

Dicle Univ Vet Fak Derg

ISSN 1307-9972

e-ISSN: 1308-0679



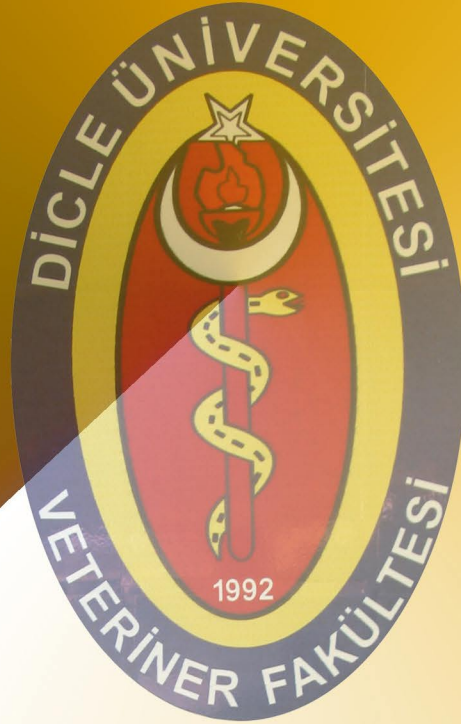
YIL/YEAR: 2018

CİLT/VOLUME: 11

SAYI/ISSUE:2

DİCLE ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

Dicle University Journal of Faculty of Veterinary Medicine



Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Organıdır
Published by Dicle University Faculty of Veterinary Medicine



<http://www.dicle.edu.tr/veteriner-fakultesi-dergisi>
<http://dergipark.gov.tr/duvetfd>



Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi



Dicle Üniv Vet Fak Derg ISSN 1307- 9972

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi adına Sahibi

Prof. Dr. M. Aydın KETANİ

EDİTÖR GRUBU

Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN
Doç. Dr. Hasan İÇEN
Doç. Dr. Hakan SAĞSÖZ
Doç. Dr. Semih ALTAN
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Şener YILDIZ

YAYIN KURULU

Prof. Dr. Narin LİMAN (Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Fahrettin ALKAN (Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Abdullah KAYA (Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Serkan İKİZ (İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN (Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. M. Aydın KETANİ (Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Mehmet KILINÇ (Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Aydın VURAL (Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Beran YOKUŞ (Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Servet BADEMKIRAN (Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Prof. Dr. Umit CİRİT (Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Doç. Dr. Neval Berrin ARSERİM (Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Doç. Dr. Hüsnü Şahan GÜRAN (Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi)
Dr. Öğt. Üyesi Feray ALTAN (Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi)

DANIŞMA KURULU

Prof. Dr. Narin LİMAN, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Kazım ŞAHİN, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Cengiz CEYLAN, Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Aydın GİRGİN, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Burhan ÇETİNKAYA, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Hakkı KARA, Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Murat YILDIRIM, Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Muzaffer TAŞ, Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Emine ÜNSALDI, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Abdurrahman GÜL, Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Necati TİMURKAN, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Nihat ŞINDAK, Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Ülker EREN, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Ali ARSLAN, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Abdullah ÖZEN, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Tekin ŞAHİN, Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Ayşe SERBEST, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. M. Sedat BARAN, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Yılmaz ARAL, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. M. Osman ATLI, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Serkan ERDOĞAN, Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Bülent ELİTOK, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Abit AKTAŞ, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğt. Üyesi Ersin UYSAL, Dicle Üniversitesi
Dr. Öğt. Üyesi Zelay KARAKOÇ, Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi



Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi



Dicle Üniv Vet Fak Derg ISSN 1307- 9972

**Dicle Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
21280 Diyarbakır**

Telefon : 00 90 412 248 80 20
Faks : 00 90 412 248 80 21
e-mail : vetdergi@dicle.edu.tr

<http://www.dicle.edu.tr/veteriner-fakultesi-dergisi>

BİLİMSEL HAKEMLERE TEŞEKKÜR

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisinin 2018-11 (1). sayısındaki makaleleri bilimsel hakem olarak inceleyen, zaman ve emek harcayarak Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisinin kalitesinin artmasına yardımcı olan adları aşağıda belirtilen değerli hocalarımıza sonsuz teşekkürlerimizi sunarız.

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi Editörleri

Berna GÜNEY SARUHAN
Hasan İÇEN
Hakan SAĞSÖZ
Semih ALTAN
Ahmet Şener YILDIZ

Prof. Dr. Yakup CAN SANCAK
Prof. Dr. Aydın VURAL
Prof. Dr. M. Emin ERKAN
Pro. Dr. Servet BADEMKIRAN
Prof. Dr. Nihat ÖZYURTLU
Prof. Dr. Mehmet AVCI
Prof. Dr. M. Enes ALTUĞ
Prof. Dr. Mitat ŞAHİN
Prof. Dr. İsmail Hakkı EKİN
Prof. Dr. Gültekin ATALAN
Doç. Dr. Latif Emrah YANMAZ
Doç. Dr. Alpaslan KUŞVURAN
Doç. Dr. Hüsnü Şahan GÜRAN
Doç. Dr. Erkan DÜZ
Doç. Dr. Ömer KORKMAZ
Doç. Dr. Serkan ERDOĞAN
Doç. Dr. Oktay KAPLAN
Doç. Dr. Hasan Hüseyin ARI
Doç. Dr. M. Hanefi DURAK
Dr. Öğr. Üyesi Berna KANAY
Dr. Öğrt Üyesi Seyithan Seydoşoğlu
Dr. Öğr. Üyesi Aydın Şükrü BENGÜ
Dr. Öğrt. Üyesi Ömer Faruk YEŞİL

İÇİNDEKİLER/CONTENTS

ARAŞTIRMA MAKALELERİ /RESEARCH ARTICLES	Sayfa Page
1. Comparative Evaluation of Intramuscular, Intranasal, Oral and Intraosseal Administration of Midazolam, Ketamine Combination in Quail (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) <i>Sadık YAYLA, Engin KILIÇ, Uğur AYDIN, İlksen DÖNMEZ, Celal Şahin ERMUTLU, Vedat BARAN, Mete CİHAN, İsa ÖZAYDIN, Uğur YILDIZ</i>	60-63
2. Farklı Oranlarda Silolanan Yem bezelyesi (<i>Pisum sativum L.</i>) ve Arpa (<i>Hordeum vulgare L.</i>) Karışımlarının Silaj Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi <i>Yıldız AYKAN, Veysel SARUHAN</i>	64-70
3. Sütçü İneklerde Progesteron (PRID®) ile Desteklenen Ovsycnh Yönteminin Gebelik Oranı Üzerine Etkisi <i>Erdem TOPÇU, Firdevs BİNLİ, Serhan AY</i>	71-76
4. Konya Merinosu Koyunlarda Gebelik İlişkili Glikoproteinlerin Gebelikteki Plazma Profili ve Erken Gebelik Tanısında Kullanılabilirliği <i>Uğur UÇAR, Mehmet KÖSE, Mehmet Osman ATLI</i>	77-82
5. Elazığ Peynirli Ekmeğinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi <i>Bahri PATİR, Hüsnü Şahan GÜRAN</i>	83-87
6. Kadmiyum ile Oluşturulan Deneysel Karaciğer Hasarına Karşı Bal ve Polenin Lipid Peroksidayon ve Bazı Antioksidanlar Üzerine Etkisi <i>Halil ŞİMŞEK, Osman GÜLER</i>	88-92
7. Kurutulmuş Meyve Örneklerinde Mikrobiyolojik Kalite Özelliklerinin Araştırılması <i>Nurgül AKBAL, Aydın VURAL</i>	93-97
DERLEMELER / REVIEWS	
8. Türkiye’de Küçük Ruminantlarda Brusellozun Kontrol ve Eradikasyon Stratejileri <i>Şahin ÇAKIR, Murat YILDIRIM</i>	98-104
9. Kadavra Hazırlamada Kullanılan Solüsyonlar ve Güncel Yaklaşımlar <i>Ruhsar EKİZ, Yasin DEMİRASLAN</i>	105-108
10. Kanola Bitkisi ve Ürünlerinin Ruminant Beslemede Kullanımı <i>Hüseyin NURSOY, Emre ŞAHİN, Fatma TERLEMEZ</i>	109-114
OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS	
11.Type I Monteggia fracture in a kitten; a review on diagnostic and therapeutic methods <i>Uğur AYDIN, Sadık YAYLA, Engin KILIÇ</i>	115-117
12. Bir İvesi Koyununda Baş Bölgesinde Deri Boynuzu (Cornu Cutaneum) Olgusu <i>Alper BAŞA, İbrahim CANPOLAT, Aydın ÇEVİK</i>	118-120



Comparative Evaluation of Intramuscular, Intranasal, Oral and Intraosseal Administration of Midazolam, Ketamine Combination in Quail (*Coturnix coturnix japonica*)

Sadık YAYLA^{1*}, Engin KILIÇ¹, Uğur AYDIN¹, İlksen DÖNMEZ², Celal Şahin ERMUTLU¹, Vedat BARAN¹, Mete CİHAN¹, İsa ÖZAYDIN¹, Uğur YILDIZ¹

¹University of Kafkas, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery Kars, Turkey

²University of Kafkas, Faculty of Medicine, Department of Anesthesia and Reanimation Kars, Turkey

Geliş Tarihi/Received
06.07.2018

Kabul Tarihi/Accepted
20.09.2018

Yayın Tarihi/Published
31.12.2018

Abstract

This study was aimed to compare the effects of different delivery routes of midazolam ketamine combination in quails. Thirty two adult male quails (*Coturnix coturnix japonica*) with a mean weight of 180-220 gr and a 25-week-old were used in this study. The birds were divided into four groups of eight animals each. In group I (Group IM), 6 mg/kg midazolam-100 mg/kg ketamine combination was injected intramuscularly. It was given the same dose of this combination intranasal in the group II (Group IN) and orally in the group III (Group O). In the last group (Group IO), 2 mg/kg midazolam-20 mg/kg ketamine was administered intraosseally. Induction, recovery time and depth of anesthesia were evaluated. Pulse, systolic blood pressure, diastolic blood pressure, respiratory rate and cloacal temperature were also monitored. The anesthesia durations were determined as 28.88±5.87 min in group IM, 13.75±5.18 min in group IN, 14.88±4.79 min in group O and 38.13±8.84 min in group IO, respectively. There were statistically significant differences between groups in terms of both anesthesia duration and physiological values. As a result, intramuscular and oral administration of the midazolam ketamine combination may be preferred to many operative interventions, but intranasal use can be used for clinical examination or diagnostic procedures because it does not provide adequate anesthesia. It can be said that oral and intraosseous use may be preferred in cases requiring longer duration of anesthesia in birds.

Key Words: Intranasal, Intraosseal, Midazolam-ketamine, Oral, Quail

Bırdırcınlarda (*Coturnix coturnix japonica*) Midazolam-Ketamin Kombinasyonunun İntramusküler, İntranasal, Oral ve İntraosseal Olarak Uygulanmasının Karşılaştırmalı Olarak Değerlendirilmesi

Öz

Bu çalışmada midazolam ketamin kombinasyonunun farklı verilmiş yollarının etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmada toplam 32 adet erkek, ortalama 180-220 gr ağırlığında ve 25 haftalık erişkin bırdırcın (*Coturnix coturnix japonica*) kullanıldı. Kuşlar her birinde 8 hayvan olacak şekilde dört gruba ayrıldı. Grup I'de (Grup IM) 6 mg/kg dozunda midazolam-100 mg/kg ketamin kombinasyonu intramusküler olarak enjekte edildi. Grup II'de aynı dozdaki kombinasyon intranasal (Grup IN), III. gruba ise oral (Grup O) olarak uygulandı. Son gruba da 2 mg/kg midazolam-20 mg/kg ketamin intraosseal (Grup IO) olarak uygulandı. Anesteziye giriş ve çıkış süreleri ve anestezi derinliği değerlendirildi. Ayrıca nabız, sistolik ve diastolik kan basınçları ile solunum sayısı ve kloakal ısı takip edildi. Anestezi süreleri sırasıyla grup IM'de 28.88±5.87, grup IN'de 13.75±5.18, grup O'da 14.88±4.79 ve grup IO'de 38.13±8.84 olarak belirlendi. Gruplar arasında hem anestezi süreleri hem de fizyolojik değerler bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu. Sonuç olarak midazolam ketamin kombinasyonunun intramusküler ve oral kullanımı birçok operatif girişim için tercih edilebilir, fakat intranasal kullanım yeterli derinlikte anestezi sağlayamadığından dolayı sadece klinik muayene ve diagnostik işlemler için kullanılabilir. Oral ve intraosseal kullanımın daha uzun süreli bir anestezi gerektiren olgularda tercih edilebileceği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Bırdırcın, İntranasal, İntraosseal, Midazolam-Ketamin, Oral.

INTRODUCTION

Inhalation agents such as halothane, methoxyfluran, and sevoflurane are used to general anesthesia in birds, but inhalation anesthesia is more dangerous in birds than in mammals due to the anatomical and physiological structures of the birds (1,2). In addition, inhalation anesthesia

requires special equipment and the risk of gas waste is a disadvantage (1). For this reason, as an alternative to inhalation anesthesia in birds, different injectable anesthetic agents are used alone or in combination (1,3).

Many investigators recommend ketamine as an appropriate anesthetic agent in birds (1,4,5-8). Despite the widespread use of ketamine in birds, many different sedative agents such as xylazine, detomidine, medetomidine, and midazolam are used for premedication (5-9).

In birds, injectable anesthetics or sedatives can be injected intravenously, intramuscularly or intraosseously, but each of these routes of administration is an invasive procedure and may cause pain during administration, especially intravenous and intrathecal administration. In addition, pain is inevitable during intramuscular injections when the drug used is irritant or increased volumes (10).

Although intranasal use of sedatives used in birds has been reported to be rare, literature has been found on the use of sedatives such as midazolam or xylazine in some species of birds (11-14).

It was aimed to compare the effects of intramuscular, intranasal, oral and intraosseal applied midazolam/ketamine combination on anesthesia and some physiological values in this study in which quail was preferred for being a suitable model for many avian species.

MATERIAL AND METHOD

This study was carried out on 32 clinically healthy mature (25 weeks old) male quails (*Coturnix coturnix japonica*) with 180-220 g body weight from farm of the Kafkas University Veterinary Faculty.

The birds were adapted to their environment for a week before starting work. They were hosted at constant room temperature with a 12-12 h light-dark cycle and fed with a wheat-based diet in accordance with the previous feeding regimen. All experiments were performed in quails deprived of food for 60 min, but allowed free access to water.

The University of Kafkas at Animal Research Ethics Committee of Veterinary Medicine approved all experiments before studies were conducted (KAU-HADYEK 2018/058).

For general anesthesia, the combination of Midazolam HCl (Zolamid® 5mg/5 ml, Defarma-Turkey) and ketamine HCl (Ketasol® 10 ml, Richter Pharma-Austria) was used.

Study Protocols: The birds were divided into four groups on the basis of their exposure route of anesthetics as intramuscular (IM), intranasal (INS), oral (O) and intraosseal (IO). Quails in IM Group (n=8) was anesthetized with combination of 6 mg/kg midazolam and 100 mg/kg ketamine by insulin syringe. Deep pectoral muscle was used for intramuscular injection. In INS group (n=8) the same dose combination was applied intranasally while in group O (n=8) administered orally. Quails in IO Group (n=8) was received combination of 2 mg/kg midazolam and 20 mg/kg ketamine. In IO Group, this combination was diluted in 1:1 ratio with 0.9 % NaCl solution. The left tibia was chosen for intraosseous administration using 17x32 mm needle. After aseptic conditions, it was positioned at flexion to knee joint of quails laid on lateral recumbency. Needle was inserted to medulla of tibia. Loss of resistance against the needle proved that needle was in medullary region. After the injec-

tor is kept in the palm of the hand for a short time, intraosseous injection was performed.

Measurements: Heart rate (HR), respiratory rate (RR), cloacal temperature (CT) and ECG were recorded for each quail before drug administration and at the 1, 5, 10, 20, 30, 40 and 50th minutes after injection. A multi-parametric monitor (Veterinary Monitor® MMED6000DP S6-V, MVM-Hamburg, Germany) was used for these measurements.

Induction time, anesthesia duration and recovery time were assessed by standard painful stimuli as pin-prick and sensory function as righting reflex, feather plucking reflex, palpebral reflex, pharyngeal reflex and eyelid status.

Anesthesia duration was identified as passing time from loss of consciousness to reappearance of sensory function. Standard painful stimuli used for this reason, performed in two ways as superficial (needle used to prick the skin) and deep pin-prick (needle inserted into the muscle). Needle was applied to muscle in different body parts such as neck, pectoral, wings and legs. Also, other body reflexes (righting reflex, feather plucking reflex, pharyngeal reflex) were recorded as previously reported (3-8). In addition, eyelids scored as 0 for closed, 1 for half-opened and 2 for opened.

Statistical analysis; Statistical analysis was performed using the commercial Minitab-16 software program. All results were expressed as the mean±standard deviation (SD). After the parameters were subjected to normality test, nonparametric data (as analgesic scores) was evaluated by the Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney U test. Also, parametric data with time were analyzed using ANOVA (for One-way analysis of variance and Post Hoc Tukey). Differences were considered significant at $P<0.05$.

RESULTS

There was a statistically significant difference between groups in terms of onset and duration of anesthesia ($P<0.05$), in contrast there is no significant difference within groups (Table 1).

All body reflexes disappeared in four groups during anesthesia.

Changes between groups in that HR, RR, CT during anesthesia were shown in Table 2. When compare to baseline values in HR of the groups, there was significant decreased at the 5 to 20 minute in both group IM and group IN, at the 5 to 10 in group O and at the 1 to 40 minute in group IO ($P=0.000$). There were also significant statistical differences between the groups during anesthesia (1, 5, 10, 20, 30 and 40th min after anesthesia).

In all four groups, RR values decreased from the 5th minute after anesthesia and statistically significant differences were found in each group according to the baseline value ($p=0.000$, Table 2). In addition, there were significant statistical differences at the 5, 10, 20, 30 and 40th min between the groups ($p=0.000$).

There was no different significantly between groups in that CT, but there were significantly differences between baseline values and the 10, 20, 30, 40, 50th min within each groups.

Table 1. Body weight, anesthesia onset time and duration of anesthesia of the groups

Groups	Body weight (gram)	Anesthesia onset (second)	Anesthesia duration (minute)
IM (n=8)	199.13±9.05	111.8±11.6 ^a	28.88 ± 5.87 ^a
IN (n=8)	194.88±10.97	184±21.62 ^a	13.75 ± 5.18 ^b
O (n=8)	193.00±10.60	14.88±4.79 ^b	14.88 ± 4.79 ^b
IO (n=8)	197.13±9.36	4.75±3.33 ^c	38.13 ± 8.84 ^c
P	0.643	0.000	0.000

a-c: The differences between the means of time carrying various letters in the same column are statistically significant

Table 2. Effect of HR, RR, CT via the IM, IN, O and IO injections of midazolam/ketamine combination at different time

Values	Groups	Time								P
		0	1	5	10	20	30	40	50	
HR	IM	356.25±6.27 ^a	347.50±3.82 ^{ab}	333.63±4.27 ^b	334.88±3.98 ^b	347.88±4.29 ^{ab}	354.88±6.96 ^a	355.00±6.87 ^a	355.88±5.82 ^a	0.000
	IN	360.50±5.78 ^a	352.50±5.35 ^a	332.63±3.58 ^b	352.38±6.50 ^a	358.63±5.68 ^a	360.50±6.05 ^a	360.25±5.85 ^a	360.00±5.40 ^a	0.000
	O	360.50±5.95 ^a	330.75±15.79 ^b	317.88±12.54 ^b	331.25±15.54 ^{ab}	358.38±5.68 ^a	360.00±6.21 ^a	360.75±5.92 ^a	360.50±5.40 ^a	0.000
	IO	361.00±4.47 ^a	299.38±14.99 ^b	295.25±13.44 ^b	309.8±37.30 ^b	310.50±3.66 ^b	330.63±5.88 ^b	345.88±6.94 ^{ab}	360.00±4.46 ^a	0.000
P		0.329	0.000	0.000	0.003	0.000	0.000	0.000	0.229	
RR	IM	17.12±0.35 ^a	16.87±0.64 ^{ab}	16.62±0.74 ^{ab}	15.00±1.06 ^b	14.25±1.98 ^b	15.25±1.03 ^b	15.87±0.83 ^{ab}	16.87±0.64 ^a	0.000
	IN	17.25±0.46 ^a	17.12±0.65 ^a	16.87±0.83 ^{ab}	15.12±1.35 ^b	15.62±1.18 ^b	15.75±0.70 ^b	16.50±0.75 ^{ab}	17.00±0.75 ^a	0.000
	O	17.35±0.51 ^a	17.25±0.70 ^a	16.87±0.99 ^a	14.75±0.46 ^b	15.25±1.16 ^{ab}	15.25±0.70 ^{ab}	16.75±0.46 ^a	17.25±0.92 ^a	0.000
	IO	17.50±0.53 ^a	17.25±0.88 ^a	13.88±3.23 ^b	10.25±1.38 ^c	9.62±0.74 ^c	10.87±0.83 ^c	13.62±1.50 ^b	17.12±0.99 ^a	0.000
P		0.438	0.702	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.949	
CT	IM	41.21±0.25 ^a	41.06±1.82 ^a	39.82±0.41 ^{ab}	38.82±0.12 ^{ab}	38.41±0.13 ^b	37.56±1.23 ^c	36.90±0.27 ^c	36.20±0.28 ^c	0.000
	IN	41.13±0.51 ^a	39.98±2.14 ^a	39.63±0.52 ^{ab}	38.75±0.58 ^{ab}	38.22±0.24 ^b	37.25±0.96 ^c	36.82±1.83 ^c	36.50±1.33 ^c	0.000
	O	41.07±0.27 ^a	39.94±0.28 ^a	39.00±0.37 ^a	38.96±0.64 ^{ab}	38.33±0.56 ^{ab}	37.36±1.08 ^b	36.73±0.23 ^b	36.92±0.48 ^b	0.000
	IO	41.46±0.86 ^a	40.10±1.36 ^a	39.25±0.74 ^a	38.25±0.75 ^{ab}	37.98±0.47 ^{ab}	37.09±0.85 ^{ab}	36.50±0.64 ^b	36.45±1.27 ^b	0.000
P		0.526	0.418	0.752	0.345	0.218	0.486	0.971	0.705	

a-c: The differences between the means of time carrying various letters in the same line are statistically significant

HR: Heart rate, RR: Respiratory rate, CT: Cloacal temperature

DISCUSSION

In birds, ketamine which is a suitable injectable anesthetic agent is widely used for effective and safe general anesthesia. Sedative agents such as xylazine, detomidine, medetomidine, and midazolam may also be used for premedication or short-term procedures as clinical examination and radiodiagnostic process in birds. These sedative agents can be used alone or in combination with ketamine (7,8,15). In this study, it was aimed to compare the effects of midazolam/ketamine combination administered via intramuscular, intranasal, oral and intraosseal on anesthesia and some physiological values in quail in that a suitable model for many avian species.

The midazolam in the benzodiazepine class has an inhibitory effect on the central nervous system (13). Midazolam is increasingly used in birds to sedation produce, centrally moderate muscle relaxation and anticonvulsant activity. It can be used in different ways such as intramuscular, intravenous and intranasal (16). The midazolam has many advantages such as water solubility, a shorter duration of action and stronger than diazepam and minimal cardiopulmonary side effects (13). It has been reported as 5 mg/kg intravenously dose in broiler chicken, turkeys, ring-necked pheasants and bobwhite quail by Guzman (2014). In our study, intramuscular, intranasal, oral and intraosseal applications were preferred as the route of use. It was used as a combination of midazolam at a dose of 6 mg/kg with ketamine at a dose of 100 mg/kg for intramuscular, intranasal and oral administration. Although the duration of anesthesia and anesthesia onset were different between groups,

this combination was sufficient for anesthesia. We recommend intranasal or oral administration for short-term surgical procedures. Because it is known that birds will suffer from pain during intramuscular injection.

Earlier studies have shown that intraosseous route is a good alternative to the intravenous route for drug administration such as allowed anesthesia and fluid therapy in birds (7,8,15,17). On the other hand, for intraosseal applications, anesthetic dose should be reduced (7,8,15). Therefore, in this study combination of 2 mg/kg midazolam and 20 mg/kg ketamine was used via intraosseal in group IO. Anesthesia in this group was onset faster (4.75±3.33 second) and lasted longer (38.13±8.84 minute) than other groups. Therefore, intraosseal administration of midazolam/ketamine combination for long-term operations can be considered. In addition, bones in communication with air sacs for intraosseal injection should not be used. We think that tibia is a suitable bone for this purpose in terms of its structure and ease of manipulation in birds. In addition, it should not be forgotten that bones may fracture during application.

Midazolam can be given intranasal and it is safe and effective when intranasal administered. In addition, cardiopulmonary changes are insignificant, when the midazolam is intramuscularly administered. However, it was reported that intranasal midazolam decreased respiratory rate but had no effect on hemoglobin saturation and blood gas (13). The changes in HR and RR values in our study were statistically significant among the groups. But the amount of this

decline is expected during anesthesia. So it cannot be said that respiration or circulation is depressed. On the other hand, thermoregulation during anesthesia may be largely depending on respiratory and cardiovascular decrease (7,18). Hypothermia or hyperthermia can contribute to complication and postoperative physiological change. Therefore, changes in CT are minimized by appropriate anesthetic combinations and proper fluid therapy (7). In our study, there was no difference between the groups in CT, but the decrease in CT depending on anesthesia was seen in all groups. Similarly, studies using different sedatives as xylazine, detomidine, medetomidine, and midazolam (3,4,6,8,9) have also shown that the body temperature is lower.

The route of administration of the drug for anesthesia is important. The route of administration is determined by the type of bird, the type of agent to be applied and the duration of the operation. According to the results of our study, the combination of midazolam and ketamine can be used for safe and effective anesthesia in the quail. But the route of administration has significantly changed the duration of anesthesia. So, the veterinary surgeon should decide which of the routes of use. Intranasal or oral use is very easy, but duration of action is shorter than intramuscular and introsseal.

REFERENCES

- Maiti SK, Tiwary R, Vasan P, Dutta A. (2006). Xylazine, diazepam and midazolam premedicated ketamine anaesthesia in White Leghorn cockerels for typhlectomy. *S Afr Vet Ver*, 77 (1): 12-18.
- Mans C. (2014) Sedation of pet birds. *Journal of Exotic Pet Medicine*. 23, 152-157.
- Durrani UF, Khan MA, Ahmad SS. (2008). Comparative efficacy (sedative and anesthetic) of detomidine, ketamine and detomidine-ketamine cocktail in pigeons (*Columbia livia*). *Pakistan Vet J*. 28 (3): 115-118.
- Durrani UF, Ashraf M, Khalid A. (2005). Comparative efficacy of detomidine and detomidine cocktail in quails. *Pakistan Vet J*. 25 (4): 197-199.
- Durrani UF, Ashraf M, Khan MA. (2009). A comparison of the clinical effects associated with xylazine, ketamine and a xylazine-ketamine cocktail in pigeons (*Columba livia*). *Turk J Vet Anim Sci*. 33 (5): 413-417.
- Kamiloglu A, Yayla S, Kamiloglu NN, Ozaydin I, Kurt B: Clinical evaluation of intramuscular and intraosseous xylazine-ketamine anesthesia in quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*. 11(3): 169-174, 2014.
- Yayla S, Kamiloglu N, Kamiloglu A, Ozaydin I: Comparison of intravenous and intraosseous administration of propofol-ketamine combination for anesthesia in quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Kocatepe Vet J*. 7 (1): 11-16, 2014.
- Yayla S, Kamiloglu NN, Kamiloglu A, Ozaydin I, Ermutlu CS. (2015). Comparison of the effects of intramuscular and intraosseal administration of detomidine/ ketamine combination for general anaesthesia in quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Bulg J Agric Sci*. 21, 220-224.
- Akgul MB, Sindak N, Gulaydin A, Ozen D. (2017). Clinical evaluation of xylazine-ketamine and medetomidine-ketamine anesthesia in japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*. 14 (3): 169-176.
- Schaffer DPH, Araujo NNLJ, Raposa ACS, Filho AFM, Vieira JVR, Oria AP. (2017). Sedative effect of intranasal midazolam administration in wild caught blue-fronted amazon (*Amozona aestiva*) and orange-winged amazon (*Amozona amazonica*) parrots. *J Avian Med Surg*. 31(3): 213-218.
- Day TK, Roge CK. (1996). Evaluation of sedation in quail induced by use of midazolam and reversed by use of flumazenil. *J Am Vet Med Assoc*. 209 (5): 969-971.
- Sadegh AB. (2013). Comparison of intranasal administration of xylazine, diazepam, and midazolam in budgerigars (*Melopsittacus undalatus*): Clinical evaluation. *J Zoo Wild Med*. 44 (2): 241-244.
- Moghadam AZ, Sadegh AB, Sharifi S, Habibian S. (2009). Comparison of intranasal administration of diazepam midazolam and xylazine in pigeons: Clinical evaluation. *IJVST*, 1 (1): 19-26.
- Schaffer DPH, Raposa ACS, Liberiou FA, Silva RMM, Araujo NLLJ, Oria AP. (2016). Intranasal administration of midazolam in blue and yellow macaws (*Ara araruana*): Evaluation of sedative effects. *Veterinary Anest Analg*. 43, 459-460.
- Kamiloglu A, Atalan G, Kamiloglu NN. (2007). Comparison of intraosseous and intramuscular drug administration for induction of anesthesia in domestic pigeons. *Res Vet Sci*. 85, 171-175.
- Guzman DSM. (2014). Advances in avian clinical therapeutics. *Journal of Exotic Pet Medicine* 23, 6-20.
- Valverde AD, Bienzle D, Smith DA, Dyson DH, Valliant AE. (1993). Intraosseous cannulation and drug administration for induction of anesthesia in chickens. *Vet Surg*. 22, 240-244.
- English MJ, Papenberg R, Farias E, Scott WAC, Hinchey J. (1991). Heat loss in an animal experimental model. *J Trauma*. 31, 36-38.

Corresponding author:

*Assoc. Dr. Sadik YAYLA

University of Kafkas, Faculty of Veterinary Medicine,
Department of Surgery Kars, Turkey.

e mail: sadikyayla@gmail.com

Tel : 0474 242 68 36



Farklı Oranlarda Silolanan Yembezelyesi (*Pisum sativum L.*) ve Arpa (*Hordeum vulgare L.*) Karışımlarının Silaj Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi

Yıldız AYKAN¹

Veysel SARUHAN^{2*}

¹Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Diyarbakır

^{2*}Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Diyarbakır

Geliş Tarihi/Received
24.09.2018

Kabul Tarihi/Accepted
25.11.2018

Yayın Tarihi/Published
31.12.2018

Öz

Bu araştırma; farklı oranlarda Arpa (*Hordeum vulgare L.*) ve Yem bezelyesi (*Pisum sativum L.*) bitki karışımlarının silolanma kabiliyetlerinin belirlenmesi amacıyla Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma Laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada, yem bezelyesinde GAP pembe çeşidi ile arpada kendal ve samyeli çeşitleri materyal olarak kullanılmıştır.

Silolar 9 farklı oranlarda saf ve karışım olarak oluşturulmuştur (%100 Yem bezelyesi, %100 Arpa (kendal), %100 Arpa (samyeli), %75 Yem bezelyesi + %25 Arpa (kendal), %50 Yem bezelyesi + %50 Arpa (kendal), %25 Yem bezelyesi + %75 Arpa (kendal), %75 Yem bezelyesi + %25 Arpa (samyeli), %50 Yem bezelyesi + %50 Arpa (samyeli), %25 Yem bezelyesi + %75 Arpa (samyeli). Farklı oranlarda oluşturulan silolar 60 gün sonra açıldıktan sonra hem fiziksel (renk, koku, strüktür) hem de bazı kimyasal analizlere (KM, HK, HP, ADF, NDF ve pH) tabi tutulmuştur. Araştırma sonucunda elde edilen bulgular incelendiğinde, tüm uygulamalar arasında KM (Kuru Madde), HK (Ham Kül), HP (Ham Protein), ADF, NDF ve pH değerleri arasındaki farklılık önemli, fiziksel bulgular arasındaki farklılıklar ise istatistik olarak önemsiz bulunmuştur. Bu ve benzeri karışım silajlarında, daha kaliteli silaj yemi elde edilebilmek için karışıma en az % 50 oranında buğdaygil eklenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Yem bezelyesi, Arpa, Silaj, Kalite

Determination of Silage Quality Features of Field Pea (*Pisum sativum L.*) and Barley (*Hordeum vulgare L.*) Mixtures Ensiling at Different Rates.

Abstract

This research; was conducted at the Research Laboratory of the Faculty of Agriculture of Dicle University in order to determine the silting abilities of Barley (*Hordeum vulgare L.*) and Field Pea (*Pisum sativum L.*) plant mixtures at different ratios. In the study, the GAP pink variety on the feed bee and the kendal and samyeli varieties on the barley were used as the material. Silos are formed in pure and mixed forms at 9 different ratios (Field pea %100, Barley (kendal) %100, Barley (samyeli) %100, Field pea %75 + Barley (kendal) %25, Field pea %50 + Barley (kendal) %50, Field pea %25 + Barley (kendal) %75, Field pea %75 + Barley (samyeli) %25, Field pea %50 + Barley (samyeli) %50, Field pea %25 + Barley (samyeli) %75). After 60 days, some physical (color, odor, structure) and chemical analyzes (KM, HK, HP, ADF, NDF and pH) were made in the silos opened. When the findings of the research are examined, the difference between CM (dry matter), HK (crude ash), HP (crude protein), ADF, NDF and pH values was found to be significant among all applications, but differences between physical findings were not significant as statistically. At this and similar mixture silages, it was concluded that better quality silage feed could be obtained by adding at least 50% cereal into the mixture.

Key Words: Field Pea, Barley, Silage, Quality.

GİRİŞ

Yeşil bitkilerin havasız koşullarda fermente edilmesiyle elde edilen silaj materyali özellikle kış aylarında hayvanlar için en önemli taze yem kaynağıdır. Bitki besin maddelerinin çok az kayıpla ve uzun süre bozulmadan saklanabilmesi, kolay hazırlanabilmesi, mekanizasyona uygun olması ve hayvanlar tarafından sevilerek tüketilmesi gibi avantajları nedeniyle silo yemi kullanımının önemi giderek artmaktadır. Son yıllarda artan et ve süt üretiminde silaj kullanımının payı büyüktür. Gelişmiş ülkelerde silo yemi kullanımı ve rasyonların önemli bir kısmının silajdan oluşması oldukça yaygınlaşmıştır (1).

Baklagiller familyasından olan yem bezelyesi yüksek besleme değeri ve iyi bir protein içeriğine sahiptir. Ancak içerdikleri suda çözünabilir karbonhidrat düzeyinin düşük olması nedeniyle tamponlanma kapasiteleri yüksektir ve yalın olarak silolanmaları zordur (2). Buğdaygiller familyasından olan arpa ise karbonhidrat içerikleri yüksek ve tek başına silolanma özelliğine sahip bitkilerdir. Baklagil silajlarının daha kaliteli duruma getirilebilmesi ve de karbonhidrat-protein içeriği bakımından zengin silaj yemi eldesi açısından baklagil ve buğdaygil yembitkilerinin karışım olarak silolanması üzerine yapılan birçok çalışma

bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda baklagillerin tek başına silolanması yerine buğdaygillerle karışım olarak ya da çeşitli katkı maddeleriyle birlikte silolanmasının daha kaliteli silaj yemi oluşturduğu bununla birlikte karışım oranlarının iyi belirlenmesi gerektiği vurgulanmaktadır (3-9).

Bu araştırmada, tek yıllık baklagil yem bitkisi olan yem bezelyesi ile tek yıllık buğdaygil yem bitkisi olan arpa bitkilerinden yapılan silajlarda uygun karışım oranının ve karışım oranlarının silaj kalitesi üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmamızın bitki materyallerini GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü tarafından tescil edilen yem bezelyesi (GAP pambesi), arpa (Kendal ve Samyeli) çeşitleri oluşturmuştur. Silolama için 36 adet 2 kg lık plastik kavanozlar kullanılmıştır.

GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü'nden temin edilen materyaller yüksek su oranlarının düşürülmesi için soldurma işlemi yapıp 3-4 saat gölgede bekletilmiştir. Soldurma işlemleri tamamlanan bitkiler laboratuvar koşullarına alınarak silolama işlemlerine başlatılmıştır. Silajlar farklı oranlarda %100 Yem bezelyesi, %100 Arpa (kendal), %100 Arpa (samyeli), %75 Yem bezelyesi+ %25 Arpa (kendal), %50 Yem bezelyesi+%50 Arpa (kendal), %25 Yem bezelyesi+%75 Arpa (kendal), %75 Yem bezelyesi+%25 Arpa (samyeli), %50 Yem bezelyesi+%50 Arpa (samyeli), %25 Yem bezelyesi+%75 Arpa (samyeli), olacak şekilde toplamda 9 farklı uygulama olarak hazırlanmıştır. Materyaller belirtilen farklı oranlarda tartılıp, karıştırılarak 2 kg'lık 36 tane plastik kavanozlara

iyice sıkıştırılarak yerleştirilmiştir. Bu şekilde iç kısımda kalabilecek boşluklar kapatılarak bidonların hava alması engellenmiştir. Belirtilen oranlardaki tüm karışımlar silolandıktan sonra serin ve gölgelik bir ortamda 60 günlük süre ile bekletilmiş ve bu süre sonunda dikkatli şekilde açılarak fiziksel muayeneleri yapılarak pH değerleri belirlenmiştir. Daha sonra her bidondan numunelerin tümünü temsil edecek biçimde 100 er gramlık örnekler alınarak kurutma dolabında 70 C'de 12 saat ön kurutma işlemi uygulanmıştır. Kurutma işlemi sonrasında materyaller kimyasal analizlere tabi tutulmuştur.

Silaj Rengi (0-2 Puan); Aynı örneklerin renk değerleri hakemler tarafından Tablo 1'deki referanslar kullanılarak puanlandırılmıştır.

Silaj Kokusu (0-14 Puan); Silaj örnekleri derinliği 6-7 cm, boyutları 25x25 cm kadar olan metal kutulara konup, kokusu 5 hakem tarafından Tablo 1 'de belirtilen Alman DLG Standartları'na göre puanlandırılıp saptanan sonuçların ortalamaları alınmıştır.

Silaj Strüktürü (0-4 Puan); Aynı örneklerin fiziksel yapıları, yine hakemler tarafından Tablo 1'deki referanslar kullanılarak puanlandırılmıştır.

DLG Puanı (0-20 Puan); Açılan silo yemlerindeki koku, strüktür ve renk puanı değerlerinin toplanması ve Tablo 1'deki Nitelik Sınıfı derecelendirmesine göre yorumlanmıştır (10).

Flieg Puanı Silajların kalite özelliklerini belirleyen flieg puanı şu formül ile hesaplanmıştır; $FP = 220 + (2 \times \% \text{ Kuru Madde} - 15) - (40 \times \text{pH})$ (11). Flieg puanına göre sınıflandırma Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1. DLG Standartlarına Göre Silo Yeminin Fiziksel Özellikleri ve Değerlendirilmesi

Özellikler	Gözlem	Puan
Koku	Tereyağı asidi kokusu yok, sadece hafif ekşimsi koku, hafif meyvensi veya ekmeğimsi koku	14
	Çok az miktarda tereyağı asidi, kuvvetli ekşi koku veya hafif kızışma ya da küf kokusu	8
	Orta derecede tereyağı asidi kokusu, kuvvetli küf kokusu	4
	Kuvvetli tereyağı asidi kokusu ve amonyak kokusu	2
	Çürük veya pis ve kuvvetli küf kokusu	0
Strüktür	Yaprak ve sap strüktürü normal	4
	Yaprakların strüktürü biraz bozulmuş	2
	Yaprak ve sapların strüktürü belirgin derecede bozulmuş, hafif küflü veya kirli	1
	Yapraklar ve saplar çürümüş, aşırı küflü ve fazla kirli	0
Renk	Yeşil yem renginde (Soldurulmuş silajda hafif esmerce)	2
	Sarı veya esmer kahverengi	1
	Renk çok değişmiş açık sarı veya çok koyu	0

Nitelik Sınıfı: Çok iyi (18-20), İyi (14-17), Orta (10-13), Düşük (5-9) Bozulmuş (0-4) (10).

Tablo 2. Flieg Puanına Göre Silaj Kalitesinin Sınıflandırılması

Not	Puan	Silaj Kalitesi
I	81-100	Çok İyi
II	61-80	İyi
III	41-60	Memnuniyet Verici
IV	21-40	Orta
V	0-20	Kötü

Silaj pH Değeri; Her parselden alınan numuneler ile yapılan silajlardan alınan 10 g örneğe 90 ml su ilave edilip iyice karıştırılıp pH metre ile ölçülmüştür.

Silaj Kuru Madde Oranı (%); Açılan silajdan 100 g örnek alınarak 70o C'de 12 saat kurulumuştur. Kurutma işleminin sonunda hassas terazide tartılıp kuru madde oranları belirlenmiştir.

ADF (Acid Detergent Fiber) (%); Çalışmada kullanılan bitkilerin kuru ot örneklerinde selüloz ve ligninin toplam miktarları Ankom Technology (Ankom 220 fiber sistem) tarafından geliştirilen ADF ve NDF analiz ünitesi ile belirlenmiştir.

NDF (Nötr Detergent Fiber (%); Çalışmada kullanılan çeşitlerin kuru ot örneklerinde hemiselüloz, selüloz ve ligninin toplam miktarları Ankom Technology (Ankom <220 fiber sistem) tarafından geliştirilen ADF ve NDF analiz ünitesi ile belirlenmiştir.

Ham Protein Oranı (%); Kurutulan örnek bitkileri tamamen öğütülüp 1 inç'lik elekten elenmiş ve Kheldahl yönteminin uygulanmasıyla azot oranları saptanmış, azot oranının 6,25 katsayısı ile çarpılmasıyla da ham protein oranları hesaplanmıştır.

Ham Kül Oranı (%); 1 mm'lik elekten geçirilen hava kurusu örneklerden 0,5 g alınıp kül krozelerine bırakıldıktan sonra 550°C deki kül fırınında beyazımsı- grimsi renge dönünceye kadar yaklaşık 4 saat yakılması ve oranlanmasıyla saptanmıştır.

Araştırma sonucunda elde edilen veriler JUMP istatistik paket programında analiz edilmiş, ortalamalar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde AÖF testi uygulanmış olup değişim katsayıları (DK) % olarak hesaplanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Uygulamaların Fiziksel Özelliklerine ait ortalama değerler ve DLG Puanları Tablo 3'te, pH, Kuru Madde ve Flieg Puanlarına ait ortalama değerler ve istatistiki olarak oluşan guruplar Tablo 4'te, ADF, NDF, Ham Protein ve Ham Kül verileri ise Tablo 5'de verilmiştir.

Fiziksel Özellikler (Renk, Koku, Strüktür): Uygulamaların fiziksel özelliklerine (renk, koku ve strüktür) ait ortalama veriler istatistiki olarak önemli bulunmamış ve bu yüzden gruplandırma yapılmamıştır. Silo yemlerinin

kalitesinin belirlenmesinde kullanılan birçok kimyasal yöntemin dışında daha basit, düşük maliyetli ve her koşulda uygulanabilecek fiziksel yöntemler de bulunmaktadır. Bunlar genel olarak renk, koku ve strüktürdür. Bu özelliklere bakılarak silaj kalitesi hakkında ön bilgileri elde etmek mümkündür. Çalışmada elde edilen silajların fiziksel özelliklerine ait veriler Tablo 3'te verilmiştir. Görüldüğü üzere tüm uygulamalara ait renk ortalama değeri 1.5 puan olarak tespit edilmiş, ortalama değerler 1.25-2.00 arasında puan değişimi göstermiştir. Bu değerler iyi bir silaj yapıldığının fiziksel göstergelerinden biridir. Özellikle %25 Yem bezelyesi +% 75 Arpa (samyeli) uygulamasının en iyi sonucu verdiği görülmektedir. Silo yemlerinin kalitesinin belirlenmesinde kullanılan bir diğer fiziksel özellik ise kokudur. Silajların açıldığı anda kendine özgü turşu benzeri bir kokusu olmalıdır. Ancak koku aşırı keskin, küf benzeri ya da istenmeyen asit benzeri kokular ise fermantasyonun istenilen şekilde olmadığı ve yapım esnasında içine karışan havanın silajı olumsuz etkilediği anlaşılır. Tüm uygulamalara ait koku ortalama değeri 13.27 puan olarak tespit edilmiş, ortalama değerler 12.50-14.00 puan arasında değişim göstermiştir. Bu değerler Tablo 1'de görüldüğü üzere çok iyi ve iyi derecede silajlara ait koku değerleridir. Özellikle, %25 Yem bezelyesi +%75 Arpa (samyeli) uygulaması 14.00 puan ortalama değeriyle en iyi sonucu vermiştir. Silo yemleri açıldığı zaman kullanılan materyallerin yaprak ve saplarının bozulmadan kalması çok önemlidir. Yapışkan, sümüksü ya da parçalanmış görüntüde olan silajların yapısal olarak bozulmuştur ve istenilen düzeyde fermantasyonu gerçekleştirememiştir. Ayrıca silajlarda toprak zerrecikleri bulunmamalı ve sıcaklık yüksek olmamalıdır. Bu kriterler silajların strüktürünü belirleyen temel öğelerdir. Silajların, strüktür ortalama verilerine baktığımızda 2.5-3.5 puan arasında değişim gösterdiğini ve tüm uygulamalara ait ortalama değerlerin ise 3.29 puan olduğunu görmekteyiz. Elde edilen bu değerler silaj strüktürlerinin arzu edilen seviyelerde olduğunu göstermektedir.

DLG Puanı: Uygulamalar arasında DLG puanı açısından farklılık istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Bununla birlikte, elde edilen DLG puanları 17 ile 19 puan arasında değişim göstermiştir Tablo 3. Bu puanlar nitelik açısından yapılan silajların kaliteli olduğunu göstermektedir.

Tablo 3. Uygulamaların Fiziksel Özelliklere Ait Ortalama Değerler ve DLG Puanları.

Uygulamalar	Renk	Koku	Strüktür	DLG
%100 Yem bezelyesi	1.75	13.50	2.50	17.75
%100 Arpa (samyeli)	1.75	13.00	3.00	17.75
%100 Arpa (kendal)	1.50	12.50	3.00	17.00
%75 Yem bezelyesi+%25 Arpa (samyeli)	1.50	12.50	3.00	17.00
%75 Yem bezelyesi +%25 Arpa (kendal)	1.25	13.50	3.00	17.75
%50 Yem bezelyesi +%50 Arpa (samyeli)	1.25	13.50	3.00	17.75
%50 Yem bezelyesi +%50 Arpa (kendal)	1.00	13.50	3.50	18.00
%25 Yem bezelyesi +%75 Arpa (samyeli)	2.00	14.00	3.00	19.00
%25 Yem bezelyesi +%75 Arpa (kendal)	1.50	13.50	2.50	17.50
Ortalama	1.50	13.27	2.94	17.72
LSD	1.48 ÖD	2.98 ÖD	3.29 ÖD	4.86 ÖD

** p<0.01 Düzeyinde Önemli, * p<0.05 Düzeyinde Önemli, ÖD. Önemsiz Derece

Yem bezelyesi çeşidi yalın olarak silolandığında 17.5 DLG puanına sahipken, %50 Kendal Arpa çeşidi ile silolandığında DLG Puanı 18 olurken, %75 Samyeli Arpa çeşidi ile silolandığında DLG puanı 19'a ulaşmıştır.

Genel olarak, fiziksel özellikler ve sonrasında hesaplanan DLG puanlarına bakıldığında yalın olarak hazırlanan silaj materyallerine oranla %50 - %75 arpa çeşitlerinin yer aldığı karışım silajlarında daha kaliteli silaj elde edildiği görülmektedir.

Tablo 4. Uygulamaların pH, Kuru Madde ve Flieg Puanı Ortalama Değerler ve Oluşan Guruplar

Uygulamalar	pH	KM %	FLIEG
%100 Yem bezelyesi	3,93 cd	19.23 g	86.56 e
%100 Arpa (samyeli)	4,05 b	30.98 a	105.16 a
%100 Arpa (kendal)	4,12 a	26.30 b	92.70 cd
%75 Yem bezelyesi+%25 Arpa (samyeli)	3,90 d	21.21 ef	91.52 d
%75 Yem bezelyesi +%25 Arpa (kendal)	3,95 cd	20.15 fg	87.03 e
%50 Yem bezelyesi +%50 Arpa (samyeli)	3,93 cd	22.87 cd	93.55 cd
%50 Yem bezelyesi +%50 Arpa (kendal)	3,93 cd	22.17 de	92.05 cd
%25 Yem bezelyesi +%75 Arpa (samyeli)	4,00 bc	26.83 b	98.87 b
%25 Yem bezelyesi +%75 Arpa (kendal)	3,92 d	23.58 c	95.36 c
Ortalama	3,97	23.70	93.64
LSD	0,15 **	2.51 **	6.83 **

** p<0.01 Düzeyinde Önemli, * p<0.05 Düzeyinde Önemli, Ö.D. Önemsiz Derece

pH Değerleri: Silajların pH değerleri arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur (p<0.01). Tablo 4'te görüldüğü üzere en yüksek silaj pH değeri 4.12 ile %100 Arpa (kendal)' dan elde edilirken, en düşük pH değeri ise 3.92 ile %25 Yem Bezelyesi + %75 Arpa (kendal) karışımından elde edilmiştir. Tüm uygulamalar açısından bakıldığında ortalama silaj pH değeri 3.97 olarak hesaplanmıştır.

Fermantasyon kalitesini ortaya koyan özelliklerden olan silajın pH değeri, yemlerin yeteri kadar ekşiyip-ekşimediklerini belirleyen önemli bir ölçüttür (12). Kaliteli bir silaj yapmanın temel kurallarından biri silaj pH seviyesinin düşürülebilmesidir (13). Silaj materyalinde arzu edilmeyen bakteri, maya ve küflerin gelişimi silajın pH'sını arttırarak silaj kalitesinin düşmesine ve dolayısıyla da stabilitenin azalmasına neden olmaktadır (14). Yaptığımız çalışmada, karışımında Kendal çeşidi oranı arttıkça pH değerinin azaldığı, ancak Samyeli çeşidi oranı arttıkça pH değerinin arttığı görülmektedir. Bu durumun arpa çeşit özelliğinden kaynaklandığını ve Samyeli çeşidinin kolay

fermente edilen karbonhidrat oranının Kendal çeşidine oranla daha az olmasından kaynaklandığını söyleyebiliriz.

Kuru Madde Oranları (%): Silajların Kuru Madde Oranları arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur (p<0.01). En yüksek silaj kuru madde oranı %30.98 ile %100 Arpa (samyeli)'dan elde edilirken, en düşük silaj kuru madde oranı ise %19.23 ile %100 Yem Bezelyesinden elde edilmiştir. Uygulamalar açısından bakıldığında ise ortalama kuru madde oranı %23.75 olarak hesaplanmıştır. Karışımlar içerisinde artan Arpa oranlarına bağlı olarak kuru madde artışında da yükselme olmuştur. Genel olarak buğdaygiller familyasına ait bitkilerin kuru madde içerikleri baklagiller familyasına ait bitkilere oranla daha fazladır. Özellikle çiçeklenme başlangıcında hasat edilen baklagillerde bu oran silolanma için oldukça yetersizdir. Böylelikle, karışıma dahil edilen arpa çeşitlerinin karışımdaki oranlarının artmasıyla birlikte oluşan silajlarda kuru madde oranı da artış göstermiştir. Yapılan benzer çalışmalarda; yem bezelyesinin kuru madde içeriğinin düşük olmasından dolayı, yem bezelyesinin yalın

olarak silolanmasının silaj kalitesini düşüreceği, bu yüzden buğdaygiller ile karışım olarak silolanmasının silaj kalitesini arttıracığı ve bu tür karışımlarda buğdaygil oranının %50-%75 olması gerektiği bildirilmektedir (4,5,15).

Flieg Puanı: Uygulamalara ait Flieg Puanları arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$). En yüksek flieg puanı 105.16 ile %100 Arpa (samyeli)'den elde edilirken, en düşük flieg puanı ise 86.56 ile %100 Yem Bezelyesinden elde edilmiştir. Tüm uygulamalar için ortalama flieg puanı ise 93.64 olarak hesaplanmıştır. Silaj pH değeri ve kuru madde içeriği değerlerinden

yararlanılarak elde edilen flieg puanı, silajların hangi kalite sınıfında yer aldığını gösterir. Silajlar 0-100 arasında puan olarak kötü-pekiyi arasındaki sınıflarda yer alırlar. Flieg puanının yüksek olması silaj kalitesinin de arttığını gösterir (16). Uygulamalara ait flieg puanlarından da anlaşıldığı üzere tüm silajlarda kalitenin yüksek olduğu, bununla birlikte karışımlarda arpa oranının artmasına paralel Flieg puanlarının da arttığı görülmektedir. Karışımlar içerisinde en yüksek Flieg Puanını 98.87 ile %25 Yem bezelyesi + %75 Arpa (samyeli) uygulaması oluşturmuştur.

Tablo 5. Uygulamaların ADF, NDF, Ham Protein ve Ham Kül, Verilerine Ait Ortalama Değerler ve Oluşan Guruplar

Uygulamalar	ADF %	NDF %	HP %	HK %
%100 Yem bezelyesi	35.33 c	55.02 d	18.29 a	8.31 b
%100 Arpa (samyeli)	39.86 a	69.76 a	13.97 cd	8.22 b
%100 Arpa (kendal)	36.14 bc	64.78 b	12.16 e	8.27 b
%75 Yem bezelyesi+%25 Arpa (samyeli)	35.92 bc	63.85 b	14.26 c	8.27 b
%75 Yem bezelyesi +%25 Arpa (kendal)	40.50 a	59.28 c	17.47 ab	8.46 b
%50 Yem bezelyesi +%50 Arpa (samyeli)	36.03 bc	65.27 b	14.43 c	8.33 b
%50 Yem bezelyesi +%50 Arpa (kendal)	36.28 bc	63.73 b	16.64 b	10.14 a
%25 Yem bezelyesi +%75 Arpa (samyeli)	35.84 bc	59.20 c	14.60 c	8.40 b
%25 Yem bezelyesi +%75 Arpa (kendal)	39.02 ab	64.73 b	13.00 de	8.17b
Ortalama	37.21	62.84	14.98	8,50
LSD	7.29*	3.37**	2.33**	1,46 *

** $p<0.01$ Düzeyinde Önemli, * $p<0.05$ Düzeyinde Önemli, Ö.D. Önemsiz Derece

ADF Oranları (%): Silajların ADF Oranları arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). En yüksek ADF oranı %40.50 ile %75 Yem Bezelyesi+ %25 Arpa (kendal) karışımından elde edilirken, en düşük ADF oranı ise %35.33 ile %100 Yem Bezelyesinden elde edilmiştir. Uygulamaların genel ortalama ADF oranı %37.21 olarak hesaplanmıştır, Tablo 5.

ADF (Acid Detergent Fiber); NDF (Neutral Detergent Fiber/Nötral Deterjan Sellülozu) içerisinden hemi-selüloz çıkartılarak elde edilir ve hayvanın enerji alımı hakkında ipucu veren önemli bir göstergedir. Yem maddesi içerisinde lifin zor sindirilen selüloz ve lignin veya sindirilemeyen kısmını ifade etmektedir. ADF oranı ile silaj kalitesi ve sindirilebilirlik arasında ters orantı olduğu için bu oranın çok yüksek olması istenmez. Yurtiçi ve yurtdışında yapılan benzer çalışmalar incelendiğinde; Carr ve arkadaşları Amerika'nın Kuzey Dakota eyaletinde % 34,4-38,5, Strydhorst ve arkadaşları Kanada Parkland bölgesinde % 26,9-29,5, Durul İzmir (Bornova) ekolojik koşullarında % 37, Kökten ve arkadaşları Bingöl ekolojik koşullarında % 28.16-38.54 ve Koçer tarafından Isparta ekolojik koşullarında yapılan çalışmalarda da ise % 25.97-34.75 arasında değişen ortalama ADF değerleri bulduklarını bildirmektedirler (17,18,19,20,21). Çalışmamızdan elde ettiğimiz ADF değerlerimiz kısmen benzerlik göstermektedir.

NDF Oranları (%): Silajların NDF Oranları arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$). En yüksek NDF oranı %69.76 ile %100 Arpa (samyeli)'den elde edilirken, en düşük NDF oranı ise %55.02 ile %100 Yem Bezelyesinden elde edilmiştir. Uygulamalar açısından bakıldığında ise ortalama NDF oranı %62.84 olarak hesaplanmıştır Tablo 5.

Yurtiçi ve yurtdışında yapılan benzer çalışmalar incelendiğinde; Amerika'nın Kuzey Dakota eyaletinde Carr ve arkadaşları %48,1-58,4, Strydhorst ve arkadaşları Kanada Parkland bölgesinde %41,8-55,2, Durul İzmir (Bornova) ekolojik koşullarında %45,8, Kökten ve arkadaşları Bingöl ekolojik koşullarında % 41,34-46,72 ve Koçer tarafından Isparta ekolojik koşullarında yapılan çalışmada %38,40-59,41 arasında değişen ortalama NDF değerleri tespit ettiklerini bildirilmektedir (17,18,19,20,21). Elde ettiğimiz NDF değerleri istenilen oranlardan yüksek bulunmuştur. Buna çalışmamızda kullandığımız bitki materyallerinin çeşit özelliklerinin farklı olması neden olabilir. Oransal değişikliklerin çeşitlerin bitki hücre yapısının farklılığından ve içerdikleri selüloz, lignin ve hemiselüloz oranlarının farklı olmasından kaynaklandığı da söylenebilir.

Genel olarak silajda yer alan ADF ve NDF oranlarının düşük olması istense de bu oranların yüksek olması bazı ruminantlarda tükürük salgısını teşvik eden rumen pH oranının olması gereken değerlerde tutarak sindirimde yer alan selülotik ve amilolitik bakteriler ve mayalara gereken ortamı sağlamakta ve oluşabilecek bazı metabolik hastalıkları önlemektedir (22).

Ham Protein Oranları (%): Silajların ham protein oranları arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$). En yüksek ham protein oranı %18.29 ile %100 Yem Bezelyesinden elde edilirken, en düşük ham protein oranı ise %12.16 ile %100 Arpa (kendal) çeşidinden elde edilmiştir. Uygulamalar açısından bakıldığında ise ortalama ham protein oranı %14.98 olarak hesaplanmıştır, Tablo 5.

Baklagil familyasından olan bitkiler yüksek oranda ham protein içeriğine sahiptirler. İçerdikleri ham protein

miktarı buğdaygiller familyasından olan bitkilere oranla genel olarak daha fazladır. Dolayısıyla yapılan silajlarda yem bezelyesinin karışımlardaki oranının artmasıyla silajlarda, protein içeriğinin de yüksek olması beklenen bir durum oluşturmıştır.

Ülkemiz farklı lokasyonlarında yürütülen benzer çalışmalarda sırasıyla %7,1-23,5, %13,33 ve %10,7-13,63 aralıklarında ham protein değerleri elde edildiği bildirilmektedir (8,19,23). Ham protein verilerimiz bu çalışmalarda bildirilen ham protein değerleriyle uyumluluk göstermektedir.

Ham Kül Oranları (%): Silajların ham kül oranları arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). En yüksek ham kül oranı %10.14 ile %50 Yem Bezelyesi+ %50 Arpa (kendal) karışımından elde edilirken, en düşük ham kül oranı ise %8.17 ile %25 Yem Bezelyesi + %75 Arpa (kendal) karışımından elde edilmiştir. Tüm uygulamalar açısından bakıldığında ortalama ham kül oranı ise %8.50 olarak hesaplanmıştır, Tablo 5.

Ham kül; yem numunesinin 550°C'de yakılmasının ardından geriye kalan ve inorganik madde içeren kül oranının % olarak ifade edilmesi ile elde edilen kimyasal analiz yöntemlerinden biridir. Ham kül içeriği, bitkinin içerdiği toplam mineral madde hakkında fikir verdiği için önemli bir özelliktir. Genel olarak yem bitkilerinin içerdiği tüm minerallerin tek tek analiz edilmesi zor, zaman alıcı ve yüksek maliyetli olduğu için sıklıkla ham kül analizleri ile bilgi edinilmeye çalışılmıştır (24).

Besin elementlerinin mikro düzeydeki özellikleri hakkında bilgi verme özelliği olan ham kül miktarının literatürlerde kabul edilen genel yargıya göre yükseliş eğiliminde olması olumlu olarak nitelendirilmektedir. Elde ettiğimiz ham kül değerleri incelendiğinde karışımlarda samyeli çeşidi arttıkça ham kül oranının arttığı, ancak kendal çeşidi arttıkça oranının değişkenlik gösterdiği görülmektedir. İki çeşit arasındaki besin elementi içerik ve miktarlarının farklılığı karışımda ham kül oranının da değişimine neden olmuştur.

SONUÇ

Genel olarak çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar ışığında; baklagiller familyasından olan yem bezelyesinin yalın olarak silolanmasından ziyade buğdaygillerle karışım olarak silolanmasının daha kaliteli bir silo yemi elde etmek açısından daha uygun olacağı, bununla birlikte yem bezelyesi + arpa karışımlarından yapılan silolarda karışıma en az % 50 oranında arpa ilave edilmesi gerektiği ve bu tip karışım silajlarında kullanılan çeşitler arasında da kalite kriterleri açısından farklılıklar görülebileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Sarıççek ZB, Ayan İ, Garipoğlu AV. (2002). Mısır ve bazı baklagillerin tek ve karışık ekilmelerinin silaj kalitesine etkisi. OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 17(3): 1-5.
2. Lättemäe P, Tamm U. (2002). The improvement of lucerne silage quality by using additives and lucerne-grass mixtures. J of Agri Sci. 6: 337-341.
3. Başbağ M, Gül İ, Saruhan V. (1999). Diyarbakır Koşullarında Bazı Tek Yıllık Baklagil ve Buğdaygil Karışımlarında Farklı Karışım Oranlarının Verim ve Verim Unsurlarına Etkisi. Türkiye III. Tarla Bitkileri Kongresi, 15-20 Kasım 1999, Adana-Türkiye.
4. Dumlu Z, Tan M. (2009). Erzurum şartlarında yetişen bazı baklagil yem bitkileri ve karışımlarının silaj değerlerinin belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fak. Der., 40(2): 15-21.
5. Fayetörbay D, Dumlu GZ, Tan M. (2011). Yem bezelyesi buğday ve yem bezelyesi-çayır otu karışımlarının silaj değerlerinin belirlenmesi. Türkiye IX. Tarla Bitkileri Kongresi, 12-15 Eylül 2011, Bursa-Türkiye.
6. Lithourgdis AS, Vlachostergios DN, Dordas CA, Damalas CA.(2011). Dry matter yield, nitrogen content and competition in pea-cereal intercropping systems. Eur. Journal Agron. 34: 287-294.
7. Saruhan V, Demirel R. (2018). Quality improvements of alfalfa (*Medicago sativa* L.) silage using ensiled pear (*Pyrus communis* L.) as carbohydrate source. Fresenius Environmental Bulletin, 27 (4): 2562-2566.
8. Saruhan V, Demirel R, Baran MS, Şentürk DD. (2010). Sarı Çiçekli Gazal Boynuzu (*Lotus corniculatus*) ve Arpanm(*Hordeum vulgare*) Farklı Düzeylerdeki Kaşınlarının Silolanına Özelliklerinin Belirlenmesi. Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Anadolu Tarım Bilimler Dergisi, 26(1): 40-45.
9. Yıldırım S, Özasan-Parlak A. (2016). Triticale ile bezelye, bakla ve fiğ karışım oranlarının belirlenerek yem verimi ve kalitesine etkileri. ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi. 4 (1): 77-83.
10. D.L.G. (1987). B wertung von Grünfütter, Silage und Heu, Merkblatt, No:224,DLG- Verlag, Deutschland.
11. Comberg G. (1974). Garfütter: betriebswirtschaft, Erzeugung, Verfütterung. Verlag Eugun Ulmer: Stuttgart, Germany, 260 s.
12. İptaş S, Avcıoğlu R. (1996). Silajlarda Fermantasyon Ürünleri İle Nitelik Belirleme Yöntemleri Arasındaki İlişkiler. Türkiye 3. Çayır-Mera ve Yem bitkileri Kongresi, 17-19 Haziran 1996. Erzurum-Türkiye.
13. Liu QH, Shao T, Zhang JG. (2013). Determination of aerobic deterioration of corn stalk silage caused by aerobic bacteria. Animal Feed Science and Technology, 183(3): 124-131.
14. Danner H, Holzer M, Mayrhuber E, Braun, R. (2003). Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. Applied and Environmental Microbiology, 69(1): 562-567.
15. Balabanlı C, Albayrak S, Türk M, Yüksel O. (2010). A research on determination of hay yields and silage qualities of some vetch-cereal mixtures. Turkish J. Field Crops, 15(2): 204-209.
16. Kılıç A. (1986). Silo yemi, Bilgehan Basımevi, İzmir.
17. Carr PM, Horsley RD, Poland WW. (2004). Barley, Oat, and Cereal-Pea Mixtures as Dryland Forages in the Northern Great Plains. Agronomy Journal. 96: 677-684.

18. Strydhorst SM, King JR, Lopetinsky KJ, Harker KN. (2008). Forage Potential of Intercropping Barley with Faba Bean, Lupin , or Field Pea. *Agronomy Journal*. 96: 182- 190.
19. Durul G. (2016). Farklı Biçim Zamanlarının Tatlı Sorgum (*Sorghum Bicolor* L. Moench var. *Saccharatum*) Ve Fasulye (*Phaseolus Vulgaris*) Silaj Karışımlarında Bazı Kalite Özelliklerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, s.54, İzmir.
20. Kökten K, Boydak E, Kaplan M, Seydoşoğlu S, Kavurmacı Z. (2013). Bazı soya fasulyesi (*Glycine max* L.) çeşitlerinde yapılan silajların besin değerlerinin belirlenmesi, *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 2 (2): 7-10.
21. Koçer A. (2011). Yem bezelyesi (*Pisum sativum* spp. *arvense* L.)'nin yulaf ve arpa ile karışımlarında ot verim ve kalitelerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. s.47, Isparta.
22. Tekce E, GÜL M.(2014). Ruminant Beslemede NDF ve ADF'nin Önemi, *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.* 2014; 9(1): 63-73.
23. Yıldırım S. (2017). Triticale İle Yem Bezelyesi, Bakla ve Macar Fiği Karışım Oranlarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, s.45, Çanakkale.
24. Kutlu HR. (2008). Yem Değerlendirme ve Analiz Yöntemleri. Çukurova Üni. Ziraat Fakültesi, Zootehni Bölümü, Adana.

Teşekkür

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü tarafından "Ziraat.16.010" nolu proje ile desteklenmiştir. Katkılarından dolayı D.Ü. BAP Koordinatörlüğüne teşekkür ederiz.

Yazışma Adresi:

* Doç. Dr. VeySEL SARUHAN
Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı,
21280, Diyarbakır, Türkiye
e-posta: vsaruhan@dicle.edu.tr



Sütçü İneklerde Progesteron (PRID®) ile Desteklenen Ovsynch Yönteminin Gebelik Oranı Üzerine Etkisi

Erdem Topçu¹, Firdevs Binli², Serhan Serhat Ay²

¹Tarım ve Orman Bakanlığı Ayvacık İlçe Müdürlüğü, Samsun-Türkiye

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Samsun-Türkiye

Geliş Tarihi/Received
06.11.2018

Kabul Tarihi/Accepted
23.12.2018

Yayın Tarihi/Published
31.12.2018

Öz

Ovsynch yönteminin progesteron ile desteklenmesinin sütçü ineklerde gebelik oranları üzerine etkisi araştırılmıştır. Toplam 50 adet Holstein Fresian ırkı inek, iki gruba ayrılarak kullanılmıştır. Grup 1 (G1; n=30)'e ovsynch prosedürü: 0. gün GnRH (Gonadorelin diasetat tetrahidrat, 100 µg/inek, i.m., Ovarelin®, Ceva, Türkiye), 7. gün PGF2α (Dinoprost, 25 mg/inek, i.m., Enzaprost-T®, Ceva, Türkiye), 9. gün 2. GnRH uygulanmış ve takip eden 16. saatte suni tohumlama yapılmıştır. Grup 2 (G2; n=20)'ye G1'den farklı olarak intravaginal PRID Delta® (1,55 g Progesteron, Ceva, Türkiye) yerleştirilmiş ve 0. gün ile 7. gün arasında tutulmuştur. Gebelik kontrolleri tohumlama sonrası 45-60. günler arasında rektal palpasyon ile yapılmıştır. G1 ve G2 için postpartum gün 59,93±8,72 ile 59,25±14,17 gün (P>0,05); süt verimi 26,16±4,93 ile 28,80±6,77 kg (P>0,05); laktasyon sayısı 1,90±0,53 ile 1,75±0,44 (P>0,05); vücut kondisyon skoru 3,27±0,42 ile 3,25±0,30 (P>0,05) olarak belirlenmiştir. Gruplar kendi içlerinde gebe ve gebe olmayan şeklinde alt gruplara ayrılarak yukarıdaki parametreler yönünden karşılaştırıldıklarında da önem bulunamamıştır. G2'de gebelik oranı %60,00 ile G1'in %53,33 oranından daha yüksek olmasına rağmen, istatistiksel olarak önem belirlenmemiştir (P>0,05). Sonuç olarak, ovsynch prosedürünün progesteron ile desteklenmesinin gebelik oranlarında artışa yol açabileceği, PRID'in bu amaçla kullanılabileceği ancak konuyla ilgili daha fazla çalışma yapılmasının gerekli olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Gebelik, inek, ovsynch, progesteron

The Effect of Ovsynch Protocol Combine with Progesterone (PRID®) on Pregnancy Rate in Dairy Cows

Abstract

The effects of ovsynch protocol combine with progesterone on pregnancy rate in dairy cows were investigated. A total of 50 Holstein-Fresian cows, divided into two groups were used. In groups 1 (G1; n=30) were received ovsynch protocol: GnRH (Gonadorelin diasetat tetrahidrat, 100 µg/cow, i.m., Ovarelin®, Ceva, Turkey) on d0, PGF2α (Dinoprost, 25 mg/cow, i.m., Enzaprost-T®, Ceva, Turkey) on d7, 2nd GnRH on d9 were applied and subsequent 16th hours artificial insemination were preformed. In Grup 2 (G2; n=20) unlike the G1 a progesterone source PRID-Delta® (1.55 g Progesteron, Ceva, Türkiye) were inserted intravaginally during day 0 to 7. Pregnancy diagnosis was performed by rectal palpation on days post-AI 45-60. Postpartum days 59.93±8.72 and 59.25±14.17 days (P>0.05); milk yield 26.16±4.93 and 28.80±6.77 kg (P>0.05); lactation number 1.90±0.53 and 1.75±0.44 (P>0.05); body condition scores 3.27±0.42 and 3.25±0.30 (P>0.05) were found for G1 and G2, respectively. When the groups were divided into two subgroups as pregnant and non-pregnant animals, there was no significance between the above parameters. Although the pregnancy rates as 60.00% in G2 supported by progesterone were higher than G1 (53.33%), there was not found significance between the groups (P>0.05). Conclusion: Applied progesterone to support ovsynch protocol may increase pregnancy rates and PRID may use this purpose. However more studies are needed to confirm the results.

Key Words: Pregnancy, cow, ovsynch, progesterone

GİRİŞ

Süt inekçiliğinde uygun gebelik oranı işletmenin üretkenliği ve karlılığını etkileyen en önemli faktörlerden birisidir. Son 50 yılda laktasyondaki ineklerin gebelik oranlarında ve diğer fertilité parametrelerinde önemli oranda düşme şekillenmiştir. Gebelik oranında azalmanın en büyük nedenleri arasında konsepsiyon oranlarındaki ve östrus gözlemindeki

azalma gelmektedir (1). Yapılan çalışmalar östrus belirlenme oranı ile tohumlamanın zamanında yapılması arasında doğrudan bağlantı olduğunu göstermiştir. Östrus takibi amacıyla ister klasik (gözlem ve takvim yöntemi) ister teknik (vaginal ısı ölçümü, kondüktivimetre, progesteron testi, pedometre, basınca duyarlı atlama dedektörü veya kuyruk

boyası gibi) yöntemler kullanılsın (2), östrus belirleme oranlarında %50'den fazla kayıpların olabileceği belirtilmektedir (3).

İneklerde östrus tespit edilmesindeki kayıplar gebelik başına düşen tohumlama sayısı, gebelik indeksi, doğum-gebe kalma aralığı ve buzağılama aralığı gibi fertilitite parametrelerini olumsuz etkileyerek reproduktif etkinliği azaltmakta ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır (4). Bu parametrelerin önemli göstergeleri arasında yer alan konsepsiyon ve gebelik oranı, her yıl için ABD'de %0,45 İngiltere'de ise %1,0 oranında azalmaktadır (5).

Yukarıda anılan olumsuzlukları ortadan kaldırmak için geliştirilen randevulu suni tohumlamanın yapıldığı östrus senkronizasyon yöntemlerinden ilki ovsynch yöntemidir. Bu yöntemde; yeni bir folliküler dalga başlatmak amacıyla hormonal durum, spontan veya indüklenen CL'un yaşam süresi ve dominant follikülün ovule olması kontrol edilebilmektedir. Ancak tüm bu avantajlarına rağmen yöntemde %10-30 arasında başarısızlık olabilmektedir. Dezavantajları ortadan kaldırmak için yapılan çalışmalarda, yöntemden progesteron varlığında daha iyi sonuç alındığının (1) bildirilmesi üzerine bu konu ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ancak yapılan çalışmalar profesyonel işletmelerde gerçekleştirilmiştir. Ülkemizde çoğunluğu oluşturan yarı-profesyonel işletmelerde (profesyonel işletme mantığı ile projelendirilen ancak aile işletmesi mantığıyla yönetilen), anılan kombinasyonun etkisi yeterli düzeyde araştırılmamıştır.

Bu amaçla, sunulan çalışmada, ovsynch+progesteron kombinasyonunun, yarı-profesyonel bir çiftlikte, ilk tohumlamadaki gebelik oranı üzerine etkisi araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Sunulan çalışma Orta Karadeniz bölgesinde, yarı açık ahır sisteminde barındırılan, özel bir süt sığırcılığı işletmesinde gerçekleştirildi. Çiftlik şartları değerlendirildiğinde, sürüde kayıt tutmada aksaklıklar olduğu (özellikle yapılan tedavilerin girilmediği), hayvan bakıcısı sayısının ve hayvana dair bilgisinin yetersiz olduğu, rasyonun ticari bir yem firması tarafından yapıldığı belirlendi. Yapılan çalışmada, çiftlikte daha önce sadece çift doz PGF2α senkronizasyon yöntemi dışında bir yöntem kullanılmadığı öğrenildi.

Çiftlikte yapılan kontrol ve değerlendirmeler sonucunda birinci ve ikinci laktasyonda bulunanlar, normal doğum yapmış olanlar, genel sağlık ve reproduktif problemi (uterus ve ovaryum patolojisi, metabolik ve postpartum sorunlar) olmayan ve postpartum 45-90. günler arasında olan hayvanlar çalışmaya dahil edildi. İnekler TMR rasyonla beslenmekteydi ve su ad-libitum olarak verilmekteydi. Çalışmaya alınan hayvanların ortalama postpartum günü 59,66 ± 11,05 gün, ortalama süt verimi 27,19 ± 5,8 kg ve vücut kondisyon skoru 3,2 ± 0,3 (5 puan üzerinden) olarak belirlendi.

Çalışma toplam 50 adet Holstein-Fresian ırkı inek iki gruba ayrılarak gerçekleştirildi. Grup 1 (G1; n=30)'e klasik

ovsynch protokolü uygulandı. Buna göre 0. gün GnRH (Gonadorelin diasetat tetrahidrat, 100 µg/inek, i.m., Ovarelin®, Ceva, Türkiye), 7. gün PGF2α (Dinoprost, 25 mg/inek, i.m., Enzaprost-T®, Ceva, Türkiye), 9. gün ikinci GnRH (birinci uygulamayla aynı şekilde) uygulaması yapıldı. Son enjeksiyondan 16 saat sonra suni tohumlamalar gerçekleştirildi. Grup 2 (G2; n=20) ise ovsynch ve progesteron kombine grubu olarak oluşturuldu. Bu gruba ovsynch protokolü ve tohumlama G1 ile aynı şekilde uygulandı. Ancak 0. gündeki GnRH enjeksiyonu ile birlikte progesteron (1,55 g Progesteron, PRID-Delta®, Ceva, Türkiye) intravaginal olarak yerleştirildi ve 7. günde PGF2α enjeksiyonu yapılmadan hemen önce çıkarıldı. Tüm tohumlamalar aynı veteriner hekim tarafından gerçekleştirildi. Gebelik teşhisi tohumlama sonrası 45-60. günde rektal palpasyonla yapıldı. Sunulan çalışmada ilk tohumlamada ki gebelik oranı, gebe hayvan sayısının tohumlanan hayvan sayısına oranı ile belirlendi. Çalışmada elde edilen veriler, hem gruplar arasında hem de grup içinde, gebe ve gebe olmayanlar arasında karşılaştırıldı.

İstatistiksel hesaplamalar IBM SPSS® Statistics Versiyon 21,0 (USA) programı kullanılarak gerçekleştirildi. Gruplara ait ortalama veriler descriptive statistics kullanılarak belirlendi. Yapılan homogenite testi sonucunda değerlerin homojen dağılmadığı belirlendi. Bu yüzden postpartum gün, süt verimi, laktasyon sayısı ve vücut kondisyon skorlarının karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi uygulandı. İki grup arasındaki istatistiksel farklılık "T-test" ve yüzde oranları arasındaki farklılıklar da "Chi-square" testi ile ortaya konuldu. P < 0,05 değerleri önemli kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma süresince hayvanlarda herhangi bir genel sağlık ve jinekolojik problem gelişmemiştir. Enjeksiyon bölgelerinde apse, kıl dökülmesi gibi herhangi bir lezyon ile karşılaşmamıştır. Yedinci gün sonunda PRID'ler çıkarılırken neredeyse tüm hayvanlarda hafif dereceden orta dereceye değişen, kokusuz ve sarımsı renkle karakterize vaginitis belirlenmiştir.

Çalışmada grupların gebelik oranları arasında istatistiksel fark belirlenmemiştir. G1'de 16 hayvan G2'de ise 12 hayvan gebe kalmıştır. Gebe olmayan hayvanların sayısı ise G1 ve G2 için sırasıyla 14 ve 8 olarak belirlenmiştir. Tablo 1'de grupların gebelik oranları verilmiştir.

Gruplara ait postpartum gün, süt verimi, laktasyon sayıları ve VKS arasında istatistiksel yönden önemli bir fark bulunamamıştır (P > 0,05; Tablo 1).

Çalışmada gruplara ait verilerin gebe ve gebe olmayanlar şeklinde iki alt gruba ayrıldığında elde edilen değerler tablo 2'de verilmiştir. Verilerin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılmasında postpartum gün, süt verimi, laktasyon sayısı ve vücut kondisyon skoru arasında önem belirlenmemiştir (P > 0,05; Tablo 2)

Tablo 1. Grupların ortalama postpartum gün, süt verimi, laktasyon sayısı ve VKS'si.

Parametre	G1	G2	P değeri
Gebelik Oranı (%; n)	53,33 (16/30)	60,00 (12/20)	ns
Postpartum gün (X ± SD, gün)	59,93 ± 8,72	59,25 ± 14,17	ns
Süt verimi (X ± SD, kg)	26,16 ± 4,93	28,80 ± 6,77	ns
Laktasyon sayısı (X ± SD, no)	1,90 ± 0,53	1,75 ± 0,44	ns
VKS (X ± SD, puan)	3,27 ± 0,42	3,25 ± 0,30	ns

ns (önemsiz): aynı satırdaki değerler arasında önem yoktur (P > 0,05).

Tablo 2. Gruplar arasında gebelik durumuna göre postpartum gün, süt verimi, laktasyon sayısı ve VKS değerleri.

Parametre	Gebelik durumu	G1 (X ± SD)	G2 (X ± SD)	P değeri
Postpartum süre (gün)	+	60,00 ± 8,02	57,75 ± 13,13	ns
	-	59,85 ± 9,81	61,50 ± 16,26	ns
	P değeri	ns	ns	
Süt verimi (kg)	+	26,41 ± 5,62	28,80 ± 6,77	ns
	-	25,85 ± 4,12	30,75 ± 5,00	ns
	P değeri	ns	ns	
Laktasyon sayısı (no)	+	1,82 ± 0,52	1,75 ± 0,45	ns
	-	2,00 ± 0,55	1,75 ± 0,46	ns
	P değeri	ns	ns	
VKS (puan)	+	3,19 ± 0,38	3,20 ± 0,25	ns
	-	3,30 ± 0,45	2,50 ± 0,53	ns
	P değeri	ns	ns	

ns (önemsiz): aynı satırdaki/sütündeki değerler arasında önem yoktur (P > 0,05).

+: Gebelik var ; -: Gebelik yok

TARTIŞMA

Ovsynch yöntemdeki birinci GnRH enjeksiyonu, ineklerin %65'inde, dominant folikülün ovulasyonu veya luteinizasyonunu sağlar. Ovulasyon şekillendiye 1,5-2 gün sonra yeni bir folliküler dalga gelişir. GnRH ile uyarılmış veya spontan gelişmiş olsun bu folliküler dalga sonucu 7 gün içinde seleksiyon olur veya dominant follikül gelişir. Bu dönem içinde uygulanan PGF2α ise luteolizise neden olur ve dominant follikülün büyümesi ve olgunlaşması gerçekleşir. Bu enjeksiyondan 48 saat sonra yapılan ikinci GnRH enjeksiyonu preovulatör LH pikini tetikler ve enjeksiyondan yaklaşık 28 saat sonra ineklerin %85'inde ovulasyon şekillenir (1,6).

Ovsynch yöntemine östrus siklusunun herhangi bir döneminde başlanılabilesine rağmen, yukarıda da görüldüğü gibi, folliküler dalganın dönemi ile yöntemin başarısı arasında önemli bir ilişki söz konusudur. Yönteme başlanıldığında folliküler dalga dönemine göre; ilk GnRH enjeksiyonuna cevap alamama, PGF2α uygulamadan önce dominant follikülün atreziye uğraması ve birinci GnRH ile PGF2α uygulaması arasında spontan (prematür) luteolizis şekillenmesine bağlı olarak senkronizasyon başarısında %10 ile 30 arasında azalma şekillenmekte ve gebelik oranı azalmaktadır (1).

Ovsynch'in bu dezavantajı yönteme seksüel siklusun orta-erken dönemlerinde veya yöntemin progesteron uygulaması kombine edilmesiyle ortadan kaldırılmaktadır (1). Bu sayede yönteme başlanıldığında, ortamdaki progesteronun hipotalmus üzerine olan olumsuz geri bildirim sonucunu,

erken luteolizisi ve sonucunda şekillenen erken östruslar engellenebilmektedir.

Laktasyondaki süt ineklerinde yapılan çalışmalarda, ovsynch uygulaması sonucu elde edilen gebelik oranları farklılık göstermektedir; %42,20 (7), %46,2 (8), %50,0 (9), %53,84 (10), %66,66 (11), %76,9 (12).

Ovsynch+progesteron kombinasyonunun kullanıldığı çalışmalarda da farklı gebelik oranları elde edilmiştir. Bu çalışmalarda gebelik oranları ovsynch gruplarında %22,8 ile %50,1 arasında, ovsynch+progesteron gruplarında ise %28,9 ile %59,3 arasında bulunmuştur (13-18). Bisinotto ve ark. (2015) birçok benzer çalışmayı değerlendirdikleri çalışmalarında ovsynch+progesteron kombinasyonun, özellikle suni tohumlama sonrası 60. günde, gebelik şansını %10 oranında artırdığını belirlemiştir (18). Aynı çalışmada, ovsynch yöntemine yapılan progesteron desteğinin %84,2 oranında yararlı olduğunu gösterilmiştir.

Sonuçların bu kadar farklı olmasında hayvanların postpartum dönemi, ovaryum üzerindeki yapılar (seksüel siklusun dönemi), beslenme, vücut kondisyon skoru (VKS), tohumlama zamanı, laktasyon sayısı, süt verimi, ovaryum patolojileri, suni tohumlama zamanı gibi bir çok faktörün ovsynch yönteminden alınan sonucu etkilemektedir (19-24).

Sunulan çalışmada gebelik oranları ovsynch grubunda (G1) %53,33; ovsynch+progesteron grubunda (G2) ise %60,00 olarak saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçlar bir çok araştırmacının (13-18) 60. gündeki gebelik sonuçlarından daha yüksek bulunurken Kara ve ark. (2011) ile Emre ve ark. (2012) sonuçlarıyla benzer bulunmuştur (9,10).

Yapılan çalışmalar birinci GnRH enjeksiyonu sonucu elde edilen ovulasyon oranı ile ovsynch başarısı ve elde edilen gebelik oranı arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermiştir. Prosedüre proöstrus, metöstrus ve geç diöstrus dönemlerinde başlanılan uygulamalarda birinci GnRH enjeksiyonuyla sağlanan ovulasyon oranı düşmekte ve başarı oranı azalmaktadır (6,25,26). El-Zarkouny ve ark. (2004) siklusun herhangi bir döneminde başlatılan ovsynch uygulamalarında %53, erken diöstrus döneminde başlatılanlardan ise %70 ovulasyon elde edildiğini rapor etmiştir (13). Bu nedenle ovsynch uygulamasına siklusun 5-12. günleri arasında başlanması ilk GnRH uygulamasına cevabı dolayısıyla da gebelik oranını artırmaktadır (26,27). Ovsynch protokolünde, birinci GnRH ile PGF2 α arasındaki yedi günlük sürede yapılan progesteron uygulaması, erken östrus oluşumunu engelleyip, folliküler gelişimin senkronizasyonunu sağlamaktadır (28,29).

Sunulan çalışmada ovsynch uygulamalarına, rektal palpasyonda ovaryum muayenesinde ovaryumları aktif olan inekler, siklus dönemleri belirlenmeden alınmıştır. Dolayısıyla bu çalışmada folliküler dönemin etkisi değerlendirilememiştir. Ancak progesteron desteği uygulanan grupta daha yüksek gebelik oranı elde edilmesinin, yukarıdaki bilgiye paralel olarak, birinci GnRH-PGF2 α aralığında ovulasyonların senkronize edilebilmesinden kaynaklandığı şeklinde yorumlanabilir.

Bu çalışma bakım besleme koşullarının bir örnek olduğu tek bir çiftlikte gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya normal doğum yapan herhangi bir genel ve reproduktif problemi bulunmayan hayvanlar dahil edilmiştir. Ayrıca gruplar arasında postpartum gün, süt verimi, laktasyon sayısı ve VKS açısından bir fark bulunamamıştır ($P > 0,05$). Aynı parametrelerin grup içi değerlendirilmesinde de fark belirlenmemiştir ($P > 0,05$). Bu bulgular ovsynch sonucu etkileyen faktörler arasında sayılan beslenme, bakım, postpartum gün sayısı laktasyon sayısı ve süt verim düzeyleri ile VKS değerlerinin her iki grup için eşit olduğunu göstermektedir.

Sunulan çalışmada gebelik oranlarının diğer çalışmalardan daha yüksek bulunması, çalışmaya başlanıldığında her iki grubun postpartum süresinin ortalama 59 gün civarında olmasından kaynaklanabilir. Postpartum 70. günden önce başlanılan ovsynch uygulamalarının gebelik oranını düşürdüğü, bu nedenle yonteme en erken postpartum 70-75. günde başlanması gerektiği bildirilmiştir (19-21). Benzer şekilde, Tenhagen ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada ovsynch yöntemine, tohumlamaların laktasyonun 73-81. günleri arasında denk gelecek şekilde başlanılmasının daha uygun olacağını bildirmiştir (24). Sunulan çalışmada uygulamalara başlanılma günü her iki grup için laktasyonun (postpartum gün) yaklaşık 60. gündür ve tohumlama zamanı yaklaşık olarak yukarıdaki yazarın bildirdiği zamana denk gelmektedir.

Bilindiği gibi yüksek süt verimi reproduktif verimliliği olumsuz etkilemektedir (30-32). Sunulan çalışmada kullanı-

lan hayvanların süt verimin çok yüksek olmaması da (ortalama 26-28 kg) elde ettiğimiz gebelik oranları açıklayabilir.

Yapılan çalışmalar VKS düzeyleri 3,00 olan hayvanlarda tohumlama başarısının daha yüksek olduğunu, >3,25 ve <2,75 olanlarda ise düşük olduğunu bildirmiştir (33). Bu çalışmada VKS değerleri gruplar arasında önemsiz ama ortalama olarak 3,27 ve 3,25 ile, Klindworth ve ark. (2001) çalışması doğrultusunda sınırdadır bulunmuştur (33). Bu faktörde gebelikleri olumlu etkilediği düşünülmektedir.

Prosedür sonrası gebelik kontrollerinin yapıldığı zamanda, embriyonik ölümlere bağlı olarak, alınan sonucu etkilemektedir. Stevenson ve ark. (2006), 28. günde gebelik oranlarını ovsynch grubunda %25 ile 56 arasında ovsynch+CIDR grubunda ise %33-72 arasında bulmuştur (34). Ancak bu oranlar embriyonik ölümlerden dolayı azalmış ve 56. günde ovsynch grubunda %24-47 arasına, ovsynch+CIDR grubunda ise %25-51 arasına gerilemiştir. Sunulan çalışmada gebelik oranları tohumlama sonrası 45-60. günler arasında tek seferde, rektal palpasyonla yapılmıştır. Dolayısıyla çalışmada embriyonik ölüm oranları değerlendirilmemiştir. Ancak yukarıdaki bilgi dikkate alındığında çalışmamızda 28-30 günlük gebelik oranlarının daha yüksek olabileceği kanaati oluşmaktadır.

Ovsynch yöntemine suni tohumlama başarı oranını etkileyen faktörler arasındadır. Yapılan çalışmalar tohumlamaların ikinci GnRH sonrası 0. ile 32. saatler (35) arasında yapılabileceğini ancak en başarılı sonuçların 16. saatte yapılan tohumlamalardan alınacağını göstermiştir (36,37). Bu bilgiler doğrultusunda sunulan çalışmada tohumlamalar en yüksek başarı oranını elde etmek için ikinci GnRH uygulamasından 16 saat sonra yapılmıştır. Çalışmada elde edilen yüksek gebelik oranlarının bir nedeni de tohumlama zamanı olabilir.

Sunulan çalışmada değerlendirilen postpartum gün, süt verimi, laktasyon sayısı ve vücut kondisyon skoru gruplarda gebe kalan ve kalmayan hayvanlara göre ayrılarak değerlendirilmiş ancak değerlendirilen parametreler arasında istatistiksel yönden önemli bir fark bulunamamıştır. Elde ettiğimiz bu sonuç, grupların sonuçları değiştirmeyecek şekilde dağıldığını göstermektedir.

SONUÇ

Sonuç olarak, çalışmada ovsynch+PRID grubunda, herhangi bir istatistiksel önem bulunmasa da, %6,67 oranında daha yüksek gebelik oranı elde edilmiştir. Bu değer, yarı-profesyonel çiftlik şartlarında ovsynch yönteminden başarılı sonuç alınabileceğini ancak yöntemin progesteron ile kombine edildiği takdirde gebelik oranlarında artış sağlanabileceğini göstermektedir. Ancak, konuyla ilgili daha fazla, ayrıntılı çalışmalar yapılması gereklidir.

KAYNAKLAR

- Pursley JR, Bello NM. (2007) Ovulations Synchronization Strategies in Dairy Cattle Using PGF2 α and GnRH. In: Large Animal Theriogenology Younquist RS, Threlfall WR, (eds) 2nd ed. pp. 286- 293, Saunders Elsevier. Philadelphia, USA
- Sarıbay MK, Erdem H. (2008) İneklerde Gözlem Yöntemi ile Östrus Tespiti. Vet Hekim Der Derg. 79(3): 43-50.
- Senger PL. (1994) The Estrus Detection Problem: New Concepts, Technologies and Possibilities. J Dairy Sci, 77: 2745–2753.
- López-Gatiús, F, Vega-Prieto B. (1990) Pregnancy Rate of Dairy Cows Following Synchronization of Estrus With Cloprostenol, hCG and Estradiol Benzoate. Zentralbl Veterinarmed A 37(6): 452-454.
- López-Gatiús, F. (2003) Is Fertility Declining in Dairy Cattle? A Retrospective Study in Northeastern Spain Theriogenology. 60: 89- 99.
- Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. (1995) Synchronization of Ovulation in Dairy Cows Using PGF2 α and GnRH. Theriogenology. 52: 1067- 1078.
- Nak Y, Nak D, Seyrek İntaş K et al. (2005) Ovsynch, PRID + PGF2 α + PMSG ve Norgestomet İçeren Kulak İmplantı + PGF2 α + PMSG İle Sağıtılan Siklik ve Asiklik Sütçü İneklerde Kızgınlık ve Gebelik Oranlarının Karşılaştırılması. Uludag Univ J Fac Vet Med, 24: 33- 39.
- Aral F, Çolak M. (2002) Esmer İrk İnek ve Düvelerde GnRH-PGF2 α -GnRH ve PGF2 α ile Östrüs ve Ovulasyon Senkronizasyonu ve Dölverim Performansı. Turk J Vet Anim Sci. 28: 179-184.
- Kara U, Ayaşan T, Hızlı H, Gök K. (2011) Ovsynch Protokolünün İnek ve Düvelerin Gebelik Oranı Üzerine Etkisi. Erciyes Üniv Vet Fak Derg. 8(1): 1- 8.
- Emre B, Zonturlu AK, Korkmaz Ö. (2012) Sütçü İneklerde Ovsynch Protokolünü Takiben Uygulanan Flunixin Meglumın'ın Gebelik Oranı Üzerine Etkisi. Harran Üniv Vet Fak Derg. 1(2): 88- 91.
- Emre B, Korkmaz Ö, Zonturlu AK. (2014) Sütçü İneklerde Ovsynch Protokolüne İkinci GnRH Uygulamasının Geciktirilmemesinin Gebelik Oranı Üzerine Etkisi. Atatürk Üniv Vet Bil Derg, 9(3): 187- 193.
- Çevik M, Selçuk M, Doğan S. (2010) Comparison of Pregnancy Rates After Timed Artificial Insemination in Ovsynch, Heatsynch and CIDR-Based Synchronization Protocol in Dairy Cows. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 16 (1): 85- 89.
- El-Zarkouny SZ, Cartmill JA, Hensley BA, Stevenson JS. (2004) Pregnancy in Dairy Cows After Synchronized Ovulation Regimens With or Without Presynchronization and Progesterone. J Dairy Sci. 87: 1024- 1037.
- Melendez P, Gonzales G, Aguilar E et al. (2006) Comparison of Two Estrus- Synchronization Protocols and Timed Artificial Insemination in Dairy Cattle J Dairy Sci, 89: 4567- 4572.
- Walsh RB, Leblanc SJ, Duffield TF et al. (2007) The Effect of a Progesterone Releasing Intravaginal Device (PRID) on Pregnancy Risk to Fixed-time Insemination Following Diagnosis of Non-Pregnancy in Dairy Cows. Theriogenology. 67(5): 948-956.
- McDougall S, Burke CR MacMillan KL, Williamson NB. (1995) Patterns of Follicular Development During Periods of Anovulation in Pasture-fed Dairy Cows After Calving. Res Vet Sci. 58: 212– 216.
- Herlihy MM, Berry DP, Crowe MA, Diskin MG, Butler ST. (2011) Evaluation of Protocols to Synchronize Estrus and Ovulation in Seasonal Calving Pasture-Based Dairy Production Systems. J Dairy Sci. 94(9): 4488- 4501.
- Bisinotto RS, Castro LO, Pansani MB et al. (2015) Progesterone Supplementation to Lactating Dairy Cows Without a Corpus Luteum at Initiation of the Ovsynch Protocol. J Dairy Sci . 98(4): 2515- 2528.
- Nebel RL, Jobst SM. (1998) Evaluation of Systematic Breeding Programs for Lactating Dairy Cows: A Review. J Dairy Sci. 81: 1169- 1174.
- O'Connor ML. (2005) Estrus Synchronization Programs for the Dairy Herd. Dairy and Anim Sci. 01-35. <http://www.dairyweb.ca/Resources/USWebDocs/EstrousSync h1.pdf> ,
- Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS et al. (1997) Pregnancy Rates per Artificial Insemination for Cows and Heifers Inseminated at a Synchronized Ovulation or Synchronized Estrus. J Dairy Sci, 80: 295- 300.
- Navanukraw C, Redmer DA, Reynolds LP et al. (2004) A Modified Presynchronization Protocol Improves Fertility to Timed Artificial Insemination in Lactating Dairy Cows. J Dairy Sci. 87(5): 1551- 1557.
- Peters MW, Pursley JR. (2002) Fertility of Lactating Dairy Cows Treated With Ovsynch After Presynchronization Injections of PGF2 α and GnRH. J Dairy Sci. 85: 2403- 2406.
- Tenhagen BA, Surholt R, Wittke M et al. (2004) Use of Ovsynch in Dairy herds--differences between Primiparous and Multiparous Cows. Anim Reprod Sci. 81(1-2): 1- 11.
- Vasconcelos JLM, Silcox RW, Rosa GJM, Pursley JR, Wiltbank MC. (1999) Synchronization Rate, Size of the Ovulatory Follicle and Pregnancy Rate After Synchronization of Ovulation Beginning on Different Days of the Estrus Cycle in Lactating Dairy Cows. Theriogenology. 52: 1067- 1078.
- Moreira F, Orlandi C, Risco CA et al. (2001) Effect of Presynchronization and Bovine Somatotropin on Pregnancy Rates to a Timed Artificial Insemination Protocol in Lactating Dairy Cows. J Dairy Sci, 84: 1646-1659.
- Cartmill JA, El-Zarkouny SZ, Hensley BA, Lamb GC, Stevenson JS. (2001) Stage of Cycle, Incidence and Timing of Ovulation and Pregnancy Rates in Dairy Cattle After Three Timed Breeding Protocols. J Dairy Sci. 84: 1051- 1059.
- Martinez MF, Kastelic JP, Adams GP et al. (2002) The Use of Progesterone in Regimens for Fixed Time Artificial Insemination in Beef Cattle. Theriogenology. 57: 1049- 1059.
- Stevenson JS, Lamb GC, Johnson SK et al. (2003) Supplemental Norgestomet, Progesterone or Melengestrol Acetate Increases Pregnancy Rates in Suckled Beef Cows After Timed Inseminations. J Dairy Sci, 81: 571- 586.
- Lean IJ, Galland JC, Scott JL. (1989) Relationships Between Fertility, Peak Milk Yields and Lactational Persistency in Dairy Cows. Theriogenology. 31(5): 1093- 1103.
- Nebel RL, McGilliard ML, (1993) Interactions of High Milk Yield and Reproductive Performance in Dairy Cows. J Dairy Sci. 76(10): 3257- 3268.
- Macmillan KL, Lean IJ, Westwood CT. (1996) The Effects of Lactation on the Fertility of Dairy Cows. Aust Vet J. 73(4): 141-147.
- Klindworth HP, Hoedemaker M, Burfeindt D, Heilkenbrinker T. (2001) Synchronization of Ovulation (OVSYNCH) in High-producing Dairy Cattle Herds. I. Fertility Parameters, Body Condition Score and Plasma Progesterone Concentration. Dtsch Tierärztl Wochenschr. 108(1): 11- 9.

34. Stevenson JS, Pursley JR, Garverick HA et al.. (2006) Treatment of Cycling and Noncycling Lactating Dairy Cows with Progesterone During Ovsynch. J Dairy Sci. 89(7): 2567- 2578.
35. Olson J. (1999) Improving Pregnancy Rates in High Producing Herds. Western Dairy Management Conference, Las Vegas, Nevada .
36. Pursley JR, Silcox RW, Wiltbank MC. (1998) Effect of Time of Artificial Insemination on Pregnancy Rates, Calving Rates, Pregnancy Loss and Gender Ratio After Synchronization of Ovulation in Lactating Dairy Cows. J Dairy Sci. 81: 2139- 2144.
37. Peeler ID, Nebel RL, Pearson RE, Swecker WS, Garcia A. (2004) Pregnancy Rates After Timed AI of Heifers Following Removal of Intravaginal Progesterone Inserts. J Dairy Sci. 87(9): 2868- 2673.

Yazışma Adresi:

*Doç. Dr. Serhan Serhat Ay
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum
ve Jinekoloji AD Samsun-, Türkiye
e-posta: serhan.ay@gmail.com



Konya Merinosu Koyunlarda Gebelik İlişkili Glikoproteinlerin Gebelikteki Plazma Profili ve Erken Gebelik Tanısında Kullanılabilirliği

Uğur UÇAR¹, Mehmet KÖSE^{1*}, Mehmet Osman ATLI¹

¹Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Sur, Diyarbakır, Türkiye

Geliş Tarihi/Received
02.11.2018

Kabul Tarihi/Accepted
23.12.2018

Yayın Tarihi/Published
31.12.2018

Öz

Gebelik ile ilişkili glikoproteinler (PAGs) koyunları da kapsayan ruminantlarda gebelikte trofoblastik hücrelerden üretilmektedir. Sunulan bu çalışmada Konya Merinosu koyunlarda erken gebelik ve tüm gebelik boyunca kan plazmasındaki PAGs konsantrasyonunun belirlenmesi amaçlandı. Toplam 16 baş gebe koyun kullanıldı. Çalışmanın birinci aşamasında (gebelik boyunca PAGs profilinin izlenmesi) 8 baş koyundan gebeliğin 0, 55, 85, 113 ve 145. günlerinde kan plazması toplandı. İkinci aşamada (erken gebelikteki PAGs profilinin belirlenmesi) ise gebeliğin 18, 21, 25, 28 ve 35. günlerinde kan plazma örnekleri toplandı. Elde edilen plazma örneklerinde PAGs değerleri ticari (Sheep Pregnancy Associated Glycoproteins) ELISA kiti ile ölçüldü. Sonuçlar değerlendirildiğinde gebeliğin 0. gününde plazmada bazal seviyede PAGs olduğu tespit edilmiştir (14,99±1,63 ng/ml). Birinci aşamadaki veriler; gebeliğin 0. günü ile kıyaslandığında; gebeliğin 55, 85, 113 ve 145. günlerindeki değerleri arasında istatistikî olarak önemli bir fark tespit edilmiştir (p<0,05). İkinci aşamada ise gebeliğin 35. gününde plazma PAGs değerinin 18. gün ile kıyaslandığında önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir (p<0,05). Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde Konya Merinosu koyunlarda gebelik boyunca plazma PAGs düzeyinin sürekli artan bir profil çizdiği görülmektedir. Yine bu sonuçlara göre çalışmada kullanılan PAGs kiti ile Konya Merinosu koyunlarda en erken 35. günde gebelik teşhisi yapılabileceği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Gebelik, Gebelik Teşhisi, Gebelik ile İlişkili Glikoproteinler, Koyun.

Plasma Profile of Pregnancy Related Glycoproteins during Pregnancy in Konya Merino Sheep and Its Application for Early Pregnancy Diagnosis.

Abstract

Pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) are produced by embryonic trophoblastic cells during pregnancy in ruminants, including ewes. The present study aimed to determine the PAGs concentration in blood plasma during early pregnancy and throughout pregnancy in Konya Merino ewes. For this purpose; sixteen pregnant sheep were used. For the first section of the study (PAGs profile monitoring during pregnancy), blood plasma samples were collected on days of 0, 55, 85, 113 and 145 during pregnancy in ewes (n=8). For the second section (determination of PAGs profile in early pregnancy), blood plasma samples were collected on days of 18, 21, 25, 28 and 35 during the early pregnancy in ewes (n=8). The plasma PAGs concentrations were measured by commercial ELISA kit. There was a basal PAGs concentration on the 0th day of pregnancy (14,99 ± 1,63). In the first section of the study, there was also a statistically significant difference on plasma PAGs concentration on days of 55, 85, 113, 145 in pregnancy, compared to the day (p <0, 05). In the second section, it was determined that the plasma PAGs concentration significantly increased on the 35th day of pregnancy compared to the 18th day (p <0, 05). According to these results, the plasma PAGs concentrations are elevated during pregnancy in Konya Merino ewes. Moreover, it could be concluded that PAGs kit used for the present study could diagnose pregnancy as early as at 35 days after mating in Konya Merino ewes.

Key Words: Ewes, Pregnancy, Pregnancy Diagnosis, Pregnancy-associated Glycoproteins.

GİRİŞ

Memeli türlerinde gebelik; fertilizasyonla başlayıp doğumla tamamlanan, türün en küçük minyatürü olan embriyonun maternal uterus ortamında büyüyüp gelişerek dış ortamda yaşama kabiliyetini kazandığı süreçtir. Bu sürecin sağlıklı işleyişinde, gebeliğin maternal kabulü, embriyonun uterus endometriyumuna implantasyonu ve yavrunun maternal kan akımıyla doğrudan bağlantısını gerçekleştiren plasenta-nın oluşumu çok önemlidir (1, 2, 3).

Koyunlarda implantasyon ve plasentasyon süreçlerinin birbirinden ayrı süreçler olmadığı, plasenta'nın implantasyonun başlangıcıyla şekillenmeye başladığı belirtilmektedir (4). Plasenta, yavruyu şekillendirecek olan inner cell mass hücrelerinden fonksiyonları ve görevleri açısından farklılaşan trofoblastik hücrelerce oluşturulmaktadır (4, 5). Yapılan histolojik çalışmalarda koyun plasentasında yapıları ve fonksiyonları farklı olan, mononükleer ve binükleer trofoblastik hücre olarak adlandırılan iki hücre türü olduğu ortaya ko-

yalnuştur. Mononükleer hücreler gebeliğin maternal kabulu ve embriyonun beslenmesinde önemli fonksiyonları olan ve trofoblastik hücrelerin yaklaşık %80'ini oluşturan hücrelerdir. Binükleer hücrelerin ise genel olarak asitokinetik bölünmelerle mononükleer hücrelerden şekillendikleri ve trofoblastik hücrelerin yaklaşık %20'sini oluşturdukları belirtilmektedir. Bu hücreler, olgunlaşmaları ve sitoplazmalarında membrana bağlı granüllerin şekillenmesiyle uterus endometriyumuna doğru göç etmeye başlarlar. Endometriyuma geçiş yapan hücreler karunkular ve interkarunkular alanlarda birleşerek, çok çekirdekli dev hücreleri veya dev hücre plakları (sinsityal plaklar) oluştururlar (5, 6). Binükleer hücrelerin göç etmek suretiyle maternal epityal dokuya invazyonları ve plasentomların şekillenmesiyle fetal doku, maternal dokuyla doğrudan temas eder hale gelmektedir. Bu yapılanma ile endokrin ve parakrin yönden çokça fonksiyonel olan plasentanın çeşitli sekretlerinin maternal dolaşıma geçişi kolaylaşmaktadır (6, 7).

Gebelik ilişkili glikoproteinler (PAGs); memeliler sınıfındaki Cetartiodactyla takımındaki türlerin plasentasında çokça eksprese olan ve aspartik proteinaz familyasında sınıflandırılan, gebelik spesifik protein B veya gebelik spesifik protein olarak da adlandırılan trofoblastik moleküllerdir (8). İlk olarak inek plasentasından ekstrakte edildiği ve maternal kan dolaşımına geçtiği belirlenmiştir. Daha sonraları birçok ruminant türünde de bu moleküllerin maternal kan dolaşımına geçtiği tespit edilmiştir (6, 9). Proteinaz ailesinde sınıflandırılmakla birlikte bazı PAGs'nin enzimatik olarak aktif olmadıkları belirlenmiştir. Bu glikoproteinlerin fonksiyonları tam olarak açıklanamamış olmakla birlikte immünojenik bariyer, maternal immun sistemin regülasyonu, embriyonun implantasyonu ve blastogenesiste fonksiyonel olabilecekleri belirtilmektedir (6). Koyunlarda, implantasyonun tamamlandığı, plasentanın oluşumunun devam ettiği, gebeliğin 3-4. haftalarında maternal plazmada tespit edilebilir düzeyde olduğu belirlenmiştir (10, 11). İnekler de olduğu gibi, koyunların kan örneklerinde PAGs konsantrasyonunun ırk, fetal sayısı, gebeliğin evresi gibi birçok faktörün etkisiyle değişebildiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (10, 11, 12, 13, 14). Fonksiyonları tam olarak bilinmemekle birlikte plasental kaynaklı moleküller oldukları için indirekt gebelik tanısında ve gebelik sağlığının izlenmesinde kullanılabileceği bildirilmiştir (10, 15). Son 20-30 yıl içerisinde gebelik ilişkili glikoproteinler üzerine birçok türde, fonksiyonlarını belirlemek amacıyla çok çeşitli çalışmalar yapılmış olmakla birlikte, birçok PAGs molekülünün olması ve ekspresyon profillerinde değişken sonuçların alınması nedeniyle çiftlik hayvanlarında reproduktif fizyolojinin tam olarak anlaşılabilmesi ve yetiştirme kararlarının alınabilmesinde biyokimyasal bir belirteç olarak kullanılabilmesi için yeni çalışmalar yapılması gerektiği açıkça belirtilmektedir (16, 17, 18).

Bu çalışmanın birinci aşamasında gebeliğin 0, 55, 85, 113 ve 145. günlerinde, ikinci aşamasında ise gebeliğin 18, 21, 25, 28 ve 35. günlerinde elde edilen plazma örneklerinde, ELISA tabanlı bir ticari koyun PAGs kiti kullanılarak plazma PAGs profilinin belirlenmesi ve erken gebelik tanısı amacıyla kullanılabilirliği amaçlandı.

MATERYAL VE METOT

Çalışma; daha önceden, Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsünde yetiştirilen Konya Merinosu (Orta Anadolu Merinosu) ırkı 16 baş koyundan alınan kan örneklerinden elde edilen plazma örnekleriyle yapıldı. Plazma örnekleri PAGs'lerin analizi yapıncaya kadar Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Araştırma Laboratuvarında -80 °C'de muhafaza edildi. Analizlerde tek kuzu doğuran koyunlara ait plazma örnekleri kullanıldı.

Hayvan Materyali

Kan örnekleri klinik olarak sağlıklı, 2-5 yaşlı ve en az bir doğum yapmış olan koyunlardan alındı. Koyunlar gündüzleri merada otlatılırken geceleri yarı açık ağıllarda tutuldu. Mera otlatılmasına ilave olarak enstitünün karma yem ünitesinde hazırlanan karma yemden koyun başına 300 gr verildi. İçme suyu ad libitum olarak sağlandı.

Koyunlar üreme sezonu içerisinde doğal östrüste çiftleştirildi. Koyunların östrüste oldukları prepisyum bölgesi bez önlükle kapatılan arama koçları ile tespit edildi. Arama koçu atladığında koyunun hareketsiz durması östrüs tespitinde esas kriter kabul edildi. Östrüsteki koyunlar, daha önceden fertil oldukları bilinen 2-5 yaşlı, aynı ırktan damızlık koçlarla elde sıfat yöntemiyle çiftleştirildi. Çiftleştirme günü, gebeliğin 0. gün olarak kabul edildi ve kayıt edildi.

Plazma Örneklerinin Elde Edilmesi

Kan örnekleri, çalışmanın birinci aşamasında 8 baş koyundan gebeliklerinin 0, 55, 85, 113 ve 145. günlerinde, ikinci aşamasında ise 8 baş koyundan gebeliklerinin 18, 21, 25, 28 ve 35. günlerinde alındı. Kan örnekleri, koyunların vena jugularis damarından Na-EDTA içeren vakumlu kan tüplerine alındı ve bekletilmeden 3000 devir/dakika hızda 20 dakika santrifüj edildi. Plazma örnekleri eppendorf tüplere aktarıldı ve -80 °C'de derin dondurucuda muhafaza edildi.

Plazma Örneklerinde PAGs Düzeyinin Belirlenmesi

Laboratuvar çalışmaları Dicle Üniversitesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Plazma örnekleri saklandıkları dondurucudan çıkarıldı ve oda sıcaklığında 60 dk bekletilerek sıcaklıklarının oda sıcaklığına ulaşması sağlandı.

Ticari Kitin Analiz İçin Hazırlanması

Plazma örneklerindeki PAGs'lerin düzeyini belirlemek amacıyla solid-faz ELISA tekniği ölçümü esaslı ticari bir kit (Pregnancy-Associated Glycoproteins, ELISA Kit, MyBioSource, Southern California, San Diego, USA) kullanıldı. Kit bileşenleri analize kadar 2-8 °C sıcaklıkta muhafaza edildi. Analizlere başlamadan önce kit bileşenleri oda sıcaklığına getirildi (20-25 °C) ve laboratuvar ortamında gün ışığına karşı gerekli tedbirler alındı. Kit bileşenlerinden olan yıkama solüsyonu (100x) 990 ml deiyonize su ile sulandırıldı ve toplam hacmi 1000 ml olan 1x konsantrasyonda olan yıkama solüsyonu elde edildi.

Plazma Örneklerinde PAGs Düzeyinin Belirlenmesi İçin Analiz Edilmesi

Kit pleytinin kuyucuklarına öncelikle iki pozitif kontrol ve iki negatif kontrol amacıyla standart kit solüsyonlarından 100 µl bırakıldı. PAGs düzeyinin belirleneceği plazma örnekleri, her örnek için ayrı pipet ucu kullanılarak kuyucuklara 100 µl ölçüde bırakıldı. Pleytte oluşan örnek deseni kayıt edildi. Bu işlemi takiben kuyucuklara 50 µl konjugat solüsyonu ilave edildi ve plazma örnekleri ve konjugat solüsyonunun iyice karışması sağlandı. Sonrasında pleyt, parafilm ile kaplanarak 37 °C'ye ayarlı inkübatörde 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun tamamlanmasından sonra pleyt kuyucukları daha önceden hazırlanan 1x konsantrasyondaki yıkama solüsyonu kullanılarak otomatik pleyt yıkayıcıda (Flexiwash, Asys Hitech, Eugendorf, Austria) 5 defa yıkandı. Yıkama sonrasında kuyucuklarda kalan damlacıkların tamamen uzaklaştırılması amacıyla pleyt ters çevrilerek kurutma kâğıtlarından oluşturulan tampona sertçe birkaç defa vuruldu. Daha sonra kit bileşenleri örnek A ve örnek B solüsyonlarından her pleyt kuyucuğuna ilave edildi. Pleyt tekrar parafilm ile kaplanarak 37 °C'de 10-15 dk tekrar inkübasyona bırakıldı. Bu işlem sonrasında kuyucuklara çok kanallı otomatik pipetle 50 µl durdurucu solüsyon ilave edildi ve solüsyonun iyice karışması sağlandı. Pleyt bu aşamadan sonra mümkün olan en kısa sürede mikroplak okuyucu cihaza (Biochrom Anthos Zenyth 200rt microplate reader, Cambridge, UK) yerleştirildi ve kuyucuklardaki örneklerin optik yoğunluğu (O.D.) 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak belirlendi ve kaydedildi.

İstatistiksel Metod ve Analiz

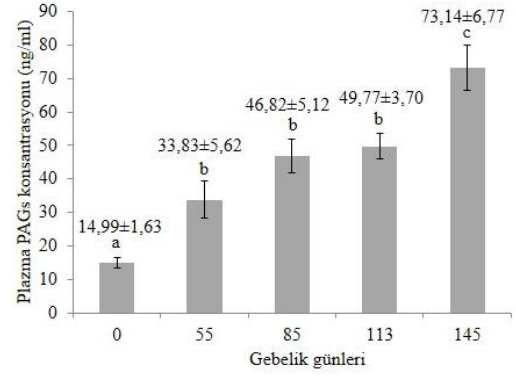
Çalışmanın verileri tekrarlayan ölçümler için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak SPSS programı ile analiz edildi. Değerler arasındaki ikili karşılaştırmalarda posthoc tukey testi kullanıldı. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği test edildi. Sonuçlar her bir grup için ortalama değer artı/eksi standart hata olarak gösterildi. İstatistiksel önemlilik kontrolü $p < 0,05$ 'e göre yapıldı.

BULGULAR

Çalışmanın Birinci Aşamasında Elde Edilen Sonuçlar

Birinci aşamada 8 baş koyunun kan plazmasındaki ortalama PAGs konsantrasyonu gebeliğin; 0. gününde $14,99 \pm 1,63$ ng/ml, 55. gününde $33,83 \pm 5,62$ ng/ml, 85. gününde $46,82 \pm 5,12$ ng/ml, 113. gününde $49,77 \pm 3,70$ ng/ml ve 145. gününde $73,14 \pm 6,77$ ng/ml ölçüldü. Elde edilen sonuçlar Grafik 1'de gösterildi.

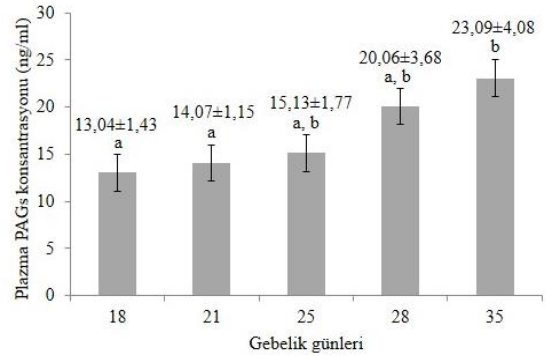
Gebeliğin 0. günü ile kıyaslandığında 55. günündeki ortalama plazma PAGs konsantrasyonunun istatistik olarak önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0,05$). Benzer şekilde gebeliğin 85, 113, 145. günlerindeki plazma PAGs konsantrasyonunun 0. gündeki plazma PAGs konsantrasyonundan, 145. gündeki plazma PAGs konsantrasyonunun ise 55, 85 ve 113. günlerdeki konsantrasyondan önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0,05$). Gebeliğin 55, 85 ve 113. günlerindeki PAGs konsantrasyonları arasındaki farklılığın önemli olmadığı tespit edildi ($p > 0,05$).



Grafik 1. Gebelik süresince belirlenen plazma PAGs değerleri

Çalışmanın İkinci Aşamasında Elde Edilen Sonuçlar

Plazma PAGs konsantrasyonunun gebeliğin erken dönemindeki profilini belirlemek amacıyla yapılan çalışmanın ikinci aşamasında PAGs konsantrasyonu 18. günde $13,04 \pm 1,43$ ng/ml, 21. günde $14,07 \pm 1,15$ ng/ml, 25. günde $15,13 \pm 1,77$ ng/ml, 28. günde $20,06 \pm 3,68$ ng/ml, 35. günde ise $23,09 \pm 4,08$ ng/ml ölçüldü. Ölçüm sonuçları Grafik 2'de verildi.



Grafik 2. Gebeliğin erken döneminde görülen plazma PAGs değerleri

Gebeliğin 18, 21, 25, 28 ve 35. günlerindeki plazma PAGs konsantrasyonu gebelik gününün artışına paralel olarak arttı. Ancak sadece 35. gündeki plazma PAGs konsantrasyonunun 18 ve 21. günlerdeki PAGs konsantrasyonundan önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0,05$). Diğer günlerdeki PAGs konsantrasyonları arasındaki farklılıklar önemli düzeyde olmadı ($p > 0,05$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Koyunlarda erken gebelik döneminde olayların daha detaylı incelenmesini sağlayan günümüz moleküler yöntemlerinin hızla gelişmesi erken gebelik teşhisi ve gebelik sürecinin izlenebilmesi için bilinen klinik yöntemlerin dışında yeni laboratuvar yöntemlerinin kullanılmasına ve geliştirilmesine imkan vermektedir. Özellikle gebeliğin erken döneminde embriyo ve/veya plasentadan sentezlenen ve maternal kan dolaşımına geçen sekretlerin veya parçalanma ürünlerinin tespiti için kan örneklemesinin minimal invaziv girişimle yapılabilmesi erken gebelik tanısı ve gebelik sağlığının izlenebilmesi için yeni biyomarkırların geliştirilmesi amacıyla yapılan çalışmaların önemini daha da artırmaktadır (19,20).

PAGs, plasentanın trofoblastik hücrelerinden sentezlenen ve annenin kan dolaşımına geçebilen moleküllerdir. Maternal kanda tespit edilebiliyor olması, çevresel şartlara karşı diğer moleküllere göre daha dayanıklı olması ve anti-jen-antikor reaksiyonun ve derecesinin renk değişimine dayalı olarak spektrofotometrik ölçümle belirlenebilmesi ve değişimin komplike matematik hesaplamalara ihtiyaç duyulmadan belirlenebilmesi gibi avantajları, bu moleküllerin reproduktif sürü idaresi açısından alınacak kararlardaki önemini daha da artırmaktadır (21). Sunulan bu çalışmada da Konya Merinosu koyunlarda gebeliğin 35. gününe kadar ve tüm gebelik süresince PAGs'ların plazma ekspresyon profili ve erken gebelik tanısı için kullanılabilirliği belirlenirken daha önceden elde edilen ve derin dondurucuda saklanan plazma örnekleri kullanıldı.

Çalışmanın sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde Konya Merinosu koyunlarda gebelik yaşı ilerledikçe plazma PAGs düzeyinde de artış olduğu görülmektedir. Bu sonuç, genel olarak koyunlarda daha önceden yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlarla uyumludur (22, 23). Bununla birlikte, bu artışların çalışmanın birinci aşamasında; 55. günde 0. güne göre ve 145. günde önceki örnekleme günlerine göre, ikinci aşamada ise 35. günde 18 ve 21. günlere göre istatistiksel olarak önemli düzeyde gerçekleştiği görüldü. Diğer memelilerde olduğu gibi ruminantlarda da erken gebelik dönemi uterus, embriyo ve fötüs gelişiminde ve morfogenezde çok yoğun ve büyüleyici değişimlerin olduğu dönemdir. Bu dönem gebeliğin maternal kabulünün, fetal membranların endometriyuma tutunmasının ve plasenta oluşumunun başladığı ve tamamlandığı dönemdir. Koyun embriyosu gebeliğin 8. gününde zona pellusidadan kurtulup endometriyumla ilk temasını takiben trofoblastik hücrelerin hem sayıca hem de hacimsel artışıyla hızlı bir şekilde gelişir (1, 2, 3, 4). Embriyonun endometriyumla ilk teması ile başlayan implantasyon, trofoblastik hücrelerin apikal yüzeyindeki mikrovillusların endometriyumdaki uterus bezlerinden yoksun, kan damarlarından zengin karunkulalar içerisine doğru yaptığı derin ve dallanmış girintiler aracılığıyla lokal olarak gerçekleşmektedir ve gebeliğin 22-23. günlerinde tamamlanmaktadır. Bu dönemde mikrovillusların anne ve yavru arasındaki temas yüzeyinde oluşturduğu artışa ilave olarak, kan damarlarından zengin olan karunkulalardaki mikrovasküler kan hacmi de yaklaşık 2 kat artmaktadır (5, 24, 25). İmplantasyonun tamamlanması ve karunkulalardaki kan akımının artışının çalışmanın ikinci aşamasındaki 35. günde plazma PAGs konsantrasyonunun 18 ve 21. günlerdeki konsantrasyondan daha yüksek olmasının nedeni olduğu düşünülmektedir.

Birinci aşamada 55. gündeki PAGs konsantrasyonunun 0. günden yüksek olduğuna benzer bir bulgu Ranilla ve ark (10) tarafından da elde edilmiştir. Sunulan çalışmada 0 ve 55. günler arasında başka kan örnekleme yapılmamış olmakla birlikte bizim çalışmamızda elde edilen bulgu, koyunlarda plasenta oluşumunun 50-60. günlerde tamamlanması (1) ve çalışmanın ikinci aşamasında elde edilen 35. gündeki PAGs konsantrasyonunun 18 ve 21. günlerdeki konsantrasyonlardan yüksek oluşuyla da desteklenmektedir.

Çalışmanın birinci aşamasında gebeliğin 55. gününden itibaren yaklaşık 4 haftalık aralarla yapılan örneklemelemlerde PAGs konsantrasyonunun 55, 85 ve 113. günlerdeki örneklerde benzer olduğu, doğum öncesi alınan son örnekte ise belirtilen günlerdekine göre önemli düzeyde arttığı belirlendi. Benzer bulgu daha önce başka koyun ırklarında da yapılan bazı çalışmalarda da elde edilmiştir (10, 12, 15, 23). Gebeliğin son döneminde PAGs düzeyindeki artışın nedeni tam olarak açıklanamamakla birlikte, bazı PAGs'ın fötüsün dış ortamda yaşayabilmesi için özellikle solunum, sindirim ve boşaltım gibi hayati sistemlerinin gelişmesinde, olgunlaşmasında ve işlevselliklerini kazanmasında rollerinin olabileceği belirtilmektedir. Çalışmamızda örnekler geniş zaman aralıklarıyla alınmış olmakla birlikte plasantasyonun tamamlanmasından sonraki süreçte (gebeliğin 145. gününe kadar olan dönemde) kapillar damarların çaplarındaki yaklaşık iki-üç kat artışla karunküler vaskülaritede yaklaşık 2 kat artış olduğu ve plasental fonksiyonların geliştiği bildirilmiştir (25). Bu bildirimlere göre gebelik günü ilerledikçe plasantanın yapısal ve fonksiyonel olarak geliştiği ve bunun, çalışmada elde edilen gebelik günü ilerledikçe plazma PAGs profilinde gebelik yaşıyla paralel artışının nedeni olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca bu çalışmamızda elde edilen PAGs'nin profili, daha önce yapılan çalışmalarda da belirtildiği üzere, PAGs plasental orijinli hücrelerden maternal kan dolaşımına geçtiklerinden plasenta gelişiminin ve sağlığının bir belirteci olabileceğini işaret etmektedir.

İneklerde olduğu gibi, koyunlarda da PAGs'in erken gebelik tanısında kullanılabilirliği ve etkinliği üzerine serum, plazma ve süt örneklemelemleriyle birçok çalışma yapıldı. Bu çalışmaların çoğunluğunda gebeliğin 30. gününe kadar gebelik tanısı yapılabileceği bildirilmiştir (10, 12, 11, 21, 26, 27, 28). Bizim çalışmamızda 35. gündeki plazma PAGs düzeyinin 7 gün önceki plazma örneklerinde elde edilen PAGs düzeyinden önemli düzeyde yüksek olması da belirtilen çalışmalarla sonuçlarımızın uyumunu göstermektedir. Ancak PAGs'in tespitine dayalı gebelik tanısında bu moleküllerin düzeyinin ırk, yavru sayısı, ölçüm tekniği, örnek materyali vb. faktörlerle etkilenebileceği de göz önünde tutulmalıdır.

Sunulan çalışmada ölçümler PAGs moleküllerine karşı monoklonal teknoloji ile üretilen antikorların ELISA pleyletlerine yapılandırılması esasına dayanan ticari kitle yapılmış olmasına rağmen hem birinci çalışmadaki çiftleştirme gününde (0. gün, PAGs konsantrasyonu $14,99 \pm 1,63$ ng/ml) hem de ikinci çalışmadaki çiftleştirme sonrası 18. günde (PAGs konsantrasyonu $13,04 \pm 1,43$ ng/ml) yüksek düzeyde PAGs konsantrasyonu ölçüldü. PAGs'in plasental kaynaklı olması nedeniyle gebe olmayan veya gebeliğin hemen başlangıcında olan dişilerde veya erkeklerde olmayacağı varsayılmaktadır. Ancak daha önce yapılan çalışmalarda boğalarda, tohumlanmamış düvelerde, gebe olmayan koyunlarda, gebeliğin 14. günündeki koyunlarda, koçlarda PAGs moleküllerinin tespit edildiği bildirilmiştir (28, 29, 30). Bu çalışmada monoklonal antikora dayalı bir kit kullanılmış olsa da kitin prospektüsünde belirtildiği gibi, antikorların plazmada bazı proteinlere bağlanarak bazal bir seviye olarak kabul edilen aralıkta renk değişimine neden olduğundan spektrofotometrik olarak ölçümün gerçekleştiği düşünülmektedir.

Bu nedenle gebelik tanısının güvenilir olabilmesi için kullanılan ölçüm metoduna göre bazal bir PAGs düzeyinin belirlenmesi ve örnekleme gününün doğru seçilmesinin önemi daha da artmaktadır.

Sonuç olarak, Konya Merinosu koyunlarda gebelik süresince kan plazmasındaki PAGs'ların konsantrasyonunun artma eğiliminde olduğu plasenta sağlığının izlenmesinde ve erken gebelik tanısında kullanılabileceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma birinci yazar Uğur Uçar'ın yüksek lisans tezinden hazırlanmıştır. Bu çalışmanın saha aşamasının yürütülmesinde çok önemli katkıları olan Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü çalışanlarına ve laboratuvar analizlerindeki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Mehmet Salih Kaya'ya teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Spencer TE, Burghardt RC, Johnson GA, Bazer FW. (2004). Conceptus Signals for Establishment and Maintenance of Pregnancy. *Anim Reprod Sci.* 82-83, 537-550.
- Bazer FW, Guoyao W, Spencer TE et al. (2010). Novel Pathways for Implantation and Establishment and Maintenance of Pregnancy in Mammals. *Molecular Human Reproduction.* 16 (3): 135-152.
- Bazer FW, Wu G, Johnson GA, Kim J, Song G. (2011). Uterine Histotroph and Conceptus Development: Select Nutrients and Secreted Phosphoprotein 1 Affect Mechanistic Target of Rapamycin Cell Signaling in Ewes. *Biology of Reproduction.* 85: 1094-1107.
- Spencer TE, Johnson GA, Bazer FW, Burghardt RC. (2004). Focus on Implantation, Implantation Mechanisms. *Insights from the Sheep Reproduction.* 128: 657-668.
- Igwebuike UM. (2009) A review of uterine structural modifications that influence conceptus implantation and development in sheep and goats. *Animal Reproduction Science.* 112(1-2): 1-7.
- Wallace RM, Pohler KG, Smith MF, Green JA. (2015). Placental PAGs: gene origins, expression patterns, and use as markers of pregnancy. *Reproduction.* 149: 115-126.
- Igwebuike UM. (2006). Trophoblast cells of ruminant placentas-A minireview. *Animal Reproduction Science.* 93: 185-198.
- Szafranska B, Panasiewicz G, Majewska M. (2006). Biodiversity of multiple Pregnancy-Associated Glycoprotein (PAG) family: gene cloning and chorionic protein purification in domestic and wild eutherians (Placentalia)-a review. *Reprod Nutr Dev.* 5: 481-502.
- Haugejorden G, Waage S, Dahl E et al. (2006). Pregnancy associated glycoproteins (PAG) in postpartum cows, ewes, goats and their offspring. *Theriogenology.* 66: 1976-1984.
- Ranilla MJ, Sulon J, Carro MD, Mantecon AR, Beckers JF. (1994). Plasmatic profiles of pregnancy-associated glycoprotein and progesterone levels during gestation in Churra and Merino sheep. *Theriogenology.* 42: 537-545.
- Karen A, Beckers JF, Sulon J et al. (2003). Early pregnancy diagnosis in sheep by progesterone and pregnancy-associated glycoprotein tests. *Theriogenology.* 59 (9):1941-8.
- Ranilla MJ, Sulon J, Mantecon AR, Beckers JF, Carro MD. (1997). Plasma pregnancy-associated glycoprotein and progesterone concentrations in pregnant Assaf ewes carrying single and twin lambs. *Small Rumin Res.* 24: 125-131.

- González F, Sulon J, Garbayo JM et al. (1999). Early pregnancy diagnosis in goats by determination of pregnancy-associated glycoprotein concentrations in plasma samples. *Theriogenology.* 52: 717-725.
- González F, Sulon J, Garbayo JM et al. (2000). Secretory profiles of pregnancy-associated glycoproteins at different stages of pregnancy in the goat. *Reprod Domest Anim.* 35: 79-82.
- Roberts JN, May KJ, Veiga-Lopez A. (2017). Time-dependent changes in pregnancy-associated glycoproteins and progesterone in commercial crossbred sheep. *Theriogenology.* 89: 271-279.
- Moussafir Z, Allai L, El Khalil K, Essamadi A, El Amiri B. (2018). Could a bovine pregnancy rapid test be an alternative to a commercial pregnancy-associated glycoprotein ELISA test in dairy cattle? *Anim Reprod Sci.* 192: 78-83.
- Reyhaneh H, Holm, Stefan B et al. (2018). Pregnancy-associated glycoproteins in cows with retained fetal membranes. *Theriogenology.* 105: 158-163.
- Reese ST, Pereira MHC, Edwards JL, Vasconcelos JLM, Pohler KG. (2018). Pregnancy diagnosis in cattle using pregnancy associated glycoprotein concentration in circulation at day 24 of gestation. *Theriogenology.* 106: 178-185.
- Lucy M, Green J, Poock S. Pregnancy determination in cattle: A review of available alternatives. *Proceedings Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle.* Erişim: <http://www.appliedreprostrategies.com/2011/joplin/proceedings/27lucy.pdf>. Erişim Tarihi: 04.09.2014
- Balhara AK, Gupta M, Singh S, Mohanty AK, Singh I. (2013). Early Pregnancy Diagnosis in Bovines: Current Status and Future Directions. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/958540>. Erişim Tarihi: 04.09.2014
- de Miranda E Silva Chaves C, Dias da Costa RL, Roncato Duarte KM et al. (2017). Visual ELISA for detection of pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) in ewe serum. *Theriogenology.* 15(97): 78-82.
- Gajewski Z, Melo de Sousa N, Beckers JF et al. (2008). Concentration of bovine pregnancy associated glycoprotein in plasma and milk: its application for pregnancy diagnosis in cows. *J Physiol Pharmacol.* 9:55-64.
- Ledezma-Torres RA, Beckers JF, Holtz W. (2006). Assessment of plasma profile of pregnancy associated glycoprotein (PAG) in sheep with a heterologous (anti-caPAG (55 + 59) RIA and its potential for diagnosing pregnancy. *Theriogenology.* 66: 906-912.
- Lawrence PR, DALE AR. (1992). Growth and Microvascular Development of the Uterus during Early Pregnancy in Ewes. *Biology of Reproduction.* 47: 698-708.
- Bairagi S, Quinn KE, Crane AR et al. (2016). Maternal environment and placental vascularization in small ruminants. *Theriogenology* 86: 288-305.
- El Amiri B, Sousa NM, Alvarez Oxiley A, Hadarbach D, Beckers JF. (2015). Pregnancy-associated glycoprotein (PAG) concentration in plasma and milk samples for early pregnancy diagnosis in Lacaune dairy sheep. *Res Vet Sci.* 99: 30-36.
- Rovani MT, Cezar AS, Rigo ML et al. (2016). Evaluation of a bovine pregnancy-associated glycoprotein enzyme-linked immunosorbent assay kit for serological diagnosis of pregnancy in sheep. *Ciência Rural.* 46(2): 362-367.
- El Amiri B, Karen A, Sulon J et al. (2007). Measurement of ovine pregnancy-associated glycoprotein (PAG) during early pregnancy in Lacaune sheep, *Reproduction in Domestic Animals.* 42: 257-262.

29. Zoli AP, Guilbault LA, Delahaut P, Ortiz WB, Beckers JF. (1992). Radioimmunoassay of a Bovine Pregnancy-Associated Glycoprotein in Serum: Its Application for Pregnancy Diagnosis. *Biology of Reproduction*. 46: 83-92.
30. Vandaele L, Verberckmoes S, El Amiri B et al. (2005). Use of a homologous radioimmunoassay (RIA) to evaluate the effect of maternal and foetal parameters on pregnancy-associated glycoprotein (PAGs) concentrations in sheep. *Theriogenology*. 63(7): 1914-1924.

Yazışma Adresi:

*Doç. Dr. Mehmet KÖSE

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji

Anabilim Dalı, 21280, Diyarbakır, Türkiye

e-posta: mehmetkose1977@gmail.com



Elazığ Peynirli Ekmeğinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi

Bahri PATIR^{1*}

Hüsnü Şahan GÜRAN²

^{1*}Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Bingöl-Türkiye

²Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Diyarbakır-Türkiye

Geliş Tarihi/Received
24.10.2018

Kabul Tarihi/Accepted
26.12.2018

Yayın Tarihi/Published
31.12.2018

Öz

Bu çalışmada, Elazığ ilinde sevilerek tüketilen ve beslenmede önemli bir yeri olan peynirli ekmeğin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi saptandı. Bu amaçla, Elazığ ilinde bulunan taş ekmeğin fırınlarından temin edilen 25 adet peynirli ekmeğin mikrobiyolojik ve kimyasal yönünden incelendi. Örneklerde ortalama toplam mezofilik aerob bakteri sayısı $7,09 \times 10^3 \pm 2,628 \times 10^4$ kob/g, Staphylococcus-Micrococcus spp. sayısı $9,89 \times 10^8 \pm 6,23 \times 10^4$ kob/g, maya ve küf sayısı ise $2,14 \times 10^2 \pm 4,834 \times 10^2$ kob/g değerlerinde olduğu belirlendi. Örneklerin hiçbirinde Escherichia coli, Staphylococcus aureus ve Salmonella spp. tespit edilmezken yalnızca bir örnekte koliform bakteri sayısı $4,00 \times 10^4$ kob/g olarak belirlendi. İncelenen örneklerdeki ortalama pH değeri $5,87 \pm 0,332$, rutubet $\%31,83 \pm 2,338$, kuru madde $\%68,17 \pm 2,338$ ve kül $\%1,002 \pm 0,349$ miktarlarında saptandı.

Sonuç olarak, Elazığ Peynirli Ekmeğinin mikrobiyolojik kalitesinin oldukça iyi düzeyde olduğu, bu bakımdan halk sağlığı açısından güvenilir bir yiyecek olarak değerlendirilebileceği, ayrıca dengeli ve yeterli beslenmede önem arz eden bazı temel besin öğelerini önemli miktarlarda içerdiği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Peynirli ekmeğin, Kimyasal, Mikrobiyolojik, Kalite

Microbiological and Chemical Quality of Elazığ Sweet Cheese Bread (A Local Turkish Traditional Dessert)

Abstract

Elazığ sweet cheese bread is a traditional product which is mostly produced and consumed in Elazığ province, Turkey. In this study, the microbiological and chemical quality of the sweet cheese breads was determined. For this purpose, 25 samples of sweet cheese breads were collected from local bakery stores in Elazığ province. The mean numbers of total mesophilic aerob bacteria, Staphylococcus-Micrococcus, and moulds-yeast were detected as $2.40 \pm 1.23 \log_{10}$ cfu/g, $1.74 \pm 0.59 \log_{10}$ cfu/g and $1.72 \pm 0.79 \log_{10}$ cfu/g in the samples, respectively. None of the samples was found Escherichia coli, Staphylococcus aureus or Salmonella spp. bacteria while the coliform number in only one sample was detected as $1.60 \log_{10}$ cfu/g. The average values of the chemical parameters were found as 31.83 ± 2.338 % for moisture, 68.17 ± 2.338 % for dry matter, 1.002 ± 0.349 % for ash, and 5.87 ± 0.332 for pH. Results of the present study indicate that sweet cheese bread samples did not have a potential hazard for public health in terms of its microbiological quality.

Key Words: Chemical, Microbiological, Sweet Cheese Bread, Quality

GİRİŞ

Peynir ve şekerle hazırlanan ekmeğin çeşitleri, Ülkemizde bazı bölgelerde geleneksel olarak yapılan ve beğeni ile tüketilen yiyeceklerdir. Bunlar, özellikle Elazığ, Urfa, Adıyaman ve Gaziantep bölgelerine özgüdür. Elazığ yöresinde “peynirli ekmeğin”, Gaziantep’de börek olarak bilinen “şekerli peynir böreği”, Şanlıurfa yöresinde “şekerli peynirli ekmeğin” ve Adıyaman’da “peynirli ekmeğin” benzer ürünlerdir (1). Bunlar arasında yer alan “Elazığ peynirli ekmeği”, her öğünde tüketilebildiği gibi, özel eğlencelerde, düğünlerde, sünnetlerde de ikram olarak sunulabilmektedir. Bu yiyecek fiziki olarak, erimiş peynir ve şeker nedeniyle kremi-beyaz bir renk kazanmakta, pişen hamur ise ekmeğin rengi görünümüdür (Resim 1). Görünüş, lezzet ve aroma bakımından kendine özgü üstün bir niteliğe sahip olan Elazığ peynirli ekmeği, şeker ve peynirin karıştırılmasıyla elde edilen harcın, mayalı

hamur üzerine usulünce yayılarak, taş fırınlarda, odun ateşinde, üstü açık pide şeklinde pişirilmesiyle elde edilir. Fermente fırın hamuru, yaklaşık 50x20 cm ebadında kayık tabak şeklinde ince olarak açılır ve genellikle 2 birim tam yağlı taze tuzsuz peynir (koyun veya inek peyniri) ile 1 birim toz şekerin karıştırılmasıyla hazırlanmış harcın düzgün bir şekilde üzerine yayılır. Fırında ateşin tamamen uzak kısmında yavaş yavaş takriben 14-16 dakika pişirilmeye bırakılır. Bu esnada peynir ve şeker erir. Pişirilen peynirli ekmeğin fırından çıkarılarak dilimlenir, sıcak olarak servisi yapılır (2). Yöre halkının başlıca yiyeceklerinden birini oluşturan peynirli ekmeğinin kimyasal içeriği nedeniyle, besleyici değerinin oldukça yüksek olduğu, kişinin dengeli ve yeterli beslenmesinde önem arz eden bazı temel besin öğelerini yüksek miktarlarda içerdiği göz ardı edilemez.

Bu araştırma, özellikle Elazığ yöresinde sık olarak yapılan ve halkın beslenmesinde kayda değer bir yeri olan peynirli ekmeğin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesini ortaya koymak amacıyla yapıldı.

MATERYAL VE METOT

Peynirli ekmeğin örnekleri: Peynirli ekmeğin örnekleri, Elazığ'da değişik mahallelerde faaliyet gösteren pide-ekmek fırınlarından temin edildi. Bu amaçla, 25 adet örnek steril poşetler içerisine usulüne uygun olarak alındı ve en kısa süre içerisinde Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'na getirildi. Örneklerin analizleri yapılmaya kadar 4+1 °C'de saklandı.

Mikrobiyolojik analizler: Genel mikrobiyolojik analizler için örnekler aseptik şartlar altında bir parçalayıcının (Stomacher 400, Interscience, St. Norm, France) steril özel torbasında 10 g tartıldı ve üzerine % 0,1'lik steril peptonlu su (LAB M, Lancashire, England) çözeltisinden 90 mL ilave edilerek homojen hale getirildi. Böylece örneğin 10-1'lik (1/10) dilüsyonu hazırlandı. Bu dilüsyondan aynı seyrelticiyi kullanmak suretiyle örneğin 10-6'ya kadar diğer seyreltileri yapıldı. Örneklerin, her seyreltisinden 1'er mL kullanılarak çift seri halinde plak dökme metoduyla ekimleri yapıldı ve inkübasyon süresi sonunda oluşan koloniler sayıldı (3,4). Üreyen kolonilerin sayımı yapıldıktan sonra logaritmaları (log10) alınarak her bir mikroorganizma grubunun ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı.

Toplam mezofilik aerob bakteri sayımı: Toplam mezofilik aerob bakteri sayımı için Plate Count Agar (PCA) (LAB M, Lancashire, England) besiyeri kullanıldı. Ekimi yapılan plaklar 30±10°C'de 72 saat inkübe edildikten sonra oluşan koloniler değerlendirildi (4).

Koliform grubu bakterilerin sayımı: Bu grup bakterilerin sayımı Violet Red Bile Laktose Agar'da (VRBLA) (LAB M, Lancashire, England) yapıldı. Plaklar 30±10°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra oluşan kolonilerin sayımı yapıldı (4,5).

E. coli sayımı: Örneklerde E. coli sayımı Tryptone bile X-glucuronide Agar 'da (TBX) (LAB M, Lancashire, England) yapıldı. Plaklar 44±10°C'de 18-24 saat inkübe edildikten sonra mavi-yeşil koloniler E. coli olarak değerlendirildi (6).

Staphylococcus-Micrococcus sayımı: Staphylococcus-Micrococcus sayımı için Mannitol Salt Agar (MSA) (LAB M,

Lancashire, England) besiyeri kullanıldı. Plaklar 37±10°C'de 36-48 saat inkübe edildi (4,5). Staphylococcus aureus sayımı için Mannitol Salt Agar besiyerinde oluşan parlak sarı haleli koloniler tahmini koagulaz-pozitif Staphylococcus, kırmızı ya da mor haleli koloniler ise koagulaz-negatif tipler olarak değerlendirildi. Yalnız koagulaz-pozitif Staphylococcus aureus'ların doğrulanması için, tipik kolonilerden rastgele seçilen 5 tanesi nutrient buyyona inoküle edilerek 37±10°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Inkübasyondan sonra kültürler koagulaz deneyi uygulandı. Koagulaz-pozitif Staphylococcus aureus sayısı, koagulaz deneyinde pozitif sonuç veren tüplerin sayısını, parlak sarı haleli kolonilerin sayısı ile karşılaştırdıktan sonra elde edilen sayının 5'e bölünmesi ile bulundu (7,8).

Maya ve küf sayımı: Bunun için %10' luk tartarik asit (Merck; Darmstadt, Germany) ilave edilerek pH'sı 3,5'e düşürülen Potato Dextrose Agar (LAB M, Lancashire, England) besiyeri kullanıldı. Plaklar 21±10°C'de 5 gün inkübe edildikten sonra üreyen maya ve küflerin sayımı yapıldı (9).

Salmonella spp. izolasyonu: Salmonella spp. izolasyonunda, parçalayıcının özel torbasında 25'er g örnek tartılarak 225 mL tamponlanmış peptonlu su (LAB M, Lancashire, England) ile homojenize edildi. Ön zenginleştirme sonrası Rappaport-Vasiliadis Broth (LAB M, Lancashire, England) ve Tetrathionate Broth (LAB M, Lancashire, England) besiyerinde ekimler yapılarak selektif zenginleştirme yapıldı. Selektif zenginleştirme işleminden sonra ilgili kaynaklarca bildirilen ekim ve test işlemleri uygulandı (10).

Kimyasal analizler: Örneklerin pH değerleri pH metrede (EDT, GP 353) 25±1°C'de saptandı (3). Rutubet miktarlarının saptanmasında, kurutma dolabı yöntemi uygulandı. Belirlenen rutubet miktarı 100'den çıkarılarak, örneklerin kuru madde miktarları bulundu. Kül (inorganik madde) miktarının belirlenmesinde "yakma metodu" (550 °C 'de) uygulandı (11).

BULGULAR

İncelenen toplam 25 adet peynirli ekmeğin örneğine ait mikrobiyolojik bulgular Tablo 1 ve 2' de, kimyasal bulgular ise Tablo 3' de gösterilmiştir.

Tablo 1. Elazığ Peynirli Ekmeğin Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Bulguları (kob/g).

Mikroorganizma	Ortalama (X ± Sx)	En az	En çok
Toplam mezofilik aerob bakteri	7,09x10 ³ ± 2,628 x10 ⁴	<10	1,30x10 ⁵
Koliform grubu	1,02x10 ± 0,620 x 10	<10	4,00x10
<i>E. coli</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	9,89x10 ± 8,623 x 10	<10	3,50x10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-
Maya ve küf	2,14x10 ² ± 4,834 x 10 ²	<10	1,90x10 ³
<i>Salmonella spp.</i>	-	-	-

Kob : Koloni oluşturan birim

X : Aritmetik ortalama

Sx : Standart sapma

Tablo 2. Elazığ Peynirli Ekmek Örneklerinde Genel ve Özel Mikroorganizmaların Dağılımı.

Mikroorganizma	<1,0x10 ² kob/g		1,0x10 ² - 1,0x10 ³ kob/g		1,0x10 ³ - 1,0x10 ⁴ kob/g		1,0x10 ⁴ - 1,0x10 ⁵ kob/g		>1,0x10 ⁵ kob/g			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Toplam mezofilik aerob bakteri	8	32,0	-	-	6	24,0	9	36,0	1	4,0	1	4,0
Koliform grubu	24	96,0	1	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	6	24,0	8	32,0	11	44,0	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maya ve küf	9	36,0	5	20,0	9	36,0	2	8,0	-	-	-	-

Kob : Koloni oluşturan birim n : Örnek sayısı

Tablo 3: Elazığ Peynirli Ekmek Örneklerinin Kimyasal Analiz Bulguları.

Analiz	En az	En çok	Ortalama (X ± Sx)
pH	5,32	6,30	5,87 ± 0,332
Rutubet (%)	27,27	35,71	31,83 ± 2,338
Kuru madde (%)	64,29	72,73	68,17 ± 2,338
Kül (%)	0,36	1,84	1,002 ± 0,349

X : Aritmetik ortalama

Sx : Standart sapma

**Resim 1.** Elazığ peynirli ekmeği.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada, Elazığ ve yöresinde halkın beslenmesinde önemli bir yeri bulunan peynirli ekmeğin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi ortaya kondu. Ancak, bu yiyeceğin ve buna yakın benzerliği olan yiyeceklerin mikrobiyolojik ya da kimyasal kalitesiyle ilgili bilimsel herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

İncelenen 25 adet peynirli ekmek örneğinde, toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısı en az <10 kob/g, en çok 4,47 log₁₀ kob/g, ortalama 2,40 ± 1,23 log₁₀ kob/g düzeyinde saptandı (Tablo 1). Örneklerdeki toplam mezofi-

lik aerob bakteri sayısına ait standart sapmanın yüksek olması örnekler arasındaki dağılımın çok fazla olduğunu göstermektedir. Ancak, küçük üretim yerlerinde yapılan mamul gıdalarda, hem hijyen hem de teknolojik açıdan farkların bulunması doğaldır. Toplam mezofilik aerob bakteri sayısının 25 peynirli ekmek örneğindeki dağılımına bakıldığında; örneklerin 8 tanesinde (% 32) mikroorganizma sayısının <10 kob/g' dan (tespit edilebilir limitlerin altında) az olduğu görülmektedir. Örneklerin 16 tanesinin (% 64) 1,0x10² kob/g ile 1,0x10⁵ kob/g arasında, bir örneğin de 1,0x10⁵ kob/g' dan fazla mikroorganizma içerdiği görül-

mektedir (Tablo 2). Belirlenen bu değerler göz önüne alındığında, örneklerdeki mezofilik aerob bakteri sayılarının nispeten düşük olduğu söylenebilir. Düşük mikroorganizma sayısı, gıdanın elde edilmiş şekli (yüksek ısı işlemi) ile yakından ilişkilidir. Genellikle ısı işlemine maruz bırakılmış gıdalarda mikrobiyel yük, orijinal hammaddeye göre daha düşüktür. Ancak bu şekilde gelişigüzel ısı işlem görmüş bir gıda steril de değildir. Bu nedenle, bu tür gıdalarda mikrobiyolojik kalite uygulanan işlemlere ve hammaddenin mikrobiyolojik kalitesine bağlı kalmaktadır (12).

Koliform grubu bakteri sayısının en az <10 kob/g ve en çok 4,00 x 10 kob/g (1,60 log₁₀ kob/g) değerlerinde tespit edildi. Örnekler arasında koliform grubu bakteri sayısı bakımından önemli farkların olduğu görüldü (Tablo 1). Bu grup bakterilerin analiz edilen örneklerin 24 tanesinde (% 96) 1,0x10 kob/g'den az (tespit edilebilir limitlerin altında), 1 tanesinde (% 4) 1,0x10 kob/g ile 1,0x10² kob/g olduğu saptandı (Tablo 2). İncelenen 25 adet örneğin hiçbirinde *Escherichia coli* tespit edilemedi. Koliform grubu bakterilerin gıdada yüksek miktarlarda saptanması, sanitasyon (temizlik + dezenfeksiyon) koşullarının ve ürüne uygulanan ısı işleminin yetersiz olduğunu ya da işlem sonrası yeniden bulaşmanın mevcut olduğunu gösterir. Bilindiği gibi, koliform grubu bakterilerden olan *Escherichia coli*, insan ve hayvanların bağırsaklarında yaşar ve varlığı ürünün doğrudan ya da dolaylı olarak gaita ile bulaştığını belirtir. Ayrıca üründe bağırsak kökenli olan *Salmonella* ve *Shigella* gibi patojenlerin de bulunabileceği ihtimalini ortaya koyar (12-14).

Staphylococcus-Micrococcus mikroorganizma sayısının en az <10 kob/g, en çok 3,50x10² kob/g, ortalama 1,74 ± 0,59 log₁₀ kob/g olduğu tespit edildi. Yine, *Staphylococcus-Micrococcus* sayıları bakımından da ferdi değerler arasında önemli farkın bulunduğu görüldü (Tablo 1). Değişik üretim yerlerine ait ürünlerden alınan örneklerde değerlerin farklı olması, ilkel şartlarda standart olmayan üretime bağlanabilir. *Staphylococcus-Micrococcus* mikroorganizmaları örneklerin 6 tanesinde (% 24) 1,0x10 kob/g'den az bulundu. Örneklerin 16 tanesinde (% 64) ise *Staphylococcus-Micrococcus* sayısının 1,0x10 kob/g ile 1,0x10² kob/g arasında olduğu görüldü (Tablo 2). *Staphylococcus'* ların insan ya da hayvan kaynaklı oldukları bilinmektedir. Gıdada yüksek sayıda bulunmaları yine sanitasyon işlemlerinin ve sıcaklık kontrolünün yetersizliğini gösterir. *Micrococcus'* lar ise toz, toprak, su, insan ve hayvanların derilerinde bulunurlar ve bozulmada önemli rol oynarlar (12-15). Yapılan analiz neticesinde hiçbir örnekte *Staphylococcus aureus* saptanmadı.

Maya ve küf mikroorganizmaları en az <10 kob/g, en çok 1,90x10³ kob/g, ortalama 1,72 ± 0,79 log₁₀ kob/g değerlerinde olduğu bulundu. Maya ve küf ün 9 örnekte (% 36) 1,0x10 kob/g'den az olduğu, 16 örnekte (% 64) ise, 1,0x10 kob/g ile 1,0x10⁴ arasında bulunduğu gözlemlendi (Tablo 1,2). Genellikle ısı işlem uygulanmış ve su aktivitesi düşürülmüş gıdalarda küflerin gelişme gösteremedikleri ve kurumadan etkilendikleri bilinmektedir. Ancak bu araştırmada rutubet miktarına (ortalama % 31,83±3,56) bağlı olarak peynirli ekme örneklerinde varlıklarını sürdürdükleri söylenebilir. Doğada yaygın olarak bulunan maya ve küf

mikroorganizmaları bir çok gıdada normal flora içerisinde yer alırlar ve açık hava ile teması fazla olan gıdalarda, sadece yıkama, soğutma/dondurma ve öğütme gibi işlem gören gıdalar için önemli bir kalite kriteridir. Genellikle yüksek asitli ve toprakla teması fazla olan gıdalarda küfler floraya hakimdir (12,13,16).

Yapılan mikrobiyolojik analiz neticesinde, incelenen 25 adet peynirli ekme örneğinin hiçbirinde *Salmonella* mikroorganizmalarına rastlanmadı. Örneklerin hiçbirinde bu bakterinin tespit edilememiş olması, peynirli ekme üretiminde kullanılan materyallerin (peynir, şeker, ekme hamuru) muhtemelen az sayıda bu mikroorganizmaları içermeleri ve fırınlarda pişirme işleminin yüksek ısı işlem uygulanarak gerçekleştirilmesi ile açıklanabilir.

Kimyasal analiz neticesinde, örneklerde pH değerinin en az 5,32, en çok 6,30 ve ortalama 5,87 ± 0,27 olduğu saptandı (Tablo 3).

Örneklerde rutubet miktarı en az % 27,27, en çok % 35,71 ve ortalama % 31,83 ± 3,56 değerlerinde saptandı (Tablo 3). Rutubet miktarları bakımından örnekler arasında dağılımın nispeten yüksek olduğu ve bu durumun ürünün standart bir yapımdan uzak, gelişigüzel hazırlanmasından kaynaklandığı söylenebilir.

Örneklerde kül miktarı en az % 0,36, en çok % 1,84 ve ortalama % 1,002 ± 0,349 olarak tespit edildi (Tablo 3). Kül bakımından örnekler arasında tespit edilen farklı bulgular muhtemelen, ürünün hazırlanmasında kullanılan taze tuzsuz peynirlerin farklı türlerin (koyun, inek) sütlerinden elde edilmiş olmasına ve nispeten ekme hamuruna ilave edilen farklı orandaki tuzdan kaynaklanmaktadır.

Sonuç olarak, geleneksel olarak yapılan ve yöre insanının sofrasında yer alan "Elazığ Peynirli Ekmeğinin" yapım koşullarına bağlı olarak mikrobiyolojik kalitesinin oldukça iyi düzeyde olduğu, bu bakımdan halk sağlığı açısından güvenilir bir yiyecek olarak değerlendirilebileceği söylenebilir. Ayrıca, yapılan kimyasal analiz neticesinde, kimyasal kalite bakımından da üstün nitelikte olduğu görüldü.

KAYNAKLAR

1. Yarullina YR. (2015). Fırat'tan Volga'ya Medeniyetler Köprüsü. 13. baskı, Adıyaman Üniversitesi Yayınları, Mavi Ofset, Adıyaman.
2. Karşılıklı görüşme. Peynirli ekme yapan açık ekme (pide) fırınlarında fırıncı ustalarıyla görüşme, 2014.
3. American Public Health Association (APHA). Standards Methods for the Examination of Dairy Products. 13th. Ed. American Public Health Association, New York, 1974.
4. Harrigan WF. (1998). Laboratory Methods in Food Microbiology. 3rd ed. Academic Press. London.
5. Oxoid. (2006). The Oxoid Manual. 9th Ed., Published by Oxoid Limited, Hampshire, England.
6. International Organization for Standardization (ISO). (2001). Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal Method for the Enumeration of β -glucuronidase-positive *Escherichia coli*. Part 2, 16649-2 (04/2001).
7. British Standards Institution (BSI). (1968). Methods of Microbiological Examination of for Dairy Purposes. B.S.4285, British Standards Institution; London.

8. Souza PA, and Santos DA. (2009). Microbiological risk factors associated with food handlers in elementary schools from Brazil. *J Food Saf* 29(3): 424-429.
9. Türk Standardları Enstitüsü (TSE). (1996). Süt ve Süt Ürünleri - Küf ve Mayaların Koloni Oluşturan Birimlerinin Sayımı, 25 oC'de Koloni Sayımı Tekniği. TS ISO: 6611, Türk Standardları Enstitüsü, Ankara.
10. Sanchez-Maldonado AF, Aslam M, Service C, Narváez-Bravo C, et al. (2017). Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from two pork processing plants in Alberta, Canada. *Int J Food Microbiol* 241: 49-59.
11. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1990). *Official Methods of Analysis*. 15th. Ed. Association of Analytical Chemists, Washington, DC.
12. Jay JM. *Modern Food Microbiology*. (1996). 5th Ed., Chapman and Hall, Dep. BC, 115 Fifth Avenue, New York.
13. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (1978). *Microorganisms in Foods - 1. Their Significance and Methods of Enumeration*. Second Ed., University of Toronto Press, Toronto.
14. Banwart GJ. (1989). *Basic Food Microbiology*. Second Edition. Avi Book Published by Van Nostrand Reinhold. New York.
15. Gökten D. (1990). *Gıdaların Mikrobiyal Ekolojisi-Et Mikrobiyolojisi*, Cilt I., Ege Üniv. Basımevi, Bornova, İzmir.
16. Durlu-Özkaya F ve Kuleaşan H. (2000). Maya ve küf. in: *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*. Akçelik M, Ayhan K, Çakır İ, Doğan HB, Gürgün V, Halkman AK, Kaleli D, Kuleaşan H, Özka-ya DF, Tunail N ve Tükel Ç (yazarlar), 2. Baskı. Sim Matbaacılık Ltd. Şti, 329-334.

Yazışma Adresi:

*Prof. Dr. Bahri PATIR

Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Bingöl

e- mail: bpatir@bingol.edu.tr



Kadmiyum ile Oluşturulan Deneysel Karaciğer Hasarına Karşı Bal ve Polenin Lipid Peroksidasyon ve Bazı Antioksidanlar Üzerine Etkisi

Halil ŞİMŞEK^{1*}, Osman GÜLER²

¹Bingöl Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, 12200, Bingöl, Türkiye

²Munzur Üniversitesi Pertek Sakine Genç Meslek Yüksekokulu, 62500, Tunceli, Türkiye

Geliş Tarihi/Received
14.12.2018

Kabul Tarihi/Accepted
24.12.2018

Yayın Tarihi/Published
31.12.2018

Öz

Bu çalışmada kadmiyum (Cd) verilen ratlarda karaciğer dokusunda; glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (KAT), glutatyon (GSH) ve malondialdehit (MDA) düzeylerine bal ve polen verilmesi ile oluşacak değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma ratlar üzerinde yapıldı ve 5 grup oluşturulmuştur. 1. Grup Kontrol, 2. Grup Cd, 3. Grup Cd+bal, 4. Grup Cd+polen, 5. Grup Cd+bal+polen şeklinde düzenlenmiştir. Uygulama 6 hafta sürmüştür. Uygulama sonrası doku GSH-Px, KAT, GSH ve MDA düzeyleri ölçülmüştür. Yapılan istatistiksel değerlendirmede kontrol grubunda, Cd grubuna kıyasla, doku GSH-Px, KAT ve MDA düzeyleri önemli bulunurken, GSH düzeyinin ise önemsiz olduğu bulunmuştur. GSH-Px ve KAT aktivitesi; Cd grubu ile Cd+bal, Cd+polen ve Cd+bal+polen gruplarında önemli bulunurken, GSH düzeyinin ise tüm gruplarda önemsiz olduğu gözlenmiştir

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Kadmiyum, Bal, Lipit Peroksidasyon, Polen, Rat

The Effect of Honey and Pollen on Lipid Peroxidation and Some Antioxidants Against Experimental Liver Damage With Cadmium

Abstract

The aim of this study was to determine the changes in cadmium (Cd) expose rats in liver tissue by giving honey and pollen to glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT), glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA). The study was performed on rats and five groups were formed. The groups were designed as following; Group 1: Control, Group 2: Cd administered, Group 3: Cd+honey, Group 4: Cd+pollen, Group 5: Cd+honey+pollen. The application was lasted for six weeks. At the end of the study, tissue samples were collected and the levels of GSH-Px, CAT, GSH and MDA were measured. After statistical analyses, while the differences of amount of tissue GSH-Px, CAT and MDA levels between control and Cd groups were statistically important, the GSH levels were not. Activities of GSH-Px and CAT were important in Cd+honey, Cd+pollen and Cd+honey+pollen groups along with Cd, group. While the level of MDA were important in Cd and Cd+honey, Cd and Cd+pollen, Cd and Cd+honey+pollen, level of GSH in was found unimportant in all groups.

Key Words: Antioxidant, Cadmium, Honey, Lipid Peroxidation, Pollen, Rat

GİRİŞ

Yaşadığımız bu dünyada toksik düzeyi yüksek olan metallere etkilenme oranı gün geçtikçe artmaktadır. Bunun neticesinde hem insan ve hem de hayvanların çeşitli doku ve organlarında toksikasyona bağlı olarak fonksiyon kayıpları meydana gelmektedir. Kadmiyum (Cd), çevre kirlenmesine bağlı olarak insan sağlığını önemli oranda tehdit eden, sanayiye yoğun oranda kullanılan toksik etkisi yüksek olan bir metaldir (1-3). Kadmiyumun meydana getirdiği çevre kirlenmesindeki önemli kaynak; sanayi atıkları, tarımda yaygın olarak kullanılan fosfatlı gübreler, maden ocakları ve bitki koruma amacıyla kullanılan herbisit ilaçlardır (4). Tarımsal üretimde kontrolsüz gübre kullanımı ile elde edilen meyveler ve sebzeler, sanayi atıklarıyla kirlenmiş olan sularla beslenen balık ve diğer su ürünleri, Cd ile kirlenmiş olan suların insanlar ve hayvanlar tarafından içme suyu olarak

kullanımı büyük ölçüde canlı organizmalar için toksik tehdit oluşturmaktadır (5, 6).

Kadmiyuma bağlı şekillenen zehirlenmelerde, karaciğer ve böbrekler başta olmak üzere, dolaşım sistemi, solunum sistemi, sindirim sistemi, kemik dokusu, testisler ve pankreas gibi sistem ve organlar önemli düzeyde etkilenmektedir (7). Vücuda alınan Cd'un yayılımında vücuda alınma şekli, miktarı ve süresi önemli bir etken olarak görülmektedir. Alınan Cd, kan hücreleri ve proteinlere bağlanmak sureti ile vücudun değişik kısımlarına taşınabilmektedir (8). Cd'un elimine edilmesinde en önemli organların, karaciğer ve böbrek gibi hayati organların olduğu bildirilmekte ve toksisiteye bu organların daha yoğun maruz kaldıkları belirtilmektedir (9, 10).

Cd'un oluşturduğu sitotoksik etkinin sonucu serbest radikaller oluşmakta ve buna bağlı olarak antioksidan sistemde bozukluk meydana gelmektedir (11, 12). Cd direkt olarak serbest oksijen radikallerini üretmemekte ancak mitokondriyal elektron transfer zincirini etkilemek ya da glutatyon tüketimini artırma yoluyla ile yani dolaylı yünden serbest radikallerin oluşmasına etki etmektedir (13). Canlı organizmada dokularda oluşan oksidatif hasara karşı enzimatik ve nonenzimatik antioksidan mekanizmalar bulunmakta olup, bu antioksidan enzim sistemlerinin, süperoksit dismutaz (SOD), KAT ve GSH-Px'in olduğu bildirilmektedir (14). Bunun yanında, GSH'da non enzimatik antioksidanların en önemlisini oluşturmaktadır. GSH, hidrojen peroksit (H₂O₂) ve süperoksit radikali (CO₂·-) ile direkt etkileşime girmek sureti ile hücreleri serbest radikallerden koruyabilmektedir (15).

Bal, çiçeklerden arıların topladığı nektarlardan üretilen doğal bir üründür. Balın karbohidrat, glukoz ve fruktoz gibi şeker içeren çok önemli bir besin maddesi olduğu bildirilmektedir (16). Bunun yanında bal, katalaz, glutatyon redüktaz enzimleri, çinko ve demir gibi bir takım mineraller, A ve E vitamini, birçok fenolik bileşikler ve organik asitleri içermektedir (17, 18). Polen, arılar tarafından çiçeklerden toplanan aminoasit, protein, karbohidrat, yağ, mineraller ve fenolik bileşenler ihtiva eden çok önemli doğal bir üründür (19).

Yaptığımız bu çalışmada, ratlarda Cd kullanımına bağlı olarak meydana gelen hasara karşı bal ve polenin karaciğer dokusunda lipid peroksidasyon ve bazı antioksidan düzeylerinde oluşturduğu değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada, Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünden temin edilen ve canlı ağırlığı 200-230 g arasında değişen 15 haftalık 50 adet Wistar Albino erkek rat kullanılmıştır. Ratlar 15 günlük uyum döneminden sonra her grupta 10'ar adet olmak üzere 5 grup oluşturulmuştur. 1. Grup: Kontrol grubu olup pelet yem+içme suyu verildi. 2. Grup: Pelet yem+100 ppm CdCl₂ içme suyunda verildi. 3. Grup: Pelet yem+100 ppm CdCl₂ ve 10 g/L bal içme suyunda verildi. 4. Grup: % 10 polenli pelet yem+100 ppm CdCl₂ içme suyunda verildi. 5. Grup: % 10 polenli pelet yem+100 ppm CdCl₂ ve 10 g/L bal içme suyunda verildi. Uygulama 6 hafta devam etti ve ratlara yem, içme suyunda bal ve CdCl₂ ad-libitum olarak verilmiştir.

Ratların beslenmesinde kullanılan yem, Elazığ yem fabrikasından temin edilen Tablo 1'de sunulan rat yemi, polenli yem aynı fabrikadan alınan peletleme öncesi % 10 polen ilavesi ile hazırlanan Tablo 2'deki yem kullanılmıştır. Çalışmada deneysel uygulamalar laboratuvar hayvanlarının bakımı ve kullanımı şartlarına (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ve 24±3°C) uygun olarak yürütülmüştür. Araştırma, Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Etik Kurulu'ndan (Karar No:24.10.2008/5) alınan onaya göre Yerel Etik Kurulu ilkelerine uyularak yapılmıştır.

Tablo 1. Rat yemi bileşimi (Normal)

Yem Maddeleri	(%)
Buğday	30
Mısır	15
Arpa	10
Kepek (Buğday)	5
Soya Küspesi	30
Balık Unu	6,5
Limestone (Mermer Tozu)	2
Tuz	1
Methionin	0,25
*Vitamin ve Mineral Karışımı	0,25

*Vitamin A, D₃, K₃, B₁, B₂, B₆, B₁₂ ve C, nicotinamide, folic acid, d-biotin, choline chloride, mangan, demir, çinko, bakır, iyot, kobalt ve selenyum.

Tablo 2. Rat yemi bileşimi (Polenli).

Yem Maddeleri	(%)
Buğday	27
Mısır	13,5
Arpa	9
Kepek (Buğday)	4,5
Soya Küspesi	27
Balık Unu	5,8
Polen	10
Limestone (Mermer Tozu)	1,8
Tuz	0,9
Methionin	0,225
*Vitamin ve Mineral Karışımı	0,225

*Vitamin A, D₃, K₃, B₁, B₂, B₆, B₁₂ ve C, nicotinamide, folic acid, d-biotin, choline chloride, mangan, demir, çinko, bakır, iyot, kobalt ve selenyum.

Uygulama sonrası ratlar yaklaşık 12 saatlik açlığı takiben eter anestezisi altında, kan örnekleri alındı ve daha sonra karaciğer dokuları hızla çıkarılıp analiz edilinceye kadar (-30) °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

Analiz öncesi örnekler çözdürüldü ve iki süzgeç kağıdı arasında suyu alındıktan sonra tartılarak %1.15'lik KCl içinde 1:10 oranında (ağırlık/hacim) sulandırıldı ve kırılmış buz içerisinde Potter-Elvehjem cam-cam homojenizatörle homojenize edilmiştir. Homojenatlar soğutmalı santrifüjde +4 °C'de 3.500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatantlarda GSH-Px, GSH, KAT, MDA ve protein tayinleri yapılmıştır.

Doku GSH-Px aktivitesi düzeyi Lawrence ve Burk (20)'un tarif ettiği şekilde ölçülmüştür. GSH düzeyi Sedlak ve Lindsay (21) tarif ettiği şekilde belirlenmiştir. Doku KAT enzimi tayini Aebi (22)'nin tarif ettiği şekilde yapılmıştır. Lipit peroksidasyonun son ürünü olan MDA Matkovics ve ark. (23)'ü tarafından modifiye edilen Placer ve ark. (24)'ünün yöntemine göre spektrofotometre ile ölçülmüştür. Doku protein konsantrasyonu Lowry ve ark. (25)'nin tarif ettiği şekilde belirlenmiştir.

Çalışmada istatistiksel değerlendirme SPSS 15.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arası farklılığın önemi tek yönlü ANOVA ile grup içindeki farklılıkların dere-

cesi Duncan testi ile analiz edilmiştir. Veriler; ortalama \pm standart hata olarak gösterilmiştir (26).

BULGULAR

Yapılan bu çalışmada doku GSH-Px, GSH, KAT ve MDA konsantrasyonları Tablo 3'de gösterilmiştir. Çalışmada; GSH-Px ve KAT aktivitelerinin; kontrol ve kadmium grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu, Cd+Bal,

Cd+Polen ve Cd+Bal+Polen gruplarının Cd grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. MDA düzeyinin; kontrol ve Cd grupları arası farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu, Cd+Bal, Cd+Polen ve Cd+Bal+Polen gruplarının Cd grubuna göre önemli olduğu gözlenmiştir. GSH düzeyinin ise; tüm gruplarda önemsiz olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3. Doku GSH-Px, GSH, KAT ve MDA düzeyleri.

GRUPLAR	GSH-Px (IU/g protein)	GSH (nmol/g doku)	KAT (k/g protein)	MDA (nmol/g doku)
Kontrol	101,488 \pm 2,891 ^a	5,503 \pm 0,245	1,947 \pm 0,133 ^a	4,255 \pm 0,148 ^a
Cd	75,403 \pm 2,480 ^b	4,288 \pm 0,256	1,231 \pm 0,081 ^b	6,081 \pm 0,377 ^b
Cd+Bal	91,125 \pm 2,461 ^{ac}	4,602 \pm 0,485	1,522 \pm 0,417 ^{ab}	5,045 \pm 0,417 ^{ab}
Cd+Polen	84,560 \pm 2,847 ^{bc}	4,203 \pm 0,224	1,411 \pm 0,408 ^{ab}	5,129 \pm 0,408 ^{ab}
Cd+Bal+Polen	91,485 \pm 1,835 ^{ac}	4,842 \pm 0,345	1,527 \pm 0,258 ^{ab}	5,021 \pm 0,258 ^{ab}

Ortalama \pm SH; (P<0,05). Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

TARTIŞMA

Karaca ve ark. (27) yaptıkları çalışmada Cd ile oluşturdukları karaciğer hasarında GSH-Px aktivitesinde, kontrol grubuna göre azalmanın önemli olduğunu, MDA düzeyinde meydana gelen artışın ise anlamlı düzeyde olduğunu saptamışlardır. Aktay ve ark. (28) tarafından yapılan çalışmada, Cd ve Etanolün karaciğer üzerine yaptığı toksik etkiye bağlı olarak karaciğer MDA düzeyinde kontrol grubuna nazaran artışın istatistiksel açıdan önemli olduğu gözlenmiştir. Coşan ve ark. (29) yaptıkları bir çalışmada Cd'un oluşturduğu toksik etkiye bağlı olarak MDA düzeyinde artış ve SOD aktivitesinde ise azalmanın olduğunu tespit etmişlerdir. Akintola ve ark. (30) ham petrolün karaciğer üzerinde oluşturduğu toksik etkisine karşı bal ve Hindistan cevizi suyunun koruyucu etkisini araştırmışlar. Araştırmacılar çalışmada, karaciğer dokusu KAT aktivitesinin petrol kullanılan grupta kontrol grubuna kıyasla azalma, bal ile birlikte petrol kullanılan grupta yalnızca petrol grubuna göre artışın istatistiksel yönden önemli olduğunu bulmuşlardır.

Rezaei ve ark. (31) tarafından yapılan bir çalışmada ratlarda asetik asit ile oluşturulan ülseratif etkiye karşı balın koruyucu etkisinde doku MDA düzeyinin kontrol grubuna göre artışın, bal ile birlikte asetik asit kullanılan grupta yalnızca asetik asit kullanılan gruba göre azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır. Yine aynı çalışmada araştırmacılar serum GSH, GSH-Px ve SOD aktivitesindeki kontrole göre azalma, bal ile birlikte asetik asit kullanımı sonrası bal kullanılmayan gruba göre artışın önemli olduğunu gözlemişlerdir. Candan ve ark. (32) yaptıkları çalışmada Cd uygulamasına bağlı olarak ürogenital organlarda kontrol grubuna kıyasla Cd grubunda MDA düzeyinde artışın, GSH-Px ve KAT aktivitesindeki azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğunu saptamışlardır.

El-haskoury ve ark. (33) çalışmalarında CCl₄ ile oluşturdukları karaciğer ve böbrek toksisitesinde balın koruyucu etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar kontrol grubuna göre MDA düzeyinde artış ve GSH, KAT ve GSH-Px aktivitesinde azalmanın istatistiksel yönden önemli olduğunu bulmuşlar-

dır. Bal ile birlikte CCl₄ verilen grupta verilmeyen gruba kıyasla MDA düzeyinde azalma, KAT, GSH ve GSH-Px aktivitesinde artış olduğunu gözlemişlerdir. Huang ve ark. (34) ratlarda cisplatin kullanımına bağlı olarak oluşan değişimlere karşı korumada polen ekstraktının etkisini araştırmışlar. Araştırmacılar cisplatin uygulanan grupta kontrole göre MDA düzeyinde artış, GSH, SOD ve KAT aktivitelerinde azalma olduğunu saptamışlardır. Polen ekstraktı uygulanan grupta uygulanmayan gruba kıyasla MDA düzeyinde azalma GSH, KAT ve SOD aktivitesinde artışın olduğunu tespit etmişlerdir.

Mohamed ve ark. (35) sigaranın rat testislerinde meydana getirdiği oksidatif hasara karşı balın koruyucu etkisi üzerine yaptıkları çalışmada sigara dumanı uygulanan grupta doku MDA düzeyinde artış GSH, GSH-Px, KAT ve SOD aktivitesinde azalma gözlemişler. Bal verilen grupta ise sigara dumanına maruz bırakılan gruba kıyasla MDA düzeyinde azalma ve GSH, GSH-Px, KAT ve SOD aktivitelerinde ise artış olduğunu saptamışlardır. Saral ve ark. (36) ratlarda CCl₄ ile yaptıkları oksidatif hasara karşı bal ve polenin etkisini incelemişler. Karaciğer dokusu MDA düzeyinin CCl₄ verilen grupta, kontrol grubuna kıyasla artışı yüksek, bal ve polen verilen grupların CCl₄ verilen gruba göre azalmayı istatistiksel olarak önemli bulmuşlardır. Eraslan ve ark. (37) yaptıkları çalışmada ratlarda carbaryl isimli insektisit ile meydana getirdikleri oksidatif hasara karşı polenin koruyucu etkisini araştırmışlar. Araştırmada plazma ve dokuda MDA, eritrosit ve dokuda KAT ve GSH-Px aktivitelerinin polen verilen gruba kontrol grubu arasında farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu tespit etmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada, kontrol grubu ile Cd grubu arasında doku; MDA, GSH-Px ve KAT düzeylerinin önemli ve GSH düzeyinin ise önemsiz olduğu gözlenmiştir. Burada, MDA düzeyi (27-29, 31-36), GSH-Px aktivitesi (27, 31-33, 35) ve KAT aktivitesi (30, 32-35) araştırmacıların bildirimleri ile benzerlik gösterirken bunun yanında GSH düzeyinde azalmanın olduğu ancak istatistiksel açıdan önemli olmadığı ve

sonucun (31, 33, 34, 35) araştırmacıların sonuçları ile aynı yönlü olmadığı gözlenmiştir. Cd canlı organizmada oksidatif etki göstererek antioksidan enzim düzeylerinde azalma ve MDA düzeyinde ise artış meydana gelmektedir (38).

Çalışmada, GSH-Px ve KAT aktivitelerinin Cd+Bal, Cd+Polen ve Cd+Bal+Polen gruplarının Cd grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı. Bunun yanında MDA düzeyi farkının ise Cd+Bal, Cd+Polen ve Cd+Bal+Polen gruplarında azalma Cd grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi. GSH-Px aktivitesinin (31, 33, 35, 37), KAT aktivitesi (30, 33-35, 37) ve MDA düzeyi (31, 33-37) araştırmacıların bulguları ile örtüştüğü gözlenirken GSH düzeyinden artışın olduğu buna rağmen istatistiksel olarak önemsiz olduğu saptanmış olup sonucun (31, 33- 35) araştırmacıların bildirimleri ile benzeşmediği gözlenmiştir.

SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışmada, Cd'un meydana getirdiği oksidatif hasara bağlı olarak ratlarda doku lipid peroksidasyon düzeyinde artış, ayrıca bazı antioksidan değerlerde ise azalma saptanmıştır. Cd uygulaması ile birlikte bal, polen ve bal+polenin hem koruma ve hem de tedavi amacıyla birlikte verilmesi ile lipid peroksidasyon düzeyinde azalma bazı antioksidan düzeylerinde ise artış gözlenmiştir. Bundan dolayı bal ve polenin, canlı organizmada Cd ve diğer toksik etkenlerin meydana getirebileceği oksidatif hasara karşı canlı organizmada koruyucu ve tedavi edici olarak kullanılması sonucu bazı antioksidanların aktivitelerinde artışa neden olabileceği görülmekte ve kullanılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Stohs SJ, Bagchi D, Hassoun E, Bagchi M. (2000). Oxidative Mechanisms in The Toxicity of Chromium and Cadmium Ions. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 19: 201-213.
2. Cuypers A, Plusquin M, Remans T, Jozefczak M, Keunen E, Gielen H, Opdenakker K, Nair AR, Munters E, Artois TJ, Nawrot T, Vangronsveld J, Smeets K. (2010). Cadmium Stress: An Oxidative Challenge. *Biometals*. 23: 927-940.
3. Karbownik M, Gitto E, Lewinski A, Reiter RJ. (2001). Induction of Lipid Peroxidation in Hamster Organs by The Carcinogen Cadmium: Amelioration by Melatonin. *Cell Biol Toxicol*. 17: 33-40.
4. Baldwin DR, Marshall WJ. (1999). Heavy Metal Poisoning and It's Laboratory Investigation. *Ann Clin Biochem*. 36: 267-300.
5. Tekelioğlu M. (2002). Özel Histoloji, İnce Yapı ve Gelişme, Erkek Üreme Sistemi. Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Yayinevi, Ankara.
6. Baum JW, Liu J, Klaassen CD. (1993). Production of Metallothionein and Heat-Shock Proteins in Response to Metals. *Fundam Appl Toxicol*. 21: 15-22.
7. Katsuta O, Hiratsuka H, Matsumoto J, Toyonta M, Umemura T, Marumo F. (1994). Cadmium-Induced Osteomalacic and Osteopetrotic Lesions in Ovariectomized Rats. *Toxicol Appl Phar*. 126: 58-68.
8. Thevenod F. (2003). Nephrotoxicity and The Proximal Tubule Insights from Cadmium. *Nephron Physiol*. 9: 87-93.
9. Hughes MR, Smits JE, Eliot JE, Bennett DC. (2000). Morphological and Pathological Effects of Cadmium Ingestion on

10. Pekin Ducks Exposed to Saline. *J Toxicol Environ Health*. 6: 591-608.
10. Zalups R, Ahmad S. (2003). Molecular Handling of Cadmium in Transporting Epithelia. *Toxicol Appl Pharmacol*. 186:163-88.
11. Casalino E, Calzavetti G, Sblano C, Landriscina C. (2002). Molecular Inhibitory Mechanisms of Antioxidant Enzymes in Rat Liver and Kidney by Cadmium. *Toxicology*. 179: 37-50.
12. Lopez E, Arce C, Oset-Gasque MJ, Canadas S, Gonzalez MP. (2006). Cadmium Induces Reactive Oxygen Species Generation and Lipid Peroxidation in Cortical Neurons in Culture. *Free Radic Biol Med*. 40: 940-951.
13. Romero A, Caride A, Pereiro N, Lafuente A. (2001). Modulatory Effects of Melatonin on Cadmium-Induced Changes in Biogenic Amines in Rat Hypothalamus. *Neurotox Res*. 20: 240-249.
14. Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, Singh I, Sing AK. (2000). Kidney Ischemia-Reperfusion: Modulation of Antioxidant Defenses. *Mol Cell Biochem*. 205: 1-11.
15. Meister A, Anderson ME. (1983). Glutathione. *Annu Rev Biochem*. 52: 711-760.
16. Küçük M, Kolaylı S, Karaoğlu S, Ulusoy E, Baltacı, Candan F. (2007). Biological Activities and Chemical Composition of Three Honeys of Different Types From Anatolia. *Food Chem*. 100: 526-534.
17. Gheldof N, Wang XH, Engeseth NJ. (2002). Identification and Quantification of Antioxidant Components of Honeys from Various Floral Sources. *J Agric Food Chem*. 50: 5870-5877.
18. Michalkiewicz A, Biesaga M, Pyrzynska K. (2008). Solidphase Extraction Procedure for Determination of Phenolic Acids and Some Flavonols in Honey. *J Chromatogr*. 1187: 18-24.
19. Cheng N, Ren N, Gao H, Lei X, Zheng J, Cao W. (2013). Antioxidant and Hepatoprotective Effects of Schisandra Chinensis Pollen Extract on CCl4-Induced Acute Liver Damage in Mice. *Food Chem Toxicol*. 55: 234-240.
20. Lawrence RA, Burk RF. (1976). Glutathione Peroxidase Activity in Selenium-Deficient Rat Liver. *Biochem Biophys Res Commun*. 71(4): 952-958.
21. Sedlak J, Lindsay RHC. (1968). Estimation of Total Protein Bound and Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellmann's Reagent. *Anal Biochem*. 25: 192-205.
22. Aebi H. Catalase. (1984). In *Vitro. Methods in Enzymology*. 105: 121-126.
23. Matkovic B, Szabo I, Varga IS. (1988). Determination of Enzyme Activities in Lipid Peroxidation and Glutathione Pathways (in Hungarian). *Lab Diag*. 15: 248-249.
24. Placer ZA, Cushmann LL, Johnson BC. (1966). Estimation of Products of Lipid Peroxidation in Biochemical Systems. *Anal Biochem*. 16: 359-364.
25. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. (1951). Protein Measurement with The Folin-Phenol Reagent. *J Biol Chem*. 193: 265-275.
26. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. (1995). *Biyoistatistik*. 6. Baskı, Özdemir Basım Yayım ve Dağıtım LTD Şti, Ankara.
27. Karaca Ö, Sunay FB, Kuş MA, Gülcan B, Özcan E, Ögetürk M, Kuş İ. (2014). Kadmiyum İle Oluşturulan Deneysel Karaciğer Hasarına Karşı Melatoninin Etkilerinin Biyokimyasal ve Histopatolojik Düzeylerde İncelenmesi. *Fırat Tıp Derg*. 19(3): 110-115.
28. Aktay G, Söylemezoğlu T, Aktay İ, Sayal A, Aydın A, İşimer A. (1995). Kadmiyum ve Etanolün Karaciğerde Lipid Peroksi-

- dasyon ve İz Element Düzeylerine Etkisi. GATA Bülteni. 37: 289-292.
29. Coşan DT, Dal A, Soyacak A, Çolak E, Çiçek A, Kurt H. (2017). Kadmium Toksikitesi Oluşturulan Sıçanlarda Tannik Asitin, Ağır Metal Giderimi ve Bazı Biyokimyasal Değerler Üzerine Etkisinin Araştırılması. Kocatepe Tıp Dergisi. 18:146-153.
 30. Akintola AO, Kehinde BD, Fakunle JO, Ajayi AF. (2018). Synergistic and Ameliorative Effect of Honey and Coconut Water on Crude Oil Induced Toxicity in Rats. Res J. Environ. Toxicol. 12(1): 24-33.
 31. Rezaei N, Eftekhari MH, Tanideh N, Mokhtari M, Bagheri Z. (2018). The Protective Effects of Honey and Spirulina Platensis on Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis in Rats. Iran Red Crescent Med J. 20(4): 1-11.
 32. Candan İA, Bayram D, Calapoğlu NŞ, Gürbüz N, Cankara FN, Özgöçmen M, Armağan İ. (2017). Kadmium Verilen Dişi Sıçanlarda Üreme Sistemi Üzerine Melatonin ve Selenyumun Etkisi. SDÜ Tıp Fak Derg. 24(3): 84-95.
 33. El-Haskoury R, Al-Waili N, Kamoun Z, Makni M, Al-Waili H, Lyoussi B. (2018). Antioxidant Activity and Protective Effect of Carob Honey in CCl4-Induced. Kidney and Liver Injury. Archives of Medical Research. 49: 306-313.
 34. Huang H, Shen Z, Geng Q, Wu Z, Shi P, Miao X. (2017). Protective Effect of Schisandra Chinensis Bee Pollen Extract on Liver and Kidney Injury Induced by Cisplatin in Rats. Biomedicine & Pharmacotherapy. 95: 1765-1776.
 35. Mohamed M, Sulaiman SA, Jaafar H, Sirajudeen KNS. (2011). Antioxidant Protective Effect of Honey in Cigarette Smoke-Induced Testicular Damage in Rats. Int J Mol Sci. 12: 5508-5521.
 36. Saral Ö, Yıldız O, Yazıcıoğlu RA, Yuluğ E, Canpolat S, Öztürk F, Kolaylı S. (2016). Apitherapy Products Enhance The Recovery of CCL4-Induced Hepatic Damages in Rats. Turk J Med Sci. 46: 194- 202.
 37. Eraslan G, Kanbur M, Silici S. (2009). Effect of Carbaryl on Some Biochemical Changes in Rats: The Ameliorative Effect of Bee Pollen. Food and Chemical Toxicology. 47: 86-91.
 38. Ognjanović B, Zikić RV, Saicić ZS, Kostić MM, Petrović VM. (1995). The Effects of Selenium on The Antioxidant Defense System in The Liver of Rats Exposed to Cadmium. Physiol Res. 44(5): 293-300.

Yazışma Adresi:

* Dr. Öğr. Üyesi Halil ŞİMŞEK
Bingöl Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu,
12000, Bingöl, Türkiye.
E-mail: hsimsek@bingol.edu.tr



Kurutulmuş Meyve Örneklerinde Mikrobiyolojik Kalite Özelliklerinin Araştırılması

Nurgül AKBAL¹, Aydın VURAL^{2*}

¹İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü, Varto, MUŞ

²Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Sur, DİYARBAKIR

Geliş Tarihi/Received
20.12.2018

Kabul Tarihi/Accepted
30.12.2018

Yayın Tarihi/Published
31.12.2018

Öz

Bu çalışmada kurutulmuş kayısı, incir, siyah üzüm, sarı üzüm, elma, erik ve dut örneklerinde mikrobiyolojik kalitenin araştırılması amaçlanmıştır. Kurutulmuş meyve örnekleri toplam mezofilik aerob bakteri, koliform, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus-Micrococcus* spp., küf-maya ve sülfid indirgeyen anaerob bakteri varlığı yönünden standart analiz yöntemleri ile incelenmiştir. *E. coli* (%10) ve sülfid indirgeyen anaerob bakteriler (%10) sadece kurutulmuş siyah üzüm örneklerinde; *S. aureus* ise sadece kurutulmuş erik (%20) ve kurutulmuş dut (%10) örneklerinde saptanmıştır. Analiz edilen kurutulmuş meyve örneklerinin tamamı küf ve maya sayısı açısından Türk Gıda Kodeksi'ne göre kabul edilebilir sınırlar içerisindeydi. Bu çalışma ile analiz edilen kurutulmuş meyve örneklerinin mevcut durumda halk sağlığı açısından risk oluşturmadığı saptanmıştır. Ancak analiz edilen örneklerde patojen bakteri ve hijyen indikatörü mikroorganizmaların bulunması kötü muhafaza koşullarında halk sağlığı açısından sorunlara neden olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kurutulmuş meyve, Mikrobiyolojik kalite, *E. coli*, *S. aureus*

Research of Microbiological Quality Properties in Dried Fruit Samples

Abstract

In this research the aim was to determine microbiological quality in dried apricot, fig, black grape, white grape, apple, plum, and mulberry samples. Dried fruit samples were examined by standard analysis methods in terms of total mesophilic aerob bacteria, coliform, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus-Micrococcus* spp., mould-yeast and sulphide reducing anaerobic bacteria. *E. coli* (10%) and sulphide reducing anaerobic bacteria (10%) were only detected in dried black grape samples. *S. aureus* was only detected in dried plum (20%) and dried mulberry (10%) samples. All of the analyzed dried fruit samples were within the acceptable limits according to Turkish Food Codex in terms of yeast and mold. By this study it was determined that analyzed dried fruit samples do not threat public health. However, presence of pathogen and hygiene indicator microorganisms in the analyzed samples makes us think that bad preservation conditions may cause problems in terms of public health.

Key Words: Dried fruits, Microbiological quality, *E. coli*, *S. aureus*

GİRİŞ

Kuru meyveler esansiyel amino asitler, vitaminler, mineraler ve diyet lifleri bakımından zengin besin maddeleridir. Her yaştaki bireyler tarafından tüketilebilen kurutulmuş meyveler özellikle iyileşmeyi bekleyen uzun süreli hastalarda enerji ve dayanıklılık sağlamak amacıyla kullanılmaktadır (1). Taze meyvelerin nem içeriği %80'den fazla olduğu için kolay bozulabilen ürünler olarak sınıflandırılmaktadır (2). Ürünü taze tutmak besin değerini korumanın en iyi yoludur, ancak dağıtım zinciri boyunca çoğu depolama tekniğinin gerektirdiği düşük sıcaklıkları sağlamak zordur. Kurutma düşük sıcaklıkların ve ambalajlamanın tam sağlanmadığı ülkeler için alternatif bir hasat sonrası işlemdir (3). Kurutma işlemi ile daha az enerji harcanması, hacim ve kütlenin azalması ile taşımanın kolaylaşması, raf ömrünün uzatılması ve daha yoğun besin maddesi içeren ürünler elde edilmesi

sağlanmaktadır (4). Dünyadaki bozulabilir bitkisel ürünlerin %20'den fazlasının raf ömrünü uzatmak ve gıda güvenliğini arttırmak için kurutulduğu belirtilmektedir (5).

Kurutma işlemlerinde gıda maddesinin su aktivitesi (aw) azaltılarak gıda maddesindeki mikrobiyal, kimyasal ve enzimatik faaliyetlerin sınırlandırılması ve gıdanın raf ömrünün artırılması amaçlanmaktadır (6). Düşük su aktivitesi bakteri ve küf-maya gelişmesi ile enzimatik ve kimyasal reaksiyonların oluşmasını yavaşlatmaktadır. Genel olarak 0.85'in altındaki su aktivitesi değerlerinde bakteriler, 0.70'in altında mayalar ve 0.65'in altında ise küfler gelişemez. Kurutulmuş ürünler yüksek su aktivitesi değerlerinde ise kolay bozulma eğilimindedir. Kurutulmuş ürünlerin depolanması için optimum bağıl nem %55-70 aralığında olup, bu değer

ürünlerin nem içeriğine bağlı olarak (%2-20) değişim gösterir (7).

Meyve ve sebzelerin güneşte veya güneş enerjili kurutma sistemleri ile kurutulması ürünlerde düşük kaliteye ve kontaminasyonlara neden olabilmektedir (3). Kötü kalite ve ürün kirliliği alternatif kurutma teknolojilerinin gelişmesine yol açmaktadır (8). Kurutulmuş ürünlerin kalitesi ve enerji tüketimi kurutma şeklinin seçiminde kritik parametrelerdir. Optimum kurutma sisteminden beklenen uygun maliyetli olması, kısa sürede kurutma yapabilmesi ve ürünlerde minimum hasar oluşturmasıdır. Enerji kullanımını ve işletme maliyetini azaltmak ve kaliteli kurutulmuş ürün eldesi için ozmotik dehidrasyon, vakum kurutma, dondurarak kurutma, ısıtılmış buhar ile kurutma, ısı pompası kurutma ve sprey kurutma teknolojileri gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (3).

Kurutulmuş ürünlerin kalitesi ürünün mikrobiyolojik stabilitesi, işleme ortamı (kirli zeminler, tavanlar ve ekipman), üretim ve paketlenme prosesi (ıslak ve kuru alanlar, ambalaj alanı) ve depolama koşulları ile ilişkilendirilmektedir (7). Hasat ve hasat sonrası aşamalarda gıda maddelerinde oluşan mekanik ve fiziksel zararlar, kimyasal ve mikrobiyal bozulmalara katkıda bulunmaktadır (6).

Meyvelerin bol ve ucuz olduğu mevsimlerde güneşte kurularak yılın her mevsiminde tüketime olanak sağlanması Türkiye’de yaygın olarak uygulanan bir muhafaza yöntemidir. Kurutulmuş meyveler satış yerlerinde çoğunlukla dökme denilen açıkta satışa sunulmakta ve yıkama dahil hiçbir işlem geçirmeden direkt olarak tüketilmektedir. Kurutulmuş meyveler kurutma, muhafaza ve satış gibi farklı aşamalarda mikroorganizmalarla kontaminasyona uğrayabilir. Bu çalışmada kurutulmuş meyve örneklerinin hijyenik kalitesinin incelenmesi ve halk sağlığı açısından risk durumunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Örneklerin toplanması

Diyarbakır ili’nde farklı kuruyemişi, şekerlemeci ve baharatçılarda ambalajsız (dökme, açıkta satış) olarak satışa sunulan kurutulmuş kayısı (10 örnek), kurutulmuş incir (10 örnek), kurutulmuş siyah üzüm (10 örnek), kurutulmuş sarı üzüm (10 örnek), kurutulmuş elma (10 örnek), kurutulmuş erik (10 örnek) ve kurutulmuş dut’tan (10 örnek) oluşan toplamda 70 örnekten yaklaşık 150 gram miktarlarda steril numune alma poşetlerine alındı. Örnekler soğuk zincirde (4 °C) muhafaza edilerek laboratuara getirildi ve derhal analizlere başlandı.

Mikrobiyolojik analizler

Kurutulmuş meyve örneklerinden aseptik koşullarda alınan 5 gram örnek 45 ml fizyolojik tuzlu su ile homojenize edilerek seyreltmeler gerçekleştirildi. Standart analiz yöntemleri ile analizi yapılacak mikroorganizmaya uygun besiyerlerine ekim yapıldı. Toplam mezofilik aerob bakteri (TMAB) sayımı

için Plate Count Agar’a (Oxoid CM 463) dökme plak yöntemi ile ekim yapıldı ve 37 °C’de 48 saat inkübasyondan sonra üreyen koloniler sayıldı. Küf-maya sayısının belirlenmesinde Potato Dextrose Agar (Oxoid CM139) kullanıldı. 25 °C’de 5 günlük inkübasyon sonrasında küf ve maya kolonilerinin sayımı gerçekleştirildi (9). Koliform bakterilerin izolasyonu amacıyla Violet Red Bile Agar (Oxoid CM107) kullanıldı. Çift tabaka dökme yöntemi ile ekim ve 37 °C’de 24 saat inkübasyondan sonra 2–3 mm çapındaki kırmızı viyole renkli koloniler sayıldı. *E. coli* izolasyonu amacıyla Violet Red Bile Agar (Oxoid CM107) kullanıldı. Çift tabaka dökme yöntemi ile ekim ve 44 °C’de 24 saat inkübasyondan sonra 2–3 mm çapındaki kırmızı viyole renkli kolonilere IMVIC testleri uygulanarak değerlendirme yapıldı. *S. aureus* ve *Staphylococcus-Micrococcus* spp. sayımı için egg yolk tellurite emülsion ilave edilmiş Baird Parker Agar Base (Oxoid CM275+SR54) besiyerinde 37 °C de 48 saatlik inkübasyon uygulandı. Siyah, etrafında sarı lesitinaz halkası bulunan, konveks ve parlak koloniler *S. aureus* şüpheli olarak değerlendirildi. Katalaz, DNase ve koagulaz testi uygulanarak *S. aureus* tespit edildi. Sülfite indirgeyen anaerob bakteri (SAB) sayısının saptanmasında sulfite polymyxin sulphadiazine agar (SPSA) kullanıldı. Roll-tüp tekniği kullanılarak yapılan ekim sonrası 37 °C’de 24 saatlik inkübasyon gerçekleştirildi. Tüplerde oluşan kenarları düzensiz siyah koloniler değerlendirilmeye alındı (10).

BULGULAR

Kurutulmuş kayısı, incir, siyah üzüm, sarı üzüm, elma, erik ve dut örneklerindeki mikrobiyel kontaminasyon düzeyleri tablo 1’de mikroorganizma varlığı ise tablo 2’de gösterilmiştir. Bu çalışmada TMAB kontaminasyonu kurutulmuş kayısılarında %50, kurutulmuş erik ile kurutulmuş sarı üzüm örneklerinde %70 ve diğer örneklerde ise %100 olarak saptanmıştır. En yüksek TMAB sayısı siyah üzümde (9.9×10^3 kob/g), en düşük sayı ise kurutulmuş incirde (7.3×10^2 kob/g) bulunmuştur. Analiz edilen gıda örneklerinin hijyenik kalitelerinin belirlenmesi amacıyla koliform bakteri ve *Staphylococcus-Micrococcus* spp. varlığı açısından incelenmiştir. Kurutulmuş dut, elma, siyah üzüm ve sarı üzüm örneklerinde koliform kontaminasyonu sırasıyla %30, %10, %10 ve %10 olarak saptanmıştır. Diğer örneklerde ise koliform varlığı tespit edilememiştir. Kurutulmuş elma ve erik örneklerinin %20’sinde, kurutulmuş siyah üzüm ve dut örneklerinin ise %10’unda *Staphylococcus-Micrococcus* spp. varlığı saptanmıştır. Diğer örneklerde ise *Staphylococcus-Micrococcus* spp. bulunamamıştır. Kurutulmuş siyah üzüm örneklerinde *E. coli* (%10) ve sülfite indirgeyen anaerob bakteri (%10), kurutulmuş erik (%20) ve kurutulmuş dut (%10) örneklerinde ise *S. aureus* varlığı saptanmıştır. Kurutulmuş kayısıda %30 ve kurutulmuş sarı üzümde %40 düzeyinde olan küf ve maya kontaminasyonu diğer tüm örneklerde %100 olarak bulunmuştur. En yüksek ortalama küf ve maya sayısı (1.1×10^4 kob/g) ise kurutulmuş siyah üzüm ve kurutulmuş dut örneklerinde bulunmuştur.

Tablo 1. Kurutulmuş meyve örneklerinde mikrobiyel kontaminasyon düzeyleri (%)

	TMAB	Koliform	<i>E. coli</i>	<i>Staph-Micro</i> spp.	<i>S. aureus</i>	Küf- maya	SAB
kayısı	%50	TE	TE	TE	TE	%30	TE
incir	%100	TE	TE	TE	TE	%100	TE
siyah üzüm	%100	%10	%10	%10	TE	%100	%10
sarı üzüm	%70	%10	TE	TE	TE	%40	TE
elma	%100	%10	TE	%20	TE	%100	TE
erik	%70	TE	TE	%20	%20	%100	TE
dut	%100	%30	TE	%10	%10	%100	TE

*TE: tespit edilemedi; TMAB: Toplam mezofilik aerob bakteri; *Staph-Micro* spp.: *Staphylococcus-Micrococcus* spp.; SAB: Sülfid indirgeyen anaerob bakteri

Tablo 2. Kurutulmuş meyve örneklerinde mikroorganizma varlığı (kob/g)

	TMAB	Koliform	<i>E. coli</i>	<i>Staph-Micro</i> spp.	<i>S. aureus</i>	Küf- maya	SAB
kayısı	1.8x10 ³	TE	TE	TE	TE	2.9x10 ³	TE
incir	7.3x10 ²	TE	TE	TE	TE	1x10 ³	TE
siyah üzüm	9.9x10 ³	3x10 ¹	1x10 ²	9.7x10 ³	TE	1.1x10 ⁴	1x10 ²
sarı üzüm	9x10 ²	1x10 ¹	TE	TE	TE	2.2x10 ³	TE
elma	1.1x10 ³	4x10 ¹	TE	1x10 ¹	TE	8.9x10 ²	TE
erik	1.9x10 ³	TE	TE	2x10 ²	2x10 ²	2.7x10 ³	TE
dut	3.3x10 ³	5.6x10 ¹	TE	8x10 ²	3x10 ²	1.1x10 ⁴	TE

*TE: tespit edilemedi; TMAB: Toplam mezofilik aerob bakteri; *Staph-Micro* spp.: *Staphylococcus-Micrococcus* spp.; SAB: Sülfid indirgeyen anaerob bakteri

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kurutulmuş meyveler besin maddeleri açısından zengin ve sağlık açısından yararlı etkileri olan iç ve dış pazarlarda yaygın olarak tüketilen gıda maddeleridir (11). Kurutulmuş meyveler, meyvelerin konsantre formu olup taze meyvelerden daha kolay depolanır ve yıl boyunca tüketilebilir (12). Ancak, hasat öncesi elverişsiz hava koşullarına ve hasat sonrası kötü hasat, kurutma, taşıma, depolama ve nakliye koşullarına tabi olarak, çeşitli tipte toksijenik mantarlar (13) veya bakteriler tarafından kontaminasyonlara maruz kalabilirler.

Toplam mezofilik aerob bakteri (TMAB) sayısı gıda maddelerindeki bakteri yükü ve hijyenik kalitenin belirlenmesinde kullanılan hijyen indikatörü bir parametredir. TMAB sayısı içerisinde insanlarda hastalık yapan patojenlerin birçoğu da bulunmaktadır. Bu çalışmada analiz edilen kurutulmuş meyve örneklerindeki TMAB sayısının halk sağlığı açısından tehlike oluşturabilecek düzeyde olmadığı, örneklerdeki TMAB sonuçlarının birbirine yakın bulunduğu ve bu parametre açısından hijyenik kalitenin yeterli olduğu değerlendirilmiştir.

Meldrum ve ark. (14) Galler-İngiltere'de 1995-2003 yılları arasında 15.228 adet tüketime hazır gıda maddesi içerisinde 29 adet kurutulmuş meyve/sebze örneğinden hiçbirinin yasal sınırın üzerinde aerobik mikroorganizma, *E. coli*, *S. aureus* ve *C. perfringens* içermediğini bildirmiştir. Meldrum ve ark. (15) Galler-İngiltere'de 2003-2005 yılları arasında 3.391 adet tüketime hazır gıda maddesi içerisinde 555 adet kurutulmuş meyve örneğini incelemişlerdir. Araştırmacılar kurutulmuş meyvelerin tüm incelenen örnekler arasında en iyi hijyenik kaliteye sahip olduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada kurutulmuş meyve örneklerinin sadece %0.5'i aerobik

koloni sayısı açısından limitlerin üzerinde iken, hiçbir örnekte *Salmonella*, *Listeria*, *L. monocytogenes*, *E. coli* ve *S. aureus* varlığı tespit edilememiştir. Sadece iki örnekte *Bacillus cereus* bulunmuştur (<10⁴). Bizim çalışmamızda kurutulmuş siyah üzümde *E. coli* (%10), kurutulmuş erik ve kurutulmuş dutlarda ise *S. aureus* (%20 ve %10) varlığı bulunmuştur. Bu sonuçlar her iki araştırmanın sonuçlarından daha yüksektir. Candlish ve ark. (16) Glaskow-İngiltere'de yaptıkları çalışmada kurutulmuş incir ve kuru dut örneklerinde 37 °C'lik inkübasyonda toplam canlı mikroorganizma sayısını sırasıyla 600-2.85x10³ ve 850 olarak; 25-30 °C'lik inkübasyonda ise sırasıyla 450-1.1x10³ ve 1.85x10³ olarak tespit etmişlerdir. Kuru dut örneklerindeki küf-maya sayısı 1.4x10³ kob/g iken, koliform varlığı tespit edilememiştir. Kurutulmuş incirlerde ise hem küf-maya ve hem de koliform sayısı sayım yapılacak düzeyde bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda kuru incir örneklerindeki TMAB sayısı Candlish ve ark. (2001) bildirdikleri sonuçlarla uyumlu iken, kuru dut örneklerinde bizim sonuçlarımız daha yüksek bulunmuştur. Bizim hem kuru incir ve hem de kurutulmuş dutlarda bulduğumuz küf-maya sayıları aynı çalışmadaki sonuçlardan daha yüksektir. Koliform kontaminasyonu açısından kurutulmuş incirlerde benzer sonuçlar bulunurken, kurutulmuş dutlarda bulduğumuz sonuçlar ise daha yüksektir (%30).

Kurutulmuş meyve örneklerinde patojen bakterilerin varlığı da ayrıca incelenmiştir. Bu patojenlerden *E. coli* dışı kökenli, sülfid indirgeyen anaerob çoğunlukla toprak kökenli ve *S. aureus* ise çoğunlukla insan kökenli kontaminasyonları gösteren mikroorganizmalardır. Patojen bakteri sayıları her ne kadar yüksek bulunmasa da uygun olmayan koşullarda bu bakterilerin çoğalma ihtimali bulunduğu, bağışıklık sis-

temi zayıf veya baskılanmış kişilerde az sayıdaki etkenin de hastalıklara neden olabileceği değerlendirilmelidir.

Kurutulmuş meyvelerdeki mikroorganizmaların sayısı, gram başına birkaç yüzden binlerceye kadar değişir ve bunlar çoğunlukla meyvelerin dış yüzeylerinde bulunurlar. Meyvenin bir kısmında kurutmadan önce veya sonra, uygun koşullar oluşmuşsa çok sayıda küf veya bakteri sporu da mevcut olabilir. Kurutma tepsileri temiz değilse ve yanlış yüklenmişse kurutma işlemi sırasında bakteri ve mantar sayısında belirgin bir artış meydana gelebilir. Çoğu kuru meyvelerin bozulması genellikle depolama, işleme ve nakliye sırasında meydana gelir (17). Araştırmalarda bulunan kontaminasyon düzeyleri ile bakteri sayıları arasındaki farklılıkların hasat öncesi kontaminasyonlar, kurutma koşulları, kurutma sonrası üründeki su aktivitesi ve nem içeriği, depolama ve satış koşulları (sıcaklık, nem) ile ambalajlı olup olmamasından kaynaklanması muhtemeldir.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (18) hükümlerine göre kurutulmuş meyvelerde sadece küf ve maya sayısı (n:5, c:2, m: 10⁴, M: 10⁵) kriter olarak aranmaktadır. Bu çalışmada analiz edilen kurutulmuş meyve örneklerinin tamamı küf ve maya sayısı açısından Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne göre kabul edilebilir sınırlar içerisindeydi. Kuru meyveler ekim, meyve büyümesi, olgunlaşma, işleme, kurutma, depolama ve nakliye sırasında patojenik küf kontaminasyonuna karşı duyarlıdır. Aspergillus, Fusarium, Penicillium ve Alternaria türleri en yaygın patojenik küflerdir ve mikotoksinler olarak bilinen toksijenik bileşikler üretirler (19). Alghalibi ve Shater (17) yaptıkları çalışmada kurutulmuş meyvelerin, özellikle Aspergillus, Penicillium, Eurotium, Zygosaccharomyces ve Rhizopus türleri ile glukofilik ve kseroofilik mantar ile kontamine olduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada 20'şer örnek incelenirken 6 kuru üzüm örneğinde AFB1 (130-350 µg/kg), 2 kuru incir örneğinde AFB1 (120-250 µg/kg) ve 2 kuru incir örneğinde ise okratoksin A (70-160 µg/kg) kontaminasyonu bulunmuştur. Araştırmacılar kuru meyve veya meyve sularının tüketimi ve kurutulmuş meyvelerle üretilen reçeller yoluyla insanların mikotoksinlere maruz kalma riski olabileceğini bildirmiştir. Bu nedenle kuru meyvelerde hasat, işleme, taşıma, depolama ve kurutma sırasında farklı aşamalarda mikotoksinler açısından ölçümler yapılmasını önermişlerdir. Aflatoksin üretimini veya ürünün satışını engelleyen kontaminasyonları önlemek için küflerle enfekte olmuş tanelerin tasnifleme sırasında uzaklaştırılması gerekmektedir. Hasat edilmiş ürünlerde küf gelişimini önlemenin en iyi yolu uygun sıcaklık ve bağıl nem koşullarının tüm işlemler sırasında sağlanmasıdır. Fungal enfeksiyonlar depolama sırasında güvenli su aktivitesi olan 0.65 veya daha aşağı değerlere ulaşmadan meydana gelmektedir. Kurutulmuş ürünler için ideal depolama sıcaklığı 0-10 °C'dir. Sıcaklık ne kadar düşük olursa, depolama ömrü de o kadar uzamaktadır. Bazı ürünler ise bir yıl veya daha uzun bir süre 18 °C'de donmuş olarak muhafaza edilebilmektedir (7).

Sonuç olarak bu çalışmada analiz edilen kurutulmuş meyve örneklerinin mevcut durumda halk sağlığı açısından risk oluşturmadığı belirlenmiştir. Ancak analiz edilen örneklerde patojen bakteri ve hijyen indikatörü mikroorganizmaların bulunmasının gıda kalitesinde bozulma veya sağlık

sorunlarına neden olabileceği düşünülmektedir. Kurutulmuş meyve örneklerinde patojen veya hijyen indikatörü mikroorganizmaların varlığının hasat, kurutma, taşıma, muhafaza ve satış gibi aşamalarda hijyenik uygulamalardaki eksikliklerden veya toprak, su, malzeme ve personel kaynaklı kontaminasyonlardan kaynaklanması muhtemeldir. Kurutulmuş meyvelerin üretimi sırasında hijyenik koşullara uyulması, kurutma sonrası uygun malzemelerle ambalajlama ve modifiye atmosfer uygulamaları ile muhtemel risklerin azaltılması mümkündür. İmmun sistemi zayıf çocuklar, yaşlılar, hamileler ve kanser hastaları gibi gruplar tarafından bu gıdalar hiçbir yıkama veya işleme uğramaksızın tüketilmektedir. Diğer taraftan kurutulmuş meyveler farklı gıda maddelerinin üretiminde kullanılabilir. Bu ürünlerdeki mikroorganizmaların uygun koşullar altında gelişebileceği, toksin üretebileceği veya zayıf bireylerde sağlık problemlerine neden olabileceği unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

1. Asghar MA, Ahmed A, Zahir E, Asghar MA, Iqbal J, Walker G. (2017). Incidence of Aflatoxins Contamination in Dry Fruits and Edible Nuts Collected from Pakistan. *Food Control*. 78: 169-175.
2. Orsat V, Changrue V, Raghavan GSV. (2006). Microwave Drying of Fruits and Vegetables. *Stewart Postharvest Rev*. 6: 4-9.
3. Sagar VR, Suresh Kumar P. (2010). Recent Advances in Drying and Dehydration of Fruits and Vegetables: a Review. *J Food Sci Technol*. 47(1): 15-26.
4. Erbay B, Küçüköner E. (2008). Gıda Endüstrisinde Kullanılan Farklı Kurutma Sistemleri. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, 21-23 Mayıs, Erzurum-Türkiye.
5. Grabowski S, Marcotte M, Ramaswamy HS. (2003). Drying of Fruits, Vegetables, and Spices. In: *Handbook of Postharvest Technology: Cereals, Fruits, Vegetables, Tea, and Spices*. Chakraverty A, Mujumdar AS, Raghavan GSV, Rawaswamy HS (eds). Chapter 23, pp 653-695. Marcel Dekker, New York, USA.
6. İçer F, Sabancı S. (2013). Kurutma ve İşletmede Hijyen. 11. Ulusal Tesisat Mühendisliği Kongresi, 17-20 Nisan, İzmir-Türkiye.
7. Perera CO. (2005) Selected Quality Attributes of Dried Foods, *Drying Tech*. 23(4): 717-730.
8. Bezyma LA, Kutovoy VA. (2005). Vacuum Drying and Hybrid Technologies. *Stewart Postharvest Rev*. 4: 6-13.
9. Anonim. (2001). *BAM-Bacteriological Analytical Manual*. AOAC Int., Gaithersburg.
10. Harrigan WF. (1998). *Laboratory Methods in Food Microbiology*. Academic Press, San Diego, USA.
11. Wu Q, Xie L, Xu H. (2018). Determination of Toxigenic Fungi and Aflatoxins in Nuts and Dried Fruits using Imaging and Spectroscopic Techniques. *Food Chem*. 252(30): 228-242.
12. Masood, M, Iqbal SZ, Asi MR, Malik N. (2015). Natural Occurrence of Aflatoxins in Dry Fruits and Edible Nuts. *Food Control*, 55: 62-65.
13. Set E, Erkmen O. (2010). The Aflatoxin Contamination of Ground Red Pepper and Pistachio Nuts Sold in Turkey. *Food Chem Toxicol*. 48(8-9): 2532-2537.
14. Meldrum RJ, Ribeiro CD, Smith RMM, Walker AM, Simmons M, Worthington D, Edwards C. (2005). Microbiological Quality of Ready-to-Eat Foods: Results from a Long-Term Surveillance

- Program (1995 through 2003). J Food Protect. 68(8): 1654–1658.
15. Meldrum RJ, Smith RMM, Ellis P, Garside J. (2006). Microbiological quality of randomly selected ready-to-eat foods sampled between 2003 and 2005 in Wales, UK. On behalf of the Welsh Food Microbiological Forum. Int J Food Microbiol. 108(3): 397-400.
16. Candlish AAG, Pearson SM, Aidoo KE, Smith JE, Kelly B, Irvine H. (2001). A Survey of Ethnic Foods for Microbial Quality and Content Aflatoxin, Food Addit Contam. 18(2): 129-136.
17. Alghalibi SMS, Shater AM. (2004). Mycoflora and Mycotoxin Contamination of Some Dried Fruits in Yemen Republic. Ass Univ Bull Environ Res. 7(2): 19-27.
18. Anonim. (2011). TGK-Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. Resmi Gazete tarihi: 09/12/2011 Sayısı: 28157 (3. Mükerrer), Ankara.
19. Zain ME. (2011). Impact of Mycotoxins on Humans and Animals. J Saudi Chem Soc. 15, 129-144.

Yazışma Adresi:

*Prof. Dr. Aydın VURAL

Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Diyarbakır

e- mail: avural@dicle.edu.tr



Türkiye’de Küçük Ruminantlarda Brusellozun Kontrol ve Eradikasyon Stratejileri

Şahin ÇAKIR^{1*} Murat YILDIRIM²

¹Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Ankara-Türkiye

²Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale-Türkiye

Geliş Tarihi/Received
5.04.2018

Kabul Tarihi/Accepted
14.11.2018

Yayın Tarihi/Published
31.12.2018

Özet

Bu derleme, Dünya’da yaygın infeksiyöz zoonoz hastalıklardan biri olan, halk sağlığı yönünden tehlike arz eden ve evcil hayvanlarda ciddi ekonomik kayıplara neden olan koyun ve keçi brusellozunun ülkemizde kontrol ve eradikasyonunu sağlamayı ve uygun olan stratejiyi ortaya koymayı amaçlayan güncel bir çalışmadır. Bu kapsamda, güncel literatür taraması yapılarak ülkemizde Tarım ve Orman Bakanlığınca yürütülen sero-survey, kontrol ve eradikasyon çalışmaları incelenmiş ve yürütülen kontrol çalışmalarının fayda-maliyet analizleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak; Ülkemizde küçük ruminantlarda bruselloz hastalığının kontrol ve eradikasyonu ile ilgili yapılacak olan çalışmalara katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Küçük ruminant, bruselloz, kontrol, eradikasyon, strateji

Control and Eradication Strategies of Brucellosis Small Ruminants in Turkey

Abstract

This review is up to date with the purpose of supplying national control and eradication and appropriate strategy of sheep and goat brucellosis, which is one of the common infectious zoonotic diseases in the world, causing public health risks and serious economic losses in domestic animals. Within this context, latest literature survey was conducted, sero-surveys, control and eradication studies carried out by the Ministry of Agriculture and Forest in Turkey were examined and benefit-cost analyzes of the performed control studies were evaluated. As a result; it is aimed to contribute to the work that will be done about performing control and eradication studies against brucellosis in small ruminants in Turkey.

Key Words: Small ruminant, brucellosis, control, eradication, strategy

GİRİŞ

Bruselloz; Sığır, koyun, keçi, koç, domuz gibi hayvanlarda özellikle uterus, meme, testis gibi genital organlara yerleşerek abortus, infertilite, epidimitis ve orşitise neden olan kronik, bulaşıcı, nekrotik ve yangısal karakterde zoonoz bir hastalıktır (1). Enfekte hayvanların sütleri, süt ürünleri ve atık materyalleriyle etkenler insanlara bulaştıkları için halk sağlığı yönünden tehlike arz etmektedir. Ayrıca hastalık evcil hayvanlarda ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Dünya’daki yaygın infeksiyöz zoonoz hastalıklardan biridir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) dünya çapında her yıl raporlanan 500.000 insan bruselloz vakasına işaret etmektedir (2). İnsan brusellozu olgularının % 70 ’inden *B.melitensis*, % 25 ’inden *B.abortus* ve % 5’inden de *B.suis* sorumludur (3)

Tablo 1. Brusella türlerinin öncelikli konak tercihleri ve insan için patojenitesi (4,5).

Brusella Türleri	Biovarları	Öncelikli Konakları	İnsan için Patojenitesi
<i>B.melitensis</i>	1-3	Koyun, keçi	Yüksek
<i>B.abortus</i>	1-6, 9	Sığır	Yüksek
<i>B.suis</i>	1, 3	Domuz	Yüksek
	2	Vahşi ayı ve tavşan	Hayır*
	4	Ren geyiği, karibu	Yüksek
	5	Rodentler	Hayır
<i>B.neotomae</i>	-	Çöl ağaç ratı	Hayır
<i>B.ovis</i>	-	Koç	Hayır
<i>B.canis</i>	-	Köpek	Orta
<i>B.ceti</i>	-	Memeli deniz hayvanları	Bilinmiyor**
<i>B.pinnipedialis</i>	-	Yüzgeç ayaklılar	Bilinmiyor**
<i>B.microti</i>	-	Tarla faresi, tilki	Bilinmiyor
<i>B.inopinata</i>	-	Bilinmiyor	Yüksek
<i>B.papionis</i>	-	Babun yavrusu	Bilinmiyor

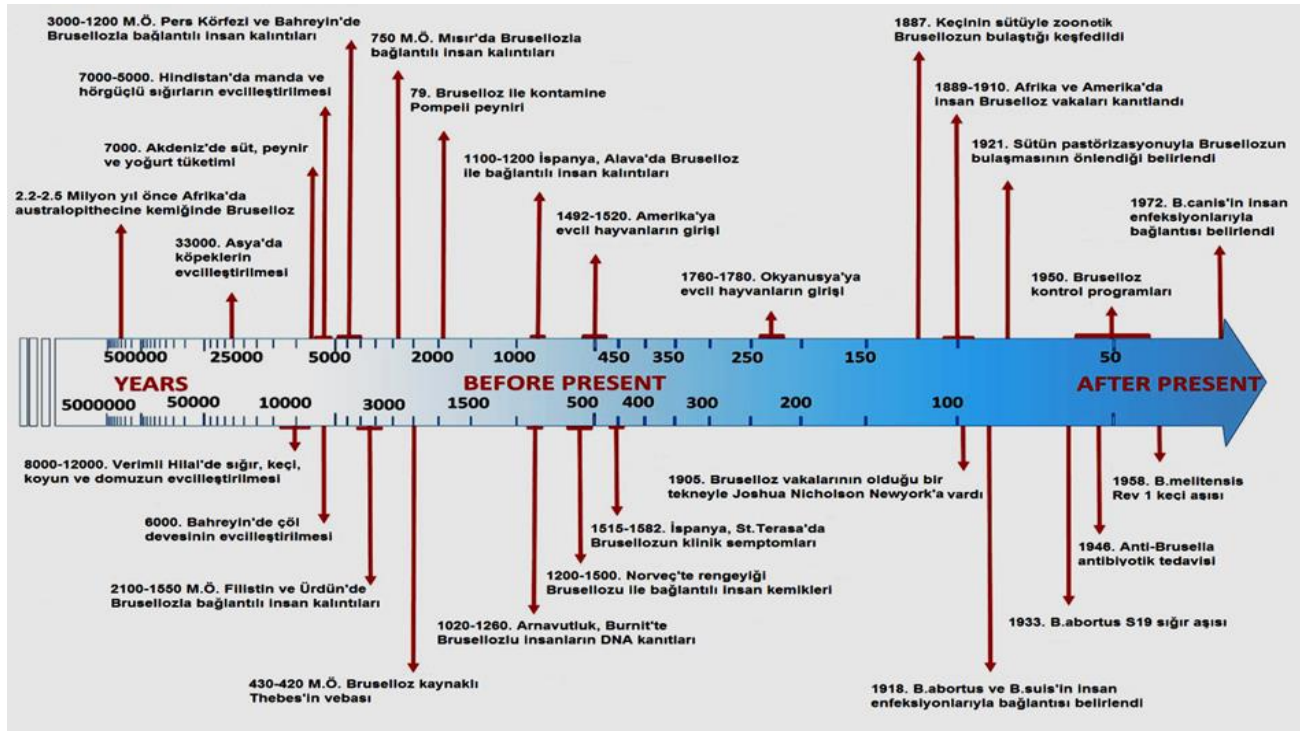
*İmmun riski olan bir avcıda *B.suis* biovar 2 enfeksiyonunun bir vakası Fransa’da tanımlanmıştır.

**Bir insanda laboratuvar kontaminasyonu İngiltere’de tanımlanmıştır. Enfeksiyonun kaynağı deniz memelilerine dayandırılmamasına rağmen, doğal edinilmiş iki vaka tanımlanmıştır.

TARİHÇE

Zoonotik bruselloz ile ilişkili olayların zaman çizelgesine bakıldığında ilk olarak yaklaşık 2.5 - 2.2 milyon yıl önce Afrika'da bir australopithecine (insana benzer canlı) kemiğinde brusellozun varlığı gösterilmektedir. Daha sonraki

yıllarda brusellozis ile ilgili gelişmelere zaman çizelgesinde (Şekil 1) yer verilmiştir (6).



Şekil 1. Zoonotik brusellozla ilişkili olayların zaman çizelgesi (6).

Brusella etkenin izolasyonu ve hastalıkla mücadeledeki önemli gelişmeler son 1.5 asırda gerçekleşmiştir. 1887 yılında keçi sütüyle zoonotik brusellozun insanlara da bulaştığı keşfedildi. 1918'de *B.abortus* ve *B.suis*'in insan enfeksiyonlarıyla ilişkisi bulundu. 1921'de sütün pastörizasyonu ile brusellozun bulaşmasının önlenilebileceği belirlendi. 1933'te *B.abortus* S 19 sığır aşısı geliştirildi. 1946'da bruselloza karşı antibiyotik tedavisi geliştirildi. 1950'de bruselloz kontrol programlarına başlandı. 1958'de *B.melitensis* Rev-1 keçi aşısı geliştirildi (6).

Türkiye'deki ilk insan bruselloz olgusu 1915 yılında Dr. Hüsametdin KURAL ve Mahmut Sabit AKALIN tarafından Kuleli Askeri Hastanesi'nde tedavi edilen bir askerde tespit

ETİYOLOJİ

B.melitensis küçük (0.6x0.6x1.5 µm), aerobik, hareketsiz, kapsülsüz, sporsuz, Gram negatif bir kokobasildir. Katalaz, üreaz ve oksidaz pozitifdir. Modifiye Ziehl Neelsen metoduyla kırmızıya boyanır. 1-2 mm çapında koloni morfolojisine sahiptir (7). *B.melitensis* fakültatif hücre içi bir patojendir ve 3 serotipi (serotip1, 2 ve 3) vardır. Bu üç serotipin hepsi küçük ruminantlarda hastalığa sebep olur fakat coğrafik dağılımları farklıdır. Ayrıca *B.abortus* ve *B.suis* küçük ruminantlarda rastlantısal olarak enfeksiyon oluştururlar fakat klinik hastalık belirtileri nadir olarak görülür. *B.melitensis* tarafından oluşturulan koyun ve keçi brusellozu, ekonomik olarak küçük ruminantlarda abortların önemli sebebidir. Ayrıca *B.melitensis* önemli bir insan patojenidir (8). Brusel-

edildi. Ülkemizde sığırlarda ilk izolasyon 1931-1932 yıllarında Berke tarafından bildirildi. Koyunlarda *B.melitensis* ilk defa Aktan ve Köylüoğlu tarafından 1944 yılında Bandırma merinos çiftliğinde saptandı. Yine Türkiye'de insan ve hayvanlarda brusellozun serolojik yöntemlerle saptanması Golem tarafından 1943 yılında bildirildi (3). Türkiye'de *B.abortus* enfeksiyonuna ait ilk insan vakasının 1932'de teşhis edildiği bildirildi. İnsan bruselloz vakalarının büyük kısmını *B.melitensis*'in oluşturduğu, ikinci en sık görülen türün ise *B.abortus* olduğu ifade edilmiştir. 1949'da Golem, klinik olarak bruselloz hastalarından 22 adet *Brucella* suşunu izole etmiş olup, bunun 21 tanesini *B.melitensis*, 1 tanesini ise *B.abortus* olarak tanımlamıştır (2). İnsan ve hayvanlardaki patojenitesinin çok yüksek olması nedeniyle biyolojik silahlarda kullanım potansiyeli yüksektir (4).

EPİZOOTİYOLOJİ

İlk enfeksiyon sürüye dışarıdan enfekte hayvanların fark edilmeden sokulmasıyla başlar (1). Enfekte hayvanlar sıklıkla belirsiz persistant enfeksiyon rezervuarı olarak enfeksiyonu saçarlar. Hayvanlarda *B.melitensis*, genellikle plasenta, fötüs, fotal sıvılar ve enfekte hayvanların vajinal akıntılarıyla temas sonucunda bulaştırılır. Küçük ruminantlar ya yavru atma ya da zamanında doğumdan sonra enfekte olurlar. Keçiler genellikle vajinal akıntılarıyla en az 2-3 ay *B.melitensis*'i bulaştırırlar ancak koyunlarda bulaşma genellikle 3 hafta içinde sonlanır (8). *B.melitensis* için bulaşma

başlıca süt aracılığıyla yavruya vertikal ya da enfekte fötüsün atımı veya doğumuyla ilişkili dokular veya sıvılar yoluyla horizontal meydana gelir. *B. melitensis* Amerika kıtasının orta ve güney bölümlerinde, Afrika, Asya, Ortadoğu ve Akdeniz bölgesindeki ülkelerde endemik olarak görülür. Kanada, ABD, Güneydoğu Asya, Kuzey ve Orta Avrupa, Avustralya ve Yeni Zelanda ise *B. melitensis*' in ari olduğu düşünülen alanlardır (7). Serotip 3 Akdeniz ülkeleri ve Ortadoğu'da baskın serotiptir. Serotip 1 ise Orta Amerika'da baskındır (8). Türkiye'de Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsüne 2014-2016 yılları arasında gelen 5 adet oğlak ve 41 adet kuzu numunelerinde yapılan çalışmada serotip 1 ve serotip 3 identifiye edilmiştir (2).

İnsan brusellozu Ortadoğu, Orta Asya ve Akdeniz ülkelerinde özellikle yüksek prevalansı ile Dünya çapında önemli bir zoonozdur. İnsanlarda bruselloz çok sıklıkla çiftlik çalışanları, veteriner hekimler, laboratuvar ve kesimhane çalışanlarının hastalığıdır. Fakat pastörize edilmeyen süt ürünlerinin tüketilmesi yoluyla da bulaşma meydana gelebilir. Ayrıca veteriner hekimlerde enfeksiyonun sık sebebi olan kazara kanül batmasıyla da *B. abortus* veya *B. melitensis*'in aşı suşlarıyla brusella enfeksiyonu gelişebilir (7).

PATOGENEZİS

Brusella etkenleri genellikle mukoz membranları geçerek vücuda girerler. Başlangıçta lenfatik dokularda lokalize olurlar. Bakteri lokalize olmazsa ve enfeksiyon bölgesinden bölgesel lenf dokularına girerken yok edilmezse çoğalabilir. Kan ve lenf yoluyla diğer lenforetiküler doku ve organlara yayılabilir. Çoğalma ve meme dokularına yayılım bakteriyemi evresinde meydana gelir. Gebe uterusun özel immun bölgelerine veya meme bezleri içindeki kanal ve boşluklara yerleştiğinde etkenin eliminasyonundaki immun mekanizmalar ciddi olarak bozulur (7). Retiküloendotelial sistemde makrofajlar ve plasentada trophoblastlar gibi konak hücrelerinde canlı kalma ve üreme yeteneği virülensinin anahtar bir yönüdür (9). Değiştirilmiş fagozom (brusellozom), lizozomlarla fagozomun olgunlaşması ve parçalanmasına direnç gösterir. Çoğu brusella etkeni (yaklaşık % 70-85) fogolizozomlarla elimine edilmesine rağmen brusellozomun oluşturulması bazılarının hücre içinde canlı kalmasına izin verir. Brusella etkenleri serbest radikalleri detoksifiye eden çoklu moleküler mekanizmalara sahiptir. Lipopolisakaritler (LPS) üzerindeki O kenar yan zincirin invazyon, oksidatif öldürmeden korunma, katyonik peptidler ve komplement aracılı liziz için anahtar bir molekül olduğu görülür. Brusellanın makrofajların içerisinde uzun süre kalmayı sürdürebilmediği kapasitesi, kronik enfeksiyon oluşturma ve sürdürme yeteneği açısından temel teşkil eder. Bruselloza karşı uzun dönem korunma, hücresel bağışıklığın uyarılmasıyla ilgilidir, aksine antikorların korunmada küçük bir rol oynadığı düşünülür. Koruyucu bağışıklığın özel işbirlikleri şu an bilinmemesine rağmen CD4+ lenfositlerin Th 1 alt üyesi, gama interferon (γ -IFN) üretimi ve hücresel bağışıklıkla ilgili diğer sitokinlerin korunma ile ilişkili olduğuna inanılır (7).

KLİNİK BULGULAR

Hayvanlarda brusellozun en önemli klinik belirtileri dişilerde yavru atma, üreme bozuklukları ve plasenta retensiyonu;

erkeklerde epididimitis ve orşitistir (10). Koyun ve keçiler genellikle bir kez abort yaparlar ancak etkenin saçılması ve uterusun yeniden enfekte olması gebelik süresi boyunca meydana gelebilir. Bazı enfekte hayvanlar gebeliği devam ettirirler ancak etkeni yayarlar. Abort yapan hayvanlarda süt verimi önemli derecede azalır. Hayvanların memeleri normal doğumdan sonra enfekte olur ancak mastitisin klinik belirtileri yaygın değildir. Akut orşitis ve epididimitis erkeklerde meydana gelebilir ve infertiliteyle sonuçlanabilir. Artritis bazen her iki cinsiyette de görülür. Gebe olmayan koyun ve keçilerin çoğu asemptomatik kalırlar. Mortalite fötüsler haricinde nadirdir (8). *B. ovis* enfeksiyonunun en yaygın klinik belirtisi koçlardaki infertilitedir. Enfekte koçların belirlenmesi skrotal palpasyon ile yapılır (7).

Nekropside ürogenital sistemde, memede, meme altı lenf nodüllerinde, diğer lenfoid dokularda, bazen de eklem ve synovial membranlarda granülamotöz yangı lezyonları görülebilir. Nekrotik orşitis, epididimitis, seminal vesikülitis ve prostatitis rapor edilmiştir. Fötüs normal veya otolize olabilir; Ayrıca vücut boşluklarında kanlı sıvı varlığı, büyümüş karaciğer ve dalağa sahip olabilir. Plasentitis, ödemli ve nekrotik kotiledonlar ile kotiledonlar arası bölge kalınlaşmış ve kayış gibi görülebilir. Görülen bu lezyonlar bruselloz için patognomik değildir (8).

İnsan enfeksiyonu ile ilişkili kuluçka süresi değişkendir. Bir haftadan kısa bir süreden birkaç aya kadar değişebilir. Brusella hemen hemen her dokuyu etkileyebilir ya da in vivo bölgedeki klinik belirtiler bakterinin yerleşmesiyle ilişkilidir. İnsanlarda klinik belirtiler dalgalı ateş, baş ağrısı, halsizlik, eklem ve kas ağrıları, gece terlemeleri ve sinirsel belirtiler görülebilir. Hastalık komplikasyonlarının en yaygını osteoartikülerdir. İnsan brusellozu genellikle düşük mortaliteye sahiptir (7). Tedavi antibiyotiklerdir ancak başarılı bir tedaviden aylarca sonra bile semptomlar ve reenfeksiyon yeniden görülebilir. Tedavi edilmeyen kişilerde dahi, vaka mortalite oranı tahmini % 2-5'ten daha düşüktür. Mortalite genellikle endocarditis veya meningitis sonucunda meydana gelir (8).

TEŞHİS

Bruselloz, hastalık belirtisi olmaksızın eş zamanlı yavru atma ve ölü doğumların görüldüğü sürülerde düşünülmelidir. Küçük ruminantlarda yavru atmaya sebep olan diğer hastalıklar *Chlamydiosis* ve *Coxiellosis*'dir (8). Tanı için uygun mikrobiyolojik örnekler atık fötüsten alınan akciğer ve mide içeriği, canlı hayvandan alınan vajinal swaplar, süt, uterus, yavru zarları, meme bezleri, erkek üreme organları, meme bezleriyle ilişkili lenfatik dokular, ürogenital kanaldan alınan nekropsi ve hygroma-kese sıvılarını içermelidir (7). Stamp metoduyla boyanan preparatların mikroskopik olarak direkt araştırılması seroloji ile desteklenirse olası bir tanı için yararlı olabilir. Şeffaf bir besiyerinde üretilen kültürler gün ışığında bakıldığında koloniler sarı bal renginde ve yarı saydam görünürler. Üzerleri konveks ve inci beyazıdır (8). Türlerdeki farklılıklar boya duyarlılığı, üremede CO₂ bağımlılığı, H₂S üretimi ve serum aglütinasyon testleri ile ortaya konulabilir (7).

B.melitensis için özel geliştirilmiş serolojik test bulunmamaktadır. Bu nedenle sığırlarda *B.abortus* enfeksiyonunun tanısı için kabul gören Rose Bengal Plate Test (RBPT) ve komplement fiksasyon (CF) testleri koyun ve keçilerde brusellozun serolojik tanısı için en çok kullanılan klasik testlerdir. Her iki testte brusella smooth lipopolisakarite (S-LPS) karşı oluşan antikorlar belirlenir. Ancak CF testinin sensitivitesi hem RBPT’den hem de indirekt ELISA’dan daha zayıftır. Son zamanlarda Rev-1 ile aşılana koyun ve keçilerin serumları test edildiğinde hem RBPT hem de CF testlerinin spesifitesi düşük çıkmaktadır. Ancak, serolojik testlerin spesifitesi eğer Rev-1 aşısı konjunktival yol ile uygulanırsa biraz korunmuş olur. İndirekt ELISA surveyans için iyi bir testtir ancak aşıllı hayvanlarda özellikle de Rev-1’le aşılana yetişkin hayvanlarda kullanıldığında spesifitesi düşüktür. Bu şartlarda, aşıllı hayvanlarda enfeksiyonu belirlemek için yalnızca Native Hapten (NH) jel presipitasyon testi daha kullanışlıdır (11). Serolojik testler tamamen spesifik değildir. *B.melitensis*’in diğer bakteriler ile, özellikle de *Yersinia enterocolitica* O:9 ile çapraz reaksiyonundan dolayı ayırımı güçtür (8). Multipleks PCR teknikleri şu anda brusella türlerini ayırmak için uygundur. Kromozomun kodlanmayan alanlarındaki nükleotid tekrarı sırasının değerlendirilmesine dayanan ve “Variable Nuclear Tandem Repeats” olarak adlandırılan yeni bir moleküler teknik suşlar arasındaki epidemiyolojik ilişkiler ve genetik karşılaştırma için kullanılmaktadır (7).

AŞILAR

Canlı attenue *B.melitensis* Rev-1 içeren aşılar şu anda koyun ve keçilerde brusellozun önlenmesi için en uygun aşı olarak bilinir (12). Rev-1’de gelişen muhtemel diğer genetik kusurlar, ribozomal mutasyon olarak bilinen streptomisine bağlı bir mutantın tersine mutasyon göstermesinden kaynaklanmaktadır (4). Klasik derialtı yolla ($1-2 \times 10^9$ CFU doz) uygulandığında uzun süren bir immun yanıt uyarımı yapar ki bu da kombine test/kesim (T/K) metoduna dayanan eradikasyon programlarını uygulanamaz yapar (11). Rev-1 aşısı tam doz (30-50µl, $0.5-2 \times 10^9$ CFU doz) konjunktival yolla genç hayvanlara uygulandığında oluşan koruma, klasik subkutan metod ile benzerdir, fakat gelişen immun yanıtı önemli derecede azalır, ki bu da T/K metoduna dayanan eradikasyon programları ile uyumludur. Yeterli koruma, yalnızca iyi kalitede bir aşı ve bu aşının riskli hayvanlara en az % 80 oranında uygulanmasıyla sağlanır (12). Rev-1 aşısının düşük bir maliyeti vardır ve challenge testlerinde % 80-100 arasında koruma sağlar (4). Koç katımı dönemi başlamadan önce, kuzulama periyodunun son dönemi süresince ya da laktasyon süresince hayvanların konjunktival yolla aşılana tüm sürü aşılama programlarının en güvenilir yaklaşımı olarak görülür (11).

HASTALIĞIN PREVALANSI

Etkilene ülkeler dünyadaki duyarlı çiftlik hayvanlarının % 70’inden daha fazlasını oluşturur, ki bu da hastalığı uluslararası düzeyde önemli kılmaktadır (11). Bruselloz Türkiye’nin etrafındaki ülkelerin tümünde endemiktir. Türkiye’nin coğrafi durumu ve sınır ülkelerindeki politik ve sosyal karışıklıklar hastalığın geçişi açısından risk oluşturmaktadır

(9). Tarım ve Orman Bakanlığı verilerine göre sığır ve koyunlarda ülke çapında ilk sero-survey çalışması 1989 yılında yapılmış ve koyunlarda prevalans % 1.26 olarak bulunmuştur. Bir yıl sonra yapılan bir başka çalışmada koyunlarda prevalans % 2.08, 1991 yılında ise % 1.83 olarak tespit edilmiştir. 1997 yılında daha öncekilere göre daha kapsamlı olarak koyunlardan 30.433 adet serum örneği toplanmış seropozitiflik % 1.97 olarak saptanmıştır. Bu çalışma sonucunda Kars ve Yozgat illerindeki koyunlarda seroprevalansın % 10’un üzerinde saptandığı bildirilmiştir. Kars ilinde seroprevalans koyunlarda % 15 olarak bulunmuştur (3). 2011 yılında “Türkiye’de Bruselloz ve Tüberkülozun Eradikasyonu” isimli AB projesi kapsamında koyunlardan 61.341 adet serum toplanmış koyun ve keçilerin fert prevalansı % 4.7 ve köylerdeki koyun sürülerinin prevalansı % 30 pozitif olarak bulunmuştur. Köylerde en yüksek prevalans % 40’la Konya bölgesinde, en düşük prevalans ise % 9.4 ile İzmir bölgesinde tespit edilmiştir (13).

Ülkemizde insanlarda bruselloz seropozitiflik oranı genel olarak % 2-6 arasında değişmektedir. Hastalığın görülme oranı 15-45 yaş grubunda en yüksektir. İlkbahar ve yaz aylarında insanların kırsal kesime seyahat etme olanaklarının artması, süt ve süt ürünlerinden taze peynir ve krema tarzında taze yağları elde etme olanaklarının artması nedeniyle hastalığın görülme sıklığı da artar (3).

Tablo 2. Sağlık Bakanlığı verilerine göre son 45 yıldaki bruselloz vaka ve ölüm sayıları (3, 14, 15)

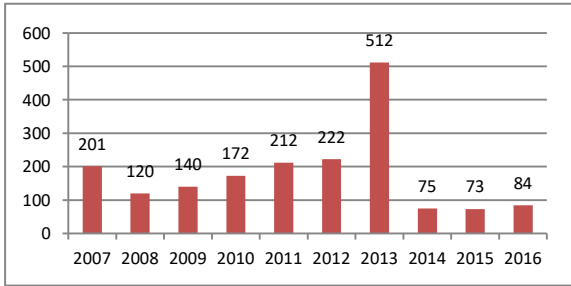
Yıllar	Vaka sayısı	Ölüm Sayısı
1970-1979	753	3
1980-1989	13.103	6
1990-1999	84.646	22
2000-2015	173.178	16

TÜRKİYE’DE HASTALIKLA MÜCADELE

Koyun ve keçi brusellozu için kontrol ve eradikasyon programına ilk önce 1952’de devlet çiftliklerinde başlandı. Sürüler serolojik olarak test edildi ve taşıyıcılar kesime sevk edildi. Sürülerde brusella prevalansı % 10’dan daha yüksekti. Bu sürülerde T/K’in doğru bir yaklaşım olmadığı ve kitlesel bir aşılamanın daha uygun olduğu sonradan anlaşıldı. Türkiye’de ilk Rev-1 aşısı uygulamasına 1968’de başlandı. Devlete ait koyun çiftliklerinde bulunan % 15 reaktör ve % 5 abort oranı olan yoğun enfekte hayvanlar seçildi. Koç katımından 1 ay önce 4 ay üzeri koyun ve keçilerin hepsi tam doz Rev-1 (2×10^9 CFU) aşısı ile aşılandı. Müteakip yıllarda devlete ait çiftliklerdeki koyun, kuzu, keçi ve oğlakların hepsi Rev-1 ile aşılandı ve ayrıca kampanyaya bazı özel çiftlikler de eklendi. Devlet çiftliklerinde brusella ile ilişkili abortlar 1968’de % 7.3’e ve 1969’da % 0.57’ye düştü ve sonraki yıllarda abort rapor edilmedi ayrıca kuzulama oranlarında % 15-20 artış görüldü. Özel çiftliklerde aşılama 1974’de başlandı ve ilk 5 yılda 1.5 milyon koyun ve keçi aşılandı. 1983’te Rev-1 ile 3-8 ay arasındaki yaşta kuzu ve oğlakların hepsi aşılandı. 26 yıldan fazla süren program kapsamında toplam yaklaşık 64 milyon küçükbaş hayvan

aşılandı. Erişkin aşılama programları kapsamında, 1991’de Trakya bölgesinde Rev-1 aşısının azaltılmış dozuyla 840.000 dişi koyun ve keçi aşılandı. Diğer taraftan 4 milyon erişkin dişi koyun ve keçi 1995’in sonuna kadar aşılandı. Aşılama programlarının başlamasıyla, hayvan brusellozunda pozitiflik oranları önemli ölçüde azaldı ancak sonraki yıllarda oranlar kademeli olarak tekrar arttı (9). 2012 yılından itibaren “Brusellanın Konjunktival Aşısı ile Kontrol ve Eradikasyonu Projesi” kapsamında ülkemizdeki tüm küçükbaş hayvanlara konjunktival *B.melitensis* Rev-1 (40 µl/ 1-2x10⁹ CFU) aşısı uygulanmaktadır. Bu kapsamda 2012-2017 yılları arasında 35.614.886 küçükbaş hayvana aşı uygulanmıştır. Hali hazırda programı kapsamında 3-6 aylık yaşta küçükbaş dişi hayvanlar ile damızlığa ayrılacak küçükbaş erkek hayvanlara konjunktival *B.melitensis* Rev-1 aşısı yıl boyu uygulanmaktadır (16).

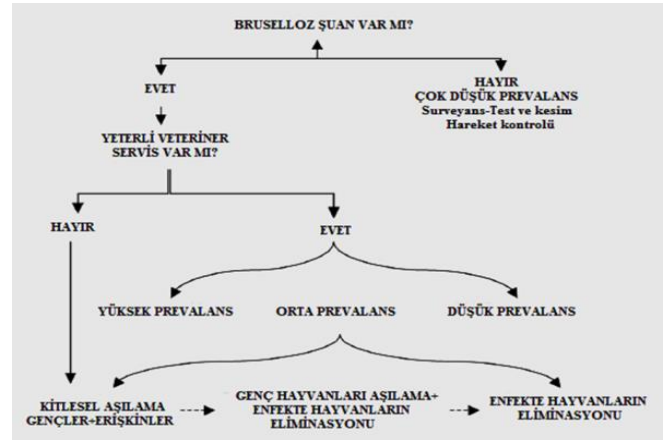
Ülkemizde koyu-keçi brusellozu 5996 sayılı “Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu” kapsamında yayımlanan “İhbarı Mecburi Hayvan Hastalıkları ve Bildirime İlişkin Yönetmelik” (21.01.2011 tarih ve 27823 sayılı Resmi Gazete) gereğince ihbarı mecburi hastalık olup, bildirim zorunludur. Hastalıkla mücadele “Bruselloz ile Mücadele Yönetmeliği” (3.4.2009 tarih ve 27189 sayılı Resmi Gazete), “Brusellanın Konjunktival Aşısı ile Kontrol ve Eradikasyonu Genelgesi” (13.01.2012 tarih ve 2012/03 sayı) ve her yıl yayımlanmakta olan “Hayvan Hastalıkları ile Mücadele ve Hayvan Hareketleri Kontrolü Genelgesi” hükümlerine göre yürütülmektedir. Ülkemizde son 10 yıldaki koyun-keçi brusellozu mihrak sayıları grafik 1’de verilmiştir.



Grafik 1. Koyun keçi brusellozu mihrak sayıları (16).

KONTROL STRATEJİLERİ

Bir zoonozun kontrolü, tanımlanmış bir hayvan popülasyonunda hastalığın görülme sıklığı ve prevalansını kabul edilebilir bir seviyeye düşürmek için tasarlanan tüm önlemleri kapsar. Brusellozun kontrolünde, enfeksiyonunun hızının azaltılması ve hayvanların direnci artırılarak enfeksiyon oranının azaltılmasının yanı sıra ari sürülerin veya alanların izlenmesi gerekmektedir. Küçük ruminantlarda brusellozun önlenmesi ve kontrolü için farklı ülkelerde ve hatta ülkelerin içindeki farklı ekolojik alanlarda geçerli ekolojik ve sosyo-ekonomik şartlara bağlı olarak farklı stratejiler gerekebilir. Belirlenen stratejilerden bir seçim yapılabilir ya da kaynakların yeterliliği, alım-satım işleri, coğrafi alan, sürülerin hareketleri ve hayvancılık işletmesinin tipi gibi çok sayıda faktörden gerekli olanların seçilmesiyle bir kombinasyon oluşturulur. Burada stratejinin çiftlik sahipleri tarafından kabul edilmesi ve hastalığın prevalansı en önemli hususlardır. Brusellozun kontrolü için uygun stratejinin seçilmesinde göz önünde bulundurulması gereken önemli faktörler şekil 2’de verilmiştir (12).



Şekil 2. Küçük ruminantlarda *B.melitensis* enfeksiyonunun kontrolü için karar çizelgesi (12).

Küçük ruminantlarda brusellozun kontrolü duyarlı hayvanların aşılanması ve/veya enfekte hayvanların eliminasyonuna dayanır. Ancak, hayvan hareketlerinin kontrolü ve epidemiyolojik araştırmalar gibi daha ileri eylemlere, stratejik hedeflere ulaşmak için ihtiyaç vardır (17). Ülkeler ve tüm şartlar için uygun kesin bir tavsiye önerisi mümkün olmamasına rağmen hastalığın prevalansının yüksek, orta veya düşük olması önemlidir. Genelde, hayvanlarda hastalığın prevalansı % 5’i aşarsa, tüm hayvanların (genç ve erişkin) kitlesel aşılanması önerilir. Prevalans % 1-5 arasında ve finansal kaynaklar yeterli ise, genç hayvanların aşılanması ve T/K politikası kombine bir program olarak düşünülebilir. Hayvanlarda hastalığın prevalansının % 1’den daha az olması durumunda ise, T/K politikasına dayanan kısa dönemli bir program uygulanabilir. Önerilen kontrol ve eradikasyon stratejilerinin avantaj ve dezavantajları tablo 3’te özetlenmiştir. Seçilen stratejiye ek olarak enfeksiyonun yayılmasını önlemek için genel hijyen kuralları sistemik bir yol ile uygulanmalıdır. İzolasyon ve doğum yerlerinin kolayca temizlenmesi, dezenfekte edilebilmesi gibi önlemler enfeksiyonun kontrolüne yardım eder (12).

Tablo 3. *B.melitensis* kontrol ve eradikasyon stratejilerinin avantaj ve dezavantajları, P:Prevalans (12).

Bruselloz Kontrol ve Eradikasyon Stratejilerinin Avantaj ve Dezavantajları		
Strateji	Avantajları	Dezavantajları
Kitlesel aşılama (P > % 5)	-Düşük maliyet -Yönetim kolaylığı -Sürü bağışıklığının hızlıca oluşması	-Gebe hayvanlarda abortlar -Enfekte/aşılı hayvanları ayırt etmek için serolojik testlerin uygun olmaması? -Halk sağlığı?
Genç hayvanların aşılanması ve enfekte hayvanların eliminasyonu (P % 1-5 arasında)	-Düşük düzeyde abortlar -Enfekte/aşılı hayvanları ayırt etmek için serolojik testlerin uygun olması	-Sürü bağışıklığının yavaşça oluşması
Enfekte hayvanların eliminasyonu (P % 1 <)	-Eliminasyon	-Yüksek maliyet -Veteriner servislerinin etkinliğine ihtiyaç duyulmakta (Hayvanların kimliklendirilmesi, laboratuvar desteği, hareket kontrolü)

ERADİKASYON STRATEJİLERİ

Eradikasyon, belirli bir popülasyon veya bölgeden bir enfeksiyöz etkenin yok edilmesi anlamına gelir. Başarı şansı eğer sürüler küçük, izole ve kontrol altında tutuluyorsa yüksektir. Sürüler büyüdükçe, özellikle diğer sürülerle yakın temasın yüksek olduğu yaylacılık uygulamalarında ise düşüktür. Bruselloz eradikasyon programının uygulanması ve surveyans için etkin ve iyi organize olmuş veteriner hekimlik uygulamaları, sıkı surveyans ve hareket kontrolü, hayvanların bireysel kimliklendirilmesi ve uygun laboratuvar testlerinin seçilmesi gerekir. T/K stratejisine başlamadan önce epidemiyolojik durumun olumlu olması, gerekli tesisler ve mali kaynakların bulunması, sağlıklı damızlık hayvanların bulunduğu bir havuzun mevcut olması ve çiftçilerle tam işbirliği gereklidir (12). Ülkede veya bölgede eradikasyon için evreler ve uygulanması gereken gereklilikler OIE tarafından bildirilmiştir (18). Eradikasyon, hayvan hareketlerinin kontrol edilmesi için etkin bir sistem kurulması, genç damızlıkların konjunktival yolla aşılması ile birlikte seropozitif olarak bulunan erişkin hayvanların T/K kombinasyonuna dayanan çok karmaşık ve pahalı bir programın uygulanmasıyla başarılabilir. Eradikasyonda sağlıklı sürülere enfekte hayvanların girmemesi temel ilkedir. En az bütün bir nesil (5-6 yıl) için bu karmaşık kombine eradikasyon programının başarılı bir şekilde uygulanmasıyla, programa dahil olan epidemiyolojik birimde genel bir brusellozdan arilik statüsü elde edilebilir. Kitlesel aşılamadan kombine bir eradikasyon programına geçiş sırasında serolojik sonuçların yorumlanması, sağlıklı ama seropozitif hayvanların gereksiz ayırımından kaçınmak kritik önem taşır. Kitlesel bir aşı kontrol stratejisi gerçekleştirilirken bütün damızlıkların konjunktival yolla aşılması sürdürmeli ve kombine bir eradikasyon programı başlatırken 2 etkili olasılık göz önünde bulundurulmalıdır. Birinci olasılık: Aşılamadan sonraki en az 2 yıl boyunca hayvanların serolojik izlenmesinden kaçınılmalıdır. Tüm

erişkin (12-16 aylıktan daha yaşlı) hayvanlardan RBPT ve CF testinde (≥ 30 IU) pozitif olarak saptananlar ayrılmalı ve tüm sürünün CF testlerinin sonucu ardışık 2 test negatif elde edilinceye kadar devam edilmelidir. İkinci olasılık: Son kitlesel aşılama gerçekleştirildikten sonraki 6 ile 12 aylarda, 12-16 aydan daha yaşlı olan hayvanlara NH-jel presipitasyon testi uygulanmalı ve seropozitif hayvanlar ayrılmalıdır. NH-jel presipitasyon testinin uygulanmasına en az ardışık 2 test negatif elde edilinceye kadar devam edilmelidir. Daha sonrasında testlere RBPT ve CF testi kullanılarak devam edilebilir. Eradikasyonun son adımında Rev-1 aşılması yasaklanmalı, uygun tanı testleri (örn. RBPT+CF birlikte, indirekt ELISA+CF veya indirekt ELISA tek başına) yeterli bir sıklıkta uygulanarak pozitif hayvanlar belirlenmeli ve pozitif hayvanlar kesime gönderilmelidir. Resmi brusellozdan arista-tünün verilmesi düşünülen epidemiyolojik birimde hastalığın tamamen ortadan kaldırılması hedeflenmelidir. Hastalık eradike edildikten sonra, bir gözetim programı yeni salgınların veya hastalığın yeniden girişini erken belirlemek için uygulanmalıdır. Buna göre, popülasyonu temsil eden bir örneğin düzenli serolojik (RBPT veya indirekt ELISA) taramasına dayanan aktif bir surveyans sistemi tercih edilir (11).

Tarım ve Orman Bakanlığınca yayımlanan “Veteriner Hizmetleri Strateji Belgesinin Hazırlanması İçin Teknik Yardım Projesi” nde koyun-keçi brusellozu ortaya çıktıktan sonra hastalık prevalansına göre hesaplanan direkt ekonomik kayıplar 825.820.000 TL olarak hesaplanmıştır (19). Koyun-keçi brusellozuna yönelik farklı müdahale stratejilerinin maliyet verimliliği Tablo 4’te görülmektedir (13).

Tablo 4. Türkiye’de koyun ve keçilerdeki bruselloza yönelik farklı müdahale stratejilerinin maliyet verimliliği (13)

Kontrol senaryosu ¹	1	2	3	4
Tanım	Geçerli olan	Test&itlaf hayvanların 1/3’ü	Test&itlaf tüm hayvanlar	Tüm genç hayvanların aşılması
Stratejinin etkililiği				
10. yılda koyun ve keçilerdeki prevalans (%) ²	3.42 ⁴	0.27	0.00	0.06
10.yılda koyun/keçi kaynaklı insan insidansı (100.000 kişi başına)	6.13	0.61	0.00	0.17
Maliyetler/ önceden bilinen faydalar³				
Müdahale maliyetleri (milyon TL)	0	1.600	3.971	226
Faydalar/ İndirgenmiş kayıplar:				
Engellenmiş tarımsal kayıp(milyon TL)	0.0	437	631	463
Engellenen insan maliyeti(milyon TL)	0.0	50	74	53
Engellenen DALY(1000’de)	0.0	20	29	21
Oranlar:				
Engellenen DALY başına müdahale maliyetleri (1000 TL’de)	N.A. ⁴	81	136	11
Fayda-maliyet oranı tarım	N.A.	0.27	0.16	2.05
Fayda maliyet oranı toplam	N.A.	0.30	0.18	2.29

¹10 yıllık değerlendirme tarihi için indirilmiştir. ²koyun ve keçilerde ilk prevalans % 3.4’tür. ³Müdahalenin fayda ve maliyetleri 2012 yılı fiyatlarıyla hesaplanmıştır. ⁴N.A.=Uygulanamaz.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bruselloz bazı gelişmiş ülkeler dışında dünyanın çoğu bölgesinde halk ve hayvan sağlığının başlıca problemi olarak devam etmektedir. Brusellozun Türkiye’de endemik kalmasının nedenleri arasında hayvan sürülerinin kontrol edilemeyen hareketleri, ortak kullanılan otlak ve sulama alanları, coğrafi durum ve politik karmaşıklıklar, veteriner hekimlik uygulama programlarına verilen desteğin sınırlı olması, sosyal projeler ve çiftlik uygulamaları enfeksiyonun yayılmasını desteklemektedir. Türkiye’de halk sağlığı ile veteriner hizmetleri arasındaki işbirliğinin daha da güçlendirilmesi, uluslararası teknik ve bilimsel işbirliği sağlanması, kontrol ve eradikasyon stratejilerinin uyumlaştırılması, gerekli insan ve finansal kaynağın orta ve uzun vadede kullanılabilmesini sağlamak için politik taahhüdün sürdürülmesi gerekmektedir (9).

Ülkemiz şartları değerlendirildiğinde en uygun kontrol stratejisi konjunktival aşılama değildir. Sahada yoğun aşılama çalışmalarının akabinde hayvanlarda prevalansın ve insanlarda insidensin azaltılmasında önemli ölçüde başarı elde edilmiştir. Elde edilen başarının daha ileriye taşınması için ülke kaynakları göz önünde bulundurularak uygun zamanda T/K programına geçilmesi önem arz etmektedir. Bu kapsamda; Hastalıkla mücadele uzun yıllar alacağından ulusal kontrol ve eradikasyon programları iyi planlanmalı ve kontrol noktaları iyi belirlenmelidir. Hastalıkla mücadelede Tarım ve Orman Bakanlığı’na, Sağlık Bakanlığınca finansmanda dahil her türlü destek verilmeli, İçişleri Bakanlığı ve yerel yönetimlerce hayvan hareketlerinin etkin kontrolü sağlanmalıdır. Bunun yanı sıra Tarım ve Orman Bakanlığı’nca veteriner teşkilatları, laboratuvar hizmetleri desteklenmeli ve hizmetlerin yürütülmesinde zoonoz hastalıklarla mücadeleye öncelik verilmelidir. Bakanlıkta epidemiyoloji konusunda uzman personel sayısı artırılmalıdır. Hastalıkla mücadele çalışmalarının tüm paydaşlarla (çiftçiler, konuyla ilgili sivil toplum kuruluşları, beşeri hekimlik vb.) iletişim halinde ve devlet politikası olarak uygulanması eradikasyonda başarı elde etmek için büyük önem taşımaktadır.

Hayvan, çevre, insan üçgeninde brusellozun yayılması için gerekli tedbirleri almak küresel bir sorumluluktur ve başarılı olmak için “Tek Sağlık” yaklaşımına ihtiyaç vardır (4). İnsanlarda brusellozun önlenmesi hastalığın hayvanlarda kontrolüne bağlıdır (20).

KAYNAKLAR

1. Arda M. (1998). Özel Mikrobiyoloji. s:110-124. 4. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara.
2. Karagül MS. (2016). Brusella türlerinin izolasyonunda kullanılan dört farklı besiyerinin izolasyon sensitiviteilerinin karşılaştırılması ve referans suşların saptanabilirliklerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, s.1-105, İstanbul.
3. Çevik MA. (2001). Bruselloz epidemiyolojisi, ANKEM Derg.(No.3):568-570
4. Godfroid J, Scholz HC, Barbier T. ve ark. (2011). Brucellosis at the animal/ecosystem/human interface at the beginning of the 21st century. *Preventive Veterinary Medicine* 102, 118-131 Erişim tarihi: 22.08.2017

5. OIE (2016). Terrestrial Manual. Erişim: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.04_BRUCELLOSIS.pdf. Erişim tarihi: 25.08.2017
6. Edgardo M. (2014). Retrospective and prospective perspectives on zoonotic brucellosis. *Frontiers in Microbiology*, 00213
7. Olsen S and Bellaire B. (2013). In: Capter 15, Mcvey DS, Kennedy M, Chengappa MM. (Eds). *Veterinary Microbiology*, 3th ed. pp:127-133 Wiley-Blackwell, USA.
8. Anonim. (2009). *Ovine and Caprine Brucellosis*. Iowa State University. Erişim: <http://www.cfsph.iastate.edu>. Erişim tarihi:18.08.2017
9. Yumuk Z and Callaghan DO. (2012). Brucellosis in Turkey — an overview. *International Journal of Infectious Diseases*,16, e:228-235.
10. Alamian S, Esmaelizad M, Zahraei T. (2017). A Novel PCR Assay for Detecting *Brucella abortus* and *Brucella melitensis*. *Osong Public Health Res Perspect*, 8(1):65–70
11. Blasco JM and Molina-Flores B. (2011) Control and Eradication of *Brucella melitensis* Infection in Sheep and Goats. *Vet Clin Food Anim*, 27,pp.95-104
12. Minas A. (2005) Control and eradication of brucellosis in small ruminants. *Small Ruminant Research* 62, pp.101–107
13. G2G09/TR/9/3. (2012) Türkiye’de Bruselloz ve Tüberkülozun Eradikasyonu Projesi Sonuç Raporu. Hollanda-Türkiye
14. Saytekin AM. (2016). VI. Zoonotik Hastalıklar Sempozyum Sunumu.04-06.11.2016 Ankara
15. THSGM (2016) İnsanlarda Bruselloz vaka ve ölüm sayıları Erişim: <http://www.thsk.gov.tr/component/k2/353-istatistiksel-veriler/zoonotik-ve-vektorel-hastalıklar-daire-baskanligi-istatistiksel-verileri.html> Erişim tarihi: 08.10.2017
16. Tarım ve Orman Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü (2017) Hayvan Hastalıkları ve Zararlıları ile Mücadele Değerlendirme Toplantısı, 04-08.12.2017. Antalya.
17. Madhavaprasad CB, Prashanth SB, Nagappa SK, Santhosh AS. (2014). Strategies for control and eradication of Brucellosis from endemic regions and infected herds. *Journal of Food-borne and Zoonotic Diseases*, Vol 2, Issue 3, pp.30-35 Jakraya Publications Ltd.
18. OIE. (2000) Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines. Surveillance of ovine and caprine brucellosis, chapter:8
19. Tarım ve Orman Bakanlığı (2016) Veteriner Hizmetleri Strateji Belgesinin Hazırlanması İçin Teknik Yardım. Proje No.:ALTUN/TAVSD/TR.2010/0740.01-1/SER/024/001, AB-Türkiye
20. Çelebi S. (2003). Brusellozun epidemiyolojisi. ANKEM Derg 17 (No.3), s.340-343

Yazışma Adresi:

*Şahin ÇAKIR

Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Ankara, Türkiye
E-posta: vet2001@gmail.com



Kadavra Hazırlamada Kullanılan Solüsyonlar ve Güncel Yaklaşımlar

Ruhsar Ekiz¹ Yasin Demiraslan^{1*}

¹Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye

Geliş Tarihi/Received
12.02.2018

Kabul Tarihi/Accepted
24.05.2018

Yayın Tarihi/Published
31.12.2018

Öz

Veteriner hekimlik, hemşirelik ve tıp fakültesi öğrencilerinin gözlemleyerek, üzerinde çalışmalar yapmak amacıyla kullandığı canlılığı kaybetmiş insan ya da hayvan vücuduna kadavra denir. Kadavranın korunmasında ise Alman kimyacı August Wilhelm von Hofman'ın formaldehiti keşfetmesi etkili olmuştur. Bundan sonra Laskowski kadavrayı kurumadan muhafaza etmek için gliserin, saklamak için de fenolden oluşan "Cenevre tespit solüsyonu"nu geliştirmiştir. Bunların yanı sıra kadavrayı tespit veya koruma amaçlı olarak Spence, Norville, Erskine, Kinnamon ve Larssen gibi çözeltiler de kullanılmıştır. Belirtilen tespit ve koruyucu solüsyonlar genel itibarıyla formaldehit, fenol, timol, gliserin ve etanol gibi kimyasalların değişik oranlarda karıştırılmasıyla elde edilmiştir. Günümüzde ise plastinasyon metodu, alkid resin metodu, tuzlu veya sıvı sabunlu çözeltiler kadavra muhafazasında yeni yaklaşımlar oluşturmuştur.

Anahtar Kelimeler: Formaldehit, Kadavra, Solüsyon, Tespit

The Solutions Used in Cadaver Preparation and the Current Approaches

Abstract

It is called cadaver for the human or animal body that has lost its vitality used to work on observing students of veterinary medicine, nursing and medical faculty. The German chemist August Wilhelm von Hofmann's exploration of formaldehyde was effective in protecting the cadaver. Henceforth Laskowski is enhanced the Geneva fixation solution composed of glycerin and phenol to preserve drying. Apart from, solutions such as Spence, Norville, Erskine, Kinnamon and Larssen are used for cadaver fixation or preservation. The above-mentioned fixatives and preservative solutions are generally obtained by mixing at different ratios of the chemicals such as formaldehyde, phenol, thymol, glycerin and ethanol. Nowadays the plastination method, alkyd resin method, saline and soap solutions have created new approaches for preservation of cadaver.

Key Words: Cadaver, Fixation, Formaldehyde, Solutions.

1. GİRİŞ

Anatomi derslerinin işlenişinde sıklıkla anatomik modeller, atlaslar, bilgisayar programları gibi araçlar kullanılmaktadır. Ancak anatomi eğitiminde kadavra kullanımı dersin temelini oluşturmaktadır. Kadavra bir bütün halinde kullanılabilceği gibi tek başına organlar halinde de kullanılabilir. Ancak kadavranın çabuk bozulması, hastalık bulaştırma riskini barındırması gibi nedenlerden dolayı eğitim materyali olarak kullanılabilmesi için bazı işlemlerden geçmesi gerekmektedir. Bu işlemler kimyasal maddelerle kadavraların tespit edilmesidir. Bu nedenle uzun zamandan beri bilim insanları kadavraları bozulmadan güvenli bir şekilde, uzun süre muhafaza edebilecek bir yöntem bulmak için çalışmışlardır (1-14). Bu çalışmada da literatür bilgisi dahilinde en çok kullanılan kadavra tespit solüsyonları yanında, güncel kadavra koruma yaklaşımlarının derlenmesi amaçlanmıştır.

2. KADAVRA TESPİTİNİN TARİHÇESİ

Veteriner hekimlik, hemşirelik ve tıp fakültesi öğrencilerinin gözlemleyerek, üzerinde çalışmalar yapmak amacıyla kullandığı canlılığı kaybetmiş insan ya da hayvan vücuduna

kadavra denir. Kadavraları eğitim ve araştırmalarda bozulmadan kullanmak için bazı teknikler geliştirilmiştir. Bunlardan birisi Mısırlılar tarafından bulunan 17.yy'a kadar kadavraların korunması ve saklanması amacıyla kullanılan mumyalama tekniğidir (15). Alman bilim insanı ve kimyacı August Wilhelm von Hofmann tarafından 1868 yılında keşfedilen formaldehit modern kadavra koruma teknikleri için bir başlangıç olmuştur (15-17). Hemen sonrasında 1886 yılında, Laskowski kadavrayı kurumadan muhafaza etmek için gliserin, saklamak için de fenolden oluşan Cenevre tespit solüsyonunu geliştirmiştir. 1800'lü yılların sonunda ise çoğunlukla bu solüsyon ve formaldehit karışımı kullanılmıştır (13). Günümüzde kadavra tespit solüsyonu olarak en yaygın kullanılan sıvılar formaldehit, fenol, timol, gliserin, etanol ve distile su karışımlarıdır (5, 6). Brenner (2014) "ideal bir tespit solüsyonu"nu dokuları kurutmadan, sertleştirmeden, renklerini değiştirmeden doğal yapılarını koruyup uzun süre muhafaza edebilen bakteriyostatik etkili bir solüsyon olarak tanımlamaktadır. Bu tanımlamaya uyacak tespit solüsyonunu geliştirmek üzere yapılan çalışmaların birçoğunda zararlı

etkilerinin bilinmesine rağmen formaldehitin azalan oranlarda da olsa kullanıldığı görülmektedir (7-9). Ayrıca kadavra koruma sıvısı olarak civa klorür, aromatik yağlar, tanin ve tuz kullanımı da denenmiştir (18, 19). Araştırmacılar halen "ideal bir tespit solüsyonu" geliştirmek üzere yeni arayışlar içerisindeyler.

3. KADAVRA HANGİ AMAÇLAR İÇİN KULLANILIR?

1750'li yıllardan itibaren insan ve hayvana ait dokular, kadavra olarak sağlık alanında eğitim gören öğrencilere anatomik bilgi vermek amacıyla kullanılmaktadır. Bu nedenle Anatomi bilim dalındaki eğitimin temelini oluşturan kadvranın hazırlanması büyük öneme sahiptir (1). Bilir (2015) eğitim için kadavra kullanımının olmazsa olmazları arasında olduğunu, öğrencilerin kadvrayı birebir öğrenmesi, ona dokunması, manipulatif işlemler uygulamasına olanak tanıması açısından önemini büyük olduğunu ifade etmiştir.

4. KADAVRA TESPİTİNDE KULLANILAN SOLÜSYONLAR

Kadavra koruma amacıyla en çok tercih edilen solüsyonlar aşağıda belirtilmiştir.

4.1. Spence'in kadavra tespit sıvısı bileşimi

- Formaldehit	2lt
- Metil alkol	4lt
- Gliserin	600 ml
- Fenol	800 g
- Su	3 lt

Spence'in bu bileşimi 64 kg vücut ağırlığına sahip bir canlı için düzenlenmiştir (2).

4.2. Norville'nin kadavra tespit sıvısı bileşimi

-Formadehit (%40)	508.032 g
-Boraks (%100)	108 g
-Sodyum nitrat (%100)	108 g
-Borik asit (%100)	57.99 g
-Gliserin (%95)	114.307 g
-Eosin (%100)	14.5 g
-Sitronel Yağı (%100)	18.14 g

Norville'nin bu bileşimi su ilave edilerek 2.275 litreye tamamlandıktan sonra kullanılmaktadır (3).

4.3. Erskine'in kadavra tespit sıvısı bileşimi

-Etil alkol	1 lt
-Formaldehit(%40)	2.5lt
-Gliserin	5 lt
-Fenol	500 g
-Sodyum arsenat	100 g
-Salisilik asit	175 g
-Klortimol	25 g

Erskine bu bileşimin 3 adet eriyik halinde hazırlanıp birbirine karıştırarak kullanılması gerektiğini bildirmiştir. Ayrıca; bu eriyiğin çok iyi bir fungusid ve kuvvetli bir higroskopik olduğu bilinmektedir. Bu teknikle:

-100 g sodyum arsenat 2 lt gliserin içerisinde ısıtılarak eritilir.

-Eriyik 40-35°C'ye soğutulmadan önce 175 g salisilik asit eklenir.

-500 g fenol 1 lt etil alkol içerisinde iyice eritilir.

-2 lt gliserin-sodyum arsenat-salisilik asit eriyiği 3 lt gliserin ve 2,5 lt formaldehit ile karıştırılır ve 500 g fenol 1 lt etil alkol eriyiği ve 25 g klortimol ilave edilir. Bu son bileşim kullanılmadan hemen önce hazırlanmalıdır. Bu karışımın bir diğer önemli özelliği ise içerisine hiç su karıştırılmamasıdır (4).

4.4. Kinnamon'un kadavra tespit sıvısı bileşimi

-Fenol	18 lt
-Gliserin	23 lt
-Etanol	15 lt
-Timol	200 g
-Formalin	9.5lt

Kinnamon'un bu bileşimi bidistile su ile 140 lt'ye tamamlanır. Ekstremiteler baş ve boynun iyi tespit edilebilmesi için 24-36 saat kadvranın tespit yerinde kalması önemlidir. Kadavra tespit edildikten sonra saklanması veya muhafazası için nemlendirici ek bir solüsyona daha ihtiyaç duyulmaktadır. Bu solüsyon aşağıdaki gibi gösterilmektedir.

4.5. Kinnamon'un kadavra saklama solüsyon bileşimi:

-Gliserin	800 ml
-Etanol	267 ml
-Fenol	133 ml
-Timol	1.66 g
-Distile su	2798.34 ml

Nemlendirici bu solüsyon kadvraların ıslatılmış tülbentlere sarılarak plastik poşetlere koyulmasıyla etkisini göstermektedir. Kinnamon'un kullandığı bu teknikle dehidratasyonun az olması, dokuların normal biçimlerini koruması, saklanmasında soğuk hava sistemine ihtiyaç duyulmaması gibi önemli avantajları bulunmaktadır (10). Kinnamon tekniğiyle kullanılacak kadavra ve organlar, içeriğinde formaldehit çözeltisi bulunan özel havuzlarda 1-2 yıl gibi bir süre saklanabilmektedir. Formaldehit içeren bu çözeltiler kadvraların kullanımı sırasında dokuların ıslak ve kaygan olması sebebiyle kadavra üzerinde işlemlerin yapılmasını zorlaştırmaktadır. Formaldehit çözeltisi dokularda renk değişikliğine sebep olmakta ve dokular grimtrak bir renk almaktadır (1, 19).

4.6. Larssen solüsyonu'nun orijinal kompozisyonu

-Sodyum klorid	500 g
-Sodyum bikarbonat	900 g
-Kloral hidrat	1000 g
-Sodyum sülfat	1100 g
-Formalin(% 10)	500 ml
-Distile su	1000ml

4.7. Modifiye edilmiş Larssen solüsyonu bileşimi

-Formalin(%10)	100 ml
-Gliserol	400 ml
-Khloral hidrat	200 g
-Sodyum sülfat	200 g
-Sodyum bikarbonat	200 g
-Sodyum klorid	180 g
-Distile su	2000 ml

Yukarıda sunulan karışımdan 1 birim alınır ve 3 birim distile su ile oda ısısında karıştırılarak sonrasında 11 litrelik plastik konteynerlere alınarak depo edilebilir. Kadavranın bu solüsyonla muamele edildikten sonra demir kancalarla asılı pozisyonda plastik kaplara alınarak -16 ile -20°C de 4 ay kadar muhafaza edilebildiği belirtilmektedir (6).

4.8. Tuzlu su

Eğitim için kadavra kullanımı, kadavrayı tespit edebilmek için de kullanılması gereken formaldehit ve taşıdığı riskler göz önüne alındığında formaldehit içermeyen tespit solüsyonlarının kullanımını gerekli kılmaktadır. Bu nedenle bazı araştırmacılar formaldehite göre daha avantajlı olarak musluk suyu (%87), salamura tuzu (%13) ve üreticinin önerdiği oranlarda antioksidan karışımının kullanılabileceğini belirtmişlerdir (7). Bu solüsyon salamura tuzu, etanol, polietilen glikol (purisol E 400; yumuşatıcı olarak), mercan köşk bitkisi yağı (hoş koku vermesi için) ve musluk suyu karışımının % 6'lık formaldehitten daha iyi sonuçlar vermesini sağlayan fiksasyon-preservasyon solüsyonudur. Maliyetinin düşük olması, kullanan kişilerde ve çevre için çok fazla risk barındırmaması gibi avantajlarının olması sebebiyle fiksasyon-preservasyon solüsyonunun formaldehite tercih edilebileceği ifade edilmektedir (8).

4.9. Alkid Resin

Bu yeni yaklaşımın temeli bazı organlardan su ve yağın uzaklaştırılması ve koruyucu olarak vernik, tiner ve gliserol gibi minimum malzeme ve ucuz kimyasallardan faydalanmaya dayanmaktadır (11). Bu teknikte; kas ve dokunun sabitlenmesi için formaldehit ile fikse edilmesini sağlayan tespit aşaması, formaldehitin fazlasını yok etmek amacıyla yıkama aşaması, dokuda bulunan su ve yağın dışarı atılmasını sağlayan arındırma aşaması, hacimsel kaybı gidermek ve kadavrada cerrahi işlemlerin yapılmasına olanak tanıyacak yumuşaklığı sağlayan gömme aşaması, fazla kimyasalın alınması için ön kurutma aşaması, alkid resin içeren bir koruyucu solüsyon ile beraber toluen ve ksilen içeren bir çözücü solüsyonla hayvansal dokuların kendine has özelliklerini korumasını sağlayan emdirme aşaması ve alkid resinin sertleşmesine neden olan son kurutma aşamasının bulunduğu ifade edilmektedir (11, 12, 21). Yeni yöntemle elde edilen malzemelerin kuru, kokusuz, esnek, dayanıklı, doğal renk ve dokuda olduğu belirtilmiştir. Bu dokuların çürüme gerçekleşmediği için uzun süre kullanılabilmesi, ayrıca anatomi, patoloji, parazitolojide öğretim materyali ve müze numuneleri olarak hizmet edebileceği vurgulanmıştır. Bunun yanında cerrahi derslerinde eğitim materyali olarak ve stereolojik mikroskopi çalışmalarında da kullanılabilmesi belirtilmiştir (11).

4.9. Sabunlu Su

Sabunlu suyun baz alındığı çalışmada (13); sabun, etanol, sitrik asit, benzalkonyum klorür kullanmıştır. Etanol fiksatif ve koruyucu, sıvı köpük sabun modifiye ajan, sitrik asit antioksidan, benzalkonyum klorür ise dezenfektan olarak işlev göstermektedir. Araştırmada (13) sabun, etanol ve fiksatif

solüsyonu hazırlamak için kullanılan kimyasalların karışım oranları aşağıdaki şekilde belirtilmiştir.

-Sıvı köpük sabun	55 lt
-Etanol (%96)	35 lt
-Sitrik asit	10 kg
-Benzalkonyum klorür (%10) (dezenfektan)	

Çalışma sonucunda kadavranın diseksiyon için iyi bir sertlik ve esnekliğe sahip olduğu, kasların orijinal anatomik şekle yakın bir görüntü oluşturduğu saptanmıştır (14).

5. SONUÇ

Günümüzde yukarıda da belirtildiği üzere kadavra saklama yöntemlerinde kullanılan kimyasallardan en çok tercih edileni ve aynı zamanda en kanserojeni formaldehittir. Anatomi, patoloji, histoloji ve diğer meslek gruplarında formaldehit ile devamlı çalışan ve ona maruz kalan kişilerde yapılan araştırmalarda beyin kanseri, kan kanseri ve kolon kanserinden ölenlerin sayısının normal popülasyona göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (22, 23). Formaldehitin belirtilen zararlı etkileri nedeniyle Almanya da havalandırması yetersiz "Zararlı maddeler yönetmeliğine uygun olmayan" birçok anatomi laboratuvarının koşullarını uygun hale getirene kadar geçici olarak kapatıldığı bildirilmiştir (9).

Giriş bölümünde bahsedilen "ideal tespit solüsyonu" tanımlamasına uyacak solüsyonu geliştirmek üzere yapılan çalışmaların birçoğunda da zararlı etkilerinin bilinmesine rağmen formaldehitin azalan oranlarda da olsa kullanıldığı görülmektedir (7-9).

Formaldehitin zararlı etkisinin önüne geçmek amacıyla Friker (2007) musluk suyu, salamura tuzu ve antioksidan karışımının bir tespit solüsyonu olarak kullanılabilmesini ifade etmiştir. Bu gelişmenin ardından Avrupa Veteriner Eğitim Kurumları Birliği (The European Association of Establishments for Veterinary Education – EAEVE) formaldehitin insan sağlığına olan olumsuz etkileri nedeniyle tuzlu su ile tespit edilen kadavraların kullanılmasını önermiştir (24).

Anatomi eğitiminin ve bilimsel araştırmaların uygulanabilmesi için kadavra kullanımı çok fazla önem arz etmektedir. Özellikle veteriner ve tıp alanında eğitim alan kişilerin hekim kimliğini kazanabilmesi için kadavranın katkıları yadsınmaz bir gerçektir. Ancak formaldehit içeren tespit çözeltilerinin kullanımı bu durumu olumsuz yönde etkilemektedir. Kadavra kullanımında hastalık riski bulunmayan, kokusuz, uzun süreli saklanabilen, ektoparazitleri içermeyen, dokunun bütünlüğünü bozmadan gerçek bir şekilde yansıtabilen ve bunu kullanacak kişiler tarafından kabul görmesi kadavraların anatomi ve cerrahi eğitimine olan katkısını artıracaktır (25).

KAYNAKLAR

1. Yıldız B, İkiz İ. (1993). Kadavra Yapımında ve Korunmasında Yaygın Olarak Kullanılan Tespit Sıvıları. UÜ Vet Fak Derg.12(1): 129-135.
2. Spence TF, Zuckerman S. (1967). Teaching and Display Techniques in Anatomy and Zoology. Pergamon Press, London.
3. Norville CD. (1956). Textbook of Chemistry for Embalmers. Burges Publishing Co. Minnesota.
4. Erskine CA. (1961). The Results of 10 Years of Experimental Research on the Anatomical Preservative Solutions for the

- Prevention of the Drving out of Tissues and Fungus Infections. Anat Anz. 109(4): 348–350.
5. Kalanjati VP, Prasetiowati L, Alimsardjono H. (2013). The Use of Lower Formalin-Containing Embalming Solution for Anatomy Cadaver Preparation. Med J Indones. 21(4): 203-207.
 6. Silva RM, Matera JM, Ribeiro AA. (2007). New Alternative Methods to Teach Surgical Techniques for Veterinary Medicine Students Despite the Absence of Living Animals. Is That an Academic Paradox?. Anat Histol Embryol. 36 (3): 220-224.
 7. Friker J, Zeiler E, McDaniel BJ. (2007). Vom Formalin zum Salz Entwicklung und Einführung Einer Konservierungslösung Auf Salzbasisfür Anatomische Unterrichtspräparate. Tierärztl Prax K H. 35 (2): 243-248.
 8. Janczyk P, Weigner J, Luebke-Becker A, Kaesmeyer S, Plendl J. (2011). Nitrite Pickling Salt As An Alternative to Formaldehyde for Embalming in Veterinary Anatomy-A Study Based on Histo-And Microbiological Analyses. Ann Anat. 193 (1): 71-75.
 9. Hammer N, Löffler S, Feja C, et al. (2012). Ethanol-Glycerin Fixation with Thymol Conservation: A Potential Alternative to Formaldehyde and Phenol Embalming. Anat Sci Educ. 5 (4): 225-233,
 10. Kinnamon KE, Holborow GS, Simmonds RC, Sheridan MN. (1984). Preparation of Veterinary Gross Specimes: A Method That Allows Storage at Room Temperature for Four Years. J Am Vet Med Assoc. 184 (6): 704-705.
 11. Arı HH, Çınaroğlu S. (2011). A New Approach to Preservation of Some Organs Using Alkyd Resin. Res Vet Sci. 90 (1): 16-19.
 12. Çınaroğlu S. (2012). Norduz Koyunu Urogenital Sistem Organlarının Makro Anatomisinin Alkid Resin Metodu Kullanılarak İncelenmesi ve Kadavrasının Hazırlanması. Doktora Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
 13. Turan E, Güleş O, Dilek ÖG, Sabancı SS. (2015). Sıvı köpük sabun, etanol, benzalkonyum klorür ve sitrik asit karışımının kadavra tespit solüsyonu olarak etkinliğinin araştırılması. (TÜ-BİTAK TOVAG Proje No: 1140704).
 14. Turan E, Gules O, Kilimci FS, et al. (2017). The Mixture of Liquid Foam Soap, Ethanol and Citric Acid As A New Fixative-Preservative Solution in Veterinary Anatomy. Ann Anat. 209 (1): 11-17.
 15. Von Hagens G, Whalley A. (2010). Body Worlds Orijinal Vücut Dünyası Sergisi. Art and Sciences Ltd.Şti. Ömür Matbaacılık, İstanbul.
 16. Brenner E. (2014). Human Body Preservation – Old and New Techniques. J Anat. 224 (3): 316-344.
 17. Onyije FM, Awuoro OG. (2012). Excruciating Effects of Formaldehyde Exposure to Students in Gross Anatomy Dissection Laboratory. Int J Occup Environ Med. 3 (2): 92-95.
 18. Şendemir E. (1991). Formaldehit Kullanımı ve Zararları. UÜ Tıp Fak Derg. 2 (18): 361-365.
 19. Ünsaldı E, Çiftçi MK. (2010) Formaldehit, Kullanım Alanları, Risk Grubu, Zararlı Etkileri ve Koruyucu Önlemler. YYU Vet Fak Derg. 21 (1): 71-75.
 20. Bilir A. (2015). Tıp Fakültesi Öğrencilerinde Kadavra Algısı ve Öğrencilerin Tıp Eğitiminde Kadavra Kullanımına Yönelik Yaklaşımları. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
 21. Arı HH, Soygüder Z, Çınaroğlu S. (2010). Alkid Resin Kullanılarak Keçi Ön ve Arka Bacağının Kadavrasının Hazırlanması. VI. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi, 16-19 Eylül, Afyonkarahisar-Türkiye.
 22. Yılmaz HR, Özen OA, Songur A ve ark. (2002). Subkronik Formaldehit İnhalasyonunun Sıçanlarda Bazı Böbrek Enzim Aktivitelerine Etkisi. Van Tıp Derg. 9 (1): 1-5.
 23. Zararsız İ, Kuş İ, Çolakoğlu N ve ark. (2004). Formaldehit Maruziyeti Sonucu Sıçan Akciğerinde Oluşan Oksidatif Hasara Karşı Melatonin Hormonunun Koruyucu Etkisi: Işık Mikroskopik ve Biyokimyasal Çalışma. Van Tıp Derg. 11 (4): 105-112.
 24. EAEVE. (2010). "Staying in Touch." News From The Field: From formalin to salt.
 25. Guimara Es Da Silva RM, Ribeiro AACM. (2004). Preservation of Cadavers for Surgical Technique Training. Vet Surg. 33 (6): 606–608.

Yazışma Adresi:

*Yasin DEMİRASLAN

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye

E-posta: yasindemiraslan@hotmail.com



Kanola Bitkisi ve Ürünlerinin Ruminant Beslemede Kullanımı

Hüseyin NURSOY^{1*} Emre ŞAHİN¹ Fatma TERLEMEZ¹

^{1*}Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Bingöl

Geliş Tarihi/Received
19.10.2018

Kabul Tarihi/Accepted
29.11.2018

Yayın Tarihi/Published
31.12.2018

Öz

Kolzanın antinutrisyonel faktörlerinden arındırılması ile elde edilen kanola bitkisinin, yeşil otu, kuru otu, silajı, küspesi, yağı ve protein konsantreleri hayvan beslemede kullanılmaktadır. Özellikle kanola ürünlerinden olan kanola küspesi, soya küspesine göre daha az maliyetle üretilmektedir. Protein oranının soya küspesine kıyasla daha düşük olması dezavantaj olarak görülmektedir. Geviş getiren hayvanlar üzerinde kanola ve ürünleri ile ilgili yapılan bilimsel çalışmalar kanolanın çok yakın bir gelecekte alternatif bir yem kaynağı olacağını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Kanola Kuru Otu, Silaj, Küspe, Protein Konsantreleri, İzole ve Hidrolize Proteinleri, Samanı.

The Use of Canola Plant and its By-Products in Ruminant Feeding

Abstract

The canola plant that green grass, dry grass, silage, meal, oil and different protein concentrates produced by removing antinutritional factors of rapeseed are also used in animal feeding. Canola meal, especially of canola products, is produced at less cost than soy bean meal. Protein ratio is lower compared to soybean, which is seen as a disadvantage. Scientific studies on canola and its products on ruminant animals show that the canola will be an alternative feed source in the near future.

Key Words: Canola Hay, Silage, Meal, Protein Concentrates, Isolate and Hidrolysed Protein, Straw.

1. Giriş

Kanola bitkisi, özellikle Brassica napus L., Brassica rapa L. ve Brassica juncea gibi kolza türlerinin tohumlarındaki glukosinolatların ve erusik asitin azaltılarak ilk olarak Kanada'da 1979 yılında geliştirilen ve adına da Düşük Asitli Kanada Yağı (Canadian Oil Low Acid)'nın baş harflerinin verilmesiyle ortaya çıkarılan yağlı tohum ve kaba yem bitkisidir. Dünyada yağlı tohum kanolası olarak (Oilseed Rape: Yağlık Kolza) en çok Brassica napus L. türünün siyah ve sarı renkli tohumları ve kaba yem kanolası (Turnip Rape: Şalgam Kolzası) olarak ta Brassica rapa L. türü kanola tohumları kullanılmaktadır. Kanola tohumunun yağında erusik asit %2 ve glukosinolatlar 30 mmol/g'ün altına düşürülmüştür (1, 2, 3). Bu iki maddenin düşüklüğünden dolayı "Double-zero" kolza da denilmektedir. İçeriğindeki düşük doymuş yağ asidi oranından dolayı kanola yağı 1980'li yıllarda Amerika'da marketlere girmiş ve küspesi de protein saptamanti yem olarak kullanılmaya başlanmıştır. Kanolanın, 90'ların sonuna doğru, herbisitlere karşı dirençli türü geliştirilmiştir (1). Dünyada yağ için en fazla ekilen bitki 2013 yılı itibarıyla %57.33 oranıyla soya fasülyesi ve ikinci olarak %13.02 oranıyla kanoladır (4). Türkiye'de 2006 yılında 53898 dekar arazide kanola ekimi yapılarak 12615 ton tohum elde edilmişken, son 10 yılda üretim alanı üç katına ve ürün miktarı beş katına çıkmış sadece 2017 yılı içerisinde 165195 dekar arazide kanola ekimi yapılmış ve yaklaşık 60.000 ton yağlı tohum üretilmiştir (5). Dünyada ve ülkemizde son yıllarda kol-

za/kanola tohumlarından kaba yem elde etmek için farklı varyeteleri kullanılmaya başlanmıştır.

1. Kanola Bitkisinin Yaş Otu, Kuru Otu ve Samanı

Şalgam Kolzası (Turnip Rape) veya Brassica rapa L. türü kanola tohumu; dünyanın bir çok ülkesinde olduğu gibi son yıllarda ülkemizde de; Lenox, Polybra, Malvira, Hanko, Buko, vb. çeşitleriyle veya "Ot Tipi Yem Şalgamı, Yemlik Şalgam Otu, Şalgam Otu, Yemlik Kolza, vb. adlarla ekimi yapılan kaba yem bitkisidir (6, Fotoğraf 1). Kanola bitkisi düşük sıcaklıklara ve tuzlu topraklara dayanıklıdır. Ot üretmek için ekilen kanola ülkemizde Ağustos sonu ile Eylül-Ekim başlarına kadar kışlık ekilir, bahar sonuna doğru veya orta-çiçeklenme döneminde yaklaşık 1.5-2.5 m boylandıktan sonra hasat edilir. Ekimden sonra soğuğa dayanabilmesi için kışa girmeden önce bitki boyunun 10-13 cm ye ulaşması ve rozet yapraklarının çıkması gerekir (7). Kanolanın çiçeklenme dönemi arılar için iyi bir polen kaynağıdır. Kışlık kanolanın orta ve son çiçeklenme döneminde biçilmesiyle çeşit, iklim, özellikle azotlu gübreleme, sulama, sıra aralığı, tohum miktarı, vb. etkenlere bağlı olarak kuru ot veriminin KM olarak 3100-10000 kg/ha aralığında olduğu bildirilmektedir (8,9). Yaş veya kuru kanola bitkisinde kükürt içeriği yüksek olduğu için ruminantlar için az lezzetlidir. Direkt otlatılarak veya biçilerek taze ya da en fazla %16-18 nem kalacak şekilde yaklaşık 7 günde kurutularak hayvanlara verilebileceği gibi silajı, sap ve samanları da ruminant beslenmede uygun

miktarlarda sorunsuz kullanılabilir. Kanola kuru otunda özellikle kuraklık şartlarında ve Azotlu (N) gübrelemenin fazla olması durumunda yüksek düzeyde nitrat birikmektedir. Ruminant yemlerinde 5000 ppm/KM'den fazla nitrat toksiteye sebep olmaktadır (8). Bu nitratın %30-70'i silaj fermentasyonu ile zararsız NPN (Protein Olmayan Azotlu

Bileşikler)'lere dönüşebilmektedir. Bu bakımdan kanola bitkisinin, yaş ot veya kuru ot olarak tüketilmesinden çok, silajının yapılması önerilmektedir (10). Orta çiçeklenme döneminde biçilen kanola bitkisinin protein gibi bazı besin madde içerikleri yoncadan fazladır (Tablo 1).

Tablo 1. Orta-Çiçeklenme Döneminde Biçilen Kanola Bitkisinin Yaş/Kuru Otları ve Silajı ile Samanının Besin Madde Kompozisyonları, KM'de, (8, 9, 11, 12, 13).

Parametreler	Kanola Yaş Otu	Kanola Kuru Otu	Kanola Silajı	Kanola Samanı
Kuru Madde (KM), %	12-25.9	61.3-88	15-34.6	89.5-91.2
Ham Protein (HP), %	12-28.5	16-28	12.5-25.9	3.5-6.93
Ham Yağ (HY), %	4.1	7.34	6-4.1	2.21
Ham Kül (HK), %	3.5-6	6.44	8.5-20.5	3.87
NDF (Nötral Deterjan Fiber), %	20.9-49.4	24-44.76	20-53.1	77.16
ADF (Asit Deterjan Fiber), %	16.9-43.3	25.5	19-32	56.75
ADL (Asit Deterjan Lignin), %	-	6.15	5	6.4-15.6
N (Azot), g/kg	24-30	24-30	24-30	4
Ca (Kalsiyum), %	1.1-1.2	1.3	1.0	1.0
P (Fosfor), %	0.3	0.27	0.3	0.3
Metabolik Enerji (ME), kkal/kg KM	2103-2509	2629-3107	2380	1778
Net Enerji Laktasyon(NEL), kkal/kg KM	1381	1720	1480	1001
Rölatif Yem Değeri (RFV)	347	140	324	54
TDN (Toplam Sindirilebilir Besin Madde Miktarı), %	53.5-65	65	59.8	20

Yazın kuraklığından geçerek sonbahar yağmurlarıyla yeniden sürgün veren kanola bitkisinin sığır ve koyunlar için toksik maddeler içerebileceği (10), varsayılarak otlattırılmaması ifade edilirken, bazı kaynaklarda (14, 15) ise toksik bileşiklerin oluşmadığı gerekçesiyle bu dönemlerde de hayvanların otlattırılabilirliği bildirilmektedir. Kanola kuru otu, silajı ve samanında KM'nin %0.5-1.3'ü kadar yüksek oranda kükürt (S) birikebilmektedir. S-methyl-L-cysteine sulfoksitin neden olduğu kan işeme, zayıflık gibi belirtileri olan hemolitik aneminin oluşmaması; yine yüksek kükürtten dolayı B1 (Tiyamin) emiliminin azalmasına bağlı olarak gelişen Poliensefalomalazi'nin (PEM) beyinde nekrozlara sebep olmaması; rumende hidrojen sülfidün yükselmemesi; bakır (Cu) ve selenyum (Se) elementlerinin emilimlerinin azalmaması; izotiyosiyanatlardan dolayı görülen guatrın oluşmaması için normal olarak günlük ruminant rasyonlarının KM'sinde %0.4'ten fazla kükürt bulunmamalıdır. Kanolanın kuru otu, süt inekleri ve besi sığırlarının Toplam Karışım Rasyonlarında (TMR) KM'nin %50-60'ını geçmemesi önerilmektedir. Örneğin normal yem haliyle 14 kg/gün kaba yem kullanılabilecekse bunun 6 kg'ı kanola kuru otu ve 8 kg'ı yonca kuru otu olabilir (15, 16, 17). Son yıllara kadar dünyada da, ülkemizde de kanola, bir yağlı tohum bitkisi olarak görüldüğünden literatür taraması yaptığımızda, kanola küspesi (canola meal) konusunda çalışmalara rastlanılmış, ancak kanola bitkisinin kuru otu, silajı ve samanı hakkında kaba yem tüketen sığırlar, koyunlar, keçiler, atlar ve tavşanlar üzerindeki etkileri hakkında yeterli literatüre rastlanılamamıştır.

2. Kanola Silajı

Sarıçiçeklerin 2/3'ünün oluştuğu orta çiçeklenme döneminde hasat edilen kanola bitkisinin su içeriği %75-88 aralığında, karbonhidrat içeriği düşük ve nitrat (NO₃) içeriği yüksek olduğundan, tamponlanma kapasitesi ve silaj pH'sı yükselmektedir. Ancak yaş materyalin %2-8'si kadar melas ve en az 20x10¹⁰CFU/g'lu canlı inokulantlar kullanılarak silaj kalitesi

arttırılabilir (17). Kanola silajına ürenin %0.5-1 oranlarında katılması silaj kalitesini azaltmış, %4-8 melas katılması ise NDF ve ADF içeriğini azaltmış silaj kalitesini yükseltmiştir (18). Kanola silajı iyi bir selüloz kaynağı olmakla birlikte protein ve enerji sindirilebilirliği değişkenlik göstermektedir. Uygun zamanda hasat ve kaliteli fermente edilen kanola silajlarının bazı besin madde değerleri yonca silajına denk veya üstündür. Yonca silajına göre; ADF ve NDF değerinin düşük, protein oranının yüksek, KM sindirilebilirliğinin yonca silajında %70 ve kanola silajında %90'larda olması, kanola silajının ruminantlar için iyi kalitede bir kaba yem olduğunu göstermektedir (Tablo 1). Genel olarak kanola bitkisinde bir çok faktöre bağlı olmakla birlikte kükürt içeriğinin KM'nin %0.5-1.3'ü kadar olduğu varsayılmakta ve bu durum ruminantlar tarafından iştahla tüketilmesine engel olmaktadır. Günlük KM tüketim miktarının arttırılması için silajın partikül uzunluğu arttırılması veya başka kaba yemlerle seyreltmeler yapılmalıdır. Kanola bitkisinin kuru otunda yüksek düzeyde özellikle kuraklık şartlarında nitrat birikmekte, ancak guatr oluşumuna da neden olabilen azot içeren izotiyosiyanatlar gibi toksik maddeler silaj fermentasyonu sayesinde %30-70 oranlarında azaltılabilmektedir (14, 17). Kanola bitkisinde kükürt ve diğer antibesinsel maddelerin aşırı oluşmaması için; N ve S içeren gübrelerinin fazla atılmaması, bitkideki N:S oranının 5:1 olması, en az 45 gün silajının olgunlaştırılması, N ve S analizleri yapıldıktan sonra fazla olanların diğer kaba yemlerle seyreltilerek sunulması, özellikle bezelye ile karışık ekiminin ve mümkünse karışık silajının yapılması önerilmektedir (17). Kanola silajına melas ve Ruminantların ishal olmamaları için kanola silajının, rasyon KM'sinin %50-60'ını geçmemesi ve tek başına kaba yem olarak kullanılmaması gerekmektedir. Örneğin süt inekleri ve besi sığırları için Toplam Karışım Rasyonlarında normal haliyle 25 kg/gün kaba yem kullanılabilecekse bunun 17 kg'ı kanola silajı ve 8 kg'ı yonca kuru otu olabilir (16, 17). Kanola silajının rasyon KM'sinde %21 oranında kullanılması 8 aylık düvelerde yem tüketimini hafif arttırdığı da bildirilmektedir (9).

3. Bütün Kanola Tohumu

Kanola hasadında tohum %60, başka tohumlar ve sap kıymıkları %25 ve %14 toz-toprak olduğu belirlenmiştir (19). Kanola tohumun yağ içeriği %30-49.5 (%52.8 oleik asit, %23.5 linoleik asit ve % 10.5 linolenik asit), ham protein içeriği 14-30 aralığında (Tablo 2) ve kabuklu olması işlenmeden ruminant rasyonlarında kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Kanatlı rasyonlarında bütün kanola yağ içeriğindeki anti-besinsel maddelerden dolayı kesinlikle kullanılmaz. Ancak, Barekatin ve ark. (20), buharlı pelet (75-90 °C ısı) uygulaması ile etlik piliçlerin başlatma ve bitirme yemlerine %11-13.5 oranlarında katılabileceği bildirilmektedir. Buzağuların pelet başlatma yemlerine %12-18 oranlarında bütün kanola kullanılması 7-15 haftalık dönemde günlük canlı ağırlık artışında (GCAA), HP ve ADF sindirilebilirliklerinde artışlara sebep olduğu bildirilmektedir (21). Süt ve besi sığırlarının rasyonlarına öğütülmemiş bütün kanolanın %8'e kadar (22) ve öğütülmüş bütün kanolanın %20'ye kadar bütün kanola katılmasıyla yaklaşık 300-350 g/gün kanola yağı hayvanlara geçmekte ve selüloz sindirimi de etkilenmemektedir (23). Ancak, ortalama 2.5 aylık yaşta ve 25 kg CA'da RomanovxSuffolk melezi 33 erkek kuzunun konsantr yemlerine bütün, kırılmış ve öğütülmüş kanola tohumlarının ortalama 188 g/gün tüketildikleri, KM tüketimlerinin kanola küspesi bulunan grupla aynı olduğu ancak GCAA'da %20'lik bir azalmanın söz konusu olduğu bildirilmektedir (24).

4. Kanola Tohum Kabuğu

Kanola tohumunun %17-30'u kabuktur. Kabuğun %6'sı fenolik bileşikler, flavonoidler ve tanenlerden (yaklaşık %3, bunun %0.77-1.5'i kondanse tanenlerdir) oluşmaktadır (25). Yeni geliştirilen sarı renk tohumlu kanolalarda kabuk ve selüloz düşük; yağ, sukroz ve protein yüksektir Tanenler 110 °C'de 30 dk. kavrulursa parçalanırlar (26). McKinnon ve ark. (27) kuzuların kaba yemlerine %25-50-75 oranlarında %3 susuz NH₃ muameleli ve muamelesiz kanola kabuğu katmanın; KM tüketimini olumsuz etkilediğini ve kabuktaki bazı besin maddelerin sindirilebilirlikleri üzerine NH₃ muamelesinin faydalı olmadığını bildirmektedirler.

5. Kanola Küspesi

Kanola küspesi, amino asit profili iyi, ancak selülozu, fitati ve glikosinolatları yüksek olduğundan enerji ve amino asit sindirilebilirliği soya küspesine göre genel olarak %10 ME içeriği yüksek selüloz içeriğinden dolayı soya küspesinden %15-20 oranında daha düşüktür (Tablo 2). Soya küspesinden %60-75 daha ucuz olduğu için ruminantların konsantr yemlerinde soya küspesinin %60'ı oranında ikame edilebilecek bir protein kaynağıdır. Soya küspesiyle karşılaştırıldığında kanola küspesi genel olarak iyi bir kalsiyum, selenyum, kolin, niasin ve çinko kaynağı olmasına rağmen potasyum ve bakır bakımından yetersizdir. Kanola küspesinin içindeki Rumende Yıkılmayan Protein (RUP) yüzdesinin soya küspesinden daha iyi olduğu görülmektedir (28, 29, 30, Tablo 2).

Tablo 2. Ruminantlar İçin Kanola Tohumu, Kanola Küspesi ve Soya Fasülyesi Küspesinin Karşılaştırılması, KM'de, (17, 28, 29, 30, 31, 32).

Parametreler	Kanola Tohumu, IFN: 5-08-109	Kanola Küspesi Hekzan Solvent, IFN: 5-03-871	Soya Küspesi Hekzan Solvent, IFN:5-20- 637 ve 5-20-638
Kuru Madde,%	89.1-95	88-92	85-92.1
Ham Protein (HP), %	14-30	34-43.5	43-56.1
Rumende Yıkılmayan Protein (RUP), HP'nin %'si	-	22-56	34-45
Rumende Yıkılabilen Protein (RDP), HP'nin %'si	63.7	44.3-74.9	66
Protein Olmayan Azotlu Bileşikler (NPN), HP'nin %'si	10.3-13.7	12.5-16.9	2.57-4.1
Lizin, HP'nin %'si	6	2.08-6.4	3.03-5.95
Metiyonin, HP'nin %'si	3.8	0.6-1.97	0.65-1.42
Metiyonin + Sistein, HP'nin %'si	4.6	1.3-4.25	2.93
Ham Yağ,%	30.6-49.5	2-5.4.8	0.5-4.4
Erusik asit, Yağ Asitlerinin %'si	<0.2	<0.2	Önemsiz düzey
Linoleik Asit, HY'nin %'si	7.3-20.9	0.67	0.58
Ham Selüloz, %	7.2-10	7-15	3.1-10.1
NDF,%	14.9-31.3	20-37.9	7.4-18.9
ADF,%	11.2-22.2	14.6-25.6	5.2-13.5
ADL,%	2.7-16.8	8.2	0.2-1.8
TDN (Sığırlar İçin),%	-	64-84	84.6
Şekerler, %	5.2	8-11.1	9.17
Karbonhidratlar (Şekerler dahil)	12-13	19.6	27
Ham Kül, %	2.8-7.8	6-8.7	5-9.4
Ca, %	0.43	0.65-0.84	0.25-0.42
P, %	0.75	0.99-1.43	0.6
Elektrolit dengesi, mEq/kg, Na+K-Cl	-	307	504
Anyon-Kasyon Farkı, mEq/kg, (Na+K)-(Cl+S)	-	103	366
Tanenler,g/kg	1.7	1.3-4.6	0.8
Sinapın, %	0.39-1.06	0.3-1.8	Önemsiz düzey
Fitik asit, %	-	2.3-6	0.6-1.7
Glikosinolatlar, mikro mol/g	10-77	4.2-23.2	Önemsiz düzey
Kolin, mg/kg	-	6700	2731
Niasin, mg/kg	-	160	22
Gross Enerji kkal/kg	6620-7313	5444	4423-4780
ME (AMEn), kkal/kg KM (Kanatlılar İçin)	3824-4487	2000	2000-2464
ME, kkal/kg KM (Ruminantlar İçin)	4063	2360-2400	2606-2835
NEL, kkal/kg KM	3095-3274	1440-1666	1748-2130

Kanola küspesi, geviş getirenlerin TMR'sinde KM'de %20-30 aralığında kullanılabilir (31,32). Kanola küspesi ile beslenen ineklerin kuru madde alımının soya küspesi ile beslenenlere göre fazla olduğu ve soya ve pamuk tohumu ile beslenenlere göre süt veriminde ve bileşiminde herhangi bir farklılık olmadığı bildirilmektedir (33). Soya küspesi yerine kanola küspesinin kullanımı ruminal amonyak ve dallanmış uçucu yağ asitlerinin miktarını azaltmakla birlikte süt ineklerinde süt verimi, azot kullanılabilirliği ve esansiyel amino asitlerin emilimi arttırdığı ve sütteki protein verimi sırasının Kanola küspesi > Soya küspesi > Pamuk tohumu küspesi olduğu bildirilmektedir (34, 35). Süt inekleri için kanola kullanımında pratik bir kısıtlama görülmemiştir. Günlük 44 kg'dan fazla süt veren ineklerin rasyonuna eklenen %20 oranında kanola küspesinin kuru madde tüketimini arttırdığı belirlenmiştir (32). Etanol endüstrisi yan ürünü olan Kuru Tahıl Damıtma Çözünürleri (DDGS) fazla yağ içerdiği için, mısırın ya da mısır silajının fazla bulunduğu yemlere DDGS eklenmesinin çiftlik hayvanlarında kanola küspesi kullanımını kısıtladığı ve kanola küspesi/DDGS oranının 2/1 olması tavsiye edilmektedir (36). Besi sığırlarının konsantre yemlerine %25'e kadar kanola küspesi yemden yararlanma için en uygun orandır (37). Penner (38) sütçü buzağuların başlatma yemlerine %35'e kadar kanola küspesi katmanın GCAA'da bir azalmaya sebep olmadığını fakat performans bakımından en uygun oranın %16.5 olduğunu bildirmektedir. Kuzularda yapılan bir çalışmaya göre kanola küspesinin soya küspesi yerine ikame edilmesiyle yem tüketimi ve büyüme performansında artışlar olduğu ve kuzular için

hiçbir negatif etkisinin oluşmadığı bildirilmektedir (39). Mandiki ve ark. (40) kuzu konsantre yemlerine %30'lara kadar kanola küspesinin katılabileceğini ancak glukosinolatlarından dolayı tiroid hormonunun düşük olduğunu bildirmektedirler. Konsantre yemlerinde kanola küspesinin %25 ve arpanın %75 olduğu Kanada da Alpin x Boer keçilerde yapılan bir çalışmaya göre kanola küspesinin verim ve performansa olumsuz bir etkisinin olmadığı bildirilmektedir (41).

6. Kanola Eriyebilir ve Eriyemez Protein Konsantreleri

Kanola, çoğunlukla *B. napus* L. tohumundan kabuk ve yağın 2 kez 1:10 oranında hekzanla 24 saat süreyle ekstrakte edilmesinden sonra kalan yağsız kanola küspesinin tekrar selüloz ve fitik asitini düşürmek amacıyla enzim kullanma, ısı, izoelektrik noktasında protein çöktürme (genelde pH 4'te), alkolde çözme (şekerler, glikosinolatlar, sinapın ve ara ürünü canolol gibi bazı fenolik ester bileşikler azalır), filtrasyon ve kurutma gibi yöntemler uygulamak suretiyle "Yüksek Proteinli Kanola Küspesi" de denilen, %40-70 aralığında protein içeriklerine sahip, amino asit sindirilebilirlikleri %86.9-95.4 aralığında ve fitik asidi sıfıra yakın 2 protein konsantresi; Eriyebilir Protein Konsantresi (HP:%63.1) ve Eriyemez Protein Konsantresi (HP:%69.7) elde edilmektedir. Bu konsantre kanolalar özellikle balık rasyonları için balık ununu %50'si yerine geçebilecek özelliktedir (3, 19, 42, 43, Fotoğraf 2, Tablo 3).

Tablo 3. Ruminantlar için Bazı Kanola Ürünlerinin Özellikleri, KM'de (3, 19, 42, 43).

Parametreler	Eriyebilir ve Eriyemeyen Kanola Protein Konsantreleri	Kanola İzole ve Hidrolize Proteinleri	Fibre-Protein Kanola	Can-Sugar Kanola	Kanola Tohum Kabuğu (Siyah-Sarı)
Kuru Madde, %	89.4-97.4	93	91.8	87.6	85.2-90.45
Ham protein, %	37.5-69.7	77-94.9	30.9-44	15.6-16.7	14.2-18.5
Lizin, %	2.8-7.4	4-7.4	2.46	-	0.7
Metiyonin, %	1.55	1.9-2.6	0.88	-	0.2
Ham Yağ, %	0.23-3.0	0.22-2	0.5-3	0.1-0.3	6.7-20.7
Ham Selüloz, %	0.45-8.64	0.6	25.4	0.1	15.4-39.7
NDF, %	15.10-29.86	-	30-55.6	0.1	38.7-74.2
ADF, %	9.22-15.71	-	23.4-46.3	0.1	29.1-59.9
ADL, %	0.62	-	8-24.1	0.2	11.7-31.4
Karbonhidrat (Şekerler dahil)	-	0.22-7	-	-	8.8
Ham Kül, %	5.4-10.4	3.36-4	2.9-4.3	19.3-20.9	4.9-6.4
Ca, %	0.62-0.7	-	0.62	-	1.2-1.5
P, %	0.87-1.43	-	1.25-3.2	-	1.8-4.2
Fitik asit, %	0-1.5	0-1.5	0.31-0.9	0	-
Glikosinolatlar, mikro mol/g	2.59-4.01	0.1-2	1.0-3.9	7.3	-
Gross Enerji kkal/kg	4500-5114	-	4180-4780	3060-3520	-
ME, kkal/kg KM (Ruminant)	2470	-	2500	-	2246



Fotoğraf 2. Kanola Protein Konsantresi, (44)

7. Kanola İzole ve Hidrolize Proteinleri

Kanola (özellikle *B. napus* L. türü) küspesinin; 0.1-0.4 w/v NaOH, %10'luk sodyum sülfat (Na_2SO_3) veya 0.1-0.5 M tuz (NaCl) çözeltileriyle pH 10-12 aralığında, 23 °C'de 20 dk. ve 80-120 rpm'de ekstrakte edilmesinin ardından, 10.000 rpm'de en az 30 dk. ve 5-10 °C'de tekrar santrifüj ve 0.45 µm Whatman filtre kağıdından geçirilerek 0.1-0.5 M HCl veya sitrik asit, asetik asit gibi asitlerle pH 4-11 aralığında tekrar santrifüj, yıkama ve kurutma yapılarak üretilen kanola ürünlerine izole veya hidrolize kanola proteinleri denir. Kanola İzole Proteinini %90 HP'ye ve Kanola Hidrolize Protein %83 HP'ye sahiptir (19, 42, Tablo 3). Kanola tohumunda (*B. napus* L.), proteinin %85-90'ı globülin ağırlıklı cruciferin ve geri kalanı albümin ağırlıklı napin fraksiyonlarından oluşmaktadır. Bu fraksiyonlar insanlarda alerjiye sebeptir. Gıda sanayinde izole soya proteini gibi izole kanola proteini de emülsifer, su ve yağ bağlayıcı, tekstürleştirici, kabartma ve köpürtme jeli olarak kullanılmaktadır. Kanola izole proteini soya izole proteinininin 0.86'ı kadar bir eşdeğerliliğe sahiptir. Sütün ve yumurta proteinlerinin ileal sindirilebilirliği 0.94 iken kanolanın izole proteinininin 0.84 tür (42, 45). Alkali muamele kalıntılarında, alerjik anti besinsel maddelerden, renk ve lezzetinin düşüklüğü, ABD'de %82 ve Kanada'da %95 oranlarında genetiği değiştirilmiş organizma (GDO) olmalarından dolayı insan beslenmesinde sınırlı kullanılmaktadır. Ancak yetişkin insanlara GDO'suz, glutensiz ve diğer solventlerin kalıntılarında arındırılırsa; kanolanın izole ve hidrolize proteinlerinin 2.2 g/kg Beden Ağırlığı/Gün dozunda kullanılabilceği bildirilmektedir (46, 47).

8. Fibre-Protein ve Can-Sugar Kanolalar

Kanola küspesine ekstraksiyon, filtrasyon, enzimatik işlemler ve kurutma yapılarak bağlı olarak kanola küspesinin selüloz içeriği değişmekte ve yüksek selülozlu (Fibre-Protein) ve düşük selülozlu (Can-Sugar) kanola ürünleri elde edilmektedir (Fotoğraf 3, Tablo 3). Fibre-Protein kanolada RDP HP'nin % 61.4'ü ve NPN HP'nin %4.3-13.9'udur. Can-Sugar kanolada ise HP'nin %83.5'idir. Özellikle 90'lı yıllarda ruminant rasyonlarında yüksek selülozlu veya kabuk oranı fazla (Fibre-Protein) kanola küspeleri kullanılmıştır (32). Heendeniya (19) yüksek lisans tezinde hem Fibre-Protein kanolasını hem de NPN'i içeriği yüksek Can-Sugar kanolayı 2/1 oranında karıştırarak süt ineklerinin rasyonlarındaki yonca ile %15 oranında pelet yaparak; süt verimi ve ruminal sindirilebilirlikler üzerine her iki kanolanın kanola ve soya küspesine benzer sonuçlar verdiğini bildirmiştir.



Fotoğraf 3. Kanola Fiber Proteini ve Can-Sugar (19)

KAYNAKLAR

1. Daun JK, Eskin N, Hickling D. (2011). Canola: Chemistry, Production, Processing, and Utilization. American Oil Chemists' Press, Urbana.
2. Downey RK. Rapeseed To Canola: Rags To Riches. <https://ecommons.Cornell.Edu/Handle/1813/51226>, Erişim tarihi: 17.05.2018.
3. Maenz DD, 2007: Feed and Industrial Raw Material. Feed. 5: 274-276.
4. S. Begna, S. Angadi, M. Stamm, And A. Mesbah. (2017). Winter Canola: A Potential Dual-Purpose Crop for The United States Southern Great Plains, Agronomy Journal. 109 (6): 2508-2520.
5. TÜİK. Yağlı Tohumlar. http://www.tuik.gov.tr/PrelstatistikTablo.do?istab_id=56, Erişim tarihi: 17.07.2018.
6. Sincik M, Sözen E, Falk KC, Göksoy AT, Açıkgoz E. (2014). Heterosis and Combining Ability in a Diallel Cross of Turnip Rape Genotypes. Turkish Journal of Field Crops. 19 (2): 219-225.
7. Kanola Tarımı. <https://arastirma.tarim.gov.tr/ktae/Belgeler/brosurler/Kanola%20Tar%C4%B1m%C4%B1.pdf>. Erişim tarihi: 17.05.2018.
8. Parker P, Phillips N. (2018). Canola Hay and Silage. https://www.afia.org.au/files/GRD_CFact_Sheet_-_Canola_hay_silage.pdf, Erişim tarihi: 17.05.2018.
9. Reta-Sánchez DG, Serrato-Corona JS, Garza HMQ, Mascorro AGU, Viramontes UF. (2016). Forage yield and Chemical Composition of Canola (*Brassica Napus* L.) as Affected by Sowing Methods. Grass and Forage Science. 71 (2): 281-290.
10. Canola Possible Forage Crop For Livestock. https://www.ag.ndsu.edu/news/news_releases/2008/aug-21-2008/canola-possible-forge-crop-for-livestock/view. Erişim tarihi: 17.05.2018.
11. Sánchez DJI, Serrato CJS, Reta SDG, Ochoa ME, Reyes GA. (2014). Assessment of Ensilability and Chemical Composition of Canola and Alfalfa Forages with or without Microbial Inoculation. Indian J Agric Res. 48 (6): 421-428.
12. Canolat Ö. (2013). Farklı Olgunlaşma Dönemlerinin Kolza Otunun (*Brassica Napus* L.) Potansiyel Besleme Değeri Üzerine Etkisi. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 60: 145-150.
13. Neely C, Brown J, Hunt C, Davis J. (2018). Increasing the Value of Winter Canola Crops by Developing Ensiling Systems (Canolage) to Produce Cattle Feed. Paper Presented at The Proc. Alfalfa and Forage Conference, Moscow, (2009). <http://www.extension.uidaho.edu/forage/Proceedings/2009%20proceedings/Canola%20Silage.pdf>, Erişim tarihi: 06.07.2018.
14. Kılıç Ü. (2009). Ruminantların Beslenmesinde Kanola Bitkisinin Kaba Yem Kaynağı Olarak Kullanılması. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi, 49(2): 125-135.
15. Lardy G, Anderson V. (2018). Alternative Feeds for Ruminants. <https://library.ndsu.edu/ir/bitstream/handle/10365/5344/as1182.pdf?sequence=1>. Erişim tarihi: 06.07.2018.
16. Vitti P. (2018). Canola Can Be A Feeding Option. <https://www.grainews.ca/2011/03/21/canola-can-be-a-feeding-option/>. Erişim tarihi: 06.07.2018.
17. Don Llewellyn. Biennial Winter Canola Grown Under Irrigation for Seed and Silage. http://www.directseed.org/files/5314/2480/0774/OS_Breakout12_-_forage_Grazing_Feed_Llewellyn.pdf. Erişim tarihi: 06.07.2018.

18. Balakhial A, Naserian AA, Moussavi AH, Shahrodi FE, Zadeh RV. (2008). Changes in Chemical Composition and in Vitro DM Digestibility of Urea and Molasses Treated Whole Crop Canola Silage. *J of Anim. Vet Advances*. 7 (9): 1042-1044.
19. Heendeniya RG. (2008). Utilization of Canola Seed Fractions in Ruminant Feeds. Master Thesis, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada.
20. Barekatin R, Swick MRA, Koning TCT. (2017). Interactions of Full-Fat Canola Seed, Oat Hulls as an Insoluble Fiber Source and Pellet Temperature for Nutrient Utilization and Growth Performance of Broiler Chickens. *Poultry Science*. 96(7): 2233–2242.
21. Sharma HR, White B, Ingalls JR. (1986). Utilization of Whole Rape (Canola) Seed and Sunflower Seeds as Sources of Energy and Protein in Calf Starter Diets. *Animal Feed Science and Technology*. 15 (2): 101-112.
22. Leupp JL, Lardy GP, Soto-Navarro SA, Bauer ML, Caton JS. (2006). Effects of Canola Seed Supplementation on Intake, Digestion, Duodenal Protein Supply, and Microbial Efficiency in Steers Fed Forage-Based Diets. *J Anim Sci*. 84: 499–507.
23. Agriculture Using Whole Canola Seed in Livestock Diets. <https://www.gov.mb.ca/agriculture/livestock/production/beef/print,using-whole-canola-seed-in-livestock-diets.html>. Erişim tarihi: 17.05.2018.
24. Huard S, Petit HV, Seoane JR, Rioux R. (1998). Effects of Mechanical Treatment of Whole Canola Seeds on Performance, Diet Digestibility and Rumen Parameters of Lambs Fed Grass Silage. *Can. J Anim Sci*. 78: 657–664.
25. Amarowicz R, Naczki M, Shahidi F. (2000). Antioxidant Activity of Crude Tannins of Canola and Rapeseed Hulls. *JAOCS*. 77: 957.
26. Slominski BA, J Wei, Rogiewicz A, Nyachoti CM, Hickling D. (2012). Low-Fiber Canola. Part 1. Chemical and Nutritive Composition of the Meal. *J Agric Food Chem*. 60(50): 12225–12230.
27. McKinnon JI, Mustafa AF, Cohen RDH. (1995). Nutritional Evaluation and Processing of Canola Hulls for Ruminants. *Can J Anim Sci*. 75: 231-237.
28. Kalscheur KF. (2018). Canola Meal versus Soybean Meal in Dairy Cow Diets. <https://scholarsphere.psu.edu/downloads/37p88cg63c>, Erişim tarihi: 06.07.2018.
29. Yun HM, Lei XJ, Lee SI, Kim IH. (2018). Rapeseed Meal and Canola Meal Can Partially Replace Soybean Meal as a Protein Source in Finishing Pigs. *Journal of Applied Animal Research*. 46 (1): 195-199.
30. Canola Meal Feeding Guide. https://www.canolacouncil.org/media/516716/2015_canola_meal_feed_industry_guide.pdf. Erişim tarihi: 06.07.2018.
31. Mustafa, AF, Christensen DA, McKinnon JJ. (1997). The Effects of Feeding High Fiber Canola Meal on Total Tract Digestibility and Milk Production. *Can J Anim Sci*. 77: 133–140.
32. Swanepoel N, Robinson P, Erasmus LJ. (2014). Determining the Optimal Ratio of Canola Meal and High Protein Dried Distillers Grain Protein in Diets of High Producing Holstein Dairy Cows. *Animal Feed Science and Technology*. 189:41-53.
33. Vidanaralalage H, Guptha R. (2008). Utilization of Canola Seed Fractions in Ruminant Feeds. Masters. University of Saskatchewan. Canada.
34. Broderick GA, Faciola AP, Armentano LE. (2015). Replacing Dietary Soybean Meal with Canola Meal Improves Production and Efficiency of Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 98 (8): 5672-5687.
35. Martineau R, Ouellet D, Lapiere H. (2014). The Effect of Feeding Canola Meal on Concentrations of Plasma Amino Acids. *J Dairy Science*. 97(3): 1603-1610.
36. Mulrooney C, Schingoethe D, Kalscheur K, Hippen A. (2009). Canola Meal Replacing Distillers Grains with Solubles for Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 92 (11): 5669-5676.
37. Hinman DD, Sorensen SJ, Momont PA, Spiece L. (1999). Canola meal compared with Urea in a Barley and Potato Processing Residue Finishing Diet for Feedlot Steers. *Prof Anim Sci*. 15: 191-195.
38. Penner G. (2017). Use of Canola Meal as a Protein Source in Pelleted Starter Mixtures for Dairy Calves. Final Report, ADF20120121,WGRFCU1304 SaskCanola C6127.
39. Sekali M, Marume U, Mlambo V, Strydom PE. (2016). Growth Performance, Hematology, and Meat Quality Characteristics of Mutton Merino Lambs Fed Canola-Based Diets. *Tropical Animal Health and Production*. 48 (6): 1115–1121.
40. Mandiki SNM, Bister JL, Derycke G, Wathélet JP, Mabon N, Marlier M, Paquay R. (1999). Optimal Level of Rapeseed Meal in Diets of Lambs. *Proceedings 10th International Rapeseed Congress, Canberra, Australia*.
41. Goonewardene LA, Day PA, Patrick N, Scheer HD. (1998). Patrick D, Suleiman A. A Preliminary Evaluation of Growth and Carcass Traits in Alpine and Boer Goat Crosses. *Can J Anim Sci*. 78: 229-232.
42. Tan SH, Mailer RJ, Blanchard CL, Agboola SO. (2011). Canola Proteins for Human Consumption: Extraction, Profile, and Functional Properties. *J Food Sci*. 76 (1): R16–R28.
43. Gorski M, Foran C, Utterback P, Parsons CM. (2017). Nutritional Evaluation of Conventional and Increased-Protein, Reduced-Fiber Canola Meal Fed to Broiler Chickens. *Poultry Science*. 96: 2159–2167.
44. Beran M, Drahorad J, Vltavsky O, Urban M, Laknerova I, Froněk M, Sova J, Ondracek J, Ondrackova L, Kralova M, Formankova S. (2018). Pilot-Scale Production and Application of Microparticulated Plant Proteins. *J Nutr Food Sci*. 8 (1): 655-662.
45. Campbell L, Curtis B, R Janitha, Wanasundara PD. (2016). Canola/Rapeseed Protein: Future Opportunities and Directions-Workshop Proceedings of IRC 2015. *Plants*. 5: 17.
46. Chang PG, Gupta R, Timilsena YP, Adhikari B. (2016). Optimization of the Complex Coacervation Between Canola Protein Isolate and Chitosan. *Journal of Food Engineering*. 191: 58-66.
47. Fleddermann M, Fechner A, Rößler A, Bähr A, Pastor A, Liebert F, Jahreis G. (2013). Nutritional Evaluation of Rapeseed Protein Compared to Soy Protein for Quality, Plasma Amino Acids, and Nitrogen Balance-A Randomized Cross-Over Intervention Study In Humans. *Clinical Nutrition*. 32: 519-526.

***Prof. Dr. Hüseyin NURSOY**

Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Bingöl, Türkiye
e-posta: nursoymalatya@hotmail.com



Type I Monteggia fracture in a kitten; a review on diagnostic and therapeutic methods

Uğur AYDIN¹, Sadık YAYLA^{1*}, Engin KILIÇ¹

¹Universty of Kafkas, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Kars, Turkey

Geliş Tarihi/Received
13.09.2018

Kabul Tarihi/Accepted
30.10.2018

Yayın Tarihi/Published
31.12.2018

Abstract

In this paper, it was aimed to report the type I Monteggia fracture in a kitten and its treatment results. In clinical examination of a 4-month-old female kitten brought to our clinic with complaints of lameness in the front left leg after automobile trauma it was diagnosed with a fracture in 1/3 proximal diaphyseal of ulna with cranial dislocation of the radial head. Following general anesthesia, ulnar fracture was fixed with intramedullary nail that was sent as anterograde from the processus olecrani, and the reduction of the radius head was easily placed. Then, it was repaired suturing with polypropylene of the ligamentum radii annulare. It was understood that the kitten could use the extremity smoothly and functionally in postoperative 2 months. Consequently, the internal fixation with intramedullary nail was sufficient, and therefore it was thought to be a successful method for type I Monteggia fracture in kittens or cats.

Key Words: Type I Monteggia fracture, Radius, Ulna, Intramedullary nail, Kitten.

Bir yavru kedide Tip I Monteggia kırığı; tanı ve tedavi yöntemleri

Öz

Bu olgu sunumunda yavru bir kedide karşılaşılan tip I Monteggia kırığı ve tedavi sonuçlarının bildirilmesi amaçlandı. Trafik kazasından sonra ön sol ekstremitesinde topallık şikayeti ile kliniğimize getirilen 4 aylık dişi bir kedi yavrusunun klinik muayenesinde radial başın kraniale dislokasyonu ile ulnanın 1/3 proksimalinde diafiz kırık belirlendi. Genel anestezi altında ulnar kırık processus olecraniden anteroograd olarak gönderilen intramedüller çivi ile fikse edildi ve radiusun redüksiyonu kolay bir şekilde gerçekleştirildi. Daha sonra ligamentum radii annulare polypropylene ile dikilerek onarıldı. Postoperatif 2. ay kontrollerinde kedinin ekstremitesini düzgün ve fonksiyonel bir şekilde kullanabildiği görüldü. Sonuç olarak kedi veya yavrularında Monteggia tip I kırıklarında intramedüller çivi ile sağlanan internal fiksasyonun yeterli olduğu ve bu yüzden başarılı bir yöntem olduğu düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Tip I Monteggia kırığı, Radius, Ulna, İntramedüller çivi, Yavru kedi

INTRODUCTION

Joint injuries, ligament lesions, joint dislocations, close-to-joint fractures and intraarticular fractures or fractures are among the traumatic lesions of radius ulna and elbow joint area (1,2). Lesions of elbow joints in cats and dogs are rare, but proximal diaphyseal fractures of ulna together with dislocation of caput radii can occur. This fracture-dislocated condition is specifically called as "Monteggia lesion" or "Monteggia fracture", and is categorized into 4 different types (3-7). Type-I is seen more often than other types, although Monteggia fracture is rarely seen in veterinary practice (3).

In this case report, it was aimed to report a type I Monteggia fracture in 1/3 proximal diaphyseal of ulna with cranial dislocation of the radial head in a kitten and its treatment results.

CASE HISTORY

A 4 month old female kitten was suffering from lameness in the front left leg after automobile trauma. Clinical and

Monteggia fracture with cranial dislocation of the radial head and 1/3 proximal diaphyseal ulnar fracture (Figure 1). On physical examination, there was painful moderate swelling around the left elbow with non-weight bearing lameness of the affected forelimb. In addition it was determined that there was absence of any signs of cardiovascular or respiratory distress based on clinical examination.

After clinical and radiological evaluations, case was defined as a closed type I Monteggia fracture and operation decision was taken.

Sefazolin sodium (20 mg/kg, iv, Cefazin®, Bilim İlaç, İstanbul Turkey), and methylprednisolone (0,5mg/kg, iv, Depo-Medrol®, İstanbul/Turkey) were administered in patient with trauma as previously defined (3). A 24-G polyurethane catheter (iv cannula, Bıçakçılar, İstanbul/Turkey) was aseptically inserted into the right ramus dorsalis of the vena saphena.

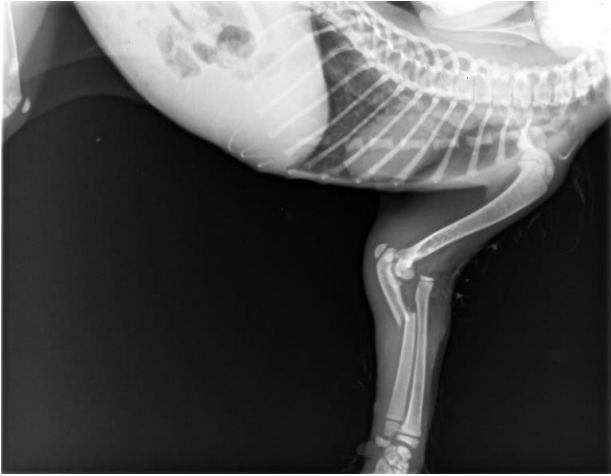


Figure 1. Lateral radiography of the elbow in a kitten: Fracture in 1/3 proximal diaphyseal of ulna and luxation to cranial of the radial head.

The kitten presented as a case was anesthetized with xlazine (0.15 mg/kg, iv, Alfazyme®, Atafen, İzmir, Turkey) and ketamine (15 mg/kg, iv, Ketazol®, Richter Pharma, Wels, Austria) following the shaving and operation preparation of the elbow joint and radius ulna area. The kitten was positioned in lateral recumbency. The operation region was restricted to sterile cover and an electrolyte solution (saline 0.9 percent, Poliflex®, Tekirdag, Turkey) was administered intravenously at 10 ml/kg/hour for operation duration. Then the ulnar fracture line was revealed by opening the skin and subcutaneous facial tissues. Ulnar fracture was fixed with intramedullary nail sent from the processus olecrani. After fixation, the reduction of the radial head was easily completed (Figure 2). The ligamentum radii annulare was repaired by suturing with 4/0 polypropylene. After repairing the ruptured ligament, joint reduction was achieved easily. But no surgical intervention was made in the joint capsule. The operation line was appropriately closed with separated suture techniques using 0 number silk thread. Bandage not was applied to the relevant extremity.



Figure 2: Postoperative lateral radiography: Type I Monteggia fracture with 1.2 mm intramedullary nail in ulna.

In the postoperative period, antibiotic therapy was continued for five days and ketoprofen (2 mg/kg, sc, Keto-

pet®, Teknovet, İstanbul, Turkey) as an analgesic was given for five days.

Based on follow-ups with the patient's owner via telephone, it was found that the kitten's condition was good during the postoperative 2 months. It was learned that the kitten could use the extremity smoothly and functionally.

DISCUSSION AND CONCLUSION

The luxation of caput radii and fracture of ulna named as "Monteggia fracture" is not a common lesion. In 1814, Monteggia fracture was first described by Giovanni Battista Monteggia. Then Bado classified Monteggia fracture into four types in 1967 (3-5) as follows.

Type I: Cranial radial head dislocation and ulnar diaphysis fracture with cranial angulation.

Type II: Caudal radial head dislocation and ulnar diaphysis fracture with cranial angulation

Type III: Lateral or craniolateral radial head dislocation and ulnar diaphysis fracture

Type IV: Cranial radial head dislocation associated with ulnar and radial diaphysis fracture.

Our case was defined as type I Monteggia fracture according to this classification. Because the fracture in 1/3 ulnar diaphysis with cranial angulation and cranial radial head dislocation is clearly visible on the radiography.

Monteggia fracture is not a common problem in veterinary surgery (5,6), but type I is more common than other types (3). Close reduction or external fixation is not recommended in the case of ulnar fracture and reduction of radial head (5,7). For open reduction and immobilization, it has been reported that one of the plate, screw or nail applications should be preferred (5-9). Reduction of the radial head can be maintained by repairing of lig. annulare radii using screws, nails or cerclage wires (7,8). In our case, ulnar fracture was fixed with intramedullary nail sent as anterograde from the processus olecrani. Although screw, plate and nail applications are recommended in adult cats and dogs, we preferred intramedullary nail application because the presented case was a kitten. Bone tissue trauma is involved during plate and screw application, which is considered inconvenient for a bone in the growth period. On the other hand, intramedullary nail application in young animals causes less tissue trauma and it provides convenience in terms of practical application.

Saglam and Bilgili (1997) (6) performed fixation with Kirschner wire in type II Monteggia fracture and then stabilized it by stapling with polypropylene for repairing of the ligamentum radii annulare in a cat. In this case, the ligamentum radii annulare was repaired by suturing with 4/0 polypropylene. It was understood that this technique was sufficient based on the postoperative follow-ups.

Bandage application is recommended for large bodied animals in the postoperative period (6,7,8). But we did not apply any bandages because the case was very young.

In our cases in the 60th day of the post-operation a complete functional healing was observed and complications such as nonunion, malunion, elbow joint lesion, redislocation, ankylosis and infection were not observed.

Consequently, intramedullary nail sent as anterograde from the processus olecrani for fixation of the ulnar fracture is sufficient. Additionally, prosthetic material instead of ligamentum radii annulare must be used, or the ligament must be repaired to avoid dislocation of radial head. It was enough to suture with polypropylene in kitten.

REFERENCES

1. Sardinas JC, Montavon PM, (1997). Use of medial bone plate for repair of radius and ulna fractures in dogs and cats: A report of 22 cases. *Vet Surg.* 26: 108-113.
2. Scott H, (2005). Repair of long bone fractures in cats. *In Pract.* 27: 390-397.
3. Irubetagoiena I, Lopez T, Autefage A, (2011). Type IV Monteggia fracture in a cat. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 24: 483-486.
4. Bado JL, (1967). The Monteggia lesion. *Clin Orthop Relat Res.* 50: 71-86.
5. Saglam M, Bilgili H, Kürüm B, Candaş A, (2000). Treatment of ulnar fracture with dislocation of caput radii (Monteggia lesion) in 2 dogs and 3 cats. *Ankara Univ Vet Fak Derg.* 47: 73-80.
6. Saglam M, Bilgili H, (1997). Type II Monteggia lesion and operative treatment in a cat. *Ankara Univ Vet Fak Derg.* 44: 1-4.
7. Schwarz PD, Schradcr SC, (1984). Ulnar fracture and dislocation of the proximal radial epiphysis (Monteggia lesion) in the dog and cat: a review of 28 cases. *JAVMA.* 185: 190-194.
8. Leclerc A, Greunz EM, Lagrave AD, (2014). Surgical treatment of a type III Monteggia fracture in a ring-tailed lemur (*Lemur catta*). *Revue Med Vet.* 165 (11-12): 313-317.
9. Singh A, Moens NM, Nykamp S, Bruce CW, (2007). What is your diagnosis? Type 1 Monteggia fracture. *JAVMA.* 231: 1345-1346.

Corresponding author:

*Assoc. Dr. Sadık YAYLA

University of Kafkas, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery Kars, Turkey.

e mail: sadikyayla@gmail.com

Tel : 0474 242 68 36

Bir İvesi Koyununda Baş Bölgesinde Deri Boynuzu (Cornu Cutaneum) Olgusu

Alper BAŞA*¹, İbrahim CANPOLAT¹, Aydın ÇEVİK²

¹Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

²Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

Geliş Tarihi/Received
14.10.2018

Kabul Tarihi/Accepted
10.12 .2018

Yayın Tarihi/Published
31.12 .2018

Öz

Deri boynuzu (cornu cutaneum) keratinize bir materyalin deride boynuz şeklinde bir çıkıntı oluşturmasıyla karakterize nispeten nadir görülen iyi huylu, premalignant veya malignant bir lezyondur. İnsanlarda gözlenen bu rahatsızlık evcil ve vahşi hayvanlarda da rapor edilmiştir. Olgu sunumunu, sağlık taraması amacıyla gidilen küçükbaş hayvan işletmesindeki yaklaşık 2 yaşında 1 adet ivesi ırkı dişi koyun oluşturdu. Fiziki muayenede frontal bölgede solid, sirkumskript ve dorsale doğru konikleşmiş, hafif sağa deviasyon gösteren kitle tespit edildi. Ayrıca sağ burun kaidesi dorso-lateralinde aynı özellikte ancak kanca gibi kıvrılmış kitle tespit edildi. Histopatolojik incelemede hiperkeratotik izole lezyonlar görüldü. Gerek kitlenin karakteri, gerekse de histopatolojik sonuçlar kornu kutaneum tanısına ulaşmamızı sağladı. Sonuç olarak özellikle insan hekimliğinde gözlenen bu vaka nadiren veteriner hekimlikte de karşımıza çıkmaktadır.

Key Words: Koyun, Burun, Kornu.

A Case of Skin Horn (Cornu Cutaneum) in the Head of an Ivesi Sheep

Abstract

Skin horn (cornu cutaneum) is a relatively benign, premalignant or malignant lesion characterized by a material forming a horn-shaped bulge on the skin. The case presentation consisted of an average of 2 years old-ivesi sheep in the livestock management that was visited for health screening. Physical examination revealed a tapered, right-sided deviation in the frontal region. In addition, a curved mass like the hook was detected on the dorso-lateral of the right nasal base. In histopathological examination, hyperkeratotic lesions were seen isolated. Both the character of the mass and the histopathological results have allowed us to reach the diagnosis of cornu cutaneum. As a result, this case, especially observed in human medicine, is rarely encountered in veterinary medicine.

Anahtar Kelimeler: Sheep, Nasal, Cornu

GİRİŞ

Deri boynuzu (cornu cutaneum) keratinize bir materyalin deride boynuz şeklinde bir çıkıntı oluşturmasıyla karakterize nispeten nadir görülen iyi huylu, premalignant veya malignant bir lezyondur (1,2,3). İlk defa 1588 yılında Londrada yaşayan yaşlı bir kadında gözlenmiş ancak tam olarak tanımlanması 1670 yılında Thomas Bartolin tarafından olmuştur (1,4,5). Bu lezyonların büyüklüğü birkaç milimetre ile birkaç santimetre arasında değişir. Deri boynuzu (cornu cutaneum) olguları insanlarda ve diğer hayvan türlerinde nadiren görülmektedir. Evcil hayvanlarda ve vahşi hayvanlarda da bu rahatsızlık rapor edilmiştir (1).

OLGU SUNUMU

Olgu materyalini sağlık taraması amacıyla gidilen koyun ağılındaki 2 yaşında ivesi ırkı dişi koyun oluşturdu. Alınan anamnezde hayvanın doğduktan sonra ortalama 3 aylık yaşta bu kitlenin ortaya çıktığı ve hayvanın yaşı büyüdükçe uzayarak büyüdüğü ve sonunda bu hale geldiği bilgisi alındı. Fiziki muayenede frontal bölgenin inferioründen başlayarak regio dorsalis nasi boyunca seyir gösteren ve apex nasi bölgesine kadar uzanan burun kemiğinden bağımsız, deri

kökenli olduğu tahmin edilen 4.5 cm boyunda ve 4 cm eninde keratinize, solid, sirkumskript ve dorsale doğru konikleşmiş, hafif sağa deviasyon gösteren kitle tespit edildi (Fotoğraf 1, Fotoğraf 2).



Fotoğraf 1. Burun kaidesindeki solid kitle



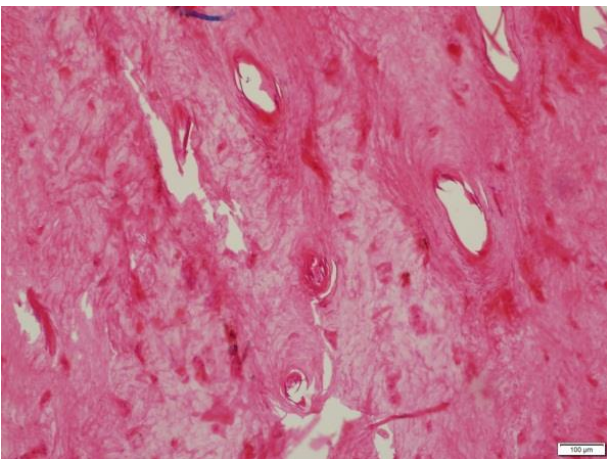
Fotoğraf 2. Sağ burun kaidesi dorso-lateralindeki kitle

Ayrıca sağ burun kaidesi dorso-lateralinde aynı özellikte ancak kanca gibi kıvrılmış kitle tespit edildi (Fotoğraf 3).



Fotoğraf 3. Kitleden alınan numuneler

Kitleden histopatolojik incelenme amacıyla örnek alınarak Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarına numune kabı içerisinde gönderildi (Fotoğraf 4).



Fotoğraf 4: Kutanöz boynuz histopatolojisi (Epidermal hiperplazi)

Biyopsi materyali olarak alınan doku örnekleri %10'luk formalin çözeltisinde tespit edildi. Bilinen rutin işlemlerden geçirildikten sonra parafin bloklar hazırlandı. Beş mikron kalınlığında hazırlanan doku kesitleri hematoksilin-eozin boyandıktan sonra ışık mikroskopunda incelendi. Mikroskopik incelemede hiperkeratotik izole lezyonlar görüldü. Lezyonların tabanında atipi olmaksızın epidermal hiperplazi gözlemlendi. Kitlenin hayvanın normal yaşamını tehdit etmediği gözlemlendi. Ancak yine de operatif olarak alınabileceği hayvan sahibine söylendi. Hayvanın hamile olması bu sebeple olası risklerden dolayı ve ekonomik nedenlerden ötürü hayvan sahibi operasyonu reddetti.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kornu kutaneumlar klinik olarak boyutları değişkenlik gösteren, yoğun keratin içeren, konik ve sirkumskript lezyonlar olup, çoğunlukla sarı ya da beyaz renkte gözlenirler. Histopatolojide ise yoğun hiperkeratozis gözlenir (1,7,8). Olgunun klinik gözleminde elde edilen veriler gerekse histopatoloji bu bilgileri destekler niteliktedir. Kornu kutaneum olguları çoğunlukla insanlarda vaka raporu olarak sunulmuştur. Hayvanlarda ise 2009 yılında bir adet koçta regio lumbaliste ve 2013 yılında Alp dağ keçisinde ise sağ omuz ile boyun kaidesi arasında gözlemlendiği rapor edilmiştir (1,5). Bu durum giriş kısmında bahsettiğimiz üzere evcil ve yabancı hayatta bu hastalığın gözlemlenebileceğini doğrulamaktadır. Lezyonlar genellikle benign, premalign yada malign karakterdedir (7,8). Çoğunlukla benign karakterli lezyonlar ağır basmaktadır (9,10). Yapılan bir çalışmada operatif olarak uzaklaştırılan kitlenin post-operatif takibinde herhangi bir olumsuzluğa rastlanılmamıştır (10). Operatif olarak uzaklaştırmadığımız kitlenin 1 hafta aralıklarla 3 kez takibi yapılmış ve herhangi bir şekilde büyüme ya da yayılma gözlenmemiştir. Sonuç olarak özellikle insan hekimliğinde gözlenen bu vaka nadiren veteriner hekimlikte de karşımıza çıkmaktadır. Klinik tanıya ilaveten mutlaka histopatolojik inceleme yapılması gereklidir. Malign karakter taşımadığı ve hayati organları tehlikeye atmadığı sürece sadece estetik açıdan bir kusur oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Lorenzetti C, Corlatti, L. (2013). A case of exceptionally sized cutaneous horn in Alpine chamois. *J Mt Sci.* 9(1): 75-82.
2. Gupta R, Lavania P, Bansal VK, Agarwal N, Singh A. (2016). Cutaneous horn developing over a verrucous carcinoma: a rare entity with an unusual presentation. *Int Surg J.* 3(2): 988-990.
3. Souza LN, Martins CR, Paula AM. (2003). Cutaneous horn occurring on the lip of a child. *Int J Paediatr Dent.* 13:365-7.
4. Al-Ani FK, Khamas WA, Al-Qudah KM, Al-Rawashdeh O. (1998). Occurrence of congenital anomalies in Shami breed goats: 211 cases investigated in 19 herds. *Small Rum. Res.* 28 (1): 225 – 232 .
5. Rani RU, Puvarajan B, Balachandran C, Muruganandam B. (2009). Cornu cutaneum in a ram. *Indian Vet J.* 86(6): 619-620.
6. Thappa DM, Garg BR, Thadeus J, Ratnakar C. (1997). Cutaneous horn: a brief review and report of a case. *The J dermatol.* 24(1): 34-37.

7. Sood A, Sharma S, Khanna N. (2002). Cutaneous horn and thermal keratosis in erythema. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 68:237-238.
8. Schosser RH, Hodge SJ, Gaba CR, Owen LG.(1979). Cutaneous horns: a histopathologic study. South Med J. 72 :1129-1131.
9. Baruchin A, Sagi A, Lupo L, Hauben DJ. (1984). Cutaneous horn (cornu cutaneum). Int J Tissue React. 6: 355-357.
10. Michal M, Bisceglia M, Di Mattia A, Requena L, Fanburg-Smith JC, Mukensnabl P, Hes O, Cada F.(2002). Gigantic cutaneous horns of the scalp: lesions with a gross similarity to the horns of animals: a report of four cases. Am J Surg Pathol . 26: 789-794.

Yazışma Adresi:

*Alper BAŞA, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Cerrahi Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye
alper_basa32@hotmail.com