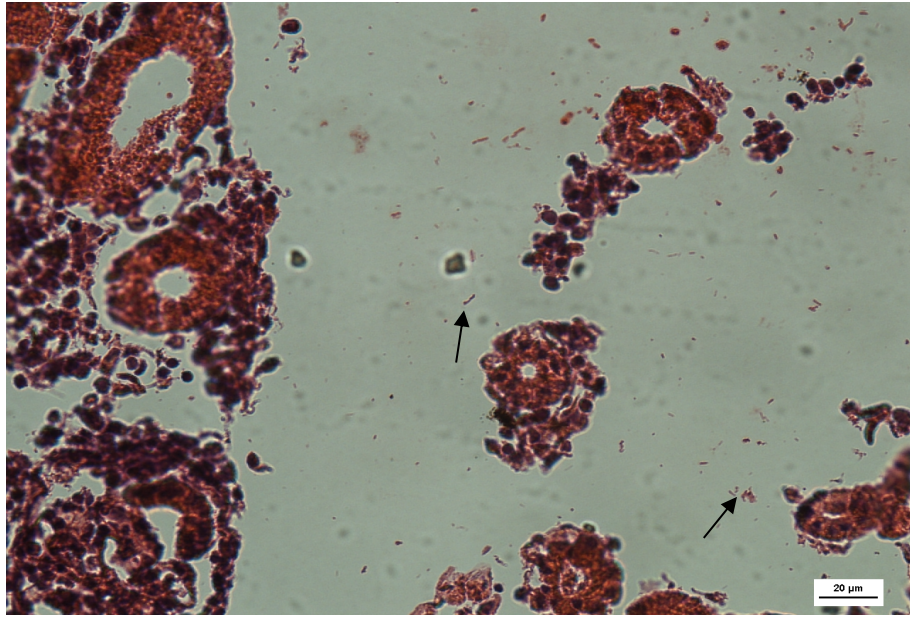
Şekil 3. Telangiectasia gösteren solungaç filamentleri (yıldız) (H+E, Bar=20 µm).
Figure 3. Gill filaments showing telangiectasia (H+E, Bar=20 µm).



Şekil 4. Dalakta melanomakrofaj merkezlerinin aktivasyonu (H+E, Bar=50 µm).
Figure 4. Activation of melanomacrophage centers in the spleen (H+E, Bar=20 µm).



Şekil 5. Böbrekte melanomakrofaj merkezlerinin aktivasyonu ((H+E, Bar=20 μm).
Figure 5. Activation of melanomacrophage centers in the kidney (H+E, Bar=20 μm).



Şekil 6. Renal doku etrafında bakteri kolonilerinin bulunması (okla gösterilmiştir) (H+E, Bar=20 μm).
Figure 6. Occurrence of bacterial colonies surrounding the renal tissue (shown by arrow) (H+E, Bar=20 μm).

TARTIŞMA ve SONUÇ

L. garvieae, *S. iniae*, *S. agalactiae* ve *S. parauberis* türleri su sıcaklığının 15 °C ve üzerine çıktığı dönemlerde gerek tatlı su gerek deniz balıklarında septisemiye neden olarak önemli ekonomik kayıplarla sonuçlanan enfeksiyonlara

neden olduğu bildirilmiştir (4). Hastalıklı balıklarda tek ya da iki taraflı ekzoftalmi, gözde periorbital ve intraoküler bölgede, yüzgeçlerin taban kısımlarında, perianal bölgede hemorajiler, abdominal kısımda şişkinlik ve anüste prolapsus görüldüğü bildirilmiştir (17-19). Nekropside peritoneal asidik sıvı birikimi,

karaciğer, dalak ve böbrek dahil iç organlarda hemoraji, dalak ve karaciğerde fokal nekroz ile bağırsakta kanlı sıvı birikiminin varlığı bildirilmiştir (17-19). Muğla ve Antalya civarındaki farklı gökkuşığı alabalığı işletmelerinde gözlenen hastalık çıkışlarından *L. garvieae*, *S. iniae* ve *S. agalactiae*'nin sorumlu olup olmadıklarının araştırıldığı bu çalışmaya su sıcaklığının 18 °C olduğu Nisan ayında başlanılıp su sıcaklığının 25 °C'ye yükseldiği Eylül ayında tamamlanmıştır. Farklı işletmelerden yapılan örnekleme çalışmalarında hastalıktan etkilenen balıklarda genel olarak iştahsızlık, durgunluk, renkte koyulaşma, bilateral ekzoftalmi, hemoraji ve opaklaşma, abdominal şişkinlik ve anal prolapsus ile solungaçlarda solgunluk tespit edilmiştir. Nekropside, vücut kısı ile hava kesesinde hemoraji, dalağın renginde koyulaşma, splenomegaly ve barsakta sarımsı renkli kanlı sıvı birikimi gözlenmiştir. Hasta balıklarda gözlenen bu bulgular, diğer araştırmacılar (17-19) tarafından *L. garvieae* ile enfekte gökkuşığı alabalıklarından bildirilen bulgulara benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. *L. garvieae* fakültatif anaerobik, hareketsiz, spor oluşturmayan, Gram-pozitif kok şekilli bir bakteridir. Tür, çiftler ve kısa zincirler şeklinde bulunur. *L. garvieae* kanlı vasatta α -hemoliz oluştururken, sitokrom oksidaz ve katalaz negatif özellik göstermektedir (4,18). Altun ve ark. (17) gökkuşığı alabalıklarından izole edilen sekiz *L. garvieae* suşunun sitokrom oksidaz ve katalaz negatif, VP pozitif olduğunu, 4 °C ile 45 °C de gelişme gösterdiğini, glikoz, früktoz, galaktoz, mannitol ve sakkarozu fermente ettiğini bildirmiştir. Suşlar α -hemolitik olup MacConkey agarda koloni oluşturmuştur. 8 *L. garvieae* suşu nişasta ve jelatini hidrolize edemezken, %6.5 NaCl de gelişme göstermiştir. Kav ve Erganiş (18) çalışmalarında 30 *L. garvieae* suşunun glikoz, galaktoz, mannitol, sakkaroz, früktoz ve arabinoz'dan asit üretimlerinin pozitif olduğunu ancak sorbitol ile ksiloz'dan asit üretimlerinin ise negatif olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada *L. garvieae* suşunun Gram-pozitif, fermentatif, sitokrom oksidaz ve katalaz negatif ile

VP pozitif olduğu tespit edilmiştir. Suşlar, Anshary ve ark. (8), Altun ve ark. (17) ile Kav ve Erganiş (18) tarafından bildirildiği gibi α -hemolitik olup, 45 °C ve %6.5 NaCl de geliştiği, glikoz, galaktoz, mannitol ve sakkaroz'u fermente ettiği belirlenmiştir. Bu çalışmada 55 suşun Altun ve ark. (17) tarafından bildirildiği gibi nişasta ve jelatini hidrolize edemedikleri ancak Altun ve ark. (17) tarafından bildirilenden farklı olarak suşların MacConkey agar da koloni oluşturmadıkları tespit edilmiştir. Bu çalışmada suşların sorbitol ve ksilozdan asit üretimlerinin pozitif olup Kav ve Erganiş (18) ise çalıştıkları *L. garvieae* suşlarının sorbitol ve ksilozdan asit üretimlerinin negatif olduğunu bildirmiştir. Streptokokkozis, Rapid ID 32 ve API 20 strep testleri ile kolay ve hızlı bir şekilde teşhis edilebilmekte ancak *L. garvieae* ile *L. lactis* subsp. *lactis* veya *S. iniae* ile *S. uberis* türlerinin biyokimyasal testlerinin benzerliğinden dolayı Streptokokkozis'in etiyolojik etkenleri birbirinden kesin olarak ayırt edilmediği bildirilmiştir (18). Kav ve Erganiş (18) 30 *L. garvieae* izolatının API 20 testinin 24 saatlik test sonuçlarına göre %90 oranında *L. lactis* subsp. *lactis* ve %6.6 oranında da *E. faecalis*'e benzerlik gösterdiğini bildirilmiştir. Bu çalışmada 55 suşun API 20 test sonuçlarının, Kav ve Erganiş (18) tarafından elde edilen sonuçlara benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır. Biyokimyasal özelliklerdeki farklar, bir organizmanın fizyolojik profili üzerine önemli bir bilgi vermektedir. Bununla birlikte, fenotipik özellikler ile tek başına tür seviyesinde yeterli tanımlama yapılamamaktadır. Moleküler teknikler ile patojenik türleri tanımlama ve suşlar arasındaki farkı tür düzeyinde tespit edebilmenin mümkün olduğu bildirilmiştir (8). Ravelo ve ark. (14) *L. garvieae* suşları arasındaki genetik çeşitliliği değerlendirmek için RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA) tekniğini kullandıkları çalışmada, suşların 1100 bp'lik spesifik amplifikasyon ürünü verdiğini bildirmiştir. Bu çalışmada, 55 *L. garvieae* suşunun identifikasyonu için uygulanan PZR tekniği sonuçlarına göre suşlar 1100 bp'lik amplifikasyon ürünü vermiştir. Elde edilen sonuçların Ravelo ve ark. (14) tarafından bildirilen

sonuçlar ile uyumlu olduğu anlaşılmıştır. Kav ve Erganiş (18) çalışmasında *L. garvieae* izolatlarının ampisilin, oksitetrasiklin ve eritromisin'e hassas olduklarını, Durmaz ve Kılıçoğlu (19) ise izole ettikleri *L. garvieae* izolatlarının ampisilin, eritromisin'e hassas, trimetoprim'e ise dirençli oldukları bildirilmiştir. Türe ve Boran (20) ampisilin'in *L. garvieae* suşlarına karşı en etkili ajanlar arasında olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada suşların eritromisin'e hassas olmaları, Kav ve Erganiş (18), Durmaz ve Kılıçoğlu (19) ile Türe ve Boran (20)'nin sonuçlarına benzerlik göstermekle birlikte, bu araştırmacılar farklı olarak suşların oksitetrasiklin'e orta düzeyde direnç gösterdiği, ampisilin'e ise suşlar arasında farklı düzeyde direnç gösterdikleri belirlenmiştir. Avcı ve ark. (21) *L. garvieae* enfeksiyonundan etkilenen balıkların histopatolojik yönden incelenmesinde, balıkların solungaçlarında hemoraji, lamellar ödem ve telangiectasia bildirirken, Didinen ve ark. (22) ise laktokokkozis'den etkilenen balıklarda hepatositlerin nekrozunu bildirmiştir. Bu çalışmada hasta balıkların histopatolojik muayenesinde solungaç filamentlerinde telangiectasia, hepatositlerde ise nekrotik dejenerasyonlar gözlenmiştir. Bu bulgular Avcı ve ark. (21) ile Didinen ve ark. (22) tarafından bildirilen bulgulara benzerlik göstermiştir. Timur ve ark. (23) çalışmasında böbrek de melanomakrofaj merkezlerinde aktivasyon ve midenin mukoza epitelyumunda boşalma bildirmiştir. Bu çalışmada enfeksiyondan etkilenen balıklarda böbrekte melanomakrofaj merkezlerinde aktivasyon ile midenin *Lamina probria* ve mukoza epitelyumunda boşalmalar tespit edilmiştir. Bu bulgular, Timur ve ark. (23) tarafından bildirilen bulgulara benzerlik göstermiştir.

Sonuç olarak bu çalışmanın bulgularına göre, hasta gökkuşığı alabalıklarından *Lactococcus garvieae* izole edilirken gerek fenotipik tanı test sonuçlarına gerekse PZR çalışması sonuçlarına göre *Streptococcus agalactiae* (sin. *S. difficilis*) ve *S. iniae* izole ve tanıya edilememiştir. Çalışmanın bu sonucu ile, *L. garvieae*'nin bölgede örnekleme

çalışması yapılan alabalık işletmelerinde görülen hastalık çıkışlarından sorumlu başlıca etken olduğu anlaşılmıştır. Çalışmada antibiyogram duyarlılık testi sonuçlarına göre, izolatların en az iki antimikrobiyal ajana dirençli oldukları bulunmuştur. Bu sonuca göre, laktokokkozis'e karşı mevcut aşı geliştirme çalışmalarının artırılması gerektiği çünkü bakteride direnç gelişimi artmakla birlikte, bu direnç gelişiminin ortamda bulunan diğer bakteri türlerine de aktarılabilceğini düşündürmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2011.01.0111.001.

KAYNAKLAR

1. Guijarro JA., Cascales D., Garcia-Dominguez M., Mendez J., 2015. Temperature-dependent expression of virulence genes in fish-pathogenic bacteria. *Front Microbiol*, 6, 700.
2. Sağlam YS., Işık N., Arslan A., Erer H., 2006. Erzurum Bölgesindeki gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* W. 1792) *Aeromonas hydrophila* ve *Yersinia ruckeri* izolasyonu ve patolojik incelemeler. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 1, 6-10.
3. Onuk E., Durmaz Y., Çiftçi A., Pekmezci G., Kılıçoğlu Y., 2015. Çeşitli balık türlerinden izole edilen patojen bakteriler ve antibiyotik direnç profilleri. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 10 (3), 156-164.
4. Austin B., Austin DA., 2012. Bacterial Fish Pathogens. *Diseases of Farmed and Wild Fish*. 5th ed., 17-118, Springer Science, Dordrech.
5. Eldar A., Goria M., Ghittino C., Zlotkin A., 1999. Biodiversity of *Lactococcus garvieae* strains isolated from fish in Europa, Asia, and Australia. *Appl Environ Microbiol*, 65, 1005-1008.
6. Anshary H., Kurniawan RA., Sriwulan S., Ramli R., Baxa DV., 2014. Isolation and molecular identification of the etiological agents of streptococcosis in Nile tilapia (*Oreochromis*

- niloticus*) cultured in net cages in Lake Sentani, Papua, Indonesia. Singer Plus, 3, 627-638.
7. Mata Al., Gibello A., Casamayor M., Blanco MM., Dominguez L., Fernandez-Garayzabal JF., 2004. Multiplex pcr assay for detection of bacterial pathogens associated with water streptococcosis in fish. Appl Environ Microbiol, 70, 3138-3187.
 8. Vendrell D., Balcazar JL., Ruiz-Zarzuela I., de Blas I., Girones O., Muzquiz JL., 2006. *Lactococcus garvieae* in fish: a review. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 29, 177-198.
 9. Diler Ö., Altun S., Adiloğlu A., Kubilay A., Işıklı Bl., 2002. First occurrence of streptococcosis affecting farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. Bull Eur Ass Fish Pathol, 22, 21-26.
 10. Öztürk RÇ., Altınok İ., 2014. Bacterial and viral fish diseases in Turkey. Turk J Fish Aquat Sci, 14, 275-297.
 11. Buller NB., 2009. Interpretation of biochemical identification tests and sets. In "Bacteria from Fish and Other Aquatic Animals", 1st ed., 127, CABI Publishing, South Peth.
 12. CLSI, 2006. Clinical and Laboratory Standards Institute Methods for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals: Approved Guideline. CLSI Document M42-A, USA.
 13. Zlotkin A., Eldar A., Ghittino C., Bercovier A., 1998. Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR. J Clin Microbiol, 36, 983-985.
 14. Ravelo C., Magarinos B., Lopez-Romalde S., Toranzo AE., 2003. Molecular fingerprintings of fish-pathogenic *Lactococcus garvieae* strains by random amplified polymorphic DNA analysis. J Clin Microbiol, 41, 751-756.
 15. Pourgholam R., Lalvei F., Saeedi AA., Zahedi A., Safari R., Taghavi MJ., Nasrollzadeh Saravi H., Pourgholam H., 2011. Distribution and molecular identification of some causative agents of streptococcosis isolated from farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) in Iran. Iran J Fish Sci, 10, 109-122.
 16. Timur G., Timur M., 2003. Balık Hastalıkları, 384-445, Rektörlük Yayın No: 4426, Su Ürünleri Yayın No:5, İstanbul.
 17. Altun S., Diler Ö., Adiloğlu AK., 2004. Genotyping of *Lactococcus garvieae* from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by 16S rDNA sequencing. Bull Eur Ass Fish Pathol, 24, 119-125.
 18. Kav K., Erganiş O., 2007. Konya bölgesinde bulunan gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliklerinden *Lactococcus garvieae* izolasyonu, identifikasyonu ve fenotipik özelliklerinin belirlenmesi. Vet Bil Derg, 23, 7-17.
 19. Durmaz Y., Kılıçoğlu Y., 2015. Bir alabalık çiftliğinde doğal enfekte gökkuşığı alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) *Lactococcus garvieae*'nin kültür ve pcr ile saptanması ve etkenin antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg, 10, 109-115.
 20. Türe M., Boran H., 2015. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance of *Lactococcus* sp. strains isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Bull Vet Inst Pulawy, 59, 37-42.
 21. Avcı H., Aydoğan A., Tanrıkul TT., Birincioğlu SS., 2010. Pathological and microbiological investigations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) naturally infected with *Lactococcus garvieae*. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 16, 313-318.
 22. Didinen Bl., Yardımcı B., Onuk EE., Metin S., Yıldırım P., 2014. Naturally *Lactococcus garvieae* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) new histopathological observations, phenotypic and molecular identification. Rev Med Vet-Toulouse, 165, 12-19.
 23. Timur G., Yardımcı RE., Ülkü Ç., Çanak Ö., 2011. Diagnosis of lactococcosis by bacteriological and histopathological methods in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at the Marmara Region. Turkish J Aquat Sci, 26, 63-81.



Yeşil Çay Yağının Gökkuşluğu Alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) Yem Değerlendirme Oranına ve Hematolojik Parametrelerine Etkileri

Başar ALTINTERİM¹, Ekrem ÖZTÜRK², Filiz KUTLUYER³✉, Önder AKSU³

1. Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Battalgazi, Malatya, TÜRKİYE.
2. İnönü Üniversitesi, Sürgü Meslek Yüksekokulu, Su Ürünleri Bölümü, Malatya, TÜRKİYE.
3. Munzur Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Tunceli, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
09.03.2017	15.12.2017	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Altınterim B, Öztürk E, Kutluyer F, Aksu Ö: Yeşil Çay Yağının Gökkuşluğu Alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) Yem Değerlendirme Oranına ve Hematolojik Parametrelerine Etkileri. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 159-164, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.296989

Öz: Çalışmada yeşil çay yağının (*Camellia sinensis*) gökkuşluğu alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme oranı, yemden yararlanma ve hematolojik parametreleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için denemeler kurulmuştur. Balıklar (76.25±2.75 g) masere yeşil çay yağının farklı konsantrasyonları (%0.25, %0.5, %1.0) ilave edilmiş yemlerle beslenmiştir. Ağırlık kazancı (WG), yem dönüşüm oranı (YDO) ve bazı kan parametreleri gökkuşluğu alabalığında belirlenmiştir. Yeşil çay yağı ile 42 günlük besleme sonunda yapılan analizlerde WBC, GRAN, HGB, HCT, MCH, MCHC, PLT, PDW, PCT değerlerinde kontrol grubuna göre artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte yeşil çay yağı uygulanan grupların megakaryositlerini uyardığı (PLC-R seviyesinde artış) bunun da trombosit yapımını artırdığı görülmüştür. Yem değerlendirme oranı 1.83–4.53 değerleri arasında değişim göstermiştir. Deneme sonunda gruplardaki yeşil çay yağı miktarının artışıyla birlikte yem değerlendirme oranının azaldığı tespit edilmiştir. Yeşil çay yağının içerdiği lipofilik özellikteki biyoaktif maddelerin sinerjistik etki göstererek balıklarda termojenik uyarımı sağladığı ve bunun da ağırlık kaybına neden olduğu düşünülmektedir. Bunun yanı sıra yeşil çay yağının hematopoetik organlarda hematopoiesisi ve içerdiği kateşinler gibi antioksidanların granülosit hücre grubu üzerinde etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşluğu alabalığı, Hematolojik parametreler, Masere yağ, Yeşil çay.

Effects of green tea (*Camellia sinensis*) Oil on Feed Utilization and Hametological Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Abstract: In the study, experiments were conducted to determine effects of green tea oil (*Camellia sinensis*) on the growth rate, feed utilization and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish (76.25±2.75 g) were fed diets supplemented with different concentrations of green tea oil (%0.25, %0.5, %1.0). Weight gain (WG), feed conversion ratio (BDI) and some blood parameters were determined in the rainbow trout. It was determined that the values of WBC, GRAN, HGB, HCT, MCH, MCHC, PLT, PDW and PCT were increased with respect to control group at the end of 42 days feeding with green tea oil. However, groups treated with green tea oil stimulated megakaryocytes (increased PLC-R levels), which also increased platelet production. Feed evaluation ratio varied between 1.83-4.53. At the end of the experiment, it was determined that the feed evaluation ratio decreased with the increase of the amount of green tea oil in the groups. It is thought that the bioactive substances in the lipophilic property of green tea oil provide thermogenic stimulation in fishes by synergistic effect, which causes weight loss. Besides, it was determined that antioxidants such as hematopoiesis and catechins in hematopoietic organs of green tea oil act on the granulocyte cell group.

Keywords: Green tea, Hematological parameters, Macerated oil, Rainbow trout.

GİRİŞ

Yeşil çay (*Camellia sinensis*), ilk zamanlarda tıpta tedavi amacıyla, daha sonra içecek olarak kullanılmaya başlamıştır. Yeşil çayın temel içeriğini polifenoller, vitaminler, azotlu bileşikler, kafein, inorganik elementler, lipidler ve karbonhidratlar oluşturmaktadır (1). Şimdiye kadar, insan ve hayvanlarda fermente edilmemiş yeşil çayın yararlı etkisiyle ilgili çalışmalar yapılmış ve kemik yoğunluğu, bilişsel işlev, diş çürümesi, böbrek taşları üzerinde olumlu etkileri ortaya konulmuştur (2,3). Yeşil çay özellikle içerdiği kateşinler gibi antioksidanları sayesinde tümör tedavilerinde tercih edilen bir bitkidir (4,5,6).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde, yeşil çayın balık yemlerine ilavesi ile ilgili çalışmalar yapılmış ve hastalıklara karşı direncin artırılması, yaşama oranı, büyüme oranı, antioksidan ve bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri incelenmiştir (7-10). Yapılan bazı çalışmalarda yeşil çay ekstresinin antioksidan savunma mekanizması üzerine olumlu etki gösterdiğini tespit etmişlerdir (11).

Yeşil çay ekstraktının yemlere ilavesi ile ilgili farklı balık türlerinde çalışmalar yapılmasına rağmen, yeşil çayın masere yağının yeme ilavesinin büyüme ve kan parametrelerinin üzerindeki etkilerinin belirlenmesiyle ilgili herhangi bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Bu nedenlerden dolayı, bu çalışmada farklı oranlarda (%0.25, %0.5, %1.0) yeme ilave edilen masere yeşil çay yağının gökkuşağı alabalığının (*O. mykiss*) büyüme (canlı ağırlık kazancı, yem alımı ve yem dönüşüm oranı) ve bazı kan parametreleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada ortalama canlı ağırlığı 76.25±2.75 g olan gökkuşağı alabalıkları (*O. mykiss*) (n: 600)

kullanılmış ve çalışma üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Araştırma süresince düzenli olarak, 0.1 hassasiyetli termometre ile suyun sıcaklığı, 0.003 hassasiyetli dijital pH metre ile pH'sı ve 0.01 hassasiyetli oksijen metre ile çözülmüş oksijen seviyeleri ölçülmüştür.

Çalışmada kullanılan endemik yeşil çay bir aktardan temin edilmiştir. Masere yağın elde edilmesi için yeşil çay (*C. sinensis*) 15 gün boyunca ayçiçeği yağında (1/10) bekletilmiştir. Elde edilen masere yeşil çay yağı alabalıklarının yemlerine %0.25, %0.5, %1.0 oranlarında ilave edilmiştir. Tüm çalışma boyunca balıklar sabah ve akşam olmak üzere günde iki kere ticari bir alabalık yemi ile 42 gün (20-27 Kasım 2015) boyunca beslenmiştir. Yemleme günlük olarak balıkların canlı ağırlıklarının ortalama %2'si oranında uygulanmıştır. Çalışma sonunda ağırlık kazancı (WG), günlük ağırlık kazancı (DWG) ($W_2 - W_1 / t$), yem alımı ve yem dönüşüm oranı (YDO) (tüketilen yem miktarı/ağırlık kazancı) (12) belirlenmiştir.

Kan alma işlemi balıklardan besleme yapılmadan gerçekleştirilmiş (13) ve balıklar kan alma işleminden önce anestezi maddeyle (Benzocaine 30 mg/L) bayıltılmıştır. Denemeler etik kurallara uygun olarak gerçekleştirilmiştir (İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deneysel Hayvanları Etik Kurulu, Protokol No: 2013/A-71). Bayıltılan balıkların kuyruk venalarından enjektörle kan örnekleri alınarak içerisinde EDTA bulunan tüplere aktarıldı. EDTA'lı kan örneklerinde tam kan sayımı, aynı gün içerisinde, PROCAN PE-6800VET marka tam otomatik hematoloji analiz cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

Cihaz ile Lökosit (WBC), Lenfosit yüzdesi (LYM%), Orta ölçekli hücre yüzdesi (MID%), Granülosit yüzdesi (%GRAN), Lenfosit (LYM#), Orta

ölçekli hücre (MID#), Garnüosit (GRAN#), Eritrosit (RBC), Hemoglobin konsantrasyon (HGB), Hematokrit (HCT), Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV), Hücre hemoglobin ortalaması (MCH), Hücre hemoglobin yüzdesi (MCHC), Kırmızı kan hücresi dağılım genişliği-standart sapma (RDW-SD), Kırmızı kan hücresi dağılım genişliği-varyasyon katsayısı (RDW-CV), Trombosit (PLT), Ortalama trombosit hacmi (MPV), Trombosit dağılım genişliği (PDW), Trombosit yüzdesi (PCT), Trombosit-hücre genişliği oranı (P-LCR) değerleri ölçülmüştür.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde rutin istatistiksel metotlar ve SPSS istatistik programı kullanılmıştır. Elde edilen hematolojik verilerin

değerlendirilmesi $P < 0.05$ güven aralığında Tek yönlü Varyans analizi (ANOVA) ile yapılmıştır.

BULGULAR

Denemede ölçülen suyun sıcaklığı: 17.1 °C, pH: 7.37, oksijen 6-7 mg/l olarak tespit edilmiştir. Yemlere ilave edilen yeşil çay (*C. sinensis*) yağının büyüme parametreleri üzerindeki etkileri Tablo 1'de sunulmuştur. Yem değerlendirme oranı 1.83–4.53 değerleri arasında değişim göstermiştir. Yem alım oranı, yemlerdeki yeşil çay yağ oranının artışıyla azalmıştır ($P < 0.05$). Yemlere ilave edilen yeşil çay (*C. sinensis*) yağının kan parametreleri üzerindeki etkileri Tablo 2'de verilmiştir. P-LCR değerinin gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenirken ($P < 0.05$) diğer kan parametreleri karşılaştırıldığında farkın önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P > 0.05$).

Tablo 1. Yemlere ilave edilen yeşil çay (*C. sinensis*) yağının büyüme parametreleri üzerindeki etkileri.

Table 1. Effects of green tea (*C. sinensis*) oil addition to feed on growth parameters.

Parametreler	Kontrol	Ayçiçeği yağı	D1 (%0.25)	D2 (%0.5)	D3 (1,0%)	P değeri
Final ağırlık (g)	126.3 ^a	109.9 ^b	119.5 ^{ab}	105.7 ^b	112.9 ^{ab}	0.031
Canlı ağırlık artışı (g)	0.88 ^a	0.72 ^a	0.89 ^a	0.56 ^b	0.84 ^a	0.025
Yem alımı	2.1 ^a	1.8 ^b	1.9 ^b	1.8 ^b	1.8 ^b	0.045
Yem dönüşüm oranı (YDO)	2.39 ^a	2.5 ^a	2.13 ^a	3.21 ^b	2.14 ^a	0.016

a-b: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir.

Tablo 2. Yemlere ilave edilen yeşil çay (*C. sinensis*) yağının hematolojik parametreler üzerindeki etkileri.**Table 2.** Effects of of green tea (*C. sinensis*) oil addition to feed on hametological parameters.

Gruplar	WBC (10 ³ / μL)	MID (%)	GRAN (%)	GRAN# (10 ³ /μ L)	RBC (10 ⁶ /μ L)	HGB (g/dl)	HCT (%)	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dl	RDW- SD (fL)	RDW- CV (%)	PLT (10 ³ /μL)	MPV (fL)	PDW (%)	PCT (%)	P-LCR (%)
Kontrol	60.52	5.29	3.06	1.87	1.714	9.46	24.21	141.71	55.21	39.00	85.3	13.68	21.8	13.36 ^a	13.49	0.024	40.22 ^a
Ayçiçeği yağı	53.11	4.57	2.31	1.18	1.591	8.68	22.45	141.49	54.45	38.54	85.1	13.78	8.0	14.53 ^b	11.98	0.007	50.98 ^b
D1 (%0,25)	54.58	4.39	2.35	1.2	1.683	9.17	23.40	139.71	54.76	39.26	89.8	13.91	7.1	14.50 ^b	15.55	0.007	51.42 ^b
D2 (%0,5)	55.02	4.63	2.54	1.37	1.699	9.35	23.81	140.59	55.17	39.27	86.3	14.18	17.0	14.13 ^{ab}	16.27	0.020	46.90 ^a
D3 (%1,0)	56.90	4.73	2.65	1.47	1.741	9.75	24.82	143.14	56.30	39.37	83.4	13.06	13.2	14.32 ^{ab}	15.03	0.032	49.93 ^b
P	0.067	0.164	0.117	0.051	0.773	0.480	0.645	0.294	0.649	0.709	0.676	0.812	0.113	0.075	0.622	0.324	0.020

a,b,: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Yeşil çayın masere yağlarının su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılabilirliğiyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmazken, yeşil çay ekstraktlarının balık yemlere ilaveleri ile ilgili çalışmalar yapılmış ve olumlu etkileri ortaya konulmuştur (7-10). Sarıkuyruk balığında yapılan çalışmada yemlere ilave edilen yeşil çayın, içerdiği polifenollerden dolayı lipid peroksidasyonunu, taze etteki bozulmayı ve mikrobiyal büyümeyi önlediği belirlenmiştir (14). Cho ve ark. (7) dil balığında (*Paralichthys olivaceus*) türünde yaptıkları çalışmada yeşil çay ekstraktının yemlere ilavesinin büyüme ve yemden yararlanma oranında olumlu etkileri olduğunu, ayrıca serum LDL kolesterolünü düşürdüğünü saptamışlardır. Abdel-Tawwab ve ark. (8) yeşil çayın Nil tilapiyasında Aeromonas önlediğini bildirmişlerdir. Yeşil çayın antioksidan özelliğini ortaya koyucu bazı çalışmalar yapılmıştır (15). Yeşil çayın termojenik uyarım üzerinde etkili olduğu bazı çalışmalar ile de tespit edilmiştir (16,17).

Thawonsuwan ve ark. (9) yeşil çaydan elde edilen antioksidan potansiyele sahip Epigallocatechin-3-gallate'in gökkuşağı alabalıklarında antioksidan ve bir immunostimulant olarak kullanılabileceğini ve yemlere en az 32 mg.kg⁻¹ oranda ilave edilmesinin etkili olabileceğini rapor etmişlerdir. Harikishnan ve ark. (10) *Epinephelus bruneus* türünde yeme yeşil çay ilavesinin non-spesifik hümorale ve hücresele bağışıklık cevabı ile hastalıklara dayanıklılığı arttırdığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada masere yeşil çay yağının yemlere ilavesi yem alımı ve ağırlık kazancında önemli değişikliklere neden olmazken, önceki çalışmalar ile paralel olarak 42. günde ayçiçek yağı grubu ile karşılaştırıldığında WBC, GRAN, HGB, HCT, MCH, MCHC, PLT, PDW, PCT seviyelerindeki artış hematopoietik organları ve immün hücreleri uyardığını ortaya koymaktadır (18). Büyük trombositlerin normal olanlara oranında (PLC-R) gruplar arasında farklılık belirlenirken, diğer parametrelerde ise herhangi bir değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir. Yeşil çay yağı, kontrol

grubuna göre her üç dozda da vücut stabilitesini korumuş trombosit uyarımını sabit tutmuştur.

Sonuç olarak, ayçiçeği yağında bekletilerek hazırlanan masere yeşil çay yağında bulunan polifenollerin, özellikle flavanoller ve kateşinlerin varlığından dolayı, zayıflatıcı özelliği tespit edilmiştir. Özellikle kan parametrelerindeki artış yeşil çayda bulunan ve güçlü antioksidan özellik gösteren kateşinlerin, hematopoietik hücre ve organları uyarıcı etkisini göstermektedir. Ayrıca, masere yağların kullanımı ve elde edilmesi ekstraktlarla karşılaştırıldığında ucuz, kolay ve pratiktir. Masere yeşil çay yağının profilaktif tedavide kullanılması tavsiye edilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Khurshid Z., Zafar MS., Zohai S., Najee S., Naseem M., 2016. Green tea (*Camellia sinensis*): chemistry and oral health. Open Dent J, 10, 166-173.
2. Murray M., Walchuk C., Suh M., Jones PJ., 2015. Green tea catechins and cardiovascular disease risk factors: Should a health claim be made by the United States Food and Drug Administration? Trends Food Sci Technol, 41, 188-197.
3. Afzal M., Safer AM., Menon M., 2015. Green tea polyphenols and their potential role in health and disease. Inflammopharmacol, 23, 151-161.
4. Liao S., HsiKao Y., AHiiapakka R., 2001. Green tea: Biochemical and biological basis for health benefits. Vit Horm, 62, 1-94.
5. Orozco-Sevilla V., Naftalovich R., Hoffmann T., London D., Czernizer E., Yang C., Dardik A., Dardik H., 2013. Epigallocatechin-3-gallate is a potent phytochemical inhibitor of intimal hyperplasia in the wire-injured carotid artery. J Vascular Surg, 58, 1360-1365.
6. Yang H., Sun DK., Chen D., Cui QC., Gu YY., Jiang T., Chen W., Biao Wan S., Dou QP., 2010. Antitumor activity of novel fluoro-substituted (-)-epigallocatechin-3-gallate analogs. Cancer Lett, 292, 48-53.

7. Cho SH., Lee SM., Park BH., Ji SC., Lee J., Bae J., Oh SY., 2007. Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on growth, body composition and blood chemistry of the juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Fish Physiol Biochem*, 33, 49-57.
8. Abdel-Tawwab M., Ahmad MH., Seden MEA., Saker SFM., 2010. Use of green tea, *Camellia sinensis* L., in practical diet for growth and protection of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), against *Aeromonas hydrophila* infection. *J World Aquacult Soc*, 41, 203-213.
9. Thawonsuwan J., Kiron V., Satoh S., Panigrahi A., Verlhac V., 2010. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) affects the antioxidant and immune defense of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiol Biochem*, 36, 687-697.
10. Harikrishnan R., Balasundaram C., Heo MS., 2011. Influence of diet enriched with green tea on innate humoral and cellular immune response of kelp grouper (*Epinephelus bruneus*) to *Vibrio carchariae* infection. *Fish Shellfish Immunol*, 30, 972-979.
11. Hasanpour S., Salati AP., Falahatkar B., Azarm HM., 2017. Effects of dietary green tea (*Camellia sinensis* L.) supplementation on growth performance, lipid metabolism, and antioxidant status in a sturgeon hybrid of Sterlet (*Huso huso* ♂ × *Acipenser ruthenus* ♀) fed oxidized fish oil. *Fish Physiol Biochem*, 43, 1315-1323.
12. Santinha PJM., Gomes EFS., Coimbra JO., 1996. Effects of protein level of the diet on digestibility and growth of gilthead sea bream, *Sparus auratus*. *Aquacult Nutr*, 2, 81-87.
13. Konuk T., 1981. Practical physiology. Faculty of Vet., University of Ankara Press, Ankara.
14. Ishihara N., Chu DC., Akachi S., Juneja LR., 2001. Improvement of intestinal microflora balance and prevention of digestive and respiratory organ diseases in calves by green tea extracts. *Livest Prod Sci*, 68, 217-229.
15. Cabrera C., Artacho R., Gimenez R., 2017. Beneficial effects of green tea. *Fish Physiol Biochem*, 43, 1315-1323.
16. Kovacs EM., Lejeune MP., Nijss I., Westerterp-Plantenga MS., 2004. Effects of green tea on weight maintenance after body-weight loss. *Br J Nutr*, 91, 431-437.
17. Juhel C., Armand M., Pafumi Y., Rosier C., Vandermander J., Larson D., 2000. Green tea extract (AR25) inhibits lipolysis of triglycerides in gastric and duodenal medium *in vitro*. *J Nutr Biochem*, 11, 45-51.
18. Hamadouche NA., Lazeb H., Kaddouri A., Guellil H., Slimani M., Aoues A., 2016. Ameliorated effects of green tea extract on lead induced kidney toxicity in rats. *Algerian J Nat Prod*, 3, 130-137.



Glutamat Eksitotoksitesisi Oluşturulan Primer Kortikal Nöron Kültürlerinde Parietinin Nöroprotektif Etkisinin İncelenmesi

Gülşah GÜNDOĞDU¹, Ali TAGHİZADEHGHLEHJOUGHİ², Betül ÇİÇEK¹, Onur ŞENOL³, Kemal
Alp NALCI⁴, Alper Kürşat DEMİRKAYA⁵✉, Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU⁴

1. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fiziyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
2. Atatürk Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
3. Atatürk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
4. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
5. Bilecik Şeyh Edebalı Üniversitesi, Meslek Yükseokulu, Gıda İşleme Bölümü, Bilecik, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
08.12.2017	29.12.2017	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Gündoğdu G, Taghizadehghalehjoughi A, Çiçek B, Şenol O, Nalcı KA, Demirkaya AK, Hacımüftüoğlu A: Glutamat Eksitotoksitesisi Oluşturulan Primer Kortikal Nöron Kültürlerinde Parietinin Nöroprotektif Etkisinin İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 165-173, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.363858

Öz: Glutamat merkezi sinir sisteminin en önemli nörotransmitter maddesidir. Aşırı glutamat salınımı, glutamat reseptörlerinin uzun süreli aktivasyonuna neden olarak eksitotoksisteye yol açar. Parietin, *Rheum ribes* L.'den izole edilen çeşitli farmakolojik özelliklere sahip bir antrakinondur. Bu çalışmada glutamat eksitotoksitesisine maruz bırakılan primer kortikal nöron kültürlerinde parietinin nöroprotektif etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Primer kortikal nöronlar, yeni doğan Sprague Dawley cinsi sıçanlardan elde edildi. Glutamat eksitotoksitesisini stimüle etmek için, kültür medyumuna 10^{-5} M konsantrasyonda glutamat uygulandı. Daha sonra hücrelere 2.5-500 μ M konsantrasyonda parietin uygulanarak 24 saat inkübasyona bırakıldı. Hücre canlılık oranı MTT yöntemi ile belirlendi. Aynı zamanda hücrelerde oluşan reaktif oksijen türleri total antioksidan seviyesi (TAS)- total oksidan seviyesi (TOS) yöntemi ile değerlendirildi. MTT analiz sonuçlarına göre 10 μ M parietinin glutamat eksitotoksitesisine karşı nöronlarda anlamlı düzeyde koruyucu etkiye sahip olduğu tespit edildi. TAS-TOS analiz sonuçlarına göre 10 μ M parietinin hücrelerde antioksidan seviyesini anlamlı ölçüde artırırken, parietinin yüksek konsantrasyonlarının hücrelerdeki oksidan seviyesini anlamlı ölçüde arttırdığı gözlemlendi. Bu çalışma sonucuna göre parietinin primer kortikal nöron hücrelerinde glutamat eksitotoksitesisine karşı koruyucu etkiye sahip olduğu ve glutamat eksitotoksitesisine karşı teropatik bir ajan olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Glutamat, Parietin, Primer nöron kültürü.

Investigation of Protective Effect of Parietin Against Glutamate Excitotoxicity in Primary Cortical Neuron Culture

Abstract: Glutamate is the most important neurotransmitter in the central nervous system. Excitotoxicity is induced by excessive release of glutamate followed by overstimulation of glutamate receptor. Parietin is an anthraquinone from *Rheum ribes* L. and has been reported to have a variety of pharmacological properties. The present study investigated the neuroprotective effects of parietin in primary cortical neuron cultures against glutamate excitotoxicity. Primary rat cortical neuronal cultures were obtained from new born Sprague Dawley rats. Cultures were subject to 10^{-5} M glutamate to stimulate glutamate excitotoxicity. After that, cells were treated with 2.5-500 μ M concentrations of parietin during 24 h in dose dependent manner. Cell viability was determined using MTT assay. Reactive oxygen species generation was assessed using the total antioxidant status (TAS)-total antioxidant status (TOS) assays. The results of MTT analysis showed that 10 μ M parietin effectively protected neuron from glutamate toxicity. According to the results of TAS-TOS analysis, it showed that 10 μ M parietin significantly increased the antioxidant level in the cells, whereas high concentrations of parietin significantly increased the oxidant level in the cells. The results of this study suggest that parietin had neuroprotective effect against glutamate excitotoxicity in primary rat cortical neuron cultures and it may be conceive that parietin can be used as a therapeutic agent for glutamate excitotoxicity.

Keywords: Glutamate, Parietin, Primary neuron culture.

✉ Alper Kürşat DEMİRKAYA
Bilecik Şeyh Edebalı Üniversitesi, Meslek Yükseokulu, Gıda İşleme Bölümü, Bilecik, TÜRKİYE.
e-posta: alperkursorat.demirkaya@bilecik.edu.tr

GİRİŞ

Glutamat merkezi sinir sisteminin en önemli eksitator nörotransmitter maddesi olup sinaptik plastisite, öğrenme, hafıza ve diğer bilişsel işlevleri içeren çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadır (1-3). Glutamat, memeli santral sinir sisteminde milimolar konsantrasyonlarda bulunmaktadır (4). Sinaptik aktivite, sinaptik aralıkta glutamat konsantrasyonunda artışa yol açmakta fakat glutamat taşıyıcıları tarafından glutamatın geri alınımı ile ekstraselüler glutamat konsantrasyonu korunmaktadır (5-7). Glutamat beyin fonksiyonlarında önemli rol oynamasına rağmen merkezi sinir sistemindeki yüksek konsantrasyonu glutamatın nörotoksik etkisinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (8). Aşırı glutamat salınımı sonucu, glutamat reseptörlerinin uzun süreli aktivasyonuna bağlı oluşan kalsiyumun aşırı yüklenmesi eksitotoksisteye yol açar ve bu durum nörodejenerasyonda önemli role sahiptir. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonundaki artış sonucu proteaz aktivasyonu, mitokondriyal disfonksiyon ve reaktif oksijen türlerinde artış görülmekle birlikte nöronal hücre ölümü gerçekleşmektedir (9,10). Oksidatif stres, nöropatolojik süreçlerde nöronal hücre ölümünü tetikleyen önemli bir faktördür. Glutamat konsantrasyonundaki artış, glutatyon sentezini engelleyerek ve aşırı reaktif oksijen üretimi (ROS)'ne yol açarak oksidatif strese neden olmaktadır (8,11,12). Glutamatın yol açtığı toksisite; huntington, amyotrofik lateral skleroz, alzheimer, parkinson gibi çeşitli hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (10,13). Bu nedenle, nöronal hücrelerin glutamata bağlı eksitotoksisteye karşı korunması, nörodejeneratif hastalıklar için etkili bir terapötik yaklaşım olabilir (8). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, antrakinin yapıları bioaktif bileşiklerin oksidatif strese karşı antioksidan aktivitelerine yoğunlaşmakta ve bu özellikleri nöronal proteksiyon ile ilişkilendirilmektedir (14,15). Işkın (*Rheum ribes* L.) geleneksel tedavi yöntemlerinde kullanılan kuzukulağigiller (Polygonaceae) familyasına ait bir ravent türüdür

(16). Parietin, *Rheum ribes* L.'den izole edilen turuncu renkte antrakinin özelliğine sahip bir bileşiktir. Antrakinin bir bileşik olan parietin; laksatif, hepatoprotektif, anti-inflamatuvar ve anti-mikrobiyal gibi çeşitli farmakolojik özelliklere sahiptir. Aynı zamanda parietin, apoptozu indükleyerek, hücre siklusunun blokajı ve metastazı suprese ederek antikanser özellik göstermektedir (17-20). Literatürde parietinin glutamat eksitotoksistisine karşı nöroprotektif etkisini inceleyen bir çalışma mevcut değildir. Bu nedenle çalışmada, primer kortikal nöron hücre kültüründe, *Rheum ribes* L.'den izole edilen antrakinin bir bileşik olan parietinin glutamat toksistisine karşı nöroproteksiyonunun araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada, in vitro koşullarda hücre kültürü yöntemleri kullanılarak, sıçanlardan elde edilen primer kortikal nöron kültüründe oluşturulan glutamat toksistisine karşı, Işkından (*Rheum ribes* L.) izole edilen parietinin sitotoksik ve antioksidan etkileri incelendi. Parietin, *Rheum ribes* L. bitkisinden izole edildi. Glutamat, Cayman Chemical'den sağlandı.

Primer Kortikal Nöron Kültürünün Hazırlanması

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda (Erzurum, Türkiye) yürütülmüştür. Çalışmada "Laboratuvar Hayvanlarının Kullanılması ve Bakımı Kılavuzunda" belirtilen hükümlere uyulmuş olup Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyle Yerel Etik Kurulundan 27.03.2017 tarih ve 42190979-945-E.1700095549 sayılı etik kurul onayı alındı. Çalışmada korteks nöronlarının elde edilmesi için Sprague-Dawley cinsi yeni doğmuş 24 saati doldurmamış sıçan yavrusu kullanıldı. Kısaca sıçanlar hızlıca dekapite edildikten sonra çıkarılan korteksler 5 mL Hanks'Balanced Salt solution (HBSS) solüsyonuna aktarılarak bistüri yardımıyla makro parçalanma ve daha sonra Tripsin-Etilendiamintetraasetik asit

(EDTA) (%0.25 tripsin-% 0.02 EDTA) ile mikro parçalamaya yapıldı. Sonra, hücreler 1200 rpm'de 5 dk boyunca santrifüj edildi. Dibe çöken hücreler hücresel medyum (%88 NBM (Nöro bazal medyum, Gibco, USA), %10 FBS (Fetal sığır solüsyonu, Gibco, USA), %2 B-27 (Suplament, Thermo Fisher, Germany), %0.1 antibiyotik (Penicillin–Streptomycin) ve amfotrisin B (Thermo Fisher, Germany) eklendi. Hücreler %5 CO₂ ve 37°C'e sıcaklıkta, 3 gün ara ile besiyeri değiştirilerek 10 gün inkübe edildi.

Glutamat Eksitotoksitesinin Oluşturulması ve Test Ajanlarının Uygulanması

Eksitotoksik hasarı oluşturabilmek için, primer kortikal nöronlar 10⁻⁵ M konsantrasyonda glutamata 5 dk süreyle maruz bırakıldı. Daha sonra parietinin glutamat eksitotoksitesini üzerindeki etkisini değerlendirmek için, farklı konsantrasyonlarda (2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 µM) parietin uygulanarak 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin ardından 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromid, sarı tetrazol (MTT) analiz yöntemi ile hücre canlılığı (sitotoksiste durumu) değerlendirildi.

MTT Analizi

Sitotoksik etkiler, sitotoksitenin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan enzimatik test yöntemlerinden biri olan MTT analiz yöntemi ile belirlendi. Yöntem, canlı hücreler tarafından aktif olarak absorbe edilen MTT'nin tetrazolium halkasının mitokondriyal süksinat dehidrogenaz tarafından katalize edilerek, metabolik olarak aktif hücrelerin sayısının göstergesi olarak kabul edilen mavi-mor renkli insolubl formazana indirgenmesine dayanmaktadır. Parietinin, glutamat toksitesini oluşturulan primer kortikal hücreleri üzerindeki olası sitotoksik etkisi MTT kiti ile üretici firmanın (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA) kullanım talimatına göre uygulandı. Steril PBS içinde hazırlanan stok MTT solüsyonundan %10'luk konsantrasyonda 96 well-plate'lere ilave edildi. 37°C'de %5 CO₂ içeren ortamda 4 saat inkübasyona

bırakıldıktan sonra 100 µL DMSO ilave edilerek formazan kristallerinin çözünmesi sağlandı. Formazan absorbansı ELISA reader (MicroQuant, Reader, BioTek, Winooski, VT, USA) ile 570 nm dalga boyunda değerlendirildi.

Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Ölçümü

Medium TAS düzeyi Rel Assay Total Antioksidan Status (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Turkey) ticari kiti kullanılarak ölçüldü. Bu yöntem, hidrojen peroksit varlığında ABTS (2,2'-Azino-di-[3-aethylbenzthiazolinesulphonate) molekülünün ABTS⁺ molekülüne okside olmasına dayanmaktadır. ABTS radikali, antioksidan varlığına göre mavi ve yeşil rengini kaybetmektedir. Örnekte bulunan antioksidanlar konsantrasyonları ile orantılı olarak renkteki açılmayı hızlandırır. Renk değişikliği, 660 nm dalga boyunda ölçülerek değerlendirildi. Sonuçlar µmol Trolox Equiv/mg protein başına ifade edildi.

Total Oksidan Seviyesi (TOS) Ölçümü

Medium TOS düzeyi Rel Assay Total Oksidan Status (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Turkey) ticari kiti kullanılarak ölçüldü. Bu yöntem, örnekte bulunan oksidanların, Fe⁺²-o-dianisidine kompleksini Fe⁺³ iyonuna okside etmesine dayanmaktadır. Fe⁺³ iyonu asidik ortamda ksilenol oranı ile renkli bir kompleks yapar ve renk değişimi, örnekte bulunan oksidan moleküllerinin konsantrasyonu ile orantılı olup spektrofotometrik olarak ölçülebilir. Renk değişikliği 530 nm dalga boyunda ölçülerek değerlendirildi. Ölçüm hidrojen peroksit ile kalibre edildi ve sonuçlar µmol H₂O₂ Equiv/mg protein başına ifade edildi.

İstatistiksel Analiz

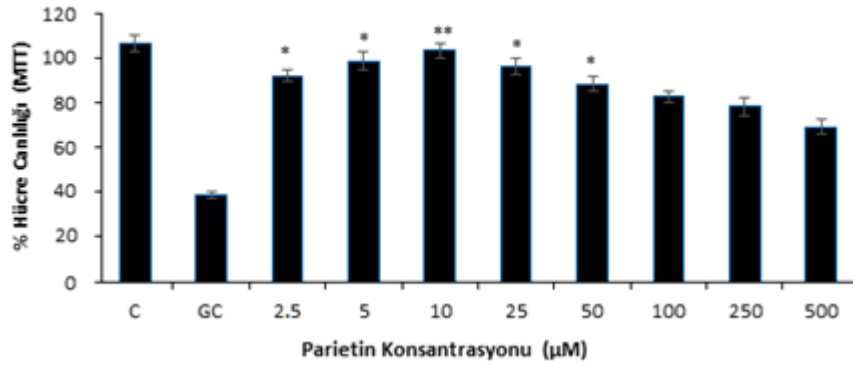
Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verildi. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırma One-way ANOVA ve tukey HSD yöntemi kullanılarak hesaplandı. Tüm hesaplamalar, istatistiksel analiz için SPSS 20 yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel önemi göstermek için P<0.05 değerleri dikkate alındı.

BULGULAR

MTT Test Sonuçları

Parietin sitotoksik etkisi MTT yöntemi kullanılarak belirlendi. Primer kortikal nöron kültüründe oluşturulmuş olan glutamat toksisitesi üzerine çeşitli konsantrasyonlarda (2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 μM) uygulanan parietinin sitotoksik etkisi şekil 1'de gösterildi. Parietin uygulanan glutamat toksisitesi oluşturulmuş primer nöron hücrelerinin 24 saatlik inkübasyon süreci sonunda elde edilen hücre canlılığı değerlendirilmesinde,

$10^5\mu\text{M}$ glutamat uygulamasını takiben hücre canlılık oranının %36.6'ya düştüğü gözlemlendi. Parietin uygulamasına takiben hücre canlılığında artış olduğu tespit edildi. En belirgin artış 5-10 μM parietin uygulamasına takiben gözlenirken (sırasıyla %92 ve %96.87), en az artış 500 μM parietin uygulamasına takiben (%67) görüldü. 2.5-50 μM konsantrasyonda parietin uygulanan grupların glutamat kontrole göre hücre canlılığı üzerine istatistiksel olarak anlamlı derecede koruyucu etkiye sahip olduğu gözlenirken ($P<0.05$), en belirgin koruyucu etki 10 μM parietin uygulanan grupta tespit edildi ($P<0.001$) (Şekil 1).



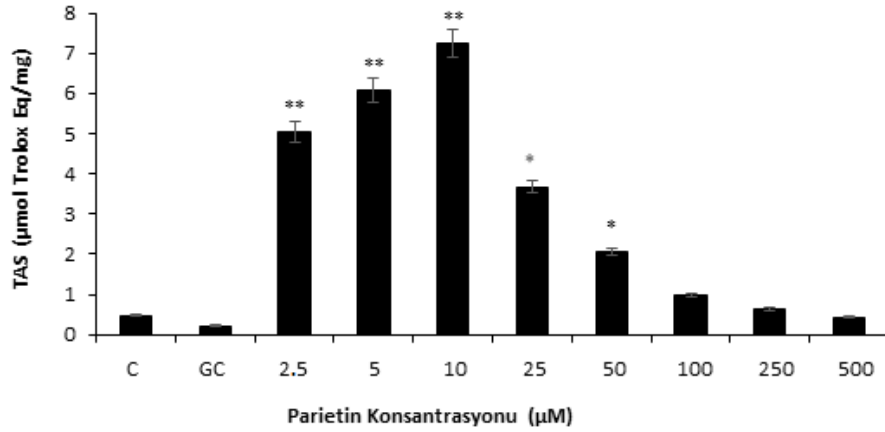
Şekil 1. Primer kortikal nöron kültüründe çeşitli konsantrasyonlardaki parietinin sitotoksik etkileri [$*P<0.05$; $**P<0.001$ istatistiksel olarak glutamat kontrole göre anlamlılık; C: kontrol (Herhangi bir madde ile tedavi edilmemiş hücre), GC: Glutamat kontrol ($10^{-5}\mu\text{M}$ glutamat maruz bırakılmış hücre)].

Figure 1. The cytotoxicity effect of parietin in primary cortical neuron cultures [$*P<0.05$; $**P<0.001$ difference from glutamate control; C: control (untreated cells), GC: Glutamate control (cells treated with $10^{-5}\mu\text{M}$ glutamate)].

Total Antioksidan Seviyesi ve Total Oksidan Seviyesi Sonuçları

Primer nöron kültüründe oluşturulmuş olan glutamat toksisitesi üzerine 24 saat süreyle çeşitli konsantrasyonlarda (2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 μM) parietin uygulamasını takiben hücre kültür ortamı alındı ve ticari kit yardımı ile antioksidan ve oksidan kapasiteleri ölçüldü. TAS sonuçları 2.5, 5, 10 μM parietinin hem pozitif hem negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında antioksidan kapasitesini

istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttırdığını gösterdi ($P<0.001$). Yüksek doz parietin uygulaması ile 25 ve 50 μM parietin uygulanan gruplarda glutamat kontrole göre anlamlı artış ($P<0.05$) olmakla beraber antioksidan kapasitede doz artışı ile paralel azalma tespit edildi. Aynı zamanda TAS sonuçlarının MTT sonuçları ile paralel olduğu ve 10 μM parietinin hem hücre canlılığında hem de antioksidan kapasitede en yüksek etkiye sahip olduğu tespit edildi (Şekil 2).

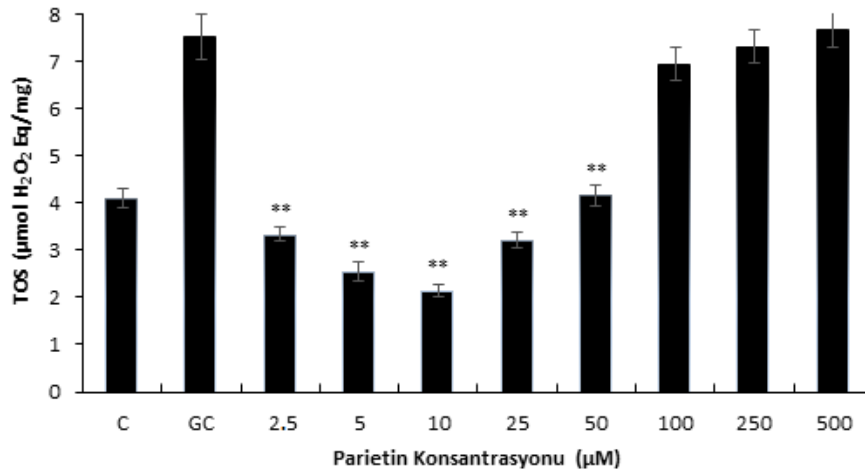


Şekil 2. 24 saat çeşitli konsantrasyonlarda parietin ile tedavi edilen primer kortikal nöron kültüründe ortalama total antioksidan seviyesi [$*P<0.05$; $**P<0.001$ istatistiksel olarak glutamat kontrole göre anlamlılık; C: kontrol (Herhangi bir madde ile tedavi edilmemiş hücre), GC: Glutamat kontrol (10^{-5} µM glutamat maruz bırakılmış hücre)].

Figure 2. Medium total antioxidant status for cortical neuron culteres were treated different concentration parietin for 24 hours [$*P<0.05$; $**P<0.001$ difference from glutamate control; C: control (untreated cells), GC: Glutamate control (cells treated with 10^{-5} µM glutamate)].

TOS sonuçları hücre kültür ortamında oksidan ve serbest radikal seviyesini gösterir. Elde edilen bulgular, 100-500 µM parietin uygulanan grupların glutamat kontrol grubuna göre en yüksek oranda oksidan kapasiteye sahip olduğunu ve bunun da intrasellüler stres faktörünün toksisiteyi ve artan hücre ölümünü indüklediğini gösterdi. TAS sonuçları

ile uyumlu olarak 2.5-50 µM parietin uygulanan gruplarda glutamat kontrol grubuna göre TOS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildi ($P<0.001$). Bununla birlikte hem MTT hem de TAS sonuçlarımızla uyumlu olarak 10 µM parietin uygulamasını takiben oksidan seviyenin (stres faktör seviyesinin) en düşük olduğu tespit edildi.



Şekil 3. 24 saat çeşitli konsantrasyonlarda parietin ile tedavi edilen primer kortikal nöron kültüründe ortalama total oksidan seviyesi [$**P<0.001$ istatistiksel olarak glutamat kontrole göre anlamlılık; C: kontrol (Herhangi bir madde ile tedavi edilmemiş hücre), GC: Glutamat kontrol (10^{-5} µM glutamat maruz bırakılmış hücre)].

Figure 3. Medium total oxidant status for cortical neuron culteres were treated different concentration parietin for 24 hours [$**P<0.001$ difference from glutamate control; C: control (untreated cells), GC: Glutamate control (cells treated with 10^{-5} µM glutamate)]

TARTIşMA ve SONUÇ

Eksitotoksiste terimi genellikle MSS'de glutamat reseptörlerinin eksitatör amino asitler tarafından aşırı veya uzun süreli aktivasyonu ile tetiklenen nöronal dejenerasyon olarak tanımlanmıştır (21,22). Glutamat eksitotoksitesi aynı zamanda oksidatif strese yol açarak nöronal hücre ölümünü hızlandırmaktadır (6,23,24). Alzheimer, Parkinson, Huntington ve multiple skleroz gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde, glutamat eksitotoksitesi önemli bir rol oynamaktadır (25,26). Bir antrakinin türevi olan parietinin; hepatoprotektif, anti-mikrobik, anti-inflamatuar, anti-kanser ve anti-metastatik gibi çeşitli farmakolojik etkilere sahip olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (17-19,27). Fakat parietinin glutamat eksitotoksitesine karşı nöroprotektif etkisini inceleyen herhangi bir çalışma literatürde mevcut değildir. Bu çalışma, glutamat toksisitesine maruz bırakılan primer kortikal nöron hücrelerinde parietinin sitotoksik ve antioksidan etkisinin incelenmesi bakımından literatürde bir ilktir. Kolorimetrik bir analiz olan MTT, proliferatif ve sitotoksik çalışmalarda hücre canlılık miktarının tespit edildiği bir yöntemdir. MTT hızlı, kullanışlı ve ekonomik bir teknik olduğu için hücre kültür çalışmalarında hücre canlılık miktarının belirlenmesi bakımından oldukça popüler bir yöntem haline gelmiştir (28). Wang ve ark. (29) tarafından yapılan bir çalışmada parietinin hepatosellüler karsinom hücre hattında (HepG2) sitotoksiteye neden olurken normal dermal fibroblast hücre hattında herhangi bir sitotoksik etkiye yol açmadığı bildirilmiştir.

Araştırmada, glutamat toksisitesi oluşturulmuş primer kortikal nöron hücrelerinde hücre canlılığında anlamlı derecede azalma tespit edildi. Glutamat toksisitesi oluşturulmuş primer kortikal nöron hücrelerine parietin uygulamasını takiben hücre canlılığında artış tespit edildi. Bu artış düşük dozlarda %92-97'lere kadar çıkarken doz arttıkça çok daha düşük seviyelerde görüldü. Glutamatın neden olduğu eksitotoksiste sonucu, glutamat reseptörlerinin aşırı

aktivasyonuna bağlı olarak ROS ve hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunda kontrolsüz bir artış görülmektedir. Aynı zamanda glutamat, mitokondriyal membranda kısmi depolarizasyona yol açarak hücre içi ROS konsantrasyonu ve oksidasyonunda artışı tetikleyerek nöronal dejenerasyona neden olmaktadır (30,31). Serbest radikallerin neden olduğu hasardan hücreyi korumak için organizmalar antioksidan sistemlerini devreye sokarak intraselüler ortamı ROS'ların etkisinden korurlar (32). Birçok çalışmada, antrakininlerin serbest radikal temizleme aktivitesine sahip güçlü bir antioksidan olduğu belirtilmiştir (33,34). Glutamat eksitotoksitesi ve antrakininler arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmaların sayısı oldukça azdır. Gu ve ark. (35) tarafından yapılan çalışmada beyin hasarı oluşturulmuş ratların hipokampus CA1 bölgesinde antrakinin yapılı emodin Ca^{+2} salınımı bloke ederek glutamat eksitotoksitesine karşı protektif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda glutamat toksisitesi oluşturulmuş primer kortikal nöron hücrelerinde düşük dozlarda parietin uygulamasının, kontrole göre total antioksidan seviyesinde anlamlı derecede arttırdığı tespit edildi. Fakat yüksek dozlarda parietin uygulamasının antioksidan aktivitesini azalttığı tespit edildi. Aynı zamanda düşük dozlarda parietin uygulamasının glutamat kontrole göre total oksidan seviyesinde anlamlı derecede azalma, yüksek dozlarda ise parietin uygulaması ile anlamlı derecede artma gözlemlendi. Çalışmamızda hem hücre canlılık testi hem de antioksidan ve oksidan seviye testi birbirleri ile korele olup, özellikle 10 μ M parietin uygulamasının en yüksek oranda hücre canlılığını koruduğu ve antioksidan kapasiteye sahip olduğu aynı zamanda da oksidan seviyenin (stres faktör seviyesinin) en düşük olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak; glutamat toksisitesi oluşturulan primer kortikal nöron kültüründe, antrakinin bir bileşik olan parietin, nöroprotektif bir etkiye sahiptir. Parietinin, bu etkiyi hücrelerde antioksidan özelliği artırırken oksidan kapasitenin azalmasını sağlayarak gösterdiği düşünülmektedir. Parietinin uygulamasının bu etkilerine bakıldığında, konsantrasyon bağımlı

olarak glutamat eksitotoksisitesine karşı koruyucu ve tedavi amaçlı olarak kullanılabilir bir ajan olabileceği görölmektedir. Parietin ve glutamat eksitotoksisitesi arasındaki ilişkiyi açıklayan herhangi bir literatür bilgisi mevcut olmayıp, çalışmamız bu alanda yapılmış ilk çalışmadır. Parietinin glutamat toksisitesi üzerine etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için, hem in vitro hem de in vivo farklı kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Albright TD., Jessell TM., Kandel ER., Posner MI., 2000. Neural science: a century of progress and the mysteries that remain. *Cell*, 100, 1-55.
- Elmann A., Telerman A., Ofir R., Kashman Y., 2017. Glutamate Toxicity to Differentiated Neuroblastoma N2a Cells Is Prevented by the Sesquiterpene Lactone Achillolide A and the Flavonoid 3, 5, 4'-Trihydroxy-6, 7, 3'-Trimethoxyflavone from *Achillea fragrantissima*. *J Mol Neurosci*, 62, 99-105.
- Wen SY., Li AM., Mi KQ., Wang RZ., Li H., Liu HX., Xing Y., 2017. In vitro neuroprotective effects of ciliary neurotrophic factor on dorsal root ganglion neurons with glutamate-induced neurotoxicity. *Neural Regen Res*, 12, 1716-1721.
- Hacimuftuoglu A., Tatar A., Cetin D., Taspınar N., Saruhan F., Okkay U., Turkez H., Unal D., Stephens RL., Suleyman H., 2016. Astrocyte/neuron ratio and its importance on glutamate toxicity: an in vitro voltammetric study. *Cytotechnology*, 68, 1425-1433.
- Kanamori K., 2016. In vivo N-15 MRS study of glutamate metabolism in the rat brain. *Analytical biochemistry*, 529, 179-192.
- Zhao J., Verwer R., van Wamelen D., Qi XR., Gao SF., Lucassen P., Swaab D., 2016. Prefrontal changes in the glutamate-glutamine cycle and neuronal/glia glutamate transporters in depression with and without suicide. *Journal of psychiatric research*, 82, 8-15.
- Kostic M., Zivkovic N., Cvetanovic A., Stojanovic I., Colic M., 2017. IL-17 signalling in astrocytes promotes glutamate excitotoxicity: Indications for the link between inflammatory and neurodegenerative events in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis and related disorders*, 11, 12-17.
- Song JH., Kang K., Choi Y., 2017. Protective effect of casuarinin against glutamate-induced apoptosis in HT22 cells through inhibition of oxidative stress-mediated MAPK phosphorylation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 27, 5109-5113.
- Zhao H., Ji ZH., Liu C., Yu XY., 2015. Neuroprotective mechanisms of 9-hydroxy epinootkatol against glutamate-induced neuronal apoptosis in primary neuron culture. *J Mol Neurosci*, 56, 808-814.
- Jia N., Sun Q., Su Q., Chen G., 2016. SIRT1-mediated deacetylation of PGC1 α attributes to the protection of curcumin against glutamate excitotoxicity in cortical neurons. *Biochemical and biophysical research communications*, 478, 1376-1381.
- Floyd RA., Hensley K., 2002. Oxidative stress in brain aging: implications for therapeutics of neurodegenerative diseases. *Neurobiology of aging*, 23, 795-807.
- Kim HT., Prochiantz A., Kim JW., 2016. Donating Otx2 to support neighboring neuron survival. *BMB reports*, 49, 69-70.
- Mehta A., Prabhakar M., Kumar P., Deshmukh R., Sharma P., 2013. Excitotoxicity: bridge to various triggers in neurodegenerative disorders. *Eur J Pharmacol*, 698, 6-18.
- Verrier J., Kochanek P., Jackson T., 2013. Anthraquinone-2-sulfonic acid (AQ2S) is a novel neurotherapeutic agent. *Cell death & Disease*, 4, 451-459.
- Wei G., Wu Y., Gao Q., Zhou C., Wang K., Shen C., Wang G., Wang K., Sun X., Li X., 2017 Effect of Emodin on Preventing Postoperative Intra-Abdominal Adhesion Formation. *Oxid Med Cell Longev*, 2017.
- Turkmen O., Crka M., Suat E., 2005. Initial evaluation of a new edible wild rhubarb species

- (*Rheum ribes* L.) with a modified weighted scaling index method. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8, 763-765.
17. Hong JY., Chung HJ., Bae SY., Trung TN., Bae K., Lee SK., 2014. Induction of cell cycle arrest and apoptosis by physcion, an anthraquinone isolated from rhubarb (rhizomes of *Rheum tanguticum*), in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Journal of cancer prevention*, 19, 273.
18. Pang MJ., Yang Z., Zhang XL., Liu ZF., Fan J., Zhang HY., 2016. Physcion, a naturally occurring anthraquinone derivative, induces apoptosis and autophagy in human nasopharyngeal carcinoma. *Acta Pharmacologica Sinica*, 37, 1623-1640.
19. Li W., Li F., Zhu Y., Song D., 2017. Physcion 8-O- β -glucopyranoside regulates cell cycle, apoptosis, and invasion in glioblastoma cells through modulating Skp2. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95, 1129-1138.
20. Wang Q., Jiang Y., Guo R., Lv R., Liu T., Wei H., Ming H., Tian X., 2017. Physcion 8-O- β -glucopyranoside suppresses tumor growth of Hepatocellular carcinoma by downregulating PIM1. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 92, 451-458.
21. Michaels R., Rothman SM., 1990. Glutamate neurotoxicity in vitro: antagonist pharmacology and intracellular calcium concentrations. *Journal of Neuroscience*, 10, 283-292.
22. Sasaki-Hamada S., Suzuki A., Sanai E., Matsumoto K., Oka JI., 2017. Neuroprotection by chotosan, a Kampo formula, against glutamate excitotoxicity involves the inhibition of GluN2B-, but not GluN2A-containing NMDA receptor-mediated responses in primary cultured cortical neurons. *J Pharmacol Sci*, 135, 134-137.
23. Coyle JT., Puttfarcken P., 1993. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science-New York Then Washington*, 262, 689-699.
24. Depp C., Bas-Orth C., Schroeder L., Hellwig A., Bading H., 2017. Synaptic activity protects neurons against calcium-mediated oxidation and contraction of mitochondria during excitotoxicity. *Antioxidants & Redox Signaling*, 28, 530-537.
25. Lipton SA., Rosenberg PA., 1994. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *New England Journal of Medicine*, 330, 613-622.
26. Kortagere S., Mortensen OV., Xia J., Lester W., Fang Y., Srikanth YV., Salvino JM., Fontana ACK., 2018. Identification of novel allosteric modulators of glutamate transporter EAAT2. *ACS Chemical Neuroscience*, 9 (3), 522-534.
27. Gao F., Liu W., Guo Q., Bai Y., Yang H., Chen H., 2017. Physcion blocks cell cycle and induces apoptosis in human B cell precursor acute lymphoblastic leukemia cells by downregulating HOXA5. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 94, 850-857.
28. Sylvester PW., 2011. Optimization of the tetrazolium dye (MTT) colorimetric assay for cellular growth and viability. *Drug Design and Discovery: Methods and Protocols*, 32, 157-168.
29. Wang Q., Wang Y., Xing Y., Yan Y., Guo P., Zhuang J., Qin F., Zhang J., 2016. Physcion 8-O- β -glucopyranoside induces apoptosis, suppresses invasion and inhibits epithelial to mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 83, 372-380.
30. Büyükkuroğlu ME., Gepdiremen A., Hacimüftüoğlu A., Oktay M., 2003. The effects of aqueous extract of *Lavandula angustifolia* flowers in glutamate-induced neurotoxicity of cerebellar granular cell culture of rat pups. *Journal of Ethnopharmacology*, 84, 91-94.
31. Ghezzi F., Monni L., Corsini S., Rauti R., Nistri A., 2017. Propofol Protects Rat Hypoglossal Motoneurons in an In Vitro Model of Excitotoxicity by Boosting GABAergic Inhibition and Reducing Oxidative Stress. *Neuroscience*, 367, 15-33.
32. Hara Y., McKeehan N., Dacks P.A., Fillit H.M., 2017. Evaluation of the Neuroprotective Potential of N-Acetylcysteine for Prevention and Treatment

- of Cognitive Aging and Dementia. *J Prev Alzheimers Dis*, 4, 201-206.
33. Brkanac SR., Geric M., Gajski G., Vujcic V., Garaj-Vrhovac V., Kremer D., Domijan AM., 2015. Toxicity and antioxidant capacity of *Frangula alnus* Mill. bark and its active component emodin. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73, 923-929.
34. Sun YN., Li W., Lee SH., Jang HD., Ma JY., Kim YH., 2017. Antioxidant and anti-osteoporotic effects of anthraquinones and related constituents from the aqueous dissolved *Aloe* exudates. *Natural Product Research*, 23, 1-4.
35. Gu JW., Hasuo H., Takeya M., Akasu T., 2005. Effects of emodin on synaptic transmission in rat hippocampal CA1 pyramidal neurons in vitro. *Neuropharmacology*, 49, 103-111.



Yumurta Tavuğu Rasyonlarına Organik Selenyum ve Vitamin E İlavésinin Kan ve Yumurtada Bazı Biyoelement Düzeyleri Üzerine Etkileri*

Menekşe SOYDAN¹, Necati UTLU²✉

1. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, TÜRKİYE.
2. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Erzurum, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
26.08.2017	08.01.2018	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Soydan M, Utlu N: Yumurta Tavuğu Rasyonlarına Organik Selenyum ve Vitamin E İlavésinin Kan ve Yumurtada Bazı Biyoelement Düzeyleri Üzerine Etkileri. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 174-181, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.336198

Öz: Bu çalışmada, yumurta tavuğu rasyonlarına vitamin E (Vit-E, α -tokoferol asetat) ve selenyumun (selenometiyonin) tek başına ve kombine olarak ilavesinin serum, yumurta akı ve yumurta sarısında selenyum, bakır, çinko, demir, kalsiyum ve magnezyum düzeyleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada, 96 adet beyaz Lohman yumurta tavuğu, eşit sayıda (n=24) 4 gruba ayrıldı. Gruplar sırasıyla bazal yem (Kontrol), bazal yem + 250 mg/kg Vit-E (D-I), bazal yem + 0.9 mg/kg Se (D-II) ve bazal yem + 250 mg/kg Vit-E+ 0.9 mg/kg Se (D-III) içeren rasyonlar ve su ile 12 hafta, ad libitum olarak beslendi. Deneme sonunda, her gruptan alınan kan ve yumurtada biyoelement düzeyleri, ICP-MS cihazı ile analiz edildi. Deneme gruplarının serum, yumurta sarısı ve yumurta akında Se, Zn ve Fe düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli derecede artarken (P<0.05), Cu düzeyleri serum ve yumurta akında önemli derecede azaldığı (P<0.05), yumurta sarısında ise 0.9 mg/kg Se ilave edilen rasyonlar ile beslenen gruptaki azalmanın önemli (P<0.05) olduğu, Ca ve Mg düzeylerinin ise etkilenmediği bulunmuştur. Sonuç olarak, organik selenyumun ve vitamin E'nin yumurtanın kalitesinin artırılmasında ve raf ömrünün uzatılmasında, yumurta tavuğu rasyonlarına tek başına ve kombinasyonu şeklinde ilave edilmesi önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyoelementler, Kan, Yumurta, Yumurtacı tavuk.

Effects of Organic Selenium and Vitamin E Supplementation on Some Bioelements in Blood and Egg of Laying Hens

Abstract: This experiment was conducted to evaluate the effects of dietary vitamin E (Vit-E, α -tocopherol acetate) and selenium (selenomethionine) and a combination of the two, on the selenium, copper, zinc, iron, calcium and magnesium levels in the serum, yolk and albumen of egg. Ninety-six white Lohman LSL laying hens were randomly divided into 4 equal groups (n=24). The groups were fed with the diets that consisted of basal diet (Control), basal diet + 250 mg/kg Vit-E (Trial-I), basal diet + 0.9 mg/kg Se (Trial-II) and basal diet + 250 mg/kg Vit-E + 0.9 mg/kg Se (Trial-III) respectively for 12 weeks. Diet and water were provided as ad libitum. At the end of the experiment, samples of the blood and egg were collected and stored at -20 °C until analyzed. In samples bioelements levels were analyzed by ICP-MS. As a result, the addition of organic selenium and Vit-E alone and in combination to laying hens rations were increased Se, Zn and Fe levels in serum, egg white and egg yolk, Cu levels decreased in serum and egg white, whereas in the egg yolk that the decrease in the group fed with rations supplemented with 0.9 mg/kg Se and the levels of Ca and Mg remained unaffected when the experimental and control groups. In conclusion, it is suggested that organic selenium and vitamin E be added alone and in combination to egg hen rations in order to increase egg quality and prolong shelf life.

Keywords: Bioelements, Blood, Egg sample, Laying hen.

✉ Necati UTLU

Atatürk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Erzurum, TÜRKİYE.
e-posta: nutlu@atauni.edu.tr

*Atatürk Üniversitesi BAP (PROJE NO: 2015/084)'si tarafından desteklenmiştir. Menekşe SOYDAN'ın tamamladığı Yüksek Lisans Tezinden üretilmiştir. I.Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresinde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

S ağırlıklı yaşam, büyüme, gelişme, zihinsel ve bedensel fonksiyonların sürekliliği için hayvansal ve bitkisel besinlerden yeterli ve dengeli alınması ile sağlanmaktadır (1). Fonksiyonel gıdaların bileşimleri üretim sırasında değiştirilerek (2), birçok hastalık riskini azaltmak amacıyla kullanılmaktadırlar (3). Yumurta ihtiva ettiği proteinler, vitaminler ve biyoelementlerin yanında kolay sindirilebilir olması, dengeli yağ asidi bileşeni, koruyucu özellikleri (4,5), bunların yanında antibiyotik etki göstermesi, doğal antioksidan özelliğe sahip olması, düşük enerji içermesinden dolayı çok önemli bir besin kaynağıdır (6). Rasyonlara katılan vitamin ve mineraller, miktar olarak düşük ve pahalı olmasına rağmen kanatlı ürünlerinin (yumurta, et) kalitesini artırmak, raf ömrünü uzatmak, serbest oksijen radikal oluşumunu engellemek ve antioksidan savunma sistemini oksidatif strese karşı desteklemek için ilave edilmelidirler (7,8). Biyoelementler, organizmada vitamin sentezi, hormon üretimi, enzim aktivitesi, hücre ozmotik basıncının düzenlenmesi, doku sentezi, enerji üretimi ve büyüme gibi pek çok önemli fizyolojik fonksiyonlarda rol almaktadırlar (9). Vücuttaki mineral maddelerin düzeyleri, tür, ırk, yaş, cinsiyet, bedensel gelişme çağı, gebelik, süt verimi, hastalık gibi stres yaratan durumlar, kimyasal formu, farklı besinlerle etkileşimi, rasyondaki miktarları ve diğer minerallerin gerek rasyondaki gerekse organizmadaki düzeyleri tarafından etkilenmektedirler (10).

Selenyum, başta glutatyon peroksidaz olmak üzere, nükleik asitlerin fonksiyonları, prostaglandin sentezi ve esansiyel yağ asitlerinin metabolizmasında rol oynayan birçok enzimin kofaktörü, bağışıklık sistemini güçlendiren ve membranları koruyan, büyümeyi, üretkenliği, üreme endeksleri ve birçok hastalığa karşı direnen bir antioksidandır (11-15).

Vitamin E'nin vücuttaki fonksiyonları; biyolojik zararların devamlılığını sağlamak, prostaglandin E sentezini arttırmak, oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına etki etmek, serbest radikallerin hücre zarına girip DNA yönetiminin etkilemesini

engellemek (16), lipid peroksidasyonu, vitamin A ve karotenin oksidasyonunu azaltarak (17,18), vücuttaki biyolojik sistemleri korumak ve oksitleyici ajanların neden olduğu kemikteki Ca kaybını önlemektir (19). Bu çalışmada, yumurta tavuğu rasyonlarına organik selenyum ve Vit-E'nin tek başına ve kombine şeklinde ilave edilmesinin serum, yumurta akı ve yumurta sarısındaki biyoelementler üzerine etkilerinin belirlenmesi ve elde edilen sonuçlardan üretilen hayvansal ürünlerin kalitesini artırmak amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada hayvan materyalini, Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'nın 04.03.2015 tarih ve 36643897-59 sayılı yazısı gereği, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma Uygulama Çiftliği Tavukçuluk Şubesi'nde mevcut 24 haftalık yaşta 96 adet beyaz Lohman ırkı yumurta tavuğu oluşturdu. Hayvanlar tam şansa bağlı deneme planına göre, her grup 6 tekerrürlü ve her tekerrürde de 4 hayvan bulunacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Hayvanlar gruplara rastgele dağıtılarak, üç katlı batarya tipi kafeslere yerleştirildi. Araştırmada %17 ham protein ve 2770 Kkal/kg ME ihtiva eden bazal yem besin madde kompozisyonu ve bileşimi Tablo 1.'de sunulmuştur. Deneme gruplarını sırasıyla bazal yem (Kontrol, D-I), bazal yem + 250 mg/kg Vitamin E (Vit-E, α -tokoferol asetat, Deneme-II, D-II), bazal yem + 0.9 mg/kg selenyum (Se, selenometiyonin), Deneme-III, D-III) ve bazal yem + 250 mg/kg Vit-E + 0.9 mg/kg Se (Deneme-IV, D-IV) içeren rasyonlar oluşturdu. Hayvanlar 12 hafta boyunca su, bazal yem, selenyum, vitamin E ve vitamin E kombinasyonlu rasyonlar ile ad libitum beslendi. Denemenin sonunda her gruptan rastgele seçilen 12 hayvanın kanat altı venasından (vena cutanea ulnaris) vakumlu tüplere kan alınarak, 3000 x g' de 5 dk. santrifüj edildi, serumları ayrıldı ve analiz edilinceye kadar -20°C'de saklandı. Her gruptan şansa bağlı olarak 12 adet yumurta alınarak, analiz yapıncaya kadar +4°C'de saklandı. Serum, yumurta

sarı, yumurta akı mikrodalga ile yakma işlemlerine tabi tutuldu ve selenyum (Se), bakır (Cu), çinko (Zn), magnezyum (Mg), demir (Fe) ve kalsiyum (Ca)

düzeyleri ICP-MS (Perkin-Elmer, Optima 2100 DV, ICP/OES, Shelton, CT 06484-4794, USA) cihazı ile analiz edildi.

Tablo 1. Araştırmada kullanılan rasyonların besin madde kompozisyonları ve bileşimleri.
Table 1. Ingredients and nutrient levels of the rations used in the experiment.

Yem Ham Maddeleri	Vit- E ve Selenyumun Rasyondaki Oranları (mg/kg)			
	D-I (n=24)	D-II (n=24)	D-III (n=24)	D-IV(n=24)
Vitamin E (α -tokoferol asetat)	-----	250	-----	250
Selenyum (selenometiyonin)	-----	-----	0.9	0.9
Buğday Kepeği	8.00	8.00	8.00	8.00
Mısır	51.81	51.81	51.81	51.81
Soya Fasulyesi KÜSPESİ	17.13	17.13	17.13	17.13
Tam Yağlı Soya	1.65	1.65	1.65	1.65
Ayçiçeği Tohumu KÜSPESİ	7.50	7.50	7.50	7.50
Mısır Gluteni	2.04	2.04	2.04	2.04
Soya Yağı	1.60	1.60	1.60	1.60
Mermer Tozu	6.82	6.82	6.82	6.82
Tuz	0.30	0.30	0.30	0.30
DCP	2.65	2.65	2.65	2.65
Metiyonin	0.15	0.15	0.15	0.15
Lisin	0.10	0.10	0.10	0.10
Vit-Min. Premix*	0.25	0.25	0.25	0.25
Hesaplanmış Besin Madde Kompozisyonları				
Metabolik Enerji (Kkal/kg)	2770	2770	2770	2770
Ham Protein	17.00	17.00	17.00	17.00

*: Vit-Min. Premix: vitamin A, 5,500 IU; vitamin D3, 1,100 IU; vitamin E, 10 IU; riboflavin, 4.4 mg; vitamin B12, 12 mg; nikotinic acid, 44 mg; menadione, 1.1 mg; biotin, 0.11 mg; tiyamin, 2.2 mg; ve ethoxyquin, 125 mg; Mn, 120 mg; Zn, 100 mg; Fe, 60 mg; Cu, 10 mg; Se, 0.17 mg; I, 0.46 mg; ve Ca, 150-180 mg

İstatistiksel Analiz

Denemede elde edilen verilerin istatistik analizinde SPSS Statistics 17.0 programı kullanılarak yapıldı. Bütün ölçümlerde istatistiksel farklılıklar ve önem seviyeleri "One-way analysis of variance (ANOVA)" testi ile belirlenmiş ve $P < 0.05$ seviyesindeki sonuçlar önemli kabul edilmiştir. Çoklu karşılaştırmalarda Duncan testi uygulanmıştır.

BULGULAR

Araştırmada yumurta tavuğu rasyonlarına vitamin E ve organik selenyumun tek başına ve kombine olarak ilavesinin, yumurta sarısı, yumurta akı ve serum numunelerinde Se, Cu, Zn, Mg, Fe ve Ca düzeyleri sırasıyla Tablo 2, Tablo 3 ve Tablo 4'de verilmiştir. Serum, yumurta sarısı ve yumurta akında Se, Zn ve Fe düzeyleri, deneme grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistik olarak önemli

derecede artarken ($P < 0.05$), Cu düzeyleri serum ve yumurta akında istatistik olarak önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Yumurta sarısında ise 0.9 mg/kg Se ilave edilen rasyonlar ile beslenen grupta Cu'daki azalmanın istatistik olarak önemli ($P < 0.05$) olduğu, diğer gruplarda ise herhangi bir etkilenmenin olmadığı bulunmuştur. Yumurta sarısı Ca düzeyleri kontrol grubuna göre Vit-E ilave edilen grupta azalırken (1.74 ± 0.04 , 1.59 ± 0.35 mg/dl), Se ve Vit-E'nin kombine olarak ilave edilen rasyonlar ile beslenen grupta arttığı (1.74 ± 0.04 , 1.80 ± 0.27 , 1.97 ± 0.34), ancak bu değişimlerin yumurta akı ve serum Ca düzeylerinde istatistik olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ($P > 0.05$). Yumurta sarısı Mg düzeyleri kontrol grubuna göre diğer katkılı gruplarında en çok azalmanın 0.9 mg/kg organik Se ilave edilen grupta olduğu, yumurta akı Mg düzeylerinde azalma Se ve Vit-E ilave edilen

gruplarda olduğu, Se ve Vit-E'nin kombine olarak ilave edilen grupta ise artışın olduğu, serum Mg düzeyleri Se ile Se ve Vit-E'nin kombine olarak ilave

edilen gruplarda arttığı, Vit-E ilave edilen grupta ise azaldığı ancak bu değişimlerin istatistikî (P>0.05) olarak önemsiz olduğu saptanmıştır.

Tablo 2. Deneme gruplarının yumurta sarısı numunelerindeki Se, Cu, Zn, Mg, Fe ve Ca düzeylerine ait ortalama ve standart sapma (X±SS) değerleri.

Table 2. Mean and standard deviation (X ± SS) values of Se, Cu, Zn, Mg, Fe and Ca levels in the egg yolk Samples of experimental groups.

Gruplar	D-I	D-II	D-III	D-IV
Se (ppm)	0.71±0.25 ^d	1.14±0.27 ^c	5.36± 0.34 ^a	2.80±0.19 ^b
Cu (ppm)	1.45±0.03 ^a	1.25±0.03 ^a	0.84±0.02 ^b	1.17±0.02 ^a
Zn (ppm)	15.90±1.56 ^b	17.17±0.71 ^a	17.85±0.30 ^a	17.27±0.36 ^a
Fe (ppm)	119.10±3.63 ^c	124.32±1.16 ^b	126.88±1.69 ^{a,b}	127.24±2.64 ^a
Ca (mg/dl)	1.74±0.04 ^a	1.59±0.35 ^a	1.80±0.27 ^a	1.97±0.34 ^a
Mg (mg/dl)	172.64±7.69 ^a	167.78±6.33 ^a	160.00±2.64 ^a	165.84±4.01 ^a

^{a, b, c, d} Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklılık önemlidir (P<0.05)

D-I (Kontrol): Basal diet, D-II (Deneme-II): Basal diet + 250 mg/kg Vit-E, D-III (Deneme-III): Basal diet + 0.9 mg/kg Se, D-IV (Deneme-IV): Basal diet + 250 mg/kg Vit-E + 0.9 mg/kg Se.

Tablo 3. Deneme gruplarının yumurta akı numunelerindeki Se, Cu, Zn, Mg, Fe ve Ca düzeylerine ait ortalama ve standart sapma (X±SS) değerleri.

Table 3. Mean and standard deviation (X ± SS) values of Se, Cu, Zn, Mg, Fe and Ca levels in the egg albumin samples of experimental groups.

Gruplar	D-I	D-II	D-III	D-IV
Se (ppm)	0.65±0.03 ^d	1.02±0.18 ^c	8.46± 0.17 ^a	3.20±0.12 ^b
Cu (ppm)	1.67±0.20 ^a	1.19±0.43 ^b	1.04±0.44 ^b	1.25±0.03 ^b
Zn (ppm)	0.83±0.03 ^b	1.82±0.03 ^a	1.94±0.13 ^a	1.98±0.12 ^a
Fe (ppm)	16.60±1.08 ^c	21.24±0.73 ^b	23.90±1.38 ^a	25.78±0.44 ^a
Ca (mg/dl)	1.98±0.17 ^a	1.97±0.35 ^a	1.85±0.25 ^a	1.97±0.34 ^a
Mg (mg/dl)	157.54±13.09 ^a	153.93±52.19 ^a	150.10±3.43 ^a	160.62±3.51 ^a

^{a, b, c, d} Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklılık önemlidir (P<0.05)

D-I (Kontrol): Basal diet, D-II (Deneme-II): Basal diet + 250 mg/kg Vit-E, D-III (Deneme-III): Basal diet + 0.9 mg/kg Se, D-IV (Deneme-IV): Basal diet + 250 mg/kg Vit-E + 0.9 mg/kg Se.

Tablo 4. Deneme gruplarının serum Se, Cu, Zn, Mg, Fe ve Ca düzeylerine ait ortalama ve standart sapma (X±SS) değerleri.

Table 4. Mean and standard deviation (X ± SS) values of Se, Cu, Zn, Mg, Fe and Ca levels in the serum samples of experimental groups.

Gruplar	D-I	D-II	D-III	D-IV
Se (ppm)	1.66±0.10 ^c	1.97±0.11 ^c	4.39± 0.43 ^a	2.69±0.22 ^b
Cu (ppm)	1.73±0.28 ^a	1.46±0.04 ^b	1.50±0.27 ^b	1.58±0.01 ^b
Zn (ppm)	11.32±0.98 ^c	12.58±0.24 ^b	14.51±0.40 ^a	13.21±0.21 ^b
Fe (ppm)	66.76±0.57 ^b	76.84±4.33 ^a	76.20±0.48 ^a	76.99±0.77 ^a
Ca (mg/dl)	25.89±2.05 ^a	24.99±2.02 ^a	25.32±1.63 ^a	25.56±0.71 ^a
Mg (mg/dl)	4.31±0.29 ^a	4.17±0.13 ^a	4.55±0.90 ^a	4.36±0.62 ^a

^{a, b, c, d} Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklılık önemlidir (P<0.05)

D-I (Kontrol): Basal diet, D-II (Deneme-II): Basal diet + 250 mg/kg Vit-E, D-III (Deneme-III): Basal diet + 0.9 mg/kg Se, D-IV (Deneme-IV): Basal diet + 250 mg/kg Vit-E + 0.9 mg/kg Se.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Selenyum tabii olarak organik ve inorganik olmak üzere başlıca iki formda bulunur. Bitkilerden ve Se'ca zenginleştirilmiş mayalardan temin edilmesi,

antioksidan özellikleri, yüksek biyoyoumluluk, dokularda birikme oranları ve düşük toksik özellikleri (20), organik selenyumun (selenometiyonin) kullanılmasını kanatlılarda daha avantajlı hale

getirmiştir (7,21-23). Yapılan çalışmalarda yumurta tavuğu rasyonlarına 0.1-3 mg/kg organik selenyum ilave edilmiş ve yumurta üretimi üzerine herhangi bir negatif etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir (13,24-26). Elde ettiğimiz sonuçların bu konuda farklı hayvan ve farklı numunelerde yapılan bazı çalışmalar ile paralel olduğu belirlendi (22-24,26-29). Radmila ve ark. (30) tavuk rasyonlarına kombine olarak 0.3 mg/kg organik Se ve 20 IU vit-E, 0.3 mg/kg organik Se ve 100 IU vit-E karışımını ilave ederek yaptıkları çalışmada plazma Se konsantrasyonunun önemli derecede arttığını bulmuşlardır. Scheideler ve ark. (31) yumurta tavuklarının rasyonlarına 0.55 ve 0.75 ppm organik Se ve kombine olarak 50, 100 ve 150 IU/kg Vit-E ilave ederek yaptıkları çalışmada, ilave edilen Se miktarına paralel olarak deneme gruplarının yumurta sarısındaki Se düzeylerini önemli derecede yükselttiğini, fakat ilave edilen vit-E miktarına paralel olarak yumurta sarısındaki Se düzeyine etki etmediğini belirtmişlerdir. Mevcut çalışmada numunelerdeki Se artışının en çok tek başına Se ilave edilen rasyonlar ile beslenen grupta olduğu belirlenirken, numuneler arasında karşılaştırma yapıldığında numunelerdeki artışın serum, yumurta sarısı ve yumurta beyazında sırasıyla 2.64, 7.55 ve 13.02 kat olduğu belirlendi. Bu sonuçlar bazı araştırmacıların serum, yumurta sarısı ve yumurta akı ile ilgili olarak elde ettikleri araştırma sonuçları ile paralellik göstermektedir (24,32). Chantiratikul ve ark.(26) yumurta tavuklarının rasyonlarına 0.3, 1.0 ve 3.0 mg/kg Zn-L-selenometiyonin ilave ederek yaptıkları çalışmada yumurta sarısı ve yumurta akında Se düzeyinin önemli derecede arttırdığını ancak Se yumurta sarısından çok yumurta akında depo edildiğini belirtmişlerdir. Gravena ve ark. (33) yumurtacı bıldırcınların diyetlerine değişik oranlarda Se (Sel-Plex®) ilave ederek yaptıkları çalışmada; Se'un yalnız albüminde lineer bir artış olduğunu bulmuşlardır. Mevcut çalışmada bulgular incelendiğinde Se ile Cu arasında negatif, Se ile Zn ve Fe arasında ise pozitif bir ilişki olduğu, bu ilişkinin antagonist etkiler ile açıklanması mümkün olmaktadır. Araştırma sonuçları

bu konuda farklı yapılan bazı çalışmalar ile paralel olduğu belirlendi (25,34,35). Çinko, Fe, Se ve Cu gibi iki değerlikli elementler arasında kuvvetli bir etkileşimin olduğu (36), aralarındaki dengenin, çeşitli antioksidan enzimlerin önemli bir parçası olmalarından dolayı antioksidan savunma sistemi için çok önemli oldukları bildirilmektedir (33,37). Arpasova ve ark. (25) yumurta tavuklarının rasyonlarına 0.4 ve 0.9 mg/kg organik Se ilave ederek yaptıkları bir çalışmada yumurta akı ve sarısında 0.9 mg/kg ilave edilen grupta Cu düzeylerinin önemli derecede düştüğünü, Zn düzeylerindeki düşüş ve Fe düzeylerinde ise artışın ise istatistiksel olarak önemli olmadığını bulmuşlardır. Apsite ve ark. (35) tavukların rasyonlarına; Se (1mg/kg), Cu (100 mg/kg) ve Se + Cu ilave ederek yapmış olduğu çalışmada, tavukların karaciğer dokusunda Cu ile Zn ve Fe arasında negatif bir etkileşme olduğunu, bu etkinin dokularda biriken Cu düzeyinin artması ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Skrivan ve ark. (35) yumurta tavuğu bazal rasyonlarına 80 mg/kg, Zn, 120 mg/kg Fe, ve 25 mg/kg Cu ilave ederek yaptıkları çalışmada, Cu ilave edilen grubun yumurta sarısında Zn düzeyi, Zn ilave edilen grupta ise Cu düzeyleri önemli derecede düşük olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar, bu konuda yapılan bazı çalışmalar ile farklılık göstermiştir (38-40). Paspas ve ark. (37) tavuk rasyonlarına 0.15, 0.3 ve 3 mg/kg organik Se ilave ederek yaptığı çalışmada kan ve çeşitli dokularda, Se ile Cu, Zn ve Fe arasında pozitif korelasyon, Cu-Zn arasında pozitif korelasyon Fe-Cu arasında negatif korelasyon varken, Fe-Zn arasında etkileşimin olmadığını bulmuşlardır. Bau ve ark. (39) Yumurtacı tavuk rasyonlarına Zn (0, 300 ve 600 mg/kg), ve 0.2 Se mg/kg ilave ederek yaptığı bir çalışmada tavukların bazı dokulardaki her iki grupta da Se'un önemli derecede arttığını Cu ve Fe düzeylerinin ise etkilenmediğini saptamışlardır. Çinko ilavesi ile tavukların etindeki Se düzeyinin artışı; Se'un biyometilasyon şeklinde dışarı atılması (41) ette birçok formunun bulunması (42), metallotioninsisteinle zenginleştirilmiş bir protein

olması ve bunların sentezi için katyonların gerekli olması şeklinde açıklanabilir. Şahin ve ark. (40) Japon bildircinların bazal rasyonlarına vit-E (125, 250 ve 500 mg/kg) ve inorganik Se (0.1 ve 0.2 mg/kg) ilave ederek yaptıkları çalışmada; yumurta sarısında Zn ve Fe düzeylerinin en yüksek değeri 500 mg/kg Vit-E ve 0.2 mg/kg inorganik Se ilave edilerek beslenen gruplarda bulunmuştur. Bütün gruplardan alınan numunelerde Ca ve Mg düzeylerindeki değişikliklerin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak önemsiz olduğunu belirlemişlerdir. Arpasova ve ark. (25), yumurta tavuklarının rasyonlarına 0.4 ve 0.9 mg/kg organik Se ilave ederek yaptıkları çalışmada, yumurta sarısındaki Ca düzeyine etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Attia ve ark. (21) tavukların rasyonlarına 0.15 ve 0.30 mg/kg organik Se ilave ederek yaptığı çalışmada kemik Ca yüzdelerinin önemli derecede Se'a paralel olarak arttığını en büyük artışın 0.3 mg/kg OS ile beslenen grupta olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan literatür çalışmalarında doğrudan Se ve vit-E ilavesiyle serum, yumurta sarısı ve yumurta akı Mg düzeyleri arasındaki etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ertaş ve ark. (43) bildircinların rasyonlarına Ca kaynağı olarak farklı oranlarda tatlı su midyesi kabuklarını ilave ederek yapmış oldukları bir çalışmada plazma Ca ve Mg düzeylerinin arttığı bildirmişlerdir. Kahraman ve ark. (44) yumurta tavuğu rasyonlarına 300 ppm Mg ilave ederek yapmış oldukları çalışmada serum Ca ve Mg düzeylerinin uygulamalardan etkilenmediğini bulmuşlardır. Kocaoğlu ve ark. (45) farklı oranlarda Ca içeren yumurta tavuğu rasyonlarının serum Ca ve Mg düzeyleri üzerine istatistik açıdan bir farklılık olmadığını bulmuşlardır.

Sonuç olarak, organik selenyumun ve vitamin E'nin yumurtanın kalitesinin artırılmasında ve raf ömrünün uzatılmasında, yumurta tavuğu rasyonlarına tek başına ve kombinasyonu şeklinde ilave edilmesi, ilave edilirken biyoelementler düzeylerindeki değişmelerin oluşturacağı antagonist ve sinerjik etkilerinin dikkate alınması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Korhonen H., 2002. Technology options for new nutritional concept. *Int J Dairy Technol*, 55, 79-87.
2. Habibian M., Ghazi S., Moeini MM., 2016. Effects of dietary selenium and vitamin E on growth performance, meat yield, and selenium content and lipid oxidation of breast meat of broilers reared under heat stress. *Biol Trace Elem Res*, 169, 142-152.
3. Açıkgöz Z., Önenç SS., 2006. Fonksiyonel yumurta üretimi. *Hayvansal Üretim*, 47, 36-46.
4. Tekeli A, Yıldız G., 2012. Yumurtanın besleyici değeri ve sağlığı güçlendirici bileşenleri. *Yem Magazin*, 63, 48-56.
5. Costa FGP., Nobre IS., Silva LPG., 2008. The use of prebiotic and organic minerals in rations for Japanese laying quail. *Int J Poult Sci*, 7, 339-343.
6. Hartman C., Wilhelmson M., 2001. The hens egg yolk a source of biologically active substances. *World's Poultry Sci J*, 57, 13-28.
7. Rama Rao SV., Prakash B., Raju MVLN., Panda AK., Kumari RK., Pradeep Kumar Reddy E., 2016. Effect of supplementing organic forms of zinc, selenium and chromium on performance, anti-oxidant and immune responses in broiler chicken reared in tropical summer. *Biol Trace Elem Res*, 172, 511-520.
8. Canoğulları S., Ayaşan T., Baylan M., Çopur G., 2010. Yumurtacı japon bildircinlarının karma yemlerine organik ve inorganik selenyum katkısının yumurta verim parametreleri ile yumurta selenyum içeriğine etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16, 743-749.
9. Ayaşan T., 2007. Hayvan beslemede organik iz mineraller. *Ç Ü Z F Dergisi*, 22, 21-28.
10. Eren M., Güçlü BK., Uyanık F., Karabulut F., 2006. The effects of dietary boron supplementation on performance, carcass composition and serum lipids in Japanese quails. *J Anim Vet Adv*, 5, 1105-1108.
11. Kasnak C., Palamutoğlu R., 2015. Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *TURJAF*, 3, 226-234.

12. Habibian M., Sadeghi G., Ghazi S., Moeini MM., 2015. Selenium as a feed supplement for heat-stressed poultry. *Biol Trace Elem Res*, 165, 183-193.
13. EFSA (European Food Safety Authority), 2014. Scientific opinion on the safety and efficacy of DL-selenomethionine as a feed additive for all animal species, *EFSA J*, 12, 3567.
14. Surai PF., Fisinin VI., 2014. Selenium in poultry breeder nutrition: An update. *Anim Feed Sci Technol*, 191, 1-15.
15. Habibian M., Ghazi S., Moeini MM., Abdolmohammadi A., 2014. Effects of dietary selenium and vitamin E on immune response and biological blood parameters of broilers reared under thermoneutral or heat stress conditions. *Int J Biometeorol*, 58, 741-752.
16. Demirel R., Alınca S., Şentürk Demirel D., 2007. İnsan ve hayvan beslenmesinde antioksidanlar. *MKÜ Ziraat Fakültesi Derg*, 12, 27-36.
17. Lin YF., Tsai HL., Lee YC., Chang SJ., 2005. Maternal vitamin E supplementation affects the antioxidant capability and oxidative status of hatching chicks. *J Nutr*, 135, 2457-2461.
18. Ripoll G., Joy M., Munoz F., 2011. Use of dietary vitamin E and selenium (Se) to increase the shelf life of modified atmosphere packaged light lamb meat. *Meat Sci*, 87, 88-93.
19. Al-Attar AM., 2011. Antioxidant effect of vitamin E treatment on some heavy metals-induced renal and testicular injuries in male mice. *Saudi J Biol Sci*, 18, 63-72.
20. Kralik G., Gajcevic Z., Suchy P., Strakova E., Hanzek D., 2009. Effects of dietary selenium source and storage on internal quality of eggs. *Acta Vet Brno*, 78, 219-222.
21. Attia YA., Abdalah AA., Zeweil HS., Bovera F., Tag El-Din AA., Araft MA., 2010. Effect of inorganic or organic selenium supplementation on productive performance, egg quality and some physiological traits of dual-purpose breeding hens. *Czech J Anim Sci*, 55, 505-519.
22. Asadi F., Shariatmadari F., Karimi-Torshizi MA., Mohiti-Asli M., Ghanaatparast-Rashti M., 2017. Comparison of different selenium sources and vitamin E in laying hen diet and their influences on egg selenium and cholesterol content, quality and oxidative stability. *Iranian J Applied Anim Sci*, 7, 83-89.
23. Jing CL., Dong XF., Wang ZM., Liu S., Tong JM., 2015. Comparative study of DL-selenomethionine sodium selenite and seleno-yeast on antioxidant activity and selenium status in laying hens. *Poultry Sci*, 94, 965-975.
24. Gajcevic Z., Kralik G., Schön EH., Pavic V., 2009. Effect of organic selenium supplemented to layer diet on table egg freshness and selenium content. *Italian J Anim Sci*, 8, 189-199.
25. Arpasova H., Petrovic V., Mellen M., Kacaniová M., Cobanova K., Leng L., 2009. The effects of supplementing sodium selenite and selenized yeast to the diet for laying hens on the quality and mineral content of eggs. *J Anim Feed Sci*, 18, 90-100.
26. Chantiratikul A., Chinrasri O., Chantiratikul P., 2008. Effect of sodium selenite and zinc-l-selenomethionine on performance and selenium concentrations in eggs of laying hens. *AJAS*, 21, 1048-1052.
27. Gjorgovska N., Kiril F., Vesna L., Tosho K., 2012. The effect of different levels of selenium in feed on egg production, egg quality and selenium content in yolk. *Lucrări Ştiinţifice-Seria Zootehnie*, 57(17), 270-274.
28. Osman AMR., Abdel Wahed HM., Ragab MS., 2010. Effects of supplementing laying hens diets with organic selenium on egg production, egg quality, fertility and hatchability. *Egypt Poultry Sci*, 30, 893-915.
29. Tufarelli V., Ceci E., Laudadio V., 2016. 2-Hydroxy-4-Methylselenobutanoic acid as new organic selenium dietary supplement to produce selenium-enriched Eggs. *Biol Trace Elem Res*, 171, 453-458.
30. Radmila M., IB Jovanovic., Baltic ZM., Sefer D., Petrujkic B., Sinovec Z., 2008. Effects of selenium

- supplementation as sodium selenite or selenized yeast and different amounts of vitamin E on selenium and vitamin E status of broilers. *Acta Vet Beograd*, 58, 369-380.
31. Scheideler SE., Weber P., Monsalve D., 2010. Supplemental vitamin E and selenium effects on egg production, egg quality, and egg deposition of α -tocopherol and selenium. *J Applied Poultry Res*, 19, 354-360.
32. Sheng Z., Jiakui L., Haijian L., Bin L., Xiaolong W., 2002. Investigation of selenium content of egg samples from three major commercial cities along the lower reaches of the Changjiang River. *Res Vet Sci*, 72, 7-9.
33. Gravena RA., Marques RH., Roccon J., Picarelli J., Hada FH., Da Silva JD., De Queiroz SA., De Moraes VMB., 2011. Egg quality during storage and deposition of minerals in eggs from quails fed diets supplemented with organic selenium, zinc and manganese. *Revista Brasil Zootec*, 40, 2767-2775.
34. Skrivan M., Skrivanova V., Marounek M., 2005. Effect of dietary zinc, iron and copper in layer feed on distribution of these elements in eggs, liver, excreta, soil and herbage. *Poultry Sci*, 84, 1570-1575.
35. Apsite M., Berzina N., Basova N., 2012. Effects of high but non-toxic dietary intake of selenium and copper on indices of the antioxidant defence system and on accumulation of trace elements in chicks. *Proc LV Acad of Sci*, 678:117-124.
36. Paik I., Hankyu L., Sewan P., 2009. Effect of organic iron supplementation on the performance and iron content in egg yolk of laying hens. *Japan Poultry Sci*, 46, 198-202.
37. Pappas AC., Zoidis E., Georgiou CA., Peter ND., Surai F., Fegeros K., 2012. Influence of organic selenium supplementation on the accumulation of toxic and essential trace elements involved in the antioxidant system of chicken. *Food Addit Contam.* 1-24
38. Gambling L., Andersen HS., McArdle HJ., 2008. Iron and copper, and their interactions during development. *Biochem Soc T*, 36, 1258-1261.
39. Bau R., Guardiola F., Barroeta AC., Codony R., 2005. Effect of dietary fat sources and zinc and selenium supplements on the composition and consumer acceptability of chicken meat. *Poultry Sci*, 84, 1129-1140.
40. Şahin N., Şahin K., Önderci M., 2003. Vitamin E and selenium supplementation to alleviate cold-stress-associated deterioration in egg quality and egg yolk mineral concentrations of Japanese quails. *Biol Trace Elem Res*, 96, 179-189.
41. Nordberg GF., 2009. Historical perspectives on cadmium toxicology. *Toxicol Appl Pharm*, 238, 192-200.
42. Gailer J. Reactive selenium metabolites as targets of toxic/ metals/metalloids in mammals: A molecular toxicological perspective. *Appl Organomet Chem*, 2002, 16, 701-707.
43. Ertaş ON., Çiftçi M., Güler T., Dalkılıç B., 2006. Sıcaklık stresi altında yetiştirilen bıldırcınlarda tatlı su midyesi kabuklarının kalsiyum kaynağı olarak kullanılma olanakları yumurta verimi ve bazı kan parametreleri üzerine etkisi. *F Ü Sağ Bil Vet Derg*, 20, 15-20.
44. Kahraman A., Küçük O., 2010. Yumurta tavuğu karma yemlerine katılan metiyonin ve magnezyumun canlı performans, yumurta verimi ve kalitesine etkisi. *Sağlık Bil Derg*, 19, 34-41.
45. Kocaoğlu GB., İşcan KM., 2004. Farklı düzeylerde kalsiyum içeren yumurta tavuğu rasyonuna eggshell-49 ilavesinin performans, yumurta kalitesi ve bazı kan parametrelerine etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 51, 219-224.



Cyclophosphamide İle İndüklenmiş Ratlarda Karaciğer Enzimleri (AST, ALT, ALP) ve Histopatolojisi Üzerine Naringin'in Protpektif Etkileri*

Gözde YAMAN BÜLBÜL¹, Leyla MİS², Emin ŞENGÜL¹, Serkan YILDIRIM³, Fikret ÇELEBİ¹, Ali ÇINAR¹✉

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
2. Yüzüncüyıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE.
3. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
04.12.2017	24.01.2018	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Yaman Bülbül G, Mis L, Şengül E, Yıldırım S, Çelebi F, Çınar A: Cyclophosphamide İle İndüklenmiş Ratlarda Karaciğer Enzimleri (AST, ALT, ALP) ve Histopatolojisi Üzerine Naringin'in Protpektif Etkileri. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 182-190, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.360839

Öz: Bu çalışmada Cyclophosphamide (CYP) uygulaması yapılan ratlarda karaciğer enzimleri (Aspartat aminotransferaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), Alkalen fosfataz (ALP) ve histopatolojisi üzerine Naringin'in protpektif etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır. Araştırmamızda yaklaşık 200-250 g ağırlığında, 40 adet erkek erişkin Sprague Dawley ırkı rat kullanıldı ve 5 grup oluşturuldu. Karaciğer enzimlerinin analizleri otoanalizörde ve spektrofotometrede yapıldı. Hematoksilen eosin ile boyanan karaciğer doku örnekleri ışık mikroskopunda incelendi. CYP'nin ratlarda hepatotoksitete yol açtığı ve karaciğer enzimlerini artırdığı görüldü. AST, ALT ve ALP değerleri Kontrol grubunda 58±11, 32±8, 38±6; CYP grubunda 237±42, 168±44, 74±11; Naringin 50+CYP grubunda 223±33, 158±42, 62±9; Naringin 100+CYP grubunda 117±25, 107±24, 48±8; Naringin 100 grubunda ise 54±9, 31±7, 36±6 sırasıyla olarak bulundu. Kontrol grubundan elde edilen değerlere göre CYP verilen gruplarda ki AST, ALT ve ALP değerlerinin tamamında P<0.001 düzeyinde artış söz konusudur. CYP'nin karaciğer dokusunda oluşturduğu dejeneratif ve nekrotik doku hasarının Naringin'in etkisiyle dozlara bağlı olarak azaldığı saptandı. Sonuç olarak, Naringin'in farklı dozlarının, CYP ile indüklenen hepatotoksitete protpektif etkili olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Cyclophosphamide, Histopatoloji, Karaciğer Enzimleri, Naringin, Rat.

Protective Effects of Naringin on Liver Enzymes (AST, ALT, ALP) and Histopathology in Cyclophosphamide-Induced Rats

Abstract: In this study, it is aimed to investigate the protective effects of Naringin on liver enzymes (Aspartate Aminotransferase (AST), Alanine Aminotransferase (ALT), Alkaline Phosphatase (ALP) and histopathology in CYP-induced rats. In our study, forty male adult Sprague Dawley rat weighing approximately 200-250 g were used and 5 groups were formed. Analyses of liver enzymes were done in auto analyzer and spectrophotometer. The liver tissue samples stained with hematoxylin eosin were examined by light microscopy. CYP was found to cause hepatotoxicity and showed increased liver enzymes in rats. AST, ALT and ALP values were 58±11, 32±8, 38±6 in the control group; 237±42, 168±44, 74±11 in the CYP group; 223±33, 158±42, 62±9 in the Naringin 50+CYP group; 117±25, 107±24, 48±8 in Naringin 100+CYP group; 54±9, 31±7, 36±6 in the group of Naringin 100 were found respectively. According to the values obtained from the control group, there is an increase of P<0.001 in all of the AST, ALT and ALP values in CYP-treated groups. Degenerative and necrotic tissue damage caused by CYP in the liver tissue was found to be reduced as dose-dependent with effect of Naringin. In conclusion, different doses of Naringin were determined to be protective effective for CYP-induced hepatotoxicity.

Keywords: Cyclophosphamide, Histopathology, Liver Enzymes, Naringin, Rat.

✉ Ali ÇINAR

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
e-posta: d.cinar@atauni.edu.tr

*Bu makale "Cyclophosphamide İle İndüklenmiş Ratlarda Karaciğer Enzimleri (AST, ALT, ALP) Üzerine Naringin'in Protpektif Etkileri" isimli yüksek lisans tezi genişletilerek hazırlanmıştır.

GİRİŞ

Günümüzde en yaygın hastalıklardan biri olan kanser, DNA hasarı sonucunda hücrelerin kontrolsüz büyümesi ve hızlı bir şekilde yayılımıdır. Bu hastalık somatik genetik hastalıkların en karmaşık ve yaygın olmasıyla da ayrı bir öneme sahiptir. Kanser hücrelerini normal hücrelerden farklı kılan nokta sınırsız bölünmeleri sonucunda toplanıp tümörleri oluşturmaları ve bu tümörlerin normal dokuları sıkıştırarak zarar vermeleridir. Kanserli hücreler bu tümörlerden ayrılırlarsa metastaz dediğimiz olayla kan ya da lenf yoluyla vücudun başka bölgelerine gidip, tekrar tümör oluşturarak büyümeye devam ederler (1,2).

Kanser tedavisinde farklı tedavi yöntemleri uygulanmakta olup, cerrahi, ilaçla (kemoterapi) ve ışınla tedavi (radyoterapi) yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Neoplastik hücreler öncelikle cerrahi ya da radyasyon tedavisiyle azaltılır veya gelişimi yavaşlatılmaya çalışılır. Daha sonra kemoterapi, immunoterapi ya da bu iki tedavi şeklinin birlikte uygulanması ile süreç devam eder. Kemoterapinin uygulanmasının temel amacı, sağlıklı hücrelerin korunmasını sağlayarak kanserli hücrelerin oluşturduğu tümörlerin büyümesini yavaşlatmak ve hatta yok etmektir. Kanser ilaçla tedavisinde kullanılan bir ilaç türünde Cyclophosphamide (CYP)'dir. CYP çok etkili ve sitotoksik özellik taşıyan bir antikanserojen ajandır. Klinik kullanımda geniş spektruma sahip olmasına rağmen, CYP'nin çoklu organ toksisitesine neden olduğu bilinmektedir (3). CYP, çocukların akut lenfositik lösemisi, meme kanseri, küçük hücreli olan veya olmayan akciğer kanseri, pediatrik solid tümörler, çocukların nefrotik sendromu, multipl myeloma, romatoid artrit tedavisinde ve kemik iliği nakillerinde sıkça kullanılmaktadır (4-7).

Kemoterapotik ajanların uygulaması sırasında kullanılan ilaçların önemi kadar, bu ilaçların

etkilerinin artmasını ya da azalmasını sağlayan maddeleri bilmek de bu tedavinin önemli bir parçasıdır. Son dönemlerde antineoplastik ilaçların sitotoksik etkilerini en az düzeye indirmek amacıyla bitkisel kökenli bileşiklerin kullanıldığı çalışmaların sayısı giderek artmaktadır (8,9). Bu amaçla kullanılan bileşiklerden birisi de Naringin'dir. Naringin'in antiülser, antimikrobiyal, antimutajenik, süperoksit süpürücü ve antioksidan aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir (10-13). Naringin maddesi, ilaç-ilaç etkileşimine neden olabilecek CYP3A4 ve CYP1A2 de dâhil olmak üzere bazı ilaç metabolize sitokrom P450 enzimlerini inhibe etmektedir (14). Kanser tedavi süreci ve etkilerinin daha iyi anlaşılması için birçok organ üzerinde araştırma yapılmıştır ve yapılmaktadır. Yapılan literatür çalışmalarında da ratlarda CYP ile karaciğer toksisitesi üzerine Naringin'in protektif etkilerini araştıran yeterli düzeyde bilimsel bilgiye de rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada CYP uygulaması yapılan ratlarda karaciğer enzimleri (Aspartat aminotransferaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), Alkalen fosfataz (ALP)) ve histopatolojisi üzerine Naringin'in protektif etkilerinin araştırılması ve literatüre katkıda bulunması amaçlanmaktadır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmanın hayvan materyali Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edildi. Hayvanlara çalışma süresince uygun koşullarda bu merkezde bakıldı ve canlı materyal üzerindeki işlemlerin tamamı bu merkezde gerçekleştirildi. Çalışma Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyle Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (Karar No: 2016/121). Araştırmada deney hayvanı olarak yaklaşık 200-250 g ağırlığında, 40 adet erişkin Sprague Dawley ırkı erkek rat kullanıldı. Gruplarda yeterli örneğin

sağlanabilmesi için her bir grupta 8 rat kullanıldı ve 5 grup oluşturuldu (Tablo 1).

Tablo 1. Deneysel gruplar ve gruplardaki deney hayvanı sayıları.

Table 1. Experimental groups and the number of experimental animal in groups.

Grup Sayısı	Grup İsimleri	Hayvan Sayısı
Grup 1	Sağlıklı (Kontrol)	8
Grup 2	CYP (200 mg/kg)	8
Grup 3	Naringin 50+CYP	8
Grup 4	Naringin 100+CYP	8
Grup 5	Naringin 100	8

Tüm hayvanlar standart bakım ve besleme şartlarına tabi tutuldu. Grup 1'e 10 gün boyunca intra gastrik (i.g.) serum fizyolojik (1ml) verildi. Grup 2'ye 10 gün boyunca i.g. serum fizyolojik verildi ve 10. gün tek doz intra peritoneal (i.p.) CYP (200 mg/kg) enjekte edildi. Grup 3 ve 4'e 10 gün boyunca sırasıyla serum fizyolojikte çözdürülmüş 50 ve 100 mg/kg dozunda i.g. Naringin uygulandı ve 10. gün Naringin enjeksiyonundan sonra tek doz CYP (200 mg/kg, i.p.) uygulaması yapıldı. Grup 5'e ise 10 gün boyunca yalnızca serum fizyolojikte çözdürülmüş 100 mg/kg dozunda i.g. Naringin uygulandı. CYP uygulamasından 48 saat sonra yani deneyin 12. gününde ratlar tiopental sodyum (20 mg/kg) ile anestezi altına alınarak intra kardiyak kan örnekleri alındı ve servikal dislokasyon metodu ile sakrifiye edildiler. Elde edilen kan ve serum örneklerinde karaciğer enzimlerinin analizleri enzimatik kinetik olarak Abot marka AST ve ALT kitler kullanılarak otoanalizörde ve ALP düzeyi ise Kolorimetrik yöntemle 405 nm dalga boyunda spektrofotometreyle ölçüldü. Histopatolojik

inceleme için hazırlanan preparatlar hematoksilen-eozin (HE) ile boyanıp ışık mikroskobu (Leica DM 1000, Germany) ile incelendi (15).

İstatistiksel Analiz

Çalışmalar sonunda elde edilen kantitatif değerler SPSS 20.00 istatistik veri programında ikiden fazla bağımsız grupların istatistiksel analizinde kullanılan One-way ANOVA sonrası Duncan testi uygulanarak değerlendirildi. $P < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma sırasında intra peritoneal CYP ve serum fizyolojik uygulanırken ratların huzursuz, gergin, saldırgan ve korku içinde oldukları görüldü. Huzursuzluğa bağlı olarak ratlarda dışkı ve idrar kaçımalarından dolayı rektal bölgelerinin kirlendiği saptandı. Kontrol grubundaki ratların davranışları, serum fizyolojik uygulanmasının ardından normale döndü. CYP uygulanmasının ardından deneme gruplarındaki ratların hipoaktif, depresif bir davranış sergiledikleri tespit edildi. Ratların hareketsiz kaldığı, ayaklarını karın bölgesine doğru çektikleri ve kuyruklarını bacak aralarına ve vücutlarına yapıştırdıkları görüldü.

Çalışmadan elde edilen karaciğer enzim değerleri aşağıdaki tabloda verilmektedir (Tablo 2). Tablo 2'de görüldüğü gibi AST, ALT ve ALP değerleri sırasıyla Kontrol grubunda 58 ± 11 , 32 ± 8 , 38 ± 6 ; CYP grubunda 237 ± 42 , 168 ± 44 , 74 ± 11 ; Naringin 50 + CYP grubunda 223 ± 33 , 158 ± 42 , 62 ± 9 ; Naringin 100 + CYP grubunda 117 ± 25 , 107 ± 24 , 48 ± 8 ; Naringin 100 grubunda ise 54 ± 9 , 31 ± 7 , 36 ± 6 olarak bulundu. Kontrol grubundan elde edilen değerlere göre CYP verilen gruplarda ki AST, ALT ve ALP değerlerinin tamamında $P < 0.001$ düzeyinde artış söz konusudur.

Naringin 50+CYP ve Naringin100+CYP verilen 2 gruptaki değerlerden bazıları yalnızca CYP verilen değerlere göre istatistiki bağlamda anlamlı olmak üzere çok azalmıştır ($P<0.05$). Naringin 100 grubundan elde edilen veriler Kontrol grubu değerleri ile birbirine çok yakın ve istatistiki bağlamda da anlamsızdır.

Tablo 2'de de görüldüğü gibi AST/ALT oranı Kontrol Grubunda 1.81; CYP grubunda 1.41; Naringin50+CYP grubunda 1.41; Naringin 100+CYP grubunda 1.09; Naringin 100 grubunda ise 1.74 olarak bulundu.

Tablo 2. Kontrol ve deneme gruplarında serum AST, ALT ve ALP enzimlerinin düzeyleri.

Table 2. The levels of serum AST, ALT and ALP enzymes in control and experimental groups.

Deney Grupları	Aspartat Aminotransferaz (AST) (U/L) Ortalama \pm St. Sapma	Alanin Aminotransferaz (ALT) (U/L) Ortalama \pm St. Sapma	Alkalen Fosfataz (ALP) (U/L) Ortalama \pm St. Sapma	AST/ALT Oranı
Kontrol	58 \pm 11 ^a	32 \pm 8 ^a	38 \pm 6 ^a	1.81
CYP	237 \pm 42 ^b	168 \pm 44 ^b	74 \pm 11 ^b	1.41
Naringin 50+ CYP	223 \pm 33 ^b	158 \pm 42 ^b	62 \pm 9 ^b	1.41
Naringin 100+CYP	117 \pm 25 ^c	107 \pm 24 ^b	48 \pm 8 ^c	1.09
Naringin 100	54 \pm 9 ^a	31 \pm 7 ^a	36 \pm 6 ^a	1.74

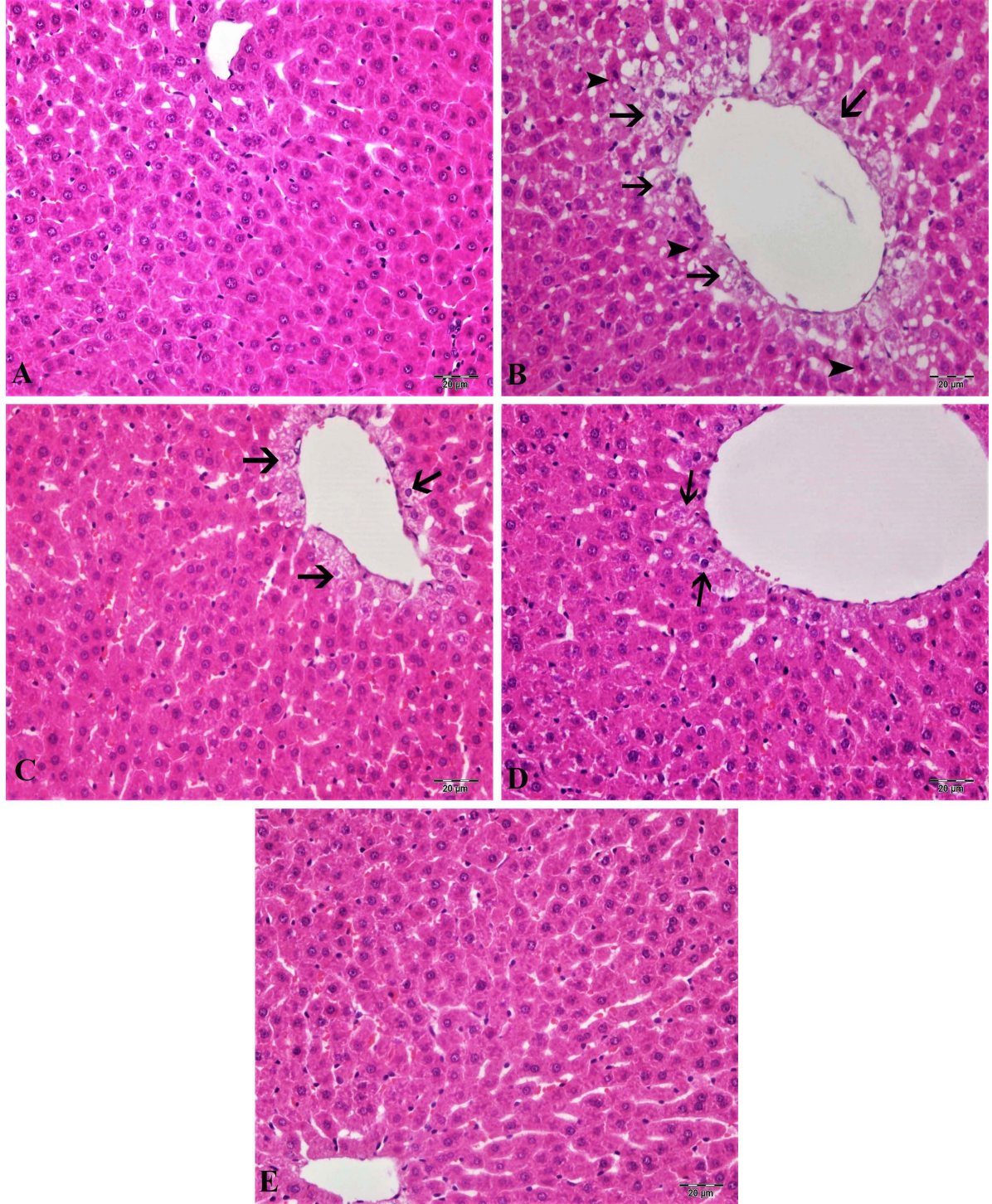
Aynı sütundaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası fark istatistik olarak önemlidir. ^{a,c}: $P<0.05$, ^{a,b,b,c}: $P<0.001$.

Histopatolojik Bulgular

Kontrol ve Naringin 100 grupları: Karaciğer dokuları incelendiğinde normal histolojik yapıda olduğu tespit edildi (Şekil 1-A, E). CYP Grubu: Bu grupta bulunan ratların karaciğer dokuları incelendiğinde, özellikle periasiner bölgede hepatositlerde şiddetli hidropik dejenerasyon ve koagülasyon nekrozu, sinüzoidlerde dilatasyon ve hiperemi görüldü (Şekil 1-B). Portal bölgede ise hafif mononükleer hücre infiltrasyonu ve damarlarda dilatasyon ve hiperemi tespit edildi.

Naringin 50+CYP Grubu: Bu gruptaki ratların karaciğer dokuları incelendiğinde, periasiner bölgede hepatositlerde orta düzeyde hidropik dejenerasyon ve çok az sayıda nekrotik hepatosite rastlandı (Şekil 1-C).

Naringin 100+CYP Grubu: Bu gruptaki ratların karaciğer dokuları incelendiğinde, periasiner bölgede az sayıda hepatositte hidropik dejenerasyon görüldü. Fakat nekrotik hepatositlere hiç ratlanmadı. Damarlarda hafif hiperemi tespit edildi (Şekil 1-D).



Şekil 1. Karaciğer dokusu, A-E, Kontrol ve Naringin 100 Grupları, normal histolojik görünümü; B, CYP Grup, Periasinar bölgede şiddetli hidropik dejenerasyon (oklar) ve koagulasyon nekrozu (ok başları), sünüzoidlerde dilatasyon ve hiperemi; C, Naringin 50+CYP Grup, orta düzeyde hidropik dejenerasyon (oklar); D, Naringin 100+CYP Grup, çok az sayıda hepatositte hidropik dejenerasyon (oklar), H&E, Bar: 20µm.

Figure 1. Liver tissue, A-E, Control and Naringin 100 groups, normal histological appearance; B, CYP group, severe hydropic degeneration in the Periportal region (arrows) and coagulation necrosis (arrowheads), dilatation and hyperemia in sinusoids; C, Naringin 50+CYP group, middle level hydropic degeneration (arrows); D, Naringin 100+CYP group, hydropic degeneration at very little number in hepatocytes (arrows), H&E, Bar: 20µm.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kanser tedavisinde kemoterapinin uygulanmasının temel amacı, sağlıklı hücrelerin korunmasını sağlayarak kanserli hücrelerin oluşturduğu tümörlerin büyümesini yavaşlatmak ve hatta yok etmektir. Kanser tedavisinde CYP yaygın olarak kullanılan antikanser ajanlardan birisidir. Vücudumuzda pek çok organda fonksiyon bozukluğuna yol açan kanser, karaciğerin fonksiyonları ve karaciğer enzimleri üzerine de önemli etkiler yapmaktadır. CYP uygulanan ratlarda Naringin'in karaciğer üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalara yeterince rastlanılmamaktadır (16-18).

CYP'nin kusma, bulantı, deride lezyonlar, ağız yaraları, sistit, adet siklusunun olmaması gibi yan etkileri bulunmaktadır. Ayrıca CYP'nin gonadal toksisiteye (16), anemi ve nötropeniye, yüksek dozlarda ölümcül kardiyomyopati ile birlikte kardiyak dekompenzasyon gibi akut kardiyotoksisiteye (17), kök hücre naklinden sonra kullanımının kardiyak ve vasküler toksisiteye neden olduğu belirtilmiştir (19). Nefrotoksisite, CYP'nin en sık karşılaşılan yan etkilerinden birisidir (20). CYP'nin karaciğer dokularında malondialdehit (MDA) seviyelerini artırarak ve antioksidan savunmayı azaltarak oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir (21). Antikanser ilaçların olası yan etkilerini ve oluşabilecek oksidatif stresi azaltmak için bazı antioksidatif ajanlar kullanılmaktadır. Çeşitli çalışmalarda CYP ile indüklenen hasar üzerine bazı antioksidanların etkileri rapor edilmiştir (22-24). Çelebi ve ark. (22) idrar kesesi üzerine CYP'nin etkilerini araştırmışlardır. Şengül ve ark. (23) ise CYP ile akciğer toksisitesi oluşturmuş ve Quercetin'in protektif etkilerini incelemişlerdir. Benzer bir çalışmada ise Gelen ve ark. (24) CYP ile oluşturulan kardiyotoksisite üzerine Quercetin'in koruyucu etkilerine bakmışlardır.

Ratlarda ki AST, ALT ve ALP düzeyleri ve karaciğer hasarları üzerine bazı araştırmalar yapılmıştır (25-28). Bu araştırmacılardan Agrawal ve Gupta (25), ısı ve ACTH stresinin karaciğer hasarı üzerine farklı çalışmalarda etkisini, yine benzer

şekilde Gencer ve Çınar (28) ACTH kullanılarak oluşturulan stresin karaciğer enzimleri üzerine etkilerine bakmışlardır. Diğer araştırmacılar ise alkolün karaciğer hasarına etkisine ve AST, ALT ve ALP üzerine etkilerini araştırmışlardır (29-34).

Agrawal ve Gupta (26) ısı stresine maruz bırakılan ratlarda huzursuzluk, kafes içerisinde aşırı koşma hareketleri, sık sık idrar yapma, salya akıtma, uyuşukluk, hipoaktivite ve depresyon olgularını gözlemlemişlerdir. Araştırmamızda CYP uygulanan gruplardaki ratlarda da benzer davranış hareketleri gözlemlendi. Yine aynı araştırmacılar ısı stresinin organizmaya zarar verdiğini ve stresin süresi arttıkça hasarın da arttığını belirtmektedirler (27).

Gencer ve ark. (28) ACTH ile oluşturulan stresin ratlarda karaciğer enzim değerlerini önemli ölçüde yükselttiğini ifade etmişlerdir. Ratlarda yapılan bir başka çalışmada ise Zaidi ve ark. (35) streste A, E ve C vitamininin etkilerini araştırmışlar ve karaciğer üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Karaciğer enzimlerinden AST'de artış olduğunu saptamışlardır.

Alkolün karaciğer enzimleri üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda; Nishimura ve Teschke (31), Teschke ve ark. (32) ve Aşcıoğlu (29) serum AST ve ALT aktivitesindeki artışı, Glinsukon ve ark. (33) serum ALT aktivitesinde artışı, serum AST aktivitesinde azalmayı bildirmişlerdir. Ayrıca Ishii ve ark. (34) serum ALT aktivitesinde bir değişikliğin olmadığını belirtmiştir. Araştırmacıların farklı bildirimlerine karşın, artık günümüzde AST ve ALT'nin kandaki seviyesi karaciğer hücre harabiyetinin göstergelerinden birisi olarak kabul görmektedir (30). AST/ALT oranının 1'den büyük olması alkolik karaciğer hastalığının ve sirozun iyi bir göstergesidir. Alkol verilen hayvanlarda, aminotransferazların tek tek artışından daha fazla, AST/ALT oranındaki artış dikkat çekicidir. Öztapak ve Mengi (36) Viscum album aglutininin doz aşımı uygulamalarının serum AST, ALT, GGT, ALP ve CK aktivitelerinde yükselmeye neden olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada ise AST, ALT ve ALP değerleri Kontrol grubunda 58±11, 32±8, 38±6; CYP grubunda 237±42, 168±44, 74±11; Naringin50+CYP grubunda

223±33, 158±42, 62±9; Naringin 100+CYP grubunda 117±25, 07±24, 48± 8; Naringin 100 grubunda ise 54±9, 31±7, 36±6 olarak bulundu. Kontrol grubundan elde edilen değerlere göre CYP verilen gruplardaki AST, ALT ve ALP değerlerinin tamamında artış söz konusudur. CYP'nin etkisiyle histopatolojik olarak oluşan nekrotik dejeneratif hasar literatürü (37) destekler niteliktedir. Bazı araştırmacılar (38-43), CYP'nin karaciğer enzimleri ve bilirubin seviyelerini arttırdığını da ifade etmektedirler. Bu bildirimler bizim bulgularımızla uygunluk göstermektedir. Naringin 50+CYP ve Naringin 100+CYP verilen iki gruptaki değerlerden bazıları yalnızca CYP verilen değerlere göre istatistiki bağlamda anlamlı olmak üzere azalmıştır. Naringin'in farklı dozlarının, CYP'nin etkisiyle karaciğerde oluşan hasarı azaltması literatürle (44) paralellik göstermektedir. Naringin 100 grubundan elde edilen veriler Kontrol grubu değerleri ile birbirine çok yakın ve istatistiki bağlamda da anlamsızdır. Verilerimiz literatürle paralellik göstermektedir (28,29).

Sonuç olarak, ratlarda CYP ile indüklenen hepatotoksitede protektif amaçlı Naringin uygulamasının karaciğer enzim düzeyleri ve karaciğer histopatolojisi üzerine koruyucu etkili olduğu belirlendi.

KAYNAKLAR

- Ernest E., Cassileth B., 1998. The prevalence of complementary. *Alternative medicine in cancer*. *Cancer*, 83, 777-782.
- Akay H., Akay T., Secilmis S., Kocak Z., Donderici O., 2006. Hepatotoxicity after low-dose cyclophosphamide. *South Med J*, 99, 1399-1401.
- DeSouza L., Shen Y., Bognar AL., 2000. Disruption of cytoplasmic and mitochondrial folylpolyglutamate synthetase activity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Arch Biochem Biophys*, 376, 299-312.
- Meirow D., Assad G., Dor J., Rabinovici J., 2004. The GnRH antagonist cetrorelix reduces cyclophosphamide-induced ovarian follicular destruction in mice. *Hum Reprod*, 19, 1294-1299.
- Thatcher RW., Walker RA., Gerson I., Geisler FH., 1989. EEG discriminant analyses of mild head trauma. *EEG Clin Neurophysiol*, 73, 94-106.
- Muratori L., Ferrari R., Muratori P., Granito A., Bianchi FB., 2005. Acute icteric hepatitis induced by a short course of low-dose cyclophosphamide in a patient with lupus nephritis. *Dig Dis Sci*, 50, 2364-2365.
- Webb H., Jaureguiberry G., Dufek S., Tullus K., Bockenbauer D., 2016. Cyclophosphamide and rituximab in frequently relapsing/steroid-dependent nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, 31, 589-594.
- Doğan Z., Kocahan S., Erdemli E., Kose E., Yılmaz I., Ekincioglu Z., Ekinci N., Turkoz Y., 2015. Effect of chemotherapy exposure prior to pregnancy on fetal brain tissue and the potential protective role of quercetin. *Cytotechnology*, 67, 1031-1038.
- Nafees S., Rashid S., Ali N., Hasan SK., Sultana S., 2015. Rutin ameliorates cyclophosphamide induced oxidative stress and inflammation in Wistar rats: role of NFκB/MAPK pathway. *Chem Biol Interact*, 231, 98-107.
- Bacanli M., Başaran AA., Başaran N., 2015. The antioxidant and antigenotoxic properties of citrus phenolics limonene and naringin. *Food Chem Toxicol*, 81, 160-170.
- Galati EM., Monforte MT., d'Aquino A., Miceli N., Di Mauro D., Sanogo R., 1998. Effects of naringin on experimental ulcer in rats. *Phytomedicine*, 5, 361-366.
- Xie Y., Yang W., Tang F., Chen X., Ren L., 2015. Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism. *Curr Med Chem*, 22, 132-149.
- Liu L., Zuo Z., Lu S., Liu A., Liu X., 2017. Naringin attenuates diabetic retinopathy by inhibiting inflammation, oxidative stress and NF-KB activation in vivo and in vitro. *IJBMS*, 20, 813.
- Ueng YF., Chang YL., Oda Y., Park SS., Liao JF., Lin MF., Chen CF., 1999. In vitro and in vivo effects of naringin on cytochrome P450-dependent monooxygenase in mouse liver. *Life Sci*, 65, 2591-

- 2602.
15. Yıldırım S., Karasu A., Gençcelep M., Çakmak G., 2017. Bir oğlakta konjenital kolo-veziko-üretal fistül, atrezia koli, rektal agenezis ve atrezia ani olgusu. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 64, 145-148.
16. Korkmaz A., Topal T., Oter S., 2007. Pathophysiological aspects of cyclophosphamide and ifosfamide induced hemorrhagic cystitis; implication of reactive oxygen and nitrogen species as well as PARP activation. *Cell Biol Toxicol*, 23, 303-312.
17. Delarmelina JM., Dutra JC., Batitucci Mdo C., 2014. Antimutagenic activity of ipriflavone against the DNA-damage induced by cyclophosphamide in mice. *Food Chem Toxicol*, 65, 140-146.
18. Anderson D., Bishop JB., Garner RC., Ostrosky-Wegman P., Selby PB., 1995. Cyclophosphamide: review of its mutagenicity for an assessment of potential germ cell risks. *Mutat Res*, 330, 115-181.
19. Yeh ET., Tong AT., Lenihan DJ., Yusuf SW., Swafford J., Champion C., Ewer MS., 2004. Cardiovascular complications of cancer therapy: diagnosis, pathogenesis, and management. *Circulation*, 109, 3122-3131.
20. Skinner R., Sharkey IM., Pearson AD., Craft AW., 1993. Ifosfamide, mesna, and nephrotoxicity in children. *J Clin Oncol*, 11, 173-190.
21. Patra K., Bose S., Sarkar S., Rakshit J., Jana S., Mukherjee A., Roy A., Mandal DP., Bhattacharjee S., 2012. Amelioration of cyclophosphamide induced myelosuppression and oxidative stress by cinnamic acid. *Chem Biol Interact*, 195, 231-239.
22. Celebi F., Gelen V., Cınar A., Sengül E., 2014. The effect of rutin on overactive contractility of bladder smooth muscle in the model of cyclophosphamide-induced cystitis in rats. *The FASEB Journal*, 28, 690-15.
23. Sengül E., Gelen V., Gedikli S., Ozkanlar S., Gur C., Celebi F., Cınar A., 2017. The protective effect of quercetin on cyclophosphamide-induced lung toxicity in rats. *Biomed Pharmacother*, 92, 303-307.
24. Gelen V., Sengül E., Gedikli S., Celebi F., Cınar A., Kara A., Ozkanlar S., Gur C., 2016. The effects of quercetin on cyclophosphamide-induced Cardiotoxicity in Rats. *Acta Physiol*, 218, 14-15.
25. Agrawal S., Gupta D., 2013. Assessment of liver damage in male albino rats after repetitive heat stress of moderate level. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol*, 3, 147-152.
26. Agrawal S., Gupta D., 2013. Behavioural changes in albino rats due to repetitive heat stress of moderate level. *Int J Med Sci Public Health*, 2, 650-653.
27. Agrawal S., Gupta D., 2014. A study of regenerative ability of liver after repetitive heat stress induced liver injury. *Int J Med Sci Public Health*, 3, 19-23.
28. Gencer G., Cınar A., Comba B., 2015. Stresin ratlarda bazı karaciğer enzimleri (AST, ALT, ALP) üzerine etkilerinin araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 10, 21-26.
29. Aşıcıoğlu YT., 2005. Sıçanlardaki kronik alkolik karaciğer hasarına likopenin etkisi. *Uzmanlık Tezi, TC Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim Hastanesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, Türkiye.*
30. Samir P., Desai MD., Isa-Pratt S., 2004. Clinician's guide to laboratory medicine. *Lexi-Comp Inc*, 66, 612-613.
31. Nishimura M., Teschke R., 1982. Effect of chronic alcohol consumption on the activities of liver plasma membrane enzymes. *Biochem Pharmacol*, 31, 377-381.
32. Teschke R., Neufeind M., Nishimura M., Strohmeyer G., 1983. Hepatic gammaglutamyltransferase activity in alcoholic fatty liver: comparison with other liver enzymes in man and rats. *Gut*, 24, 625-630.
33. Glinsukon T., Taycharpipranai S., Toskulkaeo C., 1997. Alphatoxin 1 hepatotoxicity in rats treated with ethanol. *Experientia*, 34, 869-870.
34. Ishii H., Watanabe Y., Okuno F., Takagi T., Munakata Y., Miura S., Shigeta Y., Tsuchiya M.,

1998. Alcohol-induced enhancement of intestinal gamma-glutamyl transpeptidase activity in rats and humans: a possible role in increased serum gamma-glutamyl transpeptidase activity in alcoholics, *Alcohol Clin Exp Res*, 12, 111-115.
35. Zaidi SMKR., Al-Qirim TM., Banu N., 2005. Effects of antioxidant vitamins on glutathione depletion and lipid peroxidation induced by restraint stress in the rat liver. *Drugs RD*, 6, 157-165.
36. Öztapak K., Mengi A., 2004. Lektin verilen normal ve tümörlü farelerde serum, karaciğer ve böbrek AST, ALT, GGT, ALP, CK aktiviteleri. *Uludag Univ J Fac Vet Med*, 23, 93-97.
37. Sakr SA., Shalaby SY., Beder RH., 2017. Ameliorative effect of fennel oil on cyclophosphamide induced hepatotoxicity in Albino Rats. *Br J Pharm Res*, 17, 1-12.
38. King PD., Perry MC., 2001. Hepatotoxicity of chemotherapy. *Oncologist*, 6, 162-176.
39. Aubrey DA., 1970. Massive hepatic necrosis after cyclophosphamide. *Br Med J*, 3, 588.
40. Walters D., Robinson RG., Dick-Smith JB., Corrigan AB., Webb J., 1972. Poor response in two cases of juvenile rheumatoid arthritis to treatment with cyclophosphamide. *Med J Aust*, 2, 1070.
41. Bacon AM., Rosenberg SA., 1982. Cyclophosphamide hepatotoxicity in a patient with systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med*, 97, 62-63.
42. Goldberg JW., Lidsky MD., 1985. Cyclophosphamide associated hepatotoxicity. *South Med J*, 78, 222-223.
43. Oyagbemi AA., Omobowale OT., Asenuga ER., Akinleye AS., Ogunsanwo RO., Saba AB., 2016. Cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in Wistar Rats: The modulatory role of gallic acid as a hepatoprotective and chemopreventive phytochemical. *Int J Prev Med*, 7, 51-64.
44. Pari L., Amudha K., 2011. Hepatoprotective role of naringin on nickel-induced toxicity in male Wistar rats. *Eur J Pharmacol*, 650, 364-370.



Antalya İlinde Bulunan Köpeklerde Dirofilariasis, Borreliozis, Ehrlichiazis ve Anaplazmozis'in Hızlı Test Kitleri ile Teşhisi ve İnsidansı Üzerine Araştırmalar*

Sefer KÜÇÜKER¹, Şima ŞAHİNDURAN²✉

1. Antlara Hayvan Hastanesi, Antalya, TÜRKİYE.
2. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Burdur, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
05.06.2017	06.02.2018	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Küçük S, Şahinduran Ş: Antalya İlinde Bulunan Köpeklerde Dirofilariasis, Borreliozis, Ehrlichiazis ve Anaplazmozis'in Hızlı Test Kitleri ile Teşhisi ve İnsidansı Üzerine Araştırmalar. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 191-200, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.319219

Öz: Bu çalışma Antalya ilindeki vektör kaynaklı *Dirofilaria immitis* (*D.immitis*), *Borrelia burgdorferi* (*B. burgdorferi*), *Ehrlichia canis* (*E. canis*) ve *Anaplasma phagocytophilum* (*A. phagocytophilum*) hastalıklarının hızlı test kitleri ile teşhisi ve insidansının araştırılması amacıyla yapıldı. Zoonoz öneme sahip ve keneler aracılığı ile bulaşan bu hastalıklar ilkbahar ve sonbahar döneminde memeli ve insanlar için büyük bir tehdit oluşturmaktadırlar. Ayrıca sokucu sivrisinekler, birçok zoonoz hastalıkta arakonakçı olarak görev yaparlar. Çalışmada 5 günlük ile 15 yaş arası 225 adet köpekten EDTA'lı tüplere alınan kanlarla Anigen Rapid Caniv-4 Test kiti kullanılarak *E. canis* antikorunu %17.7 ve *A. phagocytophilum* antikorunu %0.44 oranında saptanmış, *D. immitis* antijeni ve *B. burgdorferi* antikorunu ise saptanamamıştır. *E. canis*'in tüm yaşlarda görülebildiği ve embriyonal dönemde bulaşmanın olduğu görülmüştür. Çalışmamızda *E. canis* yönünden pozitif çıkan 40 hasta köpekte yapılan hematolojik testler sonucunda; 21 hastada trombositopeni, 18 hastada anemi, 9 hastada lökositoz ve 1 hastada lökopeni görüldü. Antalya ilçesi olan Manavgat'tan getirilen ve ormanlık alanda bulunduğu söylenen bir köpekte *A. phagocytophilum* ve *E. canis*'in pozitif sonuç verdiği görülmüştür. Sonuç olarak; Antalya ilinde *E.canis*'in seroprevalansının yüksek olduğu ve bu çalışmanın sonucunda elde edilen veriler gelecekte Antalya ilinde ve ilçelerinde yapılacak olan çalışmalarda bir referans olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Anaplazma, Borrelia, Dirofilaria, Ehrlichia, Köpek.

Research in to the seroprevalance of Dirofilariasis, Borreliosis, Ehlichiosis and Anaplasmosis in Antalya

Abstract: This study was carried out to investigate the incidence of vector-borne diseases of *Dirofilaria immitis* (*D.immitis*), *Borrelia burgdorferi* (*B. burgdorferi*), *Ehrlichia canis* (*E. canis*) and *Anaplasma phagocytophilum* (*A. phagocytophilum*) in Antalya province with rapid test kits. These diseases, which have zoonotic prescription and are transmitted through the stomachs, are a great threat to mammals and humans in spring and autumn. In addition, stinging mosquitoes act as interconductors in many zoonotic diseases. In the study, blood samples from 225 dogs aging from 5 days to 15 years were collected in EDTA tubes, then Anigen Rapid Caniv-4 Test kits were used for evaluation and *E. canis* antibody was found 17.7%, *A. phagocytophilum* antibody was found 0.44% while *D. immitis* and *B. burgdorferi* antibodies were not found. It was found that *E. canis* can be infected in embryona period and can be seen in all ages. Forty patients with positive *E. canis* in our study were found to have thrombocytopenia in 21 patients, anemia in 18 patients, leukocytosis in 9 patients and leukopenia in 1 patient as a result of hematological tests in dogs. In one dog, which is found living in wood lands near Manavgat district of Antalya, *A. phagocytophilum* and *E. canis* were found positive. As a result; it is thought that the seroprevalance of *E.canis* in the province of Antalya is high and the data obtained as a result of this study can be used as a reference in future studies in the province of Antalya.

Keywords: Anaplasma, Borrelia, Dirofilaria, Dog, Ehrlichia.

✉ Şima ŞAHİNDURAN

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Burdur, TÜRKİYE.
e-posta: sahinduran@mehmetakif.edu.tr

*Bu çalışma Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından Tez Projesi olarak (Proje No: 0243-YL-14) desteklenmiştir.

GİRİŞ

Arthropotlar Dünya genelinde en önemli vektörlerdir. Beşeri ve veteriner hekimliğinde öneme sahip arthropodlar kan emerek, myasis'e yol açarak; alerji, felç ve toksikasyon oluşturarak konağa zarar verebildiği gibi birçok önemli bakteriyel, viral, paraziter, spiroketal ve riketsiyal hastalıkları hayvanlara ve insanlara bulaştırırlar (1). Zoonoz öneme sahip ve keneler aracılığı ile bulaşan bu hastalıklar ilkbahar ve sonbahar döneminde memeli ve insanlar için büyük bir tehdit oluşturmaktadırlar (2). Uluslararası turizm ve seyahat aktivitelerinin artması ve yaygınlaşması köpeklerde "emerging infectious disease" olarak ifade edilen kene kaynaklı infeksiyonlar üzerindeki ilgiyi artırmıştır (3).

Bu zoonoz hastalıklardan sivrisineklerin aracılık ettiği *Dirofilaria immitis* ve kenelerin aracılık ettiği; Lyme (*B. burgdorferi*), *E. canis* ve *A. phagocytophilum* yaygınlık dereceleri önemlidir. Seyahat hastalığı olarak da bilinen bu zoonoz hastalıkların yabancı ülkelerden farklı ırk köpek ithalatının artması, hasta sahipleri ile birlikte köpeklerinin de Avrupa veya diğer kıtalardan, tropik bölgelere seyahat etmeleri hastalıkların önemini ve yaygınlıklarını arttırmıştır (4).

Yukarıda sözü edilen bilgiler doğrultusunda küresel ısınmanın tüm dünyadaki ülkeleri etkilediği göz önüne alındığında ülkemizde de vektörlerle bulaşan hastalıkların sıklığının arttığı gözlemlenmektedir.

Vektörlerle bulaşan enfeksiyöz hastalıklar gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde insan ve hayvan sağlığını doğrudan ve olumsuz yönde etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. Söz konusu enfeksiyöz hastalıklar veteriner hekimlikte önemli yer tutmaktadır. Bu bağlamda vektörlerle bulaşan *D. immitis*, Lyme, *E. canis* ve *A. phagocytophilum*'un bölgedeki prevalansının tespit edilmesi, hızlı test kitlerinin kullanım kolaylığının gösterilmesi ve paraziter hastalıkların erken teşhisi, komplikasyonların zaman kaybetmeksizin fark edilmesi ve sağaltımın yönlendirilmesiyle olumsuz prognozun önüne geçilebilmesini sağlayarak Klinisyen Veteriner Hekimlerin hastalıkla mücadele

etmesini kolaylaştırmak amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali

Bu çalışmada, Antalya'da bulunan Lara Antalya Hayvan Hastanesine gelen her iki cinsiyetten (109 erkek ve 116 dişi), yaşları 5 günlük ile 15 yaş arası toplam 225 adet çeşitli ırklardan köpek materyal olarak kullanıldı. Bu araştırma, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deneysel Hayvanları Yerel Etik Kurulu'nun 26.09.2014 tarih ve 100/2014 sayılı iznine dayanarak gerçekleştirilmiştir.

Klinik Muayene

Hastanemize 07.01.2015 tarihinden 20.02.2016 tarihine kadar getirilen yaklaşık 1500 köpek içerisinde rastgele 225 adet örnek seçildi ve kan almadan önce rutin klinik muayeneleri yapılarak kaydedildi. Her yaşta hayvanları değerlendirebilmek amacıyla muayeneleri yapılan köpeklerin yaşları belirlenip 5 günlük ile 1yaş arası, 1-5 yaş arası, 5-10 yaş arası ve 10+ yaş üstü dört ana gruba ayrıldı.

Kan Örneklerinin Alınması

Köpeklerden kan alma işlemi Ocak 2015 ile Şubat 2016 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Kan örnekleri EDTA'lı tüplere usulüne uygun olarak alındı. *D. immitis*, *B. burgdorferi*, *E. canis* ve *A. phagocytophilum* gibi etkenlerle oluşturulan vektör kaynaklı hastalıkların insidansını belirlemek için Antibody immünokromatografik assay CaniV-4 (*D. immitis* antijen tespiti, *E. canis* antikor testi, *B. burgdorferi* antikor testi ve *A. phagocytophilum*/ *A. platys* antikor tespiti) Kiti (BioNote, Inc. Republic of Korea) kullanıldı.

Test Ölçüm Prosedürü

Testlerin yapılması üretici firmanın talimatı doğrultusunda uygun olarak yapıldı ve buna göre:

Test ekipmanı folyolanmış paketinden çıkartılıp düz ve kuru bir zemine yerleştirildi.

Kan örneklerinin alındığı EDTA'lı tüplerden, tek kullanımlık kapillar tüplere 10 µl tam kan numunesi alınarak test ekipmanının (*B. burgdorferi* Ab, *A. phagocytophilum* Ab, *E. Canis* Ab için) sağındaki 'S' kutucuğuna damlatıldı ve üstüne 3 damla assay dilüent (120 ul) damlatıldı. Test çalışmaya başlarken, test cihazının merkezindeki test penceresindeki mor rengin hareket ettiği görüldü. Hareket, 1 dk içinde görülmediği takdirde test prosedürüne uygun olarak numune boşluğuna 1 damla daha ekleme yapıldı.

D. immitis antijen tespiti için ise tek kullanımlık damlalık kullanılarak, 2 damla kan numunesi test cihazına bırakıldı. Test çalışmaya başlarken, test cihazının merkezindeki test penceresindeki mor rengin hareket ettiği görüldü.

Test sonuçları 10 dakika içinde yorumlandı. 10 dakikadan sonraki test sonuçları yorumlanmadı.

Testin Yorumlanması

Sonuç pencerelerinin sol kısmında testin düzgün çalıştığını gösteren bir mor renk bandının ortaya çıkıp

çıkmadığına bakıldı. Sonuç pencerelerinin sağ kısmındaki bant ise testin pozitif olup olmadığını gösterdi.

Negatif Sonuç: Sonuç pencerelerinde tek mor renk çizgisi (C) bandında belirmesinde, testin negatif olduğu değerlendirildi.

Pozitif sonuç: Sonuç penceresinde iki mor çizgi T ve C (test ve kontrol) bandında belirmesi, hangisinin önce belirdiğinin önemi olmaksızın, testin pozitif olduğu değerlendirildi.

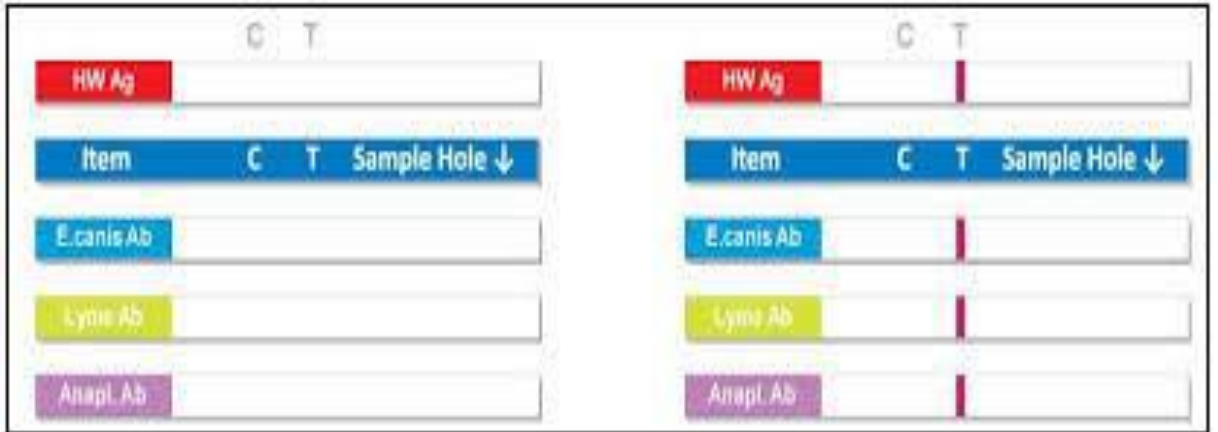
Geçersiz sonuç: Test yapıldıktan sonra test sonuç pencerelerinde (C ve T) mor renk belirlenmeyen test'ler, ya da sadece (T) bandında mor renk belirdiğinde test'ler geçersiz sayılır (Şekil 1).

İstatistiksel Analiz

Hayvanlarda bahsedilen hastalıklara ait seroprevalans yüzde hesabı yapılarak belirlenmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmada geçersiz sonuç ile karşılaşmadı ve testler prosedürüne uygun olarak yapıldı.



Şekil 1. Örnek geçersiz test sonucu.

Figure 1. Sample invalid test result.

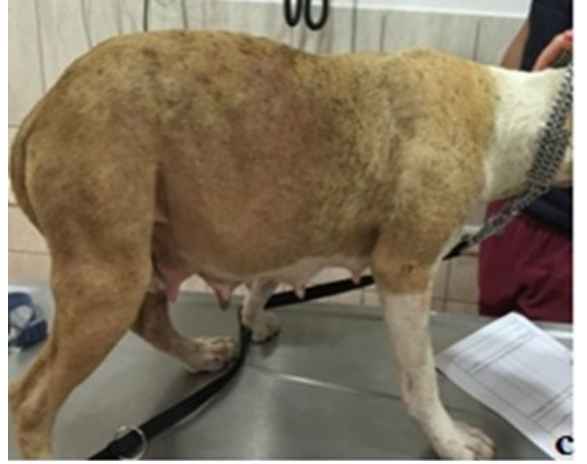
Kanları alınıp testleri *E.canis* yönünden pozitif çıkan köpeklerde yapılan muayene sonucunda; tüylerde dökülme, kulak uçlarında keratinli kalınlaşma, kaşeksi, mandibular lenf yumrularında şişlik, salivasyon (n=20; %50), epistaksis, gözlerde

basınç artışı, hifema, keratitis (n= 13; %32.5), abdominal gerginlik, ishal, vücutta kasılma(n=5 ; %12.5), ayak uçlarında ve eklem bölgelerinde peteşiyel kanamalar ve yürüme güçlüğü (n=2; %5) gibi semptomlar gözlemlendi (Şekil 2, 3, 4,5).



Şekil 2. 4 yaşında, erkek, *E. canis*'li bir köpekte keratitisi olgusu.

Figure 2. Keratitis in a 4-year-old male dog with *E. canis*.



Şekil 4. 3 yaşında dişi *E.canis*'li bir köpekte abdomen bölgesinde gerginlik ve şişlik.

Figure 4. Swelling in the abdominal area in 3 year old female dog with *E. canis*.



Şekil 3. 3 yaşında, dişi, *E. canis*'li bir köpekte mandibular lenf yumrusunda şişlik.

Figure 3. Swelling in mandibular lymph gland in a 3 year old female dog with *E. canis*.



Şekil 5. 2 yaşında, dişi *E. canis*'li bir köpekte kulak uçlarında keratinizasyon.

Figure 5. Keratinization at the ear tips in a 2 years old female dog with *E. canis*.

CaniV-4 test sonuçlarına göre 40 köpekte *E. canis* yönünden pozitif ve 1 köpekte ise hem *A. phagocytophilum* hem *E.canis* birlikte seropozitif olarak belirlenmiştir (Tablo 1). Seropozitif ve seronegatif hayvanların yaş grupları ve taşıdığı hastalıkların dağılımı ise tablo 2'de gösterilmiştir. *E. canis* (+) 40 hayvandan 17 tanesi erkek, 23 tanesi dişi hayvanlardandı. *A. phagocytophilum* olan köpeğin

cinsiyeti ise dişi olarak saptandı (Tablo 3). Hayvan ırklarına göre seropozitif ve seronegatiflik değerlendirilmesi tablo 4'te belirtilmiştir.

Kanları alınıp testleri *E.canis* yönünden pozitif çıkan 40 hasta köpekte yapılan hematolojik testler sonucunda; 21 hastada trombositopeni, 18 hastada anemi, 9 hastada lökositoz ve 1 hastada lökopeni görüldü.

Tablo 1. Kan serumlarının serolojik olarak sayısal dağılımı.**Table 1.** Serologically numerical distribution of blood sera.

Serolojik Sonuç	Hayvan Sayısı
Seropozitif	40
Seronegatif	185
TOPLAM	225

Tablo 2. Seropozitif ve seronegatif hayvanların yaş grupları ve taşıdığı hastalıkların sayısal dağılımı.**Table 2.** Numerical distribution of age groups and diseases of seropositive and seronegative animals.

Hayvanların yaş aralıklarına göre sayıları		<i>D. immitis</i>		<i>B. burgdorferi</i>		<i>E. canis</i>		<i>A. phagocytophilum</i>	
Yaş	n	n+	n-	n+	n-	n+	n-	n+	n-
5 günlük-1 yaş	75	0	75	0	75	8	67	0	75
1-5 yaş	112	0	112	0	112	19	93	1	111
5-10 yaş	31	0	31	0	31	10	21	0	31
>10	7	0	7	0	7	3	5	0	7
Toplam	225	0	225	0	225	40	185	1	224

Tablo 3. Hayvanların cinsiyetine göre seropozitif ve seronegatiflik.**Table 3.** Seropositive and seronegative according to the sex of the animals.

Cinsiyet	n	<i>E.canis</i> (+)	<i>E.canis</i> (-)	<i>A.phagocytophilum</i> (+)	<i>A.phagocytophilum</i> (-)
Erkek	109	17	92	0	109
Dişi	116	23	93	1	115
Toplam	225	40	185	1	224

Tablo 4. Hayvan ırklarına göre seropozitif ve seronegatiflik.**Table 4.** Seropositive and seronegative according to animal breeds.

İrk	Seropozitif	Seronegatif
Doberman	0	1
Labrador	0	1
Terrier	2	7
Akita	0	1
French Bulldog	0	3
İngiliz Bulldog	0	1
German Sheperd	4	3
Melez	25	131
Golden Retwier	1	11
Malinois	0	1
Rotwailler	1	6
Pointer	1	1
Saint Bernard	1	1
Cocker Spaniel	0	1
Husky	1	1
Boxer	0	2
Pit Bull	3	0
Poodle	0	1
Dogo Argentino	1	4
Coccker	0	1
Kangal	0	6
Kavvalien King Charls	0	1
Toplam	40	185

Test Sonuçları

Anigen Hızlı CaniV-4 Test Kiti kullanılarak tek adımda Köpekte *Dirofilaria immitis* antijenini, *Anaplasma phagocytophilum*/Anaplasma plati antikorunu, *B. burgdorferi* antikorunu ve Köpekte *E. canis* antikorunu tespit etmek için rastgele seçilen 225 adet köpekte yapılan çalışmada 40 adet seropozitif *E. canis*, 1 adet *E. canis* ve *A. phagocytophilum* co-infeksiyonu ve 185 adet seronegatif sonuç elde edilmiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünyanın pek çok ülkesinde ve Türkiye'de araştırmacılar *D. immitis*, *B. burgdorferi*, *E. canis* ve *A. phagocytophilum* hastalıklarında ko-infeksiyonu ve bu vektör aracılıklı zoonoz hastalıkların prevalansını belirlemek için farklı test kitleri kullanarak birçok serolojik ve moleküler araştırma yapmışlardır. Bazı araştırmacılar ise bölgesel ve mevsimsel şartlara göre farklı teknikler kullanarak bu hastalıkların prevalansını araştırmışlardır. Sarı ve ark (5) yapmış oldukları araştırmada Iğdır yöresinde *D. immitis* %40, *E. canis* %1 ve *B. burgdorferi* %0 olarak belirlemişlerdir.

Filarial nematodların dünyadaki yayılışı bölge, duyarlı vektör, çevresel faktör, uygulanan teknikler ile birlikte birçok faktöre bağlı değişiklik gösterebilmektedir. *D. immitis*'in Amerika'da %0.3-39.7 (6), İtalya'da %0.6 (7) ve Japonya'da (8) %46.8-62.8 oranında prevalansa sahip olduğu bildirilmektedir. Türkiye, gerek iklimsel gerekse çevresel faktörler yönünden filaria türlerinin yayılışı için uygun bir ülke olarak gözükmesine rağmen filariaların yayılışı konusunda sınırlı bilgi bulunmaktadır. Türkiye'de şimdiye kadar filaria türlerinden yalnızca *D. immitis*, *D. reconditum* ve *D. repens*'in varlığı bildirilmiştir (9). Bu konuda yapılan çalışmalarda genellikle nekropsi bakışı yapılmış daha seyrek olarak natif, Modifiye Knott, antijen ELİSA yöntemleri ve nekropsi ile desteklenmiştir. *D. immitis* Ankara'da %0.6-9.3 (10), Bursa'da %0.2-2.98 (11), Hatay'da %26 (12), Sivas'ta %6 (9), Samsun'da %0 (13), Kars ve Iğdır yöresinde %35.8 (14) Burdur'da %22 (15) oranında olduğu bildirilmiştir.

D. repens, *D. immitis*'den daha az ve sınırlı bir yayılışa sahip olduğu ve İspanya'da %0.8-36.7 (16), İtalya'da %0.8 (7) olarak belirtilirken oran verilmeksizin Fransa, Almanya, Seylan, Hindistan, İsrail, Mısır, Kanada, Brezilya, Arjantin ve Nijerya'dan da bildirilmiştir (17). Benzer biçimde Türkiye'de şimdiye kadar sadece Ankara (18) ve Elazığ'da (19) *D. repens* bildirilmiştir. Bu çalışmada *Dirofilaria* tespit edilmediğinden cins tayini yapılamamıştır.

D. immitis'in bulaşma riskinin yaş faktörü ile ilgili olarak değişkenlik gösterdiği bildirilmekle birlikte bazı araştırmacılar (20) ise *D. immitis*'in bulaşmasında köpeğin yaşı etkili olmadığı, tüm yaş gruplarında hastalığın görülebileceğini bildirmişlerdir. Bazı araştırmacılar (21) ise yaşın artması ile orantılı olarak bulaşma oranının artış gösterdiğine, özellikle 3-7 yaş arasında daha yaygın (%6.1-53.8) olduğunu bildirmektedirler. Aranda ve ark. (22), 5 yaş üstü köpeklerde *D. immitis*'in %73 yayılış gösterdiğini, Sears ve ark. (23) 1-3, 4-6, 7-9 ve 10-12 yaş gruplarındaki köpeklerde infeksiyon prevalansını sırasıyla %6, %11, %15, %19 bildirerek yaş ile birlikte infeksiyon oranlarının arttığını kaydetmişlerdir. Bu çalışmada köpeklerin *D. immitis* infeksiyonunda prevalansa rastlanmadığından yaş arası bir istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır. Köpeklerde *D. immitis* infeksiyonunda, cinsiyetin etkisinin olmadığı kaydedilmekte (6) veya genel olarak bu parazite erkek köpeklerde dişilerden daha çok rastlandığı bildirilmektedir. Bu farklılığın dışı köpeklerin durağan yapısına karşın erkek köpeklerin koruyucu, av veya spor amacıyla daha çok tercih edilmesi, erkek köpeklerin dolaşma eğilimlerinin fazlalığı sebebiyle, sivrisineklerle maruz kalma risklerinin dişilere göre daha yüksek olmasından ileri gelebileceği kaydedilmektedir (21). Bu çalışmada *D. immitis* infeksiyonuna rastlanmadığından cinsiyet ayrımı yapılamamıştır.

Köpeklerde Lyme hastalığı *B. burgdorferi* spiroketinin *Ixodes* cinsi keneler tarafından bulaştırılan multisistemik zoonotik bir hastalıktır (24). Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya'da insanlarda en yaygın olarak görülen zoonoz hastalıklardandır (25).

Köpeklerde Lyme hastalığının varlığı Hollanda (25), farklı test yöntemleri ile belirlenmiştir. Köpeklerde Lyme hastalığı zoonotik olmasına rağmen, ülkemizde hastalığın varlığı ve prevalansı hakkında çok az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Türkiye’de köpekler üzerine ilk klinik olgu Gülanber ve ark. (26) tarafından İstanbul’da Saint Bernard cinsi bir köpekte rapor edilmiştir. Esenal ve ark (27) Ankara ilinde IFAT yöntemi ile yaptıkları araştırma sonucunda 74 köpekte Lyme hastalığının seroprevalansının %78.4 olduğunu tespit etmişler. Satır (28) İstanbul ilinde 96 köpekte PCR ile yaptığı bir çalışmada köpeklerin hiçbirinde pozitiflik belirleyememiştir. Güneş ve ark. (29) Sivas yöresinden toplanan 10.303 kenede *B. burgdorferi*’nin vektörü olan *Ixodes* cinsi kenelere rastlanmadığını bildirmişlerdir. Güner ve ark. (30) Trakya ve İstanbul’dan topladıkları kenelerden *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii* ve *B. garinii* izole edilmiştir; bu suşların dizi analizleri ile Avrupa suşlarıyla %97 oranında benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Uslu (31)’nin Aydın yöresinde yaptığı bir çalışmada seroprevalansın %40.8 olduğunu bildirmiştir.

Bu çalışmada Lyme hastalığına rastlanmadığından cinsiyetin önemi belirlenememiştir. Köpeklerde Lyme hastalığının oluşumunda yaş, cinsiyet ve kene ile temas gibi faktörlerin önemli rol oynadığı bildirilmiştir (32). Straubinger ve ark (33) Lyme hastalığı yönünden seropozitif 38 köpeği yaş gruplarına göre değerlendirdiklerinde; pozitiflik oranının genç köpeklerde daha fazla olduğunu ve hastalığa ait klinik bulguların genç köpek yavrularında (6 ile 12 haftalık) daha sık görüldüğünü belirlemişlerdir.

Köpeklerde Lyme hastalığının şüpheli tanısı klinik bulgulara, kan serumunda antikorların varlığına, endemik bir bölgede ortaya çıkmasına, kene ile temas edilmesine ve uygulanan antibiyotiklerden alınan yanıtı göre konulabilmektedir. Hastalıkta görülen klinik bulguların patognomik olmaması, asemptomatik köpeklerin daha fazla oranda bulunması nedeniyle büyük sayıdaki köpek topluluklarının bulunduğu

yerleşim alanlarında semptomatik ve asemptomatik köpeklerde Lyme hastalığının varlığının değerlendirilmesinde serolojik testler sıklıkla kullanılmıştır (34). Köpeklerde Lyme hastalığının varlığına yönelik yapılan çalışmalarda ELISA testinin yalnız başına veya diğer tanısall testlerle birlikte yaygın olarak kullanıldığı rapor edilmiştir (34,35). Lyme hastalığının klinik bulgularının patognomik olmaması, asemptomatik olmasından dolayı hızlı test kitlerinin kullanımı ile hastalığın teşhisi kolaylaşabilir. Bu çalışmada Lyme hastalığına rastlanmamıştır.

Köpeklerde *E. canis* infeksiyonunun prevalansının belirlenmesi amacıyla değişik ülkelerde yapılmış birçok serolojik ve moleküler çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar araştırmacılara ve uygulanan testlere göre farklılık göstermektedir. *E. canis* infeksiyonlarında prevalansın Afrika’da %3.1 ile %67.8 (36), Avrupa’da %2.2 ile %50 (37); Amerika’da %15.4 ile %44.7 (38) arasında olduğu bildirilmektedir. Türkiye’de *E. canis*’in prevalansı üzerine sınırlı çalışma bulunmaktadır. Bölgesel olarak Marmara, Ege, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde *E. canis*’in prevalansı %20.8 olarak belirtilmiş ve en yüksek prevalansa sahip illerin Adana (%65.3) ve İzmir (%40.6) olduğu bildirilmiştir (4). Ankara, Aydın ve Muğla illerinde yapılmış çalışmalarda prevalansın %67.8 olduğu bildirilmiştir (4). Karagöç ve ark (39) Manisa, Marmaris, Muğla ve Aydın gibi Ege Bölgesinin çeşitli yerlerinde Netsel PCR yöntemi ile yaptıkları bir çalışmada, değişik yaş ve ırktaki 371 köpekten 154’ü (%41.5) *E. canis* açısından seropozitif olduklarını bildirmişlerdir. Güneş ve ark.(40) Sinop yöresinde *E.canis*’in prevalansını %18.28 olarak bildirmişler. Bu çalışmada, Lara Antalya Hayvan Hastanesine gelen 1500 köpekten rastgele seçilen 225 adet köpeğin kan örneklerinden immunokromatografik assay (Anigen CaniV-4) yöntemi ile çalışan hızlı test kitleri ile yapılan taramada *E.canis*’in seropozitiflik oranı %17.77 ve *A. Phagocytophilum*’un seropozitifliği ise %0.44 oranında tespit edildi.

Çalışmamızda *E.canis* yönünden pozitif çıkan 40 hasta köpekte yapılan hematolojik testler sonucunda; 21 hastada trombositopeni, 18 hastada anemi, 9 hastada lökositoz ve 1 hastada lökopeni görüldü. Sonuçlarımız daha önce yapılan çalışmadaki sonuçlarla paralellik gösterdi (4).

Sonuç olarak Hastanemize gelen 1500 köpekten rastgele seçilen 225 adet köpeğin kan örneğinde immunokromatografik assay (Anigen CaniV-4) yöntemi ile çalışan hızlı test kitleri ile yapılan taramada *E.canis*'in karşı seropozitiflik oranı %17.77 ve *A.Phagositofilum*'un seropozitifliği ise %0.44 oranında bulundu.

Çalışmamızın sonuçlarına göre Antalya ilinde *E.canis*'in seroprevalansı yukarıda bahsettiğimiz diğer ülkelere nazaran yüksek olduğu anlaşılmıştır. Bu verilerin gelecekte Antalya ilinde ve ilçelerinde yapılacak olan çalışmalara ışık tutabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Toi CS., Webb CE., Haniotis J., Clancy J., Doggett SL., 2017. Seasonal activity, vector relationships and genetic analysis of mosquito-borne Stratford virüs. Plos One, 12, 3.
- Grabowski NT., Klein G., 2017. Bacteria encountered in raw insect, spider, scorpion, and centipede taxa including edible species, and their significance from the food hygiene point of view. Trends Food Sci Tech, 63, 80-90.
- Düzlü Ö., İnci A., Yıldırım A., Önder Z., Çiloğlu A., 2014. Köpeklerde kene kaynaklı bazı protozoon ve rickettsial enfeksiyonların Real Time PCR ile araştırılması ve saptanan izolatların moleküler karakterizasyonları. A Üni Vet Fak Derg, 61, 275-282.
- Özata F., 2012. *Ehrlichia canis* ve *Anaplasma phagocytophilum* ile infekte köpeklerde trombosit indeksleri; platelekrit, ortalama trombosit hacmi ve trombosit dağılım genişliği. ADÜ Sağ Bilim Ens, Türkiye.
- Sarı B., Taşçı TG., Kılıç Y., 2013. Seroprevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis* and *Borrelia burgdorferi* in Dogs in Iğdır Province, Turkey. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 19, 735-739.
- Theis JH., Stevens F., Law M., 2001. Distribution, prevalence, and relative risk of filariasis in dogs from the state of Washington (1997-1999). J Am Anim Hosp Assoc, 37, 339-347.
- Genchi C., Rinaldi L., Cringoli G., 2007. *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections. Editör(ler): C. Genchi, L. Venco, M. Genchi. Mappa Parassitologiche 8, 1st Edition, Veterinary Parasitology and Parasitic and Animal Health Faculty of Veterinary Medicine, Italy, 80137, Naples, Italy, p: 137-144.
- Nogami S., Sato T., 1997. Prevalence of *Dirofilaria immitis* infection in cats in Saitama, Japan. J Vet Med Sci, 59, 869-871.
- Ataş AD., Özçelik S., Saygı G., 1997. Sivas sokak köpeklerinde görülen helmint türleri, bunların yayılışı ve halk sağlığı yönünden önemi. Türkiye Parazit Derg, 21, 305-309.
- Yıldırım A., İnci A., Düzlü Ö., Bişkin Z., İça A., Şahin İ., 2011. Aedes vexans and Culex pipiens as the potential vectors of *Dirofilaria immitis* in Central Turkey. Vet Parasitol, 178, 143-147.
- Yalçın E., Şenlik B., Yılmaz Z., Alasonyalılar A., Akyol V., 2007. Bursa'daki köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in prevalansı. JTVS, 13, 23-27.
- Yaman M., Güzel M., Koltaş İS., Demirkazık M., Aktaş H., 2009. Prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs from Hatay province, Turkey. J Helmitol, 83, 255-260.
- Çakıroğlu D., Meral Y., 2007. Samsun bölgesinde köpeklerde *Dirofilaria immitis* enfestasyonu insidansı incelenmesi. JIVS, 2, 1-12.
- Taşçı TG., Kılıç Y., 2012. Kars ve Iğdır civarındaki köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in prevalansı ve potansiyel vektör sivrisinek türleri üzerine araştırmalar. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 18, 29-34.
- Adanır R., Sezer K., Köse O., 2013. The prevalence of *Dirofilaria immitis* 'in dogs with different breed, ages and sex. Ank Üniv Vet Fak Derg, 60, 241-244.
- Bravo-Barriga D, Parreira R., Almeida Antonio PG.,

- Calado M., Blanco-Ciudad J., Serrano-Aguilera FJ., Perez-Martin JE., Sanchez-Peinado J., Pinto J., Reina D., Eva Frontera E., 2016. *Culex pipiens* as a potential vector for transmission of *Dirofilaria immitis* and other unclassified Filarioidea in Southwest Spain. *Vet Parasitol*, 223, 173-180.
17. Barriga OO., 1982. *Dirofilariasis* In: Handbook Series in Zoonoses, Section C; Parasitic zoonoses, Vol.2 Ed, p: 93-110.
18. Doğanay A., Şahal M., 1987. Türkiye’de köpeklerdeki *Dirofilariasis* sorunu ve insan sağlığı açısından önemi. *Ank Üniv Vet Fak Derg*, 34, 277-287.
19. Sarali H., 2009. Köpeklerdeki *Dirofilaria* türlerinde *wolbachia*’nın belirlenmesi. Adnan Menderes Üniv Sağ Bil Ens Parazitoloji Anabilimdalı Yüksek Lisans Tezi. s: 2-91.
20. Rowley J., 1981. The prevalence of heartworm infection in three countries in North Carolina. *Canine Pract*, 8, 46-48.
21. Montoya JA., Morales M., Ferrer O., Molina JM., Corbera JA., 1998. The prevalence of *Dirofilaria immitis* in Gran Canaria, Canary Islands, Spain (1994-1996). *Vet Parasitol*, 75, 221-226.
22. Aranda C., Panyella O., Eritja R., Castella J., 1998. Canine filariasis importance and transmission in the Baix Llobregat area, Barcelona (Spain). *Vet Parasitol*, 77, 267-275.
23. Sears BW., McCallister GL., Heidman JC., 1980. *Dirofilaria immitis* in West Colorado. *J Parasitol*, 66, 1070.
24. Baker FC., McCall JW., McCall SD., Drag MD., Mitchell EB., Chester ST., Larsen D., 2016. Ability of an oral formulation of afoxolaner to protect dogs from *Borrelia burgdorferi* infection transmitted by wild Ixodes scapularis ticks. *Comp Immunol Microb*, 49, 65-69.
25. Goossens HA., Bogaard AE., Nohlmans MK., 2000. Reduced specificity of combined IgM and IgG enzyme immunoassay testing for lyme borreliosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 19, 400-402.
26. Gülanber GE., Gülanber A., Albayrak R., Gülanber GN., Polat E., 2007. Lyme Disease (Borreliosis) in Saint Bernard dog: First clinical case in Turkey. *Türk J Vet Anim Sci*, 31, 367-369.
27. Esendal ÖM., İzgür M., Arda M., Akay Ö., Keskin O., 1996. Köpeklerde *Borrelia burgdorferi* antikorlarının floresan antikor tekniği ile saptanması. I.Uluslararası Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, İstanbul. s: 128-129.
28. Satır E., 2006. Köpeklerde *Borrelia burgdorferi* enfeksiyonunun PCR ile araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İ Ü Sağ Bilim Ens., İstanbul.
29. Güneş T., Poyraz Ö., Kaya S., Gençer L., Alim A., 2005. Sivas yöresinde *Borrelia Burgdorferi* vektörlerinin ve Lyme seropozitifliğinin araştırılması. *Mikrobiyol Bült*, 39, 503-505.
30. Güner ES., Hashimot N., Takada N., Kaneda K., Imai Y., Masuzawa T., 2003. First isolation and characterization of *Borrelia burgdorferi* sensu lato strains from Ixodes ricinus ticks in Turkey. *J Med Microbiol*, 52, 807-813.
31. Uslu O., 2008. Köpeklerde Lyme hastalığının araştırılması. Adnan Menderes Üni Sağ Bil En İç Has ABD VİH-YL-2008-0002.
32. Aenishaenslina C., Bouchard C., Koffi JK., Ogden NH., 2017. Exposure and preventive behaviours toward ticks and Lyme disease in Canada: Results from a first national survey. *Ticks Tick-borne Dis*, 8, 112-118.
33. Straubinger RK., Dharma Rao T., Davidson E., Summers BA., Jacobson RH., Frey AB., 2001. Protection against tick-transmitted Lyme disease in dogs vaccinated with a multiantigenic vaccine. *Vaccine*, 20, 181-193.
34. Irwin PJ., Robertson ID., Westman ME., Perkins M., Straubinger RK., 2017. Searching for Lyme borreliosis in Australia: results of a canine sentinel study. *Parasites Vector*, 10, 114.
35. Ferrell AM., Brinkerhoff RJ., Bernal J., Bermudez SE., 2017. Ticks and tick-borne pathogens of dogs along an elevational and land-use gradient in Chiriqui province, Panama. *Exp Appl Acarol*, 71, 4, 371-385.
36. Davoust B., Bourry O., Gomez J., Lafay L., Casali F.,

- Leroy E., 2006. Daniel Parzy surveys on seroprevalence of Canine Monocytic Ehrlichiosis among dogs living in the Ivory Coast and Gabon and evaluation of a quick commercial test kit Dot-ELISA. Ann N Y Acad Sci, 1078, 464-469.
37. Tsachev I., Kontos V., Zarkov I., Krastev., 2006. Survey of antibodies reactive with *Ehrlichia canis* among dogs in South Bulgaria. Rev Med Vet, 157, 481-485.
38. Liu Y., Lund RB., Nordone SK., Yabsley MJ., McMahan CS., 2017. A Bayesian spatio-temporal model for forecasting the prevalence of antibodies to Ehrlichia species in domestic dogs within the contiguous United States. Parasites Vector, 10, 138.
39. Karagenç T., Hoşgör M., Bilgiç Hb., Paşa S., Kırılı G., Eren H., 2005. Ege Bölgesinde köpeklerde E. canis, A. phagocytophila ve A. platys' in prevalansının Nested PCR ile tespiti. 14. Ulusal Parazitoloji Kongresi, İzmir.
40. Güneş T., Poyraz Ö., Babacan A., 2012. Sinop yöresinde, klinik olarak sağlıklı görülen köpeklerde *Ehrlichia canis* ve *Rickettsia conorii*'nin seroepidemiolojik araştırılması. Cumhuriyet Tıp Derg, 34, 17-22.



Modern Süt Sığırı İşletmelerinin Yapısal ve Teknik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma

Durhasan MUNDAN¹, Burhan ATALAR², Bayram Ali MERAL³, Mehmet Mahfuz YAKIŞAN³

1. Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Şanlıurfa, TÜRKİYE.
2. Gıda, Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü Hayvan Sağlığı, Yetiştiriciliği ve Su Ürünleri Şube Müdürlüğü, Şanlıurfa, TÜRKİYE.
3. Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Öğrenci, Şanlıurfa, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
27.07.2017	06.02.2018	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Mundan D, Atalar B, Meral BA, Yakışan MM: Modern Süt Sığırı İşletmelerinin Yapısal ve Teknik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 201-210, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.331282

Öz: Bu araştırma, Şanlıurfa ilinde faaliyette bulunan süt sığırı işletmelerinde yapı ve tesislerin durumunu belirlemek, mevcut barınakların olumlu ve olumsuz yönlerini değerlendirmek, problemlerin çözümüne yönelik yeni teklifler ortaya koymak amacı ile yapılmıştır. Şanlıurfa ilinde "TÜRKVET" sistemine kayıtlı 41 sütçü işletmeye ait veriler, yetiştiricilerle yüz yüze görüşülerek yapılan anketler ve ölçümler yoluyla elde edilmiştir. Araştırmaya dahil edilen işletmelerden elde edilen verilerin sayısal değerleri ve yüzde frekansları sunulmuştur. Şanlıurfa ilinde ziyaret edilen işletmelerde yetiştiricilerin %22'sinin uzman teknik elemanlar tarafından çizilen projeye göre işletmelerini kurdukları, %82.5'inin yarı açık barınaklarda hayvancılık yaptıkları ve tümünde serbest duraklı ahır sistemi kullandıkları, %38.2'si barınak girişini güney yönünde planladıkları, %85.2'sinin barınak zemini olarak beton yapıyı tercih ettikleri, %69.7'sinin duvar yapı malzemesi olarak briket kullandıkları ve %81.88'inin de durak altlık materyali olarak kauçuk paspas kullandıkları tespit edilmiştir. İşletmecilerin %31.71'i ilkököl diplomasına sahiptir. Uzman teknik elemanlar tarafından çizilen projeye göre barınaklarını inşa edenlerde yapısal ve teknik açıdan bir problem bulunmamaktadır. Bununla birlikte, komşularını örnek alarak veya kendi tecrübelerine göre barınaklarını inşa edenler için barınak içi çevre koşullarının sağlanmasında olumsuz durumlar tespit edilmiştir. Sonuç olarak, yetiştiricilerin bilgilendirilmesi için bu konular üzerine seminerler düzenlenmesinin, ideal barınak özelliklerine sahip işletmelerin kurulmasının ve barınakların hayvan refahı kriterlerine göre yapılmasının uygun olacağı önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Barınak, İşletme, Süt Sığırı, Şanlıurfa.

A Research on the Determination of the Structural and Technical Characteristics of Modern Dairy Cattle Enterprises

Abstract: This research was conducted to determine the status of the structures and facilities in Şanlıurfa dairy cattle enterprises, to evaluate the positive and negative aspects of the existing barns, to create new suggestion for the answer of the problems. Data of 41 dairy enterprise registered in the "TURKVET" system were obtained through surveys and measurements in Şanlıurfa. Numerical values and percentage frequencies of the data obtained from the enterprises included in the study are presented. In the enterprises visited in the province of Şanlıurfa, it was determined that 22% of the farmers established their enterprises according to the project designed by expert technical personel, that 82.5% of the farmers were livestock in semi-open barn and used a free-stall system, that 38.2% of the farmers plan the barn entrance to the South, that 85.2% of the farmers prefer concrete structure as barn floor, that 69.7% of the farmers used briquettes as wall construction material and that 81.88% of the farmers used rubber mats as bedding material. Farmers (31.71%) have a primary school diploma. According to the project designed by expert technical personnel, there is no problem in structurally and technically in building barn. However, negative conditions have been identified for those who built their barn by taking their neighbors as an example or by their own experience in the ensuring environmental conditions inside the barn. As a result, it is suggested that it will be appropriate to organize seminars on these subjects in order to inform the farmers, to establishment of enterprises should have ideal barn characteristics and to make the barns according to the animal welfare criteria.

Keywords: Barn, Dairy Cattle, Enterprises, Şanlıurfa.

GİRİŞ

Hayvan yetiştiriciliğinin amacı; sağlıklı, verim düzeyi yüksek ve karlı bir hayvancılık yapabilmektir. Hayvanlara etki eden çevre faktörleri; barındırma, besleme ve sağlık koruma olmak üzere 3 ana faktör altında toplanır. Hayvansal ürünlerin kalite ve kantitesinin artırılması için işletmeye sağlıklı, damızlık değeri yüksek hayvanları almak ve uygun rasyon programı hazırlayıp doğru besleme yapmak yeterli değildir. Bunlardan barındırma faktörlerinin iyileştirilmesi son derece önemlidir. Süt sığırı işletmelerinde sabit yatırım maliyetlerinin yaklaşık %55'i barınak inşası için ayrılmaktadır (1).

Barındırma faktörlerinden yapısal, toplumsal ve iklimsel faktörler, hayvanların verimleri ve davranışları üzerine her zaman etkilidir. Barınaklardaki yapı ile ilgili (baca, pencere, barınak zemini, durak altlık materyali vb.) bozukluklar, barınak içi çevre koşullarında olumsuzluklara neden olur. Baca ve pencere alanının yetersiz olması havalandırmada ve aydınlatmada sorun oluşturacak ve hayvanların akciğerle ilgili hastalıklara yakalanmalarına sebebiyet verecektir. Barınağın planlanması ve tasarım şekli, hayvanların verimleri ve davranışları üzerine dolaylı olarak etki etmektedir (1,2,3).

Hayvancılık işletmeleri; yapı ve tesisler, alet ve ekipmanlar, sürü projeksiyonunu oluşturan canlı hayvanlar, bakıcı ve yönetici konumundaki personel olmak üzere 4 ana unsurdan oluşmaktadır. Hayvancılık işletmesi kurulmadan ve barınak inşaatına başlamadan önce kapsamlı bir fizibilite çalışması yapılmalıdır. Yetiştirilecek hayvanın türü, ırkı, verim yönü, işletme kapasitesi, sürü projeksiyonu, üretim planlaması ve gerekli ekipmanlar belirlenmelidir. Hayvan barınakları, bulunduğu çevrenin coğrafi yapı ve iklim şartlarına göre planlanmalı, yapı ve tesisler ideal ölçülerde yapılmalıdır (4). Böylece toplam yatırım maliyeti düşük olan ideal barınak sistemi inşa edilmiş olacaktır.

Barınak içi çevre koşulları; havalandırma, aydınlatma, sıcaklık ve nispi nem faktörleridir.

Barınak iklimi olarak ta adlandırılan bu faktörler dikkate alınarak yapılan barınakların inşası önemlidir. Barınak inşa esnasında hayvanların doğal davranış özelliklerini (hareket etme, yatma, geviş getirme, yeme ve içme vb.) ve düşük maliyet-azami kar prensibini dikkate almak önem arz eder. Ayrıca barınak ölçüleri, hayvanın refahı, hayvanın davranışları ve biyogüvenlik kuralları dikkate alınarak modern niteliklerde inşa edilmesi gerekir (5).

İklim şartlarının hayvanlar üzerindeki negatif etkileri azaltmak için, onların ideal çevre şartlarında barındırılması önem arz eder. İklim şartları, hayvanları farklı açılardan etkilediği için, barınakların yapımında büyük etkisi olmaktadır. Bu nedenle, bölge iklim şartları detaylı bir şekilde incelenerek hayvan sağlığı ve verimi üzerindeki olumsuz etkileri ekonomik sınırlar içerisinde giderebilecek barınak tipleri üzerinde durulmalıdır. Türkiye'de süt sığırı barınakları inşa edilirken, farklı iklim bölgelerinde, her yönenin farklı iklim şartlarına, yapısal ve teknik özelliklerine göre yeni modellerin geliştirilmesine ve daha geniş ölçekli çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Barınak konumu olarak, kuzey rüzgarlarına hakim olacak şekilde barınakların giriş yönünün güneğe veya doğuya yönelik olması tercih edilmektedir (1,5,6).

Serbest açık barınaklar, ineklere serbestçe hareket etme imkanının tanındığı bir barınak sistemidir. Hayvanların soğuk iklim şartlarından çok fazla etkilenmediği bilinen bir gerçektir. Barınak tasarımında pahalı ve tamamen kapalı yapılar yerine, daha ucuz ve açık sistem barınaklar seçilmektedir. Barınak taban alanının 1/25 – 1/20'i genişliğindeki pencere alanı yeterli barınak içi aydınlatmayı sağlamaktadır. Ayrıca barınak genişliğinin 12 metre olması doğal aydınlatma bakımından ideal sonuçlar vermektedir (7).

Bu araştırma, Şanlıurfa ili süt sığırı barınaklarının yapısal ve teknik özelliklerini incelenmek, barınakların yapısal sorunları hakkında bilgi toplamak, olumlu ve olumsuz yönlerini

değerlendirmek, profesyonel anlamda hayvancılıkla uğraşan yetiştiricilere gerekli bilgileri sağlamak ve yeni teklifler ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada Şanlıurfa'da 150 baş üzeri hayvan barındıran serbest duraklı modern barınaklar değerlendirilmiştir. Şanlıurfa ilinde "TÜRKVET" sistemine kayıtlı olan 41 adet sadece yeni inşa edilen modern sütçü işletmelere ait veriler, anket yoluyla elde edilmiştir. Veriler, işletmelerden 15 Eylül-15 Ekim 2013 tarihleri arasında yüz yüze görüşme yoluyla elde edilmiştir. İşletmelerle ilgili verilerin oluşturulmasında anket çalışması ile beraber gözlem ve fiziki ölçüm çalışmaları da dikkate alınmıştır.

İşletmelerde ölçüm gerektiren özellikler, işletmelerde tespit edilerek anket formuna kaydedilmiştir. Anket çalışmaları neticesinde ortaya çıkan veriler değerlendirilerek, işletmeler

gruplandırılmıştır. Barınakların yapısal ve teknik özellikleri, barınak içi çevre koşullarının analizi, barınak içi düzenleme durumu ve barınak kapasitesinin yeterlilik durumu tartışılmıştır. Çalışmada işletme kapasitesi ve hayvan sayısı, işletmenin kurulma şekli, birim hayvan başına ayrılan alan, barınak konumu, barınak tipi, barınak zemini, durak altlık materyali, duvar yapı malzemesi, çatı malzemesi gibi konular değerlendirilmiştir. Ahırın genişliği, uzunluğu ve yüksekliği şerit metre ile ölçülmüştür.

Bu çalışmada Şanlıurfa Gıda, Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü, Şanlıurfa Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği ve TKDK ile görüşülerek 150 baş ve üzeri süt sığırı işletmelerinin nerelerde bulunduğu tespit edilmiştir. Araştırmayı yürütebilmek için anket formu hazırlanmış ve yetiştiricilerin doldurulması istenen anket formunda yer alan sorularla elde edilen bilgiler Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Anket formunda yer alan sorular.

Table 1. Questions in the survey form.

Sıra No	Elde edilen bilgiler	Açıklama
1	İşletme kapasitesi ve hayvan sayısı	Kapasite altında Tam kapasite çalışıyor Kapasitenin üstünde
2	Yetiştiricilerin eğitim düzeyi	İlköğretim Orta öğrenim Lise Üniversite Yüksek Lisans
3	Yetiştiricilerin iş tecrübesi ve yaşı	
4	Barınak projelerinin kim tarafından çizildiği	Uzman teknik eleman Yetiştiricilerin kendi tecrübesi Komşulardan yardım alarak
5	Barınak giriş yönü	Güney Kuzey Doğu Batı
6	Barınak Tipi	Açık Yarı açık Kapalı
7	Barınakların ortalama genişlik-uzunluk-yüksekliği	cm olarak
8	Durak uzunluğu-genişliği	cm olarak
9	Barınak zemini ve durak zemini	Beton Tuğla, Kiremit Diğer

Tablo 1. Anket formunda yer alan sorular. (Devamı)
Table 1. Questions in the survey form. (Continues)

10	Durak altlık materyali	Kauçuk paspas Deniz kumu Beton
11	Barınak yapımında kullanılan duvar yapı malzemesi	Taş Briket Tuğla Kerpiç Diğer
12	Çatı iskelet malzemesi	Eternit Çinko Çelik konstrüksiyon Diğer
13	Pencere yüksekliği-genişliği	cm olarak

İstatistiksel Analiz

Araştırmaya dahil edilen işletmelerden elde edilen verilerin sayısal değerleri (n) ve yüzde (%) frekansları hesaplanarak sunulmuştur. Yetiştiricilerin iş tecrübesi ve eğitim seviyesi ile işletme kapasitesi ve hayvan sayısı gibi bazı karakterler arasında bağımlılık olup olmadığını tespit etmek amacıyla ki-kare testi uygulanmıştır (8).

BULGULAR

Şanlıurfa'da incelenen işletmelerde hayvan sayısı ile işletme sahibinin eğitim seviyesini tanımlayıcı değerleri Tablo 2'de verilmiştir. Bu tabloya göre işletme sahiplerinin %31.71'i ilkökul diplomasına, %12.20'si Lisans diplomasına sahip olduğu ve 1501-2000 baş arası hayvan yetiştiriciliği yapan işletmecinin ilkökul mezunu olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca işletmede yetiştirilen hayvan sayısı ile bu hayvanlara bakan işletmecinin eğitim seviyesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($P>0.05$).

Tablo 2. İşletmelerdeki hayvan sayısı ile işletme sahibinin eğitim seviyesini tanımlayıcı değerler.
Table 2. Descriptive values of the animals number in the enterprises and education level of the entrepreneurs.

İşletme Sahibinin Eğitim Seviyesi	Hayvan Sayısı							Toplam n (%)
	150 -200 n (%)	201-300 n (%)	301-500 n (%)	501-750 n (%)	751-1000 n (%)	1001-1500 n (%)	1501-2000 n (%)	
İlkökul mezunu	8	2	1	-	1	-	1	13 (31.71)
Ortaokul mezunu	5	1	2	-	2	1	-	11 (26.82)
Lise mezunu	5	-	2	-	-	-	-	7 (17.07)
Üniversite	1	-	-	1	2	1	-	5 (12.20)
Lisans	2	1	1	1	-	-	-	5 (12.20)
Toplam	21 (51.2)	4 (9.8)	6 (14.6)	2 (4.9)	5 (12.2)	2 (4.9)	1 (2.4)	41 (100)
$\chi^2 = 77.642$					$P=0.554$			
P>0.05 (Önemsiz)								

Araştırma yapılan işletmelerde, işletme sahipleri barınakları komşularına bakarak (%21), uzman teknik elemanlar tarafından çizilen projeye göre (%22) ve kendi tecrübelerine göre (%57) yaptıklarını bildirmektedirler.

İşletmelerdeki hayvan sayısı ile işletme sahibinin iş tecrübesini tanımlayıcı değerleri Tablo

3'de verilmiştir. 150-200 baş hayvana sahip olan işletme oranı %51.2 olarak hesaplanmıştır. Yetiştiricilerin sahip olduğu hayvan sayıları ile iş tecrübeleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($P>0.05$).

Tablo 3. İşletmelerdeki hayvan sayısı ile işletme sahibinin iş tecrübesini tanımlayıcı değerler.

Table 3. Descriptive values of the animals number in the enterprises and job experience of the Entrepreneurs.

İşletme Sahibinin İş Tecrübesi	Hayvan Sayısı							Toplam n (%)
	150 -200 n (%)	201-300 n (%)	301-500 n (%)	501-750 n (%)	751-1000 n (%)	1001-1500 n (%)	1501-2000 n (%)	
<5 yıl	7	-	2	1	3	2	-	15 (36.59)
5-10 yıl	5	2	2	-	1	-	1	11 (26.83)
11-15 yıl	3	1	-	1	1	-	-	6 (14.63)
16-20 yıl	2	1	1	-	-	-	-	4 (9.75)
20> yıl	4	-	1	-	-	-	-	5 (12.20)
Toplam	21 (51.2)	4 (9.8)	6 (14.6)	2 (4.9)	5 (12.2)	2 (4.9)	1 (2.4)	41 (100)
	$\chi^2 = 412.766$			$P = 0.319$				
P>0.05 (Önemsiz)								

Birim hayvan başına ayrılan alanın hesaplanmasında barınakların uzunluğu ve genişliği şerit metre ile ölçülerek işletme kapasitesinin uygunluğu belirlenmiştir. Bu çalışmada incelenen işletmelerin %65.4'ünde hayvan refahına uygun biçimde yeterince alan ayrıldığı (kapasiteye uygun), %28.7'sinde kapasitenin altında ve %5.9 oranında kapasite üstü çalıştığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada, barınakların giriş yönünün %52.9'unda doğu yönünde, %38.2'sinin güney yönünde planlandığı,

%8.9'unda ise girişin diğer yönlere baktığı tespit edilmiştir.

İşletmelerde barınak tipi; açık, yarı açık ve kapalı olarak inşa edilmektedir. İncelenen ahırların %17.5'i kapalı, %82.5'i yarı açık barınak tipine sahip oldukları ve tümünde serbest duraklı ahır sistemi kullanıldığı tespit edilmiştir (Tablo 4). İşletmelere ait barınakların genişliği, uzunluğu ve yüksekliği ortalama olarak sırasıyla 11.3m, 82.7m ve 3.9m ölçülmüştür.

Tablo 4. İşletmelerdeki Hayvan Sayısı ile Barınak Tiplerini Tanımlayıcı Değerler.

Table 4. Descriptive Values of the Animals Number in the Enterprises and Barn Types.

Barınak Tipleri	Hayvan Sayısı							Toplam n (%)
	150 -200 n (%)	201-300 n (%)	301-500 n (%)	501-750 n (%)	751-1000 n (%)	1001-1500 n (%)	1501-2000 n (%)	
Açık barınak	-	-	-	-	-	-	-	-
Yarı-Açık barınak	14	4	6	2	5	2	1	34 (82.5)
Kapalı barınak	7	-	-	-	-	-	-	7 (17.5)
Toplam	21 (51.2)	4 (9.8)	6 (14.6)	2 (4.9)	5 (12.2)	2 (4.9)	1 (2.4)	41 (100)
	$\chi^2 = 26.874$			$P = 0.139$				
P>0.05 (Önemsiz)								

Süt sığırı işletmelerinde barınak zemini olarak işletmecilerin %85.2'si beton yapıyı, %14.8'i ise sıkıştırılmış toprağı tercih ettikleri bildirilmiştir.

Bununla birlikte ızgaralı kanal sistemine sahip işletmelerin oranı (%24) düşük bulunmuştur. Hayvanların yattığı yerde kullanılan durak altlık

materyali olarak işletmelerin %81.88'i kauçuk paspas kullandığı, %18.12'sinin ise hiçbir materyal kullanmadıkları tespit edilmiştir.

Barınaklarda duvar yapı malzemesi olarak taş, briket, tuğla, kerpiç, ahşap vb. malzemeler kullanılabilir. Bu çalışmada duvar yapı malzemesi olarak işletmelerin %69.7'si briket, %11.9'u taş ve %18.4'ü tuğla kullandığı bildirilmiştir. İncelenen işletmelerde çatının üzerinin kapatılmasında kullanılan çatı malzemesi olarak sac tercih edildiği (%39.02), bunu eternit (%36.59) ve diğer malzemelerin (%24.39) izlediği tespit edilmiştir. İncelenen barınaklarda havalandırma ile ilgili bir problem bulunmadığı gözlenmiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Karabacak ve Topak (9), Ereğli'de yaptıkları çalışmalarda süt sığırı işletmelerini işletme kapasitesi ve hayvan sayılarına göre değerlendirdiği çalışmada, %15 oranında kapasiteye uygun, %10'unda kapasite üstü ve %75'inde ise kapasite altında hayvan barındırıldığı bildirilmektedirler.

Soyer (10), yaptığı çalışmada, işletme sahiplerinin %69.5'inin 50 yaş altında, %30.5'inin ise 50 yaş ve üzerinde olduğunu, en küçük yaştaki çiftçi 28 yaş, en büyüğünün 74 yaşında olduğunu ve yine işletme sahiplerinin %43.7'si ilkokul mezunu, %14.9 üniversite mezunu olarak işletmede çalıştığını bildirmiştir. Savaş (11), Rize ilinde yaptığı çalışmada işletme sahiplerinin eğitim durumuna bakıldığında 149 adet işletme sahibinden %68.5'inin ilköğretim mezunu ve %3.4'ünün üniversite mezunu olduğunu bildirmiştir. Kaygısız ve ark. (12), Kahramanmaraş ili süt sığırcılık işletmelerinin yapısal özelliklerinin araştırdıkları bir çalışmada işletmecilerin eğitim seviyeleri %9 okur-yazar değil, %43 ilköğretim mezunu, %26 ortaokul, %21 lise ve %1 üniversite mezunu olarak bildirmişlerdir. Avsever (13), Konya ili Ereğli ilçesinde yaptığı çalışmada yetiştiricilerin eğitim düzeylerinin %74.83'ünün ilkokul ve ortaokul mezunu olduklarını ve yaşlarının ortalama 44.43 olduğunu bildirmiştir.

Karabacak ve Topak (9), Ereğli'de yaptıkları çalışmalarda barınak projelerinin %85'i işletme sahipleri (kendi tecrübesi ve komşu işletmelerden yardım alarak) tarafından, %15'i de bu konuda uzman teknik elemanlar tarafından yapıldığını tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılar, barınakları oluşturan unsurların ve barınak yapı elemanlarının yeterli teknik bilgiye sahip olmadan inşa edildiğini bildirmektedirler. Şahin (14), Ankara ili Ayaş ilçesinde yaptığı çalışmada işletme sahiplerinin barınakları %10'unun komşularına bakarak, %20.6'sının teknik uzmanlar vasıtasıyla, %69.4'ünün ise kendi tecrübesine göre inşa ettiklerini bildirmektedirler. Özen ve Oluğ (15), Burdur'da yetiştiricilerin %10'u komşuyu örnek alarak, %20'si projeye göre, %70'i ise kendi tecrübelerine göre ahırlarını yaptıklarını bildirmektedirler.

Soyer (10), Aydın ilindeki ahırların %48.2'sinin kapalı, %41.4'ünün yarı açık tipte olduğunu bildirmişlerdir. Daş ve ark. (16), Bingöl ilinde ahırların tamamının kapalı ve serbest/bağlı tip ahırlar olduğunu bildirmişlerdir. Şahin (14), Ankara ili Ayaş ilçesinde yaptığı çalışmada işletmede %94.7'sinin kapalı ve bağlı ahırlar, %0.6'sının yarı açık ve bağlı ahırlar, %3.5'inin yarı açık-serbest ahırlar inşa etmişlerdir. Yılmaz ve Yardımcı (17), Isparta'da süt sığırı işletmelerinde yaptıkları çalışmada incelenen işletmelerin %64'ünde kapalı (bağlı-duraklı), %20'sinde serbest (açık), %16'sında serbest duraklı barınak sisteminin uygulandığını bildirmişlerdir. Güler ve ark. (18), Erzurum ili Narman ilçesinde bulunan sığır barınaklarına ilişkin yapısal özelliklerin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, işletmelerde yer alan barınakların %55.3'ü klasik bağlı duraksız, %38.5'i bağlı duraklı, %6.3'ü ise serbest duraklı kapalı sistem karakterinde olduğunu tespit etmişlerdir. Avsever (13), Konya ili Ereğli ilçesinde yaptığı çalışmada toplam 191 adet süt sığırı işletmesinde kullanılan ahırların %19.37'sinin kapalı, %47.13'ünün yarı açık ve %33.5'inin ise açık olduğunu; bunların da %21.47'sinin bağlı duraklı, %43.98'inin serbest duraklı ve %34.55'inin de duraksız olduğunu

bildirmiştir. Şahanoğlu ve Koçak (19), Afyonkarahisar ili süt sığırcılığı işletmelerinde yaptıkları çalışmada, işletmelerin barınak tipi bakımından değerlendirilmesinde kapalı bağlamalı %98, kapalı serbest dolaşimli %1 ve yarı açık %1 olduğunu tespit etmişlerdir.

Daş ve ark. (16), Bingöl ilindeki barınakların ortalama genişlik, uzunluk ve yüksekliği sırasıyla 7m, 14m ve 2.8m olarak bildirmiştir. Şahin (14), Ankara ili Ayaş ilçesinde yaptığı çalışmada durak genişliğini 90-128cm, durak uzunluğunu 190-260cm olduğunu bildirmiştir.

Güler ve ark. (18), Erzurum'da yaptıkları çalışmada barınak zemininde beton yapıyı kullanan işletme oranını %43.8 olarak tespit etmişlerdir. Oğuz ve ark. (20), Burdur'da ahır zeminin işletmelerin %36'sında beton, %10'unda toprak olduğunu bildirmektedirler. Köseman ve Şeker (21), Malatya'da yaptıkları çalışmada işletmelerin %97.4'ü ahır zemininde beton yapıyı, %1.1'i toprak, %1.5'i taş yapıyı tercih ettiklerini bildirmişlerdir. Yayar ve Karkacier (22), Tokat ilinde yaptıkları çalışmada işletmecilerin durak altlık materyali olarak %4.25'inde talaş, %48.94'ünde saman kullandıklarını, %22.40'ında hiçbir şey kullanmadıklarını bildirmişlerdir. Haley ve ark. (23), ineklerin altlık olan zeminlerde altlıksız olanlara göre %7.6 oranında daha fazla yattıklarını, ayakta kaldıkları zamanda yem yemediklerini gözlemişlerdir. Köseman ve Şeker (21), Malatya'da yaptıkları çalışmada işletmelerin %9.8'i durak altlık materyali olarak talaşı, %1.6'sı samanı, %11.3'ü kuru gübreyi tercih ettiklerini, diğer işletmelerin (%77.3) duraklarda altlık malzemesi kullanmadıklarını bildirmişlerdir. Şahin (14), Ankara ili Ayaş ilçesinde incelediği işletmelerde barınakların %90.29'unda, Tutkun (24) ise işletmelerin tamamında durak bulunduğunu bildirmektedirler. Yine Tutkun (24), durak zemininin %48.5'inin betonarme, %33.3'ünün taş ve %18.2'sinin toprak olduğunu bildirmektedir. Şahin (14), Ankara ili Ayaş ilçesinde yaptığı çalışmada barınaklarda durak zemininde beton yapı (%95.9), tuğla (%3.5), taş (%0.3) ve toprak (%0.3)

yapıyı tercih ettiklerini bildirmişlerdir. Soyer (10), Aydın ilinde ineklerde kauçuk altlık kullananların oranını %1.8 olarak bildirmiştir.

Şeker ve ark. (25), Muş ilinde yaptıkları incelemede ahırlarının inşaatında çoğunlukla taş (%42.1) sonra briket (%39.7) ve kerpiç (%18.2) kullanıldığını bildirmektedirler. Erkmən ve ark. (26), Erzurum ilinde 760 işletmede yaptıkları çalışmada, barınak malzemesi olarak %66.97 taş kullanıldığını bildirmektedirler. Bayraktar ve ark. (27) tarafından Bitlis ili Ahlat ve Adilcevaş ilçelerinde bulunan 23 adet süt sığırı işletmesinde yapılan çalışmada barınakların %61'inde briket, %22'sinde ahlat taşı duvar yapı malzemesi olarak kullanıldığını bildirmişlerdir. Güler ve ark. (18), Erzurum ili Narman ilçesinde bulunan sığır barınaklarında duvar yapı malzemesi olarak işletmecilerin %55.3'ünün taş yapı kullandığını bildirmişlerdir. Yapılan bütün çalışmaların ortak özelliği, ahır yapımında kerpicin çok az kullanılmış olmasıdır. Duvarların %15'i sıvasız, %27'sinin yalnızca iç yüzeyi sıvalı ve %58'inin her iki yüzeyi de sıvalıdır. Şahin (14), Ankara ili Ayaş ilçesinde yaptığı çalışmada ahırların %38.8'inin taş, %20'sinin kerpiç, %23.8'inin tuğla ve %17.4'ünün briket duvar yapı malzemesi kullanılarak yapıldığı bildirmiştir. Daş ve ark. (16), Bingöl'de araştırma kapsamındaki incelenen işletmelerde duvar yapı malzemesi olarak ahırların %50'si taş molozdan, %30'u briketten %20'si ise tuğladan yapılmışken, kerpiçten yapılan barınak olmadığını saptanmıştır.

Karabacak ve Topak (9), ahırların çatı iskelet malzemesinin %20'si çelik konstrüksiyon, %75'i ahşap, %5'i de beton merteklerden oluştuğunu, çatıların %75'i beşik, %25'i sundurma çatı şeklinde yapıldığını bildirmektedirler. Güler ve ark. (18), Erzurum ilindeki barınaklarda çatı örtü malzemesi olarak işletmeler %48.1 oranında sac kullandıklarını tespit etmişlerdir. İncelenen ahırların 32'sinde çatı sistemi mevcut olup, bunların %6'sı sundurma çatı ve %94'ü de beşik çatı sistemine sahiptir. Çatıların hiçbirinde yalıtım yapılmamıştır. Bu işletmelerde havalandırma açıklıklarının gereğinden fazla olması

nedeniyle, havalandırma yoluyla sıcaklık kaybının oldukça yüksek olduğu gözlenmiştir. Çatı örtü malzemesi olarak ahırların %43'ünde kiremit ve %57'sinde eternit kullanılmıştır.

Karabacak ve Topak (9), pencere genişliklerini barınakların %75'inde, 40-90 cm arasında, %25'inde 91-180cm arasında, pencere yükseklikleri ise barınakların %75'inde 30-60 cm arasında, %25'inde de 61-100 cm arasında değiştiğini bildirmektedirler. Ayrıca aynı araştırmacılar, pencerelerin ahır tabanından yüksekliklerini, barınakların %70'inde 90-140 cm, %30'unda ise 141-190 cm arasında olduğunu bildirmektedirler.

Şanlıurfa ilinde, barınakların yapısal ve teknik özellikleri ile ilgili uyulması gereken esaslar ile mevcut durum karşılaştırılmıştır. Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre; işletmelerde ineklerin doğal davranış özelliklerini gösterebildiği, daha az stres faktörlerine maruz kaldığı serbest duraklı ahırlar kullanılmıştır. Aynı zamanda işgücünden tasarruf amacıyla bağlı duraklı ahırlardan serbest duraklı ahırlara geçiş yapıldığı görülmektedir.

Büyükbaş çiftlikleri, işletme kapasitesi ve hayvan sayısına göre değerlendirildiğinde çoğu işletmeler kapasitenin altında hayvan varlığı ile çalışmaktadır. Bu çalışmada, tam kapasite ile çalışan işletme oranı %65.4'dür. Kapasite üstünde hayvan bulduran işletme oranı ise %5.9 olarak tespit edilmiştir. Hayvancılık işletmeleri genelde ilk yıllarda herhangi bir tecrübesizliğe karşı işletme kapasitesinin 1/5'i hayvan sayısı ile yetiştiricilik yapmaktadırlar. Dolayısıyla 5 yıldan az iş tecrübesine sahip işletme sahipleri daha fazla olduğundan işletmeler tam kapasite ile çalışma oranı düşük bulunmaktadır.

Hayvancılık işletmelerinin yerleşim yerlerinden 1.5 km uzaklıkta kurulması, yerleşim yeri içerisinde yaşayan hane sahiplerini koku vb. bakımından rahatsız etmemeleri için önem taşımaktadır. Yapılan bu çalışmada süt sığırı işletmelerinin %77'si yerleşim yeri içerisinde kurulmuş, %23'ü yerleşim alanı dışında faaliyet gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda işletme sahipleri genelde kendi

tecrübelerine göre barınakları inşa ettikleri sonucuna ulaşılmıştır.

İncelemelerde bazı işletmecilerin işgücü tasarrufu sağlamak için ahırları bağlı duraktan serbest duraklı ahırlara dönüştürdükleri görülmüştür. Yetiştiricilerin kapasiteye uygun hayvan barındırabilmek ve kontrol mekanizmasını sağlamak açısından bu barınak tipini tercih ettikleri söylenebilir. Maton ve ark. (28), bağlı duraklı ahırlarda ayak ve meme yaralanmalarının serbest duraklı ahırlara nispetle 2-5 kat daha fazla görüldüğü, araştırma yaptıkları işletmelerde barınakların büyük çoğunluğunun kapalı serbest duraklı ahırlar şeklinde olduğunu bildirmektedirler. Aydın ve ark. (29), Erzurum ilinde yaptıkları çalışmada işletmelerin %51.5 oranında bağlı duraksız kapalı ahır tipini tercih ettiklerini, bu durumun yetiştiricinin sağlığını ve ineklerin süt verimini olumsuz yönde etkilediğini bildirmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar, işletmelerin %81'inin durak altlık materyali kullanmadıklarını bildirmişlerdir. Turhan (30), araştırma yaptığı işletmelerdeki barınakların %65'inin kuzey-güney yönünde, %35'inin ise doğu-batı yönünde yerleştirildiğini, barınakların genişliğinin 8-16 m arasında, uzunluğunun ise 10-70 m arasında olduğunu bildirmiştir.

Bu çalışmada araştırma yapılan bazı işletmelerde durakların ideal ölçülere göre yapılmadığı tespit edilmiştir. Bu olumsuzluğun, işletmelerde farklı genotiplere sahip sığırların mevcut olmasından kaynaklandığı bildirilmektedir. Yetiştiriciler, günlük temizliğin rahat yapılabilmesi açısından beton zemini tercih ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmada yetiştiricilerin, durak altlık materyali kullanmamaları veya farklı altlık materyallerini tercih etmeleri maliyeti düşürmek için veya tecrübesizlikten kaynaklanmış olabileceği sonucuna varılmıştır.

İşletmelerde hem ekonomik açıdan maliyeti düşürmek hem de komşu ahırlar örnek alınarak kalıplaşmış bilgiler kullanıldığından bazı hataları düzeltmek çok zor olmaktadır. Ancak bölgede damızlık sığır yetiştiricileri birliği, TKDK, Gıda, Tarım

ve Hayvancılık İl Müdürlüğü gibi kurumlar tarafından örnek işletmeler kurularak ve faaliyete geçirerek hayvancılığın gelişmesini engelleyen önyargıların önüne geçilmiş olacaktır.

Sonuç olarak Şanlıurfa ilinde yaygın olarak devam eden hayvancılık faaliyetlerinin özellikle son 10 yılda zamanla şekil değiştirerek modern tesislerde yapılmaya başlandığı görülmüştür. Bununla birlikte verimli arazi üzerine kurulmuş ve yerleşim alanları içinde kalan hayvancılık işletmeleri de bulunmaktadır. Süt sığırı işletmelerinde büyük oranda üreticiler, hayvancılığı ikinci bir iş olarak benimsemektedirler. Karlı bir hayvancılık yapmak için hayvancılığın birinci iş olarak yapılması gerekir. Ayrıca işletmelerin ortak ve toplu olarak birlikte hareket etmeleri karlılığı artıracaktır. İlde büyük kapasiteli işletmelerin kurulması özendirilmelidir. Küçük işletmelerin büyük işletmelere dönüştürülmesi tavsiye edilebilir. Böylece, süt sanayicilerinin sağlıklı ve kaliteli süt talebi karşılanmış olacaktır. Barınaklar ve alet-ekipmanlar için verilen hibeler kullanılmalı, İl Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü ile üniversitelerin bölgeye uygun olarak hazırlamış olduğu alternatif proje modelleri dikkate alınarak işletmeler kurulmalıdır.

Dünyada, hayvanların davranışlarına uygun yapı modelleri giderek daha çok önem kazanmaktadır. Türkiye’de ise süt sığırı barınakları inşa edilirken, farklı iklim bölgeleri olmasına rağmen aynı tip, ya da birbirlerinin benzeri şeklinde yapıldığı gözlemlenmektedir. Bu nedenle, her yörenin farklı iklim şartlarına ve yapısal özelliklerine göre yeni modellerin geliştirilmesine ve daha geniş ölçekli çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Alpan O., Aksoy AR., 2015. Sığır Yetiştiriciliği ve Besiciliği. 7.baskı, ISBN: 975-95445-0-4, İstanbul.
2. House HK., Eng P., 2016. Dairy Housing - Ventilation Options for Free Stall Barns, ISSN: 1198-712X, Ontario.
3. Ondarza MB., 2000. Cow Comfort. Nutritional consultant for the dairy feed industry at Paradox Nutrition, LLC.
4. Wathes CM., Charles DR., 1994. Livestock Housing. CAB INTERNATIONAL, Wallingford Oxon, OX10 8DE. UK.
5. Uğur F., 2014. Sığır Yetiştirme (Ders Kitabı). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Yayınları No: 117. Birinci baskı. Pozitif Matbaa. ISBN: 978-605-4222-36-0.
6. Moran J., 1989. The influence of season and management system on intake and productivity of confined dairy cows in a Mediterranean climate. Anim Prod, 49, 339-344.
7. Arıcı İ., 1982. Kırsal toplu yerleşim ve işletme avlularının düzenlenmesi, Atatürk Üniv Zir Fak Derg, 13 (3-4), Erzurum.
8. SPSS 22.0, 2015. Statistical Package in Social Sciences for Windows. Chicago, USA.
9. Karabacak A., Topak R., 2007. Ereğli yöresi süt sığırı barınaklarının yapısal durumu ve sorunları. Selçuk Üniv Zir Fak Derg, 21, 55-58.
10. Soyer G., 2014. Aydın ili süt sığırcılığı işletmelerinde gübre yönetim uygulamaları ve bitkisel üretimde gübre kullanım olanaklarının geliştirilmesi. Adnan Menderes Üniv Fen Bil Enst, Tarımsal Yapılar Ve Sulama Anabilim Dalı, Tez çalışması, 2014-YL-038.
11. Savaş S., 2016. Rize ilinde yapılan süt sığırcılığının mevcut durumunun araştırılması, Atatürk Üniv Sağ Bil Enst, Yüksek Lisans Tezi, 2016.
12. Kaygısız A., Tümer R., Orhan H., Vanlı Y., 2010. Kahramanmaraş İli Süt Sığırcılık İşletmelerinin Yapısal Özellikleri 4. İşletmecilerin Sosyal ve Kültürel Durumları. Atatürk Üniv Zir Fak Derg, 41 (1), 39-44.
13. Avsever F., 2016. Konya İli Ereğli İlçesi Süt Sığırcılığı İşletmelerinin Yapısal Özellikleri, Selçuk Üniv Fen Bil Enst. Yüksek Lisans Tezi, 43 sayfa.
14. Şahin O., 1994. Ayaş İlçesine Bağlı Köylerdeki Süt Sığırcılığının Yapısı. Ankara Üniv Fen Bil Enst, Yüksek Lisans Tezi, 125s. Ankara.
15. Özen N., Oluğ H., 1996. Burdur süt sığırcılığının sorunları ve çözüm önerileri. Akdeniz Üniv Zir Fak Derg, 9, 309-321.

16. Daş A., İnci H., Karayak E., Şengül YA., 2014. Bingöl İli Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliğine Bağlı Sığırcılık İşletmelerinin Mevcut Durumu. Türk Tarım ve Doğa Bil Derg, 1, 421-429.
17. Yılmaz Hl., Yardımcı N., 2014. Isparta bölgesinde süt sığırcılığı yapılan işletmelerdeki barınakların hayvan refahı açısından değerlendirilmesi. Harran Tarım ve Gıda Bil Derg, 18, 27-35.
18. Güler O., Aydın R., Diler A., Yanar M., Koçyiğit R., Maraşlı A., 2017. Sığırcılık işletmelerinin barınak özellikleri üzerine bir araştırma; Erzurum ili Narman ilçesi örneği. YYÜ Tar Bil Derg, 27, 396-405.
19. Şahanoğlu E., Koçak S., 2014. Afyonkarahisar ili süt sığırcılığı işletmelerinde hayvan refahının barınak ve yetiştirme şartları yönünden değerlendirilmesi, Lalahan Hay Araşt Enst Derg, 54, 47-55.
20. Oğuz MN., Oğuz FK., Sipahi C., 2013. Burdur'da süt üretiminde maliyet durum tespiti ve eğitim faaliyeti 2. kısım: barınak ve yem kullanımına ilişkin özellikler, Vet Hek Der Derg, 84, 1-8.
21. Köseman A., Şeker İ., 2016. Malatya ilinde sığırcılık işletmelerinin mevcut durumu: I. Yapısal Özellikler, FÜ Sağ Bil Vet Derg, 30, 5-12.
22. Yayar R., Karkacier O., 1996. Tokat ili Pazar ilçesi süt sığırcılığı işletmelerinin ekonomik ve teknik özellikleri üzerinde bir araştırma. GOP Üniv Zir Fak Derg, 13, 269-288.
23. HHaley DB., Rushen J., De Passille AM., 2000. Behavioural indicators of cow comfort: Activity and resting behaviour of dairy cows in two types of housing. Can J Anim Sci, 80, 257-263.
24. Tutkun M., 1999. Diyarbakır ili merkez ilçeye bağlı köylerdeki süt sığırcılığının yapısı. Ankara Üniv Fen Bil Enst, Zootekni ABD, Yüksek Lisans Tezi, 52 s. Ankara.
25. Şeker İ., Tasalı H., Güler H., 2012. Muş İlinde sığır yetiştiriciliği yapılan işletmelerin yapısal özellikleri, FÜ Sağ Bil Vet Derg, 26, 9-16.
26. Erkmen Y., Çelik A., Yıldız C., 2000. Erzurum ili süt sığırcılığı işletmelerinin yapısal durumu ve ahır içi mekanizasyon özellikleri üzerine bir araştırma. Tarımsal Mekanizasyon 19.Ulusal Kongresi, 01-02 Haziran, Erzurum, 468-471.
27. Bayraktar H., Uğurlu N., Yılmaz AM., 2010. Bitlis İli Ahlat ve Adilcevaz ilçeleri süt sığırı işletmelerinde barınakların değerlendirmesi. Selçuk Tarım ve Gıda Bil Derg, 24, 17-22.
28. Maton A., Daelemens J., Lambrecht J., 1985. Housing of Animals. Developments in Agricultural Engineering 6. (Elsevier Science Publishers) pp.458.
29. Aydın R., Güler O., Yanar M., Diler A., Koçyiğit R., Avcı M., 2016. Erzurum İli Hınıs ilçesi sığırcılık işletmelerinin barınak özellikleri üzerine bir araştırma, KSÜ Doğa Bil Derg, 19, 98-42.
30. Turhan H., 2016. Konya-Karatay İlçesinde süt sığırı barınaklarının yapısal özellikleri. Selçuk Üniv Fen Bil Enst. Yüksek Lisans Tezi, 55 sayfa.



Buzağı İshallerinde Coronavirusun Nukleoprotein Gen ve Rotavirusun VP7/VP4 Gen Bölgelerinin Kısmi Sekansı ve Filogenetik Analizi

Hakan AYDIN^{1✉}, Mehmet Özkan TİMURKAN¹

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
28.01.2018	09.03.2018	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Aydın H, Timurkan MÖ: Buzağı İshallerinde Coronavirusun Nukleoprotein Gen ve Rotavirusun VP7/VP4 Gen Bölgelerinin Kısmi Sekansı ve Filogenetik Analizi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 211-218, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.372439

Öz: Dünya genelinde yaygın olarak gözlenen rotavirus ve coronavirus enfeksiyonları, yeni doğan buzağı ishallerinin etiyolojik ajanları arasındadır. Yirmi birinci yüzyılda enfeksiyon ajanlarının incelenmesi, moleküler tabanlı genetik çalışmalarla hız kazanmıştır. Günümüzde enfeksiyonlardan sorumlu rotavirusun bilinen en az 27 farklı G ve 37 farklı P genotipi tespit edilmiştir. Coronaviruslar ise genetik yakınlıklarına göre; dört genotipik gruba ayrılmaktadır. Bu çalışmada, buzağı ishallerine sebep olan rotavirus ve coronavirus enfeksiyonlarının moleküler düzeyde incelenmesi amaçlandı. Coronavirusun nukleoprotein gen bölgesi ve rotavirusun VP4 ile VP7 gen bölgelerine yönelik spesifik primerler kullanılarak kısmi sekansları ve ardından filogenetik analizleri yapıldı. Filogenetik analiz için GenBank'tan elde edilen referans suşlar kullanıldı. VP7 gen bölgesinin analizi sonucunda Erzurum suşlarının G6 ve G10 genotipine, VP4 gen bölgesine göre ise tüm suşların P[5] genotipine ait olduğu tespit edildi. Coronavirus yönünden yapılan filogenetik analiz sonuçlarına göre ise Erzurum suşları; geyik, zürafa, yaras, sığır ve insan coronavirus suşları ile birlikte beta-coronavirus genogrubu içerisinde toplandığı tespit edildi. Sonuç olarak bu çalışma ile Erzurum'da ilk kez enterik coronavirus ve rotavirus moleküler olarak araştırılmış olup sonraki çalışmalar için bir temel oluşturmuştur.

Anahtar Kelimeler: Coronavirus, Erzurum, Moleküler karakterizasyon, Rotavirus, Sığır.

Partial Sequence and Phylogenetic Analysis of The Nucleoprotein Gene of Coronavirus and VP7/VP4 Gene of Rotavirus in Calf Diarrhea

Abstract: The rotavirus and coronavirus are etiological agent of neonatal calf diarrhea and they are widespread in the world. In the twenty first century, investigation of infectious agents have accelerated with molecular-based genetic studies. So far as is known, at least 27 distinct G genotypes and 37 distinct P genotypes have been identified. Coronaviruses are divided into four genotypic groups based on their genetic distance. The aim of this study, we investigate the rotavirus and coronavirus infections in calf diarrhea based on molecular analysis. Partial sequencing of the coronavirus nucleoprotein gene fragment and rotavirus VP4 and VP7 gen fragment was performed using specific nested primer pairs and followed phylogenetic analyses. Phylogenetic tree was constructed using reference strains obtained from GenBank. The Erzurum rotavirus strains were involved in G6 and G10 genogroup based on VP7 coding gen region and all rotavirus strain was involved in P[5] genogroup based on VP4 coding gen region. The phylogenetic analysis of coronavirus strains showed that Erzurum strains, deer, giraffe, bat, bovine and human coronavirus strains take part in Beta-coronavirus genogroup. As a conclusion, this is the first investigation of enteric coronavirus and rotavirus based on molecular analyses in Erzurum. This study will provide an advantage for the further studies.

Keywords: Bovine, Coronavirus, Erzurum, Molecular characterization, Rotavirus.

✉ Hakan AYDIN

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
e-posta: hakanaydin.dr@gmail.com

GİRİŞ

Buzağı ishalleri dünya genelinde sık gözlenen hastalıklar arasında olmakla beraber hayvan yetiştiriciliği yapılan işletmeler ve ülke ekonomisi açısından önem arz etmektedir. Ekonomik kayıp özellikle buzağı kaybı ile ilişkilidir (1). Gelişmiş ülkelerde dâhil olmak üzere buzağı kaybında ilk sırayı yeni doğan buzağı isalleri almaktadır. Buzağı ishallerinde enfeksiyöz olmayan faktörler de etkili olmasına rağmen enfeksiyöz ajanların payı çok daha büyüktür. İshal etiolojisinde enfeksiyöz faktörler arasında yer alan grup A rotaviruslar ve coronaviruslar sık rastlanan ajanlar arasında yer almaktadırlar (1,2). Rotaviruslar, *Reoviridae* ailesinde yer alan, çift zincirli ve 11 segmentten oluşan RNA genomuna sahip zarfsız viruslardır. Genomik segmentler, altısı yapısal (VP1, VP2, VP3, VP4, VP6 ve VP7) ve altısı yapısal olmayan (NSP1–NSP6) toplam 12 protein kodlamaktadır (1,3). Rotavirusların dış kapsid proteini olan VP4 (viral protein 4) ve VP7 (viral protein 7), konakta nötralizan antikor üretimini tetiklemekle beraber, bu proteinleri kodlayan nükleotid sekansına göre virusun P (proteaz) ve G (glikoprotein) genotipleri belirlenebilmektedir. Şimdiye kadar rotavirusun bilinen en az 27 farklı G ve 37 farklı P genotipi tespit edilmiştir (1,3-5). Diğer bir enterik patojen olan coronaviruslar genetik yakınlıklarına göre; Alfacoronavirus, Betacoronavirus, Gamacoronavirus ve Deltacoronavirus olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır (6). Sığır coronavirusları, *Coronaviridae* ailesinde yer alan zarlı, pozitif polariteli RNA viruslarıdır. Coronaviruslar nucleoprotein (N), transmembran (M), spike (S), small membran (E) ve hemaglutinin esteraz (HE) olmak üzere beş temel proteinden oluşur. Klinik olarak yaşamın ilk haftalarında ishal ile karakterize olmakla beraber özellikle erginlerde ileri dönemlerde kış dizanterisi ve solunum sistemi enfeksiyonlarından oluşan üç farklı enfeksiyonla karşımıza çıkmaktadır (1,5,6). Oldukça geniş konakçı aralığına sahip olan coronaviruslar kanatlı ve memeli hayvanları etkilemektedir. Ancak son yıllarda özellikle insanlarda ortaya çıkan zoonotik kaynaklı “Severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) ve Middle-East respiratory

syndrome coronavirus (MERS-CoV)” enfeksiyonları dikkatleri coronaviruslar üzerine çekmiştir (7). Bu tür patojenlerin biyolojisi ve genetiğini bilmek onlarla mücadele ve korunma stratejisi geliştirilmesinde anahtar rol oynamaktadır.

Bu çalışmada, Erzurum ili ve ilçelerinde tespit edilen buzağı ishallerinde viral ajanların araştırılması ve tespit edilen bu virüslerin moleküler karakterizasyonlarının yapılarak genetik düzeyde irdelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Gaita Örneklerinin Toplanması ve İşlenmesi

Erzurum il ve ilçelerinden 2016 yılı içerisinde 0-1 aylık 33 adet ishali buzağı gaita örneği Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji laboratuvarına getirildi ve analiz edilinceye kadar -20°C’de muhafaza edildi. Gaita örnekleri 1/10 oranında distile su ile süspanse edilerek iyice vortekslendi. Elde edilen bu gaita süspanسیونlarında kaba partiküllerin çöktürülmesi amacıyla 3000 rpm de 5 dk. santrifüj edildi ve ardından tüplerin üstünden 300µl sıvı alınarak nükleik asit izolasyonu için yeni ependorf tüplere aktarıldı.

Nükleik Asit İzolasyonu

Gaita süspanسیونundan elde edilen süpernatant örneklerinden, “GF-1 Viral Nucleic Acid Extraction” kiti (Vivantis Technologies, Malezya) kullanılarak nükleik asit izolasyonu gerçekleştirildi. Bu işlem kısaca, tüm hücrel ve protein yapıların lizisi amacıyla 50 µl proteinaz K solüsyonu, Buffer VL ve 300 µl süpernatant örneği iyice karıştırıldıktan sonra 65°C’de 10 dk. inkübe edildi. İnkübasyonu tamamlanan lizat, 280 µl saf etanol ile muamele edildi ve filtreli tüplere aktararak 5.000 g de 1 dk. santrifüj yapıldı. Filtreli tüpler yıkama solüsyonuyla (500 µl) art arda 3 kere yıkandı ve her santrifüj sonunda filtreli tüpün altında biriken kısım uzaklaştırıldı. Son olarak 30 µl elüsyon solüsyonu ile santrifüj edilerek tüpün alt kısmında toplanan nükleik asit süspanسیونu elde edilerek analiz edilinceye kadar -20 C de saklandı.

Revers Transkripsiyon (RT) ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Nükleik asit izolatlarından komplementer DNA'nın (cDNA) eldesi amacıyla First Strand cDNA

Synthesis kiti (Thermo Fisher Scientific, USA) kullanıldı. Coronavirus ve rotavirusun tespiti ve sekansı için nested-primerler kullanıldı. PZR için hedef bölgeler, ürün büyüklükleri ve nested-primer listesi tablo 1 de yer almaktadır.

Tablo 1. Rotavirus ve coronavirus tespiti ve sekansı için kullanılan primerler.

Table 1. The primers for the detection and sequencing of rotavirus and coronavirus.

Hedef Gen	Primerler (F: Forward, R: Reverse)	Ürün (bp)	Referanslar
N	F: GCAATCCAGTAGTAGAGCGT R: CTTAGTGGCATCCTTGCCAA	730	Cho ve ark. 2014 (8)
N Nested	F: GCCGATCAGTCCGACCAATG R: AGAATGTCAGCCGGGGTAG	407	
VP7 Beg9-End9	F: GGCTTTAAAAGAGAGAATTTCCGTCTGG R: GGTCACATCATACAATTCTAATCTAAG	1062	Aydın ve Aktas 2017 (3)
Nested VP7F-VP7R	F: ATGTATGGTATTGAATATAACCAC R: AACTGCCACCATTTTTTCC	881	
VP4 Jenerik Con3-Con2	F: TGGCTTCGCTCATTTATAGACA R: ATTCGGACCATTATAACC	876	
Nested VP4F-VP4R	F: TATGCTCCAGTNAATTGG R: ATGCATTCTTTCCATAATG	663	

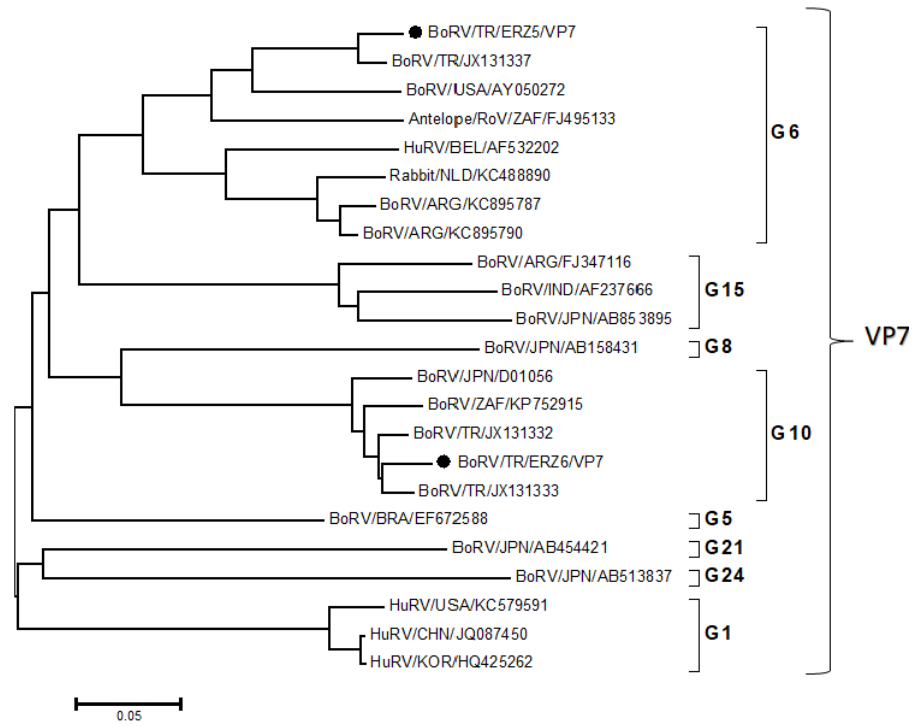
PZR Ürünlerinin Saflaştırılması ve SekansAnalizi

PZR ile elde edilen coronavirus ve rotavirus pozitif amplikonlar, "QIAquick PCR Purification" Kiti (Qiagen) ile üretici firma önerileri doğrultusunda saflaştırıldı. Bu işlem sonrasında PZR ürünlerinin Sanger sequencing metodu yoluyla (BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit, Applied Biosystems, USA; ABI 3110xl DNA analyzer, Applied Biosystems, USA) dizi analizi gerçekleştirildi. Her bir örneğin dizi analizi çift yönlü olarak gerçekleştirildi. Sekans sonrası elde edilen ham veriler BioEdit version 7.2.5 yazılım ve MEGA 5.1 programları kullanılarak bioinformatik analizleri gerçekleştirildi (9, 10). Bu analizler sonunda Gen Bankası (NCBI, (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>)) verileri referans alınarak çalışmamızdan elde edilen suşlarla filogenetik analizi gerçekleştirildi.

Bu çalışma; 2018/29 nolu karar sayısı ile Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Birim Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

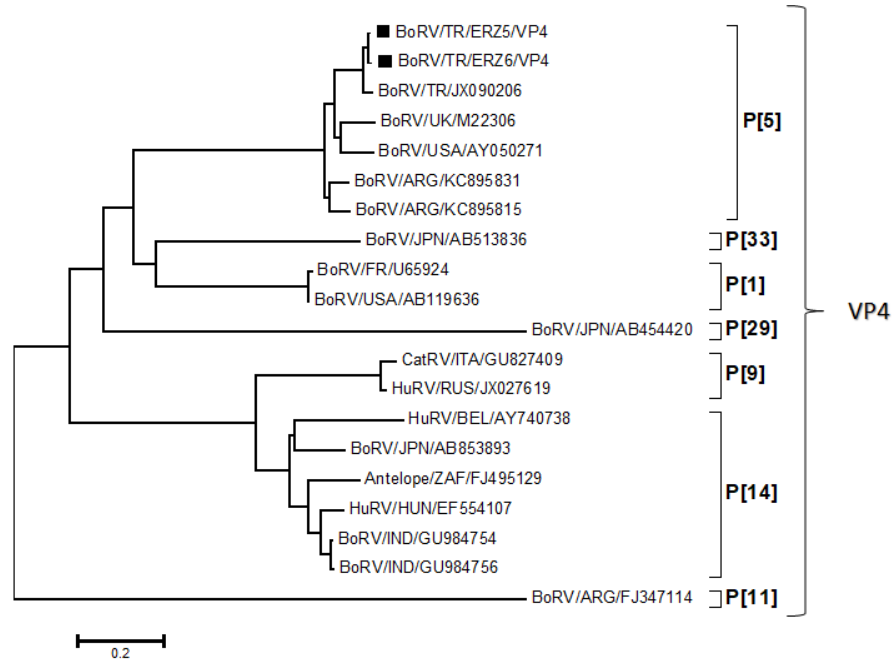
BULGULAR

Çalışmamızda, Erzurum il ve ilçelerinden toplanan gaita örneklerinde rotavirus ve coronavirus kaynaklı ishal vakaları araştırıldı. Rotavirusun dış kapsid proteinlerini kodlayan gen bölgesinin PZR testi sonucunda, iki buzağıda (%6,1, 2/33) rotavirus tespit edildi. Rotavirusun VP7'yi kodlayan gen bölgesinin sekans ve filogenetik analizinde, G6 (BoRV/TR/ERZ5) ve G10 (BoRV/TR/ERZ6) genotipleri tespit edildi (Şekil 1). Rotavirusun VP4'ü kodlayan gen bölgesinin yapılan filogenetik analizinde ise her iki örneğin P[5] genotipine ait olduğu gözlemlendi (Şekil 2). Rotavirus G ve P genotip kombinasyonuna bakıldığında ise enfeksiyondan sorumlu virusların G6P[5] ve G10P[5] genotiplerine sahip olduklarını tespit edildi.



*Siyah noktalarla belirtilen örnekler Erzurum suşlarını göstermektedir.

Şekil 1. Rotavirusun VP7 kodlayan gen bölgesinin filogenetik analizi.
Figure 1. Phylogenetic analyses of rotavirus VP7 coding region.

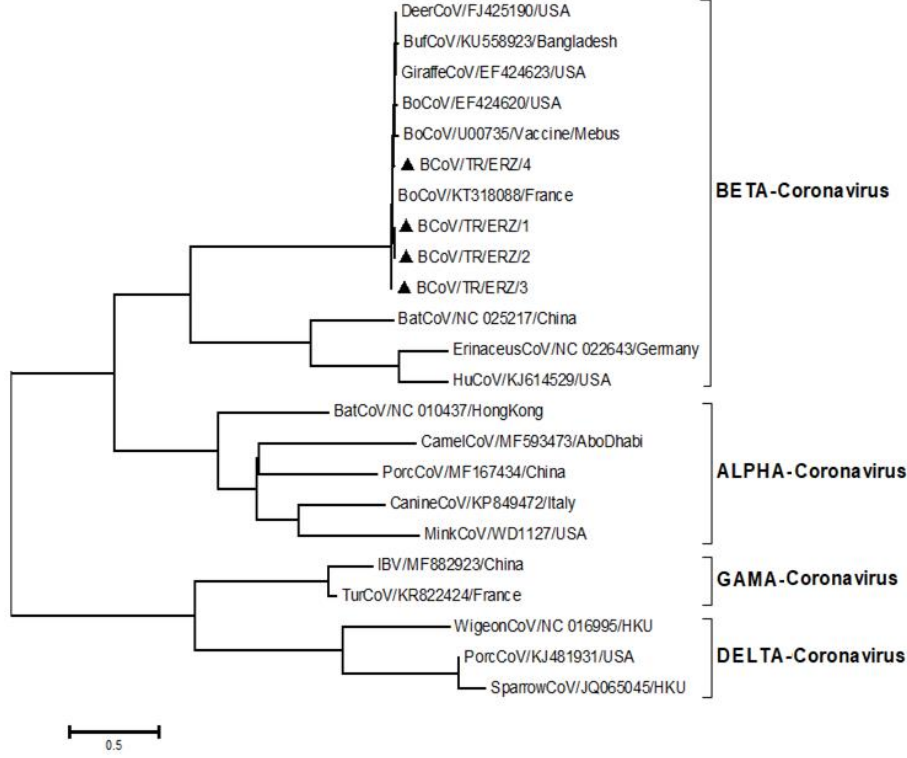


*Kare şeklinde belirtilen örnekler Erzurum suşlarını göstermektedir.

Şekil 2. Rotavirusun VP4 kodlayan gen bölgesinin filogenetik analizi.
Figure 2. Phylogenetic analyses of rotavirus VP4 coding region.

Coronavirusun nukleoproteinini kodlayan gen bölgesinin hedef alındığı PZR testi sonucunda dört farklı buzağıda (%12.1, 4/33) pozitiflik tespit edildi. Yapılan filogenetik analiz sonucunda coronavirusların Alfa-Beta-Gama ve Deltacoronavirus olmak üzere dört farklı geno-grup oluşturduğu gözlemlendi.

Çalışmamızda elde edilen suşların tamamı; Fransa, Bangladeş, Amerika ve Mebus (aşı suşu) izolatları ile birlikte Betacoronavirus grubunda yer aldı (Şekil 3). Rotavirus ve coronavirusun Filogenetik analizi için kullanılan referans suşlara ait NCBI erişim numaraları şekil 1, 2 ve 3'te belirtilmiştir.



*Üçgen şekilde belirtilen örnekler Erzurum suşlarını göstermektedir.

Şekil 3. Coronavirusun N proteini kodlayan gen bölgesinin filogenetik analizi.
Figure 3. Phylogenetic analyses of coronavirus N protein coding region.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünya’da yaygın olarak gözlenen viral ishal etkenleri canlılarda yaşam kalitesini düşürmekle birlikte tedavi ve korunma-kontrol harcamaları dikkate alındığında ülke ekonomilerine ciddi yük getirmektedir. Son yıllarda genetik alanda yapılan umut verici çalışmalar insan da dâhil olmak üzere birçok canlının gen haritasını çıkarmakla kalmayıp patojenlerin biyolojisinin anlaşılması, genotip dağılımlarının belirlenmesi, tedavi ve mücadele stratejilerinin geliştirilmesi anlamında büyük yol kat edilmiştir. Ülkemizde hali hazırda “Bovine rotacoronavirus” aşısı kullanılmasına rağmen yeterince

başarılı olunamamasının sebebini bilinçsiz yetiştiricilik ve aşı kullanımının yaygın olmayışı olarak sayabiliriz. Çalışmamız da, buzağı isallerine sebep olan etiyolojik ajanlar arasında sık gözlenen coronavirus ve rotavirusu moleküler yöntemlerle araştırarak, elde edilen virusların genetik olarak filogenetik yerini belirlemek amaçlanmıştır. Dünya genelinde yapılan çeşitli araştırmalarda rotavirusun VP7 kodlayan gen bölgesine göre G6 ve G10 genotipi yaygın olarak, daha az oranda ise G1, G2, G3, G7, G11 ve G8 genotipleri, çok nadir de olsa G15 genotipi sığırlarda tespit edilmiştir (11-15). Çalışmamızda gözlemlediğimiz buzağı ishallerinden sorumlu

rotavirus genotipi G6 ve G10 içerisinde yer almaktadır. VP4 kodlayan gen bölgesine bakıldığında ise P[5] ve P[11]'in sık olarak, P[1]'in ise daha seyrek gözlemlendiği bildirilmiştir (13). Grup A rotavirusların sık gözlenen ikili genotip kombinasyonunun ise G6P[1], G6P[5], G10P[11] ve G8P[1] den oluştuğu bildirilmiştir (12). Çalışmamızdan elde ettiğimiz rotavirus G6P[5] ve G10P[5] genotip kombinasyonu literatür verileriyle uyum göstermektedir. Alkan ve ark. (12) tarafından 2010 yılında yapılan bir çalışmada G6P[11] ve G10P[11] genotiplerinin baskın olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma, bizim çalışmamızda tespit edilen G6 genotipi yönüyle uyumluluk gösterse de, P genotipi yönünden çalışmamız suşların da P[5] genotipi tespit edilmiştir. Türkiye de buzağı rotavirus ishalini araştırmak üzere çoğunluğunu serolojik analizlerin oluşturduğu çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda rotavirusun ülkemizdeki seroprevalansı %8.5 ile %25 arasında olduğu bildirilmiştir (16-19). Ülkemizde hali hazırda yapılan G6, G10 ve P[1] genotiplerinin yer aldığı rotavirus aşısı bulunmaktadır. Yeni doğmuş buzağuları rotavirus enfeksiyonlarından korumak için bakım, besleme, hijyen kurallarına uyulması, dezenfeksiyon ve bunun yanı sıra buzağılarda pasif bağışıklığın sağlanması için gebe hayvanların aşılanması önem arz etmektedir (12). Ülkemiz genelinde rotavirus sürveyans çalışmasının bulunmayışı, hayvan yetiştiriciliği problemleri ve aşı etkinlik çalışmalarının bulunmaması gibi nedenlerden ötürü ülkemizde rotavirus kaynaklı buzağı ölümleri hala yadsınamayacak düzeydedir. Ülkemizde insan rotavirus G ve P genotiplerini belirleyerek temel bir veri oluşturmaya yönelik 2014 yılı itibarıyla Durmaz ve ark. (20) tarafından yürütülen bir sürveyans çalışması bulunmaktadır. Benzer bir çalışmanın ülkemiz sığır rotaviruslarına yönelik başlatılması hastalıkla kontrol ve mücadele açısından önem taşıyacak bir adım olabilir.

Sığırlarda coronavirus kaynaklı ishalinde araştırıldığı çalışmamızda dört farklı hayvanda coronavirusa rastlanmıştır. Filogenetik analiz yoluyla, Gen Bank'tan elde edilen referans suşlar ve

çalışmamızdan elde edilen izolatlar değerlendirilmiştir. Filogenetik ağaçta dört farklı gruba ayrılan coronaviruslar içerisinde Erzurum suşları ile birlikte aşı suşu olan "Mebus" Beta-coronavirus grubunda yer almıştır. Beta-coronavirusun kendi içerisinde iki alt gruba ayrıldığı filogeni'de, insan coronavirusu (MERS-CoV/ Middle East respiratory syndrome coronavirus, erişim no: KJ614529) ve yarasa coronavirusu (erişim no: NC_025217) bir alt grup oluştururken, ruminant suşlarının diğer bir alt grupta toplandığı gözlenmiştir. Özellikle son yıllarda insanlarda korku salan MERS ve SARS coronavirus enfeksiyonlarının hayvanlardan insana bulaştığı gerçeği bu virusun türler arası geçişine dikkatleri çekmiştir (21). Filogenetik analizde de görüldüğü üzere sığır, geyik, zürafa, bufalo ve kirpi coronavirusları, insan coronavirusları ile birlikte Beta-coronavirus grubunda toplanmıştır. Bu durum insanları enfekte eden coronavirusla genetik yakınlığını ifade etmektedir.

Enterik ve solunum formu olmak üzere iki şekilde ortaya çıkan coronavirus enfeksiyonu fekal/oral ve hava yolu ile hayvanlar arasında saçılmaktadır. Kontamine gıda ve gereçler en önemli risk kaynaklarıdır (5,22). Ülkemizde coronavirus ishalinin oldukça yaygın olduğu bilinmekle birlikte antikör pozitifliğinin %90'ın üzerinde olduğu bildirilmiştir (22). Alkan tarafından ishali buzağılarda yapılan bir çalışmada %61.4 oranında rota/coronavirus pozitifliği tespit edilmiştir (23). Hasöksüz ve ark. (24) tarafından yapılan bir çalışmada ise yeni doğan buzağılarda enterik coronavirus oranı %37.1 olarak bulunmuştur. Ülkemizde 11 ilde coronavirusun S gen bölgesinin moleküler düzeyde irdelendiği bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada coronavirusun Türkiye'de yaygın olarak gözlemlendiği ve buzağı isallerinin etiyolojik ajanı olduğu vurgulanmıştır (25). Daha önce Erzurum'da coronavirusun solunum sistemi enfeksiyonlarındaki yeri araştırılmış olup, enterik coronavirus hakkında bilgi verilmemiştir (5). Bu çalışma ile Erzurum'da ilk kez enterik coronavirus araştırılmış olup virusun N gen bölgesi moleküler düzeyde incelenmiştir.

Rotavirus ve coronavirus kaynaklı buzağı ishallerinde saha suşlarının belirlenmesi ve aşı suşları ile genetik ilişkisinin değerlendirilmesi, enfeksiyonun kontrolü ve eradikasyonu açısından büyük önem taşımaktadır. Sonuç olarak; Erzurum'da buzağı isallerinin etiyolojik ajanları olan coronavirusun N gen bölgesi, rotavirusun ise VP4 ve VP7 gen bölgelerine ait genotipik veriler literatüre kazandırılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Cho YI., Yoon KJ., 2014. An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. *J Vet Sci*, 15, 1-17.
2. Singh DD., Kumar M., Choudhary PK., Singh HN., 2009. Neonatal calf mortality - an overview. *Intas Polivet*, 10, 165-169.
3. Aydın H., Aktas O., 2017. Rotavirus genotypes in children with gastroenteritis in Erzurum: first detection of G12P[6] and G12P[8] genotypes in Turkey. *Gastroenterology Rev*, 12, 122-127.
4. Yandle Z., Coughlan S., Drew RJ., O'Flaherty N., O'Gorman J., De Gascun C., 2017. Circulating rotavirus genotypes in the Irish paediatric population prior to the introduction of the vaccination programme. *Ir J Med Sci*, 186, 1003-1007.
5. Timurkan MO., Aydın HA., Belen S., 2015. Erzurum bölgesinde sığırlarda respiratorik coronavirus enfeksiyonunun RT-PCR ile tespiti ve moleküler karakterizasyonu. *Atatürk Üniv Vet Bil Derg*, 10, 186-192.
6. Park SJ., Jeong C., Yoon SS., Choy HE., Saif LJ., Park SH., Kim YJ., Jeong JH., Park SI., Kim HH., Lee BJ., Cho HS., Kim SK., Kang MI., Cho KO., 2006. Detection and characterization of bovine coronaviruses in fecal specimens of adult cattle with diarrhea during the warmer seasons. *J Clin Microbiol*, 44, 3178-3188.
7. Kin N., Miszczak F., Diancourt L., Caro V., Moutou F., Vabret A., Ar Gouilh M., 2016. Comparative molecular epidemiology of two closely related coronaviruses, bovine coronavirus (BCoV) and human coronavirus OC43 (HCoV-OC43), reveals a different evolutionary pattern. *Infect Genet Evol*, 40, 186-91.
8. Cho KO., Hasöksüz M., Nielsen PR., Chang KO., Lathrop S., Saif LJ., 2001. Cross-protection studies between respiratory and calf diarrhea and winter dysentery coronavirus strains in calves and RT-PCR and nested PCR for their detection. *Archives Virol*, 146, 2401-2419.
9. Hall T., 2011. BioEdit: an important software for molecular biology. *GERF Bulletin of Bioscience*, 2, 60-61.
10. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S., 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*, 30, 2725-2729.
11. Masuda T., Nagai M., Yamasato H., Tsuchiaka S., Okazaki S., Katayama Y., Oba M., Nishiura N., Sassa Y., Omatsu T., Furuya T., Koyama S., Shirai J., Taniguchi K., Fujii Y., Todaka R., Katayama K., Mizutani T., 2014. Identification of novel bovine group A rotavirus G15P[14] strain from epizootic diarrhea of adult cows by de novo sequencing using a next-generation sequencer. *Vet Microbiol*, 171, 66-73.
12. Alkan F., Ozkul A., Oguzoglu TC., Timurkan MO., Caliskan E., Martella V., Burgu I., 2010. Distribution of G (VP7) and P (VP4) genotypes of group A bovine rotaviruses from Turkish calves with diarrhea, 1997–2008. *Vet Microbiol*, 141, 231-237.
13. Pourasgari F., Kaplon J., Karimi-Naghlani S., Freymy C., Otarod V., Ambert-Balay K., Mirjalili A., Pothier P., 2016. The molecular epidemiology of bovine rotaviruses circulating in Iran: a two-year study. *Arch Virol*, 161, 3483-3494.
14. Ennima I., Sebbar G., Harif B., Amzazi S., Loutfi C., Touil N., 2016. Isolation and identification of group A rotaviruses among neonatal diarrheic calves, Morocco. *BMC Res Notes*, 9, 261.
15. Hassine-Zaafraane M., Ben Salem I., Sdiri-Loulizi K., Kaplon J., Bouslama L., Aouni Z., Sakly N., Pothier P., Aouni M., Ambert-Balay K., 2014. Distribution of G (VP7) and P (VP4) genotypes of group A

- bovine rotaviruses from Tunisian calves with diarrhoea. *J Appl Microbiol*, 116, 1387-1395.
16. Duman R., Aycan AE., 2010. Prevalence of rotavirus infections in calves with diarrhea in Konya region. *J Anim Vet Advances*, 9, 136-138.
 17. Gumusova SO., Yazıcı Z., Albayrak H., Meral Y., 2007. Rotavirus and coronavirus prevalence in healthy calves and calves with diarrhoea. *Medycyna wet*, 63, 62-64.
 18. Içen H., Arserim NA., IŞIK N., Özkan C., Kaya A., 2013. Prevalence of four enteropathogens with immunochromatographic rapid test in the feces of diarrheic calves in east and southeast of Turkey. *Pak Vet J*, 33, 496-499.
 19. Yilmaz V., 2016. Investigation of rotavirus infection in calves with diarrhea in northeast Turkey. *Anim and Vet Sci*, 4, 1-4.
 20. Durmaz R., Kalaycioglu AT., Acar S., Bakkaloglu Z., Karagoz A., Korukluoglu G., Ertek M., Torunoglu MA., 2014. Prevalence of rotavirus genotypes in children younger than 5 years of age before the introduction of a universal rotavirus vaccination program: Report of rotavirus surveillance in Turkey. *PLoS One*, 9, e113674.
 21. Lu G., Wang Q., Gao GF., 2015. Bat-to-human: spike features determining 'host jump' of coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV, and beyond. *Trends Microbiol*, 23, 468-478.
 22. Yavru S., Yapici O., Kale M., Sahinduran S., Pehlivanoglu F., Albay MK., Avci O., 2016. Bovine coronavirus (BoCV) infection in calves with diarrhoea and their dams. *Acta Sci Vet*, 44, 1405.
 23. Alkan F., 1998. Buzağı ishallerinde rotavirus ve corona virusların rolü. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 45, 29-37.
 24. Hasoksuz M., Kayar A., Dodurka T., Ilgaz A., 2005. Detection of respiratory and enteric shedding of bovine coronaviruses in cattle in northwestern Turkey. *Acta Vet Hung*, 53, 137-146.
 25. Alkan F., Ozkul A., Bilge-Dagalp S., Karaoglu T., Oguzoglu TC., Caliskan E., Burgu I., 2011. The detection and genetic characterization based on the S1 gene region of BCoVs from respiratory and enteric infections in Turkey. *Transbound Emerg Dis*, 58, 179-185.



Ratlarda Cyclophosphamide ile İndüklenen Nefrotoksisitede Bazı Hematolojik Parametreler ve Böbreğin Histopatolojisi Üzerine Naringinin Protektiv Etkileri

Yusuf DAĞ¹, Emin ŞENGÜL¹, Muzaffer SELÇUK², Serkan YILDIRIM³, Fikret ÇELEBİ¹, Ali ÇINAR¹✉

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
2. Yüzüncüyıl Üniversitesi, Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu, Van, TÜRKİYE.
3. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
26.01.2018	09.03.2018	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Dağ Y, Şengül E, Selçuk M, Yıldırım S, Çelebi F, Çınar A: Ratlarda Cyclophosphamide ile İndüklenen Nefrotoksisitede Bazı Hematolojik Parametreler ve Böbreğin Histopatolojisi Üzerine Naringinin Protektiv Etkileri. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 219-228, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.384225

Öz: Bu çalışmada cyclophosphamide (CYP) ile indüklenen nefrotoksisitede Naringin'in protektiv etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Araştırmamızda yaklaşık 200-250 g ağırlığında, 40 adet erkek erişkin Sprague Dawley ırkı rat kullanıldı ve 5 grup oluşturuldu. Hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin ölçümü Abocus Junior Vet5 hemogram cihazında rat modunda ve Modüler PP otoanalizöründe yapıldı. CYP'li gruplarda alyuvar sayısı, akuyuvar sayısı, hematokrit değeri, trombosit sayısı ve lenfosit (%) düşmesine rağmen, nötrofil (%) ve monosit (%) miktarı arttı ($P<0.05$). CYP gruplarında potasyum (K) ve sodyum (Na) düzeyinde istatistiksel anlamda ($P<0.05$) düşüş görülürken, fosfor (P), magnezyum (Mg), klor (Cl) ve kalsiyum (Ca)'da düşüş görülmedi. Böbrek fonksiyon testlerinden glikoz, kreatin ve ürik asit seviyeleri istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde yükselirken ($P<0.05$), üre, BUN ve laktat dehidrojenaz (LDH) değerlerindeki yükseliş ise anlamsız bulundu. Histopatolojik incelemede; CYP'nin etkisiyle böbrek dokusu tubul epitellerinde şiddetli hidropik dejenerasyon ve koagülasyon nekrozu, Bowman kapsülünde dilatasyon, intersitisyel damarlarda ve glomeruluslarda hiperemi belirlendi. Böbrekte oluşan bu hasarların Naringin'in sitoprotektiv etkisiyle doza bağlı olarak azaldığı saptandı. Naringin'in farklı dozlarının, CYP'nin olumsuz etkilerini ve nefrotoksisiteyi baskılama etkisine sahip olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: CYP, Kan Parametreleri, Naringin, Nefrotoksisite, Rat.

The Protective Effects of Naringin on Some Blood Parameters and Kidney Histopathology in Cyclophosphamide Induced Nephrotoxicity in Rats

Abstract: In this study, it was aimed to investigate the protective effects of Naringin on nephrotoxicity by Cyclophosphamide (CYP)-induced rats. In our study, forty male adult Sprague Dawley rat weighing approximately 200-250 g were used and 5 groups formed. Measurement of hematologic and biochemical parameters were done in the rat mode on the Abocus Junior Vet 5 hemogram and on Modular PP autoanalyzer instruments. In the CYP groups, Neutrophil (%) and monocyte (%) increase despite red blood cell count, white blood cell count, hematocrit value, thrombocyte count and lymphocyte (%) decrease ($P<0.05$). While there were a decrease in potassium and sodium levels ($P<0.05$), but no decrease in other parameters such as phosphorus, magnesium, chlorine and calcium. Although glucose, creatinine and uric acid levels from renal function tests were statistically significantly increased at ($P<0.05$), the increase in urea, BUN and lactate dehydrogenase (LDH) values were not significant. In the histopathological examination; It was determined that severely hydropic degeneration and coagulation necrosis in tubule epithelia, dilatation in Bowman capsule, hyperemia in interstitial vein and glomerulus of kidney tissue by the effects of CYP. These damages in the kidney were found to be reduced as dose-dependent due to cytoprotective effects of Naringin. It was determined that different doses of Naringin suppress nephrotoxicity and the negative effect of CYP.

Keywords: CYP, Hematological Parameters, Naringin, Nephrotoxicity, Rat.

GİRİŞ

Antineoplastik bir ajan olan cyclophosphamide (CYP) kemoterapide sıkça kullanılmaktadır. CYP bağışıklık sistemini baskılamakta ve tedavide bazı yan etkileri bulunmaktadır (1). CYP'den akut ve kronik lösemi, lenfoma, multipl miyeloma, meme kanseri, yumurtalık kanseri, göğüs kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri, nöroblastom ve sarkom, romatoid artriti tedavi etmek için, bağışıklık bastırıcı olarak, nefrotik sendrom, kemik iliği ve organ nakli gibi pekçok durumda yararlanılmaktadır. Antineoplastik kemoterapik ajanlar genelde bir ya da daha fazla hedef dokuda sitotoksik etki oluştururlar (2-5). Bu kemoterapotik ajanlardan birisi olan CYP'nin başlıca yan etkileri ise akyuvar sayısında azalma (lökopeni), iştahsızlık, kusma, saç dökülmesi, mesanede kanama, infertilite, alerjik reaksiyonlar ve pulmoner fibrozis riskinin artmasıdır. CYP gonadal toksisiteye ve karaciğerde oksidatif stresin artmasına da neden olmaktadır (6,7).

Son zamanlarda antikanser ilaçların sitotoksit ve yan etkilerini en az düzeye indirmek ve oluşabilecek oksidatif stresi azaltmak amacıyla bitkisel kökenli flavonoid bileşiklerden yararlanılmaktadır. Bunlar arasında en önemli olanlarından birisi de turunçgillerde yaygın olarak bulunan Naringin, Hesperidin ve Naringenin'dir (8). Naringin vücutta antioksidan (9), kemik büyümesini uyarıcı (10), plazma kolesterol seviyesini düşürücü (11), anti-aterosklerotik (12), antitümör (13) ve antifungal (14) etkileri içeren çeşitli farmakolojik ve terapötik özellikler sergileyen bir flavonoiddir.

Antikanser ajanların sebep olduğu organ toksisiteleri ve bu toksisitelerde bitkilerin yapısında bulunan bileşiklerin koruyucu veya tedavi edici etkileri üzerine çalışmalar yoğun bir şekilde yapılmaktadır. Yapılan literatür taramalarında ratlarda CYP ile böbrek toksisitesi üzerine Naringin'in protektif etkilerini araştıran yeterli düzeyde bilimsel bilgiye de rastlanılamamıştır. Bu çalışmada; CYP uygulaması ile oluşturulan nefrotoksitede, böbrek fonksiyonlarının bir göstergesi olan hematolojik ve biyokimyasal parametreler ile böbreğin

histopatolojisi üzerine Naringin'in protektif etkilerinin araştırılması ve literatüre katkıda bulunması amaçlanmaktadır.

MATERYAL ve METOT

Bu araştırma Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (Karar No: 2016/122). Araştırmada deney hayvanı olarak yaklaşık 200-250 g ağırlığında, 40 adet erişkin Sprague Dawley ırkı erkek rat kullanıldı. Ratlar Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edildi. Tüm hayvanlar standart bakım ve besleme şartlarına tabi tutuldu. Gruplarda yeterli örneğin sağlanabilmesi için her bir grupta 8 ratın bulunduğu 5 grup oluşturuldu.

Grup 1'e 10 gün boyunca intra gastrik (i.g.) olarak serum fizyolojik (1ml), Grup 2'ye 10 gün boyunca i.g. serum fizyolojik (1ml) ve 10. gün tek doz intra peritoneal (i.p.) CYP (200 mg/kg) verildi. Grup 3 ve 4'e 10 gün boyunca sırasıyla 50 ve 100 mg/kg dozunda i.g. Naringin uygulandı ve Naringin uygulamasının 10. günü tek doz CYP (200 mg/kg, i.p.) enjekte edildi (15,16). Grup 5'e ise 10 gün boyunca yalnızca 100 mg/kg dozunda i.g. Naringin uygulandı. CYP uygulamasından 48 saat sonra yani deneyin 12. gününde ratlar tiopental sodyum (20 mg/kg) ile anestezi altına alındı. İntra kardiyak kan örnekleri alındıktan sonra servikal dislokasyon metodu ile sakrifiye edildi.

Hematolojik parametrelerin ölçümü Abocus Junior Vet5 hemogram cihazında ve Modüler PP otoanalizöründe yapıldı. Histopatolojik inceleme için alınan böbrek dokusu örneklerinde rutin doku takibi prosedürü uygulandı ve hazırlanan preparatlar hematoksilen-eozin (HE) ile boyanıp ışık mikroskobu (Leica DM 1000, Germany) ile incelendi.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS 20 istatistik programında yapıldı. Veriler One Way ANOVA'da Tukey testi ile değerlendirildi ve değerler, ortalama±SD olarak verildi. P<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamızda; CYP ile oluşturulmuş nefrotoksisite ve Naringin'in protektif etkilerinin araştırıldığı gruplardaki hematolojik değerler, elektrolit denge ve böbrek fonksiyon parametreleri ve histopatolojik bulgular Tablo 1, 2, 3, 4 ve Şekil 1' de verildi.

Deney gruplarının hematolojik değerleri Tablo 1'de verildi. CYP'li gruplarda alyuvar sayısı, akyuvar sayısı, HCT değeri, PLT sayısı ve lenfosit yüzdesi düşmesine rağmen nötrofil ve monosit yüzdesinin istatistiki bağlamda $P<0.05$ düzeyinde arttığı görüldü.

Tablo 1. CYP ve protektif Naringin uygulamasının ratlarda bazı hematolojik parametreler üzerine etkileri ($X\pm SD$).
Table 1. Effects on some hematological parameters in rats of CYP and protective naringin administration ($X\pm SD$).

Parametreler	Gruplar				
	Kontrol	CYP	Naringin50+CYP	Naringin100+CYP	Naringin100
Alyuvar ($10^6/mm^3$)	6.44±0.51 ^a	4.72±0.48 ^b	4.98±0.54 ^b	5.23±0.44 ^b	6.82±0.55 ^a
Akyuvar ($10^4/mm^3$)	10.3±0.83 ^a	7.11±0.92 ^b	8.4±0.55 ^b	8.6±0.52 ^b	10.9±0.56 ^a
Hemoglobin (HGB)(mg/dl)	13.4±0.45 ^a	12.7±0.31 ^a	12.8±0.26 ^a	12.8±0.54 ^a	13.9±0.47 ^a
Hematokrit (HCT) (%)	38±2.1 ^{ac}	33±0.42 ^b	33±0.61 ^b	37±0.34 ^c	40±0.36 ^a
Trombosit (PLT) ($10^5/mm^3$)	5.4±0.5 ^a	3.9±0.6 ^b	4.0±0.4 ^b	5.2±0.3 ^a	5.3±0.2 ^a
Lenfosit (%)	66±4.3 ^a	48±5.6 ^b	48±5.5 ^b	58±6.2 ^{ab}	67±6.3 ^a
Nötrofil (%)	28±2.1 ^a	57±7.4 ^b	55±5.2 ^b	48±4.9 ^b	30±4.6 ^a
Monosit (%)	3±0.4 ^a	8±0.8 ^b	8±0.7 ^b	5±0.3 ^c	4±0.4 ^d

Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası fark istatistik olarak önemlidir. ^{ab, ac} : ($P<0.05$)

Elektrolitlerin grup içi ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 2'de verildi. Tablo 2'de görüldüğü gibi CYP ve Naringin50+CYP gruplarında Na^+ ve K

miktarları $P<0.05$ düzeyinde düşerken; Ca, P, Mg ve Cl seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmedi.

Tablo 2. CYP ve protektif naringin uygulamasının ratlarda elektrolit düzeyler üzerine etkileri ($X\pm SD$).
Table 2. Effects on electrolit levels in rats of CYP and protective naringin administration ($X\pm SD$).

Parametreler	Gruplar				
	Kontrol	CYP	Naringin50+CYP	Naringin100+CYP	Naringin100
Ca (mg/dl)	9.0±0.7 ^a	10.4±0.9 ^a	10.4±0.9 ^a	9.5±0.8 ^a	8.9±0.7 ^a
P (mg/dl)	11.4±0.7 ^a	11.9±0.9 ^a	12±1.1 ^a	11.7±1.1 ^a	11.5±0.7 ^a
Mg (mg/dl)	3.2±0.39 ^a	3.0±0.40 ^a	3.0±0.40 ^a	3.0±0.50 ^a	3.2±0.40 ^a
Na^+ (mmol/L)	135±2.1 ^a	128±2.2 ^b	129±2.2 ^b	133±2.0 ^{ab}	135±2.0 ^a
Cl (mmol/L)	104±1.1 ^a	101±1.2 ^a	102±2.1 ^a	102±2.0 ^a	104±1.9 ^a
K (mmol/L)	9.8±0.3 ^a	8.5±0.6 ^b	8.8±0.6 ^b	9.2±0.7 ^{ab}	9.4±0.6 ^{ab}

Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası fark istatistik olarak önemlidir. ^{ab}: ($P<0.05$).

Böbrek fonksiyon parametreleri Tablo 3'te sunuldu. Tablo 3'ten de anlaşıldığı gibi CYP, Naringin50+CYP ve Naringin100+CYP gruplarında glikoz, kreatin ve ürik asit seviyesi istatistiksel açıdan

P<0.05 düzeyinde anlamlı bir şekilde yükselirken; üre, BUN ve LDH değerlerinde anlamlı düzeyde bir değişim olmadı.

Tablo 3. CYP ve protektif naringin uygulamasının ratlarda böbrek fonksiyon parametreleri üzerine etkileri (X±SD).
Table 3. Effects on kidney function parameters in rats of CYP and protective naringin administration (X±SD).

Parametreler	Gruplar				
	Kontrol	CYP	Naringin50+CYP	Naringin100+CYP	Naringin100
Glukoz (mg/dl)	112±16 ^a	230±30 ^b	230±43 ^b	182±24 ^b	110±14 ^a
Kreatin (mg/dl)	0.66±0.05 ^a	0.94±0.06 ^b	0.89±0.06 ^b	0.77±0.05 ^c	0.71±0.06 ^{ac}
Üre (mg/dl)	50±5 ^a	61±8 ^a	59±8 ^a	55±6 ^a	48±7 ^a
Ürik Asit (mg/dl)	2.0±0.04 ^a	2.33±0.05 ^b	2.33±0.04 ^b	2.22±0.05 ^b	2.1±0.05 ^c
BUN (mg/dl)	24±2.3 ^{ab}	28±2.6 ^a	27±2.5 ^a	26±2.5 ^{ab}	23±1.9 ^b
LDH (U/L)	1500±230 ^a	1850±370 ^a	1830±255 ^a	1800±210 ^a	1550±215 ^a

Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası fark istatistik olarak önemlidir. ^{ab}: (P<0.05).

Histopatolojik Bulgular

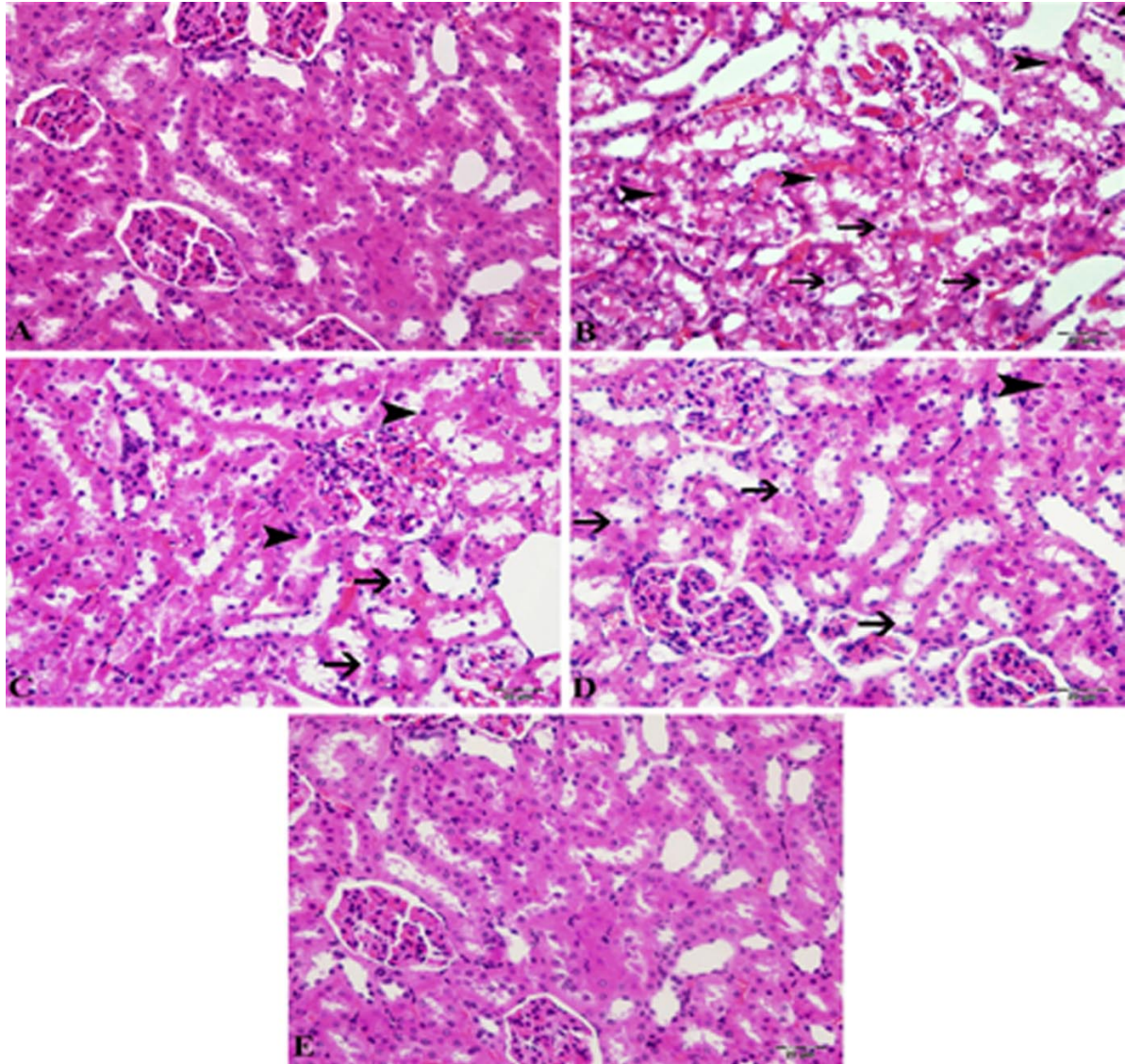
Böbrek dokuları incelendiğinde Kontrol ve Naringin100 gruplarında, böbreğin serozası ve paraneşim dokusunun korteks ve medullasının normal histolojik yapıda olduğu tespit edildi (Şekil 1 A-E). CYP grubunda, tubul epitellerinde şiddetli hidropik dejenerasyon, koagülasyon nekrozu, Bowman kapsülünde dilatasyon, intersitisyel damarlarda ve glomeruluslarda hiperemi görüldü (Şekil 1-B). Naringin50+CYP grubunda, tubul epitellerinde orta

şiddette hidropik dejenerasyon ve koagülasyon nekrozu, intersitisyel damarlarda hiperemi belirlendi (Şekil 1-C, Tablo 4) ve CYP grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (P<0.05). Naringin100+CYP grubunda ise, tubul epitellerinde hafif hidropik dejenerasyon, çok az sayıda tubul epitelinde koagülasyon nekrozu tespit edildi (Şekil 1-D). CYP grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü (P<0.05).

Tablo 4. Böbrek dokusunda histopatolojik değerlendirme.
Table 4. Histopathological evaluation in kidney tissue.

Gruplar	Tubul epitellerinde dejenerasyon	Tubul epitellerinde nekroz	İntersitisyel damarlarda hiperemi
Kontrol	-	-	-
CYP	+++	+++	+++
Naringin50+CYP	+++	++	+++
Naringin100+CYP	++	+	+
Naringin100	-	-	-

Histopatolojik bulgulara göre: - (negatif), + (hafif), ++ (orta), +++ (şiddetli)



Şekil 1. Böbrek dokusu, Kontrol ve Naringin100: Normal histolojik görünümü (A-E), CYP: Tubul epitellerinde şiddetli hidropik dejenerasyon (oklar), koagülasyon nekrozu (okbaşları), intersitisyel damarlarda hiperemi (B), Naringin50+CYP: Tubul epitellerinde orta düzeyde hidropik dejenerasyon (oklar), koagülasyon nekrozu (okbaşları) (C), Naringin100+CYP: Tubul epitellerinde hafif düzeyde hidropik dejenerasyon (oklar), az sayıda koagülasyon nekrozu (okbaşı) (D), H&E, Bar: 20µm.

Figure 1. Kidney tissue, Control and Naringin100: Normal histological appearance (A-E), CYP: Severe hydropic degeneration in tubul epithelia (arrows), coagulation necrosis (arrowheads), hyperemia in interstitial vessels (B), Naringin50+CYP: Moderate hydropic degeneration in tubul epithelium (arrows), coagulation necrosis (arrowheads) (C), Naringin100+CYP: Slightly hydropic degeneration in tubul epithelium (arrows), a small number coagulation necrosis (arrowheads) (D), H&E, Bar: 20µm.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kanser, DNA'da meydana gelen mutasyon sonucu, hücrelerin kontrolsüz ve anormal bir biçimde büyümesi ve bölünerek çoğalmasıdır. Kanserli hücrelerin çoğalma ve büyümesini immün sistem

baskılayarak önlemeye çalışmaktadır (17). Kemoterapi, kanser tedavisinde kullanılan ve en etkili yöntemlerden bir tanesidir. Kemoterapik ilaçların sağlıklı hücreler üzerine de çok fazla yan etkileri bulunmaktadır. Bu antineoplastik kemoterapötik

ilaçlardan birisi de CYP'dir. Kanser vücudumuzda pek çok organda fonksiyon bozukluğuna yol açmanın yanında böbrek ve böbrek fonksiyonları üzerine de önemli sorunlar oluşturmaktadır (18).

CYP azotlu hardal sınıfı alkilleyici (nitrojen mustard) bir ilaçtır. Aktif olabilmesi için karaciğerde fosforamid mustarda dönüşmesi gerekmektedir. Ayrıca DNA'nın transkripsiyon ve replikasyonunu bozmak için DNA'nın bağları arasına girerek alkilleşmektedir. CYP toksikasyonunda böbrek hasarına bağlı nefronların tüm yapıları ve fonksiyonları etkilenmektedir. Elektrolit denge bozukluğu CYP'nin yan etkilerinden birisi olup, en önemlisi ise hemorajik sistitdir (18). CYP toksikasyonu kan tablosunda da değişimlere neden olur. CYP toksikasyonu neticesinde anemi ve nötropeni tablosu görülmektedir (5,19). CYP'nin kusma, bulantı, deride lezyonlar, ağız yaraları, sistit, adet siklusunun olmaması gibi yan etkileri bulunmaktadır. CYP ayrıca gonadal toksisiteye neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar neticesinde CYP ile tedavi edilen hastalarda oligospermi ve azospermi insidensinde artma olduğu görülmüştür (20,21). Ayrıca CYP uygulaması sonrasında glikoz, fosfat, HCO₃ ve amino asitlerin aşırı üriner sekresyonunun olduğu da belirlenmiştir. Akut kardiyotoksisite durumunda ise kalbin sistolik fonksiyonlarında azalma meydana geldiği belirlenmiştir (22,23).

Çeşitli çalışmalarda CYP ile indüklenen hasar üzerine bazı antioksidanların etkileri rapor edilmiştir. Çelebi ve ark. (24) idrar kesesi üzerine CYP'nin etkilerini araştırmışlardır. Şengül ve ark. (25) ise CYP ile akciğer toksisitesi oluşturmuş ve Quercetin'in protektif etkilerini incelemişlerdir. Benzer bir çalışmada Gelen ve ark. (26) da CYP ile oluşturulan kardiyotoksisite üzerine Quercetin'in koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Tüm bu literatür bilgileri ışığında ratlarda CYP uygulaması ile böbrek fonksiyonları üzerine Naringin'in etkileri ile alakalı yeterince literatür bilgiye de rastlanılmamıştır. Bu bağlamda, alternatif tıpta yaygın olarak kullanılan, anti- apoptotik, anti-osteoporosis, anti-ülser, anti-oksidadan, anti- inflamatuvar ve anti-karsinojenik

etkilere sahip Naringin'in (10-14) protektif etkilerininin araştırılması ve literatüre katkıda bulunulması önemlilik arz etmektedir.

Canlılarda hematolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine ırk, yaş, cinsiyet, gebelik, laktasyon, kas faaliyetleri, bölge, mevsim, çevre ısı, bakım, besleme ve hastalıklar gibi faktörler etkilidir (27,28). Comba ve ark. (29) sildenafil sitratın yara iyileşmesinin ilk dönemi olan yangısal dönemi kısaltarak, iyileşme sürecine olumlu etki yaptığını belirtmektedirler. Gencer ve ark. (30) Adrenokortikotropik Hormon (ACTH) uygulamasıyla oluşturulan stres sonucunda, karaciğer enzim değerlerinin önemli ölçüde yükseldiğini, stresin türü ne olursa olsun vücutta karaciğer gibi hayati organlar üzerine olumsuz etkilerinin kaçınılmaz olduğunu ve stres zamanında ortadan kaldırılmadığı takdirde vücutta geriye dönüşümsüz hasarlar meydana getirebildiğini ifade etmektedirler. Yıldırım ve ark. (31) ratlarda kronik floroziste resveratrolün protektif etkilerini araştırdıkları çalışmalarında bazı hematolojik ve histopatolojik parametreleri incelemişlerdir.

Yapılan bu çalışmada, CYP ile indüklenen ratlarda alyuvar sayısı, akyuvar sayısı, HCT değer, PLT sayısı ve lenfosit yüzdesi düşmesine rağmen nötrofil ve monosit yüzdesi yükselmiştir. Bu parametrelerde değişim CYP'nin kemik iliğinde baskılama meydana getirdiğinin bir göstergesidir. Alyuvarlar fonksiyonlarını içerdikleri HGB sayesinde yaparlar. Ayrıca aneminin türünün tespitinde de HGB miktarı önemlilik arz etmektedir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz alyuvar sayısı, akyuvar sayısı, PLT sayısı, HGB miktarı, HTC değer, Nötrofil, lenfosit, monosit gibi hematolojik parametreler sağlıklı ratlar için bildirilen değerlerle aynı değişim sınırları içerisinde yer alarak benzerlik göstermektedir (27-33). Bu parametrelerin değerlerin CYP grubunda düşmesi, CYP'nin kemik iliğini baskılamasının bir göstergesi olarak literatürleri destekler niteliktedir (27-29,32,34). CYP toksikasyonunda kan tablosunda anemi ve nötropenin görüldüğü bildirilmektedir (5,19). Bu araştırmada anemi tablosunun görülmesi literatürle

(5,19) uygunluk göstermektedir. Naringin verilen gruplarda kan parametrelerinin fizyolojik sınırlara yaklaşması ve değişim sınırları içinde yer alması Naringin'in protektif etkilerinden kaynaklanmış olduğunu göstermektedir.

Canlılarda iç ortamın değişmez tutulmasında (homeostasis) diğer organlar gibi böbreklerde büyük önemlilik arz etmektedir. Kan plazması ve elektrolitler üzerine başta aldosteron olmak üzere, atrial natriüretik peptit (ANP), ADH gibi bazı hormonlar önemli etki yaparak kandaki seviyelerinin değişmez tutulması sağlanmaktadır. Ayrıca çeşitli stres faktörlerinin homeostazisi bozan bir uyarıcı olduğu Belge ve ark. (35) ile Comba ve ark. (34) tarafından bildirilmektedir. Comba ve ark. (34) sıçanlarda ACTH uygulamasının böbrek fonksiyon testlerine, elektrolitlere ve hematolojik parametreler üzerine etkilerini araştırmışlardır. Kan örneklerinde; glukoz, amilaz, kreatinin, kreatin kinaz (CK), kreatin kinaz MB (CK-MB), üre, ürik asit, BUN, LDH, Ca, P, Mg, Na⁺, Cl, K analizleri, tam kanda ise total WBC, RBC, HGB, HCT, PLT ölçümlerini yapmışlardır. Stres grubunda glukoz, WBC, % monosit ve % granülosit düzeyleri ile CK, CK-MB, üre, BUN değerleri control grubuna göre yüksek bulunurken; % lenfosit, Na, Cl, ve K seviyeleri ise düşük bulunmuştur. Stresin böbrek fonksiyon testleri, elektrolit dengesi ve hematolojik parametreler üzerine etkilerinin dikkate değer olduğunu belirtmektedirler. Stres durumunda elektrolit dengesinin değiştiğini bildiren başka çalışmalar da mevcuttur. Yüksek çevre sıcaklığının oluşturduğu stres durumlarının hayvanlar da Ca, K, P ve Na konsantrasyonlarının azalmasına, Cl konsantrasyonlarının artmasına yol açtığı Schneider ve ark. (36) tarafından belirtilmektedir. Yıldırım ve ark. (37) bir başka çalışmalarında akut kadmiyum (Cd) toksisitesine maruz kalmış ratlarda lityum boratın kan parametreleri ve histopatolojik bulgular üzerine olumlu etkilerinin olduğunu ifade etmektedirler. Araştırmamızda CYP gruplarında K ve Na⁺ konsantrasyonlarında düşüş görülürken, P, Mg, Cl ve Ca'da düşüş görülmemektedir ve fizyolojik değerler içerisinde yer alarak literatürü destekler niteliktedir (34,36,37).

Proteinler 20 tür aminoasitten kurulur. Aminoasitlerin protein sentezi için gerekli olandan fazlası depo edilemez ve ekskret edilemezler. Aminoasidin parçalanması en çok karaciğerde olur. İhtiyaç fazlası aminoasitlerinin amin grubu üreye dönüştürülür, karbon iskeletinden ise karaciğerde glukoz, yağ asitleri ve keton cisimcikleri sentezlenir (38). Böbrek fonksiyon testlerinden glikoz, kreatin ve ürik asit düzeyi CYP'nin etkisiyle yükselirken, üre, BUN ve LDH değerlerindeki yükseliş ise anlamsız bulunmuştur. Hochster ve ark. (22) ile Braverman ve ark. (23) tarafından yapılan çalışmalarda CYP uygulaması sonrasında üriner sekresyonda glikoz, H₂PO₄, HCO₃ ve amino asitlerin miktarının çok yükseldiği belirtilmektedir. Yine aynı araştırmacılar tarafından akut kardiyotoksisite durumunda ise kalbin sistolik fonksiyonlarında bir azalmanın meydana geldiği ifade edilmektedir (22,23). Naringin50+CYP ve Naringin100+CYP verilen 2 grupta ki değerlerden bazıları yalnızca CYP verilen değerlere göre istatistiki bağlamda anlamlı olmak üzere azalmıştır. Naringin100 grubundan elde edilen veriler Kontrol grubu değerleri ile birbirine çok yakın ve istatistiki bağlamda da anlamsızdır. Elde edilen bu veriler literatürle paralellik göstermektedir (27-29, 33,34,37).

Rehman ve ark. (39) CYP ile oluşturdukları nefrotoksisitede tubul epitellerinde dejenerasyon, nekroz ve deskuamasyon, glomeruler ve intersitisyel damarlarda konjesyon görüldüğü bildirilmiştir. CYP ile böbrek hasarı oluşturulmuş ratların böbrek histopatolojisinin incelendiği bir başka çalışmada ise Amien ve ark (40) glomeruluslarda atrofi, tubul epitellerinde vakuoler dejenerasyon ve nekroz, damarlarda konjesyon görüldüğünü belirtmişlerdir. Bu çalışmada CYP grubunda yukarıdaki çalışmalara benzer bulgular görülürken Naringin uygulanan gruplarda nefrotoksisitenin oluşmadığı veya azaldığı görülmektedir. Bu durum Naringin'in, CYP'nin yan etkilerinin azaltılmasında alternatif bir flavonid olarak düşünülebileceğini hatıra getirmektedir.

Sonuç olarak, ratlarda CYP ile indüklenen nefrotoksisitede protektif amaçlı Naringin

uygulamasının hematolojik ve biyokimyasal parametreler ile böbrek histopatolojisi üzerine koruyucu etkili olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Nasrin S., Masuda E., Kugaya H., Ito Y., Yamada S., 2013. Improvement by phytotherapeutic agent of detrusor overactivity, down-regulation of pharmacological receptors and urinary cytokines in rats with cyclophosphamide induced cystitis. *J Urol*, 189, 1123-1129.
2. Miller CR., Ruppert AS., Fobare S., Chen TL., Liu C., Lehman A., Blachly JS., Zhang X., Lucas DM., Grever MR., Tallman MS., Flinn IW., Rassenti LZ., Kipps TJ., Sampath D., Coombes KR., Hertlein EK., 2017. The long noncoding RNA, *treRNA*, decreases DNA damage and is associated with poor response to chemotherapy in chronic lymphocytic leukemia. *Oncotarget*, 8, 25942-25954.
3. Cerulla N., Arcusa A., Navarro JB., Garolera M., Enero C., Chico G., Fernandez Morales L., 2017. Role of taxanes in chemotherapy-related cognitive impairment: A prospective longitudinal study. *Breast Cancer Res Treat*, 162, 1-9.
4. Clowse ME., Harward L., Criscione Schreiber L., Pisetsky D., Copland S., 2012. Anti Müllerian hormone: A better marker of ovarian damage from cyclophosphamide. *Arthritis Rheum*, 64, 1305-1310.
5. Anderson D., Bishop JB., Garner RC., Ostrosky Wegman P., Selby PB., 1995. Cyclophosphamide: review of its mutagenicity for an assessment of potential germ cell risks. *Mutat Res*, 330, 115-181.
6. Atalay F., Gülmez Ö., Özsancağ AU., 2014. Cardiotoxicity following cyclophosphamide therapy: a case report. *J Med Case Rep*, 8, 252.
7. Kanno TYN., Sensiate LA., Paula NA., Salles MJS., 2009. Toxic effects of different doses of cyclophosphamide on the reproductive parameters of male mice. *Braz J Pharm Sci*, 45, 313-319.
8. Nizamlioğlu NM., Nas S., 2010. Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *EJFT*, 2010, 5, 25-35.
9. Jagetia GC., Reddy TK., Venkatesha VA., Kedlaya R., 2004. Influence of naringin on ferric iron induced oxidative damage in vitro. *Clin Chim Acta*, 347, 189-197.
10. Zhou X., Zhang P., Zhang C., Zhu Z., 2010. Promotion of bone formation by naringin in a titanium particle induced diabetic murine calvarial osteolysis model. *J Orthop Res*, 28, 451-456.
11. Kim SY., Kim HJ., Lee MK., Jeon SM., Do GM., Kwon EY., Cho YY., Kim DJ., Jeong KS., Park YB., 2006. Naringin time dependently lowers hepatic cholesterol biosynthesis and plasma cholesterol in rats fed high fat and high cholesterol diet. *J Med Food*, 9, 582-586.
12. Choe SC., Kim HS., Jeong TS., Bok SH., Park YB., 2001. Naringin has an antiatherogenic effect with the inhibition of inter cellular adhesion molecule 1 in hypercholesterolemic rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol*, 38, 947-955.
13. Camargo CA., Gomes Marcondes MC., Wutzki NC., Aoyama H., 2012. Naringin inhibits tumor growth and reduces interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha levels in rats with Walker 256 carcinosarcoma. *Anticancer Res*, 32, 129-133.
14. Liu Q., Lu L., Xiao M., 2012. Cell surface engineering of α l-rhamnosidase for naringin hydrolysis. *Bioresour Technol*, 123, 144-149.
15. Sinanoglu O., Yener AN., Ekici S., Midi A., Benli Aksungar F., 2012. The protective effects of spirulina in cyclophosphamide induced nephrotoxicity and urotoxicity in rats. *Basic Transl Sci*, 80, 1392-1392.
16. Abraham P., Isaac B., 2010. The effects of oral glutamine on cyclophosphamide-induced nephrotoxicity in rats. *Hum Exp Toxicol*, 30, 616-623.
17. Besse A., Clapp GD., Bernard S., Nicolini FE., Levy D., Lepoutre T., 2018. Stability analysis of a model of interaction between the immune system and

- cancer cells in chronic myelogenous leukemia. *Bull Math Biol*, 80, 1084-1110.
18. Erkurt MA., Kuku İ., Kaya E., Aydoğdu İ., 2009. Kanser kemoterapisi ve böbrek. *İnönü Univ Tıp Fak Derg*, 16, 63-68.
19. Ernest E., Girndt M., Pliquett RU., 2014. A case of granulomatosis with polyangiitis complicated by cyclophosphamide toxicity and opportunistic infections: choosing between Scylla and Charybdis. *BMC Nephrol*, 15, 28.
20. Ghosh S., Misro M., Das UB., Maiti R., Debnath JM., Ghosh D., 2001. Effect of human chorionic gonadotrophin co administration on ovarian steroidogenic and folliculogenic activities in cyclophosphamide treated albino rats. *Reprod Toxicol*, 15, 221-225.
21. Kenney LB., Laufer MR., Grant FD., Grier H., Diller L., 2001. High risk of infertility and long term gonadal damage in males treated with high dose cyclophosphamide for sarcoma during childhood. *Cancer*, 91, 613-621.
22. Hochster H., Wasserheit C., Speyer J., 1995. Cardiotoxicity and cardioprotection during chemotherapy. *Curr Opin Oncol*, 7, 304-309.
23. Braverman AC., Antin JH., Plappert MT., Cook EF., Lee RT., 1991. Cyclophosphamide cardiotoxicity in bone marrow transplantation: a prospective evaluation of new dosing regimens. *J Clin Oncol*, 9, 1215-1223.
24. Çelebi F., Gelen V., Çınar A., Şengül E., 2014. The effect of rutin on overactive contractility of bladder smooth muscle in the model of cyclophosphamide-induced cystitis in rats. *The FASEB Journal*, 28, 690-15.
25. Şengül E., Gelen V., Gedikli S., Özkanlar S., Gür C., Çelebi F., Çınar A. 2017. The protective effect of quercetin on cyclophosphamide-induced lung toxicity in rats. *Biomed Pharmacother*, 92, 303-307.
26. Gelen V., Şengül E., Gedikli S., Çelebi F., Çınar A., Kara A., Özkanlar S., Gür C., 2016. The effects of quercetin on cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. *Acta Physiol*, 218, 14-15.
27. Yılmaz B., 2000. *Fizyoloji*. 2. baskı, Feryal Matbaacılık, Ankara.
28. Konuk T., 1981. *Pratik Fizyoloji I*. 2. baskı, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
29. Comba B., Mis L., Comba A., Çınar A., Tas A., 2014. Deneysel olarak diabet oluşturulmuş ratlarda yara iyileşmesinde sildenafil sitratın bazı hematolojik parametrelere ve mineral maddelere etkisi. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 9, 180-186.
30. Gencer GY., Çınar A., Comba B., 2015. Stresin ratlarda bazı karaciğer enzimleri AST, ALT, ALP üzerine etkilerinin araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 10, 21-26.
31. Yıldırım S., Oto G., Comba B., Ekin S., Çınar A., 2017. An investigation of the protective effects of resveratrol on some biochemical parameters and histopathological findings in experimentally-induced chronic flurosis in rats. *Fluoroide*, 50, 367-375.
32. Maaroufi K., Chekir L., Creppy EE., Ellouz F., Bacha H., 1996. Zearalenone induces modifications of haematological and biochemical parameters in rats. *Toxicon*, 34, 535-540.
33. He ML., Wang YZ., Xu ZR., Chen ML., Rambeck WA., 2013. Effect of dietary rare earth elements on growth performance and blood parameters of rats. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 87, 229-235.
34. Comba B., Çınar A., Comba A., Gencer GY., 2016. Sıçanlarda ACTH uygulamasının böbrek fonksiyon testleri, elektrolitler ve hematolojik parametreler üzerine etkileri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 63, 229-233.
35. Belge F., Çınar A., Selçuk M., 2003. Effects of stress produced by adrenocorticotropin (ACTH) on the lipid peroxidation and some antioxidants in vitamin C treated and nontreated chickens. *S Afr J Anim Sci*, 33, 201-205.
36. Schneider PL., Beede DK., Wilcox CJ., 1988. Nycterohemeral patterns of acid-base status, mineral concentrations and digestive function of lactating cows in natural or chamber heat stress environments. *J Anim Sci*, 66, 112-125.

37. Yıldırım S., Çelikezen FC., Oto G., Sengül E., Bulduk M., Cinar A., 2017. An investigation of protective effects of litium borate on blood and histopathological parameters in acute cadmium-induced rats. *Biol Trace Elem Res*, 1-6.
38. Noyan A., 2011. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji, 10. Baskı., 606-620, Palme Yayıncılık, Ankara.
39. Rehman MU., Tahir M., Ali F., Qamar W., Lateef A., Khan R., Quaiyoom A., Oday-O-Hamiza., Sultana S., 2012. Cyclophosphamide-induced nephrotoxicity, genotoxicity, and damage in kidney genomic DNA of Swiss albino mice: the protective effect of Ellagic acid. *Mol Cell Biochem*, 365, 119-127.
40. Amien Al., Fahmy SR., Abd-Elgleel FM., Elaskalany SM., 2015. Renoprotective effect of *Mangifera indica* polysaccharides and silymarin against cyclophosphamide toxicity in rats. *JOBAZ*, 72, 154-162.



Süt ve Ürünlerinde Mineral Maddeler ve Ağır Metaller

Korhan ÖZTURAN¹, Mustafa ATASEVER²✉

1. Kara Kuvvetleri Komutanlığı, Ankara, TÜRKİYE.
2. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
31.05.2017	19.09.2017	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Özturan K, Atasever M: Süt ve Ürünlerinde Mineral Maddeler ve Ağır Metaller. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 229-241, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.317822

Öz: Mineral maddeler sağlık için önemlidir ve diyetle yer almaları gerekir. Ancak aşırı dozu insanlar için toksik olabilmektedir. Süt ve süt ürünleri ağır metallerin kaynağı olabilir. Sütte ağır metallerin bulunması, genellikle çevresel ve endüstriyel kirlilikten kaynaklanmaktadır. Çevresel kirlilik, insanlar için küresel bir sorundur. Ağır metal kaynaklı sağlık riskinin azaltılması ve çevrenin daha da kötüleşmesini önlemek için çevrede ağır metal birikimi önlenmelidir. Bu derleme, minerallerin ve ağır metallerin organizmaya etkilerini ve ağır metallerin gıdalara ve süt ürünlerine bulaşma kaynaklarını özetlemektedir.

Anahtar Kelimeler: Ağır metal, Mineral madde, Süt, Süt endüstrisi.

Mineral Elements and Heavy Metals in Milk and Dairy Products

Abstract: Mineral elements are essential to health. They should be present in diet. But the excessive dose can be toxic to humans. Milk and dairy products can be a source of heavy metals. The occurrence of heavy metals in dairy often results from environmental and industrial contamination. Environmental pollution is a global problem for man. Heavy metal accumulation in the environment must be prevented to avoid health risk and further deterioration of the environment. This review is summarize the effects of mineral elements and heavy metals on organism and to describe a source of contamination and inputs of heavy metals into food chain and dairy products.

Keywords: Heavy metal, Mineral elements, Milk, Dairy industry.

✉ Mustafa ATASEVER

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
e-posta: atasever@atauni.edu.tr

*Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında yapılmış "Erzurum ve Çevresinde Üretilen Süt ve Süt ürünlerinin Mevsimlere Göre Mineral Madde ve Ağır Metal İçeriği" isimli doktora tezinden derlenmiştir.

GİRİŞ

Bazı mineraller canlılar için önemli ihtiyaçtır. Bunlar düşük konsantrasyonlarda iz elementler olarak adlandırılır ve vücutta çeşitli görevleri vardır. Ancak sınırları aşan konsantrasyonları toksik olabilir ve bir kısmı ağır metal olarak bilinirler. Hızlı sanayileşme nedeniyle dünyada artan ağır metal kontaminasyonu kaynaklı çevresel kirlilik besinler aracılığı ile halk sağlığını tehdit etmektedir. Bu kapsamda toprak, su ve hava kaynaklarında kirlilik problemiyle sıklıkla karşılaşmaktadır. Kirleticiler, tarımsal üretimi olumsuz yönde etkileyerek üretimin zamanla azalmasına yol açmaktadır.

Çevre ve gıda kirlenmesine neden olan binlerce kimyasal madde artıkları arasında, doğaya yayılmış bulunan her türlü metal kalıntılarının önemli bir payı vardır. Biyolojik sistemlerde çevresel kontaminant olarak bilinen metalik kirleticilerin düzeyi, kontaminasyonun yoğun olduğu bölgelerde yaşayan hayvanlarda ve yetişen bitkilerde yüksek boyutlara ulaşmaktadır. Bu durum gıda zinciri boyunca giderek artan düzeylerde birikerek zincirin son halkasında bulunan insanlara ulaşmaktadır. Böylece gıda yolu ile bu tür kontaminantlarla karşı karşıya kalan bireyler akut toksik etki ya da uzun süreli alımlarla kronik geri dönüşsüz sağlık problemleri ile karşılaşmaktadırlar (1).

Günümüzde 9 milyon civarında kimyasal madde olduğu ve bunun yalnızca yaklaşık 7600'nün günlük yaşamda kullanıldığı bilinmektedir. Bunlardan ağır metaller önemli bir grubu oluştururlar. Ağır metaller atom ağırlığı 40'tan fazla olan, eksenindeki elektron dağılımı benzerlik gösteren ve özgül ağırlığı 5'ten fazla olan elementlerdir. Ağır metallerin başlıca kaynakları; bazı anataşlar, mineral gübreler, biyosidler, kanalizasyon atık maddeleri, kentsel atık

maddeler, atık sular, madencilik ve motorlu araçların egzoz gazlarıdır (2).

Vücuda dışarıdan alınması gereken bazı mineraller (örn., Na, K, Ca, Mg, P, Cl) sütte bulunmaktadır. Ayrıca süt alınması zorunlu olmayan diğer bazı mineral maddeleri (örn., Li, Cs, Cd, Al, Hg, Pb) de içerebilmektedir. Bu elementlerin bazılarının toksik etkisi olduğu da bilinmektedir (3).

İyi kaliteli süt ürünleri yalnızca kimyasal ve mikrobiyolojik parametrelerine değil, sahip oldukları mineral içeriklerine de bağlıdır. Sütün esansiyel ve iz element içeriği birçok faktöre (örn., genetik özellikler, çevresel şartlar, laktasyon durumu ve çayır, mera tipi) bağlıdır. Süt ürünlerine uygulanan teknolojik uygulamalar da bu değerlerin değişmesine sebep olmaktadır (4) Sütteki eser elementlerin miktarı, süt hayvanlarının yetiştiği topraklar üzerindeki bitkileri yemesi sonucu farklılık göstermektedir. Süt ineği otlama süresince toprak üzerindeki toksik metalleri de vücuduna almaktadır.

Süt ve ürünlerindeki ağır metal kontaminasyonu; sağım hayvanlarının maruz kaldığı bulaşmaya bağlı olarak hammaddeden veya üretim ve depolama sırasında süt ürünleri ile temas eden makine ve ekipmanlardan kaynaklanabilen bulaşmalardan ileri gelmektedir. Teknolojik işlemler sırasında veya süt ve ürünlerinin muhafaza edilmesinde kullanılan metal kaplardan ve işletme suyundan kaynaklanan metalik kontaminasyondaki başlıca elementler Cu, Zn, Fe, Sn, As, Cd 'dir. Süt ve peynir gibi asidik nitelikli gıdaların üretiminde kullanılan kapların bileşimindeki metallerin çözünerek ürüne geçme riski diğer besinlere göre daha kolaydır (3,5). Atık sular hiçbir arıtma yapılmaksızın tarımsal alanlarda sulama suyu olarak kullanılabilir. Kirli su kaynakları ile yapılan tarımsal sulamalar nedeniyle toprak verimliliği ve

bitki kalitesi olumsuz yönde etkilenmektedir. Toprakta ağır metallerin toksik düzeylerde zenginleşmesi, bitki gelişimini ve kalitesini bozmakta, gıda zinciri yolu ile insan ve hayvanlara kadar ulaşmaktadır (6). Ağır metaller atmosferden kuru veya ıslak çökme yoluyla, kirli sularla, katı atıklarla, bazı pestisitlerle ve fosfatlı gübrelerle toprakta birikerek; ortam koşullarına bağlı olarak flora ve fauna bünyesine geçerek besin zincirinde üst basamaklara kadar transfer olmaktadır. Ağır metallerin topraktaki biyolojik prosesler üzerine toksik etkisi; onların mobiliteyi, topraktaki konsantrasyonları, ana materyalin kimyasal bileşimi ve bileşimin çözünürlüğüne bağlıdır. Söz konusu ağır metallerin topraktaki yüksek konsantrasyonları özellikle kültür topraklarında gübreleme, bitki gelişimi ve ürün üzerine olumsuz etkiler yapmaktadır. Ağır metaller toprak mikroflorası üzerine de etkilidir (7).

Doğal çevreyi meydana getiren öğeler; insanlar, hayvanlar ve bitkilerdir. Bu öğelerin, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin, hayati aktivitelerinin olumsuz yönde etkilenmesi ve değişmesi olayına çevre kirliliği denir. Canlılar, doğada yaşamlarını hava, su ve topraktan oluşan bir ekosistem içerisinde sürdürürler. Sanayileşme ile birlikte çevre kirlenmesi ve dolayısıyla doğal dengenin bozulması artmış, insan ve çevre sağlığı olumsuz etkilenmeye başlamıştır. Günümüz teknolojisine paralel olarak toprak, su ve atmosfere bırakılan ağır metal iyonu miktarının ve çeşidinin artması; maden alanlarının işletimi, endüstriyel faaliyetler sonucu oluşan katı, sıvı ve gaz atıkların çevreye kontrolsüzce bırakılması, artan nüfus ile birlikte fosil yakıtların konutlarda ve araçlarda kullanım miktarının artması, tarımda zirai ilaçlama ve gübreleme faaliyetlerinin bilinçsizce yapılmasından ileri gelmektedir (8). Gıdalarda metal kontaminasyonun oluşumu Tablo 1'deki şekilde özetlenebilir (9).

Tablo 1. Gıdalarda metal kontaminasyonun oluşumu.
Table 1. Formation of metal contamination in foods.

- | |
|---|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. Toprakta metale geçiş <ol style="list-style-type: none"> a. Bitkilerde metallere yükseltgenme <ol style="list-style-type: none"> i. Bitkilerde toplanarak ii. Jeobotanikal indikatörler b. Tarımsal uygulamaların topraktaki metal içeriğine etkisi <ol style="list-style-type: none"> i. Tarımsal gübrelerden kaynaklanan metaller ii. Sulamada kullanılan kanalizasyon sularından kaynaklanan metaller iii. Tarımsal kimyasallardan ileri gelen metaller c. Endüstriyel kontaminasyon <ol style="list-style-type: none"> i. Madencilik işlemleri sırasında ii. Metal endüstrisinden kaynaklı iii. Terk edilmiş endüstri bölgeleri d. Coğrafya 2. Gıda işlemleri sırasında metal kontaminasyonu <ol style="list-style-type: none"> a. Fabrika ve ekipmanlardan kaynaklanan kontaminasyon b. Kuru gıda kutusu işlemleri yaparken kontaminasyon <ol style="list-style-type: none"> i. Kalay içerikli ii. Alüminyum içerikli c. Yiyeceklerin hazırlanması esnasında kaynaklanan kontaminasyon <ol style="list-style-type: none"> i. Pişirme kaplarından ii. Seramik kaplı eşyalardan iii. Emaye kaplı eşyalardan iv. Diğer yöresel kaynaklardan 3. Gıdalarda kullanılan takviye ürünlerden kaynaklanan kontaminasyon |
|---|

Doğal kaynaklardan yayılan mineral maddelerin pek çoğu teknolojik işlemlerle değişime uğramaktadır. Bunun sonucu olarak karışımlar ve çözeltiler haline gelerek, akıntı, kanalizasyon suyu, çöpler ve tozlar vasıtasıyla suya, toprağa, havaya buradan da gıdalara bulaşmaktadır. Bunlar ağır metal olarak tanımlanan mineralleri de içerir. Temel besinlerle birlikte bitkiler ve hayvanlar ağır metal bileşenlerini de alabilir ve bu metaller bitki ve hayvanlarda konsantre bir şekilde bulunabilirler. Bazı ağır metaller (örn., Pb, Cd, Hg ve As) spesifik limit değerler üzerinde potansiyel olarak toksik etkiye sahiptir. Bu nedenle, insanlar için önemli bir potansiyel tehlike söz konusudur. Ağır metal olarak tanımlanan bu metallerin çok düşük konsantrasyonları hayatın devamı için gerekli olabilmektedir. Bunlar esansiyel iz elementler olarak

tanımlanırlar. Ancak bunların yüksek konsantrasyonları toksik etkiye sahiptirler ve esansiyel ile toksik değerler arasındaki sınırın iyi belirlenmesi ise tüm yaşamsal faaliyetler için büyük önem taşımaktadır (10).

Çevre kirliliği nedeni ile insanlar doğuştan itibaren metallere maruz kalmakta, mesleki maruziyet ile birikim daha da artmaktadır. Toplumun genel sağlığı açısından, ağır metallere maruz kalan insanlarda en doğru risk değerlendirmesi yapabilmek için; ağır metal kaynakları, çevrede izledikleri yolu, ölçülebilen minimum konsantrasyonu ve insana ulaşma şekli incelenmelidir (11). Maden yataklarından geçen akarsuların buradaki metalleri çözerek doğal olarak kirlenmesinin yanı sıra endüstriyel atıkların akarsu, deniz ve göllere kontrolsüzce atılması da kirliliğin boyutunu artırmaktadır. Kirlenmiş akarsuların, tarım sulamada veya hayvan içme suyu olarak kullanılmasıyla; bitki ve hayvanlarda biriken metaller besinler yoluyla insana ulaşabilirler. Ağır metallere kontamine su canlılarının insanlar tarafından besin olarak tüketilmesi sonucunda da toksisite oluşabilir (12,13). Endüstriyel baca gazları ve taşıt trafiği ağır metaller yönünden havanın kirlenmesine yol açmaktadır. İlerleyen aşamalarda bu elementlerin yağışlarla toprağa iletilmesi, bazı yörelerde ağır metal içeriği zengin olan akarsuların sulama amacıyla kullanılması, yapay gübreler ve pestisitlerden bulaşmalar ile çöplerden süzülerek taban suyuna ve akarsulara karışan atıklar toprakta ağır metal birikimini arttırabilmektedir. Ayrıca kanalizasyon suları ile arıtma ünitelerinin sıvı ve katı atıklarının tarım arazilerine boşaltılması da toprakta ve bitkisel ürünlerde ağır metal kirlenmesine neden olmaktadır (14). Sanayi kökenli atık sularla, toprağa ulaşan ağır metaller, toprak tarafından tutulmaktadır. Bu metallerin toprak içindeki çözünürlüğü toprak pH'sından etkilenmektedir. Ağır metaller genellikle düşük pH'larda daha fazla çözünmektedir. Ağır metallerin topraktaki biyolojik prosesler üzerine toksik etkisi, onların mobiliteyi, topraktaki konsantrasyonları, ana materyalin kimyasal bileşimi, toprak bileşimi ve bileşimin çözünürlüğüne bağlıdır (15).

Çevresel toksikolojinin başlıca problemi çevrenin kirleticilere maruz kalmasıdır. Ağır metaller dokularda seçici olarak birikim yaparak yaşayan organizmalara toksik etki gösterebilmekte ve immunolojik, teratojenik, nefrojenik ve sinirsel rahatsızlıkları içeren çeşitli hastalıklara da sebep olabilmektedir (13). Ağır metallerin (Cu, Cd, Cr, Pb, Mn, Hg, Zn, Bi, Ni, Co) hava, su ve toprak ortamlarındaki konsantrasyonları farklılıklar göstermektedir. Yıldız (16), toprakların ağır metaller için son depolanma yeri olabildiğini ve toprak çözeltisinde serbest halde bulunan ağır metallerin, toprak mikroorganizmaları ve bitki kökleri tarafından alındığını veya yeraltı suyuna yıkanarak geçtiğini ve yeraltı su kalitesinin bozulmasına, besin zincirinin kirlenmesine neden olduğunu bildirmiştir. Toprak kirliliği de çoğunlukla sulama sularından, gübrelemeden, sanayi atıklarından, fosseptiklerin boşaltılmasından, ilaçlamadan, çevrenin volkanik yapısından kaynaklanabilmektedir (17-19). Jaradat ve Momani (20) bir otobanın her iki tarafından belirli mesafelerde toprak, bitki ve hava örnekleri alınmış ve ağır metal kirliliği araştırılmıştır. Toprak örneklerinde Cu, Cd, Pb ve Zn konsantrasyonları, otobanın 1.5 m mesafede, sırasıyla 29.7 ± 7.2 , 0.75 ± 0.32 , 188.8 ± 71.2 ve 121.7 ± 13.8 $\mu\text{g/g}$ değerleri bulunmuş; yoldan 60 m uzaklıkta ise 17.9 ± 5.7 , 0.33 ± 0.12 , 6.9 ± 4.5 ve 48.1 ± 11.2 $\mu\text{g/g}$ değerleri saptanmıştır. Benzer bulgular bitki örneklerinde ve havada da tespit edilmiştir. Bitkilerde yolun 3 m uzağında Cu, Pb ve Zn düzeyleri 31.3 ± 18.2 , 7.3 ± 3.1 ve 98.7 ± 40.0 $\mu\text{g/g}$ düzeyinde, 50 m uzağında ise 26.5 ± 4.5 , 3.9 ± 1.8 ve 46.9 ± 13.2 $\mu\text{g/g}$ şeklinde tespit edilmiştir. Havadaki Cu, Pb ve Zn oranları ise 0.40 ± 0.12 , 0.94 ± 0.47 ve 0.26 ± 0.09 $\mu\text{g/m}^3$ olarak saptanmıştır. Bu değerler göz önünde tutulduğunda, otomobillerin ciddi çevre kirliliğine neden olduğu anlaşılmaktadır. Ağır metaller insanlara; tozların inhalasyonu, kontamine suların içilmesi ve metal kontaminasyonlu topraklarda büyüyen bitkisel ürünlerin tüketilmesiyle bulaşabilir. Charry ve ark. (21), toprak, bitki ve süt numunelerinde Zn, Cr, Cu, Ni, Co ve Pb içeriğini araştırmışlar; toprak ve bitkilerdeki kirlenmenin süt ve diğer bitkisel ürünleri de etkilediğini ortaya koymuşlardır.

1. Ağır Metallerin ve Minerallerin Sağlık Üzerine Etkileri

Mineraller, vücudun sağlıklı kalabilmesi ve birçok yaşamsal fonksiyonunu sürdürebilmesi için gerekli olan kimyasal elementler ile bu elementlerin inorganik bileşikleridir. Mineraller, inorganik bileşik olduklarından dolayı insan metabolizması tarafından sentezlenemez. Bu nedenle insan vücudunun ihtiyaç duyduğu minerallerin mutlaka dışardan hayvansal ve bitkisel gıdalar ile alınması gerekmektedir. Hayvansal gıdalar ile alınan mineraller insan organizması tarafından daha kolay bir şekilde emilebilmektedir (22). Yetişkin bir insanın vücut ağırlığının % 4-6'sını mineral maddeler oluşturmaktadır. Vücudun bazı minerallere (örn., Ca, Mg, P, S, K, Na, Cl) olan gereksinimi oldukça fazla, bazılarına ise (örn., Fe, Zn, Cu, I, Mn, Mo, F, Se, Si, Cr, Li vb) azdır. İnsan sağlığı için önemli mineraller; Fe, Ca, K, Mg, Zn, Mn, I, P, Cu ve Se'dur (22,23). Mineraller; vücut yapısının, iskelet sisteminin ve vücuttaki enzimlerin bir parçasıdır. Örneğin, Ca ve P kemiklerinin ve dişlerin oluşumuna katkı sağlamakta, Fe hemoglobinin, iyot da tiroit hormonlarının yapısında bulunmaktadır. Birçok

mineral vücut fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev alırlar. Sodyum sıvı dengesinin sürdürülmesinde görev yapar. Na, P ve Ca sinir ve kas sisteminde önemli rol oynarlar. Mineraller, diyetle ihtiyaç duyulan miktarlarına göre makro ve mikro mineraller olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Besinlerle günlük 100 ppm veya daha fazla miktarda alınanlar makro mineral, 100 ppm'den daha az miktarda alınanlar ise mikro mineral olarak adlandırılmaktadır (22). Makro mineraller, canlı hücrelerin faaliyet göstereceği uygun izotonik ortamın oluşmasını ve vücudun su dengesini sağlayan elektrolit dengesinde aktif rol oynamakta, kasların kasılmasında, karbonhidrat ve protein metabolizmasında da önemli görev almaktadırlar. Mikro mineraller ise iz element veya ağır metal olarak da bilinmekte ve metabolizmada birçok enzimin kofaktörü olarak faaliyet göstermektedirler. Bu enzimler özellikle oksijenin taşınmasında, sinir uyarımlarının iletilmesinde, immun sistemde, büyüme ve gelişmede oldukça önemli fonksiyonlara sahiptir (22,24,25). Minerallerin vücuttaki görevleri ile eksikliğinde görülebilecek bazı belirtiler Tablo 2'de verilmiştir (22,26-28).

Tablo 2. Minerallerin insan vücudundaki fonksiyonları ve eksikliğinde belirtiler.

Table 2. Functions of minerals in human body and symptoms of deficiency.

Mineral	Fonksiyonu	Eksikliğinde belirtiler
Ca	Kemik ve diş oluşumu, hücre permeabilitesi, sinir uyarımı, kas kasılma ve gevşemesi, enzim aktivasyonu, kan pıhtılaşması	Büyüme geriliği, raşitizm, tetani, osteoporozis, nörolojik bozukluklar
Mg	Sinir impulslarının geçişi ve kasılma sonrası iskelet kaslarının gevşemesi için gerekli, kemik ve diş komponenti, karbonhidrat, yağ, protein metabolizması ve protein sentezi enzimlerini aktive eder, ADP'nin ATP'ye dönüşümü için fosfat ekleme enzimini aktive eder, kastaki glikojenden enerji salınımına yardım eder, birçok enzim aktivasyonunda, sinir uyarımında, kas kontraksiyonunda görev alır.	Protein-enerji yönünden eksik ve yanlış beslenmede Mg eksikliği görülebilir. Fakat eksiklik Mg atılımının artması veya emiliminin azalmasıyla olur. Mg'un aşırı atılımı kusma, ishal veya diüretik tedavi sonucu olabilir. Mg emiliminin azalması ise kronik alkolizmden olabilir. Merkezi sinir sistemi aktivitesi bozukluğu, kas uyarımlarında artış, alkolizmde böbrek yetmezliği, titreme nöbetleri, mide bulantısı, kusma, musküler kramp, <u>konvülsiyon</u> , psikoz
P	Kemik ve diş formasyonu, ATP ve ADP için enerji metabolizması komponenti, DNA ve RNA'nın bileşiminde yer alır, fosfolipidlerin önemli minerali, asit-baz dengesi, enzim formasyonu	Büyüme geriliği, raşitizm, musküler zafiyet, kemik ağrıları, iştah kaybı
K	Ozmotik basınç, elektrolit denge, asit-baz dengesi, sinir uyarımları, kalp kası ve diğer kasların kontraksiyonu, protein sentezi, glikozun glikojene dönüşümü	Bulantı, kusma, ishal, musküler zaafiyet, kalpte ritim bozuklukları, nörolojik bozukluklar, alkalozis, yorgunluk, kas zayıflığı, düzensiz nabız, refleks azalması
Na	Ozmotik basınç, elektrolit denge, asit-baz dengesi, sinir ve kas membranları boyunca elektrokimyasal impuls geçişi	Bulantı, kusma, baş dönmesi, yorgunluk, aşırı terleme, böbrek bozuklukları, kramp, baş ağrısı, iştah kaybı, diyare

Tablo 2. Minerallerin insan vücudundaki fonksiyonları ve eksikliğinde belirtiler (Devamı).**Table 2.** Functions of minerals in human body and symptoms of deficiency (continuation).

S	Hücre sitoplazmasının bileşenidir. Özellikle saç, deri, kas, kemik ve tırnaklarda bulunabilir. Tiamin, biotin, insülin ve heparinin bileşenidir. Toksinlerle birleşerek onları nötralize eder. Derinin elastikiyetini sürdürür. Sülfür bağları kas, kemik ve deri şekillerinin sürdürülmesini sağlar. Eklemlerde bağ oluşumunu sağlar.	Eklemler ağrısı, sivilce, arthrit, tırnaklar ve saçlarda kırılabilirlik, konvülsiyonlar, depresyon, hafıza kaybı, gastrointestinal sorunlar, kızamıklıklar, yara iyileşmesinde gecikme. Obesite ve kalp hastalıkları oluşumuna katkı sağlar.
Cr	Lipit metabolizmasında rol oynar, diabetin tedavisinde kullanılır	Büyüme problemi, glikoz intoleransı, kanda kolesterol kaybı
Co	Vit B ₁₂ bileşenidir. Alyuvar yapımında görev alır. İmmunitede rol oynar.	Nadiren görülür ama eksikliğinde Vit B ₁₂ kaybından dolayı pernisiyöz anemi ve hematolojik ve nörolojik semptomlar görülür.
Cu	Hemoglobin ve kollagen formasyonunda rol alır ve demirin kullanımı için gereklidir. Kan pıhtılaşmasında görev alır. Glikozu okside ederek enerji salınımına yardım eder. Melanin oluşumu ve sinir sisteminde myelin kılıfların devamı için gereklidir.	Anemi, büyüme ve gelişmede azalma, <u>hiperkolesteremi</u> (kanda kolesterol fazlalığı), kalpte ritim bozukluğu, kalp fonksiyonlarında bozulma, damarlarda yırtılma
Fe	Hemoglobin ve miyogloblin formasyonunda bulunur, birçok enzimin (örn., glikoz oksidasyonu sağlayan enzim) esansiyel bileşimidir.	Aşırı kan kaybı, yanlış beslenme veya midede HCl eksikliği demir yetersizliğine ve anemiye yol açabilir.
Mn	Daha çok kemiklerde ve bezlerde bulunur. Birçok enzimatik reaksiyonda (örn. fosforilasyon, kolesterol ve yağ asitleri sentezi) kofaktör, antioksidant, beyin fonksiyonları, üreme ve kemik yapısı için gerekli, absorpsiyonu daha çok inhalasyon yoluyla olur. Plazmada β ₁ -globuline (transferrin) bağlı olarak, kanda da eritrosin porfirin kompleksine bağlı olarak bulunur.	Serum Mn seviyesi bazı durumlarda (örn., diyabet, pankreatik yetersizlik, protein-enerji yanlış beslenmesi, epilepsi) düşük olabilir. Yara iyileşmesinde gecikme, seksüel ve büyüme gelişiminde gerileme, cücelik ve tad duyusunda azalma.
Zn	Bütün vücut dokularının (örn., pankreas, karaciğer, böbrek, akciğer, kas, kemik, göz, deri, erkek üreme organları) bileşenidir. DNA ve RNA sentezinde görev alır böylece dokuların gelişimi ve onarımı için önemlidir. Birçok enzim sisteminde yer alır. Kollogen şekillenmesi için gereklidir. Karbondioksit taşınmasında ve Vit A kullanımında rol alır. Bağışıklığı artırır.	Yara ve yanık iyileşmesinde gecikme, ishal, kusma, sperm sayısında azalma, büyüme ve gelişimde gerileme, cücelik, tat ve koku alma duyularında azalma, saç kaybı, deri lezyonları, enfeksiyonlara karşı direnç kaybı, aşırı yorgunluk, gece görüşü azalması, iştahsızlık,
F	Dişleri sağlamlaştırır, diş çürüklerine yol açabilen bakteriyel asitlere dayanımı artırır.	Dişlerde çürük
I	Tiroit bezi tiroksin (T4) ve triiyodotironin (T3) salgılar. Bu hormonların her ikisi de hücrelerin oksidasyonun oranını artırır, bu da metabolizmayı düzenler. İyot T3 ve T4 sentezinde yer alır.	Guatr, kretenizm (<u>zihinsel donukluk</u>), miksödem (tiroit bezi salgısındaki yetersizliğe bağlı olarak gelişen metabolizma hızında düşüş, kuruluk gösteren deri altında yaygın ödemler, saçlarda dökülme, zihni işlevler ve konuşmada ağırlaşma ile belirgin hastalık)
Se	Glutation peroksidaz enziminin (vit E ile birlikte hücresel bileşikler oksidasyondan korur) bir parçasıdır. Dişin protein matrisinde yer alır. Karaciğerin sirozdan korunmasına yardım eder. Kansere karşı rolü vardır	Katarakt, musküler atrofi, siroz, infertilite, kanser, hücresel immunitede yetersizlik, kalp hastalıkları, viral ve mikrobiyel enfeksiyonlara karşı duyarlılık, antikor üretiminde azalma. (Et tüketen insanlarda yetersizliği görülmez.)
Mo	Protein sentezinde görev alan enzimlerin kofaktörüdür. Özellikle karaciğer, böbrekler, kemik, deri ve adrenal bezlerde bulunur.	Nabız ve solunum artması, görüş bozukluğu, gece körlüğü, sinirlilik, koma.

İz elementler organizmada optimal değerlerde bulunmalıdır. Memelilerde bu elementlerin yetersizliği, Fe dışında çok nadir görülmektedir. İz elementlerin emilimi, intestinal sistemden olmaktadır. Plazmada taşınmaları spesifik bir

proteine ya da albümine bağlanarak gerçekleşmektedir. Eliminasyonları ise başlıca gastrointestinal yolla, özellikle safra ile olmaktadır. Ayrıca böbrekler ve ter bezleri kullanılarak da atılabilmektedir (29). Ağır metaller insan vücudunda

konsantrasyonlarına göre hedef organ (örn., karaciğer, böbrekler, merkezi sinir sistemi) seçer. Ağır metallerin çeşitli yollarla vücuda alınmasından sonra alınma dozuna, sıklığına ve süresine bağlı olarak akut, subakut ve kronik tarzda ciddi zehirlenme belirtileri ortaya çıkmaktadır (30). Ağır metaller suda, atmosferde, pestisid uygulanmış ve sürülebilir topraklarda bulunabilirler. İnsanlar ağır metalleri çoğunlukla gıdalarla ve kısmen de solunum ve deri teması yoluyla alabilirler. Ağır metallerin dokularda birikebildiği bilinmektedir. Bu konuda Finlandiya'da köstebekler üzerine yapılan bir çalışmada, kırsal bölgelerden ve otobanların civarından toplanan köstebeklerin karaciğer ve böbreklerinde metal incelemesi yapılmıştır. Kırsal bölgelerdeki genç köstebeklerde Cd, Cu, Zn, Pb ve Mo metalleri, yetişkinlere oranla daha düşük bulunmuştur. Yaş ile birlikte karaciğerdeki Cu, Zn ve Cr metalleri akümülyasyonunda azalma, Cd ve Mo konsantrasyonlarında ise artış gözlenmiştir. Dişilerin karaciğerlerindeki Pb konsantrasyonu erkeklerinkinden daha yüksek çıkmıştır. Şehir merkezindeki köstebeklerde ise Cd, Pb ve Hg metalleri çok yüksek bulunmuştur (31). Shanghai'da mesleki olarak Pb absorpsiyonuna maruz kalmamış ve doğum yapmak üzere olan 165 kadının kan, süt ve plasental doku örnekleri alınarak incelenmiştir. Sonuçta; anne kanında 13.2 µg/dl, anne sütünde 4.74 µg/L ve plasental dokularda da 17.85 µg/100g oranlarında Pb tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, Pb'un doğum öncesi plasenta yoluyla fötusa ve doğum sonrasında da süt yoluyla bebeğe geçebileceğini göstermiştir. Ayrıca aynı çalışmada, meslek itibarıyla Pb alımına maruz kalan kadınların sütlerindeki Pb miktarının 52.7 µg/L olduğu ve bunun da kurşun alımının söz konusu olmadığı kadınlarinkinden 12 kat fazla bulunduğu bildirilmiştir (32). Altıntaş ve ark. (33), içme suyu ile kronik olarak 250 ve 1000 ppm Pb alımının, farelerde klinik olarak böbrek ve sinir sistemini olumsuz etkilediğini ve biyokimyasal olarak da idrarla düşük molekül ağırlıklı protein uzaklaştırması (tubuler proteinüri), serum enzim değerlerinde artış, titremeler ve davranış bozuklukları ile kendini gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bu araştırmacılar Pb'un nörotoksik etkisinin, muhtemelen membran geçirgenliğini bozarak, kan-beyin engelini aşması sonucu merkezi sinir sisteminde, bilhassa beyinde yaptığı hasar ile ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir. Metaller, birçok organ sistemini etkileyebilmekte ve genellikle toksisite hedefleri ise enzimler, hücre membranları ve organeller olmaktadır. Metallerin toksik etkisi, serbest metal iyonu ile toksikolojik hedef arasındaki interaksiyonu kapsamaktadır. Belirli bir toksik etkinin oluşmasında çok sayıda faktör etkili olabilmektedir. Örneğin, toksik element ile o doku için gerekli olan elementin metabolizması aynı olabilir. Nitekim MSS'nde Pb ile Ca'un; heme sisteminde Fe, Pb ve Zn'un metabolizması benzer durumdadır. Metallerin transferini gerçekleştiren hücreler (örn. gastrointestinal sistem, karaciğer ve renal tübüler hücreleri) toksisiteye en duyarlı olan hücrelerdir. Bununla birlikte çoğu metaller için bu hücreler, hücre kaybına neden olmaksızın, protein kompleksleri oluşumunu sağlayarak toksik elementlerin hücre içerisine akümülyasyonunu gerçekleştirirler. Metallerin toksisitesinde bireyler ile ilgili çok sayıda faktörün (örn., yaş, diyet) etkisi vardır. Küçük çocuklar ile yaşlı insanlar yetişkinlere oranla metallerin toksisitesine çok daha duyarlıdır. Çocukların toksik metallere maruz kalmasında temel etmen besinlerdir (34). Son yıllarda halk sağlığı kuruluşları, çevre kirliliğine bağlı olarak gıdalara bulaşan toksik metallerin tüketici açısından sağlık sorunları yarattığı gerekçesi ile konuya dikkat çekerek, buna ilişkin çalışmalarını yoğunlaştırmışlardır.

2. Besin Maddelerinde Ağır Metal Kontaminasyonu ve Mineral Madde İçerikleri

İnsan sağlığını tehdit eden ve toksik etki gösteren ağır metallerin, vücuda giriş yollarından birisi de tüketilen gıdalardır. Gıda maddelerinin üretimi, doğada bulunan hava, su ve topraktan oluşan bir sistem içerisinde gerçekleştirilmektedir. Bu nedenle gıda maddesi ister bitkisel, ister hayvansal kökenli olsun çevrenin etkisi altındadır. Özellikle son yıllarda endüstrileşmenin gelişmesi ve tarımsal

üretimde modern teknikleri kullanımının yaygınlaşması çevrenin kirlenmesine, dolayısıyla gıda maddelerinin gün geçtikçe artan düzeylerde kontaminasyonuna sebep olmaktadır (35,36). Gıda maddelerinin üretimi sırasında gıdaya kasıtlı olarak katılmayan, üretim, işleme, hazırlama, muamele, paketleme, depolama, taşıma gibi işlemler sırasında çevresel bulaşmanın sonucu gıdada yer alan maddeye kontaminant denilmektedir. CAC (Codex Alimentarius Commission) nun belirlediği bu tanım; endüstriyel ve çevresel kontaminantları, gıda maddelerinin üretim ve işleme proseslerinden ileri gelen bileşenlerini kapsamaktadır (37). Gıda maddelerindeki kontaminasyonunun sebepleri arasında başlıca; atmosfer kirliliği, aşırı düzeyde pestisit ve gübre kullanımı ve atık sularla yapılan sulama yer almaktadır (38). Biyolojik döngü içerisinde çevresel faktörlerin etkisi ile gıda maddelerine bulaşan ağır metaller, gıda zinciri yoluyla insan vücuduna ulaşmaktadır. Böylece metalik bakımdan kontamine olmuş bir gıda maddesinin tüketilmesiyle vücuda alınan ağır metaller, maruz kalınan konsantrasyona ve tutulma miktarına bağlı olarak kronik boyutlarda önemli sağlık sorunlarına yol açmaktadır (39). Gıda maddelerinin yapısında doğal olarak bulunmayan metalik kontaminantlar, doğada hammaddeye bulaşarak ürüne taşınabilmektedir. Özellikle otomobillerin egzoz gazlarından ve fabrika bacalarından atmosfere yayılan metal atıkları, maden yataklarından geçen suların buradaki metalleri çözmesiyle çevre sularına karışması, endüstri atıkları olarak atık metallerin akarsuları kirletmesi, zirai ilaçlarda bulunan metalik bileşenlerin toprağı dolayısıyla bitkilere geçmesi gibi faktörler önemli bulaşma kaynaklarını oluşturmaktadırlar (40). Besin maddelerinin üretiminde veya muhafazasında kullanılan kaplar da ağır metal bulaşmasında önemli rol oynamaktadır. Demirözü ve Saldamlı (41), buğdayın irmik haline dönüştürüldükten sonra içerdiği ağır metallerde azalma olduğunu, buğday irmiğinin makarnaya işlenmesinden sonra, makarnanın metal içeriğinde irmiğe göre artış olduğunu ve bununda kullanılan alet ve ekipmanlardan veya kurutmada kullanılan havadan

kaynaklanmış olabileceğini ifade etmişlerdir. Yüzbaşı (42), iki farklı süt işletmesinde, kaşar peynirine işlenecek sütteki Pb miktarlarının (626.20 ve 265.19 ppb) üretim sonrası kaşar peynirlerinde önemli düzeyde (374.10 ve 42.95 ppb) düştüğünü; buna karşın sütteki mevcut Cu miktarında peynire işlenmesiyle herhangi bir değişme olmadığını, Cd miktarlarının ise 0.01 ppb düzeylerinden 4.41-3.38 ppb seviyelerine yükseldiğini tespit etmiştir. Araştırmacının peynirlerin Cd düzeylerinde, sütteki miktarına göre yaklaşık 400 kat oranında tespit ettiği artış, üretimde kullanılan kapların ne kadar önemli bir kontaminasyon kaynağı olabileceğini ortaya koymaktadır. Tripathi ve ark. (43), bebek gıdalarında Pb, Cd ve Cu miktarının sütlere nazaran daha fazla belirlendiğini ve farklılığın üretim sırasında meydana gelen kontaminasyonlardan kaynaklanmış olabileceğini vurgulamışlardır. Işık ve ark. (44), üretim yapan işletmelerden aldıkları örneklerde Fe, Cu, Zn, Pb ve Cd metalleri düzeylerini araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda, analiz edilen domates salçası konservelerinin %20.8'inin, taze fasulye konservelerinin %65.52'sinin, bamya konservelerinin %73.49'unun, bezelye konservelerinin %90.54'ünün incelenen metal içerikleri bakımından Standartlara uygun olmadığını bildirmişlerdir. Balık örneklerinde ayrıca Hg analizleri yapılmıştır. Buna göre; tatlı su balıklarının %18.75'inin, deniz balıklarının %28.21'inin ve uskumru balıklarının %7.14'ünün yüksek miktarlarda Hg içerdiğini belirtmişlerdir. Van Gölü'nden avlanan inci kefali balığında Pb, Cd, Zn ve Cu birikim düzeylerinin araştırıldığı çalışma (45) sonucunda, inci kefali balıklarında ağır metal birikiminin olduğu ve bunun mevsimlere göre farklılık gösterdiği, birikimde endüstriyel artıklardan çok şehir kirliliğinin etkili olduğu ifade edilmiştir. Demirezen ve Aksoy (46), bal örneklerinin Cd, Pb, Ni, Zn ve Cu içerikleri üzerine araştırma yapmış ve bal örneklerinde Cd konsantrasyonunun 0.11 ile 0.18 ppm, Cu konsantrasyonunun 0.15-0.66 ppm, Zn konsantrasyonunun 2.2-11 ppm, Ni konsantrasyonunun 0.2-0.8 ppm ve Pb konsantrasyonunun 0.1-0.85 ppm arasında olduğunu tespit etmişlerdir.

3. Süt ve Ürünlerinin Ağır Metal Kontaminasyonu ve Mineral Madde İçerikleri

Süt ihtiva ettiği fazla miktardaki (%80-90) suya ilave olarak, meme bezi hücrelerinde sentezlenen ve kandan dokular vasıtasıyla değişmeden geçen bileşiklerin kompleks karışımıdır. Sütte yüz binden fazla farklı molekül vardır. Sütün bileşimini başlıca emülsiyon şeklinde yağ globülleri, koloidal şekilde dağılmış proteinler ile çözelti şeklinde laktoz ve çözünür proteinler oluşturur. Bu besin unsurlarına ek olarak çeşitli mineral maddeler, vitaminler, enzimler,

organik bileşikler ve erimiş gazlar da sütün bileşimine girerler. Mineraller sütün yalnızca %0.75'lik kısmını oluştururlar. Mineral madde bakımından süt, en önemli Ca ve P kaynağıdır. Bir litre sütle günlük gerekli Ca'un %150, P'un %120, K %75'i, Zn ve Cl'un %30'u l ve Mg'un da %5'i sağlanır (47). Tablo 3'de bazı sütlerin mineral içeriği verilmiştir (48). Sütte bulunan mineral maddelerin miktarı süt veren hayvanın ırkına ve türüne, laktasyon dönemine, hayvanın hastalık (örn., mastitis) durumuna, hayvanın beslenmesine ve mevsime göre değişim gösterebilmektedir.

Tablo 3. Bazı sütlerin mineral içeriği (100 g sütte).

Table 3. Mineral content of some milks (100g in milk).

Mineral	İnsan sütü	İnek sütü	Koyun sütü	Keçi sütü	Çocuklar için günlük alınması önerilen miktar (1-3 yaş)
Ca (mg)	32	91-120	170-207	100-134	500 mg
Fe (mg)	iz	iz-0.2	iz-0.1	iz-0.6	5 mg (%12'si vücutta kullanılabilir)
Mg (mg)	3	10-11	18	13-14	60 mg
P (mg)	14	84-95	123-158	90-111	
K (mg)	51	132-155	120-187	170-228	
Na (mg)	17	38-45	30-44	32-50	
Zn (mg)	0.2	0.3-0.4	0.5-0.7	0.1-0.5	4.1 mg
Cu (mg)	0.1	iz-0.1	0.1	iz-0.1	
Se (µg)	1.8	1.0-3.7	0.7-1.4	1.7	17 µg
Mn (µg)		4-10	iz-18	iz-18	
Pb (µg)		40			
Ni (µg)		27			

Süt ve ürünlerindeki ağır metal kontaminasyonu, sağım hayvanlarının maruz kaldığı bulaşmaya bağlı olarak hammaddeden ve/veya üretim ve depolama sırasında süt mamulleri ile temas eden makine ve ekipmanlardan kaynaklanabilir. Teknolojik işlemler, süt ve ürünlerinin muhafaza edilmesi sırasında kullanılan metal alet ve ekipmandan veya kullanma suyundan kaynaklanan metalik kontaminasyonda başlıca Cu, Zn, Fe, Sn, As, Cd bulunabilir (3).

Elde edilen sütlerin fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri bölgesel şartlara göre değişebilmekte bu sütlerden yapılan ürünlerin kalitesi ve mineral madde düzeyleri de farklılık arz etmektedir. Sütteki eser elementler süt hayvanlarının yetiştiği topraklar üzerindeki bitkileri yemesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu elementleri çoğu toprak ve

dolayısıyla bitki içermektedir. Süt ineği otlama süresince toprak üzerindeki toksik metalleri de vücuduna almaktadır. Her ne kadar sütte bulunan eser elementlerin ilk kaynağı yiyeceklerse de sudan insektisitlerden ve ilaç artıklarından, cam kaplardan, boyalı yüzeylerden (yalamaları sonucu), mandıralardaki ekipmanlardan ve metal kaplardan kantitatif olarak tayin edilebilmiştir (49). Metal kalıntıları teknolojik işlemler sırasında metallere yapılmış makine ve ekipmandan, mamul ürünlerin konulduğu metal kaplardan veya kullanma suyundan ya da yemden bulaşan Cu, Zn, Fe, Sn, Pb, As, Hg, Cd vb metal iyonlarıdır. Bu metaller Uluslararası Sütçülük Federasyonu ağır metal çalışma grubu (IDF/FIL) tarafından çok önemli olarak nitelendirilmektedir. Bu metallere As, Pb, Cd, Zn, ve Hg vb toksikolojik açıdan, Fe ve Cu ise teknolojik

açından önemli olmakta süt yağının oksidasyonunu artırmakta ve tereyağı teknolojisinde önemli tat ve aroma problemlerini ortaya çıkarmaktadır (50).

Metal iyonlarının alet ve ekipmanlardan süt ve ürünlere geçişi; metal kısımların yüzeyinde meydana gelen kimyasal tepkimelerle veya metal yüzeyindeki elektron alışverişi ile olmaktadır. Soy metallerin dışındaki metaller yeterli ölçüde kimyasal stabiliteye sahip olmadıklarından oksijen ve rutubetin etkisiyle korozyona uğrayarak bulaşmayı kolaylaştırırlar. Süt ve özellikle düşük pH değerindeki ürünlerinde laktik asit, korozyonu hızlandırabilmekte ve metal iyonlarının çok kolay bir şekilde bulaşmalarına neden olmaktadır. Süt naklinde kullanılan alüminyum güğümlerle, yoğurt ambalajında kullanılan alüminyum kaplar buna örnek olarak gösterilebilir. Temizlik ve dezenfeksiyon amacıyla hazırlanan çözeltilerin konuldukları metal kaplardan da metalik bulaşma mümkündür. Kullanma suyu da metalik bulaşmanın kaynağı olabilir. Bu nedenle, süt sanayinde kullanılan suda bulunabilecek metal iyonları sınırlandırılmıştır (3). Güray (34), peynir numunelerindeki Al, Cu, Co ve Cd miktarlarını sırasıyla 3.287-11.1; 0.350-0.961; 0.311-0.967; 0.110-0.285 mg/kg arasında tespit etmiştir. Bursa'da trafik yoğunluğunun fazla olduğu bölge, sanayi bölgesi ve kırsal alanlardan alınan çiğ süt örneklerinde ağır metal içeriği araştırılmış ve sütte ağır metal kirlenmesinin sanayi bölgesi ve trafik yoğunluklu bölgede, kırsal bölgeye nazaran, daha fazla olduğu tespit edilmiştir (51,52). Akın ve ark. (53), Konya'dan temin edilen süt örneklerinde tespit edilen Al (2,518-9,130 mg/kg) ve Pb (1,128-0,228 mg/L) miktarının bütün örneklerde izin verilen değerlerin üzerinde olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar trafiğin yoğun olduğu bölgelerde ve sanayi bölgelerinde ağır metal kontaminasyonunun daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Çevre koşullarının, mevsimsel değişimin ve beslemede kullanılan yemin süttün ağır metal içeriğine etkisi olabilir. Kış dönemine ait süt örneklerinde Pb ve Cd içeriklerinin daha yüksek olduğu, bununla birlikte yaz ve kış mevsiminde hayvan beslemede kullanılan yem türünün süttün metal içeriğine etki ettiği belirtilmiştir. Özellikle Pb,

Fe, Cu ve Zn düzeyinin kışlık yemlerde daha yüksek olduğu dolayısıyla bu artışın kış sütlerine de yansdığı saptanmıştır. Yemleme ile hayvanın absorbe ettiği toplam metal miktarı, her elementin yemin bünyesinde bulunduğu forma bağlı olduğu ifade edilerek; her elementin absorbe olma miktarının, hızının, vücutta tutulma oranının ve salgılanma oranının farklı olduğu belirtilmiştir. Böylece yem ile aynı oranda bünyeye alınan her elementin süte geçiş düzeyinin de aynı olmadığı açıklanmıştır (54). Erzurum'da tüketime sunulan taze ve olgunlaşmış kaşar peynirlerinde mineral madde ve ağır metal içeriklerinin belirlendiği bir çalışmada (55); peynir örneklerindeki ortalama mineral madde ve ağır metal içerikleri; kalsiyum 2265.57±614.14 mg/kg, potasyum 1555.46±552.31 mg/kg, sodyum 4693.31 ±1886.12 mg/kg, magnezyum 129.34±32.05 mg/kg, demir 1.65±0.80 mg/kg, çinko 15.66±3.41 mg/kg, bakır 0.39±0.35 mg/kg, mangan 0.15±0.09 mg/kg, nikel 0.27±0.24 mg/kg, kurşun 1.77±1.72 mg/kg ve arsenik 0.0001 ±0.001 mg/kg olarak tespit edilmiştir.

SONUÇ

Sonuç olarak, bu derlemede, süt ve ürünleri ile çevredeki ağır metallerin yaygınlığı incelenmiş ve sütteki mineral maddeler hakkında bilgileri değerlendirilmiştir. Süt ve ürünlerinin ağır metallerle kontaminasyonu halk sağlığı açısından çok önemlidir. Süt ürünleri sıklıkla tüketilmesi nedeniyle, ağır metal içermesi durumunda, çeşitli hastalıkların ve lezyonların yaygınlığının nedeni olabilir. Besin zincirine ve dolayısıyla süte de kontamine olan ağır metallerin özellikle endüstri ve tarımdan kaynaklandığı anlaşılmaktadır. Bu nedenle, bu maddelerin insanlara olumsuz etkilerinden kaçınmak ve süt ve ürünlerinin kalitesini artırmak için süt üretilen alanların çevre kirliliğinin önlenmesi önemlidir. Gıda ambalajı olarak kullanılan malzemeler, insan sağlığı açısından zararsız olmalıdır. Genel halk sağlığı açısından da çevre kirliliği hususunda etkin duyarlılığa ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Erdinç BD., 1998. Bazı Gıdalarımızda Metalik Kontaminant Düzeylerinin Belirlenmesi.

- Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi Ankara.
2. Çepel N., 1997. Toprak kirliliği, erozyon ve çevreye verdiği zararlar. Türkiye Erozyonla Mücadele, Ağaçlandırma ve Doğal Varlıkları Koruma Vakfı Yayınları 14, İstanbul. 111.
 3. Metin M., 2001. Süt teknolojisi. Sütün bileşimi ve işlenmesi. İzmir Ege Üniversitesi Basımevi, Yayın No: 33.
 4. Erdiç DB., Saldamlı I., 2000. Variation in some heavy metals during the production of white cheese. *Int J Dairy Technol*, 53, 96-99.
 5. Belgaied JE., 2003. Release of heavy metals from Tunisian traditional earthenware. *Food Chem Toxicol*, 41, 95-98.
 6. Karataş M., 2004. Konya ana tahliye kanalında ağır metallerin incelenmesi, bitki ve topraktaki birikiminin tespiti. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi Konya.
 7. Karaca A., Turgay O., Kızılkaya R., Haktanır K., 1996. Topraklara ağır metal ilavesinin bazı biyolojik olaylara etkisi. Tarım ve Çevre İlişkiler Sempozyumu, Mersin, 111-121.
 8. Şişli MN., 1999. Çevre bilimi ekoloji. Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Gazi Kitapevi, 2. Baskı. Ankara.
 9. Reilly C. Metal Contamination of Food. Blackwell Science Ltd.2002.
 10. Anonymous, 2003. Heavy metals and pesticides residue in the foodstuff. Auroville Innovative Urban Management IND-015. Annexes, Final report.
 11. Clarkson TW., 1992. Principles of Risk Assessment. *Adv Dental Res*, 6, 22-27.
 12. WHO and FAO., 1972. Evaluation of certain food additives and the contaminants mercury, lead and cadmium. Sixteen Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 505, 11-24. Geneva.
 13. Zukowska J., Bızıuk M., 2008. Methodological evaluation of method for dietary heavy metal intake. *J Food Sci*, 73, 21-29.
 14. Tok HH., 1997. Çevre kirliliği. Anadolu Matbaa Ambalaj San Tic Ltd Şti, sf: 266-283, İstanbul.
 15. Ağca N., 1998. Atıksuların toprak ekosistemine etkileri, Kayseri. 1. Atıksu Sempozyumu Bildiri Kitabı. Kayseri, s, 5-8.
 16. Yıldız N., 2001. Toprak kirleticisi bazı ağır metallerin (Zn, Cu, Cd, Cr, Pb, Co ve Ni) belirlenmesinde kullanılan yöntemler. Atatürk Üni Ziraat Fak Derg, 32, 207-213.
 17. Yılmaz D., Yaman S., 1998 Heavy metals pollution and chemical profile of Ceyhan River. *Turkish J Eng Env Sci*, 23, 59-61.
 18. Agrava GD., 1999. Diffuse agricultural water pollution in India. *Water Sci Technol*, 39, 33-47.
 19. Yağdı K., Kaçar O., Azkan N., 2000. Topraklardaki ağır metal kirliliği ve tarımsal etkileri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 15, 109-115.
 20. Jaradat QM., Momani KA., 1998. Contamination of roadside soil, plants and air with heavy metals in Jordan, a comparative study. *Turk J Chem*, 23, 209-220.
 21. Chary NS., Kamala CT., Raj DSS., 2008. Assessing risk of heavy metals from consuming food grown on sewage irrigated soils and food chain transfer. *Ecotox Environ Safe*, 69, 513-524.
 22. Atasever M., 2003. Spor ve beslenme. Milli Eğitim Bakanlığı No: 3843, Ders Kitapları Dizisi No: 888, Lise Ders Kitabı, Ankara.
 23. Ferreira MMC., Morgano MA., Queiroz SCN., Mantovani DMB., 2000. Relationships of the minerals and fatty acid contents in processed turkey meat products. *Food Chem*, 69, 259-265.
 24. Tarakçı Z., Küçüköner E., 2003. Değişik ot katkılı süt ürünlerinin bazı mineral madde ve ağır metal içeriklerinin irdelenmesi, 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, 441-454.
 25. Akşan G., 2000. Düzköy yöresinde elde edilen sütlerde bazı eser elementlerin araştırılması. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi Trabzon 2000.
 26. Lutz CA., Przytulski KR., 1994. Nutrition and Diet Therapy. F.A. Davis Company, Philadelphia.
 27. Szefer P., Nriagu JO., 2007. Mineral Components in Food. CRC Pres.
 28. Berdanier CD., Dwver J., Feldman EB., 2008.

- Handbook of Nutrition and Food, Second Edition. CRC Pres.
29. Frieden E., 1985. New perspectives on the essential trace elements. *J Chem Educ*, 62, 917-923.
30. Apostoli P., 2002. Elements in enviromental and occupational medicine. *J Chromatogr B*, 778, 63-97.
31. Pankakoski E., Hyvarinen H., Jalkanen M., Koivisto I., 1993. Accumulation of heavy metals In the mole in Finland. *Environ Pollut*, 80, 9-16.
32. Li PJ., Sheng YZ., Wang QY., Gu LY., Wang YL., 2000. Transfer of lead via placenta and breast milk in human. *Biomed Environ Sci*, 13, 9-85.
33. Altıntaş A., Bilgili A., Çelik S., Eraslan G., 1998. İçme suyu ile farklı dozda ve değişik sürede kurşun alımının albino farelerde böbrek ve sinir sistemi üzerine etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 48, 27-34.
34. Güray Ç., 1999. Çeşitli gıda maddelerinde ağır metallerin incelenmesi. Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir.
35. Vural N., 1996. Toksikoloji, Metalik zehirler. A Ü Eczacılık Fakültesi Yayınları, 3, 659 s., Ankara.
36. Blüthgen B., Burt R., Heeschen WH., 1997. Heavy metals and other trace elements. Monograph on residues and contaminants in milk and milk products. FIL-IDF Special Issue, 9701, p.1-132, Belgium.
37. Anonymous., 1994. Discussion paper on lead. Joint FAO/WHO Foods standards programme. Codez committee on food additives and contaminants. Twenty-seventh session. Food and Agriculture Organization of United nations. CX/FAC 95/18, Rome.
38. Cabrera C., Lorenzo ML., Lopez MC., 1995. Lead and cadmium contamination in dairy products and its repercussion on total dietary intake. *J Agric Food Chem*, 43, 1605-1609.
39. Concon JM., 1998. Food Toxicology, Part B: contaminants and additives, Marcel Dekker Inc, 1351 p. New York and Basel.
40. Vural H., 1993. Ağır metal iyonlarının gıdalarda oluşturduğu kirlilikler. *Çevre Dergisi*, 8, 3-8.
41. Demiröz B., Saldamlı İ., 2002. Metallic contamination problem in a pasta production plant. *Turkish J Eng Env Sci*, 26, 361-365.
42. Yüzbaşı N., 2001. Kaşar peynirlerinde bazı ağır metallerin düzeyi ve Prosesteki değişimi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. Ankara.
43. Tripathi RM., Raghuanth R., Sastry VN., Krishnamoorthy TM., 1999. Daily intake of heavy metals by infants through milk and milk products. *The Sci Total Environ*, 227, 229-235.
44. Işık N., Konca R., Gümüş Y., 1996. Gıdalarda katkıkalıntı ve bulaşanların izlenmesi. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü. Gıda Teknolojisi Araştırma Enstitüsü, Bursa.
45. Şen H., 1993. Van Gölü'nde avlanan *Chalcarburnus Tarichi* (İnci Kefali) balığında kurşun, Kadmiyum, çinko ve bakır gibi ağır metallerin birikim düzeylerinin ve toksik etkilerinin araştırılması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi Van.
46. Demirezen D., Aksoy A., 2005. Determination of heavy metals in bee honey using by ICP-OES. *G.U. J Sci*, 18, 569-575.
47. Tekinşen OC., Atasever M., Keleş A., 1997. Süt ürünleri: Üretim ve kontrol. Selçuk Üniv. Basımevi, Mimoza Basım Yayım ve Dağıtım A.Ş., Konya.
48. Bettoni RW., Burlingame B., 2013. Milk and dairy product composition. Milk and dairy product in human nutrition, Muehlhoff E., Bennett A., McMahon D. (eds.), FAO, Rome.
49. Mata L., Sanchez L., Puyol P., Calvo M., 1995. Changes in the distribution of added leadandcadmium in human ve bovine milk induced by heating or freezing. *J Food Protect*, 58, 305-309.
50. Coni E., Bocca A., Lanni D., Caroli S., 1995. Preliminary evaluation of the factors influencing the trace element contents of milkand dairy products. *Food Chem*, 52, 123-130.
51. Gültekin R., 1998. Bursa ili çevresinde alınan çiğ süt örneklerinde bazı mineral madde ağır metallerin tespiti üzerine bir araştırma. Trakya

Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi Tekirdağ.

52. Şimşek O., Gültekin R., Öksüz O., Kurultay S., 2000. The effect of enviromental pollution on the heavy metal content of raw milk. *Nahrung*, 44, 360-363.
53. Akın N., Ayar A., Sert D., Çalık N., 2003. Konya ilinin değişik bölgelerinden toplanan sütlerin ağır metal içerikleri üzerine bir araştırma. Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu, 22-23 Mayıs, 355-358, İzmir.
54. IDF/FIL., 1978. Metal contaminant in milk and milk products. *Int Dairy Fed Bull Dawment*, 105, 38.
55. Özlü H., Aydemir Atasever M., Urçar S., Atasever M., 2012. Mineral contents and heavy metal contamination in kashar cheeses consumed in Erzurum province Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 18, 205-208.



Türkiye Hayvancılık Politikalarının AB ile Etkileşimi ve Olası Sonuçları*

Mehmet Ferit CAN¹✉

1. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Sağlığı Ekonomisi ve İşletmeciliği Anabilim Dalı, Hatay, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
13.06.2017	30.10.2017	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Can MF: Türkiye Hayvancılık Politikalarının AB ile Etkileşimi ve Olası Sonuçları. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 242-250, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.321172

Öz: Ulusal hayvancılık politikaları, yerel ihtiyaçların yanı sıra uluslararası örgütlerden, ticari antlaşmalardan ve lider ülkelerin eğilimlerinden etkilenmektedir. Türkiye ekonomik ve jeopolitik nedenlerle AB-Ortak Tarım Politikaları ile etkileşim yaşamakta ve bu durum bazı fırsat ve riskleri beraberinde taşımaktadır. Türkiye, tarım-hayvancılık dış ticaretinde uzun yıllardır açık vermesine rağmen, hayvansal ürünler ikili ticaretinde AB ile denge halindedir. Türkiye için bazı olumlu göstergeler; yakın ihracat pazarlarında rekabet halinde olduğu AB'ye göre inanç ve kültür avantajlarına sahip olması, genç nüfusu, hayvancılık desteklerindeki artışlar ile çiftlik ölçeği ve otomasyondaki kısmi ilerlemelerdir. Bununla beraber, yapısal sorunların başında gelen örgütlenme, pazarlama, ıslah, ticarete engel hayvan hastalıkları ve son yıllarda kısır döngüye giren kırmızı et açığı Türkiye'yi maliyet ve kalite avantajına sahip ülkelerin kalıcı pazarı haline getirebilir. AB-Türkiye etkileşiminde ortaya çıkması muhtemel diğer olumsuzluklar; AB'de 2015 yılında süte uygulanan kotaların kalkması, Türkiye'de sokak sütündeki kayıt dışılık ve halen müzakere edilen AB-ABD Transatlantik Ticaret ve Yatırım Ortaklığı kaynaklı gümrüksüz ABD mallarının Türkiye'ye girebilme riskidir. Türkiye; üretici, sanayici, kamu ve tüketicilerin bütünlük bir fayda sağlaması, ekonomi politikalarından sonuç alınması ve AB ile gelecekte daha iyi bir etkileşimin yaşanması için "yapısal ve sosyal politikalara" öncelik vermelidir. Bu çalışmada, AB-Türkiye hayvancılık politikalarının tarihsel değişimi ve etkileşiminin Türkiye hayvancılık sektörü üzerindeki olası sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Avrupa Birliği, Ekonomi, Hayvancılık, Politika, Türkiye.

The Interaction of Turkey Livestock Policies with the EU and Its Potential Outcomes

Abstract: National livestock policies have been influenced by local needs as well as by international organizations, trade agreements, and trends of leading countries. Turkey has been interacting with the European Union-Common Agricultural Policies (EU-CAP) due to economic and geopolitical reasons and it brings with it some opportunities and risks. Although Turkey has a deficit in agriculture foreign trade for many years, there is trade balance with EU in terms of livestock and livestock products. Some of the positive indicators for Turkey are; having competitive and culture advantages in close export markets compared to EU, having young population, increasing livestock supports and partial progress in respect of farm scale and automation. However, leading structural problems such as organization, marketing, genetic improvement and animal diseases causing international trade barriers and vicious cycle of inadequate supply of red meat can make Turkey a permanent market for countries with cost and quality advantages. Other possible problems in EU-Turkey interactions are removal of milk quota in 2015 in EU, informal milk sector (street milk) in Turkey, and the risk of duty-free goods from United State of America (US) to Turkey as a result of currently negotiated EU-US Transatlantic Trade and Investment Partnership. Turkey should give priority to "structural and social policies" to gain integrated producers, industrialists, public and consumers benefit, to get outcomes from the economic policies, and to experience better interaction with the EU in the future. In this study, it was aimed to assess the possible consequences of historical change and interaction of EU-Turkey livestock policies on the Turkey's livestock sector.

Keywords: Economics, European Union, Livestock, Politics, Turkey.

✉ Mehmet Ferit CAN

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Sağlığı Ekonomisi ve İşletmeciliği Anabilim Dalı, Hatay, TÜRKİYE.
e-posta: feritcan@mku.edu.tr

*II. Ulusal Hayvancılık Ekonomisi Kongresi'nde genişletilmiş özeti sunulmuştur.

GİRİŞ

Hayvancılık sektörünün biyolojik, sosyoekonomik ve stratejik düzlemdeki çok boyutlu fonksiyonunu kavrayan uluslar, yerel ve küresel ihtiyaçlar ışığında benzer amaçlar ve kısmen farklılaştırılmış araçlarla sektörlerini rasyonel biçimde yönlendirmektedir. Avrupa Birliği (AB) ve gelişmiş ülkelerin (GÜ) hayvansal ürünler üretim ve tüketim düzeyleri, dış ticaret eğilimleri ve bütçelerinden hayvancılığa ayırdıkları paylar sektörün gelecekte de önemini koruyacağını açıkça göstermektedir.

Belirli amaçlara ulaşmada kurum ve kuruluşların benimsedikleri görüş, yöntem ve uygulamalar bütünü olan hayvancılık politikaları daha yüksek bir üretici, tüketici ve kamu faydası amaçlamaktadır. Gıda arzının güvence altına alındığı, örgütlü ve rekabet gücü yüksek, fiyat istikrarının sağlandığı, kırsal kalkınma ve ekolojik dengeyi beraber önceleyen, ekonomik ve sosyal sürdürülebilirliği olan bir sektörün sağlanması için ekonomik (I) ve yapısal-sosyal (II) politika araçları farklı miktar, bileşim ve sürelerde devreye sokulmaktadır.

Türkiye hayvancılık sektörü bugün devletin planlayıcı, düzenleyici ve yol gösterici rolüne çok daha fazla ihtiyaç duymaktadır. Bu ihtiyaçta hâlihazırdaki kronik yapısal sorunların yanı sıra kentleşme ve gelir artışına bağlı olarak hayvansal ürün talebine yeterli yanıtı veremeyen arz, girdi ve ürün fiyatlarındaki dönemsel dalgalanmalar, değişen ve derinleşen uluslararası rekabet ve yakın coğrafyamızdaki risk ve istikrarsızlıklar önemli rol oynamaktadır (1-5).

Günümüzde, tarım ve hayvancılık alanındaki ulusal politikalar, yalnızca yerel ihtiyaçlara göre şekillenmemekte, uluslararası ticari antlaşmalar ve köklü organizasyonlar ile komşu ve lider ülkelerin eğilim ve uygulamalarından da önemli düzeyde etkilenmektedir. Hayvancılık sektöründe küresel ekonomik önceliklerde ilk sıralarda uluslararası işbirliğinin artırılması, ticari engellerin ve rekabeti bozucu uygulamaların kaldırılması veya sınırlandırılması,

sınır aşan hastalıklardan kaynaklanan mali kaybın azaltılması ve ticarete konu ürünlerde kalite standartlarının korunması gelmektedir. Bu yaklaşımlar tıpkı GÜ ve gelişmekte olan ülkelerde (GOÜ) olduğu gibi, AB ve Türkiye ilişkilerine de farklı anlamlar (avantaj ve riskler) yüklemektedir.

Bugün siyasi ve ekonomik bütünleşmesinin geleceği sorgulansa da, uluslararası alanda en güçlü ve köklü aktörlerden biri olan AB ile çok boyutlu ilişkilerimiz Türkiye için ayrı bir önem taşımaktadır. AB ile tarım ve hayvancılığın da içinde yer aldığı ekonomik ve ticari ilişkiler, üyelik sürecindeki mevzuat uyumlaştırılma çalışmaları, bazı eş ve ortak pazarlardaki rekabet durumu gibi farklı boyutlar ikili ilişkilerin bazı yönlerini oluşturmaktadır. AB ile ilişkilerin yakın gelecekte Türkiye hayvancılık sektörüne olası etkilerinin tahmin edilebilmesi, önemli ölçüde geçmişten bugüne izlenen tarım ve hayvancılık politikalarının bir bütünsellik içinde incelenmesine ve sektöre özgü teknik ve ekonomik göstergelerin seyrinin sağlıklı değerlendirilmesine bağlıdır.

Bu çalışmada; Türkiye ve AB tarım-hayvancılık politikalarının tarihsel değişiminin ve etkileşiminin sektöre ilişkin güncel göstergeler ve dış ticaret eğilimiyle beraber incelenerek, Türkiye hayvancılık sektörü üzerindeki olası sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

1. Hayvancılık Politikalarının Amaç ve Araçları

Ekonomik, coğrafik ve kültürel farklılıklara rağmen, tarım ve hayvancılık sektörünün kendine has özellik ve sorunları nedeniyle, bazı istisnai durumlar dışında ulusların birbirine benzer politika amaçlarını benimsedikleri görülmektedir (1,3). Bu amaçların başında yeterli ve dengeli beslenme, fiyat istikrarı, çevre ve hayvan refahıyla uyumlu verimli ve sürdürülebilir bir üretim, üretici gelirlerinin artırılması ve kırsal kalkınma gelmektedir. Ülkeler arasındaki politika farklılığı ise amaçlardan ziyade politika araçlarının "kullanım yöntemi, bileşimi ve

süresinde” yatmaktadır. Hayvancılık politikalarında kullanılan araçlar ekonomik (I), yapısal ve sosyal (II) politikalar olmak üzere iki ana başlık altında kategorize edilebilir.

1.1. Ekonomik Politika Araçları

Ekonomik politikalar, kamu otoritesinin “dolaylı” yani fiyat dışı (I) veya “direkt” yani fiyat politikası (II) ile pazarı etkilemesi biçiminde devreye sokulmaktadır. Dolaylı yöntemde, ekonominin en temel tahlil araçları olan “arz ve talebe” etki edilirken, direkt yöntemde “girdi ve ürün fiyatları” hedeflenmektedir. Dolaylı yöntemler kapsamında, “arz” üretimin artırılması veya sınırlandırılmasıyla etkilenirken, “talep” genellikle tüketicinin özendirilmesi yoluyla harekete geçirilmektedir. Konuyu biraz daha açarsak, arz cephesinde “kamu stokları”, “ihracat-ithalat düzenlemeleri ve gümrük vergileri”, “fark ödemeleri” ve “telafi edici ödemeler”; talep cephesinde ise tüketimi artırıcı “reklam ve tanıtımlar”, “destekleme alımları” ve okul, hastane, ordu gibi “kamu kurumlarında ürünlerin değerlendirilmesi” faaliyetleri gerçekleştirilmektedir. Direkt yöntemler incelendiğinde ise, dolaylı olanlara göre etkilerini daha hızlı göstermekle beraber ölçülü ve dikkatli kullanılmaları gerektiği anlaşılmaktadır. Örneğin, kamu otoritesinin “girdi ve ürün fiyatlarını” başta üretim maliyetleri ve üretici gelirleri olmak üzere objektif ölçütlere göre belirleyememesi durumunda büyük ve küçük üretici arasındaki makasın açılması ve enflasyon başta olmak üzere çeşitli sorunlar ortaya çıkabilmektedir. Direkt yöntemde “taban fiyatı”, “doğrudan gelir transferi” ve “hayvansal üretim, verimlilik, hayvan ve halk sağlığı odaklı desteklemeler” sıklıkla kullanılırken, çok istisnai durumlarda “sabit fiyat” ve “fiyat aralığı” yöntemlerine de başvurulabilmektedir (1-3).

Türkiye’de uzun yıllardır direk ve dolaylı ekonomik politikalar farklı dozlarda kombine edilmiştir. Bugün için hayvancılık sektörünün yapısal politikalarla yeterli düzeyde desteklenen dolaylı yani “fiyat dışı yöntemlere” daha fazla ihtiyaç duyduğu söylenebilir.

1.2. Yapısal ve Sosyal Politika Araçları

Yapısal ve sosyal politikalar, esasında ciddi yatırımları ve stratejik adımları gerektirmektedir. Bunlar, ekonomik politikalara göre etkilerini çok daha

geç gösterebilir de, kalıcı ve istikrarlı bir sektör için kritik olan “örgütlenme”, “arazi mülkiyeti ve toplulaştırma”, “mekanizasyon/otomasyon”, “ırk ıslahı ve verimlilik”, “sigortacılık”, “tarımsal danışmanlık”, “kayıt dışılık ve sosyal güvenlik” gibi konuları kapsamaktadır (1-3). Yapısal ve sosyal iyileştirmeler sağlanamadığı sürece, ekonomik politikalarla arzu edilen sonuçların elde edilmesi mümkün görünmemektedir (2).

Türkiye için yapısal politikalar açısından özellikle “etkin ve güçlü bir örgütlenmenin”, “işletme ölçek ve yapılarındaki iyileşmenin”, “ulusal ihtiyaçlara yanıt verebilen ırk ıslahının” ve “yem bitkileri üretiminin” daha öncelikli alanlar olduğu söylenebilir.

2. AB ve Türkiye’de Politika Değişim Süreci

2.1. Türkiye Hayvancılık Politikalarının Gelişim ve Değişim Süreci

Türkiye’de, cumhuriyetin ilanından günümüze izlenen tarım ve hayvancılık politikalarına değinmeden önce, Osmanlı döneminde yaşanan bazı tecrübelerle kısaca göz atmak konunun anlaşılmasına bir miktar daha katkı sağlayabilir. Örneğin bu dönemde arz ve talep esnekliği düşük tarımsal ürünlerin kıt veya bol olduğu dönemlerde fiyat dalgalanmalarını engellemek için bazı tedbirler alındığı bildirilmektedir. Ayrıca 19.yy ikinci yarısından itibaren üretimin teşvik edilmesi (pamuk, ipek, tütün ve merinos yetiştiriciliği) amacıyla başlatılan ve bir tür kooperatifçilik hareketi olan Memleket Sandıkları ile çiftçilerin kredi alanındaki sıkıntılarında katkıda bulunulmaya çalışılmıştır (4,5).

Cumhuriyetin ilk yıllarına, nüfusunun yaklaşık %80’inin tarım-hayvancılıkla geçindiği, ticaret, ulaşım ve bankacılığın yabancı sermayenin elinde olduğu bir ortamda girilmiştir. Bu dönemde savaş ve salgın hastalıklar nedeniyle hayvan varlığının da ciddi ölçüde azalmış olduğu bilinmektedir. Söz konusu yıllarda, makroekonomik anlamda 1923 İzmir İktisat Kongresi kararlarıyla uyumlu serbest piyasa şartlarında sanayileşme, kamu örgütlenmesi ve bazı vergi düzenlemeleri gerçekleştirilmiştir. Hayvancılık alanında 1926 yılındaki “Hayvan Islahı Kanununun” sektördeki ilk bilimsel politika olduğu ifade edilmektedir. Ürün fiyatları ve ihracat gelirlerinde ciddi düşüşlerin yaşandığı 1929 dünya ekonomik krizi

ise, 30'lu yılların başında devletçi politikaları zorunlu kılmış ve devlet “taban fiyat uygulamaları”, “destekleme alımları”, “girdi sübvansiyonları”, “ucuz kredilendirme” ve “hayvan sahiplerinden alınan vergilerin düşürülmesi” gibi korumacı politikalara yönelmiştir. Kırklı yılların ikinci dünya savaşının etkisiyle “tavan fiyat yani narh uygulamaları” ve “Çiftçiyi Topraklandırma Yasası”; 50'li yılların ise “artan tarımsal krediler ve destekleme fiyatları ile işlenen tarım alanlarındaki artışlar” ve “vergilerdeki düşüşler” ile karakterize olduğu görülmektedir. Devlet Planlama Teşkilatı ile “planlı kalkınma çabaları” 60'larda başlarken, 70'lerin sonunda desteklemeler “miktar ve çeşit bazında” zirveyi görmüştür. 1950-70 yılları arasında kurulan Et ve Balık Kurumu, Süt Endüstrisi Kurumu, Tiftik ve Yapağı AŞ ve Türk Yem Sanayi AŞ gibi Kamu İktisadi Teşekkülleri (KİT) hayvansal üretimin artırılması, sanayiye öncülük edilmesi ve fiyat istikrarı sağlanmasında çok önemli katkılar sağlamıştır. IMF ve Dünya Bankasının liberal politikaları ile ihracata dayalı dışa dönük sanayileşme stratejisinin benimsendiği “24 Ocak 1980 Kararları” ise çok önemli bir kırılma noktası olmuş ve 20 yıl boyunca devlet müdahalesi giderek azaltılmıştır. Türkiye’de hayvansal üretimde 1985 yılında yapısal bir kırılma yaşandığı (teknolojik değişim, üretimde ihtisaslaşma, sektörlerin etki ve payları ile üretim faktörlerinin kompozisyonlarındaki değişim) belirtilmektedir. Bu dönemde, KİT’ler kısmen veya tamamen kapatılmış ya da özelleştirilmiş, kredi faiz oranları yükseltilmiş ve desteklenen ürün miktarı 1994 yılında 3’e ve 2000 yılında 2’ye (buğday ve şeker) kadar indirilmiştir. Bu dönemde hayvancılık alanında, 1987 yılında “süt teşvik primi”, 1990 yılında “et teşvik primi” uygulanmış, 1986-96 yılları arasında ise 265 bin baş gebe düve ithalatı gerçekleştirilmiştir (2,3,6,7,8,9,10).

Bazı ürünlerdeki aşırı stoklar ve “hayvansal ürünler” ile yağlı tohumlardaki arz açıkları 2000’li yıllarda politikaların yeniden gözden geçirilmesini gerektirmiştir. Dünya Bankasınca 2001 yılında desteklenen “Tarım Reformu Projesiyle” AB-OTP kapsamında üretim artışını yavaşlatmak için uygulanan telafi edici ödemelere benzeyen “Doğrudan Gelir Desteği (DGD)” sistemine geçilerek tüm destekleme alımları ve girdi sübvansiyonları kaldırılmıştır. Üreticiyi tembelleştirerek üretimi

azaltan DGD, Çiftçi Kayıt Sisteminin geliştirilmesi dışında maalesef pek yarar sağlamamıştır. Akabinde, dışa bağımlılığı artırdığı düşünülerek 2009 yılında bu destekleme yönteminden de vazgeçilmiştir. Yine 2006 tarihli 5488 sayılı Tarım Kanununda tarımsal destekleme programlarına bütçeden ayrılacak kaynağın, “gayrisafi millî hâsılanın %1’inden az olamayacağı” hükmü getirilmiş, ancak ilerleyen yıllarda bu hedef tam olarak tutturulamamıştır. Günümüzdeki destekleme desenine baktığımızda; buzağı, anaç sığır, koyun ve keçi desteği, süt primi, gen kaynaklarının korunması, yem bitkileri, arıcılık, su ürünleri, hastalıktan arı işletmeler, hayvan hastalıkları tazminatları, aşı ve atık desteği gibi önemli kalemler dikkati çekmektedir. Bunlara ilaveten, tarımsal ürün ve hayvan hayat sigortaları, iyi tarım uygulamaları, organik tarım-hayvancılık destekleri, tarımsal yayım ve danışmanlık gibi destekler politikalarda giderek ağırlığını artırmaktadır. Türkiye 2016 yılında yalnızca üreticiye hayvancılık için 3 milyar TL dolayında ödeme yapmış olup, bunda en büyük payı \approx %24 ile “büyükbaş hayvan desteği” almıştır (11,12,13).

Süreç incelendiğinde Türkiye’nin mevzuatı uyumlaştırma ve sektördeki sorunlara rasyonel çözümler bulma amacıyla gecikmeli olarak da olsa AB benzeri politikalara yöneldiği ve bu durumun yakın gelecekte de devam edeceği anlaşılmaktadır.

2.2. Avrupa Birliği Ortak Tarım Politikasında (AB-OTP) Gelişim ve Değişim Süreci

İkinci Dünya Savaşı sonrasında olumsuz koşulları ve arz yetersizliği ile tarımsal ürünlerin serbest dolaşımı ve ticari bariyerlerin kaldırılması fikrinden köken alan OTP, 1962 tarihinde doğmuştur. Başlangıçta üretim ve verimlilik artışı ile çiftçi gelirlerinde düzelmeye odaklanan OTP, 70’lerde kendine yeterlilik, modernizasyon ve erken emeklilik gibi konularda hissedilir ilerlemeler sağlamıştır. 1980’lere gelindiğinde, meydana gelen üretim fazlasının stoklama ve ihracat yoluyla eritilemediği ve bu durumun birlik çıkarına olmadığı görülerek birlik içi ve dışı dinamiklerin etkisiyle birbirini izleyen reform süreçleri başlatılmıştır. OTP için 1992’deki Lizbon Zirvesi ile başlayan köklü değişim süreci 2003, 2008 ve 2013 yıllarındaki yeni ve farklı politika yaklaşımlarıyla devam etmiştir. AB bütçesinin

neredeyse yarısıyla fonlanan ve üretim ve refah artışlarını beraberinde getiren “üretimle ilişkili desteklerin”, 90’lardan itibaren ilk önce aşamalı olarak azaltılarak “alternatif ürünlere yönelme” ile kendini gösterdiği; daha sonra ise “doğrudan gelir transferi”, “yeşil ödemeler” ve “kırsal kalkınma” politikalarının devreye sokulduğu görülmektedir. Günümüzde özellikle çevre, hayvan sağlığı ve hayvan refahı kıstaslarının giderek daha fazla önem kazanmaya başladığı ve önümüzdeki süreçte OTP reformlarının yerel ve küresel ihtiyaçlar ışığında devam edeceği anlaşılmaktadır (14-19).

3. AB ve Türkiye’de Sektöre Yönelik Bazı Güncel Göstergeler

AB ve Türkiye hayvancılığına ilişkin güncel bazı temel göstergeler ilgili kurum, kuruluş ve literatür bildirimleri baz alınarak mukayeseli biçimde Tablo 1’de verilmiştir (2,3,11,19-21).

Teknik verilere bakıldığında, ilk dikkati çeken AB’deki düşük tarımsal istihdamın Gayri Safi Yurtiçi Hasılaya katkısının Türkiye’ye göre çok daha yüksek olmasıdır. Arazi ölçeği ve inek başına süt verimi Türkiye’de %50 daha düşükken; AB ile yakın değerlere ulaşan dana karkas randımanının ıslah çalışmalarının başarısının yanı sıra, son yıllarda yoğun biçimde gerçekleşen ithalata da bağlı olabileceği düşünülmektedir. Mali verilere bakıldığında, 1 kg çiğ süt fiyatı dönemsel dalgalanmalar göstermekle beraber her iki taraf için de benzer olmasına rağmen, fabrika yani karma yem fiyatlarının Türkiye’de AB’den yaklaşık %30 daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca, hayvancılığın desteklemeler içindeki payı Türkiye’de son yıllarda ciddi bir iyileşme gösterse de, AB’nin gerisinde kalmıştır. Mali veriler incelenirken, bunların dönemsel döviz kuru değişimlerinden önemli düzeyde etkileneceği de göz ardı edilmemelidir.

Tablo 1. Türkiye ve AB-28’de tarım-hayvancılıktaki mukayeseli göstergeler (2,3,11,19,20,21).

Table 1. Comparative indicators for agriculture and livestock farming in Turkey and EU-28 (2,3,11,19,20,21).

Teknik ve Ekonomik Göstergeler		Birim	Türkiye	AB-28
GSYİH ve İstihdam	Toplam Nüfus	Milyon kişi	80	510
	Gayri Safi Yurtiçi Hâsıla-GSYİH	≈ Milyon \$	750	16500
	Tarım ve Hayvancılığın GSYİH Payı	%	8	5
	Tarımsal İstihdamın Toplam İçindeki Payı	%	21	2
Ölçek-Sayı Üretim ve Verimlilikler	Tarımsal İşletme Sayısı	≈ Milyon	3	13.5
	Tarımsal Arazi Ölçeği	Hektar	6	13
	Büyük Baş Hayvan Sayısı	Milyon baş	14	89
	Küçük Baş Hayvan Sayısı	Milyon baş	41	97
	Süt Üretimi-BB ve KB	Milyon ton	18.6	168
	Kırmızı Et Üretimi	Milyon ton	1.15	8
	Beyaz Et Üretimi	Milyon ton	1.9	13
	Laktasyon Süt Verimi-İnek	1000 kg	3	6
	Karkas Verimi-Dana	Kg	269	293
	Kişi Başına Et Üretimi-Domuz hariç	Kg	38	41
	Kişi Başına Süt Üretimi	Kg	232	329
Fiyat ve Destekler	Fabrika Yemi Fiyatı-2016	≈ €/kg	0.26	0.18
	Çiğ Süt Fiyatı-2016	≈ €/kg	0.33	0.33
	Dana Karkas Et Fiyatı-2016	≈ €/kg	6.4	3,7
	Yıllık Tarımsal Destek-2016	≈ Milyar €	3.3	68
	Hayvancılığın Tarımsal Destekteki Payı	≈ %	29	38
İhracat-İthalat	Toplam İhracat-2016	≈Milyar US\$	142	1950
	Toplam İthalat-2016	≈Milyar US\$	198	1910
	Tarımsal İhracat-2016	≈Milyar US\$	5.4	157
	Tarımsal İthalat-2016	≈Milyar US\$	6.9	134

4. Türkiye'nin Tarım ve Hayvancılıktaki Dış Ticaret Eğilimi

Talebin fiyat ve gelir esnekliğinin çoğunlukla düşük olduğu bitkisel ve hayvansal ürünlerde, düşük esnek karakterdeki arzda ortaya çıkabilen dönemsel artışlara yeterli iç veya dış pazar bulunmadığında ya da stok politikaları rasyonel biçimde devreye sokulamadığında ciddi fiyat düşüşleri veya dalgalanmaları yaşanmaktadır. Bu durum, üretimde kendine yeterli ulusların, gelişmekte olan bölge ve pazarlardan neden giderek daha fazla pay almaya çalıştıklarını ve üretim fazlası ürünlerde sürdürülebilir bir "dış ticaret eğilimini" neden bu kadar önemsediklerini de açıklamaktadır.

Bugün, Türkiye'nin yalnızca tarım-hayvancılık alanındaki ihracat ve ithalatı toplam ihracat ve ithalatının yaklaşık %3-4'ü iken, bu sektörün toplam dış ticaret açığındaki payı %2 düzeyindedir. Türkiye'nin tarım-hayvancılıktaki son 20 yıllık dış ticaret eğilimi incelendiğinde, üretim yetersizliği ve döviz kurlarının da etkisiyle 2007'den itibaren dalgalı

bir seyirde sürekli açık veren bir denge hali dikkati çekmektedir. Tablo 2'de 1996 yılı referans alındığında ihracat endeksinin ithalata göre daha istikrarlı bir artış sergilediği görülmektedir.

Türkiye 2016 yılında 5.4 milyar ABD doları tarımsal ihracat (toplam 142.5 milyar \$) ve 6.9 milyar \$ tarımsal ithalat (toplam 198.6 milyar \$) gerçekleştirmiştir. Dış ticaretimizde AB'nin payına bakıldığında %40'lar dolayında olduğu (ihracat %43 ve ithalat %39) görülmektedir. Ticari ortaklıklar incelendiğinde, Türkiye'nin en çok ihracat yaptığı ülke olan Almanya da dâhil olmak üzere ilk 10 ülkenin çoğunluğu AB ülkesidir. İlk 10 içinde ayrıca Irak ve Birleşik Arap Emirlikleri de yer almaktadır. AB'nin en çok ihracat yaptığı ülke ise ABD olup, ilk 10 içinde Türkiye, Rusya ve Birleşik Arap Emirlikleri de bulunmaktadır. AB'nin 2016'da Türkiye'den toplam ithalatı ve ihracatı içinde canlı hayvan ve hayvansal ürünlerin payı %0.7-0.8 düzeyinde gerçekleşmiş; bitkisel ürünlerde ise %3.8 ithalat ve %1 ihracat ile Türkiye lehine bir tablo oluşmuştur (21,22).

Tablo 2. Türkiye'de 1996-2015 yılları arasında tarım ve hayvancılıktaki dış ticaret eğilimi.

Table 2. Foreign trade tendency for agriculture and livestock between 1996-2015 in Turkey.

Tarım ve Hayvancılıkta Dış Ticaret Endeksi ve Dengesi (1996=100)							
Yıllar	İhracat Endeksi	İthalat Endeksi	¹ Dış Ticaret Dengesi-1000\$	Yıllar	İhracat Endeksi	İthalat Endeksi	¹ Dış Ticaret Dengesi-1000\$
1996	100	100	129.488	2006	161	131	832.286
1997	109	114	53.526	2007	173	216	-643.340
1998	109	98	370.516	2008	183	305	-2.227.716
1999	95	76	525.227	2009	202	220	-111.304
2000	77	98	-321.898	2010	229	310	-1.342.079
2001	92	65	646.317	2011	240	430	-3.521.244
2002	81	79	153.106	2012	241	359	-2.078.938
2003	98	118	-279.074	2013	262	375	-1.930.976
2004	118	125	-1.911	2014	280	418	-2.426.493
2005	154	126	772.207	2015	267	349	-1.298.123

¹İhracat ile ithalat arasındaki farktır.

5. AB-Türkiye Politika Etkileşiminin Olası Sektörel Sonuçları

Türkiye, tıpkı GOÜ'lerin aşamalı veya gecikmeli olarak GÜ politikalarına yöneldikleri gibi, tarım ve hayvancılık politikalarında özellikle 1980 sonrası AB ve ABD politikalarına kısmen veya tamamen, kalıcı veya geçici olarak yönelmiştir. AB ve Türkiye arasındaki ekonomik, ticari, jeopolitik ve sosyal

etkileşimin kökeni Avrupa Ekonomik Topluluğuna başvuruyu onaylayan 1963 tarihli Ankara Anlaşmasına dayanırken; 1996 yılında Gümrük Birliği, 2005 yılında ise tam üyelik müzakereleri ile ilişkiler daha ciddi bir boyut kazanmıştır (16,18).

Türkiye'deki tarım ve hayvancılık politikalarının şekillenmesini AB'den tamamen bağımsız düşünmek olanaklı değildir. AB ile çok boyutlu etkileşimin

Türkiye için yalnızca bazı fırsat ve avantajları değil, önemli riskleri de taşıdığı göz ardı edilmemelidir. Bu durum ise, üyelik ve müzakere süreci (I), tarım-hayvancılık bütçesi ile üretim ve verimlilikteki farklılıklar (II), kayıt dışılık (III) ve ortak/eş pazarlardaki rekabet (IV) olmak üzere dört temel boyutta özetlenebilir.

Konuya AB'ye üyelik müzakereleri boyutuyla bakıldığında (I), yakın zamandaki bazı uyuşmazlıklara bağlı AB ve Türkiye arasındaki olumsuz atmosferin uzun süreli olmayacağı, en azından ticari ilişkileri çok fazla etkilemeyeceği söylenebilir. Türkiye'nin üyelik niyetini koruması durumunda, müzakere çerçeve belgesine konu olan 35 fasıl başlığı içinde en zorlu ve zaman alıcı olacak olan "Gıda Güvenliği, Veterinerlik ve Bitki Sağlığı" başlığı düşünüldüğünde, sektörün yapısal sorunlarının zaman kaybetmeden çözüme kavuşturulması gerekmektedir. Özellikle, pazarlama boyutundaki oligopsonik yapısının daha etkin kamu müdahale kurumları ve güçlü üretici örgütlenmesiyle iyileştirilmesi, ticarete engel hayvan hastalıklarının eradikasyonu veya kabul edilebilir düzeylere çekilmesi, çayır-meraların daha etkin kullanımı ve tarımda istihdam edilen nüfusumuzun sağlıklı bir kentleşme ve göç politikası ile kontrollü biçimde azaltılması önemli alt başlıkları oluşturmaktadır (3,5,13,18).

Konuya, tarım-hayvancılık bütçesi, üretim ve verimlilikler boyutuyla göz atıldığında (II), Türkiye'nin kalite ve verimlilikte zaten gerisinde kaldığı AB'nin mevcut yüksek standartlarını sürdürme adına belirlediği 2014-20 dönemi OTP bütçesi (\approx 410 milyar Euro) birçok rakip veya komşu ülke gibi ülkemizi de zorlayacaktır. Türkiye'de geçmiş yıllara göre ciddi artışlar sergileyen tarımsal destekler 2017 yılı için mevcut kurlarına göre \approx 3.2 milyar Euro olup, burada hayvancılığın payı yaklaşık 1 milyar Euro olarak öngörülmüştür. Türkiye'de özellikle kırmızı et arzının artan nüfus, göçmenler, kentleşme ve alım gücüne bağlı güçlü iç talebi dengeli biçimde karşılayamadığı, girdi ve ürün fiyatlarındaki dalgalanmalar neticesinde kamunun canlı hayvan, kasaplık besi materyali ve karkas et ithalatı başta olmak üzere devreye soktuğu müdahalelerinin kalıcı bir çözüm sağlayamadığı görülmektedir. Son yıllarda desteklemelerdeki ciddi

artışlar, büyükbaşta ırk ıslahı ve küçükbaşta ıslahı sayısal iyileşmelere rağmen devameden bu kısır döngü, Türkiye'nin giderek AB'nin de aralarında bulunduğu maliyet ve kalite avantajına sahip ülkelerin kalıcı bir pazarı haline gelmesine yol açabilir. Bu noktada, işletme ve arazi ölçeklerinin ıslah, verimlilik ve otomasyonla bütünleşik biçimde büyütülmesi ve mali desteklerin ölçeği ve uzmanlaşmayı artırarak alt sektörlerdeki mukayeseli üstünlüklere (coğrafya, iklim, ulaşım vs.) göre revize edilmesi gerekmektedir (2,3,5,12).

Konu üretimde kayıt dışılık boyutuyla incelendiğinde (III), Türkiye'de süt pazarlama kanallarındaki yapısal sorunlar ve üreticinin çiğ sütü daha yüksek fiyattan değerlendirebilme olanağı sonucunda üretilen sütün yalnızca 2/3'ünün sanayiye aktarılabilirdiği bildirilmektedir. Sokak sütünün kayıt altına alınamaması ve pazarlama kanallarında şeffaflığın sağlanamaması durumunda, olası bir AB üyeliğinde alınabilecek kota düşük kalarak sektörü olumsuz yönde etkileyecektir (2,15).

Son olarak konuya dış pazarlarda rekabet boyutuyla bakıldığında (IV), Türkiye'nin AB ile hedef pazarlarının benzerliği AB'ye göre ülkemizdeki yüksek üretim maliyetleri, çiğ sütteki üretim fazlasına rağmen mililitredeki somatik hücre sayısı, bakteri yükü ve bazı fiziksel ve kimyasal kalite bozuklukları ve ticarete engel hastalıkların varlığı olumsuz bir tabloya işaret etmektedir. Ayrıca, OTP ilkeleri gereği AB'de 1982'de süte uygulanan kotanın Mart 2015 itibarıyla kaldırılmasının Türkiye'nin de içinde yer aldığı ihracatçı ülkeleri olumsuz yönde etkileyeceği tahmin edilmektedir. Dış ticaret açısından bir başka potansiyel risk ise, tüm dünyanın yakından izlediği ve 2013'ten itibaren müzakere edilen AB-ABD Transatlantik Ticaret ve Yatırım Ortaklığı ve bunun üçüncü ülkelere olası yansımalarıdır. Bu ortaklığın gerçekleşmesi halinde Türkiye'ye girebilecek gümrüksüz ABD malları hayvancılık sektörünü olumsuz etkileyeceğinden, şimdiden alternatif politika tedbirleri masaya yatırılmalıdır (2,15,23,24,25).

Yukarıda ifade edilen risk ve olumsuzların yanında, Türkiye için bazı avantaj ve fırsatlar da mevcuttur. Bunların başında, "inanç, kültür ve ulaşım

avantajlarına sahip olduğu yakın ihrac pazarları ve bölgelerinin” varlığıdır. Türkiye, bölgesel istikrarsızlığın büyümemesi durumunda bu pazarları koruyabilecek ve geliştirebilecek potansiyele sahiptir. Özellikle yöresel olarak tanınan ve markalaşma sürecine giren işlenmiş et ve süt ürünleri üretiminin teşvik edilerek ihracata yönlendirilmesi önemlidir. Yine üretim ve kalitede kanatlı sektöründe erişilen düzey, yavaş da olsa ölçek ve otomasyonda süt ve besi sığırcılığında sağlanan ilerlemeler ve son olarak tarımsal desteklemeler için öngörülen bütçenin giderek artması sektörün geleceğine ilişkin bazı iyimser göstergelerdir.

SONUÇ

Türkiye'nin, ekonomik, coğrafik ve jeopolitik nedenlerle geçmişten günümüze direkt veya dolaylı olarak AB tarım ve hayvancılık politikalarından etkilenmiş olması, gelecekte de etkilenmeye devam edeceğini göstermektedir. Bu etkileşimde AB'nin üretim, verimlilik ve kalitede model olarak benimsenmesi, müzakere sürecindeki mevzuat uyumlaştırma çalışmaları, Türkiye ile yüksek dış ticaret hacmi ve benzer pazarlar için yaşanacak rekabet etkili olacaktır.

Türkiye'nin canlı hayvan ve hayvansal ürünlerde gelişmiş ülkelerin pazarı haline gelmemesi, kırsal kalkınmayı sosyal ve ekonomik boyutlarıyla gerçekleştirmesi ve ucuz, sağlıklı ve kendine yeterli bir üretim sağlayabilmesi için üretici-sanayici-tüketici-kamu çıkarlarını bütünsel biçimde düşünmesi gerekmektedir. Bu bağlamda zahmetli ve zor bir süreç olsa da, uluslararası ticari antlaşmaları ve kuralları göz ardı etmeyen ancak ulusal ve yerel gerçeklerle de uyumlu istikrarlı ve şeffaf politikalar güçlendirilmelidir. Türkiye'de sektörün önündeki en önemli engel olan “yapısal sorunların” ekonomik politikalarla tek başına çözülemeyeceği, ancak “yapısal ve sosyal politikalardan” etkili sonuçlar alınabildiği sürece kalıcı iyileşmelerin yaşanacağı unutulmamalıdır. Ayrıca, uygulamaya konacak AB benzeri hayvancılık politikalarının ilgili dönem bitmeden önce başlatılacak uzun soluklu müzakerelerle çok yıllık dönemler halinde planlanması (ör: 3-5 yıl) sektör paydaşlarına istikrar ve güven vererek çok ciddi faydalar sağlayacaktır.

Rasyonel, istikrarlı ve güçlü hayvancılık politikaların üretici ve sanayiciye daha karlı ve sürdürülebilir bir üretim planı, tüketicilere daha ucuz ve nitelikli ürünlere erişim imkânı, özel sektöre kültürel ve lojistik avantajlarımızın olduğu dış pazarlara ve AB'ye daha fazla ihracat kabiliyeti ve kamuya daha rasyonel kaynak kullanım olanağı tanıyacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Çetin B., 2010. Tarım Ekonomisi. 1. Baskı. 209-19, Dora Yayınları, Bursa.
2. Cevger Y., Aral Y., Sakarya E., 2011. Hayvancılık Ekonomisi. TC. Anadolu Üniversitesi Yayını. 1. Baskı, 2361, Eskişehir.
3. Can MF., 2016. Kırmızı et sektöründe politika arayışları. Türktarım, 232, 66-69.
4. Güney HH., Sarı T., 2005. Türkiye'de tarım topraklarının mülkiyet yapısı ve tarihsel süreçteki değişimde Diyarbakır örneği. Elektronik Sosyal Bilimler Dergisi, 4, 71-87.
5. Can MF., Sakarya E., 2012. Dünya ve Türkiye'de tarım ve hayvancılık kooperatiflerinin tarihsel gelişimi, iktisadi önemi ve mevcut durumu. Vet Hekim Der Derg, 83, 27-36.
6. Çakmak EH., Kasnakoğlu H., 2001. Tarım sektöründe Türkiye ve Avrupa Birliği etkileşimi: Türkiye'nin AB'ye üyeliğinin analizi. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Rapor 2001/18, Yayın No: 68, Ankara.
7. Işıklı E., Abay C., 1992. Destekleme uygulamalarının tarımsal yapıya etkisi, Tarım Haftası 93 Sempozyumu, Tarımsal destekleme politikaları, sorunlar, çözümler, TMMOB Türkiye Ziraat Mühendisleri Odası Yayınları, 20, Ankara.
8. Saçlı Y., 2007. AB'ye uyum sürecinde hayvancılık sektörünün dönüşüm ihtiyacı. DPT Uzmanlık Tezleri, DPT 2707, Ankara.
9. Dernek Z., 2006. Cumhuriyet'in kuruluşundan günümüze tarımsal gelişmeler. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 1, 1-12.
10. Günlü A., Mat B., 2017. Hayvansal üretimde uygulanan ekonomik politikalarının yapısal değişim analizinin araştırılması (1969-2006). II. Ulusal Hayvancılık Ekonomisi Kongresi, Kongre

- Kitabı, 26-32, 2017, Antalya.
11. GTHB., 2016. Tarımsal destekler, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2016 yılı faaliyet raporu. Eğitim, Yayım ve Yayınlar Dairesi Başkanlığı, Ankara.
 12. Kandemir O., 2011. Tarımsal destekleme politikalarının kırsal kalkınmaya etkisi. Ekonomi Bilimleri Dergisi, 3, 103-113.
 13. Yalçınkaya N., Yalçınkaya HM., Çılbant C., 2006. Avrupa Birliği'ne yönelik düzenlemeler çerçevesinde Türk tarım politikaları ve sektörün geleceği üzerine etkisi. Yönetim ve Ekonomi, 13, 97-118.
 14. European Commission., 2016. The Common Agricultural Policy after 2013. Library of The European Parliament, 130524REV1. Brussels, Belgium.
 15. Kaya Kuyululu ÇY., 2012. Avrupa Birliği'nde süt üretiminde kota uygulamalarının gelişimi ve sistemin Türkiye'ye uyarlanması. Vet Hekim Der Derg, 83, 49-58.
 16. Günaydın G., 2016. Avrupa Birliği Ortak Tarım Politikası, Türkiye tarım sektörü için bir çıkış yolu olabilir mi? TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Elektronik Kütüphane, Ankara.
 17. Demir N., 2012. AB ve Türkiye'de hayvancılık politikalarındaki son gelişmelerin uyum süreci açısından karşılaştırılması. Alinteri, 23, 58-63.
 18. Şahinöz A., 2006. Türkiye-AB müzakere sürecinde Türk tarımı, Türkiye İşveren Sendikaları Konfederasyonu, İşveren Dergisi.
 19. European Commission., 2017. The history of the common agricultural policy. Agriculture and Rural Development, First Chapter, Introduction. Brussels, Belgium.
 20. TÜİK., 2016. Temel istatistikler: Tarım. Türkiye İstatistik Kurumu. Ankara.
 21. TÜİK., 2016. Dış ticaret istatistikleri: Ekonomik faaliyetler. Türkiye İstatistik Kurumu. Dış Ticaret İstatistikleri Yıllığı, Ankara.
 22. European Commission., 2016. Client and supplier countries of the EU28 in merchandise trade. Directorate General of Trade. Comext, Statistical regime 4. Brussels, Belgium.
 23. Günlü A., 2011. Çiğ süt pazarlanmasında süt sanayi işletmelerinde firma yoğunlaşma oranlarının araştırılması: Burdur ili örneği. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 17, 101-106.
 24. Gümüş E., Çınar H., 2016. Türkiye, Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa Birliği sığır eti sektörlerinin karşılaştırılması ve dış ticaret açısından değerlendirilmesi. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 5, 177-183.
 25. Aydın E., Can MF., Aral Y., Cevger Y., Sakarya E., 2010. Türkiye'de canlı hayvan ve kırmızı et ithalatı kararlarının sığır besicileri üzerine etkileri. Vet Hekim Der Derg, 81, 51-57.



İneklerde Mikoplazmalara Bağlı Mastitisler: Risk Faktörleri, Kontrol ve Korunma Stratejileri

Taha Burak ELİFOĞLU¹, Ayhan BAŞTAN¹✉

1. Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Ankara, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
23.11.2016	22.06.2017	25.10.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Elifoğlu TB, Baştan A: İneklerde Mikoplazmalara Bağlı Mastitisler: Risk Faktörleri, Kontrol ve Korunma Stratejileri. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (2): 251-256, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.474949

Öz: İneklerde mikoplazmalar dahil 140'ın üzerinde farklı mikroorganizma mastitise neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda 10' dan fazla mikoplazma türü mikroorganizmanın ineklerde mastitise sebep olduğu belirtilmiştir. Mastitise neden olan başlıca mikoplazma türleri; *M bovis*, *M alkalescens*, *M bovigenitalium*, *M arginini*, *M canadense*, *M californicum* ve *M dispar*'dir. Son yıllarda ülkemizin değişik bölgelerinde sürü büyüklüklerinin artmasıyla birlikte mikoplazmalara bağlı mastitis insidensinde artış olmuştur. Süt ineği işletmelerinde mikoplazma mastitis salgınlarının kaynağı genellikle sürüye yeni katılan enfekte veya asemptomatik taşıyıcı hayvanlardır. Mikoplazma türleri mastitis dışında pnemoni, infertilite, abortus, artrit ve otitis gibi çeşitli sorunlara da yol açar. Bu problemlere bağlı olarak önemli ekonomik kayıplar şekillenir. Mikoplazma mastitis salgını başladıktan sonra, yayılma son derece hızlıdır ve her yaştaki hayvan etkilenmektedir. Klinik olarak, enfekte hayvanlarda ani süt verimi düşüşleri görülür fakat genel durum bozukluğu yoktur. Mikoplazmalara karşı bilinen etkili bir tedavi seçeneğinin olmayışı, korunma ve kontrol programlarının önemini arttırmaktadır. Salgının sürü içi yayılımında çeşitli risk faktörleri rol oynamaktadır. Bu faktörleri kontrol ederek, salgınlarından korunmak ve salgını kontrol etmek mümkündür. Sonuç olarak; günümüzde mikoplazmalara bağlı mastitisler süt ineği işletmelerinde sıkça rastlanan önemli bir sorundur. Mikoplazma kaynaklı mastitislerin etkili bir tedavisi olmadığı için korunma öncelikli seçenektir. Bu derlemede, süt ineği işletmeleri açısından önemli olduğu düşünülen mikoplazma türü mikroorganizmalara bağlı mastitislerin özellikleri, risk faktörleri, salgının kontrolü ve korunma ile ilgili güncel bilgiler derlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: İnek, Kontrol, Korunma, Mikoplazma mastitis, Risk faktörleri.

Bovine Mycoplasma Mastitis: Risk Factors, Control and Prevention Strategies

Abstract: There are more than 140 different microorganisms including mycoplasma species that can cause mastitis in cows. In previous studies, it has been revealed that more than 10 mycoplasma species can cause mastitis in cows. Most common mycoplasma species which can cause mastitis are; *M bovis*, *M alkalescens*, *M bovigenitalium*, *M arginini*, *M canadense*, *M californicum* and *M dispar*. In recent years in our country, along with the increase in the herd levels, incidence of the mycoplasma related mastitis increased as well. In dairy farms, usually origin of the mycoplasma mastitis outbreaks are newly added infected animals or asymptomatic carriers to herd. Besides being mastitis pathogen, mycoplasma species have been causing different health problems such as pneumonia, infertility, abort, arthritis and otitis. Thus there have been economic loss in dairy cow farms. When mycoplasma mastitis outbreak occurs in a dairy cow farm, transmission is rapid and the animals of different ages could be affected. Clinically, infected animals will show dramatic loss in milk yield but no signs of systematic illness symptoms. There is no effective treatment for mycoplasma mastitis, thus control and prevention strategies become more and more important. There are several factors which have role in transmission of the disease in herd. By controlling these factors, it is possible to control and prevent mycoplasma mastitis outbreaks. As a result, nowadays, mastitis due to mycoplasma species is a common and important problem in dairy cow. Since there is no known effective treatment for mycoplasma mastitis, prevention should be the primary goal. In this review, risk factors for mastitis associated with mycoplasma microorganisms and information about control of the outbreak and prevention strategies of mycoplasma mastitis outbreaks have been given.

Keywords: Control, Cow, Mycoplasma mastitis, Prevention, Risk factors.

✉ Ayhan BAŞTAN

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Ankara, TÜRKİYE.
e-posta: ayhan.bastan@ankara.edu.tr

GİRİŞ

Mastitis, süt ineği işletmelerinde ekonomik kayıplara yol açan sağlık problemlerinin başında gelmektedir (1,2). Mastitislerin Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık yaklaşık iki milyar dolar ekonomik kayba yol açtığı bildirilmektedir (3,4). *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*) ve mikoplazma türleri süt tankı kültürlerinde izole edilen en yaygın mastitis patojenleridir (1).

Mikoplazma türleri ineklerde daha çok solunum sistemi patojeni ve polyarthritis etkeni olmasının yanı sıra (5-8), son zamanlarda mastitis patojeni olarak da dikkat çekmektedir (7-9). İneklerde birçok mikoplazma çeşidi mastitise neden olmakla birlikte, mastitislerde sıkça izole edilen tür *M. bovis*'tir. *M. bovis*'in yanı sıra *M. alkalescens*, *M. canadense*, *M. arginini*, *M. bovigenitalium* ve *M. californicum*'da mastitislere neden olmaktadır (2).

Bu mikroorganizmalar süt ineği işletmelerinde persiste enfeksiyonlar şekillendirerek, süt veriminde azalma ile ekonomik kayıplara yol açmaktadır (9,10).

1. Mikoplazma Mastitisleri için Risk Faktörleri

Mikoplazmalara bağlı mastitislerde risk faktörleri; sürü büyüklüğü, sürüye alınan yeni hayvanlar, kuru dönem ve diğer risk faktörleri şeklinde sınıflandırılmaktadır (11,12).

Mikoplazmalara bağlı mastitis salgınlarında sürünün büyüklüğü ile salgının şiddeti doğrudan ilişkilidir. Büyük sürülerde mastitis salgınlarına daha sık rastlanmaktadır (12-14).

Sürü büyüklüğünün mikoplazmalara bağlı mastitis prevalansına olan etkisi Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Sürü büyüklüğünün mikoplazmalara bağlı mastitis prevalansına etkisi (14).

Table 1. Effects of herd size on mycoplasma mastitis prevalence (14).

Sürüdeki Hayvan Sayısı	İnsidens
100'den az	%2.1
100-499	%3.9
500'den fazla	%21.7

Mikoplazmaların kontajiyöz özelliklerinden dolayı, enfekte hayvanlar salgının ve bulaşmanın kaynağını şekillendirmektedir (12). Enfekte hayvanların veya asemptomatik taşıyıcıların sürüye katılması ve sağlıklı hayvanlarla bir arada tutulması, salgınların başlangıç noktasıdır (15). Enfekte veya asemptomatik hayvanlar ayrı bölmelerde tutulmaz ise, sürüye katıldıktan sonra sürünün %40'ını hızlı bir şekilde enfekte edebilirler (16).

Sürüye yeni alınan hayvanlar da mikoplazma kaynaklı mastitisler bakımından risk altındadır. Taşınma stresi altındaki yeni hayvanlar, sürüye katıldıklarında sürü içindeki asemptomatik taşıyıcı inekler tarafından enfekte edilebilir veya yeni satın alınan hayvanlar içindeki subklinik enfekte hayvanlar, klinik semptom göstermeye başlayabilir (12). Yapılan bir çalışmada mikoplazmalara bağlı şiddetli mastitis ve artritis salgınında 120 ineğin sürü dışı bırakıldığını ve bu hayvanların yarısından fazlasının sürüye yeni alınan hayvanlar olduğu bildirilmiştir (11).

Buzağı beslenmesinde atık sütlerin ve kolostriumun kullanılması, mikoplazmaların bu hayvanlara bulaşması ve sürü içinde yayılması açısından bir risk faktörüdür (18,19). Amerika Ulusal Hayvan Sağlığı İzleme Sistemi'ne (NAHMS) göre, ülke çapında süt ineği işletmelerinin %87.2'si atık sütleri yeni doğan buzağuların beslenmesinde kullanmaktadır (20). Bu yaklaşım ekonomik olarak fayda sağlamasına rağmen, yeni doğanlara ve buzağulara mikoplazmaların bulaşmasına neden olabilmektedir (3).

Çoğu süt ineği işletmesinde ekonomik kaygılar göz önünde tutularak imha edilmesi gereken sütler buzağı beslenmesinde kullanılmaktadır. Bu sütlerin imha edilmesi yerine çeşitli ısı işlemleri uygulandıktan sonra kullanımı mümkündür (3,12). Farklı sıcaklık derecelerinde çeşitli mikoplazma türlerini elimine etmek için gerekli olan süreler Tablo 2'de gösterilmiştir. Pastörizasyon işleminden sonra sütlerin kullanımı ile işletmelerde buzağı başına günlük ortalama 0,80\$ kar elde edilebilmektedir (3).

Tablo 2. Sütteki mikoplazma türlerini elimine etmek için gerekli olan sıcaklık süreleri (3).

Table 2. The temperatures and required time to eliminate different mycoplasma species in milk (3).

	60°C	65°C	70°C
<i>M bovis</i>	5 dk	2 dk	1 dk
<i>M californicum</i>	10 dk	2 dk	2 dk
<i>M canadense</i>	30 dk	10 dk	3 dk

Salgınların şekillenmesindeki bir diğer risk faktörü ise hayvanların toplu barındırıldığı revir ve hospitalizasyon bölmeleridir (2,12,21,22). Herhangi bir sağlık problemi nedeniyle revir bölümüne gelip mikoplazma ile enfekte olan hayvanlar, kendi barınaklarına döndüklerinde, enfeksiyonu sürü içinde hızla yayarlar. Bu nedenle revir veya hospitalizasyondan çıkan inekler, mikoplazma yönünden değerlendirilip, tekrar sürülerine katılmalıdırlar (12).

Doğumhanelerde buzağılar ile ineklerin birlikte tutulması da risk faktörlerinden birisidir. Subklinik enfekte inekler, doğum sonrası buzağılarına süt yoluyla ve solunum sistemi akıntılarıyla enfeksiyonu bulaştırabilirler (22,23).

2. Klinik Bulgular

Mikoplazma enfeksiyonları bulaşıcı klinik mastitis (2,4,7) ve subklinik mastitis şeklinde karşımıza çıkar (4,7). Mikoplazma kaynaklı mastitisler karakteristik olarak ani başlar (4). Bir veya birden fazla meme lobu aniden etkilenir ve inekte herhangi bir sistemik hastalık belirtisi şekillenmez. Anormal meme sekresyonları veya sütün fiziksel yapısında bozulmalarla birlikte, süt veriminde azalma ve agalactia görülür. En karakteristik klinik bulgulardan biri de uzun süren farklı antibiyotik tedavilerine yanıt alınamayıdır (2,4,7,12,23,24).

Sürü içinde mastitis görülen hayvanların sayısındaki artış ve enfekte hayvanların birden fazla meme lobunun etkilenip, rutin mastitis tedavisine yanıt vermemeleri mikoplazma mastitislerini akla getirmelidir. Enfekte hayvanların süt verimlerindeki ani düşüşler ve sütün fiziksel yapısındaki bozukluklar mikoplazma salgınlarının belirgin özelliklerindedir. Buzağılarda pneumoni, artrit, otitis gibi hastalıkların

görüldüğü, süt tankı somatik hücre sayısındaki artışların izlendiği ve rutin mikrobiyolojik kültürlerde üremenin şekillenmediği durumlarda, mikoplazma mastitisleri göz önünde bulundurulmalıdır (2,4,12).

3. Tanı, Tedavi, Kontrol ve Korunma

3.1. Tanı

Çiftliklerin rutin mastitis taramalarında mikrobiyolojik kültür içinde mikoplazma testleri yoktur (1). Mikoplazma kaynaklı mastitislerin tanısı mikrobiyolojik analizle konmaktadır (1,25). Sütten yapılacak kültürlerde tanı için modifiye Hayflick agarda 37°C'de %10 CO₂ ile 7 ile 10 gün arası inkubasyon önerilmektedir. Mikoplazmaların izolasyonu donmuş sütte pek mümkün olmamaktadır. Çünkü mikoplazmalar donmaya çok hassastır, dondurma işlemi sütteki mikoplazma sayısını düşürmekte, bu durumda mikoplazmaların izolasyonu güçleşmektedir. Eğer dondurulmuş örneklerden kültür yapılacak ise önce Broth ile zenginleştirildikten sonra agara ekim yapılmalıdır. Bu şekilde yanlış negatif sonuçların önüne geçilebilir (25).

PCR mikoplazmaların tesbiti için güvenle kullanılmaktadır. Konvansiyonel yöntemde mikoplazma türü mikroorganizmalar 7-14 günlük bir inkubasyondan sonra tesbit edilir iken PCR ile birkaç saat içinde sonuç alınmaktadır (25).

3.2. Tedavi

Mikoplazma kaynaklı mastitislerin etkili bir tedavisi yoktur (2,4,7,21,23,25,26). Bazı araştırmalarda nadir olarak enfeksiyonun kendiliğinden iyileştiği bildirilmiştir (12). Meme içi veya sistemik antibiyotikler ile mikoplazma kaynaklı enfeksiyonların tedavi başarısı çok düşüktür, çünkü birçok antibiyotik hücre duvarı sentezini bozarak antibakteriyel etki göstermektedir. Mikoplazmaların hücre duvarının yoktur, bu nedenle bu etkenlere bağlı mastitislerin tedavisi mümkün değildir (2,4,5,9,25).

3.3. Kontrol

Mikoplazmalara bağlı mastitislerde kontrol ve korunma programları çok önemlidir. Enfekte

hayvanların sürüden çıkartılması kontrol için en önemli adımdır (9,22).

Mikoplazma türü mikroorganizmalar bulaşıcıdır. Bu nedenle; sağım hijyeni, meme başlarının dezenfeksiyonu ve enfekte hayvanların sürüden çıkartılması ile salgın kontrol altında tutulabilir (19,25).

Enfekte hayvanlar sağıldıktan sonra sağım makinaları dezenfekte edilmeli, enfekte hayvanlara temas eden personel eldivenlerini değiştirmelidir (2,25). Enfeksiyonun sürüden eliminasyonu için mikoplazma pozitif inekler sürüden uzaklaştırılmalıdır (9,19,24,27). Enfekte hayvanlar sürüde tutulacaksa karantinaya alınmalı, ayak bantları ile işaretlenmelidir. Ayrıca bu hayvanların sağımında ayrı sağım ekipmanları kullanılmalı veya en son sağılmalıdır. Mikoplazmalarla enfekte inekler sağlıklı hayvanlarla aynı barınaklarda veya doğumhanelerde bulundurulmamalıdır (2).

Salgının kontrolü için enfekte hayvanların belirlenip, karantina ve sürüden çıkartılmalarına ek olarak, etken sürüde belirlendikten sonra, doğru sağım hijyeni protokollerinin izlenmesi kritik önem taşımaktadır (10,25,27).

Sağım öncesi memenin temizliği, sağım sonrası meme başlarının ve sağım başlıklarının dezenfeksiyonuna dikkat edilmelidir (4,25). Ayrıca, sağım makinalarının fonksiyonlarının uygunluğu, meme sağlığının korunması için oldukça önemlidir (4).

Sürü içinde mikoplazma kaynaklı mastitislerden şüphelenildiğinde, bu mikroorganizmalar yönünden tank kültürü yapılmalı, tank kültürü pozitif sonuç çıkmış ise laktasyon gruplarından karma süt örnekleme yapılmalıdır (19,25). Böyle bir uygulama ekonomik olarak yarar sağlar fakat bu yaklaşım enfekte hayvanların belirlenip sürüden çıkartılması için geçen süreyi uzattığından, sürü içinde hastalığın yayılma olasılığını artırır (25).

3.4. Korunma

Sürüye yeni katılan hayvanlar ile mikoplazma mastitis salgınları arasında yakın bir ilişki vardır (4). Bu nedenle, korunmanın temelini sürüye hayvan girişinin kontrol altında tutulması oluşturmaktadır.

Test edilmeden sürüye katılan hayvanlar mikoplazma salgınının kaynağını oluşturur (19). Bu nedenle yeni satın alınan hayvanlar sürüye katılmadan önce gözlem altında tutulmalı ve mikoplazma yönünden test edilmeli, test sonucuna göre sürüye katılma kararı verilmelidir (2,19,23,25).

Mikoplazmalara bağlı mastitis salgınlarından korunmada dışarıdan hayvan alımının sınırlandırılması gerekir (23). Eğer dışarıdan hayvan alınacaksa, mikoplazma negatif sürülerden alınmasına özen gösterilmelidir (19). Süt tankı örneklerinden yapılacak olan rutin mikoplazma analizleri, korunma açısından önemlidir (2). Süt tankı kültür sonucunun mikoplazmalar yönünden pozitif çıkması, sürüde en az bir hayvanın mikoplazma ile enfekte olduğunun göstergesidir. Öte yandan enfekte sürülerin çoğunda, salgından önce süt tankı örneklerinde mikoplazma negatif çıkmaktadır. Bu durum, yapılan kültürün sensitivitesi ve sublinik enfekte hayvanların sütü içinde mikoplazma sayısının az olmasından kaynaklanabilir (23).

Gebe düvelerde mikoplazmalara bağlı sublinik mastitislere rastlanmaktadır ve doğum sonrası sublinik enfeksiyonlar klinik forma dönüşebilir. Düveler mikoplazma enfeksiyonları bakımından kritik gruptadır ve bu nedenle bu bakımdan sık sık kontrol edilmelidir (25).

Özellikle büyük işletmelerde her ay tank sütü örnekleri mikoplazma yönünden değerlendirilmesi, çeşitli önlemlerin alınması bakımından önemlidir. Yeni doğum yapan düvelerin laktasyon gruplarına katılmadan önce mutlaka mikoplazma yönünden negatif olduğu belirlenmeli, pozitif çıkan hayvanlar kesinlikle sürü dışı bırakılmalıdır (2).

Yeni hayvan alınacağı zaman mevcut sürüdeki geriye dönük kayıtlar incelenmelidir. Eğer geriye dönük kayıtlar yoksa, sürüden süt tankı örnekleri mikoplazma kültürü için laboratuvara gönderilmelidir (2,19,25).

Mastitis biyogüvenlik programları sürüye yeni katılacak hayvanların salgın oluşturmalarını engellemek için gereklidir (4,16,23). Bu nedenle yeni satın alınan laktasyonda olmayan hayvanların, eski sürüsünden süt tankı mikoplazma kültür sonuçları ve somatik hücre sayılarına bakılmalıdır. Laktasyondaki

inekler için ise bireysel mikrobiyolojik kültür sonuçları değerlendirilmelidir. Satın alındıktan sonra doğum yapan hayvanlar sürüden izole edilmeli ve mikoplazma negatif olduğu kesinleşene kadar karantinada tutulmalıdır. Rutin olarak sürüye yeni hayvan alımı yapan işletmeler en az ayda 2 kez mikoplazma yönünden kültür yaptırmalıdır (2).

SONUÇ

Çeşitli mikoplazma türleri ineklerde önemli sağlık problemleri şekillendirerek, ekonomik kayıplara neden olmaktadır. İşletmelerdeki her yaştaki hayvan grubunu etkileyen mikoplazma türleri, sürü içinde hızlı yayılabilmektedir. Bu mikroorganizmalara bağlı mastitislerin etkin bir tedavisi yoktur, bu nedenle kontrol ve korunma önemlidir. Mastitis biyogüvenlik programları ve sağım hijyenine dikkat edilerek, bu grup mikroorganizmalara bağlı mastitislerden korunmak ve mevcut salgını kontrol altında tutmak mümkündür.

KAYNAKLAR

1. Miranda-Morales RE., Rojas-Trejo V., Segura-Candelas R., Carrillo-Casas EM., Sanches-Gonzales MG., Castor RS., Trigo-Tavera FJ., 2008. Prevalence of pathogens associated with bovine mastitis in bulk tank milk in Mexico. *Ann N Y Acad Sci*, 1149, 300-302.
2. Fox LK., 2012. Mycoplasma mastitis causes, transmission, and control. *Vet Clin Food Anim*, 28, 225-237.
3. Butler J., Sickles S., Johann C., Rosenbusch R., 2000. Pasteurization of discard mycoplasma mastitic milk used to feed calves: thermal effects on various Mycoplasma. *J Dairy Sci*, 83, 2285-2288.
4. Baştan A., 2013. Mikoplazmalara bağlı mastitisler. In "İneklerde Meme Sağlığı ve Sorunları", Genişletilmiş 2. Baskı, 252-255, Kardelen Ofset Matbaacılık, Ankara.
5. Heuvelink A., Reugebrink C., Mars J., 2016. Antimicrobial susceptibility of Mycoplasma bovis isolates from veal calves and dairy cattle in the Netherlands. *Vet Microbiol*, 189, 1-7.
6. Bürki S., Frey J., Pilo P., 2015. Virulence, persistence and dissemination of Mycoplasma bovis. *Vet Microbiol*, 179, 15-22.
7. Barberio A., Flaminio B., De Vlieghe S., Supre K., Kromker V., Garbarino C., Arrigoni N., Zanardi G., Bertocchi L., Gobbo F., Catania S., Moroni P., 2016. Short communication: In vitro antimicrobial susceptibility of Mycoplasma bovis isolates identified in milk from dairy cattle in Belgium, Germany, and Italy. *J. Dairy Sci*, 99, 6578-6584.
8. Nielsen PK., Petersen MB., Nielsen LR., Halasa T., Toft N., 2015. Latent class analysis of bulk tank milk PCR and ELISA testing for herd level diagnosis of Mycoplasma bovis. *Prev Vet Med*, 121, 338-342.
9. Radaelli E., Castiglioni V., Losa M., Benedetti V., Piccinini R., Nicholas RAJ., 2011. Outbreak of bovine clinical mastitis caused by Mycoplasma bovis in a North Italian herd. *Res Vet Sci*, 91, 251-253.
10. Gioia G., Werner B., Nydam DV., Moroni P., 2016. Validation of a mycoplasma molecular diagnostic test and distribution of mycoplasma species in bovine milk among New York State dairy farms. *J Dairy Sci*, 99, 4668-4677.
11. Houlihan MG., Veenstra B., Christian MK., Nicholas R., Ayling R., 2007. Mastitis and arthritis in two dairy herds caused by Mycoplasma bovis. *Vet Rec*, 160, 126-127.
12. Nicholas RAJ., Fox LK., Lysnyansky I., 2016. Mycoplasma mastitis in cattle: To cull or not to cull. *Vet J*, 216, 142-147.
13. Fox LK., Hancock DD., Mickelson A., Britten A., 2003. Bulk tank milk analysis: Factors associated with appearance of Mycoplasma sp. in milk. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 50, 235-240.
14. McCluskey BJ., Lombard JE., Hirst H., 2003. Mycoplasma in bulk tank milk on US dairy operations. In: Proceedings of the 10th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics, International Society for Veterinary Epidemiology and Economics, Vine Del Mar, Chile, 430.
15. Punyapornwithaya V., Fox LK., Hancock DD., Gay JM., Alldredge JR., 2010. Association between

- and outbreak strain causing mycoplasma bovis mastitis and its asymptomatic carriage in the herd: A case study from Idaho, USA. *Prev Vet Med*, 93, 66-70.
16. Punyapornwithaya V., Fox LK., Hancock DD., Gay J., Alldredge JR., 2012. Time to clearance of mycoplasma mastitis: The effect of management factors including milking time hygiene and preferential culling. *Can Vet J*, 53, 1119-1122.
17. Otter A., Wright T., Leonard D., Richardson M., Ayling R., 2015. Mycoplasma bovis mastitis in dairy cows. *Vet Rec*, 177, 601-602.
18. Foster AP., Naylor RD., Howie NM., Nicholas RAJ., Ayling RD., 2008. Mycoplasma bovis and otitis in dairy calves in the UK. *Vet J*, 179, 455-457.
19. Gonzalez R., Wilson DJ., 2003. Mycoplasmal mastitis in dairy herds. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 19, 199-221.
20. Anonim, 2002. Report on National Animal Health Monitoring System (NAHMS) Dairy Survey, USDA APHIS, Veterinary Services.
21. Jensen L., Petersen MB., Svendsen MB., Krogh K., Nielsen LR., 2015. A study of factors associated with Mycoplasma bovis outbreaks in Danish dairy cattle herds 2010-2014. In: progress in Human and Animal Mycoplasmaology, Proceedings of the European Mycoplasma Meeting 2015, Istanbul, 42.
22. Lysnyansky I., Freed M., Rosales RS., Mikula I., Khateb N., Gerchman I., Van Straten M., Levisohn S., 2016. An overview of Mycoplasma bovis mastitis in Israel (2004-2014). *Vet J*, 207, 180-183.
23. Maunsel FP., Woolums AR., Francoz D., 2011. Mycoplasma bovis infections in cattle. *J Vet Intern Med*, 25, 772-783.
24. Pfützner H., Sachse K., 1996. Mycoplasma bovis as an agent of mastitis, pneumonia, arthritis and genital disorders in cattle. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*, 15, 1477-1494.
25. Fox LK., Kirk JH., Britten A., 2005. Mycoplasma mastitis: A review of transmission and control. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 52, 153-160.
26. Passchyn P., Piepers S., De Meulemeester L., Boyen F., Haesebrouck F., De Vlieghe S., 2012. Between-herd prevalence of Mycoplasma bovis in bulk milk in Flanders, Belgium. *Res Vet Sci*, 92, 219-220.
27. Mackie DP., Finlay D., Brice N., Bal HJ., 2000. Mixed mycoplasma mastitis outbreak in a dairy herd. *Vet Rec*, 147, 335-336.

YAZARLARA BİLGİ

1. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nin hakemli bilimsel yayın organı olup, Nisan, Ekim ve Aralık aylarında olmak üzere yılda 3 kez yayımlanır. Derginin kısaltılmış ismi "Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg." dir.
2. Bu dergide, Türkçe veya İngilizce dillerinden birinde hazırlanmış ve daha önce başka bir dergide yayınlanmamış veya başka bir dergiye eşzamanlı olarak sunulmamış Temel Veteriner Bilimleri (Anatomi, Biyokimya, Fizyoloji, Histoloji, Mesleki Etik ve Deontoloji), Klinik Öncesi Veteriner Bilimleri (Farmakoloji ve Toksikoloji, Mikrobiyoloji, Parazitoloji, Patoloji, Viroloji), Klinik Veteriner Bilimleri (İç Hastalıkları, Cerrahi, Doğum ve Jinekoloji, Dölerme ve Suni Tohumlama), Zootekni ve Hayvan Besleme Bilimleri (Biyostatistik, Genetik, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları, Hayvancılık İşletme Ekonomisi, Zootekni), Hayvansal Orjinli Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Egzotik Hayvanlar Bilimi ve Laboratuvar Hayvanları Bilimi alanlarında hazırlanmış orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu ve davetli veya editörün onayı alınmış derlemeler yayımlanır.
3. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'ne yayımlanması amacıyla gönderilen makale ile ilgili olarak; yazarlar gerekli olan (klinik, deneysel çalışmalar vb.) etik kurulu onayı aldıkları kurum ve onay numarasını makalenin Materyal ve Metot kısmına yazmalıdırlar. Yayın kurulu eğer isterse etik kurul onay belgesini isteyebilir.
4. Yazarlar, başka kaynaklardan alınan ve kullanılan materyal ile ilgili telif hakkı şartlarına uymak ve telif hakkının dergiye devrini ifade eden sözleşmeyi imzalamakla yükümlüdürler. Dergide yer alan yazılardan doğacak her türlü sorumluluk yazar(lar)ına aittir.
5. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nca belirtilen "İhbarı Mecburi Hastalıklar" ile ilgili makalelerin değerlendirmeye alınabilmesi için T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan alınmış izin yazısının Dergi Editörlüğüne sunulması zorunludur.
6. Makaleler değerlendirme için en az iki hakeme gönderilir. Makalenin yayına kabulü, hakemlerin ve dergi editörlüğünün kararına bağlıdır.
7. Sorumlu yazar Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisine yayımlanmak üzere göndereceği makale ile birlikte "**Makale Kontrol Formu**"nu da göndermek zorundadır.
8. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi' ne gönderilen makalelerde, makale değerlendirme süreci başladığı andan itibaren, makalede yazar ismi değişikliği ve isim sıralaması değişikliği yapılmaz.
9. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğüne ulaşan makale ve makale kontrol formu, dergi editörlüğüne ön değerlendirmeye tabi tutulur. Editörlük, ön değerlendirme sonucuna göre makaleyi reddetme veya hakem değerlendirmesine tabi tutmadan önce düzeltme isteme hakkına sahiptir.

MAKALENİN HAZIRLANMASI

1. Makaleler, A4 dosya kâğıdına (tek yüz), çift satır aralıklı olarak, kenarlarından 3 cm boşluk bırakarak yazılmalı, şekil, tablolar ve kaynaklarda dahil olmak üzere sayfa sayısı orijinal bilimsel araştırmalarda ve derlemelerde 16, olgu sunumu gibi kısa bilimsel çalışmalarda ise 5 sayfayı geçmemelidir.

2. Makale, Microsoft Word 6.0 veya daha üst versiyonda, Calibri karakterinde ve 12 punto ile hazırlanmalıdır.

3. Makaleye satır numaraları (makalenin 2. sayfasından başlamak üzere sürekli olacak şekilde) ve sayfa numaraları (sayfa altında ve ortalı) eklenmelidir.

4. Makale ile ilgili açıklayıcı bilgiler (tez, proje, vb.) makale başlığının sonuna üst simge olarak * işareti konulup makale başlığı altında italik yazıyla açıklanmalıdır.

5. Araştırmaya konu olan maddelerin ve ürünlerin ticari adları kullanılmamalıdır.

Orijinal Bilimsel Araştırma Makaleleri İçin:

Birinci Sayfa: makalenin birinci sayfası başlık, yazar isimleri ve adresleri, yazarların e-posta adresleri, sorumlu yazar iletişim bilgileri ve eğer varsa makale ile ilgili açıklayıcı bilgiden oluşmalıdır.

Başlık: Türkçe ve İngilizce başlıklar sadece ilk harfleri büyük olacak şekilde yazılmalıdır. Makalenin dili Türkçe ise önce Türkçe sonra İngilizce başlık, makalenin dili İngilizce ise önce İngilizce sonra Türkçe başlık yazılmalıdır.

Yazar İsimleri ve Adresleri: Yazar(lar)'ın adı ve soyadının (akademik ünvanlı) sadece baş harfleri büyük ve başlığın altına ortalı gelecek şekilde yazılmalıdır. Sorumlu yazar (*) ile işaretlenmeli, yazarların isminin sağ üst köşesine sayı eklenmeli ve bu sayılar adresler bölümünde kullanılmalıdır. Yazarların adresinde; bağlı olduğu kurum, birim, şehir ve Ülke belirtilmelidir.

Yazarların e-posta Adresleri: makalede ismi bulunan tüm yazarların ismi ve e-posta adresleri yazılmalıdır.

Sorumlu Yazar İletişim Bilgileri: Makalenin sorumlu yazarına ait isim-soyisim, e-posta, adres, telefon, GSM ve fax numaralarını içeren bilgiler yazılmalıdır.

Makale ile İlgili Açıklayıcı Bilgi: Eğer varsa makale ile ilgili açıklayıcı bilgiler (tez, proje vb.) birinci sayfanın sonunda italik yazıyla açıklanmalıdır.

İkinci Sayfa: Makalenin ikinci sayfası Türkçe özet ve anahtar kelimeler ile İngilizce özet ve anahtar kelimeleri içermelidir. Makale yazım dili Türkçe ise öncelikli olarak Türkçe özet ve anahtar kelimeler; eğer makale yazım dili İngilizce ise öncelikli olarak İngilizce özet ve anahtar kelimeler sunulmalıdır.

Özet: Kısaca amaç, materyal, metot, bulgular ve sonuçları içermelidir. Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 170-200 kelime arasında olmalıdır ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Anahtar kelimeler “Türkiye Bilimleri Terimleri” nden seçilmelidir (<http://www.bilimterimleri.com/tr-index.html>). En fazla 5 adet olmalıdır. Türkçe anahtar kelimeler Türkçe’ye göre, İngilizce anahtar kelimeler İngilizce’ye göre alfabetik olarak sıralanmalıdır. Her anahtar kelime arasına (,) işareti konulup, sonuncu anahtar kelimedenden sonra (.) işareti konulmalıdır.

Üçüncü Sayfa: Makale üçüncü sayfadan itibaren “GİRİŞ”, “MATERYAL ve METOT”, “BULGULAR”, “TARTIŞMA ve SONUÇ” ve “KAYNAKLAR” bölümleri halinde tamamlanmalıdır. Bulgular ve tartışma birlikte verilebilir. Gerekli olduğu takdirde, teşekkür de eklenebilir. Bölüm başlıkları büyük harflerle yazılmalıdır. Bölümlere ait alt başlıklar yalnız ilk harfleri büyük olacak şekilde yazılmalıdır. Tüm başlıklar koyu tonda ve 12 punto ile satırbaşı hizasında yazılmalıdır.

İstatistiksel Analiz bilgileri: makalenin MATERYAL ve METOT bölümünün sonunda “İstatistiksel Analiz” başlığı altında verilmelidir.

Birimler ve Kısaltmalar: Her bir kısaltmanın açılımı metinde ilk geçtiği yerde verilmelidir. Birimler ve ölçülerde Uluslararası Standart birimleri (SI-sistem) kullanılmalıdır. Cins ve tür isimleri italik olarak yazılmalıdır. Makale içerisinde kullanılan rakamsal ve istatistiksel verilerde nokta kullanılmalıdır (örnek: 44.5; 0.82; % 97.7; $P < 0.01$ vb.).

Tablo ve Şekiller: Tablo ve Şekiller ana dökümandan ayrı olarak gönderilmelidir. Tablolar Dikey sayfa olanlar genişlik 7 cm’ye sığacak şekilde en fazla 35 satır, yatay sayfaya 15 cm’ye sığacak şekilde en fazla 25 satır olmalıdır. Şekiller bulanık olmayacak şekilde, jpeg, tiff, bmp veya gif formatında ve en az 150 dpi çözünürlükte hazırlanmalı, şekil üzerine yazılan yazılar ve işaretlemeler aynı şekilde resim işleme programlarında (Photoshop, paint vs.) “Calibri” fontu ile 12 puntoyu geçmemesi gerekmektedir. Grafikler resim formatında değil doc, docx, xls veyaxlsx formatında hazırlanmalıdır. Şekil, grafik, fotoğraf ve resimler başlıklarda ve metin içerisinde Şekil olarak ifade edilmelidir. Şekil ve tablolar metin içerisindeki sırasına göre numaralandırılmalı ve metin içerisinde kısaltılmadan yazılmalıdır (Örn; Şekil 1, Tablo 1). Tablo ve şekillerin başlık ve açıklamaları hem Türkçe hemde İngilizce olarak eklenmelidir. Tablo ve şekillerde kullanılan her türlü kısaltma tablo ve şekil altında açıklanmalıdır.

Sonuç: Makaleye ait elde edilen/varılan sonuç, “TARTIŞMA ve SONUÇ” kısmının sonunda “sonuç olarak...” ifadesiyle başlayan tek bir paragrafla belirtilmelidir.

Olgu Sunumları İçin:

Birinci ve ikinci sayfalar orijinal bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde hazırlanmalıdır. Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 120’den daha az olmamalı ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

Üçüncü sayfadan itibaren “GİRİŞ”, “OLGU SUNUMU” (olgu sunumu başlığı altında materyal, metot ve bulgulardan bahsedilmelidir) “TARTIŞMA ve SONUÇ” ve “KAYNAKLAR” şeklinde tamamlanmalıdır.

Olgu sunumu içerisinde eğer varsa İstatistiksel analiz bilgileri, birimler ve kısaltmalar, tablo ve şekiller bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde sunulmalıdır.

Olgu sunumuna ait elde edilen/varılan sonuç, “TARTIŞMA ve SONUÇ” kısmının sonunda “sonuç olarak...” ifadesiyle başlayan tek bir paragrafla belirtilmelidir.

Derlemeler İçin:

Birinci ve ikinci sayfalar orijinal bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde hazırlanmalıdır. Derlemeler için hazırlanan özet derlemenin konusu hakkında bilgi ve derlemenin amacından oluşmalıdır. Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 170-200 arasında olmalıdır ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

Derleme üçüncü sayfadan itibaren GİRİŞ ile başlamalı, yazar/lar tarafından belirlenecek ara başlıklarla devam etmeli, SONUÇ ve KAYNAKLAR ile tamamlanmalıdır.

Derleme içerisinde eğer varsa birimler ve kısaltmalar, tablo ve şekiller bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde sunulmalıdır.

Derlemeye ait sonuç, KAYNAKLAR bölümünden hemen önce SONUÇ başlığı altında belirtilmelidir.

Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi’ne yayımlanmak üzere gönderilen derlemenin sorumlu yazarının derlemenin konusu ile ilgili en az 3 (üç) adet makalesinin olması gerekmektedir. Sorumlu yazar, derlemesini gönderirken konu ile ilgili makalelerinin de künye bilgilerini dergi editörlüğüne göndermelidir (makale künyeleri, makale metninin en son sayfasında sunulmalıdır)

Kaynaklar

Kullanılan kaynak sayısı olgu sunumları için 10’dan az, araştırma makaleleri için 20’den az ve tüm makale türleri için 45’den fazla olmamalıdır.

Makale türü ne olursa olsun (orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu, derleme) kullanılan kaynakların (makalenin gönderildiği yıl baz alınarak) en az üçte birlik kısmı son 3 yıla ait olmalıdır.

Makale türü ne olursa olsun (orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu, derleme) kaynaklar aşağıda belirtildiği şekilde sunulmalıdır:

Metin içerisinde:

Metin içerisinde kaynaklara 1’den başlamak üzere numara verilmelidir ve bu numaralar (1), (1,2), (1,4-7,13) şeklinde parantez içerisinde belirtilmelidir. Yazar isminin

kullanılacağı yerlerde ise yazarın soyadı ve parantez içerisinde kaynağın numarası Aktaş (22), Aktaş ve ark. (13) örneklerinde olduğu gibi yazılmalıdır.

Kaynaklar Bölümünde:

Metin içerisinde numaralandırılan kaynaklar, makalenin kaynaklar bölümünde numaralarına göre sıralandırılmalıdır.

Kaynak verilen bilimsel dergilerin isimlerinin yazılmasında derginin isminin kısaltması kullanılmalıdır.

Kaynak makale ise; Barbour AH., Rampling A., Hormaeche CE., 2001. Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infect Immun*, 69, 4657-4660.

Kaynak kitap ise; Lawrie RA., 2002. *Lawrie Meat Science*. 6th ed., 330-335, Woodhead Publication, Cambridge.

Kaynak kitapta bir bölüm ise; Mark E., 1989. Thyroid diseases. In “Textbook of Veterinary Internal Medicine”, Ed., SJ Ettinger, 6th ed., 230-250, W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Kaynak bir tez ise; Aktaş MS., 2005. Köpeklerde antibiyotiklerin neden olduğu ishallerde probiyotiklerden *Saccharomyces boulardii*'nin etkisi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.

Kaynak bir kuruluşun yayını ise; FAWC, 1991. Report on the european commission proposals on the transport of animals. London, MAFF Publication.

Kaynak bir yazılım ise; SAS, 1990. SAS user's guide: Statistics, 4th ed., Sas Institute, Cary.

Web tabanlı kaynaklar kullanılmamalıdır.

MAKALENİN GÖNDERİLMESİ

Makale online sistem (<http://dergipark.gov.tr/ataunivbd>) aracılığıyla dergi editörlüğüne gönderilmelidir.

DERGİ BASKISI

Kabul edilen çalışmalar **ücretsiz** basılacaktır.

Yazarlara ayrı baskı gönderilmeyecektir.

Sorumlu yazara makalenin basıldığı sayıdan bir örnek ücretsiz olarak gönderilir.

2018 yılından itibaren, derginin baskısı siyah-beyaz olarak yapılacaktır. Makalelerinde renkli resim/figür/şekil bulunan yazarlar, renkli baskı istemeleri halinde, gerekli ücreti ödemeleri halinde bu istekleri yerine getirilecektir.

Bu yazım kuralları, Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Yayın Kurulu tarafından revize edilmiştir. 01.01.2018 tarihinden sonra gönderilecek makaleler bu kurallara tabidir.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

- 1.** Atatürk University Journal of Veterinary Sciences is a refereed scientific publication organ of Atatürk University Faculty of Veterinary Sciences and is published tri-annually in April, October and December. The abbreviation of the journal's title is "Atatürk University J. Vet. Sci."
- 2.** Original research papers, case reports and invited or Editor-approved reviews to be submitted should be prepared either in Turkish or in English, must not be published elsewhere or submitted concomitantly to any other journal, within the scope of Veterinary Medicine and relevant Departments, i.e. Basic Veterinary Sciences (Anatomy, Biochemistry, Physiology, Histology, Occupational/Professional Ethics and Deontology), Preclinical Veterinary Sciences (Pharmacology and Toxicology, Microbiology, Parasitology, Pathology, Virology), Clinical Veterinary Sciences (Surgery, Internal Medicine, Obstetrics and Gynecology, Reproduction and Artificial Insemination), Animal Science and Nutritional Sciences (Biostatistics, Genetics, Animal Nutrition and Nutritional Disorders, Animal Enterprises Economy, Animal Science), Animal-Originated Food Hygiene and Technology, with, exotic animal science and laboratory animals, are published in this journal.
- 3.** Ethics committee approval (clinical, experimental, etc.), institution, and approval number are required for the article sent to Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication must be specified in the Material and Method section of the article. The editorial board may also request an ethics committee approval document when deemed necessary.
- 4.** Authors are responsible for complying with the copyright conditions related with the material cited (taken) from other resources or used and signing the agreement contract declaring transfer of the copyright to the journal. The full responsibility of the texts to be appeared within the journal belongs to the author(s).
- 5.** Manuscripts to be considered are sent to the two referees at least. Acceptance of the manuscripts depends on both suggestion of the referees and final decision of the Editorial Board.
- 6.** The responsible author has to send the "Article Check List" along with the article to be sent to Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication.
- 7.** We will not be able to make any changes to the author names (adding/removing authors, change of order of authors) at the article send to Atatürk University Journal of Veterinary Science from the moment the paper evaluated process begins
- 8.** Article and article check list reaching Atatürk University Journal of Veterinary Sciences Editor is subject to preliminary evaluation by a journal editor. The editorial has the right to refuse the article according to the preliminary evaluation result or to request a correction before subjecting it to the referee evaluation.

MANUSCRIPT PREPARATION

1. Manuscripts should be written in A4-sized paper (one-sided), double-spaced, with 3 cm space from the margins of the paper and should not exceed 16 pages for original scientific researches and reviews or 5 pages for short scientific studies such as case reports.
2. Manuscript should be prepared using Microsoft Word 6.0 or upper versions, in Calibri characters with 12 point typing size.
3. Line numbers (be started from the 2nd page onwards) and page numbers (at the middle of the bottom of the page) should be given in the manuscript.
4. Details (thesis, project, etc.) related with the manuscripts should be given at the end of the title of the manuscript with the sign of superscript (*) with further explanation below the title in italic format.
5. Trademarks of substances (materials) and products of the subject of the study should not be used.

For Research Articles:

First page: The first page of the manuscript should contain title, authors' name-surname and addresses, e-mail addresses of the authors, corresponding authors' explanatory details related with the manuscripts, if any.

Title: Titles in Turkish and English should be written in small letters with only the first letter to be in capital. In case of the Turkish language of the main text, firstly titles in Turkish then in English should be given, while the opposite should be given for manuscripts written in English.

Names of authors and addresses: The first letters of name and surnames (without academic titles) of author(s) should be written in capital and aligned at the middle below the title. Corresponding author (*) should be pointed, a value should be added as a superscript at the right and these values should be used in the section of addresses. In that section, the body/authority, unit/department, city and country of the authors should be described.

E-mail addresses of the authors: All the names and e-mail addresses of authors mentioned within the manuscript should be written.

Contact details of the corresponding author: The name-surname, e-mail, address, phone, mobile and fax numbers of the corresponding author should be written.

Explanatory details of the manuscripts: If any, the explanatory details (thesis, project, etc.) should be written in *italic* letters at the end of the first page.

Second page: The second page of the manuscript should contain summary in Turkish and English with key words each. If the language of the main text is in Turkish, the summary and

the key words should first be in Turkish while the opposite should be given for those manuscripts written in English.

Summary: Briefly, it should contain the aim, material, method, results and conclusions. The number of word to be used should be between 170-200 words and be written in single-space.

Key words: The number should be 5 at maximum in the alphabetic order of the language used either in Turkish or in English. Between each of the words, a comma (,) sign should be put while a full stop (.) sign should be put at the end of the last one.

Third page: From this page onwards, the manuscript should continue with the sections of INTRODUCTION, MATERIALS and METHODS, RESULTS, DISCUSSION and CONCLUSION and REFERENCES in the following order. The sections of results and discussion may be given together. A section of acknowledgement may also be added, if needed. Section titles should be written in capital letters. Sub-headings of the sections should be written with the first letters in capital only and aligned with the beginning of paragraph. All the headings should be written in black 12-point typing-size and aligned with the beginning of paragraph.

Data from Statistical analyses: This section should be given at the end of MATERIALS and METHODS section and under the title of “Statistical Analysis”.

Units and Abbreviations: The meaning of each abbreviation should be given where it appears first. For units and measurements, International Standard units (SI-system) should be used. The names of genus (breeds) and species should be written in italic style. For numerical and statistical values, full stop (.) sign should be used (e.g. 44.5; 0.82; 97.7 %; $P < 0.01$, etc.).

Tables and Figures: Figures, graphics, photos and pictures/plates within the headings and text should all be given as Figure. Figures and tables should be numbered according to their orders within the text and written without any abbreviation within the paragraph (e.g. Figure 1, Table 1). Tables and figures should be placed into the sections appropriately, and their headings and explanations should also be included in Turkish and English. All types of abbreviations used within tables and figures should be explained below them.

Conclusion: The ultimate result obtained should be described as “In conclusion,...” in a single paragraph at the end of DISCUSSION and CONCLUSION section.

For Case Reports:

The first and second pages should be prepared according to details given for the scientific research manuscripts. The number of words to be used in summary should not be less than 120 words and be written in single-spaced type.

From the third page onwards, INTRODUCTION, CASE REPORT (materials, methods and results should be mentioned under the title of case report) should be followed by DISCUSSION and CONCLUSION and REFERENCES.

If any, data from the statistical analysis, units and abbreviations, tables and figures should be presented as given for scientific research manuscripts.

For case report, the ultimate result obtained should be described as “In conclusion,...” in a single paragraph at the end of DISCUSSION and CONCLUSION section.

For Reviews:

The first and second pages of reviews should be prepared according to details given for the scientific research manuscripts. The summary should involve data on the subject and aim of the review. The number of words used in summary should be between 170-200 words and be written in single-spaced type.

From the third page onwards, reviews should start with introduction, continue with subheadings to be determined by the author(s) and be completed with CONCLUSION and REFERENCES.

If any, the units and abbreviations, tables and figures within the review should be presented as given for scientific research manuscripts.

For reviews, the ultimate result should be described as CONCLUSION section in a single paragraph just before the section for REFERENCES.

The corresponding author of the compilation sent to the Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication must have at least 3 articles on the subject of the compilation. The corresponding author must send the citation information of relevant articles related to the subject along with his/ her article (relevant article citations must be presented on the last page of the article)

References

The number of resources used must not be less than 10 for case reports, less than 20 for research articles, and more than 45 for all article types.

Regardless of the type of article (original research article, case report, compilation), at least one-third of the resources used (based on the year the article was submitted) must belong to the last three years.

Regardless of the type of manuscript (original research paper, case report, review), references should be given, as follows:

For Text section:

Within the text, reference numbers should be given as numbers starting from 1, and these numbers should be indicated within the brackets as (1), (1,2), and/or (1,4-7,13). Where the name of the author is to be given, the surname of the author and reference number should be written as Aktas (22), and/or Aktas et al. (13).

For References section:

The references given within the text should be given as numbers in numerical order within the reference section.

For writing the scientific journals, its international title recommended by the journal should be used. The journal title abbreviation must not be used.

For manuscripts; Barbour AH., Rampling A., Hormaeche CE., 2001. Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infection and Immunity*, 69, 4657-4660.

For books; Lawrie RA., 2002. *Lawrie Meat Science*. 6th edn., 330-335, Woodhead Publication, Cambridge.

For chapters of a book; Mark E., 1989. Thyroid diseases. In “Textbook of Veterinary Internal Medicine”, Ed., SJ Ettinger, 6th edn., 230-250, W.B. Saunders Co., Philadelphia.

For theses; Aktas MS., 2005. Efficacy of *Saccharomyces Boulardii* as a probiotic in Dogs with lincomycin induced diarrhoea. Ankara University, Graduate School Health Science, Turkey.

For publications of a Foundation; FAWC, 1991. Report on the european commission proposals on the transport of animals. London, MAFF Publication.

For softwares; SAS, 1990. SAS user’s guide: Statistics, 4th edn., SAS Institute, Cary.

Web-based references should not be used.

MANUSCRIPT SUBMISSION

The article must be sent to the journal editor through online system (<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/ataunivbd/>).The file names of original manuscripts and tables should involve a “.doc” extension.

Figures (graphs, photos, figures and pictures/plates) should be submitted, as a separate file, in JPEG format with 300 DPI resolutions.

JOURNAL’S PRESS

Articles accepted for publication will be published free of charge.

No offprints will be sent to the authors.

A copy of the issue of the journal with the article is sent for free to the corresponding author of the article.

From 2018 on, the print of the journal will be done in black and white. Authors who have colored pictures / figures / figures in their articles, in the case of color printing requests, this demand will be fulfilled in case of payment of the necessary fee.

These spelling rules was revised by Ataturk University Journal of Veterinary Sciences Editorial Board. All of the articles send after 01.01.2018 have to abide by the rules.

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER BİLİMLERİ DERGİSİ

YAYIN HAKLARI DEVRİ SÖZLEŞMESİ

Makale Türü: () Araştırma () Derleme () Olgu Sunumu () Diğer

Makale Başlığı:.....

.....

Biz türü ve başlığı yukarıda belirtilmiş makalenin yazarları olarak; Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi yazım ve yayın şartlarını bilerek ve kabul ederek hazırlayıp yayımlanması dileğiyle Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğüne gönderdiğimiz makalenin orijinal olduğunu, kısmen veya tamamen daha önce yayımlanmadığını veya eşzamanlı olarak başka bir yayın kuruluşuna gönderilmediğini, makale yayımlandıktan sonra ortaya çıkabilecek her türlü bilimsel ve etik sorumluluğun bize ait olduğunu ve Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'nin hiçbir sorumluluk taşımayacağını, danışman ve dergi editörü tarafından gerekli görülen düzeltmelerle birlikte her türlü yayın hakkını, yazının yayımlandığı tarihten itibaren Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'ne devrettiğimizi taahhüt ederiz.

Bununla birlikte yazarların telif hakkı dışında kalan patent vb. tescil edilmiş hakları, yazarların kitap ve dersler gibi çalışmalarında makalenin tümü ya da bir bölümünü ücret ödemeksizin kullanım hakkı, ticari amaçla kullanmamak üzere makaleyi çoğaltma hakkı saklıdır.

Yazarın Adı ve Soyadı
(Makaledeki İsim Sırasına Göre)

İmza

Tarih

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8

Sorumlu Yazar

Adı ve Soyadı:

Adres:

Telefon/Fax:

E-posta:

Tarih:.....İmza:.....

Not: Lütfen formu doldurduktan sonra e-posta adreslerimizden herhangi birine gönderiniz.

DERGİ ADRESİ

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü, 25240 Kampüs/ERZURUM-TÜRKİYE

Tel: +90 442 231 7222, Fax: +90 0442 2317244, E-posta: vetdergisi@atauni.edu.tr/ atavetderg@atauni.edu.tr

ATATÜRK UNIVERSITY JOURNAL OF VETERINARY SCIENCES

COPYRIGHT DECLARATION FORM

Type of Manuscript: () Research () Review () Case Report () Other

Title of Manuscript:.....
.....

We, as the authors of manuscript having type and title aforegiven, declare that; i) this manuscript submitted to The Editor of Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication, as prepared in complying with the instructions for authors, is original, ii), it has not been published partially or totally or submitted synchronously to other publishing body, iii) all the possible scientific and ethical responsibilities, without any further responsibility of The Journal of Ataturk University Veterinary Sciences at all, following the publication of manuscript are belong to us, iv) we transfer all the copyrights along with the corrections recommended by the advisor and Editor to The Journal of Ataturk University Veterinary Sciences following the date of publication of the manuscript.

However, other than the copyright conditions described; i) the authenticated rights (such as patent), ii) the right of use of the manuscript, totally or partially, for scientific activities such as books and lectures, with no charge and iii) dissemination of the manuscript by the authors without commercial purposes are all reserved.

**Name and Surname of the author
(in the manuscript's order)**

Signature

Date

1
2
3
4
5
6
7
8

Corresponding Author

Name and Surname:

Address:

Phone/Fax:

E-mail:

Date:.....

Signature:.....

Note: Please send the form to either of our e-mail addresses after filling in the blanks.

JOURNAL'S ADDRESS

Atatürk University Faculty of Veterinary Sciences, The Editor of Atatürk University J. Vet. Sci., 25240-Campus/Erzurum-TURKEY
Phone: +90 442 2317222, Fax: +90 0442 2317244, E-mail: vetdergisi@atauni.edu.tr or atavetderg@atauni.edu.tr

▶ Derviş ÖZDEMİR, Zekeriya ÖZÜDOĞRU, Hülya BALKAYA. Arterial Vascularization of Kidneys in the Hasmer Sheep (<i>Hasmer Koyununda Böbreklerin Arteriyel Vaskularizasyonu</i>)	121-127
▶ Hasan Ceyhan MACUN, Miyase ÇINAR, Ahmet Kürşat AZKUR, Hakan KALENDER, Serkan ERAT. Oxidative Stress in Akkaraman Ewes with Seropositive for Schmallenberg Virus (<i>Schmallenberg Virüs Seropozitif Akkaraman Koyunlarda Oksidatif Stres</i>)	128-134
▶ Nazli TURKMEN, Halit KANCA, Ayşe GURSOY. Effects of Somatic Cell Count in Goat Milk on Some Physical, Chemical and Sensory Properties of Vanilla Ice Cream (<i>Keçi Sütü Somatik Hücre Sayısının Vanilyalı Dondurmanın Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkileri</i>)	135-140
▶ Serkan YILDIRIM, Saadet BELHAN, Hasan UYAR, Zübeyir HUYUT, Gökhan OTO, Yavuz Selim SAĞLAM. Kronik Olarak Flor ve 7,12-Dimetilbenzantrasene (DMBA) Maruz Kalmanın Ratlarda Spermatogenezis ve Testisin Histopatolojisine Etkileri (<i>Effects of Chronically Exposure to Flor and 7,12-Dimethylbenzanthracene (DMBA) on Spermatogenesis and Testicular Histopathology in Rats</i>)	141-148
▶ Jale KORUN, Gülşen TİMUR, Remziye Eda YARDIMCI, Beytullah Ahmet BALCI. Kültür Gökkuşuğu Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i> , W.)'nda Bazı Kok Türlerinin Neden Olduğu Enfeksiyonların Tespiti Üzerine Bir Çalışma (<i>A Study on Detecting Infections Caused by Some Coccal Species on the Cultured Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss, W.)</i>)	149-158
▶ Başar ALTINTERİM, Ekrem ÖZTÜRK, Filiz KUTLUYER, Önder AKSU. Yeşil Çay Yağının Gökkuşuğu Alabalıklarının (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Yem Değerlendirme Oranına ve Hematolojik Parametrelerine Etkileri (<i>Effects of green tea (Camellia sinensis) Oil on Feed Utilization and Hematological Parameters of Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss)</i>)	159-164
▶ Gülşah GÜNDOĞDU, Ali TAGHİZADEHGHALEHJOUGHİ, Betül ÇİÇEK, Onur ŞENOL, Kemal Alp NALCI, Alper Kürşat DEMİRKAYA, Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU. Glutamat Eksitotoksitesisi Oluşturulan Primer Kortikal Nöron Kültürlerinde Parietinin Nöroprotektif Etkisinin İncelenmesi (<i>Investigation of Protective Effect of Parietin Against Glutamate Excitotoxicity in Primary Cortical Neuron Culture</i>)	165-173
▶ Menekşe SOYDAN, Necati UTLU. Yumurta Tavuğu Rasyonlarına Organik Selenyum ve Vitamin E İlavasının Kan ve Yumurtada Bazı Biyoelement Düzeyleri Üzerine Etkileri (<i>Effects of Organic Selenium and Vitamin E Supplementation on Some Bioelements in Blood and Egg of Laying Hens</i>)	174-181
▶ Gözde YAMAN BÜLBÜL, Leyla MİS, Emin ŞENGÜL, Serkan YILDIRIM, Fikret ÇELEBİ, Ali ÇINAR. Cyclophosphamide İle İndüklenmiş Ratlarda Karaciğer Enzimleri (AST, ALT, ALP) ve Histopatolojisi Üzerine Naringin'in Protektif Etkileri (<i>Protective Effects of Naringin on Liver Enzymes (AST, ALT, ALP) and Histopathology in Cyclophosphamide-Induced Rats</i>)	182-190
▶ Sefer KÜÇÜKER, Şima ŞAHİNDURAN. Antalya İlinde Bulunan Köpeklerde Dirofilariasis, Borreliozis, Ehrlichiosis ve Anaplazmozis'in Hızlı Test Kitleri ile Teşhisi ve İnsidansı Üzerine Araştırmalar (<i>Research in to the seroprevalance of Dirofilariasis, Borreliosis, Ehrlichiosis and Anaplasmosis in Antalya</i>)	191-200
▶ Durhasan MUNDAN, Burhan ATALAR, Bayram Ali MERAL, Mehmet Mahfuz YAKIŞAN. Modern Süt Sığırı İşletmelerinin Yapısal ve Teknik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma (<i>A Research on the Determination of the Structural and Technical Characteristics of Modern Dairy Cattle Enterprises</i>)	201-210
▶ Hakan AYDIN, Mehmet Özkan TİMURKAN. Buzağı İshallerinde Coronavirusun Nükleoprotein Gen ve Rotavirusun VP7/VP4 Gen Bölgelerinin Kısmi Sekansı ve Filogenetik Analizi (<i>Partial Sequence and Phylogenetic Analysis of The Nucleoprotein Gene of Coronavirus and VP7/VP4 Gene of Rotavirus in Calf Diarrhea</i>)	211-218
▶ Yusuf DAĞ, Emin ŞENGÜL, Muzaffer SELÇUK, Serkan YILDIRIM, Fikret ÇELEBİ, Ali ÇINAR. Ratlarda Cyclophosphamide ile İndüklenen Nefrotoksisitede Bazı Hematolojik Parametreler ve Böbreğin Histopatolojisi Üzerine Naringinin Protektif Etkileri (<i>The Protective Effects of Naringin on Some Blood Parameters and Kidney Histopathology in Cyclophosphamide Induced Nephrotoxicity in Rats</i>)	219-228
Derlemeler / Reviews	
▶ Korhan ÖZTURAN, Mustafa ATASEVER. Süt ve Ürünlerinde Mineral Maddeler ve Ağır Metaller (<i>Mineral Elements and Heavy Metals in Milk and Dairy Products</i>)	229-241
▶ Mehmet Ferit CAN. Türkiye Hayvancılık Politikalarının AB ile Etkileşimi ve Olası Sonuçları (<i>The Interaction of Turkey Livestock Policies with the EU and Its Potential Outcomes</i>)	242-250
▶ Taha Burak ELİFOĞLU, Ayhan BAŞTAN. İneklerde Mikoplazmalara Bağlı Mastitisler: Risk Faktörleri, Kontrol ve Korunma Stratejileri (<i>Bovine Mycoplasma Mastitis: Risk Factors, Control and Prevention Strategies</i>)	251-256
Yıl / Year: 2018	Cilt / Volume: 13
Sayı / Issue:2	