

ISSN:1300-7866



**Y. Y. Ü.  
SAĞLIK BİLİMLERİ  
DERGİSİ**

**JOURNAL OF  
HEALTH SCIENCES OF  
YÜZÜNCÜ YIL UNIVERSITY**

**VOLUME  
CİLT 3**

**NUMBER  
SAYI 1 YEAR  
YIL 1997**

ISSN:1300-7866

Y. Y. Ü.  
SAĞLIK BİLİMLERİ  
DERGİSİ

JOURNAL OF  
HEALTH SCIENCES OF  
YÜZÜNCÜ YIL UNIVERSITY

VOLUME  
CİLT

3

NUMBER  
SAYI

1

YEAR  
YIL

1997

**Y. Y. Ü.  
SAĞLIK BİLİMLERİ  
DERGİSİ**

**JOURNAL OF  
HEALTH SCIENCES OF  
YÜZÜNCÜ YIL UNIVERSITY**

Cilt :3 Sayı :1 1997  
Volume :3 Number :1 1997

Yılda 2 kez, altı ayda bir yayımlanır

*Sahibi / Owner :*

Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Adına  
On Behalf of Yüzüncü Yıl University  
Institute of Health Sciences

Doç. Dr. Banur BOYNUKARA  
Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Müdürü 65080 - VAN

*Editor / Editor-in-Chief :*

Doç. Dr. Orhan YILMAZ  
Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim  
Dalı  
65080 - VAN

*Dizgi/ Composition:*  
Abdurrahman AKSOY

*Kapak düzeni/Cover:*  
Mustafa BERKTAŞ

*Baskı / Printing by :*  
Y.Y.Ü. Matbaası

*Baskım Tarihi / Printing Date :*  
Haziran 1997

**İÇİNDEKİLER ( Contents)**

<b>EDİTÖRDEN.....</b>	3
<b>YAZARLARA BİLGİ.....</b>	4

**ARAŞTIRMALAR (Research Reports)**

<b>Zeranol İmplant Edilen Erkek Kuzuların İç Salgı Bezleri İle Genital Organlarındaki Patolojik Bulgular</b> Pathological Findings in the Endocrine Glands and Genital Organs of the Male Lambs Implanted with Zeranol. Y.GÜLBAHAR, C. KÖKÜSLÜ.....	7
---	---

<b>Vakumla Paketlenmiş Sosis ve Salamların Mikrobiyolojik Kalitelerinin İncelenmesi</b> Investigation of Microbiological Qualities of Vacuum-packed in Salami and Sausages S.AĞAOĞLU.....	21
---	----

<b>Farklı Sabunlaştırma Yöntemleri Kullanarak Kan Serumunda ve Sütte Karotin ve Vitamin A Tayini Üzerinde Çalışmalar</b> Studies on Vitamin A and Carotene Levels in Blood Serum and Milk by Using Different Saponification Methods N.ATASOY, H.ÇAMAŞ.....	26
--	----

<b>Van ve Yöresinde Sağlıklı ve Kısır Morkaraman Irkı Koyunlarda Kan Serumunda Cinsiyet Hormonlarının (FSH, Östradiol-17 β, Progesteron ) RIA ile Tesbiti ve Kısırlık İle İlişkilerinin Araştırılması</b> Determination of Sexual Hormones (FSH, Oestradiol-17 β, Progesterone) by RIA in the Plasma of Healthy and Sterile Morkaraman Sheep in and Around Van and Their Relationship with Sterility. N.ATASOY, H. ÇAMAŞ.....	30
---	----

<b>Kaşar Peynirlerinde Aflatoksin B1 Kalıntılarının Araştırılması</b> Die Untersuchungen von Aflatoksin B1 in der geblichen Kases. A.DOĞAN.....	39
---	----

<b>Yemlere Katılan Sıvı ve Katı Yağların Etlik Piliçlerde Besi Performansı ile Vücut Yağının Miktarı ve Kesim Sonrası Saklama Koşullarına Etkisi</b> Effect of oil and fat supplemented into feeds on broiler performance and amount and shelf life of body fat M.YAVUZ, M. EREN, M.TAYAR, S. KARDEŞ.....	43
---	----

<b>5-Etoksi-2-[2-(Morfolino)-Etiltio]-Benzimidazol' un Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması</b> An Investigation of Antioxydant Properties of 5-Ethoxy-2-[2-(Morpholino)-Ethilthio]-Benzimidazole H.S. RAHİMOV, M. KARA, A. RAHİMOVA.....	49
---	----

<b>Karbondetraklorür ile Deneysel Siroz Oluşturulan Tavşanlarda Sialik Asit, Lipid-Bağlı Sialik Asit, Total Protein ve Bazı Spesifik Karaciğer Enzimlerinin Aktivitelerinin Araştırılması</b> Investigation of SA, LSA, Total Protein and Some Specific Liver Enzymes Activation in Experimentally Cirrhosis Produced Rabbit by Using CCl <sub>4</sub> . ERTEKİN, A. BİLDİK.....	52
--	----

**Y. Y. Ü.  
SAĞLIK BİLİMLERİ  
DERGİSİ**

**JOURNAL OF  
HEALTH SCIENCES OF  
YÜZÜNCÜ YIL UNIVERSITY**

*Yazı İnceleme Kurulu/Editorial Board*

Prof. Dr. Ömer AKAY  
Prof. Dr. Duran BOLAT  
Prof. Dr. Akgün EVİNÇ  
Prof. Dr. Özer ERGÜN  
Prof. Dr. Sezai KAYA

*Yayın Kurulu / Publication Board*

Doç. Dr. Ali BELGE  
Doç. Dr. Banur BOYNUKARA  
Doç. Dr. Orhan YILMAZ  
Yrd. Doç. Dr. Abdurrahman AKSOY  
Yrd. Doç. Dr. Muammer KARAAYVAZ  
Yrd. Doç. Dr. Mecit YÖRÜK

*Yazışma Adresi/Correspondence  
Address*

Doç. Dr. Orhan YILMAZ  
Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim  
Dalı

65080 - VAN

Tel : 0 - 432 - 2251083/1588

Fax : 0 - 432 - 2251268

Copyright ©1995

Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Her Hakkı Mahfuzdur.

Institute of Health Sciences  
University of Yüzüncü Yıl  
All Rights Reserved

**İÇİNDEKİLER (Devam)**

**Van Merkez ve Çevresindeki Sularda Bazı Ağır Metal Düzeylerinin Araştırılması**  
An Investigation of Some Metal Levels in Van and It's Surroundings in Waters  
S. EKİN, A. BİLDİK..... 58

**Van'da Tüketime Sunulan Çiğ Köftelerin Hijyenik Kaliteleri Üzerine Bir Araştırma**  
A Study on Hygienic Quality of Raw Meat Balls Consumed in Van  
E. SAĞUN, Y.C. SANCAK, H. DURMAZ, L. AKKAYA..... 64

**Van'da Tüketime Sunulan Yerli Ve İran Ballarının Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Niteliklerinin İncelenmesi**  
Studies On The Physical, Chemical and Organoleptical Properties of Local and Iran Honeys Consumed in Van  
M. AKYÜZ, E. SAĞUN..... 68

**DERLEMELER (Reviews)**

**Farmakoloji ve Toksikolojide Bilgisayar Kullanılması**  
The Use of Computers in the Pharmacology and Toxicology  
H. ÖZBEK..... 78

**Stafilokokkal Toksin ve Enzimler**  
Toxins and Enzymes of Staphylococci  
T. GÜLHAN, B. BOYNUKARA..... 82

**GÜNCEL BİLGİLER**

**Veteriner Hekimliği Alanında Yayınlanan Makalelerde Kullanılan İstatistik Metodları**  
A.AKSOY..... 91

---

## **EDİTÖRDEN**

---

Kısıtlı imkanlarla çıkarılmaya çalışılan Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi'nin sürekliliğinin sağlanması ve kalitesinin yükseltilmesi için gönderilen makalelerin 4. ve 5. sayfalarda yer alan yayın kurallarına kesinlikle uyulması konusunda meslektaşlarımızın büyük duyarlılık göstereceği inancımızı yinelemek istiyoruz.

Saygılarımızla

Yayın Kurulu Adına  
Doç. Dr. Orhan YILMAZ  
Editör

## YAZARLARA BİLGİ

1. Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi, Yüzüncü Yıl üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün yayın organı olup ilgili alanlardaki orjinal araştırmalar, olgu bildirimleri, derlemeler, tez özetleri, bilim haberleri ile bilimsel kitap ve dergilerin tanıtma yazılarını yayınlar.
2. Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi Ocak ve Temmuz aylarında olmak üzere 6 ayda bir yayınlanır. İki sayıda bir cilt tamamlanır.
3. Dergide daha önce başka bir yerde yayımlanmamış ve dergi “ yazı inceleme ve yayın kurulu” nca oluşturulacak heyet tarafından uygun görülen yazılar yayımlanır.
4. Yazıların her türlü hukuki ve cezai sorumluluğu yazarlara aittir.
5. Derginin yazı dili Türkçe ve İngilizce olup Türkçe makalelerde İngilizce, İngilizce makalelerde Türkçe özetin bulunması gerekmektedir.
6. Türkçe yazıların Türk Dil Kurumu'nun “Türkçe Sözlüğü ve Yeni Yazım Kılavuzu” na uygun olması gerekir.
7. Makaleler ve derlemelerin tamamı tablo, fotoğraf, şekil dahil 20; olgu bildirimleri 10; editöre mektup bölümüne gönderilen yazılar 3, tez özetleri ise 20 daktilo sayfasını geçmemelidir.
8. Metinler 3 nüsha olarak A-4 formuna (240 X 297 mm) uygun kağıtlara 2 satır aralıklarla “ Times New Roman “ yazı stilinde 12 punto büyüklükte yazılmalı, sayfanın 4 kenarından 2,5 cm boşluk bırakılmalıdır.
9. Yazının bölümleri aşağıdaki sıralamada belirtilen şekilde olmalıdır.

**I- Başlık :** Yazının başlığı metine uygun, kısa ve açık ifadeli olmalıdır. Yazarların ad ve soyadları ünvan yazılmadan başlığın altına konmalı, yazarların soyadları büyük harfle yazılıp üzerlerine konacak rakamlar ile çalıştıkları kuruluş veya adresleri sayfanın altında metinden çizgi ile ayrılarak yazılmalıdır. Yazı bir bilimsel toplantıda tebliğ edilmiş ya da bir kurum tarafından desteklenmiş ise ilk sayfa altında, adreslerin üstünde belirtilmelidir.

**II- Özet :** Türkçe makalelerde önce Türkçe, sonra İngilizce; İngilizce makalelerde ise önce İngilizce, sonra Türkçe olmak üzere 200 kelimeyi geçmeyecek şekilde yazılmalı ve ayrı dilde yazılan özetin başında yine o dilden başlık bulunmalıdır. Her özetin altına o dilde yazılan ve beş kelimeyi geçmeyecek şekilde anahtar kelimeler eklenmelidir.

### III-Giriş

### IV- Materyal ve Metot

### V- Bulgular

### VI- Tartışma ve Sonuç

### VII- Kaynaklar

10. Tablolar alt ve üst çizgiler ve gerektiğinde ara ve sütun çizgileri içermeli, arap rakamları ile numaralanmalı, sıra numarasından sonra nokta kullanılmalı ve tablo başlığı tablo üst çizgisinin üstüne, sol kenardan başlanarak yazılmalıdır. (Tablo 1. Antibiyotiklerin..... gibi.) Tablo içinde mikroorganizma adları cins ismi kısaltılmış olarak yazılmalıdır.
11. Metin içinde kullanılan latince terim adlarının altı italik basılmalarını sağlamak amacı ile çizilmelidir. İlk kullanıldığında tam olarak yazılan mikroorganizma adı, daha sonraki kullanımlarda cins adının ilk harfi kullanılarak kısaltılmalıdır ( Streptococcus pyogenes..... S. pyogenes gibi). Escherichia coli ve Entamoeba coli gibi kısaltmaları aynı olacak adlar aynı yazıda geçtiğinde yazı boyunca kısaltılmadan kullanılmalıdır. Türkçeye yerleşmiş kimyasal maddeler ve terimler (örn: tentürdiyot, stafilokok gibi) Türkçe olarak yazılabilir. Yazıda geçen 10'dan küçük sayılar yazı ile yazılmalı, rakam ile yazılan sayılara takılar kesme işareti ile eklenmelidir (örn: üç, hastaların 15'i gibi). yazılar bir zorunluluk olmadıkça “ mişli geçmiş” edilgen kip ile ( bulunmuştur, gözlenmiştir gibi) yazılmalı, mülkiyet ifade eden kelimeler (yaptım,

gördüm, araştırmamızda) kullanılmamalı, bunların yerine üçüncü şahıs ifade eden kelimeler (yapıldı, görüldü, araştırmada) tercih edilmelidir.

12. Kaynaklar listesinde yer alan kaynakların tamamının metin içinde kullanılmış olması gereklidir. Kaynaklar metin içinde geçiş sırasına göre sıralanmalı ve metin içinde cümle sonuna konacak paranteze numarası yazılmalıdır “ gösterilmiştir (1,5,7) gibi”. Metinde kaynak verilirken yazar adı kullanılıyorsa kaynak numarası yazar adının yanına yazılmalıdır “ Smith ve Gordon’a (2) göre ... gibi”.

Kaynak olarak yazılacak dergi, kitap ve kitap bölümleri aşağıdaki örneklere uygun olarak yazılmalıdır.

**Dergi:** -Davies J, Courvalin P: Mechanism of resistance to aminoglycosides, Amer J Med 62:868(1977).

**Kitap:** - Pelczar MJ, Chan ECS, Krieg NR: Microbiology, p133, 5th Ed, Mc Graw-Hill Co, New York (1986).

**Kitap bölümü :** - Cade AR, Gump WS: The bisphenols. “ G F Reddish (ed): Antiseptics, Disinfectants and Fungicides “, p319, Lea Febiger, Philadelphia (1957).

Kendisi görülmeyen, bir başka yazıda site edilen yazılar kullanılmamaya çalışılmalıdır. Mutlaka kullanmak gerekiyorsa yukarıdaki gibi kaynak verilmeli, tarihten sonra (“X” nolu kaynaktan site edilmiştir.) diye yazılmalı ve “X” numarada kaynağın alındığı yazı veya kitap bulunmalıdır.

Yazı veya kitap bölümlerinde yalnız başlangıç sayfasının numarası verilmelidir. Yerli kitaplarda basımevinin değil, yayımlayan kuruluşun adı ve varsa yayın numarası kullanılmalıdır “ İst Tıp Fak Yayın No. 20, İstanbul (1987) gibi “.

13. Şekil, grafik ve kimyasal formüller çini mürekkebi ile aydınlar kağıdı veya beyaz kuşe kağıda çizilmeli ya da fotokopi olarak hazırlanmalıdır. Fotoğraflar parlak fotoğraf kağıdına siyah-beyaz veya renkli ve net basılmış olmalıdır. Şekil, grafik ve fotoğrafların arkasına yumuşak bir kurşun kalemle yazar adı, makale başlığı ve şekil numarası yazılıp ayrı bir zarf içinde yazıya eklenmelidir. Şekil, fotoğraf altı yazılar Şekil 1..... diye numaralanıp sıralanmalıdır. Şekillerde ölçü önemli ise üzerine cm veya mm’yi gösteren bir ölçek çizgisi konmalıdır.

14. Yazılarla birlikte, IBM uyumlu bilgisayarlarda Microsoft Word 2.0 ya da 6.0 ‘da, Times New Roman 12 punto ve 2 aralıklı yazılmış ve backup’lanmış disketteki kaydının da verilmesi gereklidir.

15. Dergiye gönderilen yazılar yayınlansın veya yayınlanmasın iade edilmez.

16. Dergiye gelen yazılar Yayın Kurulu'nun belirleyeceği diğer üniversitelerden bir Öğretim Üyesine gönderilip incelendikten (gerekirse gerekli düzeltmeler yapıp "Yayınlanabilir" raporu alındıktan) sonra yayınlanır.

17. Dergiye kabul edilip yayınlanacak yazılardan sayfa başına 500.000 TL yayın ücreti alınmaktadır. Ücret Van Vakıflar Bankası 2005747 nolu hesaba yatırılıp banka dekontu yayınla birlikte gönderilmelidir.

18. Yazılar aşağıdaki adrese gönderilmelidir.

19. Bundan sonra dergimizde yayınlanacak her yazı için, yazarın yayın hakkı devrini dergimize verdiğine dair bir belge alınacaktır. Belgenin bir örneği dergimizin altıncı sayfasındadır.

Doç. Dr. Orhan YILMAZ  
Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı  
65080 - VAN

Tel : 0 - 432 - 2251083/1588

Fax : 0 - 432 - 2251268

# Y.Y.Ü. SAĞLIK BİLİMLERİ DERGİSİ

## Editör:

Doç. Dr. Orhan YILMAZ  
Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı  
65080 - VAN

Tel : 0 - 432 - 2251083/1588  
Fax : 0 - 432 - 2251268

## KONTROL LİSTESİ

- İki nüsha yazı konuldu.
- Orijinal resim ve grafiklerden iki kopya konuldu.
- Makale Word for Windows programında yazılı olarak bir adet disket konuldu.
- Makale ücretinin yatırıldığına dair banka dekontu konuldu.
- Yayın hakkının devrine ait yazı tüm yazarlarca imzalandı.

## Yayın Hakkı Devri Sözleşmesi

Biz aşağıda isim ve imzaları bulunan yazarlar, yayınlanmak üzere gönderdiğimiz yazımızın orjinal olduğunu; herhangi bir başka dergiye yayınlanmak üzere verilmediğini; daha önce yayınlanmadığını; gerekli görülen düzeltmelerle birlikte her türlü yayın hakkını, yazının yayınlandığı günden itibaren Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi'ne devrettiğimizi kabul ederiz.

Tarih:

Yazının Adı:

Yazarların Adı:

Yazarların İmzası:



# Zeranol İmlante Edilen Erkek Kuzuların İç Salgı Bezleri İle Genital Organlarındaki Patolojik Bulgular\*

M.Yavuz GÜLBAHAR<sup>1</sup>

Cemalettin KÖKÜUSLU<sup>2</sup>

## Özet

Bu çalışmada zeranol (Ralgro®) implante edilen erkek kuzuların genital organları ile iç salgı bezlerinde meydana gelen değişiklikler değerlendirilmiştir.

Çalışmada 32 adet, 3 aylık ( $\pm 10$  gün) erkek, Akkaraman ırkı kuzu kullanıldı. Deneme grubundaki kuzuların kulak derisi altına sırasıyla 12 (I. grup), 24 mg (II. grup) ve 96 mg (III. grup) zeranol implante edilerek, 33 gün sonra nekropsileri yapıldı.

Adenohipofizde asidofil hücrelerin sayısı ve büyüklük olarak arttığı, bazofil hücrelerin ise sayısı büyüklük olarak azaldığı dikkati çekti. Deneme süresinin sonunda tiroid bezlerinin aktivasyon durumlarının bazı kuzularda azaldığı, bazılarının etkilenmediği veya aktivasyonun arttığı gözlemlendi. Adrenal korteks kalınlığını ise önemli şekilde artırdığı dikkati çekti ( $p < 0.01$ ).

Genital sistemde deneme ve kontrol grupları arasında testiste tubulus çapları ve hücreleri ile Leydig hücrelerinin morfolojileri arasındaki farklılığın önemli olmadığı saptandı.

Zeranolun en belirgin etkisinin eklenti bezleri üzerinde olduğu gözlemlendi. Prostat ve glandula bulbouretralisde hiperplazi ve yassı epitel metaplazisi; ampulla ve glandula vezikülozada ise stromada bağ dokusu artışının daha belirgin olduğu ve bu etkinin zeranol dozundaki artışa paralel olarak belirginleştiği dikkati çekti.

Deneme grubundaki kuzuların hem pelvik hem de penil üretra mukozasında hiperplazi ve epitel hücrelerinde deskuamasyon saptandı. Ayrıca meme başlarında büyüme ile meme başı derisinde çok katlı yassı epitelde hiperplazi ile birlikte, meme bezlerinde alveoler gelişim ve bez lumenlerinde sekresyon artışı gözlemlendi.

Bu bulgular ışığı altında, zeranolun östrojenik etkili bir madde olduğu ve zeranol implantasyonunun Akkaraman erkek kuzuların hem genital hem de endokrin sistemlerini etkilediği ve ileride bu kuzuların damızlık olarak kullanılmalılarının bazı sakıncalara yol açabileceği sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Zeranol, Kuzu, Genital sistem, Endokrin sistem.

## Summary

### **Pathological Findings in the Endocrine Glands and Genital Organs of the Male Lambs Implanted with Zeranol**

This experiment was conducted to examine the changes on the endocrine glands and reproductive organs in zeranol (Ralgro®) implanted male lambs.

Three-months old thirtytwo male Akkaraman lambs were used for this study. The treatment groups were implanted subcutaneously at the ear of the lambs with 12 mg (Group I), 24 mg (Group II) and 96 mg (Group III) zeranol. The non-treatment group was served as control. After 33 days, all the lambs were necropsied.

The acidophil cells showed a significant increase in number and size, however, there was a significant decrease in number and size of basophil cells in the pars distalis of pituitary glands. Thyroid gland activity in treated groups were noticed to increase in the first treatment and to decrease or remain unchanged in the second treatment in generally. In the treatment groups, a significant increase was observed in adrenal cortex width over the controls ( $P < 0.01$ ).

There was no difference in diameter of seminiferous tubules and morphology of seminiferous epithelium or Leydig cells in testes of zeranol-implanted lambs compared with control lambs.

The effects of zeranol implantation were more evident in accessory sex glands. Epithelial changes as hyperplasia and squamous metaplasia were observed frequently in the prostate and bulbouretral glands whereas, in the ampullae and vesicular glands, stromal changes as an increase of connective tissue associated with increasing the zeranol doses in the treatment groups were more obvious. Hyperplasia and epithelial desquamation in the epithelium of urethra were observed in the treatment groups.

In the mammary glands, alveolar development and secretion in collecting ducts or secretory glands' lumens and an increase in the teat lengths and hyperplasia in squamous epithelium of teats was detected.

This results indicate that zeranol has estrogen-like activity and that zeranol implantation would cause some problems in crossbreeding in male lambs, since effecting both genital tract and endocrine glands.

**Key Words:** Zeranol, Lamb, Genital organs, Endocrine glands

\* Bu çalışma, A.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenen doktora tezinden özetlenmiştir. (Proje No: 92-30-00-36)

<sup>1</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, VAN.

<sup>2</sup> Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, ANKARA

## Giriş

İlk kez 1950'li yılların başında yaygın olarak uygulamaya giren büyüme hızlandırıcı maddelerin kullanılması sonucu, insan sağlığı yönünden bazı sakıncaların olabileceği gündeme gelmiştir (1). Özellikle uygulandığı hayvanların doku ve organlarındaki kalıntılarının insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu yönünde bilgiler bulunmaktadır. İtalya (2, 3) ve Porto Riko'da (4-6) 1970'li yılların sonunda incelenen çocuklarda epidemi şeklinde jinekomasti, erken cinsel gelişme ve ovaryum kistleri gözlenmiş ve bu durumdaki çocukların yedikleri hayvansal ürünlerde kökeri bilinmeyen östrojenik maddelere rastlanmıştır. Bu maddeler aynı zamanda, verim artırmak amacıyla uygulandıkları hayvanların bazı organlarında da olumsuz etkiler oluşturmaktadırlar (7-9).

Verim artırıcı olarak kullanılan zeranol, kimyasal olarak farklı yapıda olmasına rağmen, etki şekli ve mekanizması yönünden östrojenlere benzemektedir (10-13). Buna rağmen zeranolun anabolik aktivitesini temelindeki mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Zeranol ve benzeri diğer östrojenik yapıdaki eksojen anabolik ajanların etkilerini, dolaşımdaki endojen hormon konsantrasyonlarını değiştirerek gösterdikleri ileri sürülmektedir (14). Zeranol implante edilen sığır ve koyunların endokrin ve diğer reproduktif organlarında gözlenen patolojik değişikliklerin de zeranolun östrojenik etkisinin sonucu olduğu bildirilmektedir (10,11,15-18).

Son yıllarda ülkemizde de güncel olan zeranol'un, kullanıldığı hayvanların genital organlarında oluşturduğu patolojik bulgulara ilişkin bazı çalışmalar bulunmaktadır (19, 20). Bunun yanında genital organlardaki ve bu organlarla çok yakın ilişkili endokrin bezlerde meydana gelen değişikliklerin birarada değerlendirildiği bir çalışmaya ise rastlanılmamıştır. Çalışmada zeranol implante edilen kuzuların bazı iç salgı bezleri ile genital organlarında oluşturulan patolojik bulguların değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

Çalışmada toplam 32 adet, 90 günlük ( $\pm 10$  gün), erkek, Akkaraman kuzu kullanıldı. Kuzuların bakım ve besleme koşulları gözönüne alınarak, çalışmanın iki yılda tamamlanması planlandı ve denemeler Nisan-Mayıs aylarında yürütüldü. Birinci uygulamada kullanılan 20 adet kuzu, Polatlı Tarım İşletmesi'nden temin edildi ve bunların bakımları Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Eğitim-Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nde; ikinci uygulamada kullanılan 12 adet kuzu ise Bala Tarım İşletmesi'nden temin edildi ve kuzuların bakımları da Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı'na ait hayvan barınağında yapıldı.

Kuzular, denemeye alınmadan önce, çevre koşullarına adaptasyonlarının sağlanması için, bir ay süre ile bekletildiler. Kuzular her iki uygulama döneminde de adaptasyon ve deneme sırasında günde iki kez olmak üzere, %17 protein içeren, 2600 Kcal Metabolik enerji (ME)'li kuzu büyütme yemi, kuru ot ve samandan oluşan

rasyon ile beslendi. Bu sürede kuzuların gerekli klinik ve parazitolojik muayeneleri ile aşılama yapılarak sürekli kontrol altında tutuldular. Adaptasyon süresinin sonunda kuzular daha önceden hazırlanan bölmelere, 1 kontrol, 3 deneme grubu olmak üzere 4 ayrı grup halinde ve her grupta eşit sayıda (birinci denemede 5'er, ikinci denemede ise 3'er kuzu) olmak üzere, kuzular rastgele seçilerek yerleştirildi ve toplam olarak 32 kuzu kullanıldı. Her bir kuzunun sol kulaklarına numara takıldı ve bunların kayıtları yapıldı.

Deneme grubundaki kuzuların sağ kulak derileri altına sırasıyla 12 mg (I.grup), 24 mg (II.grup) ve 96 mg (III.grup) zeranol (Ralgro®, International Mineral and Chemical Corporation= IMC) pelletleri özel implantasyon tabancası ile implante edildi. Kontrol grubuna hiçbir işlem yapılmadı. Kuzular 33 gün süre ile aynı rasyonla beslendi. Bu sürenin sonunda kuzuların Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı'nda otopsileri yapıldı ve makroskopik bulguları belirlendi.

Kontrol ve deneme gruplarına ait kuzulardan alınan genital organlar (testis, epididimis, duktus deferens, ampulla, gl. veziküloza, prostat, gl. bulboüretalis=Cowper bezi, üretra ve meme) ve iç salgı bezleri'ne (hipofiz, tiroid, adren ve pankreas) ait doku parçaları %10'luk tamponlu nötral formalinde tespit edildi. Parafin bloklarından elde edilen 5-6 mikron kalınlığında kesitler hematoksil-eosin (HE) ile boyandı. Ayrıca hipofizden alınan kesitler Mallory boyası ile; testis, epididimis ve adrenden alınan kesitler ise PAS ve Masson üçlü boyama tekniğine göre boyandı (21).

Mikroskopik incelemede, testiste seminifer tubullerin çapları ile bazal membran kalınlıkları; kauda epididimiste duktus çapı ve epitel uzunlukları; adrenlerde ise korteks kalınlığı oküler mikrometre ile ölçüldü. Bu işlem için testisin tüm bölümlerinden (kaput, korpus ve kauda) seçilen, sirküler yapıdaki 24 adet seminifer tubulusun bazal membranlarından itibaren çapları ölçüldü ve ortalamaları alındı. Kauda epididimiste de sirküler yapıda olan 10 adet duktusun hem çapı hem de epitel uzunluğu ölçülerek ortalamaları alındı. Adrenal korteks kalınlığının ölçümünde ise sol adren dikkate alındı ve 10 değişik yerinden ve hemen kapsula altından itibaren medullanın başlangıç yerine kadar ölçüldü ve ortalama değerleri alındı. Her üç organdan alınan değerler "student t" testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

## Bulgular

### Endokrin Sistem

**Hipofiz:** Makroskopik olarak, kontrol ve deneme gruplarındaki hipofizlerde herhangi bir bulguya rastlanmadı.

Pars distalisten alınan kesitlerin Mallory tekniğine göre yapılan boyanmalarında 3 farklı hücre tipi ayırt edildi.

Buna göre, kontrol ve deneme gruplarının tümünde asidofil hücrelerin bazofil hücrelerden daha fazla sayıda

olduğu gözlemlendi. Sitoplazmik granülleri kırmızıya boyanan, oval ya da yuvarlak şekilli asidofililerin çoğunlukla pars distalisin lateral ve dorsal bölgelerinde yoğunlaştıkları gözlemlendi. Asidofililerin deneme gruplarında ve özellikle de III.grupta sayıca belirgin şekilde arttıkları ve kontrol grubundakilere göre daha iri yapıda oldukları görüldü (Resim 1B). Bu hücreler yer yer küçük gruplar ya da kordonlar halinde, dorsale doğru uzanmışlardı.

Mallory tekniği ile mavi renge boyanan bazofiller ise pars distalisin hemen her tarafına dağıldıkları, ancak asidofililerin yoğun görüldükleri bölgede daha az sayıda olmaları dikkati çekti. Bu hücreler pars distalisin her tarafında ve sinuzoidler çevresinde yoğun olarak gözlemlendi. Deneme gruplarında bu hücrelerin sayısal ve hacim olarak da azaldıkları dikkati çekti (Resim 1B).

Kromofob hücrelerin pars distalisin her tarafına dağılmış halde ve diğer hücrelere oranla yoğun olduğu dikkati çekti. Mallory tekniği ile yapılan boyamada bu hücreler gri renge boyandı. Ayrıca bu hücrelerin gruplar arasında, sayısal ve hacim olarak farklı olmadıkları gözlemlendi (Resim 1B).

**Tiroid:** Makroskobik olarak kontrol ve deneme gruplarındaki tiroidlerde lezyon gözlenmedi.

Mikroskobik inceleme sonunda kontrol ve deneme gruplarındaki kuzulara ait tiroid bezlerin aktivite durumları Tablo 1'de görülmektedir. Deneme gruplarındaki kuzuların tiroid bezlerinin kontrol grubundakilere göre genellikle daha aktif durumda olduğu, aktivitenin II. ve III. gruplarda ise arttığı görüldü. Ancak ikinci uygulamada, kuzuların tiroid bezi aktivasyonunun ilk uygulamaya göre azaldığı veya etkilenmediği dikkati çekti.

**Tablo 1.** Tiroid bezlerindeki aktivasyon durumları.

Kontrol	Aktivite	I.Grup	Aktivite
146/93	*	151/93	**
147/93	**	152/93	**
148/93	*	153/93	*
149/93	*	154/93	*
150/93	*	155/93	**
189/94	*	192/94	0
190/94	*	193/94	*
191/94	0	194/94	0
II.Grup	Aktivite	III.Grup	Aktivite
156/93	**	161/93	**
157/93	**	162/93	**
158/93	*	163/93	**
159/93	**	164/93	*
160/93	**	165/93	**
195/94	0	198/94	*
196/94	*	199/94	0
197/94	*	200/94	*

**Aktivite :** 0 hipoaktif, \* aktif, \*\* hiperaktif

Hipoaktivite gösteren bezlerde folliküllerin yassı epitelle döşeli, yoğun ve homojen dağılımlı kolloide sahip oldukları gözlemlendi. Kenar vakoulezasyonuna ise

rastlanmadı (Resim 2A). Aktif durumdaki tiroid bezlerinde follikül çaplarının genelde küçük oldukları ve follikül epitellerinin silindirik durumdan kübik duruma değiştiği gözlemlendi. Bu şekildeki folliküllerde kolloid yoğunluğunun azaldığı ve kenar vakoulezasyonlarında artış dikkati çekti. Aktif olarak nitelendirilen bezlerde hipoaktiviteyi belgeleyen, iri çaplı ve kolloidi yoğun, yassı epitel hücreleri ile döşeli folliküllere rastlanmış, ancak bunların sayıları az olduğu için değerlendirmeye alınmamıştır.

Hiperaktivite gösteren bezlerde genellikle soluk pembe renkteki kolloid, hemen hemen rezorbe olmuş durumdaydı. Ayrıca kenar vakuelleri geniş boşluklar halindeydi. Bu şekildeki bezlerde, folliküller silindirik epitele sahipti ve bazılarında epitel çekirdeklerinin hiperkromatik görünümde olduğu dikkati çekti. Kolloidi tamamen rezorbe olan folliküllerin çoğunluğunun duvarında katlanmalar ile lumene doğru invaginasyonlar şekillenmişti. Bazı folliküller ise tamamen kollabe olmuştu. (Resim 2B).

Yine hem kontrol ve hem de deneme gruplarında, parafolliküler hücrelerde (C hücreleri) ve folliküler hücrelerde fokal hiperplaziye rastlandı. Bu durum belli bir grup seçiciliği göstermedi. Ayrıca tüm gruplarda duvarı çok katlı yassı epitelle döşeli ve yer yer de keratinize ultimobronşiyal kistlere rastlandı.

**Adren:** Makroskobik olarak kontrol ve deneme grupları arasında farklılık gözlenmedi.

Histolojik incelemede, korteks kalınlıklarının oküler mikrometre ile yapılan ölçümlerinden elde edilen sonuçlar Tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Adrenal korteks kalınlıkları ( $\mu\text{m}$ ).

	n	X	SX
<b>Kontrol grubu</b>	8	1681,0	$\pm 113,0$
<b>I. Grup</b>	8	2228,2	$\pm 76,5^*$
<b>II. Grup</b>	8	2163,0	$\pm 137,0^*$
<b>III. Grup</b>	8	2126,0	$\pm 98,5^*$

\* ( $P < 0.01$ )

Kontrol grubu ile deneme grupları arasındaki fark ayrı ayrı önemli olmasına ( $P < 0.01$ ) rağmen, deneme grupları arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır (Tablo 2).

Deneme gruplarındaki kuzulara ait adrenlerin çoğunluğunda kortekste diffuz hiperplazi gözlemlendi. Böyle adrenlerde zona fasikülata ve z. retiküleristeki hücreler yer yer vakuollü yapıdaydı ve çekirdeklerinin ise daha koyu renkte olduğu gözlemlendi. Korteks ile medullar sınır daha düzensizdi ve yer yer kortikal hücrelerin medullaya doğru kordonlar halinde girinti yaptıkları dikkati çekti. Ayrıca I. ve II.grupta ikişer, III.grupta ise bir kuzuda kortekste noduler hiperplazi saptandı.

**Pankreas:** Kontrol ve deneme gruplarında makroskobik ve mikroskobik herhangi bir lezyona rastlanmadı.

**Genital Sistem:**

**Testis:** Makroskopik olarak kuzuların hiçbirisinde lezyona rastlanmadı.

Mikroskopik olarak kontrol grubu ile deneme grupları arasında seminifer tubuluslarda spermatogenezin aşamaları bakımından farklılık yoktu. Seminifer tubulusların genellikle bir-iki sıralı spermatogonial germ hücreleri ve indiferent hücrelerle döşeli oldukları ve spermatogenezin aktif olarak başlamadığı dikkati çekti. Bununla birlikte kontrol grubunda üç, I.grupta bir, II. ve III.gruplarda ise ikişer kuzuya ait testiste tubuluslarda az sayıda spermatozoid ve Sertoli hücreleri yanında, intratubuler lumen oluşumu gözlemlendi. Ancak hiç bir kuzuda spermatozoid ve spermatozoaya rastlanmadı.

Mikrometre ile ölçülen seminifer tubulus çapları ile bazal membran kalınlığı bakımından kontrol ve deneme grupları arasında farklılık yoktu.

İnterstitiyel hücreler incelendiğinde, tüm gruplarda genelde oval-yuvarlak çekirdekli differansiye Leydig hücreleri yanında, diffuz veya fokal olarak, lenfosit benzeri, koyu çekirdekli küçük indiferent hücrelere de rastlandı. Bunun dışında herhangi bir bulgu saptanmadı.

**Epididimis:** Makroskopik olarak hiçbir kuzuda epididimis bölümlerinde lezyon görülmemesine karşın, deneme gruplarındaki bazı kuzulara ait (Kuzu No:154/93, 155/93, 157/93, 161/93, 162/93, 163/93, 164/93, 165/93, 199/94, 200/94) kauda epididimisinin biraz büyükçe oldukları dikkati çekti.

Kauda epididimisteki duktusların lumen çapı ve epitel uzunluklarının mikrometre ile yapılan ölçümlerinde kontrol ve deneme grupları arasında farklılık önemli bulunmamıştır. Bunun yanında deneme gruplarındaki bazı kuzularda bazal hücreler yer yer proliferasyon gösterdiğinden prinsipal hücrelerle aralarındaki sınır seçilemedi. Bu şekildeki duktusların siliasız olduğu ve supranükleer sitoplazmik boşluğun da kaybolduğu gözlemlendi. Duktusları çevreleyen fibromusküler dokuda ise hafif artış kaydedildi. Ayrıca deneme gruplarındaki bazı kuzularda (Kuzu No: 151/93, 152/93, 153/93, 155/93, 157/93, 158/93, 163/93, 164/93, 195/94, 199/94, 200/94) daha çok korpus ve kauda epididimisteki duktuslarda fokal olarak kistik genişlemeler dikkati çekti. Bunların çevrelerinde de hafif mononükleer hücrelere rastlandı. Kistik durumdaki duktuslar, her kuzuda ve yaygın olmadığından ölçüm dışında tutuldu.

**Duktus Deferens:** Kontrol ve deneme gruplarında makroskopik ve mikroskopik lezyona rastlanmadı.

**Ampulla:** Makroskopik olarak, deneme gruplarındaki bazı kuzularda ampulla bölgesinin daha kalın görünümde olduğu dikkati çekti.

Histolojik olarak bezlerde yer yer alveoler yapının azaldığı, bez epitellerinin hiperplazik oldukları ve interstitiyumda da bağ doku artışı gözlemlendi. Bu lezyonlar II. ve III.gruplarda daha belirgindi. Ampulla ve diğer eklenti bezlerinde gözlenen lezyonlar Tablo 3'de gösterilmektedir.

**Glandula veziküloza (Veziküla seminalis):** Deneme gruplarında zeranol dozundaki artışa bağlı olarak,

özellikle de III.gruptakilerde bezin total olarak büyüdüğü dikkati çekti (Resim 3B).

Mikroskopik incelemede deneme gruplarında bezlerde alveoler yapı azalmıştı ve bez epitelleri hiperplazik görünümdeydi. Bazılarının kistik şekilde genişlediği ve hiperplazik epitellerin lumene papiller çıkıntılar yaptığı dikkati çekti (Resim 4B). Kistik tarzda genişleyen bezlerin lumenlerinde sekresyon birikimi ve dökülmüş epitel hücreleri görüldü. Bazı kuzulara ait bezlerde ise hafif şekilde metaplaziye rastlandı. Deneme gruplarındaki kuzuların glandula vezikülozalarında göze çarpan en belirgin bulgu interstitiyumda bağ doku artışı idi (Resim 4B). Bu bulgular II. ve III.gruplarda daha belirgindi (Tablo 3). Bir kuzunun (164/93) gl.vezikülozasında interstitiyumda fokal mononükleer hücre infiltrasyonlarına rastlandı.

**Prostat:** Prostata ait bezlere pelvik üretra boyunca, üretranın dorsal ve lateralinde dissemine olarak rastlandı. Deneme gruplarındaki kuzuların pelvik üretra bölgesinin kontrollere göre daha hipertrofik görünümde olduğu dikkati çekti (Resim 3B).

Prostatta rastlanan mikroskopik bulgular II. ve III. gruptaki kuzularda daha belirgindi (Tablo 3). Bu gruplardaki kuzularda şiddetli hiperplazi ve metaplazi gösteren bazı bezlerin kistik hal aldığı ve lumenlerinin pembe homojen sekret ve dökülmüş epitel hücreleri ile dolu olduğu gözlemlendi (Resim 5B). Bunun yanında deneme grubundaki tüm kuzuların prostatlarının akıtıcı kanal epitellerinde belirgin derecede hiperplazi dikkati çekti.

İnterstitiyumda ise bağ doku artışının yanı sıra bazı olgularda (Kuzu No:153/93, 164/93) diffuz mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlandı.

**Glandula bulboüretalis (Cowper Bezi):** Pelvik üretranın sonunda çift olarak bulunan bezde, zeranol uygulananlarda belirgin bir büyüme gözlemlendi. Üçüncü gruptaki bazı kuzulara ait bezlerde (Kuzu No:161/93, 163/93, 165/93, 198/94) nodül oluşumuna rastlandı (Resim 3B). Hipertrofik görünümdeki bezlerin kesit yüzlerinin gözenekli yapıda olduğu ve yer yer kistik hal aldığı ve lumenlerinden akışkan olmayan bir sıvının sızdığı dikkati çekti.

Mikroskopik incelemede, prostattakine benzer bulgularla karşılaşıldı. Belirgin şekilde hiperplazi ve metaplazi yanında, kistik şekilde genişlemiş ve duvarı çok katlı yassı epitel halini almış bezlere sıklıkla rastlandı (Resim 6B). Bunların lumenleri dökülmüş epitel hücreleri ve homojen pembe renkte materyal ile doluydu. Akıtıcı kanal epitellerinde de belirgin hiperplazi gözlemlendi.

İnterstitiyumda bağ doku artışı yanında, özellikle kistik yapıdaki bezlerin daha sık olduğu bazı olgularda (Kuzu No: 161/93, 164/93, 165/93, 198/94) aralarında nötrofil lökositlerin de bulunduğu mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlandı. Mikroskopik lezyonlar III. grupta daha şiddetliydi (Tablo 3).

**Üretra:** Deneme grubundaki kuzuların pelvik üretra lumenlerinin kontrollere göre daha geniş olduğu dikkati çekti. Ayrıca prostatta şekillenen bulgulara bağlı olarak,

üretanın dorsal ve lateralden baskılandığı ve lumeninin girintili çıkıntılı görünümde olduğu gözlemlendi. Penil uretrada ise herhangi bir makroskopik bulguya rastlanmadı.

Üretanın her iki bölümünde de I. ve II.gruplarda hiperplazinin, III.grupta ise metaplazinin daha belirgin olduğu görüldü (Resim 8). Bazı olgularda hiperplazi nedeniyle penil uretra lumeninin oldukça daraldığı ve mukozanın dantela görünümünün kaybolduğu dikkati çekti. Şiddetli hiperplazi ve metaplazi gözlenen olgularda yer yer epitel hücrelerinde deskuamasyon ile bazı kuzularda (Kuzu No:152/93, 160/93) pelvik uretra çevrelerinde hafif mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlandı.

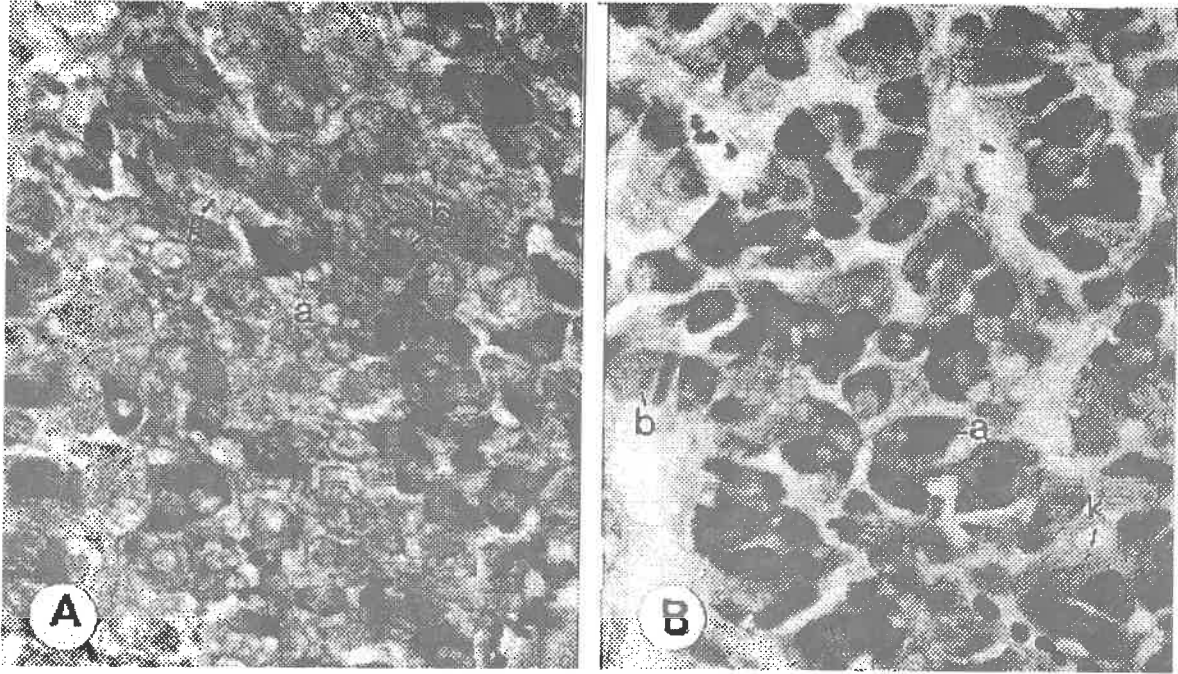
Kontrol grubundaki kuzulara ait eklenti bezleri (Resim 4A,5A,6A) ile üretralarında (Resim 7) herhangi bir lezyona rastlanmadı.

**Meme:** Deneme grubundaki kuzuların meme başları zeranol dozundaki artışa paralel olarak, kontrollere göre daha büyük yapıda idi (Resim 9).

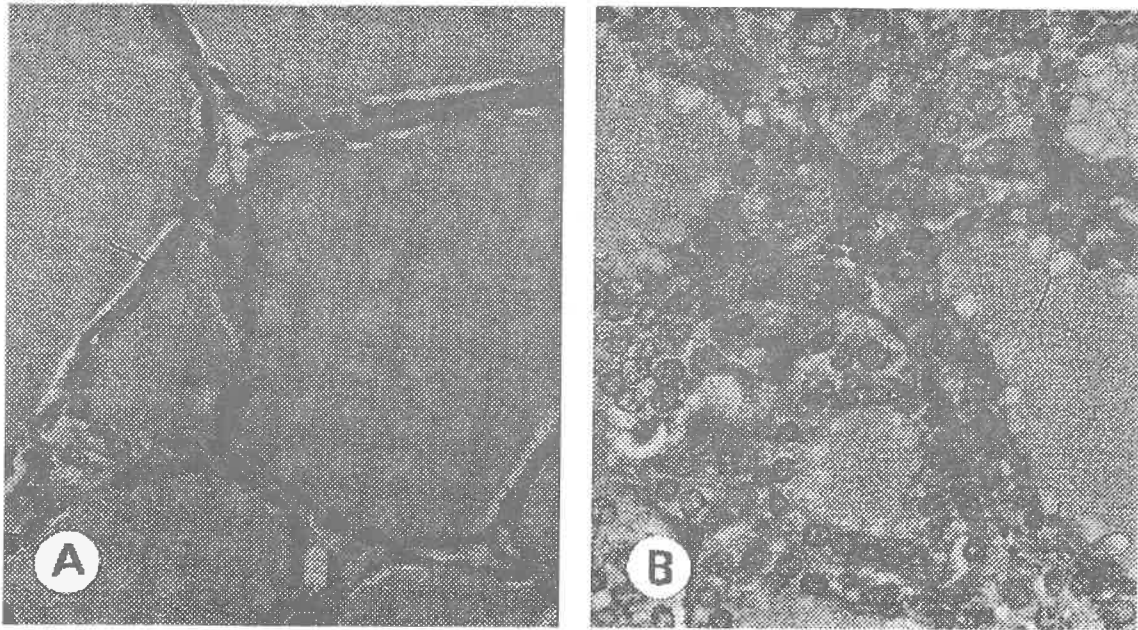
Mikroskopik incelemede, kontrol grubu kuzularda meme dokusunun gelişmemiş duktuslardan ibaret olduğu ve stromasının ise daha gevşek yapıda bulunduğu gözlemlendi (Resim 10A). Ayrıca alveoler yapıya rastlanmadı. Deneme gruplarındaki kuzularda alveoler gelişim yanında, bazı kuzuların (Kuzu No:152/93, 153/93, 156/93, 157/93, 158/93, 196/94, 162/93, 164/93, 165/93, 198/94, 199/94, 200/94) duktus epitellerinde hiperplazi görüldü. Deneme gruplarında alveoler gelişim gösteren meme bezlerinde ve toplayıcı kanallarda pembe renkte, homojen bir sekresyon materyaline rastlandı (Resim 10B). Ayrıca meme başı derisinde çok katlı yassı epitelin daha hiperplazik olduğu saptandı.

Tablo 3. Eklenti bezlerinde gözlenen bulgular

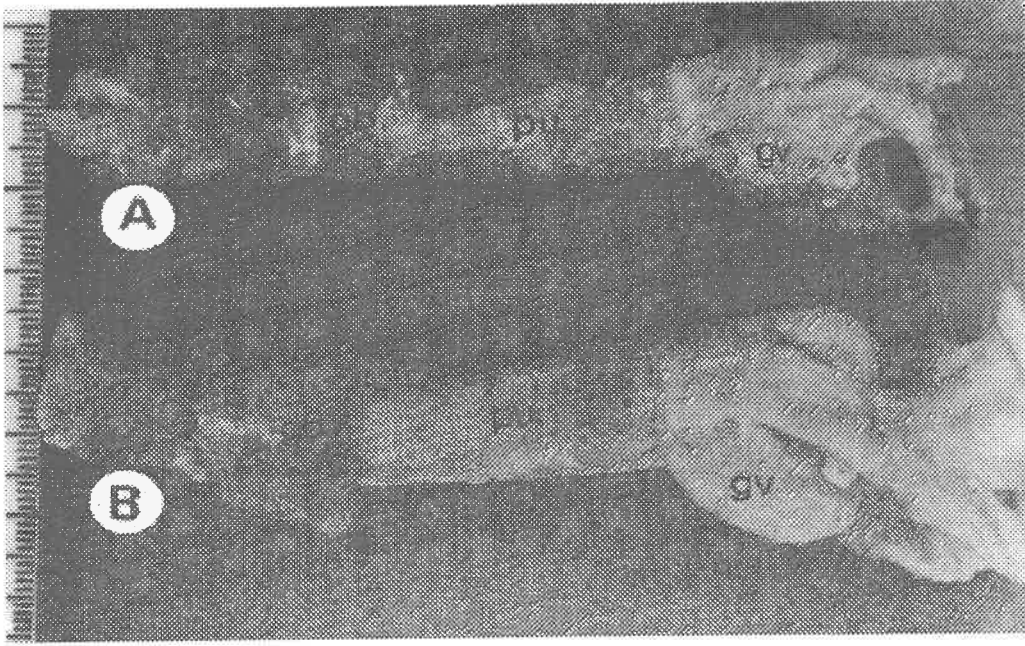
Kuzu No Organ	I. Grup (12 mg)						II. Grup (24 mg)						III. Grup (96 mg)							
	151 93	152 93	153 93	154 93	155 93	156 93	157 93	158 93	159 93	160 93	161 93	162 93	163 93	164 93	165 93	166 93	167 93	168 93	169 93	170 93
<b>Ampulla</b>																				
Hiperplazi	++	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Metaplazi	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Alveoler yapıda azalma	++	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Bağ doku artışı	++	++	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<b>Gl. Vezikuloza</b>																				
Hiperplazi	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Metaplazi	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Alveoler yapıda azalma	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kistik genişleme, *desk. ve sekr.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Bağ doku artışı	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<b>Prostat</b>																				
Hiperplazi	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Metaplazi	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Kistik genişleme, desk. ve sekr.	+	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aktıcı kanal																				
epitel hiperplazi	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Bağ doku artışı	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<b>Gl. Inhibütralis</b>																				
Hiperplazi	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Metaplazi	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Kistik genişleme, desk. ve sekr.	+	++	+++	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aktıcı kanal																				
epitel hiperplazi	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Bağ doku artışı	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<b>Bulgunun derecesi: + hafif, ++ orta, +++ şiddetli, 0 bulgu yok</b>																				
<b>* Bez epitellerinde deskuamasyon ve sekresyon materyalinde artış</b>																				



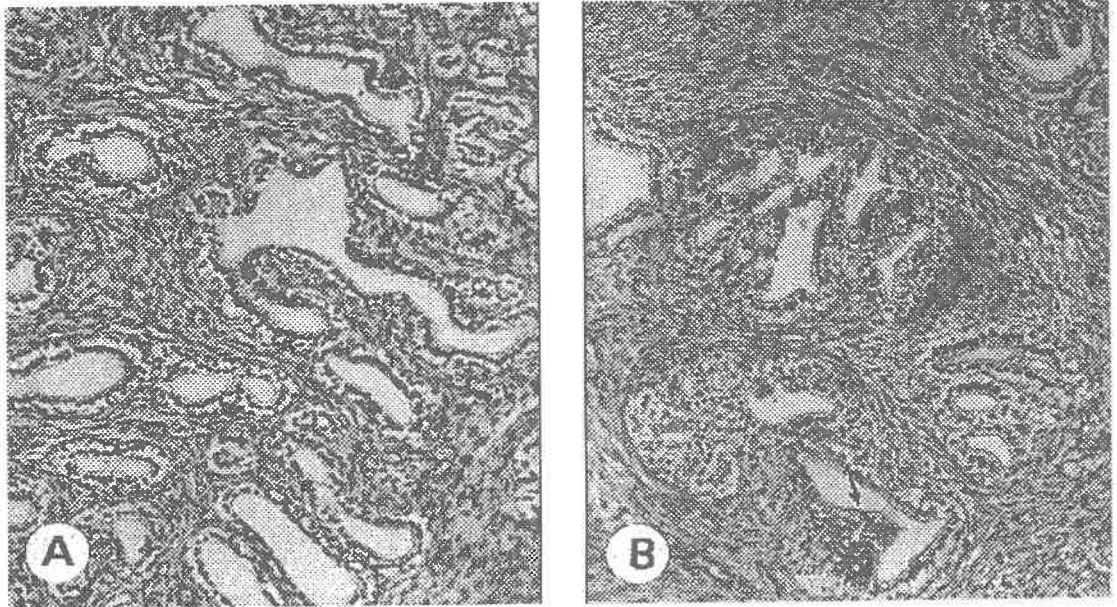
**Resim 1** Adenohipofiz, pars distalis. Deneme gruplarında asidofil hücrelerde sayısal ve hacim olarak artış. **A)** Kontrol grubu, **B)** I Grup. Asidofil hücreler (a), bazofil hücreler (b), kromofob hücreler (k), Mallory boyası, X 510.



**Resim 2.** **A)** Tiroid bezinde aktivasyon azalması: Follikül çaplarında büyüme yanında epitel hücrelerin yassı görünümünde (ok) ve kolloid yoğunluğu artmış durumda. Kenar vakuollerine rastlanılmamakta. **B)** Aktivasyon artışı: Follikül epitelleri kübik-prizmatik yapıda, kolloid yoğunluğunda azalma ve kenar vakuollerinde artış (ok). HE, X 400.

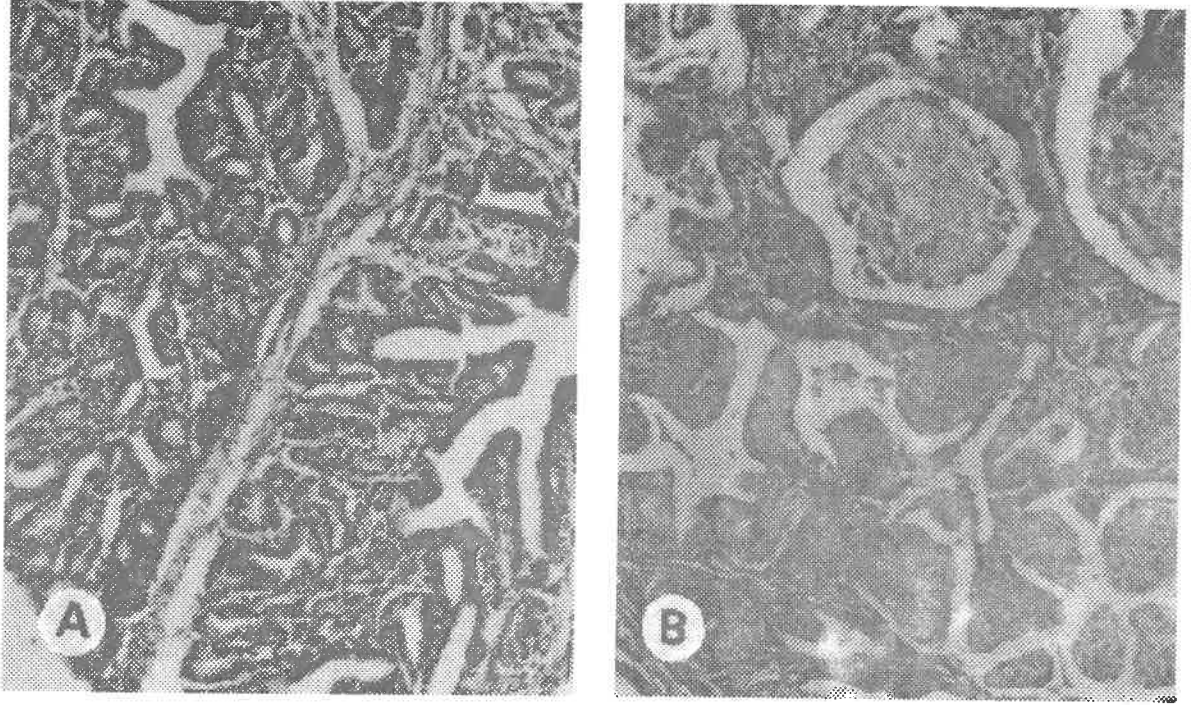


**Resim 3.** Eklenti bezleri. 96 mg zeronol implante edilen kuzuya ait eklenti bezlerinde total olarak büyüme yanında, glandula bulboüretaliste nodül oluşumu (Ok). Prostatta şekillenen lezyonlara bağlı olarak pelvik üretra (pu) bölgesinde belirgin bir kalınlaşma dikkati çekmekte. A) Kontrol grubu, B) III. grup. Glandula veziküloza (gv), glandula bulboüretalis (gb).

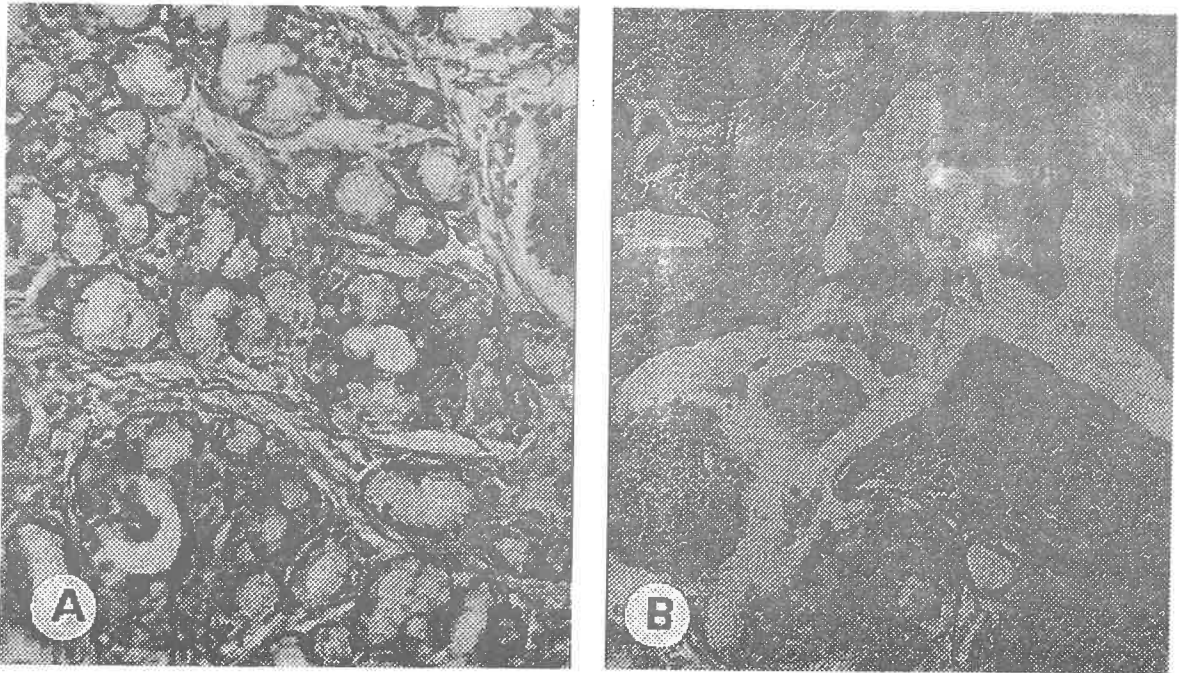


**Resim 4.** Glandula veziküloza. A) Kontrol grubu. B) I. grup: İntersitisyal dokuda artış yanında, alveoler yapının azalması ve bez lumenlerine yer yer papiller tarzda hiperplaziler (ok), HE, X 100.

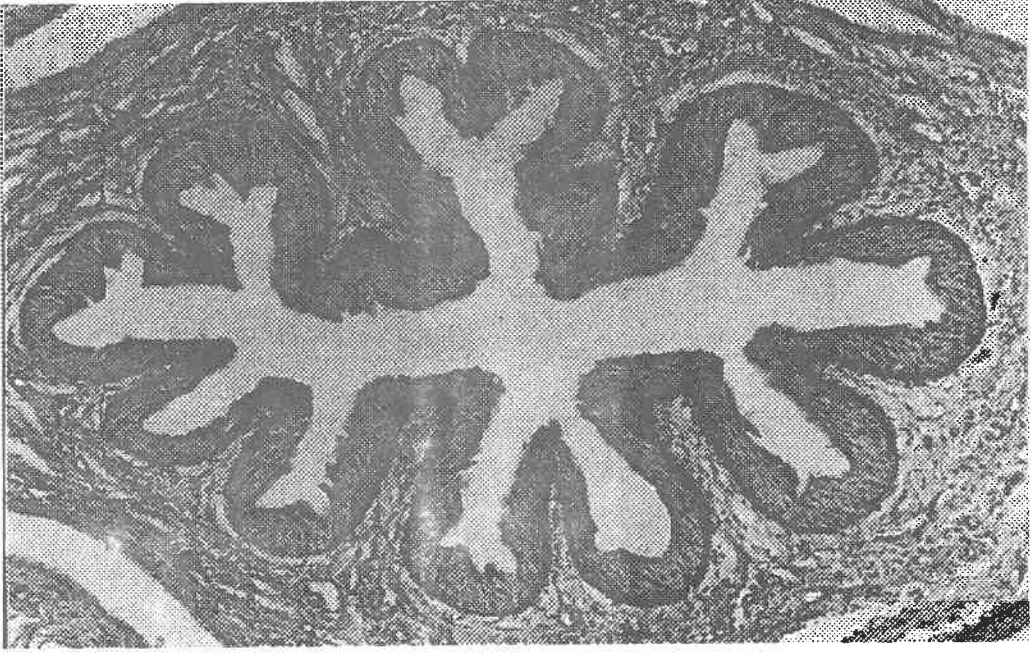




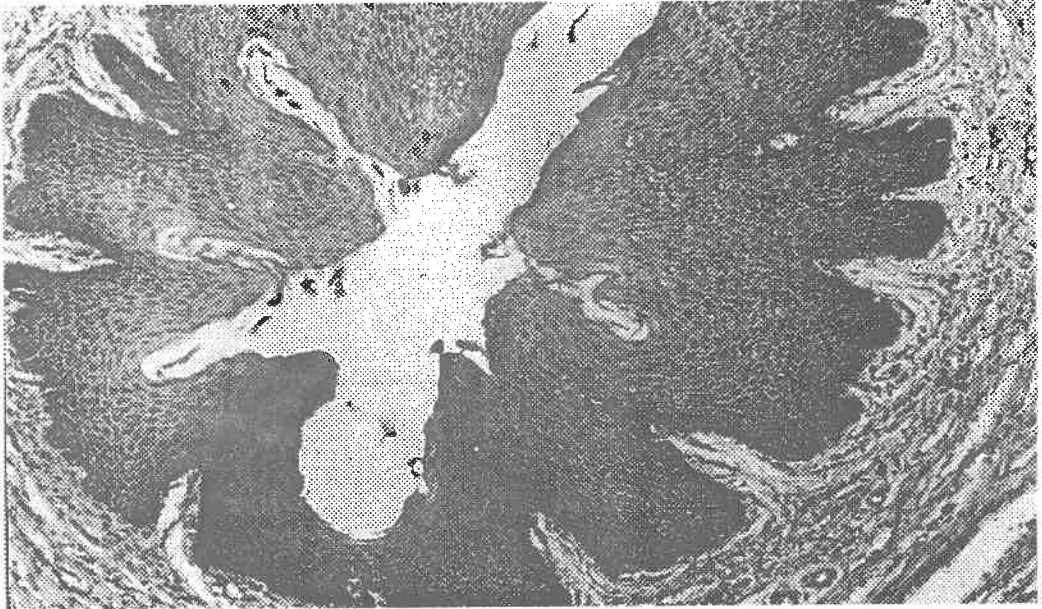
**Resim 5.** Prostat, A) Kontrol grubu, B) I.grup: Bezlerde ileri derecede yassı epitel metaplazisi, lumende dökülmüş epiteller ve sekresyon artışı. HE, X 100.



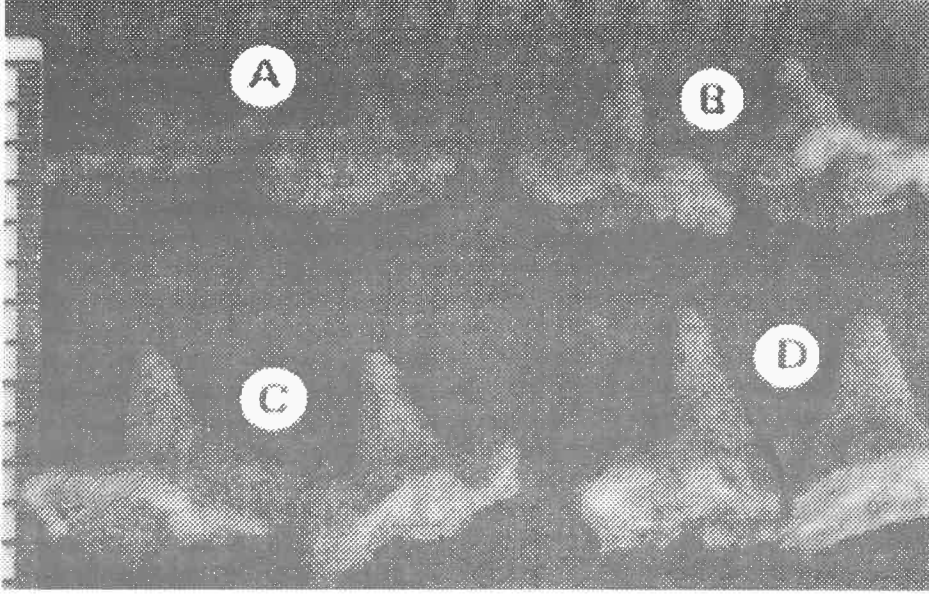
**Resim 6.** Glandula bulboüretalis. A) Kontrol grubu, B) I.grup: Bezlerde hiperplazi yanında belirgin yassı epitel metaplazisi. Lumende dökülmüş epitel hücreleri ve sekresyon artışı. HE, X 130.



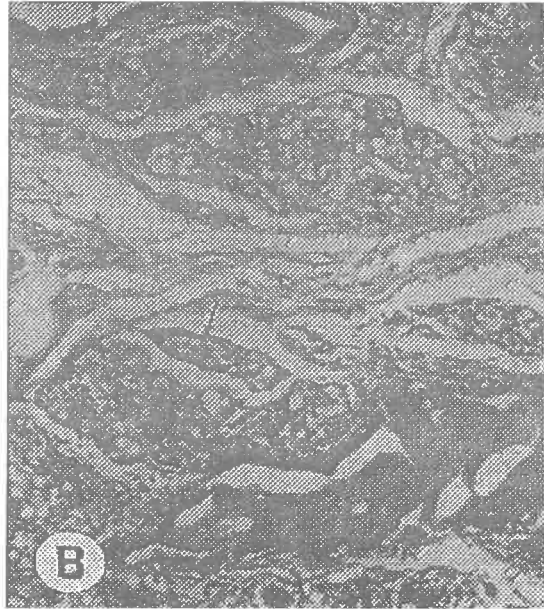
**Resim 7.** Penil üretra, kontrol grubu. HE, X 100.



**Resim 8.** Penil üretra mukozasında belirgin derecede hiperplazi ve epitel hücrelerinde hafif dökülme. HE, X 100.



Resim 9. Meme başında büyüme. A) Kontrol grubu, B) I. grup, C) II. grup, D) III. grup.



Resim 10. A) Kontrol grubu kuzuya ait meme dokusu. Gelişmemiş duktuslar yanında alveoler yapı gözlenmemekte. B) 12 mg zeronol implante edilen kuzuya ait meme dokusu. Alveoler gelişim(ok) ile birlikte bez lumenlerinde ve duktuslarda pembe homojen bir materyal. HE, X 100.

## Tartışma ve Sonuç

Zeranol, kuzularda anabolik amaçlı olarak, Food and Drug Administration örgütünün 1970 yılında belirlediği gibi, kulak derisi altına implantasyon şeklinde 12 mg dozda ve 40 gün aralıklarla kullanılmaktadır (22). Zeranol ve metabolitlerinin akut ya da kronik toksisitesinin incelendiği çalışmalarda daha çok oral veya intraperitoneal yol kullanılmıştır. Fare ve ratlarla yapılan akut toksisite çalışmalarında zeranolun oral olarak LD<sub>50</sub>'si >40000 mg/kg olarak belirlenmiştir. Kronik toksisite çalışmaları ise zeranolun fizyolojik etkileri yanında mutajenik ve karsinojenik etkileri yönünden, özellikle köpeklerde 37 mg/kg/gün dozda ve 7 yıl süreyle, maymunlarda ise 75 mg/kg/gün dozda ve 10 yıl süreyle oral yollarla yürütülmüştür. Bu çalışmalar sonucunda zeranolun ya da metabolitlerinin östrojenik etkileri dışında, mutajenik ya da karsinojenik etkisinin olmadığı bildirilmiştir (11). Bu çalışmada zeranol, 12 mg'lık anabolik etkili doz yanında, 24 ve 96 mg gibi yüksek ve tek dozda implantasyon şeklinde kullanılmış ve zeranol uygulamaları 33 gün sonra tamamlanmıştır.

Zeranol implantasyonu adenohipofizde bulunan asidofilik ve bazofilik özellikteki hücrelerin sayı ve sekresyon aktivitelerini değiştirmektedir. Bu çalışmada, önceki çalışmalara (17, 23) paralel olarak artan dozla birlikte, zeranolun adenohipofizde asidofil hücrelerin sayı ve aktivitelerini artırdığı, buna karşılık bazofilik hücrelerin aktivitelerini ise baskıladığı gözlenmiştir. Fonksiyonu ve gelişmesi hipofiz hormonlarının etkisi altında olan bazı endokrin ve genital sistem organlarında hafif derecede, bazılarında ise hiçbir bulguya rastlanmamıştır. Çalışma sırasında kuzuların plazma hormon düzeylerinin belirlenmemesi nedeniyle, bu organlarla hipofizde rastlanan bulgular arasında belirgin bir korrelasyon kurulamamıştır.

Zeranol ve diğer östrojenik maddeler adrenel korteks kalınlığı ve bezin total ağırlığını artırmaktadır. Wiggins ve arkadaşları(18), yaptıkları bir çalışmada zeranol uygulanan ve özellikle kastre edilmiş kuzularda adrenal korteks hiperplazisinin zona retikulariste belirgin olduğunu gözlemlenmişlerdir. Bu çalışmada ise erkek kuzuların adrenal korteks kalınlığının arttığı, ancak adrenal kortekste oluşan bu bulgunun zeranolun dozundaki artışa paralel olarak gelişmediği gözlenmiştir. Bu ise, Wiggins ve arkadaşları (18)'nin belirttiği gibi, erkek kuzularda normalde diğer cinsiyet gruplarına göre androjen düzeylerinin yüksek olması nedeniyle zeranolun dozu artırılrsa bile oluşan bu etkinin belirli düzeye kadar kompanze edilebileceği ile açıklanmaktadır.

Bu çalışma sonunda tiroid bezi aktivasyonunun ilk uygulamada kullanılan kuzularda arttığı, buna karşılık ikinci uygulamada değişmediği veya azaldığı dikkati çekti. Her iki uygulama döneminde de, kuzuların aynı ırk ve yaşta olmalarına, benzer dozlarda implantasyonun aynı mevsimde uygulanmasına ve kuzuların benzer rasyonla beslenmelerine rağmen zeranolun tiroid bezi üzerine etkisinin farklı zamanlarda farklı şekilde ortaya çıktığı dikkati çekmiştir. Daha önce yapılan ve zeranol

implante edilen kuzularda tiroid bezi aktivasyonunun histolojik olarak incelendiği çalışmalarda deprese olduğu (17) veya geçici depresyondan sonra normale döndüğü (24) ya da değişmediği (18) bildirilmektedir.

Ergenlik öncesinde, sığır ve koyunların hipotalamik-hipofizyal-testiküler eksenleri normal dozlarda zeranol implantasyonuna daha duyarlıdır (25-28). Zeranol implante edilen hayvanlarda yaşın kullanılan dozdan daha kritik öneme sahip olduğu, yüksek dozların genç hayvanlarda etkiyi artırmadığı, daha yaşlılarda ise etkili olmadığı bildirilmiştir (29). Bu görüşlerin aksine yapılan bir çalışmada, kastre kuzularda zeranolun artan dozlarına karşı özellikle hipofiz, adren, tiroid, eklenti bezleri, üretra ve meme gibi dokularda bu etkinin arttığı dikkati çekmiştir (17). Floyd ve arkadaşları (30) ise 23 haftalık danalarda zeranol implantasyonunun plazma testosteron düzeylerinde düşme dışında genital sistemlerini etkilemediğini, bu yaşta danaların nöroendokrin sistemlerinin zeranol implantasyonuna duyarlı olmakla birlikte, genital sistemlerinin diğer çalışmalarda bildirilen morfogenetik ve hücrenel fakılaşma gibi değişikliklere duyarlı olmadıklarını bildirmiştir. Sunulan çalışmada histolojik olarak zeranolun artan dozuyla birlikte özellikle eklenti bezleri, hipofiz, üretra ve meme üzerine oluşan etkinin arttığı ve bulguların daha belirginleştiği, buna karşılık, adren, tiroid ve epididimis üzerine oluşan etkisinin artan dozla birlikte artmadığı veya çok az arttığı; buna karşın testis, duktus deferens ve pankreas üzerinde ise zeranolun etkili olmadığı dikkati çekmiştir.

Zeranol implantasyonunun erken yaşlarda oluşturduğu etkilerin, sonraki yaşlarda patolojik bulgularla ortaya çıktığı ve özellikle testis üzerine oluşan etkisinin kalıcı olduğu bildirilmiştir (25). Bazı çalışmalarda da (19, 20, 28) yine ergenliğe yakın yaşlardaki hayvanlarda zeranol implantasyonunun cinsel fonksiyonlarda yetersizliğe yol açtığı ancak daha küçük yaştakilere göre etkisinin oldukça azaldığı ve testis üzerine olan bu etkinin geçici olmasına karşın epididimis ve eklenti bezleri üzerine oluşan etkisinin irreverzibl olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada değişik dozlarda zeranol uygulanmasına rağmen testis üzerinde etkisi görülmemiş, epididimis üzerinde hafif, eklenti bezlerine ise belirgin bir etki oluşturduğu dikkati çekmiştir. Kuzuların spermatolojik muayenelerinin yapılmamasına rağmen, histolojik olarak hiç bir kuzunun testisinde spermatogenezin başlamadığı ve kontrollere göre tubulus çapları ve hücreleri ile interstiyel hücre morfolojileri bakımından gruplar arasında fakıllık olmadığı dikkati çekmiştir. Normal yetiştirme şartlarında ırklar arasında az ya da çok fakıllıklar bulunmakla birlikte, spermatogeneze ilişkin tüm safhaların seçilebildiği yaş, 110 ile 225 gün arasında değişmektedir (31, 32). Sunulan çalışmanın sonunda kuzuların yaklaşık 120 günlük olmalarına rağmen, hiç birinde spermatogenezin aktif olarak başlamamasının nedeni, kuzuların Akkaraman gibi geç gelişen ırktan olmalarına bağlanabilir.

Bu çalışmada zeranolun epididimis üzerine etkisinin hafif olduğu, bazı kuzuların kauda epididimislerinde

duktus epitellerinde bazal hücre proliferasyonları, silia kaybı ve fibromusküler dokuda hafif artış dışında pek etkili olmadığı görülmektedir. Östrojenik stimülasyonun belli başlı bulgularından olduğu bildirilen (33) intracavitary lumina oluşumu, adenomyozis ve sperm granülomlarına ise rastlanılmamıştır. Bu çalışma sonunda zeranolun bu yaştaki Akkaraman erkek kuzuların eklenti bezleri dışında, testis ve epididimisi üzerinde etkili olmadığı ya da artan dozun etkiyi artırmadığı görülmektedir. Ancak uygulamanın 33 günlük sürede tamamlanarak, kuzuların ergenliğe kadar bekletilmemesi ve zeranolun tekrarlayan dozlarda uygulanmaması nedeniyle, zeranolun testis ve epididimis üzerinde oluşturabileceği histolojik etkilerin kalıcı mı yoksa geçici mi olduğunu saptama olanağı olmamıştır. Buna göre, Floyd ve arkadaşları(30)'nın da belirttiği gibi, zeranol ve benzeri maddelerin genital organlar üzerindeki etkilerinin görülebileceği kritik periyod, tür, organ ve dokular arasında farklılık göstermektedir ve bu dokuların çeşitli gelişim periyotlarında zeranol duyarlılıkları değişebilmektedir.

Zeranol implantasyonu ile hem kastre hem de erkek dana ve kuzuların eklenti bezlerinde epitelyal ve stromal değişiklikler oluşmaktadır (17, 19, 20, 32, 33). Bu çalışmadaki kuzuların eklenti bezlerinde de önceki çalışmalardakine benzer bulgularla karşılaşmıştır. Ampulla ve gl. vezikülozada stromal; gl.prostatika ve gl. bulboüretaliste ise epitelyal değişikliklerin daha belirgin olduğu dikkati çekmiştir. Gl. prostatika ve gl. bulboüretaliste yassı epitel metaplazisi ve hiperplazik değişikliklerin hafif olarak şekillendiği olgularda bile, akıtıcı kanallarda belirgin derecede hiperplazinin görülmesi, akıtıcı kanalların östrojenik stimülasyona daha duyarlı olduklarını göstermektedir. Ayrıca bu bezlerde kistik genişleme ve sekresyon artışının da yine akıtıcı kanal epitellerinde şekillenen hiperplaziye bağlı olarak, sekresyonun retensiyonu sonucu olduğu düşünülmektedir. Bazı kuzulara ait eklenti bezlerinde ise fokal ya da diffuz yangısel hücre infiltrasyonuna rastlanmıştır. Ancak bu bulgunun her kuzuda ve her bezde görülmemesi nedeniyle, spontan olarak şekillenmiş olabileceği sonucuna varılmıştır.

Normal dozların üzerinde zeranol uygulanan kuzuların ürogenital sistemlerinde ve eklenti bezlerinde şekillenen değişikliklerin sentetik östrojen uygulanan ya da Sertoli hücre tümörü bulunan hayvanlarda, ayrıca östrojenik madde içeren yonca türleri ile beslenen ve Fusarium sp. ile enfekte küflü yemleri yiyen hayvanlarda oluşan bulgulara benzediği bildirilmektedir ( 34-37). Bu çalışmada elde edilen bulgular ve zeranol ile yapılan önceki çalışmalardan elde edilen bulgular zeranolun östrojenik etkili bir madde olduğunu göstermektedir. Ruitenber ve arkadaşları (37)'nin "prostat testi" olarak adlandırdıkları bir metotla mezbahada kesilen erkek ya da kastre edilmiş danaların prostatlarını histolojik olarak incelemişler ve araştırmacılar bu yöntemle, hayvanlara östrojenik etkili herhangi bir maddenin uygulanıp uygulanmadığının da anlaşıldığını bildirmişlerdir. Böylece erken yaşlarda zeranol implantasyonunun erkek

veya kastre edilmiş kuzuların epididimis ve eklenti bezlerinde diğer östrojenlere benzer etkiler oluşturduğu ve bu değişikliklerin irreversibl olduğu bilindiğinden (19, 20, 28), kesimden sonra bu bezlerin incelenmesi ile kuzuların herhangi bir östrojenik maddeye maruz kalıp kalmadığı kolaylıkla belirlenebilecektir.

Bu tip östrojenik etkili maddeleri içeren bitkilerin bulunduğu meralarda otlayan veya östrojenik madde uygulanan koyunlarda % 10'a varan oranlarda fatal üriner obstruksiyon olduğu bildirilmektedir. Bunun en yaygın tipinin östrojenlerin etkisiyle hiperplazi ya da yassı epitel metaplazisi gösteren üretrada dökülmüş hücreler ve eklenti bezlerinin sekresyonundan köken alan, yumuşak ya da lapa tarzında, hafif mineralize materyalin (kalküli) obstruksiyona neden olduğu bildirilmektedir (38, 39). Kuzularda zeranol ve DES ile yapılan bir çalışmada (18), 12 mg zeranolun tek başına erkek kuzuların penil üretralını etkilemediği, kastre edilmiş kuzularda ise hafif oranda yassı epitel metaplazisi oluşturduğu, buna rağmen her iki cinsiyette de 3 mg DES'in orta şiddette, iki maddenin birlikte uygulanmalarında ise şiddetli derecede yassı epitel metaplazisine neden oldukları bildirilmiştir. Sonuçta da penil üretra üzerine zeranolun DES'ten daha zayıf bir östrojenik etki gösterdiği ve her iki maddenin de üretral obstruksiyona neden olabileceği ifade edilmiştir. Sunulan çalışmada kalküli oluşumuna rastlanılmamakla birlikte, 12 mg zeranol implante edilen erkek kuzuların hem penil hem de pelvik üretra epitellerinde belirgin bir hiperplazi ve daha az olarak da yassı epitel metaplazisi olduğu ve bu nedenle bu gruptaki bazı kuzuların penil üretralında lumenin oldukça daraldığı dikkati çekmiştir. Diğer gruplarda ise bu bulguların daha da şiddetlendiği ve epitel hücrelerinde dökülmelerin olduğu gözlenmiştir. Önceki çalışmalardan (18, 38, 39) elde edilen bulguların destekler nitelikte, zeranol implantasyonunun üretrada oluşturduğu değişikliklere bağlı olarak, kalküli oluşumu için predispozisyon yaratabileceği ve kuzularda fatal üretral obstruksiyonlara yol açabileceği sonucuna varılmıştır.

Zeranolun meme gelişimi üzerinde etkisinin yine östrojenlerin etkisine benzemesine rağmen histolojik olarak sadece kastre edilmiş ve dişi kuzularda incelenmiş, erkek kuzularda ise meme başı büyümesi dışında meme bezleri üzerine olan etkisi incelenmemiştir (17, 18, 40, 41). Bu çalışmada ergenlik öncesindeki erkek kuzuların meme bezlerinde rastlanan bulguların kastre edilmiş ve dişilerde bildirilen bulgulara benzerlik gösterdiği ve zeranolun artan dozuyla birlikte bu etkinin arttığı dikkati çekmiştir.

Çalışmada gelişmeyi hızlandırıcı olarak kullanılan zeranolun Akkaraman erkek kuzuların endokrin ve genital sistemlerini patolojik yönden etkilediği, zeranolun dozunun artmasına paralel olarak bazı organlarda oluşan bu etkinin de arttığı dikkati çekmiş ve bu kuzuların ileride damızlık olarak kullanılmasının da bazı sakıncalara yol açabileceği kanısına varılmıştır. Sonuç olarak, besi performansını artırmak amacıyla zeranolun kullanılması Avrupa Birliği tarafından kesin olarak yasaklanmıştır

(42, 43). Ülkemizde de zeranol kullanımının kontrol altına alınması için gerekli yasal düzenlemelerin yapılmasının uygun olacağı kanısına varılmıştır.

### Kaynaklar

- 1- Rico, A.G. Metabolism of endogenous and exogenous anabolic agents in cattle. *J. Anim. Sci.*, 57: 226-232, 1983.
- 2- Fara, G.M., Del Corvo, G., Bernuzzi, S., Bigatello, A., Di Pietro, C., Scaglioni, S. and Chiumello, G. Epidemic of breast enlargement in an Italian school. *Lancet*, 2: 295-297, 1979.
- 3-Scaglioni, S., Di Pietro, C., Bigatello, A. and Chiumello, G. Breast enlargement at an Italian school. *Lancet*, i: 551-552, 1978.
- 4-Bongiovanni, A.M. An epidemic of premature thelarche in Puerto Rico. *J. Pediat.*, 103: 245-246, 1983.
- 5- Rodriguez, C.A.S. Environmental hormone contamination in Puerto Rico. *N. Eng. J. Med.*, 310: 1741-1742, 1984.
- 6-Rodriguez, C.A.S. and Toro-sola, M.A. Anabolic steroids in meat and premature telarche. *Lancet*, 1: 1300, 1982.
- 7- Lamming, G.E. Scientific report on anabolic agents in animal production. *Vet. Rec.*, 122: 389-391, 1987.
- 8- Sawyer, G.J. and Barker, D.J. Growth promotants in cattle in Australia. *Aust. Vet. J.*, 65: 101-108, 1988.
- 9- Sundlof, S.F. and Strickland, C. Zearalenone and zeranol: Potential residue problems in livestock. *Vet. Hum. Toxicol.*, 28: 242-250, 1986.
- 10- Beverly, J.R. Ralgro-Its mode of action. In: Proceedings of the meeting implanting for growth, 5-19, 1984.
- 11- Hidy, P.H., Baldwin, R.S., Greasham, R.L., Keith, C.L. and McMullen, J.R. Zearalenone and some derivatives: Production and biological activities. *Adv. Appl. Microbiol.*, 22: 59-82, 1977.
- 12- Katzenellenbogen, B.S., Katzenellenbogen, J.A. and Mordecai, D. Zearalenones: Characterization of the estrogenic potencies and receptor interactions of a series of fungal  $\beta$ -resorcylic acid lactones. *Endocrinology*, 105: 33-40, 1979.
- 13- Trenkle, A. Mechanism of action for the use of anabolics. In: E Meissonier, (e): *Anabolics in Animal Productions*, OIE, Paris, p 65-73, 1983.
- 14- Buttery, B.J., Vernon, B.G. and Pearson, J.T. Anabolic agents-some thoughts on their mode of action. *Proc. Nutr. Soc.*, 37: 311-315, 1978.
- 15- Azzali, G.R. Histochemical and ultrastructural modifications of mice endometrium, vagina and pituitary following zeranol treatment. *Experientia*, 33: 1638-1639, 1977.
- 16- Rao Veeramachaneni, D.N., Sherman, G.B., Floyd, J.G., Ott, R.S. and Hixon, J.E. Zeranol and estradiol induce similar lesions in the testis and epididymides of the prepubertal beef bull. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 10: 73-81, 1988.
- 17- Rothenbacher, H., Wiggins, J.P. and Wilson, L.L. Pathological changes in endocrine glands and certain other tissues of lambs implanted with the synthetic growth promotant zeranol. *Am. J. Vet. Res.*, 36: 1313-1317, 1975.
- 18- Wiggins, J.P., Rothenbacher, H. and Wilson, L.L. Histologic evaluation of the effects of diethylstilbestrol and zeranol on certain lamb tissues. *Am. J. Vet. Res.*, 41: 487-492, 1980.
- 19- Çiftçi, M.K. and Kıran, M.M. Erkek Merinos kuzulara implante edilen zeranolun genital organlara etkisi üzerine histopatolojik incelemeler. *S.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 7: 16-22, 1990.
- 20- Çiftçi, M.K., Deligözoğlu, F., Kaya, Z. ve Traş, B. Zeranol implante edilen pubertal dönemdeki esmer erkek ırk danaların testis, epididimis ve eklemi bezlerinde görülen histopatolojik değişiklikler. *S.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 6: 23-28, 1990.
- 21- Luna, L.G. *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*, 3th Ed., McGraw-Hill Book Company, New York, USA, 1968.
- 22- Food and Drug Administration. Part 135b-New animal drugs for implantation or injection. Part 135g-Tolerances for residues of new animal drugs in food. *Federal Register* 35,(168), 13727-13728, 1970.
- 23- Hassan, A.H.S., Kamel, G. and El-Hammosi, F.F. The effect of zeranol implantation on some endocrine glands and gonads in fat-tailed lambs. 1. The pituitary gland (Pars distalis) *Z. Mikrosk. Anat. Forsch. (Leipz.)*, 95: 634-646, 1981.
- 24- Wiggins, J.P., Rothenbacher, H., Wilson, L.L., Martin, R.J., Wangness, R.J. and Ziegler, J.H. Growth and endocrine responses of lambs to zeranol implants: Effects of preimplant growth rate and breed of sire. *J. Anim. Sci.*, 49: 291-297, 1979.
- 25- Ballachey, B.E., Miller, H.L., Jost, L.K. and Evenson, D.P. Flow cytometry evaluation of testicular and sperm cells obtained from bulls implanted with zeranol. *J. Anim. Sci.*, 63: 995-1004, 1986.
- 26- Godfrey, R.W., Randel, R.D. and Rouquette, F.M. Effect of zeranol on sexual development of cross bulls. *J. Anim. Sci.*, 67: 1751-1756, 1989.
- 27-Gray, D.G., Unruh, J.A., Dikeman, M.E. and Stevenson, J.S. Implanting young bulls with zeranol from birth to four slaughter ages: III. Growth performance and endocrine aspects. *J. Anim. Sci.*, 63: 747-756, 1986.
- 28- Juniewicz, P.E., Welsh, T.H. and Johnson, B.H. Effects of zeranol upon bovine testicular function. *Theriogenology*, 23: 565-582, 1985
- 29- Staigmiller, R.B., Brownson, R.M., Kartcher, R.J. and Williams, J.H. Sexual development in beef bulls following zeranol implants. *J. Anim. Sci.*, 60: 342-351, 1985.
- 30- Floyd, J.G., Ott, R.S., Hixon, J.E., Rao Veeramacheni, D.N., Willms, C.F. and Paret, D.G. Effects of zeranol implanted during a postweaning weight gain test on testicular, semen, and endocrine characteristics of bulls. *Am. J. Vet. Res.*, 55: 556-560, 1994.
- 31- Carr, W.R. and Land, R.B. Plasma luteinizing hormone levels and testis diameters of ram lambs of different breeds. *J. Reprod. Fert.*, 42: 325-333, 1975.
- 32- Skinner, J.D., Booth, W.D., Rowson, L.E.A. and Karg, H. The post-natal development of the reproductive tract of the Suffolk ram, and changes in the gonadotrophin content of the pituitary. *J. Reprod. Fert.*, 16: 463-477, 1968.
- 33- Deschamps, J.C., Ott, R.S., McEntee, K., Heath, E.H., Heinrichs, R.R., Shaks, R.D. and Hixon, J.E. Effects of zeranol on reproductions in beef bulls: Scrotal circumference, serving ability, semen characteristics, and pathologic changes of the reproductive organs. *Am. J. Vet. Res.*, 48: 137-147, 1987.
- 34- Kroes, R., Berkvens, J.M., Loendersloot, H.T. and Ruitenber, E.J. Oestrogen-induced changes in the genital tract of the male calf. *Zbl. Vet. Med. A*, 18: 717-730, 1971.
- 35- Kurtz, H.J., Nairn, M.E., Nelson, G.H., Christensen, C.M. and Mirocha, C.J. Histologic changes in the genital tracts of swine fed estrogenic mycotoxin. *Am. J. Vet. Res.*, 30: 551-556, 1969.
- 36- Mirocha, C.J., Christensen, C.M. and Nelson, G.H. Estrogenic metabolite produced by *Fusarium graminearum* in stored corn. *Appl. Microbiol.*, 15: 497-503, 1967.
- 37- Ruitenber, E.J., Kroes, R. and Berkvens, J. Evaluation of the "prostate test" in checking the administration of oestrogens in the calf. *Zbl. Vet. Med. A*, 17: 351-357, 1970.
- 38- Maxie, M.G. *The Urinary System*. In: K.V.F. Jubb, P.C. Kennedy, and N., Palmer (e): *Pathology of Domestic Animals*, Third edition, Academic Press, Orlando, Florida, USA, p 395, 1985.
- 39- Udall, R.H. and Jensen, R. Studies on urolithiasis. II. The occurrence in feedlot lambs following implantations of diethylstilbestrol. *J. A V M A*, 15: 514-516, 1958.
- 40- Gardner, J.J. and Adams, N.R. The effects of zeranol and testosterone on Merino wethers exposed to highly oestrogenic subterranean clover pasture. *Aust. Vet. J.*, 63: 188-190, 1986.
- 41- Pryor, W.J. Implantation of resorcylic acid lactone in cattle and sheep. *Aust. Vet. J.*, 49: 593-594, 1973.
- 42- Anonim . A growing controversy. *Vet. Rec.*, 138: 121, 1996.
- 43- Lamming, G.E. Scientific report on anabolic agents in animal production. *Vet. Rec.*, 122:389-391, 1987.

# Vakumla Paketlenmiş Sosis ve Salamların Mikrobiyolojik Kalitelerinin İncelenmesi\*

Sema AĞAOĞLU<sup>1</sup>

## Özet

Bu çalışmada Ankara piyasasında tüketime sunulan vakumla paketlenmiş salam ve sosislerin mikrobiyolojik kaliteleri incelendi. Üç ayrı firmaya ait toplam 20'şer adet vakumla paketlenmiş salam ve sosis numunesi aerob genel canlı, enterobakteriler, koliform bakteriler, mikrokok ve stafilokoklar, koagülaz-pozitif stafilokoklar, laktobasiller, enterokoklar, sülfite indirgeyen clostridia'lar, maya ve küfler yönünden incelendi.

Analiz edilen tüm örneklerde aerob genel canlı sayısının  $10^5$ - $10^9$ /g arasında değiştiği, Laktobasillerin  $10^5$ - $10^9$ /g arasında değişen sayılarla dominant florayı oluşturdukları saptanmıştır. Numunelerin hiçbirinde Enterobacteriaceae, Koliform grubu bakteri, Koagülaz-pozitif stafilokoklar ve Sülfite indirgeyen clostridia'lar bulunmamıştır.

Sonuç olarak, numunelerin tümü hijyen indikatörü mikroorganizmalar ve patojen bakteriler yönünden Gıda Tüzüğü ve Standart'larına uygun bulunmuşlardır.

**Anahtar Kelimeler:** Vakumla paketlenme, Sosis, Salam, Mikrobiyolojik Kalite

## Summary

### *Investigation of Microbiological Qualities of Vacuum-packed in Salami and Sausages*

In this study, microbiological qualities of vacuum-packed salami and sausages consumed in Ankara markets were investigated. Totally twenty vacuum-packed salami and sausage samples belonging to three different firms were examined in terms of aerob organisms, Enterobacteriaceae, Coagulase-positive Staphylococci, Lactobacillus, Enterococcus, Sulphite reduced Clostridia, Molds and Yeasts.

In all samples, it was determined that aerob organisms varying between  $10^5$  and  $10^9$ /g, and Lactobacillus between  $10^5$ - $10^9$ /g had made up the dominant flora.

None of the samples contained Enterobacteriaceae, Coliform bacteria, Coagulase-positive Staphylococci and Sulphite reduced Clostridia.

As a result, the samples were found suitable with regard to hygienic indicator microorganisms and pathogenic bacteria according to Turkish Food Regulation and Standards.

**Key Words:** Vacuum-packed, Sausages, Salami, Microbiological qualities

## Giriş

Et ve et ürünlerinin kalite ve halk sağlığı yönünden güvenilirliklerini belirleyen en önemli parametreler mikrobiyolojik durum ve dayanma süresidir. Son yıllarda et ve et ürünlerinin dayanma sürelerinin artırılması üzerinde yapılan çalışmalar, düşük oksijen miktarına sahip atmosferlerin et ürünlerinin dayanma sürelerini artırdığını ortaya koymuştur (1,2,3). Bu nedenle et ve et ürünlerinin muhafaza ve pazarlamasında vakumla paketlenme büyük bir önem kazanmıştır.

Ancak, vakumla paketlenmiş et ürünlerinin dayanma süreleri, muhafaza ısısına bağlı olarak öncelikle

mikrobiyolojik, daha az olmak üzere de çeşitli kimyasal veya fiziksel etkenlerle sınırlanmaktadır (4,5).

Çeşitli araştırmacılar, salam ve sosislerde kesme ve paketlenme sırasında meydana gelen bakteriyel kontaminasyonun bu ürünlerin hijyenik durumunu belirlediğini, paketlenme sırasında bulaşan bakteri sayısı ile bu ürünlerin muhafaza süresi arasında çok yakın bir ilgi bulunduğunu bildirmektedirler (6,7,8,9). Örneğin optimum hijyenik koşullarda üretilen taze salam ve sosis dilimlerinin bir gramında mevcut 100-300 bakteri sayısı kesme, ve paketlenme işlemleri sırasında önemli derecede artmaktadır (10).

Vakumla paketlenmiş et ürünlerinde dayanma süresi ile ilgili olarak paketlenme sırasında alınacak hijyenik önlemler, bu ürünlerin süratle bozulmasına

\* Uzmanlık tezinden özetlenmiştir.

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, VAN

neden olan bakterilerle kontaminasyonu önemli derecede engellemektedir (10,11).

Bunların yanı sıra, kullanılan paketlenme materyali de büyük önem taşımaktadır. Ürünün kalitesini korumak ve dayanma süresini uzatmak bakımından optimum oksijen azalması sağlayacak şiddette bir vakum ve yeterli kalınlıkta folye kullanılması gerekmektedir (12,13).

Bilindiği üzere gıda maddelerinde dayanıklılık özellikle muhafaza ısılarına bağlı olup, kimyasal reaksiyonların hızı 10°C'lik ısı yükselmelerinde 2-3 misli artmaktadır (14,15).

Soğukla muhafaza, mikrobiyal bozulma süresini yavaşlattığı gibi muhafaza süresini de uzatmaktadır. Ayrıca çoğu enfeksiyon ve intoksikasyon etkenlerinin 10-15 °C'lik minimum üreme ısılarına sahip olmaları nedeniyle, patojen bakterilerin üreme ve toksin oluşturmalarına karşı da koruyucu bir faktör olarak rol oynamaktadır (16,17).

Vakumla paketlenmiş et ürünlerinde mikroaerob ortam, sabit rutubet ve vakum vasıtasıyla çıkan et suyu nedeniyle laktobasiller aşırı şekilde çoğalarak dominant florayı oluşturmaktadırlar (2,14,18,19,20).

Laktobasiller, kendileri tarafından meydana getirilen laktik asit ve bunun sonucu olarak şekillenen pH düşmesi nedeniyle proteolitik etkenlere karşı ürünün dayanıklılığını belirli derecede sağlamaktadırlar (20).

Çeşitli araştırmalara göre laktobasillerin yanı sıra enterokoklar, özellikle et ürünlerinde dominant ve bu ürünlere özgü florayı oluşturmaktadır (15,21).

Enterobacteriaceae familyasına ait ve et ürünlerinin fekal kirliliği için indikatör olarak kabul edilen koliform bakterilerin pastörize edilmiş et ürünlerinde mevcudiyeti, ısı işleminin yetersizliğini veya kesme, dilimleme ve paketlenme sırasındaki rekontaminasyonu göstermektedir (16).

Vakumla paketlenmiş ve 4-7°C'de muhafaza edilmiş et ürünlerinde enterokok ve mikrokoklar maksimum 10<sup>4</sup>/g'lık değerlere ulaşabilmektedir (15,22,23). Daha yüksek enterokok sayıları, yetersiz işletme hijyeni ve hatalı muhafaza ısılarına işaret etmektedir (17).

Mayalar sporadik olarak izole edilmekte ve 10<sup>4</sup>/g'lık limit değerinin üzerinde hemen hemen hiç ürememektedir (22).

Teknolojisine uygun olarak üretilmiş ve vakumla paketlenmiş et ürünlerinde patojen bakteriler önemli bir sağlık riski oluşturmamaktadırlar. Bunun nedeni, patojen bakterilerin bu ürünlerde uygun üreme koşullarına sahip olamamalarıdır. Bununla birlikte hastalık etkeni mikroorganizmalar bu ürünlere pastörizasyon işleminden sonra sekonder kontaminasyonlar yoluyla ulaşabilmekte ve rekabet edebilecek floranda mevcut olmaması nedeniyle sağlık sorunu yaratabilmektedirler (24).

Çeşitli araştırmacılar, vakumla paketlenmiş et ürünlerinde dayanma süresi içerisinde hiçbir patojen bakteri saptamamışlardır (25,26,27).

Reuter (20), vakumla paketlenmiş et ürünlerinde patojen bakterilerin belirlenmesini laktobasillerin soğukta muhafaza koşulları altındaki antagonist etkisine bağlamaktadır. Aynı araştırmacı in vitro olarak yapmış olduğu başka bir çalışmada (28), laktobasiller vasıtasıyla en çok *Pseudomonas* ve *Aeromonas*'ların, daha sonra da basillerin inhibe edildiklerini, en çok dirençli olanların *Staph. aureus* ve *Enterobacteriaceae*'ların olduğunu saptamıştır. Bu inhibe edici etkide öncelikle Laktobasiller tarafından meydana getirilen asitler sorumlu bulunmaktadır (2,28).

Franken ve arkadaşları (29) tarafından pastörize et ürünleri için önerilen mikrobiyolojik kriterlere göre bu ürünlerde aerob genel canlı sayısının en çok 10<sup>5</sup>/g; sülfid indirgeyen *Clostridia*'ların en çok 2x10<sup>1</sup>/g olması, gram negatif ve patojen bakteri bulunmaması gerekmektedir. Carl (30) işlenmiş ve ısıtılmış et ürünlerinde aerob genel canlı sayısının en çok 1x10<sup>6</sup>/g olması gerektiğini bildirmektedir.

Ülkemizde gıda tüzüğü ile sosis ve salam standartlarında (31,32) vakumla paketlenmiş sosis ve salamlar için özel hükümler mevcut olmayıp, ancak patojen mikroorganizma ve *E.coli* bulunmaması öngörülmektedir.

Bu çalışma, Ankara piyasasında satılan vakumla paketlenmiş sosis ve salamların mikrobiyolojik kalitelerini belirlemek amacı ile ele alınmıştır.

## Materyal ve Metot

**Materyal:** Araştırmada materyal olarak Ankara piyasasından temin edilen üç ayrı firmaya ait 20'şer adet vakumla paketlenmiş sosis ve salam örneği kullanılmıştır. Örneklerin seçiminde dayanma sürelerinin tamamlanmamış olmasına ve tüketicilere sunuldukları şekilde alınmasına özen gösterilmiş ve numuneler aynı gün mikrobiyolojik analize alınmıştır.

**Metot:** Mikroorganizmaların sayımı ve değerlendirilmesi:

### Örneklerin Hazırlanması.

Sosis ve salam örneklerinden aseptik şartlarda 10'ar gram alınarak steril naylon torbalar içerisinde 90 ml. %0.1'lik peptonlu su ile stomacher'de homojenize edilmiş, 10<sup>2</sup>-10<sup>10</sup> arasında dilusyonları yapılarak önceden hazırlanmış katı besi yerlerine damla plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. Numunelerin mikrobiyolojik analizlerinde çeşitli araştırmacılar (33,34,35) tarafından önerilen besi yerleri ve inkübasyon koşulları kullanılmıştır.

### Aerob genel canlı bakteri sayımı

Aerob genel canlı sayısının belirlenmesinde Plate Count Agar (PCA) (Oxoid) kullanılmış ve plaklar 30°C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

### Enterobacteriaceae.

Numunelerdeki Enterobacteriaceae sayısı 37°C'de 24 saat inkübe edilen Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG) plaklarında saptanmıştır.

### Koliform grubu bakteriler.



Koliform grubu bakteriler için Violet Red Bile Agar (VRBA) (Oxoid) ve 37°C'de 24 saat inkübasyon koşulları kullanılmıştır.

*Mikrokok ve stafilocoklar.*

Örneklerden Mikrokok ve Stafilocokların izolasyonunda Staphylococcus Medium 110 kullanılmış, plaklar 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir.

*Koagulaz-pozitif stafilocoklar.*

Koagulaz-pozitif stafilocokların belirlenmesinde Baird Parker Medium (BP) kullanılmış ve plaklar, 37°C'de 48 saat inkübe edilerek, tipik koloniler koagulaz pozitif stafilocoklar yönünden koagulaz testine tabi tutulmuştur.

*Laktobasiller.*

Numunelerde mevcut laktobasillerin sayısı Laktobacillus Agar'a (LA) ekilen ve 30°C'de 48 saat anaerob koşullar altında inkübe edilen plaklarda saptanmıştır.

*Enterokoklar.*

Enterokoklar yönünden Slanetz-Bartley Medium Agar (SB) kullanılmış olup, plaklar 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir.

*Sülfite indirgeyen Clostridialar.*

Sülfite indirgeyen Clostridia'lar, Sülfite- Polymyxin Sulfadiazine Agar (SPS) ve 37°C'de 48 saat anaerob inkübasyon koşulları kullanılarak saptanmıştır.

*Maya ve Küfler.*

Numunelerin maya ve küfler yönünden kontaminasyonu Potato Dextrose Agar'da (PDA) 25°C'de 48 saat inkübasyon sonucunda belirlenmiştir.

## Bulgular

Ankara piyasasında tüketime sunulan vakumlu paketlenmiş üç ayrı firmaya ait toplam 20'şer adet salam ve sosis numunelerinden elde edilen mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 1-4'te gösterilmiştir.

**Salam:** Salam numunelerine ait mikrobiyolojik bulgular incelendiğinde (Tablo 1-2), aerob genel canlı sayısının  $5.1 \times 10^8$ - $6.6 \times 10^9$ /g arasında değiştiği, 4 numunede  $10^8$ /g (% 20) ve 16 numunede  $10^9$ /g (% 80) olarak belirlenmiştir. Salam örneklerinin hiçbirinde Enterobacteriaceae ve Koliform grubu bakteriler saptanmamıştır. Numunelerde mikrokok ve stafilocok sayısının  $2.2 \times 10^2$ - $3.6 \times 10^3$ /g arasında değiştiği, yaklaşık %75'nin  $10^3$ - $10^4$ /g'da üreme göstermesine karşın, hiçbir numunede koagulaz-pozitif stafilocok belirlenmemiştir. Laktobasillerin sayısı  $2.8 \times 10^8$ - $7.0 \times 10^9$ /g olarak tesbit edilmiştir. Numunelerin %15'inde  $10^2$ /g ve %15'inde ise  $10^3$ /g oranında Enterokoklara rastlanmıştır. Numunelerin hiçbirinde sülfite indirgeyen clostridia'lara rastlanmamıştır. Maya ve küflerin sayısı ise  $3.2 \times 10^2$ - $4.3 \times 10^5$ /g arasında belirlenmiştir.

Tablo 1. Salam numunelerindeki mikroorganizma sayıları/g

Mikroorganizma	NUMUNELER								
	A Firması			B Firması			C Firması		
	n	Min.	Max.	n	Min.	Max.	n	Min.	Max.
Aerob genel canlı	7	$5.1 \times 10^8$	$3.4 \times 10^9$	7	$5.4 \times 10^8$	$2.2 \times 10^9$	6	$1.0 \times 10^9$	$6.0 \times 10^9$
Enterobacteriaceae	7	-	-	7	-	-	6	-	-
Koliform	7	-	-	7	-	-	6	-	-
Mikrokok ve Stafilocok	7	$2.2 \times 10^2$	$3.6 \times 10^3$	7	$1.4 \times 10^3$	$8.0 \times 10^4$	6	$2.0 \times 10^3$	$2.0 \times 10^4$
Koagulaz-pozitif stafilocok	7	-	-	7	-	-	6	-	-
Laktobasiller	7	$2.8 \times 10^8$	$1.9 \times 10^9$	7	$3.4 \times 10^8$	$8.0 \times 10^9$	6	$4.6 \times 10^8$	$7.0 \times 10^9$
Enterokoklar	7	-	$2.0 \times 10^2$	7	-	$1.2 \times 10^2$	6	$2.2 \times 10^2$	$1.6 \times 10^3$
Sülfite indirgeyen clostridi'a'lar	7	-	-	7	-	-	6	-	-
Maya ve Küf	7	$1.7 \times 10^3$	$4.3 \times 10^5$	7	$3.2 \times 10^2$	$6.3 \times 10^4$	6	$3.0 \times 10^3$	$2.4 \times 10^5$

Tablo 2. Salam numunelerinin mikrobiyolojik analiz bulguları

Mikroorganizma	Numunelerin 1 gramındaki mikroorganizma sayılarına göre yüzdeleri																	
	1.1-9.9X																	
	<10 <sup>2</sup>		10 <sup>2</sup>		10 <sup>3</sup>		10 <sup>4</sup>		10 <sup>5</sup>		10 <sup>6</sup>		10 <sup>7</sup>		10 <sup>8</sup>		10 <sup>9</sup>	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Aerob genel canlı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	20	16	80	-	-
Enterobacteriaceae	20	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Koliform	20	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mikrokok ve Stafilocok	-	-	3	15	8	40	7	35	2	10	-	-	-	-	-	-	-	-
Koagulaz-pozitif stafilocok	20	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktobasiller	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	55	9	45	-	-
Enterokoklar	16	80	3	15	1	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sülfite indirgeyen Clostridia'lar	20	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maya ve Küf	-	-	1	5	7	35	7	35	5	25	-	-	-	-	-	-	-	-

**Sosis:**Sosis numunelerine ait mikrobiyolojik bulgular incelendiğinde (Tablo 3-4), aerob genel canlı sayısı  $5.8 \times 10^5$ - $2.1 \times 10^9$ /g arasında belirlenmiştir. Numunelerin hiçbirinde Enterobacteriaceae ve Koliform grubu bakteriler saptanmamıştır. Mikrokok ve Stafilokok grubu mikroorganizma sayısının örneklerde  $1.4 \times 10^2$ - $3.6 \times 10^4$ /g arasında değiştiği, 7 numunede  $10^2$ /g (%35), 12 numunede  $10^3$ /g (%35) ve 1 numunede  $10^4$ /g (%5)

olarak belirlenmesine karşın hiçbir numunede koagülaz-pozitif stafilokok belirlenmemiştir. Numunelerde laktobasillerin sayısı  $2.0 \times 10^5$ - $8.3 \times 10^8$ /g arasında belirlenmiştir. Sosis numunelerinin hiçbirinde Enterokok ve Sülfite indirgeyen Clostridia'lara rastlanmamıştır. Maya ve küf sayıları ise  $2.0 \times 10^2$ - $2.0 \times 10^4$ /g arasında belirlenmiştir.

Tablo 3. Sosis numunelerindeki mikroorganizma sayıları/g

Mikroorganizma	NUMUNELER								
	A Firması			B Firması			C Firması		
	n	Min.	Max.	n	Min.	Max.	n	Min.	Max.
Aerob Genel canlı	7	$1.5 \times 10^5$	$3.4 \times 10^7$	7	$5.8 \times 10^5$	$2.1 \times 10^9$	6	$1.6 \times 10^5$	$1.0 \times 10^8$
Enterobacteriaceae	7	-	-	7	-	-	6	-	-
Koliform	7	-	-	7	-	-	6	-	-
Mikrokok ve Stafilokok	7	$1.4 \times 10^2$	$2.5 \times 10^3$	7	$2.5 \times 10^2$	$6.4 \times 10^3$	6	$2.0 \times 10^2$	$3.6 \times 10^4$
Koagülaz-pozitif stafilokok	7	-	-	7	-	-	6	-	-
Laktobasiller	7	$6.8 \times 10^5$	$2.7 \times 10^7$	7	$1.6 \times 10^5$	$8.3 \times 10^8$	6	$2.0 \times 10^5$	$3.4 \times 10^7$
Enterokoklar	7	-	-	7	-	-	6	-	-
Sülfite indirgeyen Clostridia'lar	7	-	-	7	-	-	6	-	-
Maya ve Küf	7	$2.0 \times 10^2$	$1.2 \times 10^3$	7	$4.0 \times 10^2$	$8.9 \times 10^3$	6	$3.2 \times 10^3$	$2.0 \times 10^4$

Tablo 4. Sosis numunelerinin mikrobiyolojik analiz bulguları

Mikroorganizma	Numunelerin 1 gramındaki mikroorganizma sayılarına göre yüzdeleri																
	1.1-9.9X																
	$<10^2$		$10^2$		$10^3$		$10^4$		$10^5$		$10^7$		$10^8$		$10^9$		
n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Aerob Genel canlı	-	-	-	-	-	-	-	1	5	9	45	7	35	2	10	1	5
Enterobacteriaceae	20	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Koliform	20	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mikrokok ve Stafilokok	-	-	7	35	12	60	1	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Koagülaz-pozitif stafilokok	20	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktobasiller	-	-	-	-	-	-	-	2	10	9	45	7	35	2	10	-	-
Enterokoklar	20	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sülfite indirgeyen Clostridia'lar	2	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maya ve Küf	-	-	7	35	12	60	1	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-

### Tartışma ve Sonuç

Yapılan mikrobiyolojik analiz bulgularına göre Ankara piyasasında satılan ve mikrobiyolojik kaliteleri yönünden incelenen üç ayrı firmaya toplam 20'şer adet vakumla paketlenmiş salam ve sosis numunelerinin hiç birinin enterobakteriler, koliform grubu mikroorganizma, koagülaz-pozitif stafilokok ve sülfite indirgeyen clostridia içermedikleri saptanmıştır. Aerob genel canlı mikroorganizma sayısının incelenen salam numunelerinde  $10^8$ - $10^9$ /g arasında değiştiği, sosis numunelerinde ise  $10^5$ - $10^9$ /g arasında bulunduğu ve en büyük payla % 45'inde  $10^6$ /g olduğu görülmektedir. Mikrokok ve Stafilokoklar yönünden salamların  $10^2$ - $10^5$ /g; sosislerin ise  $10^2$ - $10^4$ /g arasında değişen değerlere sahip oldukları belirlenmiştir. İncelenen vakumla paketlenmiş salam ve sosislerde dominant florayı Laktobasillerin oluşturduğu ve sayılarının salamlarda  $10^8$ - $10^9$ /g; sosislerde ise  $10^5$ - $10^8$ /g arasında değiştiği görülmektedir. Fekal kirliliği gösteren indikatör mikroorganizmalardan Enterokoklar yönünden salam örneklerinin % 4'ünde  $10^2$ - $10^3$ /g arasında değişen sayılarda Enterokok saptanmış, buna karşılık sosis

örneklerinde Enterokok bulunmamıştır. Maya ve küfler yönünden tüm salam ve sosis örneklerinin kontamine olduğu ve sayılarının salamlarda  $10^2$ - $10^5$ /g; sosislerde  $10^2$ - $10^4$ /g arasında değiştiği görülmüştür.

Ülkemizde önemli miktarda vakumla paketlenmiş salam ve sosis üretimi yapan üç büyük firmaya ait numuneler arasında mikrobiyolojik analiz bulguları yönünden önemli farklar bulunmamıştır.

İncelenen vakumla paketlenmiş salam numunelerinde aerob genel canlı, laktobasil, enterokok, maya küf sayılarının sosis numunelerindekinden daha

yüksek olduğu görülmektedir. Salam numunelerinin dilimlenmiş olduğu, buna karşılık sosis numunelerinin bütün halinde buldukları dikkate alındığında, bu durum salam numunelerinin dilimleme ve paketlenme sırasında daha fazla kontamine olduklarını ve bu konudaki literatür verilerinin doğruluğunu ortaya koymaktadır (10,11).

Fekal kirliliği gösteren indikatör mikroorganizmalardan Enterobacteriaceae ve koliform grubu mikroorganizmalar yönünden numunelerin tümü temiz olmasına karşın, sadece salam numunelerinden %

4'ünün  $10^2-10^3/g$  arasında değişen sayılarda Enterokoklarla kontamine oldukları görülmektedir. Reuter (15)'in vakumla paketlenmiş salam dilimlerinde  $4-6^0C$ 'lik muhafaza ısılarında Enterokok ve mikrobokların gelişemedikleri hakkındaki görüşleri dikkate alındığında, bu durum yapılan bu çalışmada incelenen salam numunelerinin gerekli ısılarda muhafaza edilemediklerini yada yeterli şekilde pastörize edilemediklerini göstermektedir. Ancak Daelman ve Hoff (16)'un pastörize edilmiş ve vakumla paketlenmiş et ürünlerinde Laktobasillerin yanı sıra Enterokokların dominant florayı oluşturduğu hakkındaki görüşleri, bu ürünlerde gerekli pastörizasyon ve soğukla muhafaza koşullarına rağmen Enterokokların varolabileceğini ve bu bakımdan Enterokok sayısı ile bu ürünlerin mikrobiyolojik kaliteleri hakkında hüküm verilemeyeceğini ortaya koymaktadır. Stafilokok ve mikroboklar yönünden de aynı durum söz konusudur. Çünkü çeşitli araştırmacılar vakumla paketlenmiş ve  $4-7^0C$ 'de muhafaza edilmiş et ürünlerinde en çok  $10^4/g$ 'a ulaşan sayılarda Enterokok ve mikrobok saptamışlardır (15,22,23).

İncelenen numunelerin hiçbirinde patojen bakteri saptanmamıştır. Bulgularımıza göre tüm numunelerde laktobasillerin dominant florayı oluşturması ve hiçbir patojen bakteri izole edilmemiş olması literatür (26,27,28) verilerine uyum göstermekte ve laktobasillerin patojen bakteriler üzerindeki inhibe edici etkisi ile numunelerin yeteri şekilde vakumla paketlenmiş olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak vakumla paketlenmiş salam ve sosis numunelerinin tümü, hijyen indikatörü mikroorganizmalar ve patojen bakteriler yönünden literatür verileri ile gıda tüzüğü ve ilgili standartlarda belirtilen mikrobiyolojik kriterlere uygun bulunmuşlardır.

## Kaynaklar

- 1-Blickstad E, Molin G: The microbial of smoked pork loin and frankfurter sausage stored in different gas atmosferes at  $4^0C$ , J. Appl. Bact. 54, 45-56, (1983)
- 2-Grau FH: The spoilage of meat and meat products, Fd. Technol. Australia.30, 385-388, (1980)
- 3-Newton KC, Harrison JCL, Smith KH: The effect of storage in various gaseous atmosferes on the microflora of lamb chops held at  $-1^0C$ , J.Appl. Bact. 43, 53-59, (1977)
- 4-Leistner LH, Hechelmann H, Bem Z: Microbiologische Routineuntersuchungen von Fleischerzeugnissen im Herstellerbetrieb, Fleischwirtsch., 58(8), 1279-1283, (1978)
- 5-Neumary L: Bedeutung der Keimzahl, Fleischerei. 32(3), 156-159, (1981)
- 6-Gilka J, Ingr-I, Palasek J: Beurteilung des Frischegrades von zu Halbfertigerzeugnissen bestimmtem Feisch., Fleischwirtsch, 60(1), 18-122, (1980).
- 7-Leistner L: Haltbarkeit von Brühwurst, Fleischwirtsch, 56(4), 471-474, (1976).
- 8-Mossel DAA: Die mikrobiellen Assoziationen in Lebensmitteln tierischen Ursprungs, Arch. Lebensmittelhyg,30, 82-85, (1980).
- 9-Oblinger JL, Kennedy JR: Microbiological evaluation of selected delicatessen meat from retail supermarkets, J. Food Protect. 43(7), 530-533, (1980).

- 10-Schwarz A: Haltbarkeitsfristen von vorverpackten Wurstwaren, Fleischwirtsch. 56(4), 497-502, (1976).
- 11-Wirth F: Fleischerzeugnisse in SB-Folien-Packungen, Fleischwirtsch 61(5), 690-696, (1981).
- 12-Heiss R: Zur Problematik der Datumskennzeichnung von Lebensmitteln, Ernährungs-Umschau, 27(2), 212-215, (1980).
- 13-Reuter G, Tandler K: Einfluss von Verbundfolien auf die Farbstabilität von vakuum-verpacktem Fleischwaren-Aufschnitt, Fleischwirtsch 44 (12), 1239-1242, (1964).
- 14-Alm F, Erichsen J, Molin N: The effect of vacuum packaging on some sliced processed meat products as Judget by organoleptic and bacteriologic analysis, Food Technol. 15, 199-203, (1961).
- 15-Reuter G: Untersuchungen zur Mikroflora von vorverpackten, aufgeschnittenen Brüh-und Kochwürsten, Arch. Lebensmittelhyg. 21, 257-264, (1970).
- 16-Daelman W, Van Hoof, J: Einfluss des pH-wertes, verwendung von polyphosphat und der Lagerung auf die bakteriologische Beschaffenheit von Brühwurst und Brühwurst auf schnitt, Arch. Lebensmittelhyg. 26 (6), 213-217, (1975).
- 17-Paradis DC, Stiles ME: A study of microbial quality of vacuum packed sliced bologna. J.Food Protect. 41(10), 811-815, (1978).
- 18-Baumgart J, Schmiedel M, Reinke Th: Mikrobielle Stoffwechselprodukte als Indikator der Haltbarkeit von Feinkosterzeugnissen. Alimenta, Sonderansgabe, 51-55, (1977).
- 19-Kempton AG, Bobier, SR: Bacterial growth in refrigerated vacuum-packed luncheon meats. Canad. J. Microbiol. 16(5), 287-297, (1970).
- 20-Reuter G: Laktobazillen und eng verwandte Mikroorganismen in Fleisch und Fleischerzeugnissen, Fleischwirtsch. 50(7), 951-954, (1970).
- 21-Surkiewicz BF, Harris ME, Carolessa JM: Bacteriological survey and refrigerated storage, test of vacuum-packed sliced imported canned ham, J. Food Protect. 40(2), 109-114, (1977).
- 22-Flemming R, Stojanović V: Untersuchungen an vorverpacktem Brühwurstaufschnitt aus dem Handel, Fleischwirtsch. 66, 994-998, (1986).
- 23-Schilinger U, Lücke FK: Milchsäurebakterien Flora auf vakuumverpacktem Fleisch und ihr Einfluss auf die Haltbarkeit, Fleischwirtsch, 66, 1515-1520, (1986).
- 24-Shay BJ, Grau F H, Ford AL, Egan AF, Ratcliff D: Microbiological quality and storage life of sliced vacuum-packed smallgoods, Food Technol, Australia, 30(2), 48-51, (1978).
- 25-Egan AF, Ford AL, Shay BJ: A Comparison of Microbacterium thermosphactum and Lactobacilli as spoilage organisms of vacuum-packaged sliced luncheon meats, J. Food Sci. 45(6), 1745-1748, (1980).
- 26-Steele JE, Stiles ME: Food poisoning potential of artificially contaminated vacuum-packaged sliced ham in sandwiches, J. Food Protect. 44 (6), 430-433, (1981).
- 27-Stiles ME, NG LK: Fate of enteropathogens inoculated on to chopped ham, J. Food Protect. 42(8), 624-626, (1979).
- 28-Reuter G: Untersuchungen zur antagonistischen wirkung der Milchsäurebakterien auf andere Keimgruppen der Lebensmittelflora, Zbl. Vet. Med. 19, 320-325, (1973).
- 29-Frankens H, Hadlok R, Bartels H: Beitrag zur Frage der Aufstellung von Normkeimzahlen für Brühwürste, Fleischwirtsch, 49, 1339-1342, (1969).
- 30-Carl KE: Oregon's experience with microbiological standards for meat, J. Milk Food Technol. 38, 483-487, (1975).
- 31-Türk Standartları Enstitüsü: Salam Standardı, TS. 979, TSE, Ankara, (1972).
- 32-Türk Standartları Enstitüsü: Sosis Standardı, TS, 980, TSE, Ankara, (1984).
- 33-International Commission on Microbiological Specifications for Foods: Microorganism in Foods ICMSF, University of Toronto Press, Toronto, (1982).
- 34-Reuter G: Mikrobiologische Analyse von Lebensmitteln mit selektiven Medien, Arch. Lebensmittelhyg. 21, 30-35, (1970).
- 35-Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Simmer HM: Diagnostic Microbiology, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, Toronto, (1979).

# Farklı Sabunlaştırma Yöntemleri Kullanarak Kan Serumunda ve Sütte Karotin ve Vitamin A Tayini Üzerinde Çalışmalar \*

Nurhayat ATASOY<sup>1</sup>Hayati ÇAMAŞ<sup>2</sup>

## Özet

Bu çalışmada, soğuk ve sıcak sabunlaştırma yöntemleri kullanılarak kan serumunda ve sütte vitamin A ile total karotinlerin miktarları tayin edildi.

Yirmi koyundan alınan kan serumunda, sabunlaştırma işlemi uygulanmaksızın yapılan tayinde ortalama vitamin A değeri  $37.92 \pm 2.31 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ , total karotin değeri  $51.57 \pm 2.49 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ; soğuk sabunlaştırmada vitamin A  $37.31 \pm 2.39 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ , total karotin  $50.91 \pm 2.59 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ; sıcak sabunlaştırmada ise vitamin A  $37.87 \pm 2.28 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ , total karotin de  $51.06 \pm 2.59 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  olarak bulundu.

Sütteki değerler ise 20 inek sütünün analizi sonunda ortalama vitamin A değerleri soğuk sabunlaştırma ile  $54.09 \pm 5.20 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ , sıcak sabunlaştırma ile  $54.15 \pm 5.17 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ; total karotin değerleri de soğuk sabunlaştırmada  $71.87 \pm 6.71 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ , sıcak sabunlaştırmada  $71.89 \pm 6.72 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  olarak tesbit edildi.

Yapılan istatistikî hesaplamalar sonunda değişik işlemlerle elde edilen değerler arasında herhangi bir fark bulunmadı.

**Anahtar Kelimeler:** Vitamin A, Total karotin, Sıcak sabunlaştırma, Soğuk sabunlaştırma, Süt ve serum.

## Summary

### Studies on Vitamin A and Carotene Levels in Blood Serum and Milk by Using Different Saponification Methods

In this study, by using cold and hot Saponification methods, the amounts of vitamin A and the total carotene in blood serum and milk has been determined.

The total vitamin A value in blood serums taken from 20 sheep, without using saponification method, was  $37.92 \pm 2.31 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ , the total carotene value was  $51.57 \pm 2.49 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ; the vitamin A value in cold saponification was  $37.31 \pm 2.39 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ , the total carotene value was  $50.91 \pm 2.59 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ; as to the hot saponification, the vitamin A value was  $37.87 \pm 2.28 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ , and the total carotene was  $51.06 \pm 2.59 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ .

As to the values in milk; the average vitamin A values in milk taken from 20 cows, was  $54.09 \pm 5.20 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  in cold saponification, was  $54.15 \pm 5.17 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  in hot saponification, the total carotene values was  $71.87 \pm 6.71 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  in cold saponification, was  $71.89 \pm 6.72 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  in hot saponification.

There were not found any statistically difference between values.

**Key Words:** Vitamin A, Total carotene, Cold saponification, Hot saponification, Milk and serum

## Giriş

Çağımız modern yaşam biçiminin getirdiği bir değişim içindedir. Bu değişimin etkileri sağlıkta ve sağlığın ayrılmaz bir parçası olan beslenmede de görülmektedir. Bir taraftan gelişen teknoloji, laboratuvar olanakları, yeni durumların belirlenmesini gerçekleştiren, öte yandan hızlı yaşam nedeniyle uygulamalar ve alışkanlıkların değişmesi beslenmede

yeni sorunlar ortaya çıkarmaktadır.

Vitaminler vucuttaki büyüme-gelişme ve enerji harcama olaylarını düzenleyen, yeni dokuların yapımı

için şart olan maddelerdir (1). Ülkemiz, en önemli proteini ve vitaminleri sağlayan değişik hayvan gruplarına sahiptir. Böyle olmasına rağmen hayvan yetiştiriciliğinde yeterli bilgiye sahip olunmadığı için

\* Bu çalışma Yüksek Lisans tezinden özetlenmiştir.

<sup>1</sup> Y.Y.Ü., Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, VAN.

<sup>2</sup> K.A.Ü., Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, KARS.

bakım ve beslemede aksaklıklar ortaya çıkmaktadır. Sonuçta vitamin eksikliği hayvanlarda açıkça gözlenmekte ve bu durum onların et ve sütlerine olumsuz yönde yansımaktadır. Hayvanların aldıkları besin maddelerine göre verimlerinde farklı özellikler belirir. Nitekim tereyağında A vitamininin ve karotinin fazla oluşuna göre yağın rengi değişik olur. Karotin fazlalığının yağı sarı renge, A vitamini fazlalığının ise yağı beyaz renge dönüştürdüğü bariz olarak görülür. Vitamin A yağda çözünebilir ve 4 isopren molekülünden kurulmuş çok sayıda doymamış bağa sahip bir alkoldür. Amprik formülü  $C_{20}H_{30}O$ , molekül ağırlığı 286.46'dır (2).

Vitamin A'nın retinol, retinal ve retinoik asit olmak üzere üç biyolojik aktif şeklinde oluştuğu bildirilmektedir (3). A vitamini bileşiklerinin hepsi bir trimetilsikloheksinil grup ve dört çift bağlar ile alltrans polien zinciri ihtiva ederler (4).

A vitamini sadece insan ve hayvanlarda bulunur (3, 5). İnsan ve hayvanların besini olan bitkilerdeki provitaminler barsak yolu ile kana geçer ve oradan da karaciğere gider. Burada karotiniz enzimini yardımıyla aktifleşip vitamin A olur (2). Bitkisel gıdalarda bulunan vitamin A biyolojik olarak aktif değildir (6). Bitkisel kaynaklı besinler, vitamin A'nın provitamini olan  $\beta$ -karotin, hayvansal kaynaklılar ise vitaminin uzun zincirli yağ asitleri ile verdiği retinil esterlerini içerirler (7).

Büyüyen ve gelişen hayvanlarda hücreler farklılaşma yeteneklerini korurlar ve birden fazla yöne doğru farklılık gösterirler. Farklılaşma üzerine vitamin A etkisinin genel bir gözlemi, vitaminin büyük çoğunlukla hareketini bipotansiyel hücreler üzerine yoğunlaştırmış olmasıdır. Vitamin A eksikliğinin hücresel düzeydeki etkileri, gastro-intestinal bölge, üriner bölge, solunum ve ağız bölgesi epiteli olarak hızla farklılaşan dokularda görülür (8, 9, 10, 11).

Ayrıca vitamin A'nın farklılaşma üzerine olan etkisi, kemik ve dişlerin gelişimi (12, 13) ve embriyonal gelişimdeki etkileri, spermatogenesis'in korunması (14, 15) olarak açıklanmıştır. Dünyada ve ülkemizde farklı yıllarda, değişik yöre ve gruplarda yapılan araştırmalar, çeşitli nedenlerden organizmanın alması gereken günlük besin maddelerinin daha az miktarda alındığını göstermektedir. Türkiye'de 1974 yılının Kasım-Temmuz aylarında beslenme konusunda yapılan araştırmanın sonuçları, vitaminlerin tüketiminin yeterli olmadığını göstermiştir. Egemen (1) 'in araştırmalarına göre halkın % 3.3'ü günde 3000-4000 İÜ vitamin A alırken, % 96.7 gibi büyük bir çoğunluğunun bu miktardan çok daha az aldığı tesbit edilmiştir.

Beslenmedeki bu eksiklik, kişi sağlığında ciddi olumsuzluklar yaratmaktadır. Bu nedenle hangi vitaminlerin hangi gıda maddelerinde ne oranda var olduğunun tespit edilip insanların bilgisine sunulması, halk sağlığı yönünden önem taşımaktadır. Ancak bu amaçla kullanılan tayin metodlarının hassas ve güvenilir olması da ayrıca çok önem taşıyan diğer bir husustur.

Kan serumunda vitamin A tayini için çok çeşitli metodlar vardır (16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25,

26). Vitamin A tayinlerinde laboratuvarından laboratuvara büyük farklılıklar olduğu gibi, aynı analiz tekniğinin uygulanmasında bile farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Bu farklılıkların çoğunluğu araç ve gereçte kendisini göstermektedir. Vitamin A'nın tayininde kullanılan metodlar genellikle şunlardır: Vitamin A antimon triklorür ile fotometrik tayini (17, 20), trifloroasetik asit (18), trikloroasetik asit (19), gliseroldiklorohidrin (21) ayırıcıları ile verdiği reaksiyonlara dayanan tayinlerdir. Ayrıca retinolün trimetilsil esterlerini yapıp, gaz kromatografisine vererek Gas chrom Q' üzerinde SE30 kolonu ile tayini de mümkündür (27). Diğer tayin yöntemlerinde ise, ayırma kromatografisi ile Sephadex LH 20'de vitamin A, karotin, vitamin D ve vitamin E'den ayrılır ve UV spektrofotometresinde konsantrasyonu tayin edilir. Biyolojik metodlar da ekseriya belli bir besinin ihtiva ettiği belli bir vitamini tayin etmek için kullanılır. Biyolojik metod zaman alıcı, pahalı ve masraflı bir metod olduğundan dolayı günümüzde sadece kontrol metodu olarak kullanılmaktadır (28).

Serumda  $\beta$ -karotin tayininde metodların çoğunda,  $\beta$ -karotin diğer karotinoidlerle birlikte ekstrakte edilir ve bu karışımın, vizibl sahadaki absorbansının  $\beta$ -karotinin absorbansını temsil ettiği kabul edilir. Aslında kan serumunda total karotinoidlerle  $\beta$ -karotin arasında yüksek pozitif korelasyon ( $r=0.99$ ) mevcut olduğundan, genellikle tayin prosedürü güç olan  $\beta$ -karotin yerine total karotinoidlerin tayini yapılmaktadır (29).

## Materyal ve Metot

### Materyal:

Van ili Bardakçı köyünden yaşları 3-10 arasında değişen 20 baş yerli sığırdan alınan süt örnekleri ile, Van ili Belediye Mezbahasında yaşları 2-5 arasında değişen 20 baş koyundan alınan kan serumu örnekleri araştırmanın materyalini oluşturdu. Kan numuneleri V. jugularisten alındı. Alınan kanlar, santrifüj cihazında 3000 rpm'de 10 dakika döndürülerek serumlar ayrıldı. Daha sonra serumlar, ağız kapaklı steril tüplere alınarak analizler gerçekleştirildi. Süt numuneleri ise steril şartlarda alınarak  $-15^{\circ}C$ 'de dipfrizde muhafaza edildi. İki haftalık sürede aynı süt örneklerine farklı sabunlaştırma yöntemleri uygulandı.

### Metot:

**Kan serumunda vitamin A ve karotin tayini:** Serum ya da serum proteinleri alkol ile çöktürüldü. Karotin ve vitamin A petrol eteriyle ekstrakte edildi. Plazma ya da serumda vitamin A'nın büyük bir bölümü alkol formunda (retinol) bulunduğundan sabunlaştırmaya gerek duymaksızın doğrudan doğruya ekstrakte edildi. Ekstraktın absorpsiyonu 450 nm dalga boyunda okunarak karotin konsantrasyonu tayin edildi. Petrol eteri, azot gazı altında buharlaştırıldı. Geride kalan tortu üzerine kromojen çözelti, yani Carr-Price ayırıcı ilave edildi. Meydana gelen mavi rengin intensitesi 650 nm dalga

boyunda okunarak vitamin A'nın miktarı hesaplandı. Ancak kromojen çözelti ile karotinde renk reaksiyonuna katıldığından burada bir karotin düzeltmesi yapıldı (29).

**Sütte ve kan serumunda soğuk sabunlaştırma ile vitamin kan serumunda A ve karotin tayini:** Sütte ve serumda vitamin A ve karotin tayini için Çamaş (29) tarafından bildirilen Willstaedt metodu uygulandı. Buna göre süt yağı, potasyum hidroksit ile soğuk olarak sabunlaştırıldı. Sabunlaşmayan kısım ekstrakte edildi. Daha sonra sarı rengin 460 nm dalga boyunda; Carr-Price ayırıcın ilavesi ile meydana gelen mavi rengin de 620 nm dalga boyunda okunması ile spektrofotometrik olarak karotin ve vitamin A tayini yapıldı.

**Sütte ve kan serumunda sıcak sabunlaştırma ile vitamin kan serumunda A ve karotin tayini:** Süt yağı ve kan serumu potasyum hidroksit ile sıcak olarak

Tablo 1: Soğuk ve sıcak sabunlaştırma yöntemleri sonunda sütte tayin edilen ortalama vitamin A ve total karotin değerleri.

Vitamin A		Total karotin	
Soğuk sabunlaştırma	Sıcak sabunlaştırma	Soğuk sabunlaştırma	Sıcak sabunlaştırma
$X \pm Sx : 54.09 \pm 5.2$	$X \pm Sx : 54.15 \pm 5.17$	$X \pm Sx : 71.87 \pm 6.71$	$X \pm Sx : 71.89 \pm 6.72$
$T_{1,2} : 0.0$	$T_{2,1} : 0.0$	$T_{1,2} : 0.0$	$T_{2,1} : 0.0$
n: 20	n: 20	n: 20	n: 20

Tablo 2: Sabunlaştırmadan, Soğuk ve sıcak sabunlaştırma yöntemleri sonunda kan serumunda tayin edilen ortalama vitamin A değerleri.

Vitamin A		
Sabunlaştırmadan	Soğuk sabunlaştırma	Sıcak sabunlaştırma
$X \pm Sx : 37.92 \pm 2.31$	$X \pm Sx : 37.31 \pm 2.39$	$X \pm Sx : 37.87 \pm 2.28$
$T_{1,2} : 0.0$	$T_{2,3} : 0.0$	$T_{1,3} : 0.0$
n: 20	n: 20	n: 20

Tablo 3: Sabunlaştırmadan, Soğuk ve sıcak sabunlaştırma yöntemleri sonunda kan serumunda tayin edilen ortalama total karotin değerleri.

Total karotin		
Sabunlaştırmadan	Soğuk sabunlaştırma	Sıcak sabunlaştırma
$X \pm Sx : 51.75 \pm 2.49$	$X \pm Sx : 50.91 \pm 2.59$	$X \pm Sx : 51.06 \pm 2.59$
$T_{1,2} : 0.1$	$T_{2,3} : 0.0$	$T_{3,1} : 0.1$
n: 20	n: 20	n: 20

## Tartışma ve Sonuç

Kan serumunda sabunlaştırma işlemi uygulanmaksızın elde edilen vitamin A değerlerinin ortalaması  $37.92 \pm 2.31 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ , total karotin değerlerinin ortalaması ise  $51.57 \pm 2.49 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  olarak bulunmuştur.

Kan serumunda soğuk sabunlaştırma yönteminin uygulanmasından sonra elde edilen vitamin A değerlerinin ortalaması  $37.31 \pm 2.39 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ , karotin değerlerinin ortalama değerleri ise  $50.91 \pm 2.59 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  olarak tesbit edilmiştir. Kan serumunda sıcak sabunlaştırma işleminden sonra saptanan vitamin A değerlerinin ortalaması  $37.87 \pm 2.28 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ , karotinki de  $51.06 \pm 2.59 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  olarak

bulunmuştur. Her üç yöntem ile elde edilen ortalama vitamin A ve total karotin miktarlarının istatistiki açıdan değerlendirilmesinde, gerek vitamin A yönünden ve gerekse total karotin yönünden önemli bir fark tesbit edilmemiştir.

## Bulgular

Süt ve kan serumlarına ait vitamin A ve total karotin değerleri Tablo 1,2,3'te gösterilmiştir.

bulunmuştur.

Her üç yöntem ile elde edilen ortalama vitamin A ve total karotin miktarlarının istatistiki açıdan değerlendirilmesinde, gerek vitamin A yönünden ve

gerekse total karotin yönünden önemli bir fark tesbit edilmemiştir.

Sütteki Vitamin A ve total karotin değerlerine gelince, soğuk sabunlaştırma yönteminin uygulanmasından sonra ölçülen ortalama vitamin A değeri  $54.09 \pm 5.20 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ , karotin değeri  $71.87 \pm 6.75 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  olarak bulunmuştur. Sıcak sabunlaştırmadan sonra ise ortalama  $54.15 \pm 5.17 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  vitamin A,  $71.89 \pm 6.72 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  total karotin değerleri saptanmıştır.

Kan serumunda olduğu gibi sütte de, her iki yöntemle elde edilen ortalama vitamin A ve total karotin

değerlerinin istatistiki olarak karşılaştırılmasında, gerek vitamin A yönünden ve gerekse total karotin yönünden önemli bir fark bulunmamıştır. Tablo 2 ile Tablo 3 incelendiğinde, sabunlaştırma işlemi uygulanmadan, soğuk ve sıcak sabunlaştırma işleminin uygulanmasından sonra elde edilen vitamin A değerleri ile total karotin değerleri arasında istatistiki açıdan önemli bir farkın bulunmadığı gözlenmiştir. Kromatografi yöntemine başvurulmasının da elde edilen sonuçları etkilemediği görülmüştür.

Total karotin değerlerinin her üç yöntem sonunda benzer olarak ortaya çıkması esasen beklenen bir sonuçtur. Zira kullanılan analiz materyalinde karotinler serbest olarak bulunmaktadır. Oksitlenmeye karşı korunduğunda materyalin içerdiği karotinlerin hemen hemen tümü ekstrakte edilebilmektedir. Ancak vitamin A için aynı şey söylenemez. Çünkü kan serumunda az da olsa vitamin A'nın % 20 kadarı esterleşmiş formda bulunmaktadır ( 17 ). Bu nedenle retinol esterlerinin hidrolizi ile sonucun etkilenip etkilenmeyeceği düşünülmüş ve sabunlaştırma yöntemlerine baş vurulmuştur. Ancak sonuçta, sabunlaştırılarak elde edilen değerlerin, sabunlaştırılmadan elde edilen değerlerden farklı olmadığı görülmüştür. Gerek sabunlaştırmadan ve gerekse sabunlaştırılarak tayin edilen değerlerin farksız olarak ortaya çıkması, kan serumundaki % 20 kadar esterleşmiş formda vitamin A'nın akıbetini düşündürülebilir. Sabunlaştırma işlemlerinin oldukça uzun ve zaman alıcı olduğu, vitamin A'nın okidasyona dayalı bulunduğu dikkate alınır, uzun süren işlemler sonunda her türlü koruma önlemlerine rağmen bir miktar vitamin A kaybının söz konusu olabileceği şeklinde bu durumun açıklanması mümkün gözükmemektedir.

Kaynakların incelenmesinde de kan serumunda vitamin A tayini yapılırken, sabunlaştırma yöntemlerine ender olarak baş vurulduğu gözlenmektedir ( 30 ).

Tıpkı kan serumunda olduğu gibi, sütte de sabunlaştırma yöntemlerinin farklı oluşu, kromatografi uygulamasının yapılıp yapılmaması gibi farklı işlemlerin gerek vitamin A değerleri açısından ve gerekse total karotin açısından sonuçları etkilemediği gözlenmektedir.

Sütte vitamin A büyük oranda esterleşmiş formda bulunduğu için, sabunlaştırma işlemlerinin uygulanması gereklidir ( 17, 31, 32 ). Ancak gerek zaman ve kimyasal madde sarfiyatı açısından en ekonomik ve gerekse güvenilirlik açısından da en hassas ve laboratuvar olanaklarına en uygun metodun seçilmesi en büyük sorunu oluşturmaktadır.

Bu araştırmada, her türlü ihtimal göz önünde bulundurularak doğrudan doğruya sabunlaştırılmadan, sıcak ve soğuk sabunlaştırma ile, kromatografi işlemi uygulanarak değişik prosedürler tatbik edilmiştir.

Sonuç olarak kan serumunda sabunlaştırma işlemine baş vurulmadan, sütte ise soğuk sabunlaştırma ile vitamin A ve total karotin tayinlerinin ekonomik ve güvenilir olduğu, kromatografi işlemlerine gerek bulunmadığı kanaatine varılmıştır.

## Kaynaklar

- 1.Egemen A.: Vitaminlerin Sağlığımızdaki Önemi. Ankara, (1986).
2. Adam R.C.: Vitaminler ve Antivitaminler. E.Ü. Ziraat Fak. Yay. 33, İzmir, (1960).
3. Ersoy E., Bayşu N.: Biyokimya. A. Ü. Vet.Fak.Yay., Ankara, (1986).
4. Kaplan A., Pesce J.: Clinical Chemistry. Medical Research Laboratories. Ohio, 411- 550, (1989).
5. Marks J. The Vitamines in Health and Diseases a Modern Reapracial. 42-49, (1968).
6. Bingöl G. Biyokimya. A. Ü. Eczacılık Fak. Yay., Ankara, (1978).
7. Martin D., Mayes P., Rodwel V.: Harper's Review of Biochemistry. 114, Lange Medical Publication, California, (1983).
8. Moore T.: Vitamin A. 18, 114-215, (1957).
9. Wolf G.: Vitamin A in; RB Alfin-Slater. Human Nutrition. 3B, 97-203, (1980).
10. Parnell JP, Sharman BS. Effect of vitamin A on keratinization in the rat. Am.Ass.Adv.Sci., 114-131, (1962).
11. Mellanby EA.: A Story of Nutritional Research. Baltimore, 74, (1950).
12. Hayes KC, Cousins RJ.: Vitamin A Deficiency and Bone Growth. 130-132, (1970).
13. Thompson JN: Vitamin A in development of the embryo. Am. J. Clin. Nutr., 22, 1063, (1969).
14. Langman J, Welsch GW.: Excess Vitamin A and development of the cerebral cortex. J. Comp. Neurol., 131, 15, (1967).
15. Niazi IA, Saxena S.: Relationship between inhibiting influence of vitamin A and developmental stage of regeneration tail in toad tadpoles. I.J.Exp.Biol., 17, 866-868, (1979).
16. Thompson J.: Problems of official methods and new techniques for analysis of foods and feeds for vitamin A. 8, (1986).
17. Carr PH and Price E.: Colour reactions attributed to vitamin A. Biochem. J., 20, 497, (1926).
18. Dugan R., Frigerio N. and Siebert J.: Colorimetric determination of vitamin A and it's derivatives with trifluoroaceticacide. Anal. Chem., 36, 114, (1964).
19. Bayfield RF.: Colorimetric determination of vitamin A with trichloroaceticacide. Anal. Chem., 39, 282, (1971).
20. Caldwell MJ, Parrish DB and Schrenk W.: The response of different photometers to the color produced by vitamin A and carotene with antimony trichloride. Trans. Cans. Acad. Sci., 49, (197, (1946).
21. Sobel A and Werbin H.: Activated glycerol dichlorohydrin. A new colorimetric reagent for vitamin A. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., (1946).
22. Sobel A. and Snow S.: The estimation of serum vitamin A with activated glycerol dichlorohydrin. J. Biol. Chem., (1947).
23. Bayer J., Toro G. and Ackerman P.: Bray's Clinical Laboratory Methods. (1962).
24. Brochmann H. and Schotter H.: Alumina oxides with graded adsorbition powerful chromatographic adsorbition. Chem. Ber., 73-74, (1941).
25. Anonymous.: Manuel for nutrition surveys. Second edition. National Institutes of Health. Bethesda, Md., (1963).
26. William H.: Official Methods of Analysis of the Association of Official and Analytical Chemists. (1975).
27. Wiggins RA.: Proc. Analyt. Div. Chem. Soc., (1976).
28. Bell JG.: Chem and Industry. (1971).
29. Çamaş H.: Süt ineklerinde kan plazmasında ve sütte karotin, vitamin A ve bazı yağ asitleri yönünden araştırmalar. ( Doçentlik tezi ), (1979).
30. Thompson J., Duval S. and Verdier B.: Investigation of carotenoids in human blood using HPLC. J. Micronut. Analysis, 1, 81-91, (1985).
31. Coverly S.: Automated determination of vitamin A in milk. J. Micronut. Analysis, 1,65-74, (1985).
32. Murti T., Jacob G. and Delthara V.: Detemination of vitamin A in infalt milk powders by HPLC. India J. Dairy Sci., 2, 42, (1989).

# Van ve Yöresinde Sağlıklı ve Kısır Morkaraman Irkı Koyunlarda Kan Serumunda Cinsiyet Hormonlarının (FSH, Östradiol-17 $\beta$ , Progesteron ) RIA ile Tesbiti ve Kısırlık İle İlişkilerinin Araştırılması\*

Nurhayat ATASOY<sup>1</sup>Hayati ÇAMAŞ<sup>2</sup>

## Özet

Bu çalışmada, Morkaraman ırkı 35 adet gebe, 15 adet kısır koyun iki grup halinde kullanıldı. Bu koyunlarda döl verimi ve gebeliğin devamlılığını sağlayan FSH, östradiol-17  $\beta$  ( $E_2$ ) ve progesteron ( $P_4$ ) hormonlarının, gebelik süresince, RIA yöntemiyle ile kan serumu seviyelerine bakıldı.

FSH hormon miktarı gebe koyunlarda koç katımı zamanında  $1064 \pm 10$  mIU/ml, 43.günde  $1041 \pm 6$  mIU/ml, 86.günde  $1013 \pm 8$  mIU/ml, 129.günde  $1025 \pm 16$  mIU/ml doğum sonrasında  $1001 \pm 6$  mIU/ml, kısır koyunlarda sırasıyla  $1008 \pm 12$  mIU/ml,  $986 \pm 10$  mIU/ml,  $1007 \pm 6$  mIU/ml,  $1005 \pm 10$  mIU/ml,  $1010 \pm 8$  mIU/ml olarak belirlendi.

Östradiol-17  $\beta$  ( $E_2$ ) kısır koyunlarda koç katımı zamanında  $28.25 \pm 4.7$  pg/ml, 43. günde  $29.0 \pm 3.5$  pg/ml, 86. günde  $22.1 \pm 2.8$  pg/ml, 129. günde  $30.0 \pm 2.0$  pg/ml, doğum sonrasında  $27.0 \pm 3.1$  pg/ml; gebe koyunlarda sırasıyla  $49.66 \pm 8.3$  pg/ml,  $31.11 \pm 1.3$  pg/ml,  $44.6 \pm 3.3$  pg/ml,  $82.0 \pm 8.0$  pg/ml,  $29.0 \pm 2.9$  pg/ml olarak ölçüldü.

Progesteron ( $P_4$ ) gebe koyunlarda koç katım zamanında  $1.95 \pm 0.01$  ng/ml, 43.günde  $3.90 \pm 2.1$  ng/ml, 86. günde  $5.36 \pm 2.8$  ng/ml, 129. günde  $7.18 \pm 6.4$  ng/ml, doğum sonrasında  $0.15 \pm 0.01$  ng/ml; kısır koyunlarda sırasıyla  $0.42 \pm 0.02$  ng/ml,  $0.39 \pm 0.02$  ng/ml,  $0.40 \pm 0.01$  ng/ml,  $0.38 \pm 0.01$  ng/ml,  $0.38 \pm 0.01$  ng/ml olarak saptandı.

Serum FSH değerleri gruplar arasında sırasıyla 1. ve 2. kan alımları zamanında, gebe olan grubun kendi içerisinde ise 1. ve 2. ile 3. ve 5. kan alım zamanlarındaki değerler arasındaki fark istatistiki açıdan anlamlı bulundu ( $P < 0.01$ ).

Serum östradiol - 17  $\beta$  ( $E_2$ ) değerleri, gruplar arasında 1. kan alım zamanında istatistiki açıdan  $P < 0.05$ , 3. kan alım zamanında  $P < 0.01$ , 4. kan alım zamanında  $P < 0.01$  düzeyinde; gebe grubun kendi içerisinde ise 1. ve 3. kan alım zamanları ile 4. kan alım zamanı arasındaki değerleri arasında istatistiki açıdan  $P < 0.01$  düzeyinde fark anlamlı bulundu. Gruplar arası serum progesteron ( $P_4$ ) değerleri ise 1., 2., 3. ve 4. kan alım zamanlarında istatistiki açıdan  $P < 0.01$  düzeyinde, gebe grubun kendi içerisinde ise 1. ve 2. kan alım zamanlarında  $P < 0.05$ , 1 ile 3, 2 ile 4 ve 1 ile 4. kan alım zamanlarındaki fark istatistiki bakımdan  $P < 0.01$  seviyesinde anlamlı bulundu.

Ortalama değerler, SD gibi tüm sonuçlar 3 tablo halinde verildi. İstatistiki değerlendirmeler Varyans analizi metodu ve Q testi kullanılarak yapıldı.

**Anahtar Kelmeler:** Koyun, FSH, Östradiol 17- $\beta$ , Progesteron, Kısırlık.

## Summary

### Determination of Sexual Hormones (FSH, Oestradiol-17 $\beta$ , Progesterone) by RIA in the Plasma of Healthy and Sterile Morkaraman Sheep in and Around Van and Their Relationship with Sterility.

In this study, thirty-five pregnant and fifteen sterile Morkaraman ewes were used as two groups. Blood serum of FSH, oestrogen and progesterone hormones required for the continuation of pregnancy and fertility were detected during the pregnancy of the ewes by RIA.

FSH hormone levels of pregnant ewes were detected as  $1064 \pm 10$  mIU/ml on the mating season,  $1041 \pm 6$  mIU/ml, on the 43th day  $1013 \pm 8$  mIU/ml, on the 86 th day  $1025 \pm 16$  mIU/ml, on the 129th day,  $1001 \pm 6$  mIU/ml on the after birth; FSH levels of sterile ewes were as follows  $1008 \pm 12$  mIU/mL,  $986 \pm 10$  mIU/ml,  $1007 \pm 6$  mIU/ml,  $1005 \pm 10$  mIU/ml, and  $1010 \pm 8$  mIU/ml consequently.

Oestradiol-17  $\beta$  ( $E_2$ ) levels of sterile ewes were detected as  $28.25 \pm 4.7$  pg/ml on the mating season,  $29.0 \pm 3.5$  pg/ml on the 43th day,  $22.1 \pm 2.8$  pg/ml on the 86 th day,  $30.0 \pm 2.0$  pg/ml on the 129 th day,  $27.0 \pm 3.1$  pg/ml on the after birth;

\* Y.Y.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenen aynı başlıklı doktora tezinden özetlenmiştir.

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, VAN.

<sup>2</sup>Kafkas Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, KARS.



Oestradiol  $17 \beta$  ( $E_2$ ) levels of pregnant ewes were detected as follows  $49.66 \pm 8.3$  pg/ml,  $31.11 \pm 1.3$ pg/ml,  $44.6 \pm 3.3$  pg/ml,  $82.0 \pm 8.0$  pg/ml and  $29.0 \pm 2.9$  pg/ml consequently.

Progesterone ( $P_4$ ) levels of pregnant ewes were found as  $1.95 \pm 0.01$  ng/ml,  $3.90 \pm 2.1$  ng/ml,  $5.36 \pm 2.8$  ng/ml,  $7.18 \pm 6.4$  ng/ml,  $0.15 \pm 0.01$  ng/ml, progesterone levels of sterile ewes were detected as  $0.42 \pm 0.02$  ng/ml,  $0.39 \pm 0.02$  ng/ml,  $0.40 \pm 0.01$  ng/ml,  $0.38 \pm 0.01$  ng/ml and  $0.38 \pm 0.01$  ng/ml consequently.

Serum FSH levels between two groups were significant during the first and second blood taken times consequently; however, serum FSH levels within the group of pregnant ewes between first and second, and third and fifth blood taken times were found statistically significant ( $P < 0.01$ ). Statistically, serum Oestradiol- $17 \beta$  ( $E_2$ ) levels were found as  $P < 0.05$  during the first,  $P < 0.01$  the third,  $P < 0.01$  fourth blood taken times of two groups; serum Oestradiol- $17 \beta$  ( $E_2$ ) levels were also found statistically significant as  $P < 0.01$  in comparison between the first and the fourth blood taken times in the pregnant group itself.

Serum progesterone ( $P_4$ ) levels between two groups were also found statistically significant as  $P < 0.001$  during the first, the second, the third and the fourth blood taken times. Serum progesterone ( $P_4$ ) levels of the pregnant group were also found statistically significant as  $P < 0.05$  in the first and the second blood taken times, statistical differences between the first and the third, the second and the fourth, and also the first and fourth blood taken times were also significant as  $P < 0.01$ .

All results that as mean data and SD were indicated in the 3 tables. Statistical studies were performed using Variance analysis method and Q test.

**Key Words:** Sheep, FSH, Oestradiol- $17 \beta$ , Progesterone, Sterility

## Giriş

Hayvancılıkta en önemli verim özelliklerinden birisi olan döl veriminin istenilen düzeyde elde edilebilmesi, ancak hayvanların üreme ile ilgili mekanizmalarının normal çalışması ile mümkündür.

Ülkemizde arzu edilen yavru verimi ve dolayısıyla ekonomik kazancın sağlanamamasının en önemli nedenlerini;

1. Doğum sonrasında üreme hormonları tarafından başlatılan siklik aktivitenin zamanında başlamayıp gecikmesi veya hiç başlamaması,

2. Gizli kızgınlık sonucu tohumlamanın erken veya geç olarak tam zamanında yapılamaması,

3. Gebe olmayanların veya gebe kalamayacak olanların kısa sürede tanınmaması oluşturmaktadır.

Üreme olayı erkek ve dişide gonadlarda başlayıp döllenme, gebelik ve doğum ile devam eden biyolojik olaylar dizisidir. Bu olayın meydana gelişinde bir çok faktör etkili olmaktadır. Oldukça karmaşık bir mekanizması olan döl verimini, ırk, damızlıkta ilk kullanma yaşı, canlı ağırlık, anatomik, fizyolojik ve biyokimyasal bozukluklar ile canlı ve çevreye ait bir çok faktör etkiler (1,2).

Kızgınlık ovulasyon zamanında görülür. Bu dönem, dişi hayvanda çiftleşme isteği ve cinsel organların gebeliğe hazırlanmasıyla karakterizedir. Bu değişimler ovaryum hormonlarının etkisi ile meydana gelmektedir (3,4,5).

Gebeliğin şekillenmesi, devamı ve doğumun başlaması endokrin, nöronal sistemler ve mekaniksel faktörlerin etkileşimi ile düzenlenmektedir. Gebeliğin normal bir şekilde devamı için, gerekli hormonların yeterli miktarlarda bulunmasının gerekliliği bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (6, 7, 8).

Son yıllarda koyunlarda gebelik tayini, vücut dokularının ve uterus sıvılarının özelliklerini ses aracılığıyla tanıtan ultrason ile yapılmaktadır. Bu yöntemle 60-120 günlük gebeliklerde % 95 oranında doğru teşhis konulduğu, buna karşın 60 günlükten az

gebeliklerde doğru teşhis oranının çok düşük olduğu bildirilmiştir. (9,10)

Scanopreg aletiyle yapılan intra rektal doppler tekniğinin ise rektumdan yapılan muayenede fötüsün kalp atışlarının dinlenmesiyle gebelik tanısına gidilir. Bu teknik yavrunun canlı olup, olmadığı hakkında fikir vermesi açısından daha güvenilirdir. Ancak intrarektal palpasyon yönteminde olduğu gibi rektal ruptur ve yavru atımı gibi tehlikeleri de vardır (9, 10)

Diğer bir gebelik tanı yöntemi ise sütte (11, 12) veya plazmada (13, 14, 15, 16, 17) radioimmunoassay (RIA) tekniği ile progesteron tayinidir.

Hormon testleri için kullanılan radioimmunoassay (RIA) yöntemi, nanogram (ng) ve pikogram (pg) düzeyindeki duyarlılığı yanısıra, uygulama kolaylığı, etkinliği ve doğruluğu ile modern yetiştiricilikte yaygın olarak tercih edilmektedir (18, 19). Son yıllarda dünyada kullanılan nükleer teknikler, diğer konularda olduğu gibi ülkemiz hayvancılık alanında da yaygınlaşmaktadır (16, 17).

Hormonlar, gebeliğin başlamasından ve devamından sorumludurlar. Gebeliğin başlaması, devamı ve doğum ile sonlanmasında başlıca etkili hormonlar olarak FSH, LH, Progesteron ( $P_4$ ) ve Östrojen bildirilmiştir (2,20, 21, 22, 23, 24, 25).

Ovaryumlar tarafından salgılanan östradiol- $17 \beta$  ( $E_2$ )'nin östrojenik gücünün östron ( $E_1$ )'un 12, östriol'un ise 80 katı kadar olması nedeniyle başlıca östrojen olduğu bildirilmektedir (26, 27, 28). Evcil ruminantların kan plazmasındaki progesteron miktarının, kısırılık kontrolü ve erken gebelik tayininde ovaryum aktivitesini gösteren en güvenilir hormon olduğu savunulmaktadır (14, 16, 17, 29, 30, 31).

Gebelikte östrojenlerin çoğunlukla plasental kaynaklı olduğu, gebeliğin 70.gününden itibaren total östrojen seviyesinin yavaş yavaş artmaya başladığı ve doğum esnasında maksimum seviyeye ulaştığı ileri sürülmektedir (32, 33, 34).

Östrojen ve progesteronun ( $P_4$ ) gebeliğin başlangıç kısmında kandaki oranları, östrus siklusunun

luteal kesiminde saptanan oranlara benzediği; gebe koyunlarda progesteron ( $P_4$ ) seviyesinin ise gebelik döneminin son bir ayı içerisinde en yüksek değerine ulaştığı; doğumun hemen öncesinde ise düştüğü bildirilmiştir (16,17, 35).

Koyun ve Keçide periferik plazma progesteron ( $P_4$ ) düzeyleri birçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır (16, 17, 36, 37, 38, 39). Galway, Finnish-Landrace ve Fingalway ırkı koyunlarda östrüs siklusu boyunca progesteron seviyesi ile ovulasyon sayısı arasındaki ilişki araştırılmış, ırklar arasında östrüs siklusu uzunluğu ve ovulasyon sayısı arasında farklılık saptanarak, bu farkın Finnish-Landrace ırkında daha kısa, Galway ırkında ise daha uzun olduğu bildirilmiştir (37, 38, 39).

Quirke ve arkadaşları (37) ise total progesteron değerinin bu ırklar arasında östrüs siklusu boyunca Finnish-Landrace ırkında daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Östrüs siklusu süresince Merinos (40) ve Clunforest (41) ırkı koyunlarda FSH salgısının düzensiz dalgalanma gösterdiği vurgulanarak bu düzensizlikte inhibin konsantrasyonu etkisiyle negatif feed back mekanizmasının rol oynadığı ileri sürülmüştür. Smealton ve Robertson (42) ise bu görüşün (40) aksine koyunlarda FSH konsantrasyonunda östrüs siklusu boyunca anormal bir dalgalanma olmadığını, FSH salınımının östrüstan 2-3 gün önce kademeli olarak azaldığını, en düşük değerine ise folliküler evrede ulaştığını savunmaktadırlar.

Hermite ve arkadaşları (43) ise FSH'nin diğer araştırmacıların (42) bildirdiği gibi azalmadığını, aksine mevcut salınan FSH'nin kullanımının arttığını ve östrüstan 2 gün sonra daha fazla miktarlarda bulunduğunu belirtmişlerdir.

Pont ve arkadaşları (44) Clunforest ırkı koyunlarda yaptıkları araştırmada östradiol-17  $\beta$  ( $E_2$ ) konsantrasyonunu östrüs başlangıcından 12-14 saat önce  $11.2 \pm 0.36$  pg/ml, luteal faz esnasında  $21.1 \pm 2.01$  pg/ml; progesteronun ( $P_4$ ) luteal faz döneminde  $3.70 \pm 0.28$  ng/ml, östrüs başlangıcından 35 saat önce  $1.86 \pm 0.43$  ng/ml; FSH konsantrasyonunu ise ortalama  $61.9 \pm 28$  ng/ml olarak saptamışlardır.

Cox ve arkadaşları (45) da östradiol-17  $\beta$  ( $E_2$ )'nin koyunlarda östrüs dönemi esnasında yumurtalığa ait venalarda saptanabildiğini, östrüstan 2 gün önce yüksek düzeyde luteal fazda ise çok düşük seviyede olduğunu bildirmişlerdir.

Brown ve arkadaşları (46) flurimetri yöntemiyle yapmış oldukları çalışmalarda östrüs siklusu süresince östron sülfatın ( $E_1S$ ) maksimum  $29.9$  mg/100 ml, östradiol-17  $\beta$  ( $E_2$ )'nin maksimum  $36.2$  ng/100 ml olarak saptandığını; ancak östrojenler içerisinde östron sülfatın ( $E_1S$ ) daha fazla dalgalanma gösterdiğini belirterek, plazmada bulunan değişik östrojenlerin rollerinin henüz tesbit edilemediğini vurgulamışlardır.

Yeni Zelanda Romney X Perendale ırkı koyunlarda, ince tabaka kromatografi yöntemi kullanılarak yapılan ölçümlerde, progesteron ( $P_4$ )

konsantrasyonu östrüs siklusunun 8. gününde  $1.5$  ng/ml, 14. gününde ise  $1.8$  ng/ml olarak saptanmıştır (47).

Pont ve arkadaşları (48), 6 adet Clunforest ırkı koyunlarda yaptıkları başka bir araştırmada progesteron ( $P_4$ ) konsantrasyonunu östrüs başlangıcında  $0.22 \pm 0.01$  ng/ml, östrusun 7. ve 13. günleri arasında  $2.94$  ng/ml ile  $6.75$  ng/ml arasında, östradiol-17  $\beta$  miktarını ise maksimum  $21.1 \pm 2.0$  pg/ml olarak saptamışlardır.

Sanen ve Welsh ırkı iki keçi ve Clunforest ırkı iki koyunda floresanassay metoduyla yapılan çalışmada (30), Welsh ırkı keçide progesteron ( $P_4$ ) miktarı overyal arterde  $18$  ng/ml, venöz plazmada  $300$  ng/ml; Sanen ırkı keçide overyal arterde  $7$  ng/ml, venöz plazmada  $620$  ng/ml; Clunforest ırkı koyunların birisinde overyal arterde  $19$  ng/ml, venöz plazmada  $1500$  ng/ml diğerinin overyal arterinde  $15$  ng/ml, venöz plazmasında  $783$  ng/ml olarak saptanmıştır.

Plesanta ve fötüsün kendi endokrin bezlerinde hormonal faaliyetlerin başlamasından sonra anne, fötüs ve plesanta arasında karşılıklı bir hormon alışverişinin varlığı bildirilmektedir (32, 49, 50).

Robertson ve Rakha (51) ise Cheviot ırkı koyunlarda FSH konsantrasyonlarını suni tohumlamadan 12 saat önce, hipofiz bezinde  $4.83 \pm 0.91$  mg, plazmada  $584 \pm 110$  mikrogram/ml, östrüsta hipofiz bezinde  $2.59 \pm 0.40$  mg, plazmada  $418 \pm 67$   $\mu$ g/ml, östrüstan dört saat sonra hipofiz bezinde  $2.54 \pm 0.45$  mg, plazmada  $3.24 \pm 0.40$   $\mu$ g /ml, östrüstan 10 saat sonra hipofiz bezinde  $2.66 \pm 0.77$  mg, plazmada  $371 \pm 101$   $\mu$ g /ml olarak bildirmişlerdir.

Walton ve arkadaşları (41) Clunforest koyunlarda plazma progesteron ( $P_4$ ) değerinin ilk ovulasyona kadar alt sınırdaki olduğunu, ovulasyon öncesi 4. günde  $0.66 \pm 0.12$  ng/ml olarak maksimum düzeye ulaşmak üzere yavaş yavaş yükseldiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar ilk yumurtlamanın önemli derecede LH artışıyla ilişkili olduğunu, progesteron ( $P_4$ ) miktarındaki artışın ise LH artışından 5 gün sonraya isabet ettiğini bildirerek bu ırk koyunlar da FSH plazma konsantrasyonlarının östrüs siklusuna geçiş esnasında ve östrüs dışındaki dönemlerde dalgalanma gösterdiğini vurgulamışlardır.

Thorburn ve arkadaşları (52) östrüs döneminde hızlı protein bağlama yöntemiyle progesteron ( $P_4$ ) konsantrasyonunu, Merinos ırkında  $2.3 \pm 0.14$  ng/ml, Border Leichestre X Merinos melezi ırkta  $3.0 \pm 0.12$  ng/ml, Dorsethorn ırkı koyunda ise  $2.0 \pm 0.21$  ng/ml olarak saptamışlardır. Aynı araştırmacılar 3 koyuna östrüs siklusunun 15. gününde  $1500^{\circ}$ er IU PMSG enjekte ettikten 12 gün sonra yaptıkları araştırmalarda iki koyunda 7'şer Corpus luteum, 9 ila 12 ng/ml progesteron ( $P_4$ ), diğer koyunda ise 6 Corpus luteum, 8 ng/ml progesteron ( $P_4$ ) saptamaları sonucunda Corpus luteum sayısı ile progesteron ( $P_4$ ) miktarları arasında doğru bir orantının varlığını bildirmişlerdir.

Novoa (53) koyun ırkları arasında progesteron değerlerinin farklı olabileceğini, progesteron üretimine Corpus luteumun % 32, plesantanın ise % 44 oranında katkılarının olduğunu vurgulayarak, koyunlarda gebelik süresince ortalama progesteron konsantrasyonunu  $13.0 \pm 1.0$  ng/ml olarak belirtmişlerdir.

İnce tabaka kromatografisi ile Dala ırkı koyunlarda periferik plazma progesteron ( $P_4$ ) konsantrasyonu gebeliğin 20. ve 100. günleri arasında giderek artan miktarda, 140. günde  $13.2-20.0$  ng/ml arasında maksimum değerde saptanmıştır. Bu ırkta gebeliğin son haftası boyunca progesteron ( $P_4$ ) miktarının giderek azaldığını ortalama  $14.4$  ng/ml, doğum gününde ortalama  $2.1$  ng/ml, doğum sonrası ilk günde ise  $1.8$  ng/ml olarak belirtilmiştir (24).

Üç adet yabancı koyunda (Barbary sheep) RIA ile yapılan başka bir çalışmada ise (54), progesteron ( $P_4$ ) konsantrasyonunun, gebeliğin 10. ve 20. günleri arasında yaklaşık  $16$  nmol/L kadar yükselmesine karşı 40. ve 50. günleri arasında  $9$  nmol/L seviyesine kadar düştüğü; doğumdan bir gün öncesinde ise  $17$  ila  $28$  nmol/L arasında kaldığı, doğum günü ve sonrası günlerde  $3$  nmol/L olduğu saptanmıştır. Bu ırkta östradiol- $17\beta$  ( $E_2$ ) konsantrasyonu ise 40 ila 150. günler arasında  $100$  pmol/L'den  $300$  pmol/L'ya kadar, gebeliğin son 5 gününde  $400$  pmol/L'nin üzerine yükseldiği, östron sülfat ( $E_1S$ ) konsantrasyonu ise gebeliğin 120. gününden doğum öncesi 10. güne kadar  $19$  nmol/L olduğu bildirilmiştir.

Alaçam ve arkadaşları (14) Merinos ırkı koyunlarda yapmış oldukları çalışmada, östrus senkronizasyonunu takip eden ilk 17 günde gebelerde progesteron( $P_4$ ) miktarını minimum  $2.40$  ng/ml, maksimum  $14.40$  ng/ml, östradiol- $17\beta$  ( $E_2$ ) miktarını ise minimum  $0.25$  pg/ml, maksimum  $54.0$  pg/ml olarak saptamışlardır. Kısırlarda ise progesteron ( $P_4$ ) miktarını minimum  $0.80$  ng/ml, maksimum  $1.60$  ng/ml, östradiol- $17\beta$  ( $E_2$ ) miktarını ise minimum  $0.35$  pg/ml, maksimum  $100.0$  pg/ml olarak saptamışlardır.

Sulu ve arkadaşları (17) sakız ırkı koyunlarda plazma östron sülfat ( $E_1S$ ) değerinin gebeliğin 90. gününden itibaren arttığını bildirerek, ilk aylarda  $0.15 \pm 0.10$  ng/ml, gebeliğin son haftasında maksimum olarak  $7.5$  ng/ml ve gebelik süresince ortalama  $2.51 \pm 1.52$  ng/ml olarak saptamışlardır. Progesteron ( $P_4$ ) konsantrasyonunu ise östrus siklusu boyunca ortalama  $2.45 \pm 0.99$  ng/ml, folliküler evrede  $0.23 \pm 0.07$  ng/ml, çiftleşme sonrasındaki 16. ve 17. günlerde  $3.74 \pm 0.95$  ng/ml, gebelik boyunca maksimum  $15.0$  ng/ml, minimum  $1.5$  ng/ml olarak belirleyip, özellikle çiftleşme sonrasındaki 16. ve 17. günlerde plazma progesteron ( $P_4$ ) seviyesi ölçülerek gebelik tanısı konulabileceğini; bu ırkta progesteron ( $P_4$ ) miktarını  $1.5$  ng/ml ve daha yüksek değerlerin gebelik teşhisinde yeterli olarak kabul edildiğini bildirmişlerdir.

Tsang (55) Border Leicester ırkı koyunlarda östron sülfat ( $E_1S$ ) ve progesteron ( $P_4$ ) düzeylerini

gebelik süresince incelemiştir; östron sülfatın ( $E_1S$ )  $70$ . günde ölçülebilir seviyede ( $0.1-0.3$  ng/ml) olduğunu, doğumdan iki gün önce ise bu değer  $1$  ila  $9$  nanogram kadar ulaştığını bildirmiştir. Progesteron ( $P_4$ ) konsantrasyonunun ise, gebeliğin ilk haftasında  $3$  pmol/ml, gebeliğin 60. gününde  $16$  ng/ml, 100. gününde  $22$  ng/ml olarak giderek artan şekilde saptanmasına karşılık doğum günü ve sonrasındaki ilk günlerde  $3$  ng/ml'ye düştüğünü belirtmiş ve bu kadar fazla progesteronun büyük ölçüde plesantadan kaynaklandığını bildirmiştir.

Ankara keçilerinde yapılan bir çalışmada (16), progesteron ( $P_4$ ) değerlerinin östrus döneminde  $0.45$  ng/ml'den luteal evrede  $3.45$  ng/ml'ye kadar yükseldiği, gebeliğin 18 ve 21. günleri arasında ortalama  $4.0$  ng/ml'ye kadar ulaştığı saptanmıştır. Bu dönemde gebe keçilerdeki plazma progesteron ( $P_4$ ) miktarını kısır keçilerdeki miktarının yaklaşık 6 katı kadar olduğu belirtilerek Ankara keçilerinde 21. günden sonra ortalama serum progesteron ( $P_4$ ) konsantrasyonunun  $1.5$  ng/ml ve üzeri değerlerin gebelik tanısı için kriter olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Basset ve arkadaşları (56) Border Leicester X Merinos melezi koyunlarda hızlı protein bağlama yöntemiyle yaptıkları çalışmada çiftleşmeden sonraki ilk 50 günde progesteron ( $P_4$ ) miktarının  $2$  ila  $2.5$  ng/ml arasında olduğunu, bu miktarın 130. güne kadar giderek arttığını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar plazma progesteron ( $P_4$ ) konsantrasyonunu tek fütüslülerde 69. günde  $2.7 \pm 0.3$  ng/ml, 104 günde  $4.5 \pm 0.5$  ng/ml, 118. günde  $5.4 \pm 0.4$  ng/ml, 139. günde  $7.3 \pm 0.7$  ng/ml, doğum gününde ortalama  $5.0$  ng/ml, doğum sonrasındaki ilk 5 günde ortalama  $0.3 \pm 0.03$  ng/ml; iki fütüslülerde ise 69. günde  $5.1 \pm 0.4$  ng/ml, 104. günde  $8.3 \pm 1.3$  ng/ml, 118. günde  $9.9 \pm 0.8$  ng/ml, 139. günde  $14.2 \pm 1.9$  ng/ml, doğum gününde  $13.5 \pm 2.2$  ng/ml, doğum sonrası ilk 5 günde ortalama  $0.3 \pm 0.06$  ng/ml olarak saptamışlardır.

Merinos ırkı koyunlarda, utero-ovarian venöz plazmada RIA ile yapılan çalışmada plazma progesteron ( $P_4$ ) miktarı tekli gebelerde gebeliğin 100. gününde  $18-32$  ng/ml, 120-140. günlerde sırası ile  $68$  ng/ml ve  $80$  ng/ml olarak; ikiz gebelerde gebeliğin 100. gününde  $115-145$  ng/ml, 135 ila 140. günleri arasında ortalama  $150$  ng/ml ile  $175$  ng/ml olarak belirlenmiştir (57).

Taylor ve arkadaşları (58) doğumu geciken 7 melez koyunda normal doğum zamanında plazma progesteron ( $P_4$ ) konsantrasyonunu, RIA ile 125 ve 136. günlerde ortalama  $10.0 \pm 1.0$  ng/ml olarak saptamışlardır. Geç doğum zamanı ölçümlerinde ise plazma progesteron ( $P_4$ ) konsantrasyonun  $14.07 \pm 4.17$  ng/ml olduğunu, doğumdan 30-35 saat sonra  $4.63 \pm 0.94$  ng/ml seviyesine kadar azaldığını bildirmişlerdir.

Border Leicester, Dorset-Horn, Suffolk, Southdown ırkı koyunlarda çiftleşmeden 17 gün sonra plazma progesteron ( $P_4$ ) miktarının  $0.5$  ng/ml yüksek olmasının gebelik tanısı için yeterli olduğu bildirilerek,

özellikle RIA ile gebeliğin 35. gününden sonraki plazma progesteron ( $P_4$ ) seviyesinin ölçümünün gebelik tanısı için yeterli olduğu vurgulanmıştır (59).

Bu çalışmada, ülkemiz hayvancılığında önemli bir yer tutan morkaraman ırkı koyunlarda, dölerme özelliklerinin izlenmesi için östrus siklusu ve gebelik döneminde etkin rol oynayan FSH, östadiol-17  $\beta$  ( $E_2$ ) ve progesteronun ( $P_4$ ) radioimmunoassay (RIA) ile profillerinin çıkarılması ve böylece bu hormonların gebe olanlarla olmayanlar arasındaki miktar farklılığının tesbiti ile kısırılık ve erken gebelik tanısındaki rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

### Materyal

Çalışmanın hayvan materyalini, TİGEM Altındere Harasından sağlanan 50 adet Morkaraman ırkı koyun oluşturmuştur. Bunlardan 35 tanesi bir önceki koç katımı mevsiminde gebe kalmış ve normal doğum yapan, 15 tanesi ise bir önceki koç katımı mevsiminde gebe kalmayan kısır koyunlardır.

### Metot

Çalışma, Östrus sinkronizasyonu uygulamaksızın doğal sıfat uygulanarak koç katımı sırasında ve sonrasında gebe kalan ve gebe kalmayan koyunlar üzerinde yapıldı.

Araştırma için Vena jugularisden tekniğine uygun olarak birinci kan alımı, koç katımı zamanında, 2. kan alımı 43. günde, 3. kan alımı 86.günde, 4. kan alımı 129.günde yapıldı. Çalışma grubundaki gebe koyunlarda doğum 11 Nisan'da başlayıp 16 Nisan'da tamamlandı. Doğumların tamamlanmasından 5 gün sonra ise 5. ve son kan alımı yapıldı.

Beşer ml olarak alınan kanlar 24 saat  $-4^{\circ}\text{C}$  'de buzdolabında dinlendirildikten sonra soğutmalı santrifüjde  $-10^{\circ}\text{C}$ 'de ve 3000 devir/dk. hızla 10 dakika santrifüj edilerek serumları çıkartıldı. Serumlar (örnekler) test uygulanıncaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de dipfirizde saklandı (21,60 61).

**FSH tayini :** Serum FSH tayini DPC marka (Kat.No IKFS1) FSH IRMA (immunoradiometricassay) kitleri kullanılarak saptandı (60).

**Östradiol-17  $\beta$  ( $E_2$ ) tayini :** Serum östradiol-17  $\beta$  ( $E_2$ ) DPC marka (Kat.No:TKE 22) RIA kitleri kullanılarak Radioimmunoassay yöntemiyle tayin edildi (61).

Ölçümler her bir numune için isocomp 1 - gamma-counter cihazında paralel çalışılarak birer dakikada yapıldı.

**Progesteron ( $P_4$ ) tayini :** Serum progesteron ( $P_4$ ) tayini, DPC marka (Kat.No:TK PG2) RIA kitleri kullanılarak radioimmunoassay yöntemiyle tayin edildi (21).

FSH, östradiol-17 $\beta$  ( $E_2$ ) ve progesteron ( $P_4$ ) gamma sayacındaki C.P.M. (Count per minute) olarak

okunan ışımaya (radyoaktivite) değerlerinden standart eğri çizildi. Örneklerden alınan veriler de standart eğri üzerinde değerlendirmeye tabii tutuldu.

Tüm ölçümler ve hesaplamalar sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel analizleri, varyans analizi metodu ve Q testi kullanılarak hesaplandı (62).

## Bulgular

Çalışma sonrasında elde edilen bulgular; Tablo 1,2,3'da sunulmuştur. Tablo 1'de görüldüğü gibi FSH düzeyleri, kısır koyunlarda koç katım zamanında  $1008 \pm 12$  mIU/ml, 43.günde  $986 \pm 10$  mIU/ml, 86.günde  $1007 \pm 6$  mIU/ml, 129.günde  $1005 \pm 10$  mIU/ml, doğum sonrasında  $1010 \pm 8$  mIU/ml, gebe koyunlarda koç katım zamanında  $1064 \pm 10$  mIU/ml, 43.günde  $1041 \pm 6$  mIU/ml, 86.günde  $1013 \pm 8$  mIU/ml, 129.günde  $1025 \pm 16$  mIU/ml, doğum sonrasında  $1001 \pm 6$  mIU/ml olarak bulundu.

Tablo 2'de gebelik süresince östradiol-17  $\beta$  ( $E_2$ ) düzeyleri görülmektedir. Koç katımı (Kasım ayı) zamanında Östradiol-17  $\beta$  ( $E_2$ ) düzeyleri gebe koyunlarda  $49.66 \pm 8.3$  pg/ml, kısır koyunlarda  $28.25 \pm 4.7$  pg/ml olarak, gebelik süresince kısır koyunlarda 43.günde  $29.0 \pm 3.5$  pg/ml, 86.günde  $22.1 \pm 2.8$  pg/ml, 129.günde  $30.0 \pm 2.0$  pg/ml; gebe koyunlarda 43.günde  $31.11 \pm 1.3$  pg/ml, 86.günde  $44.6 \pm 3.3$  pg/ml,129.günde  $82.0 \pm 8.0$  pg/ml, doğum sonrasında kısır koyunlarda  $27.0 \pm 3.1$  pg/ml, gebe koyunlarda  $29.0 \pm 2.9$  pg/ml olarak bulundu.

Gebe ve kısır koyunlarda östradiol - 17  $\beta$  ( $E_2$ ) miktarları arasındaki fark, koç katımı (Kasım ayı) zamanında  $P<0.5$  düzeyinde, 86.günde  $P<0.01$  düzeyinde, doğum öncesindeki 129.günde ise  $P<0.001$  düzeyinde anlamlı bulundu.

Tablo 3'te görüldüğü gibi progesteron ( $P_4$ ) miktarları, koç katımı döneminde (Kasım ayı) gebe olanlarda  $1.95 \pm 0.01$  ng/ml, kısır olanlarda  $0.42 \pm 0.02$  ng/ml olarak bulundu. Bu değerler arasında istatistiki olarak  $P<0.001$  düzeyinde fark tesbit edildi. Gebelik süresinde kısırlarda progesteron ( $P_4$ ) konsantrasyonu 43.günde  $0.39 \pm 0.02$  ng/ml, 86.günde  $0.40 \pm 0.01$  ng/ml, 129.günde  $0.38 \pm 0.01$  ng/ml; gebelerde ise 43.günde  $3.90 \pm 2.1$  ng/ml, 86.günde  $5.36 \pm 2.8$  ng/ml, 129.günde  $7.18 \pm 6.4$  ng/ml olarak bulundu. Her iki grup koyunda bu dönemlerde progesteron ( $P_4$ ) konsantrasyonu arasındaki fark  $P<0.001$  düzeyinde anlamlı bulundu. Doğum sonrasında kısırlardaki progesteron ( $P_4$ ) miktarı  $0.38 \pm 0.01$  ng/ml, gebelerde ise  $0.15 \pm 0.01$  ng/ml olarak saptandı.

Tablo 1: Gebelik Süresince Gebe ve Kısır Koyunlarda Serum FSH Düzeyleri ( mIU / ml ).

	Koç Katım zamanı	43.gün	86.gün	129.gün	Doğum sonrası
Kısır	1008 ± 12 <sup>a</sup>	986 ± 10 <sup>a</sup>	1007 ± 6	1005 ± 10	1010 ± 8
Gebe	1064 ± 10 <sup>b</sup>	1041 ± 6 <sup>b</sup>	1013 ± 8 <sup>c</sup>	1025 ± 16	1001 ± 6 <sup>c</sup>

Aynı sütun ve aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki fark anlamlıdır.

a,b:P<0.01

a,c: P<0.01

b,c: P<0.01

Tablo 2: Gebelik Süresince Gebe ve Kısır Koyunlarda Serum Östradiol - 17 β (E<sub>2</sub>) düzeyleri ( pg / ml ).

	Koç Katımı Zamanı	43.gün	86.gün	129.gün	Doğum Sonrası
Kısır	28.25±4.7 <sup>a</sup>	29.0±3.5	22.1±2.8 <sup>a</sup>	30.0±2.0 <sup>a</sup>	27.0±3.1
Gebe	49.66±8.3 <sup>b</sup>	31.11±1.3	44.6±3.3 <sup>c</sup>	82.0±8.0 <sup>d</sup>	29.0±2.9

Aşağıdaki değerler arasında istatistiksel açıdan anlam vardır

a,b : P < 0.5

a,c ; b,d ; c,d : P < 0.01

a,d : P < 0.001

Tablo 3: Gebelik Süresince Gebe ve Kısır Koyunlarda Serum Progesteron (P<sub>4</sub>) düzeyleri ( ng / ml ).

	Koç Katım Zamanı	43.gün	86.gün	129.gün	Doğum Sonrası
Kısır	0.42 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.39±0.02 <sup>a</sup>	0.40±0.01 <sup>a</sup>	0.38±0.01 <sup>a</sup>	0.38±0.01 <sup>a</sup>
Gebe	1.95±0.01 <sup>b</sup>	3.90±2.1 <sup>c</sup>	5.36±2.8 <sup>d</sup>	7.18±6.4 <sup>e</sup>	0.15±0.01

Aşağıdaki değerler arasında istatistiksel açıdan anlam vardır

a,b ;a,c; a,e arasında P < 0.001

b,c : P < 0.05

b,d; c,e; b,e : P < 0.01

## Tartışma ve Sonuç

Tüm canlı türlerinde hayatın devamlılığı üreme ile sağlanmaktadır. Bu da hormonal sistemlerin etkinliği ile olmaktadır. Bu hormonlar gonadotropik releasing hormon (GnRH) LH, FSH, östradiol, progesteron ve testosteron'dur (3, 37, 51).

Araştırmamızda Morkaraman ırkı koyunlarda gebelik mevsimi boyunca FSH, östradiol (E<sub>2</sub>) ve progesteron (P<sub>4</sub>) seviyeleri incelenerek, kısırılık olayındaki rolleri araştırıldı.

Araştırmamızda Kasım ayı (Koç katımı zamanı) içerisinde gebe kalan koyunlarda FSH miktarı 1064 ± 10 mIU/ml, kısır olan koyunlarda ise 1008 ± 12 mIU/ml olarak bulundu. Bu değerler arasındaki fark istatistiki açıdan P<0.01 düzeyinde anlam taşımaktadır. Bu durum ise gebe kalan koyunlarda ovaryumlarda ovumun oluşmasını ve gebeliğin meydana gelmesini sağlamak amacıyla FSH seviyelerinin kısır koyunların FSH seviyelerine oranla arttığı şeklinde yorumlanmaktadır. Tablo 1'de görüldüğü gibi gebe ve kısır koyunlarda ilk iki kan alımında serum FSH seviyeleri arasında da P<0.01 düzeylerinde istatistiki açıdan anlam vardır. Gebe kalan koyunlarda gebelik süresince ( 5 ay) FSH seviyeleri izlendiğinde, koç katımı (Kasım ayı) ve koç katımı sonrasında ilk aylarda (Ocak-

Şubat) kısır koyunlara nazaran daha yüksek seviyede olduğu, gebelik ilerledikçe, FSH seviyesinin kısır

koyunlardaki seviyelere kadar indiği görülmektedir. Gebelik süresi ilerledikçe östradiol (E<sub>2</sub>) ve progesteron (P<sub>4</sub>) seviyesinin arttığı görülmektedir.

Bu bilgiler dikkate alındığında, araştırmamızda gebelik süresince gebe ve kısır koyunların FSH seviyeleri, ilgili literatürlerdeki (40, 41, 42, 51) bildirimlere uygunluk göstermektedir.

Hermite ve arkadaşları (43) FSH salınımının ve kullanımının östrus döneminde arttığını, hatta östrustan iki gün sonra en yüksek düzeye ulaştığını belirtmiştir. Bu araştırma ile, çalışmamızda bulunan FSH sonuçları paralellik göstermektedir.

Chambell ve arkadaşları (40) koyunlarda östrus döneminde yaptıkları çalışmada, FSH seviyelerinin düzensiz değişimler gösterdiğini bunun nedenini de, östrojenin negatif feed back etkisi ile olduğunu açıklamışlardır. Pont ve arkadaşları (44) östrus siklusu esnasında ortalama FSH düzeylerini 61.9 ± 2.8 ng/ml olarak tesbit etmişlerdir. Robertson ve arkadaşları (51) koyunlarda östrustan 8 saat önce FSH seviyelerinin azalmaya başladığını tesbit etmişlerdir. Bu yolla yumurtlama ve östrus siklusu arasındaki bağlantıları araştırmaya çalışmışlardır.

Araştırmamızdaki koyunlarda östrus sinkronizasyonu uygulanmaması ve sıfat mevsiminin

yaklaşık olarak bir ay sürmesi nedeniyle, gebe kalan koyunlarda ilk ve 2. numunelerin serum FSH seviyeleri kısirlara oranla yüksek çıkmıştır (Tablo 1). Eğer östrus sinkronizasyonu uygulansaydı 2. alıştıraki kan serumu FSH seviyelerinin kısır koyunlarınkine yakın olacağı tahmin edilmektedir.

Gebelik esnasında 3., 4. ve doğum sonrasındaki 5. kan alımlarında serum FSH düzeylerinin düşük çıkması Robertson ve arkadaşlarını (51) destekler nitelikte bulunmuştur.

Çalışma sonrasında koç katımı zamanı ve gebeliğin 43. günündeki serum FSH düzeyleri incelendiğinde, gebe ve kısır koyunlar arasındaki farkın ( $P < 0.01$ ) varlığına karşın özellikle gebeliğin 86'ncı gününden sonra fark olmaması kısır koyunlarda FSH miktarının yetersizliğini ortaya koymuştur.

Araştırmamızın bulguları incelendiğinde östrus döneminden hemen önce kandaki FSH düzeylerinin hipofiz kaynaklı olarak arttığı saptanmıştır.

Tablo 2'de görüldüğü gibi araştırmamızdaki östradiol ( $E_2$ ) seviyeleri gebe koyunlarda sırası ile  $49.66 \pm 8.3$  pg/ml,  $31.11 \pm 1.3$  pg/ml,  $44.6 \pm 3.3$  pg/ml,  $82.0 \pm 8.3$  pg/ml ila  $29.0 \pm 2.9$  pg/ml ve kısır koyunlarda ise sırası ile  $28.25 \pm 4.7$  pg/ml,  $29.0 \pm 3.5$  pg/ml,  $22.1 \pm 2.8$  pg/ml,  $30.0 \pm 2.0$  pg/ml,  $27.0 \pm 3.1$  pg/ml olarak bulundu. Araştırmamızdaki östradiol ( $E_2$ ) seviyeleri gruplarda 1. kan alımında koç katımı zamanı değerleri istatistiki açıdan  $P < 0.5$  düzeyinde, 3. ve 4. kan alımında ise  $P < 0.001$  düzeyinde anlamlı bulundu.

Cox ve arkadaşlarının (45) östradiol-17  $\beta$  ( $E_2$ )'nin koyunlarda östrus dönemi esnasında ovaryum damarlarında, yüksek miktarda olduğunu belirtmeleri, bu çalışmada gebe kalan koyunlarda koç katımı zamanında adı geçen hormonun yüksek bulunması ile uygunluk göstermektedir.

Hamon ve Heap (54) koyunlarda gebelik esnasında östradiol-17  $\beta$  ( $E_2$ )'nin 300 pmol/L'lik bir pik yaptığını, gebeliğin son 5 gününde ise 400 pmol/L'ye ulaştığını bildirmişlerdir. Sulu ve arkadaşları (17) doğum öncesi gebe koyunlarda östron sülfatın ( $E_1S$ ) arttığını, hatta östron sülfat seviyesine bakılarak gebelik tesbiti yapılabileceğini bildirmişlerdir.

Araştırmamızda doğumdan hemen önce gebe koyunlarda östradiol seviyesininin pik yaparak  $82.0$  pg/ml'ye çıkması Sulu ve arkadaşları (17) ile Hamon ve Heap (54) destekleyici nitelikte bulunmuştur. Ayrıca gebeliğin 86'ncı gününde, östradiol- 17  $\beta$  ( $E_2$ )'nin gebelerde ( $44.6 \pm 3.3$  pg/ml), kısirlara ( $22.1 \pm 2.8$  pg/ml) nazaran iki katı kadar olması özellikle gebeliğin 70'inci gününden itibaren bu hormonun plental kaynaklı olarak arttığını savunan araştırmacılarla (32, 33, 34) paralellik göstermektedir. Östradiol- 17  $\beta$  ( $E_2$ )'nin doğum öncesinde artması, yukarıda da belirttiğimiz etkileri oluşturmak amacıyla olmaktadır.

Gruplar arasındaki serum östradiol- 17  $\beta$  ( $E_2$ ) miktarları arasındaki farkın giderek artması kısır koyunlarda ovaryal aktivitenin yeterli olmadığını

göstermekte, ayrıca gebelerde gebeliğin ikinci yarısında miktar artışının plental kaynaklı olduğu sanılmaktadır. Östradiol-17  $\beta$  ( $E_2$ ) seviyesinin ise östrus döneminde folliküler kaynaklı olarak biraz yükseldiği ve gebeliğin devamını sağlayıp doğuma yakın dönemde vücudu doğuma hazırladığı görülmüştür.

Östradiol - 17  $\beta$  ( $E_2$ ) miktarları bu çalışmada koç katımı zamanında gebe olanlarda  $49.66 \pm 8.3$  pg/ml, kısır koyunlarda  $28.25 \pm 4.7$  pg/ml olarak, gebeliğin 86. gününde gebelerde  $44.6 \pm 3.3$  pg/ml, kısirlarda  $22.1 \pm 2.8$  pg/ml olarak, doğuma yakın dönemde gebelerde  $82.0 \pm 8.0$  pg/ml ve kısirlarda  $30.0 \pm 2.0$  pg/ml olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar incelendiğinde gebe koyunlardaki seviyenin kısirlara nazaran iki kat daha yüksek olduğu görülmüştür.

Özellikle gebeliğin 80'inci gününden sonra alınan kan numunelerinde, östradiol- 17  $\beta$  ( $E_2$ ) miktarının 40 pg/ml ve daha yukarı düzeyde bulunması, bu ırk hayvanlarda progesterondan sonra erken gebelik tanısı için östradiol- 17  $\beta$  ( $E_2$ )'nin da bir kriter olarak kabul edilebileceği görülmüştür. Ancak progesteron ( $P_4$ ) kadar emin ve erken olmadığı kanısına varılmıştır.

Bu çalışmada progesteron ( $P_4$ ) seviyeleri Tablo 3'te görüldüğü gibi gebe koyunlarda sırası ile  $1.95 \pm 0.01$  ng/ml,  $3.90 \pm 2.1$  ng/ml,  $5.36 \pm 2.8$  ng/ml,  $7.18 \pm 6.4$  ng/ml,  $0.15 \pm 0.01$  ng/ml, kısır koyunlarda ise sırası ile  $0.42 \pm 0.02$  ng/ml,  $0.39 \pm 0.02$  ng/ml,  $0.40 \pm 0.01$  ng/ml,  $0.38 \pm 0.01$  ng/ml olarak bulundu. Bu değerler; gebelerde progesteron ( $P_4$ ) seviyesinin, gebeliğin son bir ayında arttığını belirten araştırmacılarla (16, 17, 35) paralellik göstermiştir.

Tsang (55) gebe koyunlarda progesteron ( $P_4$ ) konsantrasyonunun gebeliğin 100. gününde 3-5 ng/ml olduğunu, doğumda ise 3 ng/ml'ye düştüğünü bildirmektedir. Walton ve arkadaşları (41) bütün koyunlarda plazma progesteron ( $P_4$ ) düzeylerinin ilk yumurtlamaya kadar alt sınırdan olduğunu, ovulasyonun 1. gününde  $0.66 \pm 0.12$  ng/ml olarak maksimuma ulaşmak üzere yavaşça yükseldiğini belirtmiştir. Thorburn ve arkadaşları (52) östrus siklusu boyunca plazma progesteron ( $P_4$ ) seviyesinin 4. ve 9. gün arasında arttığını, 14. ve 15. günlerde hızla azalarak anöstrus öncesindeki seviye olan 0.1 ng/ml'ye indiğini bildirmişlerdir.

Fyling (24) gebe koyunlarda plazma progesteron ( $P_4$ ) seviyesinin kademeli olarak arttığını, doğumda ise azaldığını tesbit etmiştir.

Araştırmamızda gebelik süresince progesteron ( $P_4$ ) hormonunun giderek artan bir grafik göstermesi, progesteronun gebelikteki önemini açıklamaktadır.

Pont ve arkadaşları (44) ise östrus siklusu esnasında progesteron ( $P_4$ ) konsantrasyonunu luteal faz ortasında 3.70 ng/ml olarak en yüksek düzeyde saptamışlardır.

Sulu ve arkadaşları (17) sakız koyunlarında gebeliğin 16. ve 17. günlerinde, Özsar (16) Ankara

keçilerinde gebeliğin 21. gününde progesteron (P<sub>4</sub>) analizi yapılarak gebeliğin erken teşhisinin mümkün olabileceğini ve bu dönemde 1.5 ng/ml'lik ve daha yüksek değerlerin gebelik teşhisinde yeterli olacağını bildirmişlerdir.

Araştırmamızda progesteron (P<sub>4</sub>) seviyeleri gebe koyunlarda, Flyling (54) belirttiği gibi gebelik süresince artmış ve doğuma yakın dönemde maksimum seviyesine ulaşmış ve doğum sonrasında ise düşmüştür. Östrus döneminde düşük olan progesteronun (P<sub>4</sub>), Novoa'nında (53) belirttiği gibi gebelik döneminde plesantal kaynaklı olarak arttığı tahmin edilmekte ve gebeliğin devamlılığını östradiol (E<sub>2</sub>) ile birlikte sağladığı sanılmaktadır.

Bu çalışmada Morkaraman ırkı koyunlarda plazma progesteron (P<sub>4</sub>) seviyesi en düşük 43.günde 1.95 ± 0.01 ng/ml, en yüksek 129.günde 7.18 ± 6.4 ng/ml; kısır koyunlarda en düşük 129.gün ve doğum sonrasında 0.38 ± 0.01 ng/ml, en yüksek koç katım zamanında 0.42 ± 0.02 ng/ml olarak saptanmıştır. Plazma progesteron (P<sub>4</sub>) profilleri incelendiğinde Morkaraman ırkı koyunlarda koç katımı döneminden 43 gün sonra alınan kan örneklerinde plazma progesteron (P<sub>4</sub>) seviyesinin 2.0 ng/ml ve yukarıları değerlerin gebelik tanısı için yeterli olacağı sonucuna varılmıştır.

## Kaynaklar

1. Akçapınar H.: Koyun Yetiştiriciliği, 1. Baskı, Yayın No:8, Medisan Ankara (1994).
2. Kılıçoğlu Ç. ve Alaçam E.: Veteriner Doğum Bilgisi ve Üreme Organlarının Hastalıkları, 1. Baskı, Yayın No: 403, A.Ü.Basımevi Ankara (1985).
3. Kazama, N., and Longcope, C.: Metabolism of Estrone and Estradiol - 17  $\beta$  in Sheep. *Endocrinol.*, 91:1450-1454 (1972).
4. Yu., H.K., Cabalum, I.A., Jansen, A.M., Buster, J.E. and Nathanielsz.: Androstenedione, Testosterone and Estradiol Concentration in Fetal and Maternal Plasma in Late Pregnancy in the Sheep. *Endocrinology.*, 113, 2216-2220 (1983).
5. Ersoy, E., Bayşu, N.: Biyokimya, 1. Baskı, Yayın No: 408, A.Ü. Basımevi, Ankara (1986).
6. Henderson, K.M Prisk, M.D., Nudson, N., Ball, K., McNatty, K.P., Lun, S., Heath, D., Kieboom, L.E. and McDiarmid, J., Use of Bovine Follicular Fluid to Increase Ovulation Rate or Ovulation in Sheep., 76, 623-635 (1968).
7. Shelton, M.: Influence of Various Exteroceptive Factors on Initiation of Eostrus and Ovulation. *International Goat and Sheep.* 1 (2): 156-162 (1980).
8. Tamanini, C., Cheisa, F., Prandi, A. and Galeati, G.: Estrone and Estrone Conjugate Plasma Levels Throughout Pregnancy in the Goat: Their Determination as a Pregnancy Diagnosis test. *Animal Reproduction Science*, 11, 35-42 (1986).
9. Ben Durant, R.H.: Pregnancy Diagnosis in Sheep and Goats; Fiel Tests With on Ultrasound unit. *Californian Veterinarian*, 1: 26-28 (1980).
10. Benjaminsen, E., and Korlberg, K.: Pregnancy Diagnosis in Goats by Means of an Ultrasonic Device. *The Brit. Vet. Jour.* 92(9): 501-503 (1980).
11. Jain, C.G., Arora, R.C. and Pandey, R.S.: Milk Progesterone Vontend and Pregnancy Diagnosis in Goat s. *Vet. Med.*, 27; 103-108.
12. Montigny, G., Millieroux, P. and Jeangujat, N., (1982), Milk Fat Progesterone Concentration in Goats and Early Pregnancy Diagnosis. *Thriegenology.*, 17: 423-431(1980).
13. Shemesh, M., Ayalon, N. and Lovi, S.: A new Approach to the use of Progesteron, levels for Pregnancy Determination. *The British Veterinary Journal.* 139, 41-48 (1983).
14. Alaçam, E., Dinç, D.A., Güler, M., Eröz, S., Sezer, A.N.: Anöstrus Döneminde Progesteron, PMSG ve GnRH ile Senkronize Edilen Koyunlarda RIA Yöntemi ile Erken Gebelik Tanısı Üzerinde Çalışma. *S.Ü. Vet.Fak.Derg.*, 4: 91-98 (1988).
15. Thorburn, G.D., Booset, J.M. and Smith, I.D.: Progesterone Concentration in the Peripheral Plasma of Sheep During the Oestrus Cycle. *J. Endocrinol.* 45; 459-469 (1969).
16. Özsar, S., Ankara Keçilerinde Erken Gebelik Tayini ve Fertilité Konrolünde Radioimmunoassay ile Progesteron Düzeylerinin Sap-tanması: RIA Tekniğinin Keçi Serumu için Geçerliliğinin Kontrolü (Doktora tezi). H.Ü. Fen Bil. Enst., Ankara (1983).
17. Sulu, N., Özsar, S., Güven, B. ve Bağcı, C., Sakız Koyunlarında Progesteron ve Östron Sülfat Düzeyleri, TÜBİTAK. VHAG-708 nolu proje, Ankara (1991).
18. Korg, H., Claus, R., Hoffman, B., Schallenberger, E. and Schams, S.D.: Present Status and Future Possibilities of RIA in Animal Production. IAEA Symposium on "Nuclear-techniques in Animal Production and Health" Vienna (1976).
19. Pont, T.B.: The use of RIA and Related Procedures in Improve Reproduction of Domestic Animals. 4th Research Coordinated Meeting on "The use of RIA and Related Procedures to Improve Reproduction Performance of Domestic Animals" 5-9 July, Ithace (1980).
20. Kakusya, G.R.: Reproductive Hormone Patterns in Female Goat. *Dissertation Abstracts International.* 8, 3564 (1980).
21. Anonim: Progesteron RIA kit. Catalog number TKPG - 2, Diagnostic Products Corporation (DPC) 5700 West 9 th. Street, Los Angles.
22. Clarke, I.J. and Cummins, I.T.: Increased GnRH Pulse Frequency Associated with Estrogen-Induced LH Surges in Ovariectomized Ewes. *Endocrinology* 116, 2376-2386 (1985).
23. Yuthasastrakosol, P., Palmer, W.M. and Howland, B.E.: Luteinizing hormone, Oestrogen and Progesterone Levels in Peripheral serum of an Oestrous and Cyclic Ewes as Determined by Radioimmunoassay. *J. Reprod. Fert.* 43, 57-65 (1975).
24. Fylling, P.: The effect of Pregnancy, Ovariectomy and Parturition on Plasma Progesterone Level in Sheep. *Acta Endocrinologica*, 65, 273-283(1970).
25. Tamanini, C., Crowder, M.E. and Nett, T.M.: Effects of Oestradiol and Progesterone on Pulsatile Secretion of Luteinizing Hormone in Ovariectomized Ewes. *Acta Endocrinologica* 111; 172-178 (1986).
26. Murray, R.K; Moyes, A.P., Granner, D.K; Rodwell, V.W., Harper' in Biyokimya, 22 Baskı, Barış Kitabevi, İstanbul (1993).
27. Kicklighter, E.J., Norman, R.J: The Gonads, Clinical Chemistry. Ed. Kaplan, L. A, Pesce, A.J., Second edition, 650-662. The C.V. Mosby Company. Toronto(1989).
28. Edgy, R.G., (1983), The Use of Prostaglandin Analogue Cloprostenol and the Milk Progesterone Test to Control Breeding Policy in one Dairy Hard. *The British Veterinary Journal*, 139 (2): 104-108.
29. Tsang, C.P. and Plackett, A.J., Metabolism of Estrone Sulfate in the Pregnant sheep. *Animal Research.* 11 (6) : 429-434.
30. Linzell, J.L. and Heap, R.B.: A Comparison of Progesterone Metabolism in the Pregnant Sheep ant Goat; Sources of Production and an Estimation of Uptake by Some Target Organs. *J. Endocr.*, 41, 433-438 (1968).
31. Laing, J.A., Progesterone Assay of Milk and the Control of Infertility. *The British Veterinary Journal.* 132: 534-537 (1976).
32. Findlay, J.K. and Seamark, R.F.: The Biosynthesis of Oestrogens in the Ovine Foteoplacental Unit. *J. Reprod and Fertility*, 24, 141-142 (1971).
33. Tsang, C.P.: Changes in Plasma Levels of Estrone sulfate and Estrone in the Pregnant Ewe Around Parturition. *Anim. Res.Inst.* 23(6), 855-868 (1974).
34. Ganong, W.F.: Review of Medical Physiology. Appleton and Lang, San Francisco ( 1989 ).
35. Bedford, C.A., Challis, J.R. and Harrison, F.A.: The Role of Oestrogens and Progesterone in the Onset of Parturition in Various Species. *J. Reprod. Fert, Suppl.* 16:1-23 (1972).
36. Renfree, M., Wallace, G.I. and Young, I.R., Effects of Progesterone, Oestradiol 17  $\beta$  and Androstenedione on Follicular Growth After Removal of the Corpus Luteum During Lactational and Seasonal Quiescence Growth After Removal of the Corpus Luteum During Lactational and Seasonal Quiescence in the Tamar wallaby. *J. Endocr.*, 92, 397-403 (1982).
37. Quirke, J.F., Honrahan, J.P. and Gasling, J.P.: Plasma Progesteron Levels Throughout the Oestrus Cycle and Release of LH at

- Oestrus in Sheep With Different Ovulation Rates. *J. Reprod. Fert.* 55: 37-44 (1979).
38. Hare, L. and Bryant, M.J.: Characteristics of Oestrus Cycles and Plasma Progesterone Profiles of Young Female Sheep During Their First Breeding Season. *Anim. Prod.*, 35: 1-7 (1982).
39. Van De Wiel, D.F.M., Viascher, A.H. and Dekker, T.P.: Use of a Radioimmunoassay of Plasma Progesterone for Predicting Litter Size and Subsequent Adaptation of Fecoling Level in Sheep. *Nuclear Techniques in Animal Production and Health*. I.A.A. Vienna, p, 547-553 (1976).
40. Campbell, B.K., Mann, G.E., McNeilly, A.S. and Baird, D.T.: The Pattern of Ovarian Inhibin, Estradiol and Androstenedione Secretion During the Estrous Cycle of the Ewe. *Endocrinology*, 127, 227-233 (1990).
41. Walton, J.S., McNeilly, Judither, McNeilly, A.S. and Cunningham, F.J.: Changes in Concentrations of Follicle Stimulating Hormone, Luteinizing hormone, Prolactin and Progesterone in the Plasma of Ewes During the Transition From Anoestrus to Breeding Activity. *J. Endocr.* 75, 127-136 (1977).
42. Smeaton, T.C. and Robertson, H.A.: Studies on the Growth and Atresia of Graafian follicles in the Ovary of the Sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*. 25, 243-252 (1971).
43. L. Hermite, M., Niswender, G.D., Reichert, L., Midgley, A.R.: Serum follicle- Stimulating Hormone in Sheep as Measured by Radioimmunoassay. *Biology of Reproduction*, 6, 325-332 (1972).
44. Pant, H.C., Hopkinson, C.R.N. and Fitzpatrick, R.J.: Concentration of Oestradiol, Progesterone, Luteinizing Hormone and Follicle-Stimulating Hormone in the Jugular Venous Plasma of Ewes During the Oestrus Cycle. *J. Endocr.*, 73, 247-255 (1977).
45. Cox, R.I., Mattner, P.E. and Thorburn, G.D.: Changes in Ovarian Secretion of Oestradiol -17  $\beta$  Around Oestrus in the Sheep. *J. Endocr.*, 49, 345-346 (1971).
46. Brown, J.B. and Smyth, B.J.: Oestrone Sulphate-Major Circulating Oestrogen in The Normal Menstrual Cycle. *J.Reprod. Fert.*, 24:142 (1971).
47. Mc Natty, K.P., Revfeiw, J.A. and Young, A.: Peripheral Plasma Progesterone Concentrations in Sheep During the Oestrus Cycle. *J. Endocr.*, 58, 219-225 (1973).
48. Pant, H.C., Hopkinson, C. and Fitzpatrick, R.J.: Plasma Oestradiol, Progesterone and Luteinizing Hormone Concentrations During the Ovine Oestrus Cycle. *J. Reprod. Fert* 31, 501-502 (1972).
49. Alexander, G. and Williams, D.: Progesterone and Placental Development in Sheep *J.Endocrin* 34: 241-245 (1966).
50. Aysan, İ.: Evcil Hayvanların Karşılaştırmalı Üreme Fizyolojileri, Sevinç Matbaası, Ankara (1974).
51. Robertson, H.A. and Rakha, A.M.: The sequence, Time, and Duration, of the Release of Follicle-Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone in Relation to Oestrus and to Ovarian in the Sheep. *J. Of Endocrin*, 35, 177-184 (1966).
52. Thorburn, G.D., Basett, J.M. and Smith, I.D.: Progesterone Concentration in the Peripheral Plasma of Sheep During the Estrous Cycle. *J. Of Endocrin.*, 45, 459-469 (1969).
53. Novoa, C.B.: Interrelationships Between Source and Level of Progesterone and Number of Fetuses at Different Stages During Pregnancy in Sheep. *Dissertation Abstracts International, B (Sciences and Enginerry)*, 46 (8): 2548-2560 (1986).
54. Hamon, M.H. and Heap, R.B.: Progesterone and Oestrogen Concentrations in Plasma of Barbary Sheep Compared With Those of Domestic Sheep and Goats During Pregnancy. *J.Reprod. Fert.*, 90, 207-211(1990).
55. Tsang, C.P.: Plasma Levels of Estrone sulfate Free Estrogens, Estrone and, Progesterone in The Pregnant Ewe Through Gestation *Animal Res.*, 10:97-110 (1978).
56. Basset, J.M., Oxborrow Tana J. and Smith, I.D., Thorburn, G.D.: The Concentration of Progesterone in the Peripheral Plasma of the Pregnant Ewe. *J. Of Endocr.* 45, 449-457(1969).
57. Mattner, P.E. and Thorburn, G.D.: Progesterone in Uterovarian Venous Plasma During Pregnancy in. *J. Rep. and Fert.*, 24, 140-141(1971).
58. Taylor MJ Webb, R., Mitchell, M.D. and Robinsons, J.S., , Effect of Progesterone Withdrawal in Sheep During Late Pregnancy. *J. Of Endocr.*, 92, 85-93, (1982).
59. Robertson HA and Sarda IR.: A very Early Pregnancy Test for Mammals : Its Application to the Cow, Ewe and Sow. *J. Of Endocr.*, 49, 407-419 (1971).
60. Anonim: FSH IRMA kit, Catalog number IKFS -1, Diagnostic Products Corporation (DPC) 5700 West 9 th. Street, Los Angles
61. Anonim: Estradiol Estradiol-17  $\beta$  RIA kit. Catalog number TKE -22 Diagnostic Products Corporation (DPC) 5700 West 9 th. Street, Los Angles.
62. Yaşar H.: Tıp'ta İstatistik Yöntem ve Uygulamaları, A. Ü. Tıp Fak. Yay., Ankara (1981).



# Kaşar Peynirlerinde Aflatoksin B1 Kalıntılarının Araştırılması

Abdullah Doğan<sup>1</sup>

## Özet

*Bu çalışmada Kars yöresinde tüketilen kaşar peynirlerinde aflatoksin B1 düzeyleri araştırıldı.*

*Araştırmada toplam 50 adet peynir örneği kullanıldı. Kaşar peynirleri marketlerden 100 g miktarında alınarak laboratuvara getirildi. Laboratuvarında iyice ufalanıp karıştırıldıktan sonra 20 g alındı ve metanol, fosfattampon ve dimetilformamid karışımından hazırlanan ekstrakt solüsyonu ile ekstrakte edildi. Ekstrakt yüzeyi antikorlar ile kaplanmış pleytlere uygulandı, yıkama yapıldı. Daha sonra pleytler konjugat solüsyonu ile kaplandı ve tekrar yıkandı. Pleytlere substrat solüsyonu ilave edildi. Oluşan rengin 405 nm dalga boyunda konsantrasyonları ölçüldü.*

*Numunelerin hiçbirinde aflatoksin B1'e rastlanmadı.*

**Anahtar kelimeler:** Aflatoksin B1, kaşar peyniri.

## Zusammenfassung

### *Die Untersuchungen von Aflatoksin B1 in der geblichen Kases.*

*In dieser Arbeit wurde Aflatoxin B1 in der gelblichen Kases, die Karsgebiet verbraucht wird, untersucht.*

*In der Arbeit wurde total 50 geblichen Kases proben gebraucht. Das geblichen Kases wurde etwa 100 g von Laden gekostet und zur Labor gekommen. Im Labor wurde das gebliche Kases gemischt, davon 20 g ausgewogen und wurde mit metanol, fosfattampon und dimethylformamide gemische als extrakt solutions extraktion. Extrakt wurde zur Polystrolperlenen, denen Oberflache von Antikarper bedeckt wurde, gegeben. Das Polystrolperlen wurde ausgewascht. Dann wurde das Kongugat zur Polystrolperlen gegeben und es noch einmal ausgewascht. Zur Polystrolperlen wurde Substrat solution gegeben. Die farbene Solution wurde 405 nm mit der maschinen von ELISA vermessen.*

*Es wurde Aflatoxin B1 in der Proben nicht begegnet.*

**Schlüsselwort:** Aflatoxin B1, geblichen Kases.

## Giriş

Mantarlar çeşitli besinler için doğal kirleticilerdir. Uygun şartlar altında hazırlanmayan ve depolanmayan besin maddelerinde sıkça ürerler. Üremeleri için uygun şartlar bulduklarında hızla çoğalarak besin maddesinin hem görünüşünü hem de kimyasal yapısını değiştirirler(1, 2,3,4,5,6). Mantarların besin maddelerinde üremeleri esnasında sentezleyip salgıladıkları maddelere miko-toksinler adı verilir. Mantarlar üreyip mikotoksin sentez etmelerinde rutubet oranı, oksijen, ısı ve besin içeriğinin önemli derecelerde etkileri vardır(1,7-15).

Mikotoksinler, besin maddeleri ve yemlerle tüketicilerin sağlığını tehlikeye düşürebilecek boyutlarda alınabilir (1,2,6,17-22). Çok küçük miktarlarda uzun süre alındığında kronik, doz ve zaman faktörlerine bağlı olarak subakut ve akut şekillerde zehirlenmelere neden olabilmektedir. Şimdiye kadar çok sayıda mikotoksinin organizmada meydana getirdiği etkileri tanınmıştır. Claviceps purpurea'nın çavdarda üremesi ile sentez edilen ergot alkaloidlerini tüketen insanlarda perifer dokularda gangrenlerin ortaya çıkması ile karakterize

ergotizm belirtileri görülmektedir(3,4,5,8,13,17). Sitroviridin solunum sisteminde ve kaslarda felçlere neden olan bir mikotoksindir(5,6,17). Zearanol adlı türevi bugün bazı ülkelerde anabolizan amaçla kullanılan zearalenon, besinlerde bulunacak olursa tüketicilerde abortus, gonadlarda tümörler, vulvada ödem ve büyüme görülür(5,7,11,12,23,24).

Mikotoksinler içerisinde aflatoksinler önemli bir yere sahiptir. Aspergillus flavusun bir metaboliti olan bu toksinin yapılan araştırmalar neticesinde 18 çeşidinin olduğu tesbit edilmiştir(6,20,21,22,24,25). Uygun şartlar bulunduğu üreyen bu mantar, besin çeşidine göre az ya da çok değişik oranlarda mikotoksin sentezlemektedir (10,26, 27,28).

Aflatoksinlerin en önemli olanı B1 türevidir. Bu mikotoksinin ana metaboliti olarak kabul edilir. Aflatoksinler renksiz, suda az, etanol, kloroform gibi solventlerde kolay çözünen ışığa duyarlı, fakat ısıya yüksek derecelerde (300 °C'ye kadar) dahi dayanıklı olan maddelerdir(9,11,13,20,29).

Ağız yolu ile alındığında kolay ve hızlı bir şekilde emilerek kana geçerler. Organizmada aflatoksin p1, q1, m1, 2a, aflatoksikol ve aflatoksin B1-8,9-epoksidi dönüştürülür. Aflatoksin M1 sütle atılır, epoksit türevi ise aflatoksinlerin tümöral etkilerinden

<sup>1</sup> Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji-Toksikoloji Bilim Dalı, KARS.

sorumludur. Metabolitler büyük bir oranda 24 saat içerisinde vücuttan atılır(11,30-34).

Aflatoksinlerle ilk zehirlenme 1960 yılında civcivlerde görülen ve Turkey x olarak adlandırılan olaydır. Zehirlenen civcivlerin tükettiği yemlerden izole edilen toksinlerin, yapılan çalışmalar sonucu *Aspergillus flavus* adı verilen mantarın üremesi sonucu salgılandığı tesbit edilmiştir (5,9,10,11,23, 24, 32,35).

Hayvan türleri aflatoksinlere karşı değişik faktörlere bağlı olarak farklı derecelerde duyarlılık gösterirler. Hayvanlarda zehirlenmelere neden olan aflatoksin miktarı 10-100 ppm arasında değişmektedir. Hayvan türlerine göre LD50'si 0.5-10 mg/Kg dozları arasındadır(5,13).

Akut aflatoksin zehirlenmelerinde karaciğer hasarına bağlı olarak yaygın sarılık ve kanamalar dikkati çeker. Karaciğerde nekroz odakları ve yağ birikmesine rastlanır. Kronik olaylarda ise büyüme hızında ve yemden yararlanmada önemli ölçülerde düşme, karaciğerde bozukluk, immun cevap ve böbrek fonksiyonlarında azalmalar görülür. Kanatlılarda strese uyum yeteneği azalır, yumurta verimi ve kuluçkadan canlı civciv çıkma oranı düşer(11,13,20,23,25). Canlıların sağlığını olumsuz yönde etkiler.

Bu çalışmada Kars yöresinde üretilen ve piyasaya çıkarılan kaşar peynirlerinde aflatoksin kalıntılarının bulunup bulunmadığı araştırılmıştır.

#### Materyal ve Metot

Bu çalışmada toplam 50 adet kaşar peyniri örneği kullanıldı. Numuneler piyasadan rastgele toplandı.

**Araç ve gereçler:** Çalışmada erlenmayer, mezür, bolonjoje, pipet, mikropipet, polisitolperlen (pleyt), mikser, süzgeç kağıdı, karıştırıcı ve ELİSA okuyucusu (Metertech-960) kullanıldı.

**Kimyasal maddeler:** Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve elde edildikleri firmalar aşağıda gösterilmiştir.

Metanol	Merck
Dimetilformamid	Sigma
Sodyum karbonat	Merck
Sodyum hidrojenkarbonat	Merck
Potasyum dihidrojenfosfat	Merck
Disodyum hidrojenfosfat	Merck
Sodyum klorür	Merck
Tween 20	Merck
Sodyum hidrojen fosfat	Merck
Sitrik asit monohidrat	Merck
ABTS	Merck
Hidrojen peroksit	Merck
Sülfirik asit	Merck
Antiserum B1	Sigma
Aflatoksin B1	Aldrich
Anti-Aflatoksin B1-peroksidaz	Sigma
Fötalkölb serumu	Sigma

#### Solüsyonların hazırlanması:

**ABTS stok solüsyonu:** 0,1 g. ABTS 5 ml'lik suda

çözdürüldü ve 1'er ml'lik hacimler halinde -20 °C'de kullanım için bekletildi.

**ABTS kullanma solüsyonu:** 9,8 ml sitrat tampon, 0,1 ml 0,12 mol/l'lik hidrojen peroksit ve 0,1 ml ABTS stok solüsyonu iyice karıştırılarak kullanıma hazır hale getirildi.

**Hidrojen peroksit solüsyonu:** 0,12 mol/l olacak şekilde hazırlandı. Bu amaç için 0,15 ml % 30'luk hidrojen peroksit 9,85 ml distile su ile sulandırıldı. Günlük hazırlanmalıdır.

**Reaksiyon durdurma solüsyonu:** 25 ml %98-100'lük sülfirik asitten alınıp hacmi 100 ml'ye tamamlandı.

**Sitrat tampon solüsyonu:** (0,05 mol/l , pH 4) 4,8 g sitrik asit monohidrat 450 ml distile suda çözdürüldü. Yaklaşık 20 ml 1 mol/l Na- karbonat ile pH 4'e ayarlandı. Sonra hacmi 500 ml'ye su ile tamamlandı. +6 °C'da saklandı.

**Sodyum karbonat solüsyonu:** 10,6 g Na-karbonat 100 ml suda çözdürüldü. Fötal dana serumu taşıyan (% 3) PBS: 9 ml fötal dana serumu alındı ve hacmi PBS solüsyonu ile 300 ml'ye tamamlandı.

**% 1'lik FCS taşıyan PBS:** 15 ml fötal dana serumu alınıp hacmi PBS ile 1,5 l'ye tamamlandı.

**Bikarbonat tampon:** (0,1 mol/l, pH 9,6) Solüsyon A: 10,6 g Na-karbonat 1 litre suda çözdürüldü. Solüsyon B: 8,4 g Na-hidrojen karbonat 1 l suda çözdürüldü. Solüsyon B solüsyon A ile pH 9,6ya ayarlandı.

**Ekstraksiyon solüsyonu:** 70 ml-metanol, 29 ml PBS ve 1 ml Dimetilformamid karıştırıldı ve dört numunenin ekstraksiyonunda kullanıldı.

**Ekstrakt sulandırma solüsyonu:** 7 ml metanol, 92 ml PBS ve 1 ml dimetilformamid karıştırılarak hazırlandı.

**Fosfat tampon solüsyonu:** (PBS, 0,01 mol/l, 0,15 mol/l NaCl, pH 7,4). 0,27 g potasyum dihidrojenfosfat, 1,43 g disodyum hidrojenfosfat ve 8,55 g NaCl 1 litre suda çözdürülerek hazırlandı.

**PBS-Twen-Yıkama solüsyonu:** ( 0,1 mol/l, pH 7,4, 0,05 % Twen) . Solüsyon A:;0.54g Potasyum dihidrojenfosfat 17,1 g NaCl ve 1 ml Twen (20-80) 2 l suda çözdürüldü. Solüsyon B: 2,86 g diNa-hidrojenfosfat, 17,1 g NaCl ve 1 ml Twen 2 l suda çözdürüldü. Solüsyon B solüsyon A ile pH 7,4'e ayarlandı.

**Afl.B1 stok solüsyonu:** 1 mg Aflatoksin B1 10 ml kloroformda çözdürülerek hazırlandı (0,1 mg/ml).

**Afl.B1 çalışma solüsyonu:** Afl.B1 stok solüsyonundan 0,1 ml alınıp 10 ml'ye tamamlandı (1 mikrogram/ml). Bu solüsyondan 0, 1, 2, 4, 8 ve 10 mikrogram/Kg numune olacak şekilde yemlere katıldı. Bu değer 1 mikrogram /Kg için 0,02 ml/20 g numuneye denk gelir.

**Metot:** Bu çalışma Blüthgen u. Mitarb. (26) bildirdikleri ELİSA yöntemine göre yapıldı.

Antiserum B1 ve fötal dana serumları ile polisitolperlenlerin hazırlanması: Antiserum B1 'den 10 mikrolitre alınarak 1 ml'ye hacmi PBS ile tamamlandı (1/100). 82 °C'lik su banyosunda 5 dakika ısıtıldı. Oda ısısına soğutulduktan sonra 1/10 000 oranında Bikarbonat tampon ile tekrar sulandırıldı. Yani Ön sulandırmadan 0,1ml alınarak hacmi 1litreye Bikarbonat tampon ile çıkarıldı. Her positrolperlene bu serum

solüsyonundan verildi ve polisitrolperlenler oda ısısında bir gece ileri geri çalkalandı. Polisitrolperlenlerdeki tampon solüsyonu pipetlerle temizlendikten sonra iki kez PBS -Twen- Yıkama solüsyonu ile yıkandı. Daha sonra % 3 oranında fetal dana serumu taşıyan PBS her polisitrolperlene verildi. Polisitrolperlenler 35 dakika 37 °C'da inkübe edildikten sonra iki kez PBS-Twen -Yıkama solüsyonu ile yıkanarak, ELISA'da kullanıma hazır hale getirildi.

**Ekstraksiyon:** Standart amacıyla güneş ışığına ince serilerek 10 gün bırakılan ve muhtemel aflatoksin kalıntılarını gidermek amacıyla beş kez kloroformla ekstrakte edilip kurutulan kaşar numunelerine sırasıyla 0, 1, 2, 4, 8, 10, ppb'lik konsantrasyonlarda aflatoksin çalışma solüsyonundan ilave edildi. Numunelerdeki kloroform buharlaştıktan sonra ekstraksiyon yapıldı. Ekstrakt sulandırma solüsyonu ile ekstrakt 5 ml'ye tamamlandı ve oda ısısında karanlıkta uygulama için saklandı. 30 g numune iyice ufalandıktan sonra 20 gram bir beherglasa alınır ve üzerine 100 ml ekstraksiyon solüsyonu ilave edildi. Mikserde 3 dakika karıştırıldı, filtre edildi. Bu süzütüden 0,3 ml alınıp hacmi ekstrakt sulandırma solüsyonu ile 15 ml'ye tamamlandı.

**Uygulama:** 15 ml hacime getirilmiş standart ya da numune ekstraktı polisitrolperlenlere (1-3 arası) verildi. Perlenler bir kap içerisinde ışıktan korunarak oda ısısında bir saat süreyle makinede karıştırıldı. Solüsyon pipetle alınarak atıldı ve perlenler bir kez PBS-Tween-Yıkama solüsyonu ile yıkandı. Sonra polisitrolperlenler konjugat ile inkübe edildi. Burada 10 mikrolitrelik sentetik konjugat önce PBS ile 1/100 oranında sulandırıldı yani hacmi 1 ml'ye tamamlandı sonra 1/12.500 oranında % 1 oranında fetal dana serumu ilave edilmiş PBS ile sulandırıldı, yani 0,1 ml ön sulandırmadan alınıp hacmi %1 FCS taşıyan PBS ile 1,25 l'ye tamamlandı. Konjugatın son sulandırılmasından her perlene verildi. Perlenler ışıktan korunarak 1 saat oda ısısında karıştırılmadan saklandı. Konjugat pipetle emilerek atıldı ve perlenler üç kez PBS-Tween-Yıkama solüsyonu ile yıkandı. Sonra kromojen substrat solüsyonu ile perlenler inkübe edildi. Her perlene pipetler yardımıyla 0,2 ml substrat kullanma solüsyonu ilave edildi ve 37 °C'de su banyosunda karıştırılmadan inkübe edildi. Yeşil renk yaklaşık 20 dakikada maksimuma ulaşır. Reaksiyon bu zaman sonunda 0,025 ml 'lik durdurma solüsyonu ile sonlandırıldı, kısa bir karıştırma yapıldı.

**Fotometrik ölçüm:** Reaksiyon durdurulduktan sonra yeterli bir zamanda (20saniye/numune) ölçüldü. Perlenlerdeki sıvılar cilt ve kuvvet için yakıcı olabilir. 405 nm dalga boyunda absorbans ve konsantrasyon değerleri ölçülerek makineden sonuçlar alındı.

## Bulgular

Analiz sonucu elde edilen standart değerler grafiğe aktarılarak standart eğri elde edildi. Okuyucudan alınan konsantrasyon ve absorbans değerleri bu eğri göz önüne alınarak değerlendirildi. Her numuneden iki

kuyucuğa konarak bunlardan elde edilen sonuçların ortalaması kullanıldı.

Analiz sonuçlarına göre analiz edilen bütün örneklerde aflatoksin B1 kalıntısına rastlanmadı.

## Tartışma ve Sonuç

Mikotoksinler, doğada yaygın olarak bulunan ve oldukça ilginç özellikler gösteren mantarların metabolizma ürünleridir. Mantarlar hem bitkisel hem de hayvansal özellik gösteren canlılardır. Çeşitli sınıflara aittirler. Uygun şartlar bulduklarında hızla üreyerek mikotoksin sentezlerler(1,2,12,25,29). Mantarlar üreyebilmeleri için buldukları ortamda besin maddeleri, nem ve oksijene değişik yoğunluklarda ihtiyaç duyarlar(6,27,35). Yalnız mikotoksin sentezleme yeteneğine sahip olan her mantarların üremesi mikotoksin oluşturmaz. Yapılan çalışmalar mikotoksin sentezleyen mantarların üremesi sonucunda toksinlerin oluşabilmesi için besin maddeleri içerisinde karbonhidratların bulunması gerektiğini ortaya koymuştur. Mantarlar karbonhidratları ve özellikle şekerleri çok severler. Özellikle besin maddeleri içerisinde sakkarozun belirli yoğunluklarda bulunması mikotoksin sentezi için zaruridir. Yapılan çalışmalarda ortamda sakkarozun bulunması ile aflatoksin teşekkülü arasında doğru bir orantının mevcut olduğu tesbit edilmiştir. Besi yerlerine % 3.5 oranında sakkaroz katılması aflatoksin oluşumunu hızlandırdığı, hatta bu yoğunluğun % 8'e çıkarılması aflatoksin teşekkülünü daha çok artırdığı deneylerle ortaya konmuştur(16,27). Her iki çeşit besinde mantar üremesine rağmen protein içeriği yüksek olan baklagillere göre karbonhidrat içeriği fazla olan tahıllarda aflatoksin oluşumu daha fazladır.

Yapılan bu çalışmada hiç aflatoksine rastlanmamış olması muhtemelen yukarıda açıklanan sebeplerden dolayıdır. Kaşar peynirlerinde protein içeriğinin yüksek olması mantar ürese dahi mikotoksin sentezleme yeteneğinin en aza incecğini açıklamaktadır. Ayrıca kaşar peynirlerinin iç kısımlarında oksijen yetersizliğinden dolayı mantarın ürememesine de bağlı olabilir.

Peynirlerde, muhtemel aflatoksin kontaminasyon kaynağı olarak peynirlerin yapıldığı süt değerlendirilir. Aflatoksinlerin ısıya oldukça dayanıklı oldukları gözönüne alınacak olursa bu yönde bir kontaminasyonun olma olasılığı oldukça yüksektir. Ancak yapılan çalışmalarda süte besin maddeleri ile alınan aflatoksinlerin M1 metabolitinin geçtiği belirlenmiştir(11,16,30,31,32,33,34). Bu çalışmada bu yönde herhangi bir araştırma yapılmamış olup yalnızca aflatoksin B1 kalıntısı araştırılmıştır.

Aflatoksin analizinde çok sayıda yöntemden faydalanmak mümkündür(2,9,10,26,30). Bu çalışmada ELISA yöntemi kullanılmıştır. Araştırmacıya göre 1-10 ppb yoğunlukları arasında yöntemin linear eğri verdiği bildirilmektedir(26). İmmunokimyasal testlerde her zaman görülebilecek çapraz reaksiyon olayları ve daha yüksek konsantrasyonlardaki mikotoksin düzeylerinin belirlenmesindeki olumsuzluklar numunelerde aflatoksin

kalıntısına rastlanmaması dolayısıyla problem olmamıştır.

Mikotoksinlerin tüketicilerin sağlığını olumsuz yönte etkilemesinden dolayı besin maddelerinde bulunabilecek düzeyleri ile ilgili sınırlamalar getirilmiş ve bu konu ile ilgili çok sayıda araştırmalar yapılmıştır(11,23,31).

Sonuç olarak Kars'da üretilen ve tüketime sunulan kaşarlarda aflatoksin B1'e rastlanmamıştır.

## Kaynaklar

1. Anon.: The threat of aflatoxins. J.A.V.M.A. 194(6):743-746,(1989).
2. Bauer,JundGareis,M.:Untersuchungsmethoden für Mykotoxinen. Deutsch. Tierarztl. Wschr. 96, 346-349,(1989).
3. Burfening,P.J.: Ergotism. J.A.V.M.A. 163(11): 1288-1290,(1973).
4. Carlton,W.W., Tuite,J. and Caldwell,R.: Penicillium viridicatum toxins and mold nephrosis. J.A.V.M.A. 163(11): 1297-1299,(1973).
5. Habermehl,G.: Die Bedeutung von Mykotoxikosen für Mensch und Tier. Dtsch.Tierarztl. Wochenschrift. 96, 335-338,(1989).
6. Shreeve,B.J. and Patterson,D.S.P.: Mycotoxicosis. The Vet. Rec. October 11, 279-280,(1975).
7. Blaney,B.J., Bloomfield,R.C. and Moore,C.J.: Zearalenone intoxication of pigs. Aust. Vet. J. 61(1): 24-27,(1984).
8. Cysewski,S.J.: Paspalum staggers and tremorgen intoxication in animals. J.A.V.M.A. 163(11): 1291-1292,(1993).
9. Heeschen,W. und Blüthgen,A.: Bedeutung einer Mykotoxin für dieKontamination von Milch und Milchprodukten. Dtsch. Tierarztl. Wschr. 96, 355-360,(1989).
10. Kaya,S.: Süt yemi ve çiğ sütte aflatoksin kalıntılarının kromatografik yöntem ile araştırılması. A.Ü. Vet. Fak. Derg. 29(3-4): 443-457(1982).
- 11.Kaya,S.: Yem ve besinlerdeki mikotoksinler: İnsan ve hayvan sağlığı için önemleri. A.Ü. Vet.Fak. Derg. 36(1): 226-253,(1989).
- 12.Nelson,G.H.,Christensen,C.M. and Mirocha,C.J. : Fusarium and estrogenism in swine. J.A.V.M.A. 163(11): 1276-1277,(1973).
13. Schuh,M.: Bedeutung der Mykotoxinaufnahme für Leistung und Gesundheit.Dtsch. Tierarztl. Wschr. 96, 353-355,(1989).
- 14.Smalley, E.B.: T-2 toxin. J.A.V.M.A. 163(11): 1278-1280,(1973).
15. Tapia,M.O. and Seawright,A.A.: Experimental ochratoxiosis A in pigs. Aust. Vet. J. 61(7): 219-222,(1984).
16. Böhm, K.H.: Entwicklungsbedingungen für toxische Pilze. Dtsch. Tierarztl. Wschr. 96, 339-341,(1989).
- 17.Crump, M. H.: Slaframine (Slobber Factor) Toxicosis. J.A.V.M.A. 163(11):1300-1302,(1973).
18. Munro,I.C., Scott,P.M., Moodie,C:A. and Willes,R.F.: Ochratoxin A-occurrence and toxicity. J.A.V.M.A. 163(11): 1269-1273,(1973).
19. Richard,J.L.: Mycotoxin photosensitivity. J.A.V.M.A. 163(11): 1298-1299,(1973).
- 20.Shreeve,B.J.,Patterson,D.S.P. and Roberts,B.A.: Investigation of suspected cases of mycotoxicosis in farm animals in Britain. The Veterinary Record. October 11, 275-278,(1975).
21. Wilson, B.J. and Harbison,R.D. : Rubratoxins. J.A.V.M.A. 163(11): 1274-1275,(1973).
22. Wilson,B.J., Maronpot,R.R. and Hildebrandt,P.K.: Equine leukoencephalomalacia. J.A.V.M.A. 163(11): 1293-1294,(1973).
23. Kaya,S., Yavuz,H. ve Akar,F.: Bazı yağlı tohum küspelerinde mikotoksin kalıntıları. A.Ü. Vet. Fak. Derg. 37(1): 173-180,(1990).
24. Lillehoj,E.B.: Feed sources and conditions conducive to production of aflatoxin, ochratoxin, fusarium toxins and zearalenone. J.A.V.M.A. 163(11): 1281-1283,(1973).
- 25.Pier,A.C.: An overview of the mycotoxicoses of domestic animals. J.A.V.M.A.163(11): 1250-1261,(1973).
- 26.Blüthgen,A. ,Schrader,W. ,Aman,I. ,Heeschen,W. und Hahn,G. : Zum enzymimmunologischen Nachweis von Aflatoxin B1 in Futtermitteln für Milchtiere. I.Entwicklung und Bewertung eines Perlen-ELISA. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte. 42(3):339-349,(1990).
27. Thalmann,A.: Bedingungen für die Bildung von Mykotoxinen in Futtermitteln. Dtsch. Tierarztl. Wschr. 96, 341-343,(1989).
28. Trucksess,M.W., Young,K., Donahue,K.F., Morris,D.K. and Lewis,E.: Comparison of two immunochemical methods with thin-layer chromatographic methods for determination of aflatoxins. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 73(3): 425-428,(1990).
- 29.Müller,H-M.: Massnahmen zur Minderung von Mykotoxinbildung und -anreicherung in Futtermitteln. Dtsch. Tierarztl. Wschr.96, 363-368,(1989).
30. Ergün,Ö.: Sütte ELISA testi ile aflatoksin M1 tesbiti. Pendik Hayvan Hastalıkları Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi. 18(1-2):60-65,(1987).
31. Fink-Gremmels,J.: Bedeutung der Mykotoxinaufnahme für das Schlachtvieh. Dtsch. Tierarztl. Wschr. 96, 360-363,(1989).
- 32.Madden,U.A. and Stahr,H.M.: Retention and distribution of aflatoxin M1 in tissues of chicks fed aflatoxin-contaminated poultry rations amended with soil. Vet.Human Toxicol. 37(1): 24-29,(1995).
- 33.Steimer, J., Blüthgen,A., Heeschen,W., Wetzel,S. and Hamann,J.: Untersuchungen zur beeinflussung der ausscheidung von aflatoxin M1 durch polychlorierte biphenyle beim lactierenden rind. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte. 42(49): 543-552,(1990).
- 34.Wessel,J.R. and Stoloff,L.:Regulatory surveillance for aflatoxin and other mycotoxins in feeds, meat and milk. J.A.V.M.A. 163(11): 1284-1287,(1973).
- 35.Kaya,S., Bilgili,A. ve Çetin İ.: Etlik piliç yetiştiriciliğinde altlıktan kaynaklanabilecek mikotoksin riskinin araştırılması.TÜBİTAK VHAG Proje No: VHAG-783,(1990).

# Yemlere Katılan Sıvı ve Katı Yağların Etlik Piliçlerde Besi Performansı ile Vücut Yağının Miktarı ve Kesim Sonrası Saklama Koşullarına Etkisi \*

H.Melih YAVUZ<sup>1</sup> Mustafa EREN<sup>1</sup> Mustafa TAYAR<sup>2</sup> Serdar KARDEŞ<sup>1</sup>

## Özet

Bu araştırma broyler yemlerine katılan katı ve sıvı yağlar ile antioksidanların besi performansı, abdominal yağ oranı ve kesim sonrası saklama döneminde abdominal yağların peroksit değerleri ile refraksiyon sayılarındaki değişiklikler üzerine etkilerini incelemek amacıyla yapılmıştır. Araştırmada 200 adet Ross broyler civciv kullanılmıştır. Her grupta eşit sayıda erkek ve dişi civciv bulundurulmasına özen gösterilerek dört deneme grubu oluşturulmuştur. Denemede hayvanlara yedirilen civciv başlangıç yemleri 3100 Kkal/kg Metabolize olabilir enerji (ME) ve %22 Ham protein (HP), piliç büyüme yemleri ise 3200 Kkal/kg ME ve % 19.5 HP içermiştir. I ve II nolu grupların civciv başlangıç ve piliç geliştirme yemlerine sırasıyla % 3 ve % 5 oranında hayvansal yağ katkısı, III ve IV nolu grupların civciv başlangıç ve piliç geliştirme yemlerine ise sırasıyla % 3 ve % 5 oranında bitkisel yağ katkısı yapılmıştır. I ve III nolu grupların yemlerine antioksidan (Butylated Hydroxyanisole, Ethoxyquine, Sitrik asid, Formik asid ve Yüzey gerilimini azaltıcı maddeler içermiştir) ilave edilirken II ve IV nolu grupların yemlerine antioksidan konmamıştır. Bu araştırmanın sonuçları broyler yemlerine katılan yağ tipinin ve antioksidanın canlı ağırlık, karkas ağırlığı ve abdominalyağ birikimini etkilemediğini göstermiştir. I, II, III ve IV nolu grupların yemden yararlanma oranları sırasıyla 1.77, 1.76, 1.69 ve 1.76 olarak bulunmuştur. Kesimden sonraki birinci günde abdominal yağlardaki peroksit düzeyleri, I ve III nolu gruplarda II ve IV nolu gruplara göre daha düşük bulunmuştur. Abdominal yağ refraksiyon sayıları dört deneme grubunda da birbirine yakın bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Yağ, Yem, Peroksit, Broyler

## Summary

**Effect of oil and fat supplemented into feeds on broiler performance and amount and shelf life of body fat**

This research was conducted to determine the effects of vegetable oil, animal fat and antioxidants in broiler feed on broiler fattening performance, abdominal fat ratio and peroxide and refractive index values of abdominal fat after slaughter. In the experiment day-old 100 male and 100 female Ross broiler chicks were used. Four experimental groups were formed with maintaining uniformity. All groups consumed starter feeds containing 3100 kcal / kg Metabolizable Energy (ME) and 22 % Crude Protein (CP) between 1<sup>st</sup> - 21<sup>st</sup> days and grower feeds containing 3200 kcal ME / kg and 19.5 % CP between 21<sup>st</sup> - 42<sup>nd</sup> days ad libitum . Treatment I and II were fed finisher feed with 3 % supplemental animal fat (S.A.F.) and grower feed with 5 % S.A.F.. Treatment III and IV were fed finisher feed with 3 % supplemental soybean oil (SSO) and grower feed with 5 % SSO. Feeds of Treatment I and III included antioxidants (mixed Butylated Hydroxyanisole, Ethoxyquine, Citric acide, Formic acide and Surfactants) but feeds of treatment II and IV had no antioxidants.

The differences between live weights, carcass weights, and abdominal fat ratios were statistically insignificant at 42<sup>nd</sup> day. Feed conversion ratios were 1.77 (Treat. I), 1.76 (Treat. II), 1.69 (Treat. III) and 1.76 (Treat. IV). Peroxide values of Treatment I and III were lower than Treatment II and IV ( $P < 0.05$ ) at 1<sup>st</sup> day after slaughtering. Refractive index values of abdominal fat were similar in all groups.

**Key Words:** Fat, Feed, Peroxide, Broiler

## Giriş

Gelişmiş toplumlar, beyaz eti sağlıklı beslenmenin temel öğelerinden biri olarak değerlendirmektedirler. Bunun en önemli nedeni, beyaz etin kırmızı ete oranla daha az yağ içermesidir. Yağsız

ete karşı olan talep artışı insanlar tarafından tüketilen hayvansal yağ miktarı ile kalp-damar hastalıklarının ilişkilendirilmesinden kaynaklanmaktadır (1). Ayrıca tavukların iki birim yem ile bir birim canlı ağırlık kazanabilmeleri (2) tavuk etinin ruminantlardan elde edilen etlere göre daha ucuz bir hayvansal protein kaynağı olduğunu ortaya koymaktadır. Hem

\* Bu araştırma Uludağ Üniv. Araştırma Fonu (UÜAF 93/22) tarafından desteklenmiştir.

<sup>1</sup> Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, BURSA

<sup>2</sup> Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, BURSA

ekonomikliği hem sağlıklı beslenme yönünden gerekliliği tavuk etinin önemini daha da arttırmaktadır. Yüksek düzeyde enerji tüketimine gereksinim duyan broylerlerin yemlerine yağ katılması alışılmış bir uygulama haline gelmiştir. Bilindiği gibi yağlar karbonhidratlardan 2.5 kat daha fazla enerji içermelerinin yanısıra yemlerin sindirim kanalından geçiş hızını azaltarak ve diğer besin maddelerinin özellikle de karbonhidratların emilimini arttırmaktadırlar. Ayrıca yağlar kana geçtikten sonra karbonhidrat ve proteinlere göre daha az ısı artışına neden olduklarından (heat increment), yağlardan sağlanan enerji daha verimli olarak kullanılabilir (3). Günümüzde kanatlı yemlerinde bitkisel yağlar, hayvansal yağlar, rafinasyon yan ürünleri, rendering yağları ve bunların karışımları enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Tavukların yemlerinde %10' a kadar yağ toler edebildikleri bildirilmektedir (4). Çeşitli yağ tiplerinin broyler performansına etkilerinin incelendiği çeşitli araştırmalar bulunmaktadır (5,6,7). İzokalorik ve izonitrojenik rasyonlara eş düzeylerde katılan hayvansal ve bitkisel yağlarla ilgili araştırmalarda kanatlıların canlı ağırlık kazançlarının ve yemden yararlanma oranlarının yağ tipinden etkilenmediği bildirilmektedir (6, 7). Şenköylü (8) ise, broyler başlangıç yeminde % 4, geliştirme yeminde ise % 7 oranlarında asit yağ tüketen grupta hayvansal yağ tüketen gruba göre altıncı haftada abdominal yağ oranının daha düşük, yemden yararlanmanın daha iyi, canlı ağırlık kazancının ise daha yüksek olduğunu ileri sürmüştür. Ancak aynı çalışmada yedinci ve dokuzuncu haftalarda abdominal yağ birikimi, canlı ağırlık kazancı ve yemden yararlanma oranının, yemdeki katkı yağının tipinden etkilenmediği bildirilmiştir. Broyler yemlerine katılan yağ tipinin abdominal yağ miktarını etkilediğini (9) ve etkilemediğini (10) bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Pazar şartlarında broyler karkas yağı renk ve acılaşıma (oksidasyon) yönünden son derece önem taşımaktadır. Yağların hidrolize olmaları sonucunda çok miktarda serbest yağ ortaya çıktığı ve bunların neden olacağı peroksit oluşumu, dolayısıyla da acılaşımanın antioksidan kullanımıyla engellenebileceği bildirilmektedir (11). Kanatlı karkas yağının kıvamının da yemdeki yağ asitlerinin doymuşluk derecelerine bağlı olarak değişebileceği ileri sürülmektedir (3).

Bu araştırmanın amacı, broyler rasyonlarında kullanılacak yağ tipi ile antioksidanların, besi performansı üzerine ve vücut yağlarında peroksit oluşumuna, dolayısıyla da kimyasal olarak kesim sonrası raf ömrüne olabilecek etkilerini incelemektir.

### Materyal ve Metot

Araştırma U.Ü. Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde bulunan araştırma kümesinde gerçekleştirilmiştir. Araştırmada hayvan materyali olarak

kullanılan 200 adet günlük yaşta ROSS broyler civciv aşağıda gösterildiği gibi dört gruba ayrılmıştır. Her grupta, eşit sayıda erkek ve dişiden oluşacak şekilde 50 civciv bulundurulmuştur.

1. Grup (HY+AO): Hayvansal Yağ ve Antioksidan katılan yemleri tüketen grup
2. Grup (HY): Hayvansal Yağ katılıp Antioksidan katılmayan yemleri tüketen grup
3. Grup (BY+AO): Bitkisel Yağ ve Antioksidan katılan yemleri tüketen grup
4. Grup (BY): Bitkisel Yağ katılıp Antioksidan katılmayan yemleri tüketen grup

Yemlerin hazırlanmasında kullanılacak ham maddeler öğütülmüş halde alınıp mini yatay yem mikserinde karıştırılmıştır. Yemlere yağ katkısı olarak araştırma gruplarına göre soya yağı veya katı hayvansal yağ ilave edilmiştir. Denemede 21. güne kadar % 3 oranında katkı yağı içeren broyler başlangıç yemleri, 21. günden 42. güne kadar ise % 5 oranında katkı yağı içeren broyler geliştirme yemleri kullanılmıştır. Antioksidan olarak Butylated Hydroxyanisole (BHA), Ethoxyquine, sitrik asit, formik asit ve yüzey gerilimi azaltıcılar (surfactant) içeren bir ticari preparat kullanılmıştır. Araştırma yemlerinin içerikleri ile enerji ve besin maddeleri kapsamı Tablo 1'de gösterilmiştir. Yemlere katılan yağlardan yem hazırlanmadan önce örnekler alınarak peroksit miktarları ve refraktif indeks metodu ile doymuşluk dereceleri ölçülmüştür. Canlı ağırlık ve yem tüketimi haftalık olarak belirlenerek yemden yararlanma oranı tüketilen yem miktarının kazanılan canlı ağırlık miktarına bölünmesi ile elde edilmiştir. Karkasların tartımı ise kesim tüy yolma ve iç temizleme işleminden hemen sonra yapılmıştır. Her gruptan beş erkek, beş dişi olmak üzere tesadüfi olarak 10 karkas ayrıldıktan sonra bunların abdominal yağları çıkartılarak tartıldıktan sonra abdominal yağ oranı (abdominal yağ ağırlığı/karkas ağırlığı)x100 formülü ile hesaplanmıştır. Daha sonra karkaslardan çıkartılan abdominal yağlar naylon poşetler içerisinde + 4 °C' de yedi gün süreyle saklanmıştır. Soğutucuda saklanan abdominal yağlardan kesimden sonraki birinci günde hem refraksiyon sayıları hem de peroksit ölçümleri, kesimden sonraki dördüncü ve yedinci günlerde ise sadece peroksit ölçümleri yapılmıştır. Yemlere katılan yağlar ile abdominal yağ peroksit (AYP) değerleri T.S. 4964 1986'da (12) bildirilen metoda göre, refraksiyon sayıları T.S. 4960 1986' da (13) bildirilen metoda göre ölçülmüş, araştırmada kullanılan yemlerin kimyasal analizleri A.O.A.C. de (14) bildirilen metodlara göre gerçekleştirilmiştir. Araştırma verileri istatistiki yönden "Minitab Statistical Package" isimli bilgisayar programı ile varyans analizi (15) ve Duncan testi (16) uygulanarak değerlendirilmiştir.

Tablo 1. Denemede kullanılan rasyonların bileşimleri ile besin maddesi ve enerji kapsamları

Yem Maddeleri	B <sup>1</sup>	B <sup>1</sup>	B <sup>1</sup>	B <sup>1</sup>	G <sup>2</sup>	G <sup>2</sup>	G <sup>2</sup>	G <sup>2</sup>
	HY+AO (%)	HY (%)	BY+AO (%)	BY (%)	HY+AO (%)	HY (%)	BY+AO (%)	BY (%)
Mısır	52.60	52.60	51.00	51.00	51.60	51.60	49.90	49.90
Buğday	10.05	10.10	10.05	10.10	9.95	10.00	11.65	11.70
Soya Küspesi	22.00	22.00	25.00	25.00	26.50	26.50	26.50	26.50
Balık Unu	7.50	7.50	5.50	5.50	2.00	2.00	2.00	2.00
Et-Kemik Unu	3.50	3.50	4.10	4.10	3.50	3.50	3.50	3.50
Soya Yağı	0.00	0.00	3.00	3.00	0.00	0.00	5.00	5.00
Hayvansal Yağ	3.00	3.00	0.00	0.00	5.00	5.00	0.00	0.00
Mermer Tozu	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Tuz	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
DL-Metiyonin	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
L-Lizin	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Premix*	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Kolin	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Koksidiostat	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Antioksidan**	0.05	0.00	0.05	0.00	0.05	0.00	0.05	0.00
ANALİZ <sup>3</sup>								
Kuru Madde (%)	89.64	89.64	89.59	89.59	89.24	89.24	89.44	89.44
Ham Kül (%)	5.94	5.94	6.00	6.00	5.04	5.04	4.96	4.96
Ham Protein (%)	22.07	22.07	21.45	21.45	19.58	19.58	19.36	19.36
Ham Yağ (%)	6.50	6.50	6.48	6.48	8.20	8.20	8.23	8.23
Nişasta (%)	41.70	41.70	42.30	42.30	42.39	42.39	41.84	41.84
Sakkaroz (%)	3.30	3.30	3.40	3.40	3.80	3.80	3.80	3.80
Kalsiyum (%)	1.22	1.22	1.25	1.25	1.03	1.03	1.32	1.32
Toplam Fosfor (%)	0.70	0.70	0.65	0.65	0.60	0.60	0.55	0.55
Metabolize Olabilir Enerji (Kkal/kg)	3098	3098	3101	3101	3190	3190	3162	3162

<sup>1</sup> Broyler civciv başlangıç rasyonları

<sup>2</sup> Broyler piliç geliştirme rasyonları

<sup>3</sup> Besin maddesi ve enerji kapsamları doğal halde verilmiştir

\* Her 2.5 kg' da Vit. A 12 000 000 IU, Vit D3 1 500 000 IU, Vit E 30 000 mg, Vit K3 5000 mg, Vit B1 3000 mg, VitB2 6000 mg, Vit B6 5000 mg, Vit. B12 30 mg, Nikotin Amid 40 000 mg, Kalsiyum D- Pantotenat 10 000 mg, Folik Asid 750 mg, D - Biotin 75mg, Kolin Klorid 450 000 mg, Zink Basitrasin 50 000, Metiklorpindol 125 000mg, Mangan 80 000 mg, Demir 40 000 mg, Çinko 60 000, Bakır 5000 mg, İyot 2000 mg, Kobalt 500 mg, Selenyum 150 mg, Antioksidan 125 000 mg, Kalsiyum 158 885 mg içerir.

\*\* Butylated Hydroxyanisole (BHA), Ethoxyquine, Sitrik Asid, Formik Asid ve yüzey gerilimi azaltıcılar (Surfactant) içerir.

## Bulgular

Broyler başlangıç ve büyütme rasyonlarına sırasıyla % 3 ve % 5 oranlarında hayvansal yağ veya soya yağı ile antioksidan katılan deneme gruplarının altıncı hafta sonu itibariyle canlı ağırlık, yemden yararlanma oranı, karkas ağırlığı ve abdominal yağ oranı ortalamaları Tablo 2' de görülmektedir. Grupların altıncı

hafta sonu canlı ağırlık, karkas ağırlığı ve abdominal yağ oranı ortalamaları arasında istatistiki farklılık bulunmamıştır (Tablo 2). Grup yemlemesi yapılması nedeniyle yemden yararlanma oranı değerlerine istatistiki analiz uygulanamamasına rağmen Tablo 2' deki değerlere bakıldığında antioksidanlı ve bitkisel yağ içeren yemleri tüketen grubun yemden yararlanma kabiliyetinin diğerlerine göre daha iyi olduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 2. Grupların 6. hafta canlı ağırlık, yemden yararlanma oranı, karkas ağırlığı ve abdominal yağ oranları

GRUPLAR	Canlı Ağırlık (g)		Yemden Yararlanma Oranı $\bar{x}$	Karkas Ağırlığı (g)		Abdominal Yağ Oranı (%)*	
	$\bar{x}$	S $\bar{x}$		$\bar{x}$	S $\bar{x}$	$\bar{x}$	S $\bar{x}$
HY+AO	1691	28.2	1.77	1226	21.1	2.345	0.148
HY	1716	30.8	1.76	1253	23.4	2.844	0.252
BY+AO	1750	41.1	1.69	1253	30.8	2.690	0.208
BY	1705	31.9	1.76	1237	25.8	2.330	0.242

\* Abdominal yağ ağırlığının karkas ağırlığına % oranı

Tablo 3. Abdominal Yağların peroksit değerlerinde +4°C' deki saklama sürelerine göre oluşan değişimler

GRUPLAR	Abdominal Yağ Peroksit (AYP) Değerleri (mEq/kg)					
	1. Gün		4. Gün		7. Gün	
	$\bar{x}$	S $\bar{x}$	$\bar{x}$	S $\bar{x}$	$\bar{x}$	S $\bar{x}$
HY+AO	1.050 <sup>a(A)</sup>	0.245	3.450 <sup>b(B)</sup>	0.860	5.850 <sup>b(C)</sup>	0.686
HY	6.200 <sup>b(C)</sup>	0.904	1.850 <sup>ab(A)</sup>	0.470	3.975 <sup>ab(B)</sup>	0.541
BY+AO	2.850 <sup>a</sup>	0.427	2.500 <sup>ab</sup>	0.353	3.875 <sup>a</sup>	0.571
BY	11.770 <sup>a(C)</sup>	1.440	1.300 <sup>a(A)</sup>	0.211	3.590 <sup>ab(B)</sup>	0.360

(ABC) Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki farklar P<0.05 düzeyinde önemli

abc Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki farklar P<0.05 düzeyinde önemli

Tablo 4. Abdominal yağ refraksiyon sayısı ortalamaları

GRUPLAR	Refraksiyon Sayısı (+ 40 °C' de)	
	$\bar{x}$	S $\bar{x}$
HY+AO	1.468	0.0014
HY	1.469	0.0005
BY+AO	1.470	0.0007
BY	1.471	0.0018

Tablo 3'e bakıldığında deneme gruplarındaki hayvanların karkaslarından alınan abdominal yağların + 4 °C' deki saklama sürelerine göre AYP değerlerindeki değişimler ile bu değerlerin saklama süresine göre ve gruplar arasındaki istatistik değerlendirme sonuçları görülmektedir. Yemlere katılan soya yağının peroksit değeri 4.3 mEq/kg olarak, hayvansal yağın peroksit değeri ise 1.8 mEq/kg olarak ölçülmüştür. Hayvansal yağ ve antioksidan içeren yemleri tüketen grupta (HY+AO) AYP değerlerinin saklama süresi uzadıkça düzenli olarak yükseldiği anlaşılmaktadır. Antioksidan içermeyen yemleri tüketen gruplarda (HY ve BY) ise AYP değerlerinin dördüncü günde önemli bir azalma gösterdikten sonra yedinci günde tekrar artma eğiliminde oldukları, ancak yedinci günde bu artışların birinci gündeki düzeylere ulaşmadığı görülmektedir. Yemlerinde antioksidan ve bitkisel yağ bulunan grupta (BY+AO) AYP değeri ortalamaları arasındaki farkların istatistiki önem taşımadığı belirlenmiştir. Saklamanın (+4°C' de) birinci gününde antioksidanlı yem tüketen grupların (HY+AO ve BY+AO) AYP değerleri antioksidansız yem tüketen gruplara (HY ve BY) göre daha düşük (p<0.05) bulunmuştur. Bununla birlikte saklamanın dördüncü ve

yedinci günlerinde de grupların abdominal yağ peroksit değerleri arasında bazı farklılıklar gözlenmektedir.

Araştırmada hayvanlara yedirilen yemlere katılan soya yağının refraksiyon sayısı 1.467, hayvansal yağın refraksiyon sayısı ise 1.455 olarak bulunmuştur. Tablo 4 ise deneme gruplarındaki hayvanların abdominal yağ refraksiyon sayılarının ortalamalarını göstermektedir. Bu değerler arasındaki farkların istatistiki önem taşımadığı belirlenmiştir.

## Tartışma ve Sonuç

Araştırmada HY+AO, HY, BY+AO ve BY gruplarının altıncı hafta sonu canlı ağırlık ortalamaları sırasıyla 1691, 1716, 1750 ve 1705g olarak saptanmıştır (Tablo 2). Grupların deneme sonu canlı ağırlık ortalamaları arasında görülen farklılıkların istatistiki bakımdan önemli olmadığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, broylerlerde altıncı haftada canlı ağırlığın yeme katılan yağ tipinden etkilenmediğini bildiren çalışmaların (6,7,9) sonuçlarıyla desteklenmektedir. Ancak Şenköylü (8), yemdeki yağ tipinin altıncı haftada canlı ağırlık kazancını etkilediğini, fakat yedinci ve dokuzuncu haftalarda bu etkinin görülmediğini bildirmektedir. Griffiths ve ark. (5) ise, broyler yemlerindeki mısır yağının bitkisel + hayvansal yağ karışımlarından daha fazla canlı ağırlık kazancı sağladığını, fakat mısır yağı ile kanatlı rendering yağı tüketen grupların canlı ağırlıkları arasında fark bulunmadığını bildirmektedirler. Benzer çalışmalarda ve bu araştırmada elde edilen sonuçlar incelendiğinde, yemlerde hayvansal veya bitkisel yağ kullanılmasının canlı ağırlık artışı üzerine önemli bir etkisinin bulunmadığı kanısı uyanmaktadır. Karkas ağırlığıyla ilgili elde edilen verilere bakıldığında da canlı ağırlıkta



olduğu gibi grupların karkas ağırlığı ortalamaları arasındaki farkların istatistiki önem taşımadığı görülmektedir (Tablo 2). Bu bulgular yemdeki yağ tipinin broylerlerde altıncı hafta karkas ağırlığını etkilemediğini bildiren Valencia ve ark.'nın (10) bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Tablo 2'de de görülen HY+AO, HY, BY+AO ve BY gruplarının altıncı hafta sonu yemden yararlanma oranı ortalamaları sırasıyla 1.77, 1.76, 1.69 ve 1.76 olarak bulunmuştur. Yemden yararlanma ile ilgili veriler incelendiğinde, sadece antioksidan ve bitkisel yağ katılan grubun diğerlerine göre daha iyi bir yemden yararlanma yeteneğine sahip olduğu görülmektedir. Her ne kadar grup yemlemesi yapılması dolayısıyla bu farklılığın istatistiki önemi saptanamamışsa da, bu grupta daha iyi bir yemden yararlanma oranı saptanması, doymamış yağları fazla miktarda içeren bitkisel yağların katıldığı yemlere antioksidan ilave edilmesinin yararlı olacağını düşündürmektedir. Bu yararın antioksidanların yağ ile birlikte emilen yağda eriyen vitaminleri de oksidasyondan korumasından ve kullanılan preparatın içerdiği emülsifiye edici ajanların sindirim üzerine olumlu etkilerinden kaynaklandığı ileri sürülebilir. Buna karşın antioksidan katkısı yapılmayan bitkisel yağ grubu ile hayvansal yağ grupları arasında yemden yararlanma bakımından bir farklılık görülmemiştir. Bu sonuçlar broyler yemlerindeki yağ tipinin yemden yararlanma üzerine etkili olmadığını belirten çalışmaların (7,9) sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Ancak bitkisel kökenli yağların altı haftalık dönemde yemden yararlanmayı hayvansal kökenli yağlara göre olumlu yönde etkilediğini ileri süren araştırmacılar da (8, 17) bulunmaktadır.

Tablo 2'de görülen HY+AO, HY, BY+AO ve BY gruplarının altıncı hafta sonu abdominal yağ oranları sırasıyla 2.34, 2.84, 2.69 ve 2.33 olarak saptanmıştır. Broiler yemlerine katılan hayvansal veya bitkisel yağların abdominal yağ oranına etkilerini inceleyen çalışmalara (8, 10) benzer şekilde bu araştırmada da iki yağ tipinin abdominal yağ oranı üzerine belirgin etkilerinin saptanamaması, hayvansal veya bitkisel yağların broylerlerde abdominal yağ birikimi üzerine farklı bir etki yaratmadığını düşündürmektedir.

Tablo 3'de görülebileceği gibi abdominal yağ peroksit (AYP) değerleri kesimden sonraki birinci, dördüncü ve yedinci günlerde HY+AO grubunda sırasıyla 1.05, 3.45 ve 5.85 mEq/kg, HY grubunda sırasıyla 6.20, 1.85 ve 3.98 mEq/kg, BY+AO grubunda sırasıyla 2.85, 2.50 ve 3.88 mEq/kg, BY grubunda ise sırasıyla 11.77, 1.30 ve 3.59 mEq/kg olarak ölçülmüştür. Bulgular bölümünden de anlaşılacağı gibi yemlerinde antioksidan bulunmayan grupların AYP değerlerinin saklamanın dördüncü gününde önemli azalmalar gösterdikten sonra yedinci günde tekrar yükselme eğiliminde oldukları gözlenmektedir. Saklamanın dördüncü günündeki bu azalmalar, hidroperoksitlerin ileri derecedeki oksidasyonlarla aldehit ve ketonlara parçalanabileceğini bildiren Downey 'in (18) görüşüyle

açıklanabilir. Ancak BY+AO grubunun saklamanın birinci, dördüncü ve yedinci günlerindeki AYP değerleri arasında istatistiki önem taşıyan fark bulunmaması, bununla beraber diğer üç grubun AYP değerlerinin saklamanın yedinci gününde yükselmeleri mevcut literatür bilgileriyle açıklanamamaktadır. Tablo 3'deki AYP değerlerinden anlaşılacağı gibi, kesimden sonraki birinci günde, yemlerinde antioksidan bulunan grupların AYP değerleri yemlerinde antioksidan bulunmayan gruplardan daha düşüktür. Bu bulgular, Ashgar ve ark.'nın(19) okside yağların hücre membran lipidlerinde oksidasyonu artırdığı ve Butylated Hydroxyanisole (BHA) ile Butylated Hydroxytoluene (BHT)' nin hücre membran lipidlerinde stabiliteyi sağladığını bildiren görüşleriyle desteklenmektedir. Saklamanın dördüncü ve yedinci günlerinde grupların AYP değerleri arasındaki farklılıkların, bu değerlerde saklama süresine bağlı olarak meydana gelen değişikliklerin tartışıldığı bölümde açıklanan nedenlerden dolayı, sağlıklı olarak değerlendirilemeyeceği düşünülmektedir.

Karkaslardan alınan abdominal yağların refraksiyon sayıları HY+AO, HY, BY+AO ve BY gruplarında sırasıyla 1.468, 1.469, 1.470 ve 1.471 olarak bulunmuştur. Ortalama değerler arasında istatistiki öneme sahip fark bulunmaması, abdominal yağların yağ asidi kompozisyonunun yeme % 3 ve % 5 oranlarında katılan yağlardan daha fazla yemlerde %60 civarında bulunan tahılların içerdiği doymamış yağ asitlerinden etkilenmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Bu araştırmanın sonuçları, antioksidanların broyler yemlerinde bitkisel yağlarla birlikte kullanıldığında yemden yararlanmayı arttırabileceğini göstermiştir. Ayrıca araştırmada elde edilen sonuçlar kanatlı yemlerinde hayvansal ve bitkisel yağ kullanımında yemlere ve yem yapımında kullanılan yağlara antioksidan katılarak karkas yağlarının oksidasyondan korunabileceğini ortaya koymuştur. Karkas yağlarının stabilizasyonu ile ilgili çok az sayıda bilimsel çalışma bulunmaktadır. Gelecekte gıdaların saklanması daha da önem kazanacağından, bu konuda mikrobiyolojik bulgularla da desteklenen daha fazla bilimsel çalışmaya gereksinim bulunmaktadır.

## Kaynaklar

- 1- Cabel MC, Waldroup PW: Effect of different nutrient - restriction programs early in life on broiler performance and abdominal fat content, Poultry Sci 69:652-660 (1989).
- 2- Ensminger ME, Olentine JrCG: Feeds and Nutrition, p864-865 First Ed, The Ensminger Publishing Co California, I-824 (1980).
- 3- Maynard LA, Loosli JK, Hintz HF, Warner RG: Animal Nutrition, 7th Ed, Tata McGraw Hill Publishing Co Ltd, New Delhi (1983).
- 4- Türker H: Bilimsel Yönleriyle Tavuk Besleme, İstanbul (1988).
- 5- Griffiths L, Leeson S, Summers JD: Influence of energy system and level of various fat sources on performance and carcass composition of broilers, Poultry Sci 56:1018 - 1026 (1976).
- 6- Rethwill CE, Bruin TK, Waibel PE, Addis PB: Influence of Dietary Fat Source and Vitamin E on Market Stability of Turkeys, Poultry Sci, 60: 2466 - 2474 (1981).

7- Waldroup PW, Watkins SE, Saleh EA: Comparison of two blended animal - vegetable fats having low or high free fatty acid content, J Appl Poultry Res 4:41 - 48 (1995).

8- Şenköylü N: İç yağ, asid yağ ve bunların karışımının broyler performansına etkileri, Uluslararası Tavukçuluk Kongresi Tebliğ Kitapçığı, İstanbul (1990).

9- Akiba Y, Takahashi K, Horiguchi M, Kenmotsu K: Effects of dietary fat and protein sources on performance, lipid content and mixed function oxidase in liver and fat deposition and adipocyte cellularity in abdomen in broiler chickens. Japanese Poultry Science, 31: 6, 381 - 391 (1994) (Abstr).

10- Valencia ME, Watkins SE, Waldroup AL, Waldroup PW, Fletcher DL: Utilization of crude and refined palm and palm kernel oils in broilers diets, Poultry Sci 72: 12, 2200 - 2215 (1994).

11- Şenköylü N: Tavuk yemlerinde yağ düzeyi, Çiftlik Dergisi 12; 51-56 (1991).

12- T.S. 4964, Türk Standartları Enstitüsü, Hayvansal ve Bitkisel Yağlar - Peroksit Sayısı Tayini (1986).

13- T.S. 4960, Türk Standartları Enstitüsü, Hayvansal ve bitkisel yağlarda refraksiyon sayısı (1986).

14- A.O.A.C., Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 14th Ed, Assoc Off Anal Chem, Washington D.C. (1984).

15- Kutsal A, Alpan O, Arpacık R: İstatistik Uygulamalar, Bizim Büro Basımevi, Ankara (1990).

16- Li JCR: Introduction to statistical inference, Edwards Brothers Inc Ann Arbor, Michigan (1961).

17- Thacker PA, Campbell GL, Xu Y: Composition and nutritive value of acidulated fatty acids, degummed canola oils and tallow as energy sources for starting broiler chick, Animal Feed Science and Technology, 46: 3 - 4, 251 - 260 (1994).

18- Downey NK: Lipid Oxidation as off flavour development during the storage of dairy products, J Society of Dairy Tech 22(3) : 154 - 161 (1969).

19- Ashgar A, Lin CF, Gray I, Buckley DJ, Booren AM, Crackel RL, Flegal CJ: Influence of oxidised dietary oil and antioxidant supplementation on membran - bound lipid stability in broiler meat, British Poultry Sci, 30: 815 - 823 (1989).

## 5-Etoksi-2-[2-(Morfolino)-Etiltio]-Benzimidazol' un Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması

Hakani Sabiroğlu RAHİMOV<sup>1</sup>

Mehmet KARA<sup>2</sup>

Asmagül RAHİMOVA<sup>3</sup>

### Özet

Bu çalışma, yeni keşfedilen ve anksiyolitik etkisi olduğu bilinen merkaptobenzimidazol türevi bir maddenin (5-Etoksi-2-[2-(Morfolino)-Etiltio]-Benzimidazol), anksiyolitik etkide rolü olabilen antioksidan özelliklere sahip olup olmadığını ortaya çıkarmak için yapıldı. Bunun için Hemoluminisans metodu ile hücreli ve hücresiz model sistemleri kullanıldı.

Araştırılan madde  $10^{-9}$  -  $10^{-4}$  mol konsantrasyonlarda önemli derecede antioksidan etki gösterdi. Farklı dozlarda bile, araştırılan maddenin hem hücreli hem de hücresiz modelde yalnızca antioksidan etki gösterdiği, ancak prooksidan etki göstermediği saptandı.

Sonuç olarak, araştırılan maddenin büyük aralıklı konsantrasyonda antioksidan etkisinin olması, fakat prooksidan etkisinin hiç olmaması nedeniyle, ileride güvenli bir ilaç olabileceği söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Merkaptobenzimidazol, antioksidan, anksiyolitik

### Summary

#### *An Investigation of Antioxydant Properties of 5-Ethoxy-2-[2-(Morpholino)-Ethylthio]-Benzimidazole*

This study was planned to investigate if the antioxydant properties were present in anxiolytic effects of a mercaptobenzimidazole derivative agent (5-Ethoxy-2-[2-(Morpholino)-Ethylthio]-Benzimidazole) of which the anxiolytic effects were previously known. Hemoluminisans method with and without cell model-systems were used.

The investigated agent showed important antioxydant effect in  $10^{-9}$  -  $10^{-4}$  mol concentrations. Even in different doses, the investigated material showed only antioxydant effect but not prooxydant effect either in with and without cell models.

In conclusion, this material may be a safe drug in future since it has antioxydant effect in wide range concentrations and has no prooxydant effect.

**Key Words :** Mercaptobenzimidazole, antioxydant, anxiolytic

### Giriş

Emosyonel-stres reaksiyonları, kalp-damar, psikiyatrik ve onkolojik hastalıklara zemin hazırlar (1-3) ve hatta bazı hayvanlarda kromozom aberrasyonlarına neden olurlar (2,4). Bu nedenle emosyonel-stres reaksiyonlarının tedavisi oldukça önemlidir. Bu amaçla, trankilizanların bir grubu olan benzodiazepinler kullanılmaktadır (3,5,6). Ancak, iyi sonuçlar vermelerinin yanında bu ilaçların miyorelaksasyon, dizartri, amnezi, ataksi ve bağımlılık gibi bir takım yan etkileri de vardır (2-6). Dolayısıyla yeni, güçlü ve yan etkileri daha az ilaçların geliştirilmesi gerekir.

Bir kısım doğal maddelerin (ferment, nükleik asit, alkaloid) yapısına giren benzimidazol bileşikleri üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır (2,3,7-10). Bununla

ilgili olarak benzimidazol bileşiklerinin kimyası hızlı bir şekilde gelişme göstermiştir. Yapılan araştırmalar neticesinde bu bileşiklerin psikotrop ve diğer farmakolojik etkileri olduğu bulunmuştur (7-13). Benzimidazol bileşiklerinden 2-imidazolün, 2-imidazolitiol (14) ve Bemetil' in (15,16) antioksidan etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Bemetil'in geniş aralıklı konsantrasyonlarda  $\text{OH}^{\cdot}$  radikallerine etki gösterdiği ve oksijenin aktif formlarının oluşmasını inhibe ettiği gösterilmiştir (14,16).

Bu çalışmanın amacı, daha önce anksiyolitik etkisi belirlenen (14,17) merkaptobenzimidazol türevi bir maddenin, anksiyolitik etkide rolü olabilen antioksidan özelliklere sahip olup olmadığını ortaya çıkarmaktır.

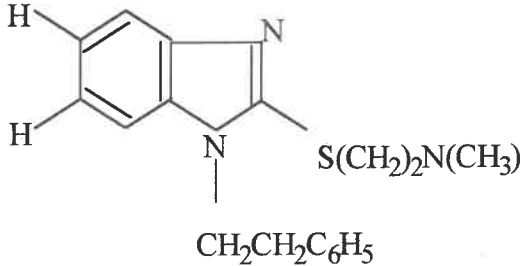
<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, VAN.

<sup>2</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, VAN.

<sup>3</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, VAN.

## Materyal ve Metot

Bu çalışmada, araştırılan maddenin (Şekil 1) antioksidan özellikleri hücre (2,4) ve hücreli model sistemlerinde (18) araştırıldı. Hücresiz sistemler ve organizmadaki fagosit hücreler, serbest oksijen radikallerinin ( $H_2O_2$ ,  $O^{\cdot-}$ , v.d.) kaynağıdır.



Şekil 1. 5-Etoksi-2-[2-(Morfolino)-Etiltio]-Benzimidazol'un kimyasal formülü.

Araştırılan maddeye serbest oksijen radikallerinin oluşmasını sağlayan luminol ilave edilerek Hemoluminisans metodu ile incelendi (18,19). Kontrol grubunda, araştırılan madde yerine serum fizyolojik kullanıldı.

$10^{-12}$  ile  $10^{-1}$  mol arasında 12 farklı konsantrasyonda hazırlanan araştırılan madde, pH'sı 7.4 olan ve 110 mM NaCl, 10 mM Tris, 5 mM Glukoz ve 0.65 mM Luminol içeren karışıma ilave edilerek, her bir dozdaki hemoluminisans,  $37^\circ C$ ' de luminometrede ölçüldü. Luminometrede 1 cc'lik standart tüpler kullanıldı. Araştırılan maddenin her bir dozu için hücreli sistemde beş, hücresiz sistemde altı deneme yapıldı. Her bir denemenin sonucu, üç tekrarın ortalaması olarak kaydedildi. Böylece araştırılan maddenin tek bir dozu için kontrol dışında hücreli sistemde 15, hücresiz sistemde 18 olmak üzere toplam 33 tüp kullanıldı. Her bir tüp içinde üç farklı madde bulunmaktaydı:

1. Serum fizyolojik veya araştırılan madde.
2. pH'sı 7.4 olan karışım.
3. Hücreli veya hücresiz model sistemi.

Hücresiz model sistemi olarak " $H_2O_2 +$  Peroksidaz", peroksidaz kaynağı olarak da Peroksidaza hrena (yaban turpu) bitkisi kullanıldı (2,4).

Hücreli model sistemi olarak ırkı belirsiz beyaz sıçanların periton eksudatında olan fagosit hücreler kullanıldı. Periton eksudatı, 199 standart'a ilave edilerek 1 ml'de 10 hücre bulunan hücre süspansiyonu hazırlandı (18,19). Bu süspansiyondaki hücrelerin % 20'si lenfosit, % 20-30'u makrofaj ve % 40-60'ı polimorf hücreli lökosit idi.

Sonuçlar Student-t testi ile değerlendirildi (20).

## Bulgular

Merkaptobenzimidazol türevi olan bu madde büyük aralıklı konsantrasyonda, hücresiz sistemde serbest radikallerin oluşmasını inhibe etti. En güçlü etki,  $10^{-7}$  -

$10^{-4}$  mol aralığında görüldü (Tablo 1). Kontrolde farksız sonuçların alındığı dozlar tablolarda gösterilmedi.

Tablo 1. Hücresiz sistemde, araştırılan maddenin antioksidan etkisi (Ort.  $\pm$  SD).

Konsantrasyon (mol)	Deneme sayısı*	Hemoluminisans derecesi (U)	p (kontrolden farkı)
Kontrol	6	1382.9 $\pm$ 42.5	---
$10^{-4}$	6	343.0 $\pm$ 28.5***	p < 0.001
$10^{-5}$	6	421.7 $\pm$ 24.2***	p < 0.001
$10^{-6}$	6	927.3 $\pm$ 61.9***	p < 0.001
$10^{-7}$	6	1010.5 $\pm$ 44.6***	p < 0.001
$10^{-8}$	6	1070.3 $\pm$ 89.1*	p < 0.05
$10^{-9}$	6	1089.3 $\pm$ 95.2*	p < 0.05

\* her deneme, üç tekrarın ortalamasıdır

Araştırılan madde, hücreli sistemde de yine aynı doz aralığında antioksidan etki gösterdi (Tablo 2).

Tablo 2. Hücreli sistemde, araştırılan maddenin antioksidan etkisi (Ort.  $\pm$  SD).

Konsantrasyon (mol)	Deneme sayısı*	Hemoluminisans derecesi (U)	p (kontrolden farkı)
Kontrol	5	3.6 $\pm$ 0.1	---
$10^{-4}$	5	2.1 $\pm$ 0.4**	p < 0.01
$10^{-5}$	5	2.4 $\pm$ 0.3**	p < 0.01
$10^{-6}$	5	1.8 $\pm$ 0.1***	p < 0.001
$10^{-7}$	5	2.0 $\pm$ 0.4***	p < 0.001
$10^{-8}$	5	2.2 $\pm$ 0.1***	p < 0.001
$10^{-9}$	5	2.3 $\pm$ 0.2***	p < 0.001

\* her deneme, üç tekrarın ortalamasıdır

## Tartışma

Stresli durumlarda, membranlarda serbest radikallerin aktivitesi ile seyreden değişiklikler olur ve sonuçta santral sinir sistemindeki reseptörlerin ligandlara affinitesi azalır (21). Ancak, antioksidan etkisi olan maddeler ligandların nöroreseptörlere affinitesini artırır (22).

Araştırılan maddenin, geniş aralıklı konsantrasyonda antioksidan etkiye sahip olduğu ve bu etkinin her iki sistemde de  $10^{-9}$  -  $10^{-4}$  mol aralığında olduğu gözlenmiştir. Benzimidazol bileşiklerinden 2-imidazolone, 2-imidazoltiol (14) ve Bemetil' in (15,16) de antioksidan etkilerinin olduğu bildirilmektedir.

Antioksidan etkiye sahip bir kısım maddeler, bazı konsantrasyonlarda prooksidan etki de gösterebilmektedirler (23). Bu tip maddelerin ilaç olarak kullanılması mümkün olmamaktadır. Bu çalışmada, araştırılan maddenin yalnızca antioksidan etkisi olduğu ve en önemlisi bu etkinin iki farklı sistemde de aynı olduğu saptanmıştır. Bu sonuca göre, anksiyolitik etkisi bilinen araştırılan maddenin membran-reseptör seviyesinde etki gösterdiği anlaşılmaktadır. Bir maddenin ilaç olarak üretilebilmesi için, büyük aralıklı konsantrasyonda antioksidan etkisinin olması ve bu maddenin prooksidan etkisinin olmaması gerekir (2,4).

Sonuç olarak, araştırılan madde bu iki şarta da sahip olduğundan ileride güvenli bir ilaç olabileceği söylenebilir.

## Kaynaklar

1. Andronati SA: Gidazepam, p:196, İzdat Naukovo Dumka, Kiev (1992).
2. Seredenin SB: Otçyot po planovoy NİR. Nİİ farmakologii, p:345, Moskova (1991).
3. Haefely W: Biological basis of the therapeutic effects of benzodiazepines. In: Benzodiazepines today and tomorrow. Ed. R.G. p:19-46, Priest Lancaster (1980).
4. Seredenin SB, Durnev AD: Farmakologičeskaya zaşıta genoma, p:155, Moskova (1992).
5. Seredenin SB, Blednov YA: Vliyanie fenazepam na soderjanie AKTG v plazme krovi inbrednih mişey pri stressovih vozdeystviyah, Byull Eksp Biol Med 12:724-726 (1986).
6. Voronina TA: Recent developments in the search for novel nonbenzodiazepine anxiolytics, Can J Phys Pharmacol 13.21.1 (1994).
7. Doble A, Martin JL: Multiple benzodiazepine receptors: no reason for anxiety, Trends Pharmacol Sci 13(12):76-81 (1992).
8. Pojarski AF, Gamoski AD, Simonov AM: Uspehi himii imidazola, Uspehi himii 2:261-302 (1966).
9. Nakajima S, Tanaka I, Seki T: Antifungal substances. I. Synthesis and antifungal effects 2-mercaptobenzimidazoles derivatives, Jap. Pat. C.A. 1959. 8124e.
10. Nacajima S, Tanaka I, Aka T: I- and s-benzimidazole 2-thioether derivatives, Jap. Pat. C.A. 1963. 58. 13964f.
11. Benzimidazole derivatives having antiinflammatory, antipyretic and central nervous system depressive activities, Fr. Pat. C.A. 1971. 74. 130379u.
12. Ueno K, Sato M: Derivatives of disubstituted benzimidazoles, Fr. Pat. C.A. 1978. 50181p.
13. Ueno K, Sato M, Arimoto M: Derivatives of disubstituted benzimidazoles, Belg. Pat. C.A. 1976. 85. 160031p.
14. Rahimov HS, Seredinin SB, Blednov YA: Proizvodnie 2-merkaptobenzimidazola, obladayuşie selektivnoy anksiolitičeskoy aktivnostyu, Ros. Pat. 94022663, 10.06.94.
15. Smirnov AV: Bemetil: mekhanizm deystviya i svyazannie s nim effekti, Fizyologičeskie aktivnie veşestva 25:5-9 (1993).
16. Plotnikov MB: Antipoksičeskie i antiokislitelnie svoystva bemitila, Byull Eksp Biol Med 5:583-585 (1989).
17. Rahimov HS: Pharmacologically active 2-mercaptobenzimidazole derivatives, RU 95106120, 18.04.95.
18. Vladimirov YA: Svobodnoradikalnoe okislenie lipidov i fizičeskie svoystva lipidnogo sloya biologičeskih membran, Biofizika 32(5):830-844 (1987).
19. Baraboy VA: Perikisnoe okislenie i stress, p:186, Sant-Peterburg (1992).
20. Belenkiy ML: Elementi količestvennoy otsenki farmakologičeskogo efekta, p:180, Riga (1963).
21. Vladimirov YA, Arçakov AU: Perikisnoe okislenie lipidov v biologičeskih membranah, p:210, Nauka (1972).
22. Burlakova EB: Modifikasiya lipidov membran mitohondrii peçeni mişey i kinetičeskie parametri membranoviyazannoy monoaminooksidazi in vitro i in vivo, Voprosi med him 1:66-72 (1984).
23. Kahl R: Syntetic antioxidants: biochemical actions and interference with radiation, toxic compounds, chemical mutagens and chemical carcinogens, Toxicology 33:185-228 (1984).

# Karbondetrazlorür ile Deneysel Siroz Oluşturulan Tavşanlarda Sialik Asit, Lipid-Bağlı Sialik Asit, Total Protein ve Bazı Spesifik Karaciğer Enzimlerinin Aktivitelerinin Araştırılması\*

Ali ERTEKİN<sup>1</sup>Ayşegül BİLDİK<sup>1</sup>

## Özet

Bu çalışmada, deneysel siroz oluşturulan tavşanların serumlarında sialik asit, lipid-bağlı sialik asit miktarları ile total protein ve bazı karaciğer enzimlerinin aktiviteleri araştırıldı. Siroz oluşumunun değişik evrelerinde bu parametrelerin konsantrasyonları ve aktiviteleri ölçüldü. Sirozlu gruplarda sialik asit (SA) ve lipid-bağlı sialik asit (LSA) miktarlarında önemli bir artış olurken kontrol gruplarında herhangi bir artış olmadığı ve sabit kaldığı gözlemlendi. SGOT ve SGPT enzimlerinin miktarlarında da sirozlu gruplarda belirli bir artış olmadığı ve sabit kaldığı tesbit edildi. Total protein miktarlarında ise sirozlu gruplardaki karaciğer harabiyetinden dolayı protein sentezinde azalmalar gözlemlendi. Kontrol grubuna göre sirozlu gruplarda total protein miktarlarında bir düşme olduğu tesbit edildi.

Akut siroz oluşturulan grupta sialik asit, lipid-bağlı sialik asit, total protein, SGOT ve SGPT düzeyleri sırasıyla üçüncü saatte  $8.34 \pm 0.88$  mg/dl,  $30.1 \pm 2.6$  mg/dl,  $7.6 \pm 0.16$  % gr,  $2705 \pm 51$  U/L,  $2380 \pm 42$  U/L olarak bulunurken, bu değerlerin kontrol grubunda yine sırasıyla  $6.26 \pm 0.52$  mg/dl,  $30 \pm 3.7$  mg/dl,  $8.8 \pm 0.23$  % gr,  $44 \pm 4.9$  U/L,  $56.4 \pm 6.2$  U/L de kaldığı gözlemlenmiştir. 24. saatteki ölçümlerde ise bu değerler yine yukarıdaki sıraya göre akut siroz oluşturulan grupta  $44.6 \pm 9.3$  mg/dl,  $109.1 \pm 16$  mg/dl,  $6.3 \pm 0.24$  % gr,  $1164 \pm 87$  U/L,  $1332 \pm 116$  U/L olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise bu miktarlar LSA, total protein, SGOT ve SGPT sırasına göre  $36.6 \pm 3.2$  mg/dl,  $12.94 \pm 1.1$  % gr,  $49.9 \pm 4.1$  U/L,  $68 \pm 7.1$  U/L olarak tesbit edildi.

Kronik sirozlu grupta ise bu miktarlar sırasıyla 2. haftada  $3.23 \pm 0.34$  mg/dl,  $18.43 \pm 0.69$  mg/dl,  $6.52 \pm 0.25$  % gr,  $357.9 \pm 6.1$  U/L,  $332.57 \pm 3.8$  U/L olarak, 4. haftada  $4.31 \pm 0.3$  mg/dl,  $23.68 \pm 0.87$  mg/dl,  $8.28 \pm 0.12$  % gr,  $455.3 \pm 11$  U/L,  $425.67 \pm 3.4$  U/L olarak, 6. haftada ise bu miktarlar  $5.36 \pm 0.19$  mg/dl,  $22.96 \pm 0.68$  mg/dl,  $9.45 \pm 0.09$  % gr,  $456.7 \pm 8.7$  U/L,  $470 \pm 3.7$  U/L olarak saptanmıştır. Bu değerler kontrol grubunda ise 2. haftada yine sırasıyla  $1.52 \pm 0.09$  mg/dl,  $8.43 \pm 0.46$  mg/dl,  $9.03 \pm 0.27$  % gr,  $37.29 \pm 1.0$  U/L,  $37.43 \pm 0.95$  U/L olarak, 4. haftada  $1.69 \pm 0.05$  mg/dl,  $6.98 \pm 0.27$  mg/dl,  $11.08 \pm 0.13$  % gr,  $37.5 \pm 1.2$  U/L,  $38.17 \pm 0.79$  U/L olarak, 6. haftada ise  $1.65 \pm 0.12$  mg/dl,  $7.95 \pm 0.27$  mg/dl,  $12.21 \pm 0.09$  % gr,  $43.67 \pm 1.3$  U/L,  $37.5 \pm 2.7$  U/L olarak bulunmuştur.

Yapılan istatistikî analizlerde konsantrasyonlar arasında önemli bir farkın olduğu gözlemlendi. Sonuçta, sirozun klinik teşhisinde, prognozunda ve iyileşmenin takibinde sialik asit ve lipid-bağlı sialik asitin enzimlere destek olarak biyokimyasal analizinin faydalı olabileceği kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Siroz, SGOT, SGPT, Sialik asit, LSA, Total protein

## Summary

*Investigation of SA, LSA, Total Protein and Some Specific Liver Enzymes Activation in Experimentally Cirrhosis Produced Rabbit by Using CCL<sub>4</sub>.*

In this study, Sialic Acid (SA), Lipid-bound Sialic Acid (LSA), Total Protein and activities of some specific liver enzymes were measured in experimentally cirrhosis-produced rabbits by using CCL<sub>4</sub>. The concentrations and activities of these parameters were measured in different stages of cirrhosis. It was found that, although SA, LSA, SGOT and SGPT levels increased in cirrhotic groups, they did not change in control group. Total protein level in cirrhotic group was lower than the total protein level in control group due to the liver degeneration that caused a decrease in protein synthesis.

In acute experimental group, three hours after the administration SA, LSA, Total Protein, SGOT and SGPT levels were  $8.34 \pm 0.88$  mg/dl,  $30.1 \pm 2.6$  mg/dl,  $7.6 \pm 0.16$  % gr,  $2705 \pm 51$  U/L,  $2380 \pm 42$  U/L, respectively. In control group three hours after these levels were  $6.26 \pm 0.52$  mg/dl,  $30 \pm 3.7$  mg/dl,  $8.8 \pm 0.23$  % gr,  $44 \pm 4.9$  U/L,  $56.4 \pm 6.2$  U/L, respectively. Twentyfour hours after the administration these levels were  $44.6 \pm 9.3$  mg/dl,  $109.1 \pm 16$  mg/dl,  $6.3 \pm 0.24$  % gr,  $1164 \pm 87$  U/L,  $1332 \pm 116$  U/L, respectively, in control group these levels were  $36.6 \pm 3.2$  mg/dl,  $12.94 \pm 1.1$  % gr,  $49.9 \pm 4.1$  U/L,  $68 \pm 7.1$  U/L, respectively.

On the other hand, in chronic experimental group two weeks after the administration these levels were  $3.23 \pm 0.34$  mg/dl,  $18.43 \pm 0.69$  mg/dl,  $6.52 \pm 0.25$  % gr,  $357.9 \pm 6.1$  U/L,  $332.57 \pm 3.8$  U/L, respectively. Four weeks after the administration these levels were  $4.31 \pm 0.3$  mg/dl,  $23.68 \pm 0.87$  mg/dl,  $8.28 \pm 0.12$  % gr,  $455.3 \pm 11$  U/L,  $425.67 \pm 3.4$  U/L, respectively. Six weeks after the administration these levels were  $5.36 \pm 0.19$  mg/dl,  $22.96 \pm 0.68$  mg/dl,  $9.45 \pm 0.09$  % gr,  $456.7 \pm 8.7$  U/L,  $470 \pm 3.7$  U/L, respectively.

\* Aynı isimli Doktora tezinden özetlenmiştir

<sup>1</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, VAN

In control group these levels two weeks after the beginning of the experiment were  $1.52 \pm 0.09$  mg/dl,  $8.43 \pm 0.46$  mg/dl,  $9.03 \pm 0.27$  % gr,  $37.29 \pm 1.0$  U/L,  $37.43 \pm 0.95$  U/L; four weeks later these levels were  $1.69 \pm 0.05$  mg/dl,  $6.98 \pm 0.27$  mg/dl,  $11.08 \pm 0.13$  % gr,  $37.5 \pm 1.2$  U/L,  $38.17 \pm 0.79$  U/L and six weeks later these levels were  $1.65 \pm 0.12$  mg/dl,  $7.95 \pm 0.27$  mg/dl,  $12.21 \pm 0.09$  % gr,  $43.67 \pm 1.3$  U/L,  $37.5 \pm 2.7$  U/L, respectively.

Significant differences among the concentrations of these parameters were found in statistical analysis. It is concluded that in addition to enzymes, biochemical analysis of the SA and LSA levels might be useful in the diagnosis, prognosis and post treatment pursuit of the cirrhosis.

**Key words :** Cirrhosis, SGOT, SGPT, Sialic Acid, LSA, Total protein.

## Giriş

Siroz, karaciğer interstitiumunun (destek dokusunun) süregen ve proliferatif yangıdır. Karaciğer paransiminin gözden kaybolması ve bunun yerini giderek yaygın bir biçimde üreyen interstitiel dokunun alması halidir (1).

Sialik asit, pirüvik asitin mannozamin ile bir kondansasyon ürünü, dokuz karbonlu bir türev monosakkaridi olan nöraminik asitten türeyen bir bileşikler ailesidir. Nöraminik asitin asetilleşmiş bir şekli olan sialik asitin diğer adı N-Asetil-Nöraminik (NANA) Asit' dir (2,3,4,5). Sialik asitler tabiatta glikoproteinler, glikolipitler, oligosakkaritler ve polisakkaritlerin komponentleri olarak buldukları için çok küçük miktarı serbest halde bulunur (6,7,8). Bir çok memelinin dokularında birden fazla sialik asit türüne rastlanılmıştır (6,9,10). Memelilerin çoğunda sialik asitler N-asetil veya N-glikolil türevleri şeklindedir. Çeşitli türlerin değişik dokularında bu iki türevin oranları farklıdır (11,12,13). Hücredeki sialik asitler % 65-70 oranında membran glikoprotein ve glikolipitlerine bağlı olarak bulunurlar (6,14,15,16,17,18).

Son yıllarda Lipid-bağlı sialik asit düzeyleri ele alınmış ve total sialik asitten daha iyi ve daha spesifik bir marker olabileceği ileri sürülmüştür (19,20,21,22). Bir çok hastalık gruplarında serum sialik asitlerinde meydana gelen değişiklikler ilgi ile izlenmekte ve hastalığın ya da bozukluğun tanu ve ayırımında veya prognozunda klinik olarak yararlanma yolları aranmaktadır (18,23,24). Bir seri hastalıkta örneğin karaciğer sirozu, nefrotik sendrom, romatoid artrit, myeloma, lenfatik lösemi, kronik tüberküloz, amiloid gibi hastalıklarda serum sialik asit miktarının arttığı bildirilmiştir (18,22,25).

Bu çalışmada sirozun biyokimyasal tanısında, tanusal doğruluk ve prognozu bakımından diğerlerinden daha güvenli bir ayırım sağlayacak belirteçlerden yararlanabilmek için sialik asit ve lipid-bağlı sialik asitin bu amaç doğrultusunda yararlı olup olmayacağı araştırıldı.

## Materyal ve Metot

Çalışmamız 1996 yılı Haziran, Temmuz, Ağustos aylarında yapıldı ve Lepus europous ırkı aynı yaş ve yaşam koşullarına sahip, sağlıklı yirmi bir adet tavşan kullanıldı.

Akut grupta bulunan yedi adet tavşana i.p. yolla tek doz 2 ml/kg karbontetraklorür enjekte edildi. Karbontetraklorür 1:1 oranında zeytinyağı ile süspanse edildi. Enjeksiyondan sonra üçüncü ve yirmi dördüncü saatlerde tavşanlardan kan örnekleri alındı, kırk sekiz saat sonra tavşanlar öldürülerek nekropsileri yapıldı. Nekropside karaciğerleri çıkartılarak histolojik boyamalar için kesitler alındı.

Lipit-bağlı sialik asitin ölçümü Katapodis ve Stock'un (26) metoduna göre, Sialik asit tayini Sydow'un (27) metoduyla, Total protein tayini ise Biüret metoduyla (28) yapıldı. Karaciğer enzimlerinin tayini için Merck-Biotrol firmasının hazır kitleri kullanıldı ve Kinetik metotla kolorimetrik olarak ölçüldü.

Kronik siroz oluşturulan gruptaki tavşanlara haftada iki defa 0.5 cc/kg karbontetraklorür-zeytinyağı (1:1) süspanasyonu s.c. olarak enjekte edildi, sonra tavşanlar öldürüldü ve nekropsileri yapıldı (29).

Kontrol grubundaki tavşanlara herhangi bir toksik madde verilmedi. Denemenin sonunda öldürülerek nekropsileri yapıldı.

Histopatolojik incelemeler için karaciğerlerden alınan doku örnekleri Gomori'nin ve Mallory' in Trikrom Boyaması yöntemiyle boyandılar. Daha sonra Nikon AFX-DX Optiphot araştırma mikroskobuyla fotoğrafları çekildi (30).

## Bulgular

Akut, kronik ve kontrol grublarının SGOT, SGPT, sialik asit, lipid-bağlı sialik asit ve total proteinle ilgili gruplar arası istatistiki önem analizleri Tablo 1 ve Tablo 2' de bildirilmiştir. Akut grupla ilgili histopatolojik misroskobik bulgular Şekil 1'de, kronik grupla ilgili bulgular Şekil 2'de kontrol grubuyla ilgili bulgular ise Şekil 3'de gösterilmiştir.

**Tablo.1** Akut ve Kontrol gruplarına ait parametrelerin gruplar arası istatistiki önem analizleri ( İstatistiki Analiz Minitab Paket Programı T Testi ile yapıldı.)

Parametreler	n	Akut Hepatit		Kontrol Grubu	
		3 h	24 h	3 h	24 h
		x ± Sx	x ± Sx	x ± Sx	x ± Sx
SGOT ( U/L )	7	2705 ± 51 a **	1164 ± 87 b **	44 ± 4.9 cd **	49.9 ± 4.1 cd **
SGPT ( U/L )	7	2380 ± 42 a **	1332 ± 116 b **	56.4 ± 6.2 cd **	68 ± 7.1 cd **
T. Prt ( %gr )	7	7.6 ± 0.16 a *	6.3 ± 0.24 b **	8.8 ± 0.23 c *	12.94 ± 1.1 d *
S.A (mg/dl)	7	8.34 ± 0.88 a	44.6 ± 9.3 b **	6.26 ± 0.52 a	
LSA ( mg/dl )	7	30.1 ± 2.6 a	109.1 ± 16 b **	30 ± 3.7 a	36.6 ± 3.2 a

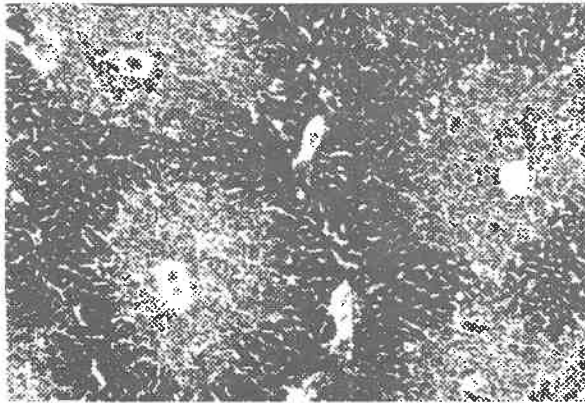
(a, b, c, d gruplar arası istatistiki açıdan önemli bulunmuştur.) (\*p<0.05, \*\*p<0.001)

**Tablo.2** Kronik ve Kontrol gruplarına ait parametrelerin gruplar arası istatistiki önem analizleri.

Parametreler	n	Kronik Grup			Kontrol Grubu		
		2. Hafta	4. Hafta	6. Hafta	2. Hafta	4. Hafta	6. Hafta
		x ± Sx	x ± Sx	x ± Sx	x ± Sx	x ± Sx	x ± Sx
SGOT (U/L)	7	357.90±6.10a*	455.30±11 b*	456.70±8.7 b*	37.29 ± 1.0 c	37.50±1.2 c**	43.67±1.3 d**
SGPT (U/L)	7	332.57±3.8 a*	425.67±3.4 b*	470.00±3.7c*	37.43±0.95 d	38.17±0.79 d	37.50±2.7 d
T.Prt (% gr.)	7	6.52±0.25a*	8.28±0.12 b*	9.45±0.09 c*	9.03±0.27 d*	11.08±0.13 e*	12.21±0.09 f*
S.A (mg./dl)	7	3.23±0.34 a**	4.31±0.30 b**	5.36±0.19 c**	1.52±0.09 d*	1.69± 0.05 d	1.65± 0.12 d
LSA (mg./dl)	7	18.43± 0.69 a	23.68±0.87 b	22.96±0.68 b	8.43±0.46 c*	6.98 ± 0.27 c	7.95 ± 0.27c

(a, b, c, d, e, f gruplar arası istatistiki açıdan önemli bulunmuştur.)

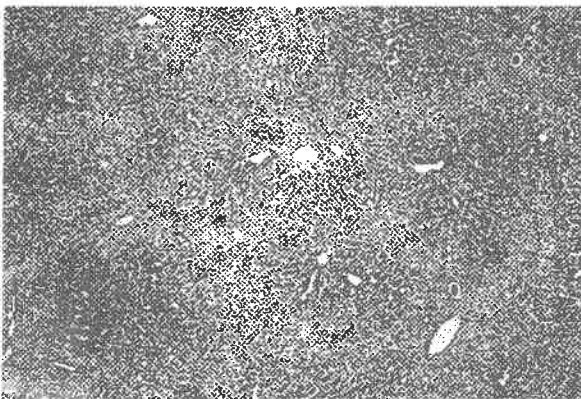
(\*p<0.001 \*\*p<0.05)



**Şekil 1.** Akut toksikasyona maruz bırakılan karaciğer dokusunun Mallorinin Trichrom boyaması yöntemiyle histopatolojik görünümü.



**Şekil 3.** Sağlam karaciğer dokusunun Mallorinin Trichrom boyaması tekniğiyle mikroskopik görünümü.



**Şekil 2.** Kronik toksikasyona maruz bırakılan karaciğer dokusunun Gomorinin Trichrom boyaması tekniği ile histopatolojik görünümü.

**Akut sirozlu gruptaki mikroskopik otopsi bulguları:** Histopatolojik incelemelerde sentrolobüler nekroz bölgelerine rastlandı. Sentrolobüler boşlukların çeperlerinde bağ doku üremesi olduğu gözlemlendi. Bu nekrotik bölgelerde multi vakuoler dejenerasyonlar gözlemlendi. Karaciğerdeki sinüzoidler ayırt edilemiyordu (Şekil 1). Bu histopatolojik bulgulara göre 48. saatte akut grupta sentrolobüler ve yağ dejenerasyonlarının başladığı, kısmen bağ dokunun oluştuğu söylenebilir.

**Kronik sirozlu gruptaki mikroskopik otopsi bulguları:** Portal alanlarda ve perivenlerde yer yer yoğun bağ doku artışı, bağ dokunun Portal Alan-Vena sentralis ve Vena sentralis-Vena sentralisler arasında septalar oluşturduğu, karaciğerin düzenli lobüler yapısının bozulduğu ve hepatositlerde yaygın olarak dejenerasyonların oluştuğu gözlemlendi (Şekil 2). Bu



bulgulara dayanarak kronik grupta altıncı haftada sirozun oluştuğu söylenebilir.

#### **Kontrol grubu mikroskobik otopsi bulguları:**

Karaciğer hepatositlerinin normal, herhangi bir dejenerasyonun olmadığı, vakuollerin sağlam ve karaciğerin düzenli yapısını koruduğu gözlemlendi (Şekil 3).

#### **Tartışma ve Sonuç**

Tedavide alınacak olumlu sonuçlar, hastalığın prognozunun kontrolü ile mümkündür. Hastalığın yaygınlığının saptanması, yapılacak olan tedavinin cinsini ve yönünü belirlemekte, değişik evrelere uygulanacak nitelik ve nicelik bakımından farklı tedavi programlarını tesbitini mümkün kılmaktadır. Erken tanıya gidebilmek ve hastalığın kapsamı hakkında bilgi edinebilmek ve hastalığın tedavisi verdiği cevabı gözleyebilmek için ölçülebilir değerlere ihtiyaç vardır (31).

Hepatitis, karaciğerin inflamasyonu anlamında genel bir terimdir ve hepatoselüler hasarlı hastalıkları tanımlamada kullanılır. Toksik hepatitiste, karaciğerde oluşan lezyonlar genellikle sentrolobülerdir ve orta şiddette seyredir. Oluşan nekroz, şiddetli ve uzun süreli toksikasyonlar sonucunda şekillenirse fibrozise dönüşür (1).

Hücre yüzey bileşikleri olan glikoprotein ve glikolipitler, kanser ve bir seri hastalıkta (örneğin karaciğer sirozu, nefrotik sendrom, malign hastalıklar, myeloma gibi) hastalıkların özellikleri bakımından oldukça önemlidir. Çünkü normal hücrelerde bulunan glikoprotein ve glikolipit kompozisyonları, deforme olmuş hücrelerde bulunanlara göre farklılık arz etmektedir. Sialik asit de bu glikoprotein ve glikolipitlerin yaygın bir terminal sakkarididir. Bu hastalıklardan dolayı hücre yüzeyinde meydana gelen anormal değişimler, onların yüzeylerinde mevcut bulunan glikoprotein ve glikolipitlerin dolayısıyla sialik asitin de değişmesine sebep olacaktır. Sialik asitin direkt olarak ölçülmesi, hücrenin anormal büyümesi ve davranışları veya hücrenin harabiyeti hakkında bilgiler verecektir (32,33). Serumda sialik asitin ölçülmesi tedavi altındaki hastaların seyrinin incelenmesi bakımından faydalıdır. Çünkü, yángısal reaksiyonlar süresince serumda sialik asit miktarının yüksek bulunması olasıdır. Bu miktarın yüksekliği tipik olarak bozuklukla ilişkilidir. Sialik asitin bir diğer çeşidi olan lipid-bağlı sialik asitin ölçülmesi de hastalığın seyrinin kontrolü açısından büyük önem taşımaktadır. Hatta son yıllarda yapılan çalışmalarda lipid-bağlı sialik asitin, sialik asitten çok daha iyi bir marker olabileceği görüşünde olan araştırmacılar çoğunluktadır (19).

Bu araştırmada tek doz karbontetraklorür verilen akut deneme grubunda, enjeksiyon uygulanmasını takiben üçüncü saatte yapılan ölçümlerde SGPT düzeyi  $2380 \pm 42$  U/L, 24. saatte yapılan ölçümlerde ise SGPT düzeyi  $1332 \pm 116$  U / L olarak bulunmuş; deneme grubu enzim düzeylerinde 24. saatten itibaren bir düşme olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol grubu

üçüncü saatteki SGPT düzeyi  $56.4 \pm 6.2$  U / L , 24. saatteki ölçümlerde ise  $68 \pm 7.1$  U / L düzeyinde bulunmuştur.

Bu çalışmada kronik sirozlu deneme grubunda 2., 4. ve 6. haftalarda yapılan SGPT ölçümleri sırasıyla  $332.57 \pm 3.8$  U / L ,  $425.67 \pm 3.4$  U / L ve  $470 \pm 3.7$  U / L; kontrol grubu SGPT miktarları ise yine sırasıyla  $37.43 \pm 0.95$  U / L ,  $38.17 \pm 0.79$  U / L ve  $37.50 \pm 2.7$  U / L olarak tesbit edilmiştir.

Bu araştırmada akut deneme grubunda karbontetraklorür uygulamasını takiben üçüncü saatte yapılan SGOT ölçümü  $2705 \pm 51$  U / L , 24. saatteki ölçümlerde ise bu miktarın  $1164 \pm 87$  U / L ' ye düştüğü gözlemlenmiştir. Kontrol grubu üçüncü saatteki SGOT miktarı  $44 \pm 4.9$  U / L , 24. saatteki ise  $49.9 \pm 4.1$  U / L olarak bulunmuştur.

Kronik sirozlu deneme grubunda 2., 4. ve 6. haftalarda yapılan SGOT ölçümlerinde ise miktarlar sırasıyla  $357.90 \pm 6.1$  U / L ,  $455.3 \pm 11$  U / L ve  $456.7 \pm 8.7$  U / L, kontrol grubunda ise yine sırasıyla  $37.29 \pm 1.0$  U / L ,  $37.5 \pm 1.2$  U / L ve  $43.67 \pm 1.3$  U / L olarak tesbit edilmiştir.

Enzim miktarlarındaki bu artışlar, karbontetraklorür uygulamasını takiben kısa bir süre içerisinde karaciğerde hasarın, hepatositlerde dejenerasyonların, hepatik nekrozun ve yağ dejenerasyonunun başladığını göstermektedir. Zira histolojik olarak yapılan kesitlerden elde edilen veriler de bunu destekler mahiyettedir.

Serum içine enzim akışındaki artışlar: (1) hücrenin hasarı sonucu enzim sızıntısındaki artış (örn., toksik hepatopati sırasında karaciğer enzimlerinin sızması), (2) aşırı enzim üretimi sonucu hücrelerden enzim sızmasındaki artışlar nedeniyle olmaktadır (34).

Ölçümler sonucunda total protein miktarlarında akut deneme grubunda, kontrol grubuna göre bir düşme olduğu gözlemlenmiştir. Üçüncü saatte yapılan ölçümlerde total protein miktarı  $7.60 \pm 0.16$  % gr, 24. saatte ise  $6.3 \pm 0.24$  % gr; kontrol grubunun ölçümlerinde ise üçüncü saatteki miktarı  $8.8 \pm 0.23$  % gr, 24. saatteki ise  $12.94 \pm 1.1$  % gr olarak tespit edilmiştir.

Kronik sirozlu deneme grubunda yapılan total protein miktarı, 2., 4. ve 6. haftalarda sırasıyla  $6.52 \pm 0.25$  % gr,  $8.28 \pm 0.12$  % gr ve  $9.45 \pm 0.09$  % gr; kontrol grubunda ise bu miktarlar yine sırasıyla  $9.03 \pm 0.27$  % gr,  $11.08 \pm 0.13$  % gr ve  $12.21 \pm 0.09$  % gr olarak bulunmuştur.

Albüminin hepatik sentezinin, karaciğerdeki hastalıklardan dolayı karaciğer paranziminin hasar görmesine bağlı olarak azaldığı bildirilmektedir. Düşük serum albümin konsantrasyonunun, kronik siroz veya subakut hepatitiste gözlemlendiği literatürlerde bildirilmektedir (35).

Bu çalışmada akut deneme grubunda uygulamayı takiben yapılan sialik asit ölçümlerinde üçüncü saatte  $8.34 \pm 0.88$  mg / dl olarak bulunan miktar, 24. saatte  $44.6 \pm 9.3$  mg / dl olarak saptanmıştır. 24. saatteki ölçüm miktarının, üçüncü saatteki ölçüm

miktarına göre daha yüksek olduğu tesbit edilmiştir. Kontrol grubundaki ölçümlerde bu miktar  $6.26 \pm 0.52$  mg / dl olarak bulunmuştur.

Kronik sirozlu deneme grubunda yapılan sialik asit ölçümlerinde 2., 4. ve 6. haftalarda sırasıyla  $3.23 \pm 0.34$  mg / dl,  $4.31 \pm 0.30$  mg / dl ve  $5.36 \pm 0.19$  mg / dl; kontrol grubunda ise bu miktarlar yine sırasıyla  $1.52 \pm 0.09$  mg / dl,  $1.69 \pm 0.05$  mg / dl ve  $1.65 \pm 0.12$  mg / dl olarak tespit edilmiştir. Kronik grupta da kontrol grubuna göre sialik asit miktarlarında bir artış olduğu gözlenmektedir.

Literatür verilerine göre sirozda, sialik asit içeren proteinlerin üretiminde bir artış olduğu gibi, sirozlu vakalarda serumda yapılan ölçümlerde sialik asit miktarlarında yine bir artış olduğu tespit edilmiştir. Sirozda, sialik asitin glikoproteinlere muhtemelen anormal bir şekilde bağlandığı bildirilmektedir (25).

Ve yine bir kaynaktan (19) bütünlüğü bozulmuş olan malign hücrelerde, karbonhidrat kompozisyonunun anormal hale gelmesiyle, yüzeylerinde bulunan glikoprotein ve glikolipitlerin kana salındığı ve sialik asitin ise bu glikoprotein ve glikolipitlerin en büyük bileşeni olduğu bildirilmektedir. Sialik asitin ve total proteinin kanser ve karaciğer hastalıklarında iyi bir marker olarak pozisyonu test edilmiş ve sonuçta bunların sensivite ve spesifite bakımından faydalı olacakları kanaatine varılmıştır.

Bu çalışmada akut deneme grubunda üçüncü saatte, lipid-bağlı sialik asit miktarı  $30.1 \pm 2.6$  mg / dl, 24. saatte ise bu miktar  $109.1 \pm 16$  mg / dl olarak bulunmuştur. 24. saatte LSA'nın yüksek çıkmasının nedeninin, karaciğer hücrelerinde lipid peroksidasyonunun bu sürede had safhaya ulaştığını düşündürmektedir. Kontrol grubu lipid-bağlı sialik asit miktarı üçüncü saatte  $30 \pm 3.7$  mg / dl, 24. saatte  $36.6 \pm 3.2$  mg / dl olarak tespit edilmiştir.

Kronik sirozlu deneme grubunda 2., 4. ve 6. haftalarda yapılan lipid-bağlı sialik asit miktarları sırasıyla  $18.43 \pm 0.69$  mg / dl,  $23.68 \pm 0.87$  mg / dl ve  $22.96 \pm 0.68$  mg / dl, kontrol grubunda ise  $8.43 \pm 0.46$  mg / dl,  $6.98 \pm 0.27$  mg / dl ve  $7.95 \pm 0.27$  mg / dl olarak tespit edilmiştir.

Mayo klinikte yapılan bir çalışmada Erbil ve ark. (36), serumda NANA ve LSA konsantrasyonlarında bulunan yüksekliğin sadece mevcut bulunan hastalığın diyagnozuyla ilgili değil, aynı zamanda bu hastalığın derecesi, iyileşme şansı, tanımlanması ve erken nüksün teşhis edilmesinde de oldukça faydalı olduğunu bildirmişlerdir.

Stefenelli ve ark. (18), malign hücrelerin temelde, yüzeylerinde ve membranlarındaki glikoproteinlere bağlanan sialik asit miktarlarında bir artışa neden olduklarını bildirmişlerdir. Malign hücrelerin yüksek bir dönüşme yeteneğine sahip olduklarını, sonuçta sayıca arttıklarını ve daha fazla sialik asit bağladıklarını ifade etmişler; bu hücrelerin sekresyon ve boşaltım mekanizmaları da bozuk olduğundan, serumda sialik asit miktarlarında bir artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Serumdaki sialik asit

miktarındaki yüksekliğe, karaciğerden sialogliko-proteinlerin salınımında ve sentezinde şiddetli bir artışın da muhtemel bir neden olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Yapılan bu çalışmada elde edilen bulgular incelendiğinde, akut grupta karaciğer enzimlerinin CCL<sub>4</sub> verildikten sonra ilk üç saatte fazlaca yükseldiği, 24. saatte ise düştüğü görülmektedir. SA ve LSA ise aksine 24. saatte daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni, karaciğer hücrelerindeki hasarın CCL<sub>4</sub> enjeksiyonundan sonra üçüncü saatte en fazla olduğu ve bu hasara bağlı olarak enzim konsantrasyonu en yüksek orana çıkmasıdır. SA ve LSA'nın 24. saatte artmasının nedeni ise, hasara uğrayan hücrelerde glikoprotein ve glikolipitlerin terminal bir sakkaridi olan sialik asit ve LSA'nın, ancak hücrelerde lipid peroksidasyonu başladıktan sonra serumdaki konsantrasyonlarının yükselmesi olarak düşünülebilir. Karaciğer hücrelerindeki hasara bağlı olarak, proteinden zengin rasyona rağmen protein sentezi yavaşladığından, hepatitli tavşanların kan serumlarındaki total protein miktarları kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur.

Kronik grupta ise gerek enzimlerdeki gerekse SA ve LSA miktarlarındaki artışlar akut gruba göre daha azdır. Bunun nedeni kronik toksik hepatitte hücre dejenerasyonunun daha ağır şekillendiğinden dolayı olabilir.

Neoplastik hastalıklarda LSA ve SA'nın yükseldiği çeşitli çalışmalarda rapor edilmektedir (18,24,33,37). Fakat akut ve kronik sirozda da yükselmesi, neoplastik hastalıkların ayırıcı tanısında yeterli olamayacağını göstermektedir. Bununla beraber gerek karaciğer hasarında ve gerek neoplastik hastalıklarda prognoz açısından önem kazanmaktadır. Hücrelerdeki hasarın derecesi ve lipid peroksidasyonunun şiddeti hakkında kan serumundaki LSA ve SA düzeyleri, bir fikir verebilir ve tedavide yardımcı olabilir.

Neoplastik hastalıklarda malign hücrelerin yüzeylerinde ve membranlarında glikoproteinlere sialik asitin bağlanması nedeniyle, serumdaki sialik asitin konsantrasyonunun artmasına rağmen, akut ve kronik hepatitte lipid peroksidasyonu sonucu LSA ve SA konsantrasyonlarının arttığı düşünülebilir. Zira karaciğer enzimlerindeki artış da bu sonucu desteklemektedir.

## Kaynaklar

- 1- Alibaşoğlu M, Yeşildere T: Patoloji, İ.Ü.Vet.Fak.Pethask Yayınları, İstanbul (1988).
- 2- Murray KR, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW: (Çev: Menteş G Ersöz B) Harperin Biyokimyası, Barış Kitapevi/ Appleton & Lange, İstanbul (1993).
- 3- Üskent N, Karaca L, Karayılanoğlu M: Malign Lenfoma ve Akut Lösemilerde Serum Lipide Bağlı Sialik Asitin Marker Olarak Kullanılması, Türk Kıbrıs Hematoloji Sempozyumu., Tübitak Yayınları., No, 609, Şif, 91, Ankara (1985).
- 4- Tuppy H, Gottschalk A: The Structure of Sialic Acids and their Quantitation. Glycoproteins, their Composition, Structure and Function, Revised and Expanded Second Ed., Elsevier., Amsterdam., London., New York (1972).
- 5- Sherblom AP, Bharathan S, Hall PJ, Smagula RM, Moddy CE Anderson GW: Bovine Serum Sialic Acid: Age-related Changes in Type and Content, Int. J. Biochem., Vol, 20, No, 10, 1177-1183 (1988).

- 6- NG S Dai JA In: Rosenberg A Schengrund C Ed.: Biological Roles of Sialic Acid, Plenum Press., New York (1976).
- 7- Gerbaut L, Rey E Lombart C: Improved Automated Determination of Bound N-Acetyl Neuraminic Acid in Serum, Clin. Chem., 19, 11, 1285-1287 (1973).
- 8- Huso DL, Narayan O, Hart GW: Sialic Acid on the Surface of Caprine Arthritis Encephalitis Virus Define the Biological Properties of the Virus, J. of Virology., June, 1974-2980 (1988).
- 9- Gottschalk A: The Chemistry and Biology of Sialic Acids and Related Substances, Cambridge University Press., London (1960).
- 10- Barry GT, Goebel WF: Colominic Acid A Substance of Bacterial Origin Related to Sialic Acid, Nature., January, Vol, 179, 206 (1957).
- 11- Ersoy E, Bayşu N: Biyokimya, XXV-989, A. Ü. Basımevi., Ankara (1986).
- 12- Altıntaş A, Kurtkede A, Fidancı UR, Bökü MK: Köpek Gençlik Hastalığında ( Distemper ) Serum Sialik Asit ve Protein Düzeylerinin Klinik Önemi, A. Ü. Vet. Fak. Derg., 36, 1, 154-164 (1989).
- 13- Atroshi F, Parantainen J, Sankari S, Kangasniemi R, Saloniemi H: Possible Role of Sialic Acid in Bovine Mastitis with Particular Reference to Milk Electrical Conductivity, J. Vet. Med. B., 33, 620-627 (1986).
- 14- Warren L: The Thiobarbitüric Acid Assay of Sialic Acids, The J. of Biological Chemistry., Vol, 234, No, 8, 1971-1975 (1959).
- 15- Comb DG, Roseman S: The Sialic Acids: I. The Structure and Enzymatic Synthesis of N-Acetylneuraminic Acid , The J. of Biological Chemistry, 235, 9, 2529-2537 (1960).
- 16- Haksar A, Maudsley DV, Kimmel GL, Peron FG: Adrenocorticotropin Stimulation of Cyclic Adenosine 3'-5'-Monophosphate Formation in Isolated Rat Adrenal Cells. The Role of Sialic Acid, Biochemica et Biophysica Acta., 362, 356-365 (1974).
- 17- Sherblom AP, Dahlin EC: N-Acetylneuraminic Acid and N-Glycolylneuraminic Acid in the O-Linked Oligosaccharides of a Tumor Cell Glycoprotein, The J. of Biological Chemistry., Vol, 260, No, 3, 1484-1492 (1985).
- 18- Stefenelli N, Klotz H, Engel A, Bauer P: Serum Sialic Acid in Malignant Tumors, Bacterial Infections and Cirrhotic Liver Disease, J. Cancer. Res. Clin. Oncol., 109, 55-59 (1985).
- 19- Plucinsky M C, Riley W M, Prorok J J et all: Total and Lipid Associated Serum Sialic Acid Levels in Cancer Patients with Different Primary Sites and Degress of Metastatic Involvement, Cancer., 58, 2680-2685 (1986).
- 20- Patel PS, Baxi BR, Adhvary SG, Bolar DB: Individual and Combined Usefulness of LSA. Mucoïd Proteins and Hexoses as Tumor in Breast Cancer, Cancer. Lett., 51, 203-208 (1990).
- 21- Mannello F, Baccihotti GD, Proccoli R, Gazzanelli G: Lipid-Associated Sialic Acid Levels in Human Breast Cyts Fluids, Breast Cancer Research and Treatment., 24, 167-170 (1992).
- 22- Shamberger RJ: Serum Sialic Acid in Normals and in Cancer Patients, J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 22, 647-651 (1984).
- 23- Kökoğlu E, Uslu E, Uslu İ: Levels of Serum Lipid-bound Sialic Acid in Tyroid Cancer, J. Biochem. XII, 2, 28, Published by the Turkish Biochemical Society (1987).
- 24- Tezcan ME, Özinel S, Egeli D, Karaaslan F: Use of SSA Concentrations as Tumor Marker, J. Biochem. XII, 2, 163, Published by the Turkish Biochemical Society (1987).
- 25- Carter A, Martin NH: Serum Sialic Levels in Healty and Disease, J. Clin. Path., 15, 69-72 (1962).
- 26- Katapodis N, Hirshaut Y, Geller NI, Stock JJ: Lipid Associated Sialic Acid Test for the Dedection of Human Cancer, Cancer Res., 42:5270-5275 (1982).
- 27- Sydow GA: Simplified Quick Method for Determination of Sialic Acid in Serum, Biomed. Biochim. Acta., 44, 11/12, 1721-1723 (1980).
- 28- Tiflik AM: Klinik Biyokimya, Mımoza Yayınları., Konya (1996).
- 29- Braun JP, Siest G, Rico AG: Uses of Gama-Glutamyltransferase in Experimental Toxicology, Advances in Veterinary Science and Comporative Medicine., 31, 151-173 (1987).
- 30- Bancroft JD, Cook HC: Manuel of Histological Tecniques, Churchill Livingstone, New York (1984).
- 31- Üskent N: Kanserin Erken Tanısında Tümör Tanımlayıcıları, Türkiye Klinikleri., Cilt:6, Sayı:2, 149-154 (1986).
- 32- Riley M, Tautu C, Yerazın G, at all: Evaluation of Sialic Acid Concentration in Serum for Diagnosis and Staging of Breast Cancer, Clin. Chem, 36, 161-163 (1990).
- 33- Erbil MK, Sen ES, Zıncke E, Jones JD: Significance of Serum Protein and Lipid-bound Sialic Acid as a Marker for Genitourinary Malignancies, Cancer, 57, 1389-1394 (1986).
- 34- Turgut K: Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis, Selçuk Üniv. Veteriner Fak. Konya (1996).
- 35- Philipson AT, Hall LV, Pritchard WR: Scientific Foundations Veterinary Medicine, First Publishers London William Book Limited., London (1980).
- 36- Erbil MK, Jones JD, Klee GG: Use of Serum and Total Sialic Acid as Markers for Colorectal Cancer, Cancer., 55, 2, 404-409 (1985).
- 37- Dnistrian AM, Schewartz MK, Katapodis N, Fracchia AA, Stock C: Serum Lipid-bound Sialic Acid as a Marker in Breast Cancer, Cancer., 50, 1815-1819 (1982).

# Van Merkez ve Çevresindeki Sularda Bazı Ağır Metal Düzeylerinin Araştırılması \*

Suat EKİN<sup>1</sup>Ayşegül BİLDİK<sup>1</sup>

## Özet

Bu çalışmada, Van iline ait 52 istasyondan alınan içme, sulama, kuyu içme suları ile çimento fabrikası atık suyu ve yol kenarı birikinti sularında Cu, Zn, Fe, Cd ve Pb elementleri Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre ile tayin edildi.

Analiz sonucunda içme sularının metal konsantrasyonları Fe (0.01-3 mg/l), Zn (0.005-0.220 mg/l), Pb (0.005-0.024 mg/l), Cu (0.005-0.035 mg/l); sulama sularının metal konsantrasyonları Fe (0.03-2.71 mg/l), Pb (0.005-0.050 mg/l), Cu (0.005-0.012 mg/l); Zn (0.005-0.013 mg/l); kuyu içme sularının metal konsantrasyonları aralıkları, Fe (0.03-1.30 mg/l); Zn (0.006-0.257 mg/l); Pb (0.005-0.017 mg/l); Cu (0.005-0.013 mg/l), birikinti ve atık sularda metal konsantrasyonları, Fe (0.35-2.40 mg/l), Pb (0.007-0.124 mg/l), Zn (0.006-0.034 mg/l), Cu (0.008-0.030 mg/l) arasında bulunmuştur. Cd miktarı Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrenin tayin sınırının altında kaldı. Bu nedenle Cd değeri sadece üç istasyon için tayin edilebildi.

İçme ve kuyu içme sulama suları, bazı standartların belirlediği limit değerler ile karşılaştırıldı. Birikinti ve atık suları, çimento fabrikası atık suyu ve çimento fırın bacasından yayılan toz partikülleri ile Fe, Cd, Zn ve Cu yönünden çevreyi kirlettiği belirlendi. Yol kenarındaki birikinti sularında ise Pb miktarı yüksek olarak bulundu.

**Anahtar Kelimeler :** Ağır Metal, Su Kirliliği, Çimento

## Summary

### *An Investigation of Some Metal Levels in Van and It's Surroundings in Waters*

This study was carried out to determine the Cu, Zn, Fe, Cd and Pb in drinking, irrigation, well drinking, accumulate water and in wastewater of cement factory.

The water samples were taken from 52 stations in Van and it's surrounding. The elements were determined by Atomic Absorption Spectrophotometer.

At the result of analysis, the ranges of metal concentrations in drinking (fresh) water are as follows: Fe (0.01-3 mg/l), Zn (0.005-0.220 mg/l), Pb (0.005-0.024 mg/l), Cu (0.005-0.035 mg/l). The range values of metal concentrations in irrigation waters are as follows: Fe (0.03-2.71 mg/l), Pb (0.005-0.050 mg/l), Cu (0.005-0.012 mg/l), Zn (0.005-0.013 mg/l). The range values of metal concentration in well drinking (fresh) waters are as follows: Fe (0.03-1.30 mg/l); Zn (0.006-0.257 mg/l); Pb (0.005-0.017 mg/l); Cu (0.005-0.013 mg/l). In accumulate water and waste waters the range values of the metals are as follows: Fe (0.35-2.40 mg/l), Pb (0.007-0.124 mg/l), Zn (0.006-0.034 mg/l), Cu (0.008-0.030 mg/l). The Cd value was under determination limit value of the atomic absorption spectrophotometer. For this reason the Cd values were determined only for three stations.

The results of analysis for drinking (fresh) waters, well-water, irrigate waters compared to each other some standards. In accumulate and waste water of cement factory dust emitted from chimneys of cement kiln has made pollution in environment by metals of Fe, Cd, Zn, Cu. However, in accumulate waters near the roads the Pb values determined high.

**Key Words :** Heavy Metal, Water Pollution, Cement

## Giriş

Sularda bulunabilecek her türlü madde belirli bir konsantrasyonun üzerinde sağlık için zararlıdır. Toksik maddeler, sularda düşük konsantrasyonlarda bulunmaları halinde bile insan sağlığına zarar verebilecek hastalıklara ve hatta ölüme neden olabilirler. Düşük miktarlarda bile

sakıncalı olabilen maddeler arasında en önemli grubu ağır metaller diye adlandırılan Pb, Cu, Cd, Zn, Fe gibi bazı elementler oluşturur (1).

Ağır metal iyonları; gıdanın yapısında tabii olarak bulunmaz, çevreden (topraktan, sudan, havadan) gıdalara bulaşır. Ağır metallerin su ve organizmadaki dağılımının incelenmesi, çevresel kirliliği gösteren

\* Bu çalışma Y.Y.Ü.Araştırma Fonu tarafından desteklenmiş olup Yüksek Lisans Tezinden özetlenmiştir.

<sup>1</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim dalı, VAN.

kriterlerden biridir. Kentsel ve endüstriyel atıkların sulara karışması, bu toksik maddelerin ekosisteme girmesine neden olmaktadır (2)

Ağır metallerin ters etkilerine karşı koruyucu bir yol olarak çeşitli standartların içme suları için tavsiye ettiği ve izin verdiği maksimum değerler göz önünde bulundurulur (3).

İçme sularındaki ağır metal miktarlarının toksik düzeylerinin tesbitinde, JECFA, EPA, ECD, WHO ve TS-266 standartlarının izin verdiği maksimum değerler kriter olarak alınmaktadır (1,3,4,5,6).

Çeşitli içme suyu standartlarına (JECFA, EPA, ECD, WHO, TS-266) göre sulara tavsiye edilen ve izin verilebilecek maksimum ağır metal değerleri aşağıdaki Tablo 1’de verilmiştir (3,4,5,6,7,8).

**Tablo 1:** İçme suyu standartları

Element Adı	JECFA-1993	EPA-1979	ECD-1984	WHO-1986	TS-266-1984	
	Maks. değer (mg/l)	Maks. değer (mg/l)	Maks. değer (mg/l)	Maks. değer (mg/l)	Tavsiye edilen (mg/l)	Maks. değer (mg/l)
Bakır (Cu)	2	0.1	0.1	1	1	1,5
Çinko (Zn)	3	0.1	0.1	5	5	15
Demir(Fe)	2	0.3	0.2	0.3	0.3	1.0
Kadmiyum (Cd)	0.003	0.01	0.005	0,005	bulunmamalı	0,005
Kurşun (Pb)	0.01	0.05	0.05	0,05	bulunmamalı	0,05

Ağır metallerin sulama sularında izin verilebilir maksimum değerler Tablo 2’de verilmiştir (1,4)

**Tablo 2:** Sulama sularında iz elementlerin izin verilebilir maksimum değerleri

Parametre mg/l	Sürekli Kullanım	Kısa Süreli Kullanım
Bakır (Cu)	0,2	5,0
Çinko (Zn)	5,0	5,0
Demir (Fe)	5.0	20.0
Kadmiyum (Cd)	0,005	0,05
Kurşun (Pb)	5,0	20,0

Kıta içi su kaynaklarının sınıflarına göre ağır metal yönünden kalite kriterleri Tablo 3’de verilmiştir (1,4).

**Tablo 3 :**Kıta içi su kaynaklarının sınıflarına göre ağır metal yönünden kalite kriterleri

Parametre	Su kalite sınıfları			
	I	II	III	IV
Bakır (µg/l)	20	50	200	>200
Çinko (µg/l)	200	500	2000	>2000
Demir (µg/l)	300	1000	5000	>5000
Kadmiyum (µg/l)	3	5	10	>10
Kurşun (µg/l)	10	20	50	>50

Bu çalışmada Van Bölgesi sanayi çevresindeki bazı içme ve sulama suları ile kaynak suları, birikinti suların Pb, Cu, Cd, Zn ve Fe elementleri yönünden incelenmesi, bu metallerle bir kirliliğin söz konusu olup olmadığı araştırılması amaçlanmıştır.

#### Materyal ve Metot

Bu çalışmada , 1995 yılı Temmuz-Ağustos aylarında 52 ayrı istasyondan (Tablo 4) alınan su numuneleri kullanıldı. Numuneler, belirli bir su kitlesini temsil edecek şekilde usulüne uygun olarak alındı. Su örnekleri 1 litrelik plastik kaplar içerisine alındı. Plastik numune kaplarının hazırlanması için önce saf su ile yıkandıktan sonra % 20’lik nitrik asit ile bir gün bekletildi daha sonra bidistile su ile birkaç kez çalkalanarak numune alınacak duruma getirildi (9,10,11,12,13,14).

Su örneklerindeki element konsantrasyonları PYE UNICAM SP 2900 marka Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresinde deriştirme metodu kullanılarak yapıldı.

**Tablo 4: Van ve Çevresinden Numunelerin Alındığı İstasyonlar**

İst.	Numunenin Alındığı İstasyon	Van'dan uzaklığı(km)	Kullanım Amacı
1	Abalı köyü	29 km	içme suyu
2	Akü fabrikası çevresi	12 km	sulama suyu
3	Akü fabrikası çevresi	11 km	birikinti suyu
4	Aladüz köyü	28.5 km	içme suyu
5	Andaş köyü	26 km	içme suyu
6	Arkboyu	21 km	içme suyu
7	Atalan köyü	28.5 km	içme suyu
8	Otbiçer köyü	20.5 km	sulama suyu
9	Aşağı Kaymaz büyük sorçu	21 km	sulama suyu
10	Aşağı kaymaz küçük şorsu	20.5 km	sulama suyu
11	Bakımlı köyü	23 km	içme suyu
12	Bakımlı köyü(yol kenarı)	22 km	birikinti suyu
13	Bakımlı köyü	21 km	sulama suyu
14	Bostaniçi köyü	6.25 km	içme suyu
15	Çavuştepe köyü	16.5 km	içme suyu
16	Çimento fabrikası	14 km	atık suyu
17	Çimento fabrikası(yol kenarı)	13.5 km	birikinti su
18	Çimento fabrikası yanı(Edremit)	13.25 km	sulama suyu
19	Edremit	12 km	içme suyu
20	Elmalı köyü	11 km	içme suyu
21	Elmalı köyü	11.5 km	sulama suyu
22	Elmalı köyü	11 km	kuyu içme suyu
23	Engil köprüsü	23.5 km	sulama suyu
24	Faruk suyu(büyük kaynak)	9 km	içme suyu(şifalı su)
25	Faruk suyu(küçük kaynak)	9 km	içme suyu(şifalı su)
26	Gevaş içme suyu kaynağı	30 km	içme suyu
27	Gevaş Merkez ilçe	33 km	içme suyu
28	Gevaş Regülatörü	39 km	sulama suyu
29	Gölkası	21 km	içme suyu
30	Gündoğan köyü	23.5 km	kuyu içme suyu
31	Gürpınar Kızı	19.5 km	içme suyu
32	Karasu	18.5 km	sulama suyu
33	Karpuzalan köyü(Zernebat suyu)	7 km	içme suyu
34	Köklü köyü	21.5 km	içme suyu
35	Köprüler köyü(Van-et yanı)	19.5 km	sulama suyu
36	Köprüler köyü	19 km	kuyu içme suyu
37	Köprüler köyü	19 km	içme suyu
38	Kurubaş Gedik	6 km	içme suyu
39	Kızıtaş köyü	24.5 km	kuyu içme suyu
40	Kızıtaş köyü	24.5 km	içme suyu
41	Mülk köyü	24 km	içme suyu
42	Parmakçapı köyü	22 km	içme suyu
43	Sakalar köyü	24 km	içme suyu
44	Sakalar köyü	24 km	kuyu içme suyu
45	Sakalar köyü	24 km	içme suyu
46	Sakalar köyü	24 km	kuyu içme suyu
47	Van Merkez içme suyu	0	içme suyu
48	Yükarı Gündüz(Arkboyunun yanı)	19 km	içme suyu
49	Yukarı Kaymaz Başbulak Van içme S.K.	23 km	içme suyu
50	Zerne barajı Sulama Kanalı 1	22 km	sulama suyu
51	Zerne Barajı sulama kanalı 2	17.5 km	Sulama suyu
52	Zerne Barajı	30 km	Sulama suyu

**Bulgular**

İçme suları, sulama suları, kuyu içme suları, birikinti ve atık sularda bulunan ağır metal konsantrasyonları sırasıyla Tablo 5,6,7 ve 8'de özetlenmiştir.

**Tablo 5 : İçme Sularında Ağır Metal Konsantrasyonları**

İst.	Pb (mg/l)	Zn (mg/l)	Fe (mg/l)	Cu (mg/l)	Cd (mg/l)
1	0.014	0.008	0.07	0.005	< 0.005
4	0.016	0.017	0.14	0.008	< 0.005
5	0.016	0.007	0.08	0.005	< 0.005
6	0.009	0.009	0.73	0.005	< 0.005
7	0.006	0.02	0.06	0.008	< 0.005
11	0.007	0.021	0.15	0.007	< 0.005
15	0.005	0.005	0.11	0.010	< 0.005
14	0.005	0.007	0.05	0.005	< 0.005
19	0.005	0.005	0.02	0.005	< 0.005
20	0.005	0.011	0.02	0.007	< 0.005
24	0.019	0.013	2.50	0.009	< 0.005
25	0.024	0.013	3.00	0.011	0.005
26	0.005	0.005	0.04	0.005	< 0.005
27	0.008	0.064	0.12	0.006	< 0.005
29	0.008	0.005	0.03	0.005	< 0.005
31	0.005	0.005	0.01	0.009	< 0.005
33	0.005	0.032	0.11	0.014	< 0.005
34	0.016	0.007	0.11	0.005	< 0.005
37	0.008	0.145	0.02	0.010	< 0.005
38	0.005	0.006	0.12	0.009	< 0.005
40	0.005	0.005	0.03	0.005	< 0.005
41	0.014	0.009	0.41	0.007	< 0.005
42	0.005	0.005	0.30	0.009	< 0.005
43	0.005	0.173	1.15	0.035	< 0.005
45	0.005	0.005	0.01	0.007	< 0.005
47	0.014	0.220	0.04	0.014	< 0.005
48	0.008	0.005	0.05	0.005	< 0.005
49	0.008	0.008	0.37	0.005	< 0.005

**Tablo 6: Sulama Sularında Ağır Metal Konsantrasyonları**

İst.	Pb (mg/l)	Zn (mg/l)	Fe (mg/l)	Cu (mg/l)	Cd (mg/l)
2	0.005	0.013	1.10	0.012	< 0.005
8	0.005	0.005	0.89	0.007	< 0.005
9	0.005	0.006	2.71	0.012	< 0.005
10	0.017	0.009	0.62	0.008	< 0.005
13	0.009	0.010	1.20	0.011	< 0.005
18	0.009	0.006	1.12	0.009	< 0.005
21	0.05	0.008	0.90	0.008	< 0.005
23	0.012	0.007	0.62	0.007	< 0.005
28	0.007	0.008	0.08	0.005	< 0.005
32	0.011	0.011	0.52	0.008	< 0.005
35	0.013	0.008	0.03	0.007	< 0.005
50	0.018	0.008	0.39	0.005	< 0.005
51	0.005	0.005	1.86	0.010	< 0.005
52	0.010	0.008	0.14	0.007	< 0.005

**Tablo 7: Kuyu İçme Sularında Ağır Metal Konsantrasyonları**

İst.	Pb (mg/l)	Zn (mg/l)	Fe (mg/l)	Cu (mg/l)	Cd (mg/l)
22	0.005	0.010	0.61	0.008	< 0.005
30	0.005	0.006	0.03	0.013	< 0.005
36	0.016	0.010	0.75	0.006	< 0.005
39	0.013	0.034	0.11	0.005	< 0.005
44	0.017	0.257	1.30	0.012	0.006
46	0.010	0.213	0.11	0.006	< 0.005

**Tablo 8: Birikinti ve Atık Sularda Ağır Metal Konsantrasyonları**

İst.	Pb (mg/l)	Zn (mg/l)	Fe (mg/l)	Cu (mg/l)	Cd (mg/l)
3	0.011	0.012	1.40	0.008	< 0.005
12	0.124	0.006	0.39	0.009	< 0.005
16	0.035	0.034	2.40	0.030	< 0.005
17	0.007	0.011	0.35	0.009	0.006

### Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada coğrafi konumu, jeolojik yapısı ve iklim koşulları özellik arz eden Van ilinin muhtelif yerlerinden alınan içme, sulama, kuyu içme ile birikinti ve atık sularındaki Cu, Zn, Fe, Cd ve Pb elementleri ve bu elementler arasındaki korelasyonlar incelenmiştir.

**İçme Sularında Bakır, Çinko, Demir, Kadmiyum, Kurşun Miktarları**: Tablo 5 incelendiğinde, bakır için bildirilen değerlerin JECFA, EPA, ECD, WHO, TS-266 tarafından belirlenen maksimum miktarlardan daha düşük olduğu görüldü.

Çinko için en yüksek değerler 47, 43, 37. istasyonlarda yüksek olarak bulundu. Bu değerler, Tablo 1'de görüldüğü gibi TS-266, WHO, JECFA ve TS-266'nın belirlediği tavsiye edilen değerden daha düşük, EPA ve ECD değerlerinden ise yüksek olarak bulundu. 47, 43, 37. istasyonlarındaki suların EPA ve ECD standartlarındaki izin verilen maksimum değerden yüksek çıkması nedeniyle tüketilmesi sağlık yönünden bir sakınca oluşturabilir. Bu istasyonlarda yüksek değerlerin çıkmasının nedeni, musluk suyu için kullanılan borularda çinkonun erimesi sonucu olduğu, galvanizli bakırlı ve plastik borulardan kaynaklanabileceği bildirilmiştir (6).

Demir için en yüksek değerleri sırasıyla 25, 24, 43, 6, 41, 49. ve 42. istasyonlarda yüksek olarak bulundu. Bulunan bu değerler, Tablo 1'de görüldüğü gibi çeşitli standartların WHO, EPA, ECD belirlediği maksimum değerler ve TS-266'nın belirlediği, tavsiye edilen değerden daha yüksek bulundu. TS-266'nın belirlediği maksimum değer üzerinde 25, 24, 43. istasyonlarda, JECFA'nın belirlediği maksimum değer üzerinde olan değerler 25, 24. istasyonlarda bulundu. 24 ve 25. istasyonlardan alınan içme suyunun diğerlerinden farkı,

doğal olarak bulunduğu yerdir. Bu istasyonlardaki içme suyu halk tarafından şifalı su olarak bilinmekte ve bu amaçla tüketilmektedir. Bu su kaynağı, yukarıda belirtilen değerleri aştığından dolayı sürekli tüketildiği takdirde, sağlık yönünden demir aşırı yüklenimi söz konusu olacağından, sağlık yönünden sakıncalı olabilir (15).

Kadmiyum konsantrasyonlarından en yüksek değer 25.istasyonda bulundu. Bu değer Tablo 1'de görüldüğü gibi çeşitli standartların (ECD, WHO, TS-266) belirlediği maksimum değerlere eşit olarak, EPA ve JECFA'ya göre daha yüksek bulundu. Diğer değerler Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre'nin kadmiyum için tayin sınırının altında kalmıştır. 25. istasyonda bulunan değer, değişik standartların belirlediği maksimum değerine eşit ve yüksek olduğundan içme suyu olarak tüketilmesi çevredeki insan ve hayvan sağlığını tehdit edebilir (3,7,12).

Kurşun için en yüksek değerler sırasıyla 25, 24, 4,5,34, 1,41 ve 47 istasyonlarda bulundu. Bu değerler, Tablo 1'de görüldüğü gibi çeşitli standartların (TS-266, WHO, EPA, ECD) belirlediği maksimum değerlerden daha düşük, JECFA tarafından belirlenen değerden yüksek olarak bulundu. Yüksek değerleri yönünden 24 ve 25. istasyonlardaki yüksek Pb miktarı, doğal kaynaklı maddelerin çözünmesi sonucu kaynaklanabilir. İçme suyu olarak değerlendirilen bu istasyonlar şifalı su olarak bilinir. bu kaynaklar yukarıda belirtilen sağlığa bağlı değerlerin üstünde olduğundan, sürekli tüketilmesi sakınca doğurabilir. Diğer istasyonlardaki Pb miktarının yüksek çıkmasının sebebi ise, su tesisat sistemleri, borular, lehim kurşunu içeriklerinden olabileceği düşünülmektedir (6).

**İçme Suyunda Elementler Arası Korelasyon ve Regresyon**: Analiz sonucunda önemli korelasyonu bulunan metallere en yüksek ilişki Zn-Cu arasında ( $r = 0.67$ ,  $P < 0.01$ ) olduğu görüldü. Bunu Fe-Pb arasında ( $r = 0.63$ ,  $P < 0.01$ ), Fe-Cu arasında ( $r = 0.30$ ,  $P < 0.05$ ) ilişki düzeyleri takip etti.

Bu sonuçlar metallerin aynı kaynaktan etkilenmiş olabildiklerini gösterir. Bu kaynaklar Fe, Pb, Zn ve Cu'nun en çok etkilendikleri kullanılan su tesisatları ve doğal kaynaklı maddelerin çözünmesi sonucu olduğu belirtilmiştir (6).

**Sulama Sularında Bakır, Çinko, Demir, Kadmiyum, Kurşun Miktarları**: Sulama sularındaki bakır, çinko, demir ve kurşun miktarlarının, sulama suyu standartlarına göre sürekli kullanım ve kısa süreli kullanım için bildirilen değerlerin altında olduğu görülmüştür.

Tablo 3'de belirtilen kıta içi su kaynakları (Baraj) kalite kriterine göre verilen değer 52. istasyonda bulunan bakır, demir ve kurşun miktarları ile I. sınıf su olarak değerlendirilebilir.

Kadmiyum değerleri Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre'nin kadmiyum için tayin sınırının altında kalmıştır.

Sulama sularında element miktarlarının değişiklik göstermesinin nedeni, bu sular içindeki kimyasal çökeltme durumu veya sulama suyunun

coğrafi olarak bulunduğu yerin akışkanlık durumuyla açıklanabilir (14).

**Sulama Suyunda Elementler Arası Korelasyon ve Regresyon:** Analiz sonucunda önemli korelasyonu bulunan metallere en yüksek ilişki Fe-Cu arasında ( $r = 0.79, P < 0.001$ ) olduğu görüldü. Bunu Cu-Zn arasında ( $r = 0.21, P < 0.05$ ) ilişki düzeyi takip etti.

**Kuyu İçme Sularında Bakır, Çinko, Demir, Kadmiyum, Kurşun Miktarları:** Tablo 7 incelendiğinde, Bakırın en yüksek değerleri 30 ve 44. istasyonlarda bulundu. Bu değerler, Tablo 1'de görüldüğü gibi çeşitli standartların (TS-266, WHO, JECFA, EPA, ECD) belirlediği maksimum değerlerden ve TS-266'nın belirlediği tavsiye edilen değerden daha düşük bulundu.

Çinkonun en yüksek değerleri, 44 ve 46 istasyonlarda bulundu. Bu değerler, Tablo 1'de görüldüğü gibi, maksimum değerleri bildirilen standartların (TS-266, WHO, JECFA ve TS-266) belirlediği değerden daha düşük, EPA ve ECD değerlerinden yüksek olarak bulundu. 44 ve 46. istasyonlarda değerlerin yüksek çıkması, yeraltı suları, geçtikleri katmanlardaki minerallerin çözülmesinden dolayı olabilir (16).

Demirin en yüksek değerleri 44, 36, ve 22. istasyonlarda bulundu. Bu değerler, Tablo 1'de görüldüğü gibi standartların (WHO, EPA, ECD ve TS-266)'nin belirlediği tavsiye edilen değerden daha yüksek bulunmasına rağmen, TS-266'nın belirlediği maksimum değer üzerinde olan değer 44. istasyonda, bütün değerler JECFA'nın belirlediği maksimum değer altında bulundu. Demir kaynak ve hidrokimyasal ortama bağlı olarak yeraltı suyunda belirlenen standartların üstüne çıkabilir (1,13). Yukarıda belirtilen 44,36,22. istasyonlarda belirtilen değerler standartları aştığından dolayı içme suyunun tüketilmesi sakıncalıdır. Bu su kaynağı yukarıda belirtilen değerleri aştığından dolayı sağlık yönünden demir aşırı yüklenimi söz konusu olabileceği düşünülmektedir (15).

Kadmiyum konsantrasyonlarından en yüksek değer 44.istasyonda bulundu. Bu değer çeşitli standartların belirttiği maksimum miktara yakın bulundu. Diğer değerler Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre'nin kadmiyum için tayin sınırının altında kalmıştır. 44. istasyonda bulunan değer, standartların belirlediği maksimum değerlerinden yüksek olduğundan içme suyu olarak tüketilmesi sağlık yönünden zararlı olduğu kanaatine varılabilir.

Kurşunun en yüksek değerleri 44, 36, 39. istasyonlarda bulundu. Bu değerler, Tablo 1'de görüldüğü gibi maksimum değerleri belirtilen standartların (TS-266, WHO, EPA, ECD) daha düşük, JECFA değerinden yüksek olarak bulundu. Kuyu içme suyunda 44. istasyonda kurşun değeri, su ortamında nadiren bulunmasına karşılık, kaynak ve hidrokimyasal ortama bağlı olarak yeraltı suyunda belirlenen standardın üstüne çıkabilir (1). İnsanlar için tehlikeli olarak bilinen kurşun metali, vücut içinde birikebilmesi ve giderek zararlı düzeye varması yüzünden bir tehlike oluşturur (17). Bu yüzden belirlenen standartların

üstünde çıkan suların tüketilmesi son derece zararlı olabilir.

**Kuyu İçme Sularında Elementler Arası Korelasyon:** Analiz sonucunda önemli korelasyonu bulunan metallere en yüksek ilişki Fe-Pb arasında ( $r = 0.60, P < 0.05$ ) olduğu görüldü. Bunu Zn-Pb arasında ( $r = 0.45, P < 0.05$ ), Fe-Zn arasında ( $r = 0.41, P < 0.05$ ), Fe-Cu arasında ( $r = 0.28, P < 0.05$ ) ve Zn-Cu arasında ( $r = 0.17, P < 0.05$ ) ilişki düzeyleri takip etti.

**Atık ve Birikinti Sularında Bakır, Çinko, Demir, Kadmiyum, Kurşun Miktarları:** Tablo 8 incelendiğinde, Bakırın en yüksek değeri 16. istasyonda çinkonun en yüksek değeri 16. istasyonda, demirin en yüksek değeri 16. istasyonda kurşunun en yüksek değeri 12.istasyonda ve kadmiyum konsantrasyonlarından en yüksek değer 17.istasyonda bulundu. Diğer kadmiyum değerleri Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre'nin kadmiyum için tayin sınırının altında kalmıştır.

Görüldüğü gibi 16. istasyonda Cu, Zn, Fe değerleri yüksek bulundu. Bu istasyon çimento fabrikası atık suyudur, 17. istasyon çimento fabrikası yakınında bulunan birikinti su olduğundan fabrikanın Cd yönünden çevreyi kirlettiğini gösteriyor. 12. istasyon ise yol kenarı birikinti suyu olduğundan Pb yönünden çevreyi kirlettiği görülüyor.

Endüstriyel tesislerden ileri gelen emisyonlar çevre kirlenmesinin başlıca kaynaklarından biridir. Çimento endüstrisinde atmosfere bırakılan tozların çoğu toprak ve su üzerinde önemli derecede etkilere sahiptir. Örneğin yapılan çalışmalarda çimento tozlarının şeker pancarında ve fasulye yaprakları üzerinde zarar verici tesirleri, bazı spesifik iz elementlerle ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bu yönde yapılan çalışmada pirinç alanlarının Cd nedeniyle kontaminasyona uğradığı belirtilmiştir. Çimento tozlarına maruz kalma ile insan sağlığı etkileyen hastalıklar arasında anlamlı bir ilişki olduğu bulunmuştur (18).

Bu çalışmada fabrika atık suyu içinde bulunan yüksek Fe miktarının yüksek değeri çimento fabrikası'ndan kaynaklandığı açıkça görülmektedir. Yüksek bulunan Cd miktarı ise fabrika bacasından yayılan tozların etkisiyle olabilir.

Bu çalışmada 12.istasyonda yol kenarı birikinti suyunda Pb konsantrasyonun yüksek çıkması taşıt kaynaklı kirlenme olduğunu gösterir.

**Atık ve Birikinti Sularında Elementler Arası Korelasyon:** Analiz sonucunda önemli korelasyonu bulunan metallere en yüksek ilişki Zn-Cu arasında ( $r = 0.97, P < 0.001$ ) olduğu görüldü. Bunu Fe-Zn arasında ( $r = 0.91, P < 0.001$ ) ve Fe-Cu arasında ( $r = 0.84, P < 0.001$ ) ilişki düzeyleri takip etti.

Genel olarak, ağır metal miktarları yüksek çıkan yerlerde ciddi olarak su kirlenmesi kontrol programı tam manasıyla sürdürülmelidir.

## Kaynaklar

1.Uslu, O., Türkman, A.1992. Su Kirliliği ve Kontrolü, T.C. Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü Yayınları Eğitim Dizisi 1, Ankara.



- 2.Underwood, E.J. 1977. Trace Elements İn Human and Animal Nutrition, Akademik Press Inc, New York.
- 3.Eaton, A., Oelker, G. and Leong, L.,1982 .A Comparison of AAS and ICP for Analysis of Natural Waters, Atomic Spectroscopy, 3(5),152-156.
- 4.Resmi Gazete, 1988. Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği, Başbakanlık Basımevi, sayı:19919, 4 Eylül, Ankara.
- 5.Türk Standartları, 1984 Türk içme suları standardı, TS 266, Ankara.
- 6.World Health Organization. 1993. Guidelines for drinking-Water quality, 2.nd Ed.Genova.
- 7.Abdel-Hamid, M. I., Shaaban-Dessouki, S. A. and Skulberg, O. M. 1992. Water quality of the River Nile in Egypt I. Physical and Chemical Characteristics, Arch Hydrobiol/Suppl 90(3), 283-310.
- 8.Smith, R. 1981. Use of a Hydride-Generation Tecnique For The Atomic Absorption Determination of Lead in Drinking Water, Atomic Spectroscopy, 2(5),155-158.
- 9.Dorten, S. W., Poulichet, F.E., Mart, L. R. and Martin, J. M. 1991. Reassessment of the River Input of Trace Metals into the Mediterranean Sea Ambio, 20(1), 2-6.
- 10.Türk Standartları. 1977. Suyun Analiz Metodları Numune Alma, TS 2536, Ankara.
- 11.Türk Standartları.1989. Su Kalitesi-Kobalt, Nikel, Bakır, Çinko, Kadmiyum ve Kurşun Tayini-Alev Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrik Metotları, TS 6290, Ankara.
- 12.Greenberg, A. E., Trusell, R. R. and Clesceri, L. S. 1986. Standart Methods For the Examination of Water and Wastewater, 60. th Ed. Amerikan Public Health Association, Washington.
- 13.Haider, A. K and Liaquat, H. 1990. Chemical Characterization of Acid Precipitation in Albany New York, Atmospheric Environment, 24A(7), 1869-1882.
- 14.Sakai, H., Sasaki, T. and Saito, K. 1988. Heavy Metal Concentrations in Urban Snow as an Indicator of Air Pollution, The Science of the Total Environment, 77, 163-174.
- 15.Kief, H. 1975. Iron metabolism and it's disorders, American Elsevier Publishing Co. Inc. New York.
- 16.Tezcan, R. 1984. Tohma Çayında Ağır Metal Tayinleri, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü.
- 17.Voldner, E.C and Alvo, M.1993. Estimation of Wet Depasiton of sulfur, Nitrogen, Cadmium and Lead to the Great Lakes, Environmental Science & Tecnology, 27, 292-298.
- 18.Asubiojo, O. I., Aina, P. O. and Oluwole, A.F.1991. Effects of Cement Production on the Elemental Composition of Soils in the Neighborhood of two Cement Factories, Water Air, and Soil Pollution, 57-58, 819-828.

# Van'da Tüketime Sunulan Çiğ Köftelerin Hijyenik Kaliteleri Üzerine Bir Araştırma

Emrullah SAĞUN<sup>1</sup> Yakup Can SANCAK<sup>1</sup> Hüsamettin DURMAZ<sup>1</sup> Levent AKKAYA<sup>1</sup>

## Özet

Bu çalışmada, Van'da tüketime sunulan çiğ köftelerin hijyenik kalitelerini belirlemek amacıyla toplam 40 adet çiğ köfte örneği mikrobiyolojik yönden incelendi. Örneklerdeki ortalama toplam aerob mikroorganizma, fekal streptokok, koliform grubu mikroorganizma, E. coli, stafilocok ve koagulaz pozitif stafilocok sayıları sırasıyla  $3.3 \times 10^6$ /gr,  $7.9 \times 10^3$ /gr,  $5.2 \times 10^3$ /gr,  $3.0 \times 10^3$ /gr,  $1.8 \times 10^4$ /gr ve  $3.7 \times 10^3$ /gr olarak bulundu.

Sonuç olarak, Van'da tüketime sunulan çiğ köftelerin hijyenik kalitesinin kötü olduğu ve halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike oluşturduğu kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Çiğ köfte, mikrobiyolojik kalite.

## Summary

### A Study on Hygienic Quality of Raw Meat Balls Consumed in Van

In this study, 40 raw meat ball samples which were consumed in Van were examined to find out the hygienic quality. Average numbers of aerob microorganism, fecal streptococ, coliforms, E. coli, staphylococcus and coagulase positive staphylococcus were  $3.3 \times 10^6$ /gr,  $7.9 \times 10^3$ /gr,  $5.2 \times 10^3$ /gr,  $3.0 \times 10^3$ /gr,  $1.8 \times 10^4$ /gr and  $3.7 \times 10^3$ /gr respectively.

As a result, hygienic quality of raw meat ball consumed in Van was found to be bad and has potential danger for public health.

**Key Words:** Raw meat ball, microbiological quality.

## Giriş

Çiğ köfte başta Doğu ve Güney Doğu Anadolu Bölgesi olmak üzere ülkemizde sevilerek tüketilen geleneksel yiyeceklerimizden birisidir (1). Çiğ köftenin yapımı ve içine katılan maddelerin miktarı ile ilgili herhangi bir standart yoktur. Çiğ köfteleye katılan katkı maddelerinin miktarı isteğe göre farklılıklar göstermektedir. İnce kıyılmış çiğ kıymaya bulgur, soğan, sarımsak, salça, maydanoz ve başta biber olmak üzere çeşitli baharatlar (kırmızı biber, karabiber, tarçın, karanfil, yenibahar, kimyon, nane) ve tuz katılarak iyice yoğurulmak suretiyle hazırlanır (2). Çiğ köfteler tercihen bir kaç saat içinde tüketilmelidir. Ancak artan çiğ köfteler buzdolabında (+4°C) 24 saat muhafaza edilebilir (2).

Çiğ köfteyle ilgili çalışma sayısı oldukça azdır. Konuyla ilgili olarak Arslan ve ark. (3)'ün yaptığı bir çalışmada, Elazığ'da tüketime sunulan 45 adet çiğ köfte mikrobiyolojik kalite yönünden incelenmiştir. Bu çalışmada, ortalama toplam aerob canlı sayısı  $4.6 \times 10^5$ /gr, koliform grubu mikroorganizma sayısı  $8.7 \times 10^4$ /gr, fekal streptokok sayısı  $1.7 \times 10^4$ /gr, maya ve küf sayısı  $2.4 \times 10^4$ /gr, stafilocok sayısı  $1.9 \times 10^5$ /gr ve

koagulaz-pozitif stafilocok sayısı ise  $1.0 \times 10^3$ /gr. olarak saptanmıştır.

Yapılan bir başka çalışmada çiğ köftelik kıymada toplam aerob mikroorganizma sayısı  $3.5 \times 10^5$ /gr, Staphylococcus aureus sayısı  $1.1 \times 10^2$ /gr ve koliform grubu mikroorganizma sayısı  $1.5 \times 10^2$ /gr. olarak saptanmıştır. Bu kıymaya  $8.3 \times 10^5$  düzeyinde Salmonella typhimurium katılarak deneysel olarak çiğ köfte yapılmış ve 0.5, 1, 2, 4, 24 ve 48 saat sonra toplam canlı, S. aureus, koliform grubu mikroorganizmalar ve S. typhimurium yönünden incenmiştir. Buna göre toplam canlı mikroorganizma sayısı sözü edilen saatlerde sırasıyla  $5.6 \times 10^5$ /gr,  $3.5 \times 10^5$ /gr,  $4.4 \times 10^5$ /gr,  $3.3 \times 10^5$ /gr,  $1.9 \times 10^5$ /gr ve  $1.5 \times 10^5$ /gr olarak; koliform grubu mikroorganizma sayıları 1. saatte  $1.1 \times 10^2$ /gr, diğer saatlerde ise  $0.9 \times 10^2$ /gr olarak tesbit edilmiştir. S. aureus ve S. typhimurium sayıları sırasıyla 0.5 saatte  $2.0 \times 10^2$ /gr ve  $4.0 \times 10^4$ /gr; 1. saatte  $1.0 \times 10^2$ /gr ve  $4.0 \times 10^4$ /gr; 2. saatte  $1.3 \times 10^2$ /gr ve  $3.9 \times 10^4$ /gr; 4. saatte  $0.9 \times 10^2$ /gr ve  $2.3 \times 10^4$ /gr; 24. saatte  $1.4 \times 10^2$ /gr ve  $4.0 \times 10^4$ /gr ve 48. saatte  $0.8 \times 10^2$ /gr ve  $2.3 \times 10^4$ /gr olarak bulunmuştur (1).

Çiğ köftenin kalitesi, kullanılan kıyma ve diğer katkı maddelerinin kalitesiyle yakından ilgilidir (2,3).

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, VAN.

Kıyım, çeşitli türden mikroorganizmaların üreyip gelişmesi için elverişli bir ortamdır. Bu yüzden kolaylıkla bozulabilmekte ve halk sağlığı için büyük sorun oluşturabilmektedir (4,5,6,7). Nitekim yapılan bir çok araştırmada piyasada satılan hazır kıymaların bakteriyolojik kalitesinin kötü olduğu saptanmış ve halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike oluşturabileceği belirtilmiştir (4,7,8,9).

Çiğ köftenin vazgeçilmez öğelerinden birisi de çeşitli türden baharatlardır. Baharatlar üretimleri sırasında çok sayıda bakteri, maya ve küflerle kontamine olduklarından kullanıldıkları ürünün mikrobiyolojik kalitesini önemli ölçüde etkilemekte, gıda endüstrisinde önemli sağlık sorunları yaratmakta ve özellikle et ürünlerinde dayanma sürelerinin azalmasına sebep olmaktadır (10,11,12).

Et ürünlerine genellikle %0.1-1 oranında baharat ilave edildiği ve bir gram baharatın da  $10^5$ - $10^6$  mikroorganizma içerdiği dikkate alındığında, et ürününün her bir gramının baharat kullanımı nedeniyle  $10^3$ - $10^4$  mikroorganizma ile kontamine olduğu bildirilmektedir (10).

Özellikle ülkemizde yapılan bazı araştırmalarda çeşitli baharatların hijyenik kalitesi incelenmiş ve kalitelerinin düşük olduğu tesbit edilmiştir (11,13,14).

Kıymaların mikrobiyolojik kalite ölçüsü olarak önerilen maksimum sayısal değerler toplam aerob bakteri, koliform, E. coli, Stafilocok'lar, S. aureus ve Salmonella'lar için sırasıyla  $1.0 \times 10^7$ /gr,  $1.0 \times 10^3$ /gr,  $1.0 \times 10^2$ /gr,  $5.0 \times 10^2$ /gr,  $1.0 \times 10^2$ /gr ve 0/25 gr'dır (4).

Hayes (5), kıymalardaki toplam aerob canlı sayısının maksimum  $5.0 \times 10^3$ /gr olmasını, fekal koliformlar ve S. aureus'un da  $1.0 \times 10^2$ /gr'dan az olması gerektiğini; tüketilmeden önce ısı işlemine tabi tutulmayan gıdalarda, toplam aerob canlı sayısının maksimum  $1.0 \times 10^4$ /gr, S. aureus ve Enterobakterilerin ise 0.1 gr'da bulunmaması ve patojen bakterilerin ve toksinlerin hiç olmaması gerektiğini bildirmiştir.

Bu araştırmanın amacı, Van'da şehir merkezinde sokakta satılan çiğ köftelerin mikrobiyolojik kalitesini saptamak ve sağlık açısından bir risk faktörü oluşturup oluşturmadığını belirlemektir.

## Materyal ve Metot

### Materyal

Örnekler şehir merkezindeki çiğ çöfte satıcıları tarafından tüketime sunulan çiğ köftelerden temin edildi. Toplam 40 adet örnek incelendi. Örnekler satıcıların tüketicilere sunduğu şekilde alındı ve steril kavanozlara yerleştirilerek 2 saat içinde laboratuvara getirilip analizleri yapıldı. Bu süre zarfında örnekler  $+4^\circ\text{C}$ 'de saklandı.

### Metot

Laboratuvarda aseptik şartlarda karıştırıldıktan sonra, steril spatula kullanılarak 10 gr. örnek tartılıp bir karşıtıcının steril kabına konuldu. Üzerine 90 ml %0.1'lik peptonlu su eklenerek homojenize edilmek suretiyle  $10^{-1}$  seyreltisi hazırlandı. Daha sonra aynı su

ile  $10^{-9}$ 'a kadar seyreltileri yapıldı. Plak dökme yöntemi ile, ilgili besiyerlerine çift seri olarak ekimler yapılarak gerekli ısı dereceleri ve uygun sürelerde inkübe edildikten sonra 30-300 koloni içeren plaklardaki koloniler sayılarak değerlendirildi (15).

### Toplam Aerob Mikroorganizmaların Sayımı

Bu amaçla Plate Count Agar (Oxoid) besiyeri kullanıldı. Plaklar  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 48 saat inkübe edildi (15).

### Koliform Grubu Mikroorganizma ve E. coli'nin Sayımı

Koliform grubu mikroorganizmaların sayımında, Violet Red Bile Agar (Oxoid) kullanıldı. Ekim yapılan plaklar  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda koyu kırmızı koloniler koliform grubu mikroorganizmalar olarak değerlendirildi (16).

E. coli'nin sayımı için koliform grubu mikroorganizmaların sayıldığı plaklardan rastgele seçilen tipik 5 koloni Escherichia coli (E.C) buyyona inokule edildi. İnkübe edilen tüpler  $44.5 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de inkübe edildikten sonra üreme ve gaz oluşumu yönünden değerlendirildi. E. coli sayısı pozitif tüp sayısı ile koliform grubu mikroorganizma sayılarından elde edilen çarpımın tüp sayısına bölünmesiyle belirlendi (16,17).

### Stafilocok ve Koagulaz Pozitif Stafilocokların Sayımı

Bu amaçla Mannitol Salt Agar (Oxoid) besiyeri kullanıldı. Plaklar  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 36-48 saat inkübe edildikten sonra değerlendirildi (18).

Koagulaz pozitif stafilocokların saptanmasında plaklardan rastgele alınan ve koagulaz pozitif olarak nitelendirilen parlak sarı haleli kolonilerden 5 tane koloni önce Nutrient Buyyon'a (Oxoid) ekilerek  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edildi. Sonra bu kültürlerle koagulaz testi uygulandı. Bunun için steril deney tüplerine 1'er ml 1/10 oranında seyreltilmiş insan plazması konularak üzerine 24 saatlik stafilocok buyyon kültüründen 0.1 ml ilave edildi. Tüpler  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de inkübe edilerek 1,3,6. saatlerde koagulasyon oluşumu kontrol edildi. Negatif tüpler oda ısısında bir gece bekletildikten sonra değerlendirildi (18,19).

Koagulaz pozitif stafilocokların sayısı pozitif tüp sayısı ile parlak sarı haleli koloni sayılarından elde edilen çarpımın tüp sayısına bölünmesiyle bulundu (19,20).

### Fekal Streptokokların Sayımı

Bu amaçla Slanetz and Barthley (Oxoid) besiyeri kullanıldı. Ekimler yapıldıktan sonra plaklar  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 48 saat inkübasyona bırakıldı ve bu süre sonunda tipik kırmızı koloniler sayıldı (21).

### Bulgular

İncelenen çiğ köfte örneklerinde saptanan en az, en çok ve ortalama mikroorganizma sayıları Tablo 1'de, rastlanma oranları ise Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 1. Çiğ köfte örneklerinin içerdikleri mikroorganizma sayıları (/gr).

Mikroorganizma	En az	En çok	Ortalama (geometrik)
Toplam koloni	$1.3 \times 10^5$	$7.2 \times 10^8$	$3.3 \times 10^6$
Fekal streptokok	0	$1.2 \times 10^6$	$7.9 \times 10^3$
Koliform	0	$4.5 \times 10^5$	$5.2 \times 10^3$
E. coli	0	$1.3 \times 10^5$	$3.0 \times 10^3$
Stafilokok	$1.0 \times 10^2$	$4.6 \times 10^5$	$1.8 \times 10^4$
Koagulaz-pozitif stafilokok	0	$1.2 \times 10^5$	$3.7 \times 10^3$

Tablo 2. Çiğ köfte örneklerinde saptanan mikroorganizma sayılarının rastlanma oranları (/gr).

Mikroorganizma sayısı/gr	Toplam koloni		Fekal streptokok		Koliform		E. coli		Stafilokok		Koagulaz pozitif stafilokok	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
0	-	-	1	2.5	1	2.5	4	10	-	-	9	22.5
$1.0 \times 10^1 - 9.9 \times 10^1$	-	-	-	-	1	2.5	1	2.5	-	-	4	10
$1.0 \times 10^2 - 9.9 \times 10^2$	-	-	6	15	8	20	12	30	5	12.5	3	7.5
$1.0 \times 10^3 - 9.9 \times 10^3$	-	-	12	30	11	27.5	9	22.5	9	22.5	11	27.5
$1.0 \times 10^4 - 9.9 \times 10^4$	-	-	17	42.5	17	42.5	13	32.5	18	45	12	30
$1.0 \times 10^5 - 9.9 \times 10^5$	10	25	3	7.5	2	5	1	2.5	8	20	1	2.5
$1.0 \times 10^6 - 9.9 \times 10^6$	17	42.5	1	2.5	-	-	-	-	-	-	-	-
$1.0 \times 10^7 - 9.9 \times 10^7$	11	27.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$1.0 \times 10^8 - 9.9 \times 10^8$	2	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

### Tartışma ve Sonuç

Çiğ köfte örneklerine ait mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 1'de ve rastlanma oranları da Tablo 2'de verilmiştir.

İncelenen örneklerdeki ortalama toplam aerob mikroorganizma, fekal streptokok, koliform grubu mikroorganizma, E. coli, stafilokok ve koagulaz pozitif stafilokok sayıları sırasıyla  $3.3 \times 10^6$ /gr,  $7.9 \times 10^3$ /gr,  $5.2 \times 10^3$ /gr,  $3.0 \times 10^3$ /gr,  $1.8 \times 10^4$ /gr ve  $3.7 \times 10^3$ /gr olarak bulunmuştur (Tablo 1).

Araştırmamızda bulduğumuz ortalama toplam aerob mikroorganizma ve koagulaz pozitif stafilokok sayıları Arslan ve ark. (3)'ün bildirdiği değerlerden yüksek; fekal streptokok, koliform grubu mikroorganizma ve stafilokok sayıları ise düşük çıkmıştır.

İncelediğimiz çiğ köfte örneklerinde saptadığımız ortalama toplam aerob mikroorganizma, koagulaz pozitif stafilokok ve koliform grubu mikroorganizma sayıları Göktan ve Tunçel (1)'in bildirdiği değerlerden yüksektir. Bunun sebebi çiğ köfte hazırlama şartlarının ve kullanılan malzemelerin farklılığından kaynaklanmış olabilir.

Tekinşen ve ark. (4)'ün kıymalarda kalite ölçüsü olarak bildirdiği maksimum sayısal değerlerle kıyaslandığında; toplam aerob mikroorganizma sayısı göz önüne alındığında örneklerin %30'u, koliform grubu mikroorganizmalar göz önüne alındığında %72.5'i, E. coli göz önüne alındığında %90'ı, stafilokoklar göz önüne alındığında %87.5'i ve koagulaz pozitif stafilokoklar göz önüne alındığında da %67.5'i bildirilen maksimum değerlerin üzerindedir.

Çiğ köfte örneklerinde saptanan ortalama değerler, Hayes'in (5) bildirdiği, kıymalarda bulunabilecek maksimum mikroorganizma sayılarından daha yüksek çıkmıştır. Örneklerin %82.5'i toplam aerob mikroorganizmalar yönünden, %47.5'i koliform grubu mikroorganizmalar yönünden ve %32.5'i koagulaz pozitif stafilokoklar yönünden bildirilen sınırların üstündedir.

Tüketilmeden önce ısı işlemine tabi tutulmayan gıdalar için bildirilen maksimum mikroorganizma sayıları ile karşılaştırıldığında; incelenen çiğ köfte örneklerinin toplam aerob mikroorganizma sayısı göz önüne alındığında %100'ünün, koagulaz pozitif stafilokoklar göz önüne alındığında %77.5'inin, koliform grubu mikroorganizmalar göz önüne alındığında %97.5'inin, E. coli göz önüne alındığında %90'ının ve fekal streptokok sayısı göz önüne alındığında %97.5'inin bildirilen değerlerin üzerinde mikroorganizma içerdiği görülmektedir (5).

Örneklerin %47.5'inde koliform grubu mikroorganizmalar  $10^4 - 10^5$  arasında, %35'inde E. coli  $10^4 - 10^5$  arasında bulundu. Stafilokoklar örneklerin %65'inde, koagulaz-pozitif stafilokoklar ise %32.5'inde  $10^4 - 10^5$  arasında bulunurken, fekal streptokoklar da örneklerin %52.5'inde  $10^4 - 10^6$  arasında bulundu (Tablo 2). Bu değerler incelenen çiğ köfte örneklerinin önemli miktarlarda bakteri içerdiğini ve taze olarak tüketilen gıdalar için öngörülen miktarların çok üstünde olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak; Van'da tüketime sunulan çiğ köftelerin önemli miktarlarda zararlı mikroorganizma içerdiği, hijyenik kalitelerinin iyi olmadığı, halk sağlığı

açısından potansiyel bir tehlike oluşturduğu sonucuna varıldı.

### Kaynaklar

1. Göktaş D ve Tuncel G: Effect of ingredients on quantitative recovery of salmonella in raw meat balls, *Meat Sci* 22: 155-160 (1988).
2. Öcal HM: Özellikleri ve güzellikleriyle çiğ köftemiz, *Özlem Kitabevi, Urfa*, s.27-70 (1997).
3. Arslan A, Güven A, Saltan S ve Patır B: Elazığ'da tüketime sunulan çiğ köftelerin mikrobiyolojik kalitesi. *FÜ Sağlık Bil Derg* 6 (1,2): 13-18 (1992).
4. Tekinşen OC, Yurtyeri A ve Mutluer B: Ankara'da satılan hazır kıymaların bakteriyolojik kalitesi, *AÜ Vet Fak Derg*, 27 (1-2): 45-63 (1980).
5. Hayes PR: *Food Microbiology and Hygiene*, Elsevier Applied Science Publishers Ltd. England, pp.80-99 (1985).
6. Dinçer B: *Et Bilimi ve Teknolojisi*. AÜ Vet Fak Teksir, Ankara (1992).
7. Nortje GL, Nel L, Jondan E and Naude RT: A microbiological survey of fresh meat in the supermarket trade. Part: 2 Beef retail cuts. *Meat Sci*, 25:99-112 (1989).
8. Akıllı A: Ankara'da süpermarketlerde satılan hazır kıymaların mikrobiyolojik ve kimyasal kaliteleri ile tek tırnaklı hayvan etleri yönünden incelenmesi üzerine araştırmalar. *Etlik Vet Mikrob Enst Derg* 5 (4-5): 125-141 (1982).
9. Summer JL: Microbiological evaluation of retail ground beef in İzmir, Turkey, *J Food Protect*, 41: 104-106 (1978).
10. Mutluer B, Öztaşınan İ, Şarer E, Akkuş M, Ersen S ve Kaya B: İyonize radyasyonla baharatların sterilizasyonu. I. Gama ışınlarının karabiber ve kırmızı biberin mikrobiyel flora, uçucu yağ ve duyuusal niteliklerine etkisi, *AÜ Vet Fak Derg* 33 (3): 464-476 (1986).
11. Tekinşen OC ve Sarıgöl C: Elazığ yöresinde tüketime sunulan bazı öğütülmüş baharatın mikrobiyel florası, *FÜ Vet Fak Derg* 7 (1-2): 149-162 (1982).
12. Başoğlu F: Gıdalarda kullanılan bazı baharatların mikroorganizmalar üzerine etkileri ve kontaminasyondaki rolleri, *Gıda* 1:19-24 (1982).
13. Berker A: Bursa bölgesinde piyasada satılan ve sucuk imalathanelerinde kullanılan baharatların mikrobiyolojik kalitesi, *UU Vet Fak Derg* 8-9: 1-6 (1989-1990).
14. Civan E ve Ergün Ö: İstanbul bölgesi hayvansal gıda işletmelerinin hammadde, katkı maddesi ve son ürünlerinde mikrobiyolojik kalite, *YYÜ Vet Fak Derg* 4(1-2):213-221 (1993).
15. Harrigan WF and Mc Cance ME: *Laboratory methods in food and dairy microbiology*. Academic Press London (1976).
16. American Public Health Association: *Standart methods for the examination of water and wastewater*. 15 th ed American public Health Association, Inc Washington DC (1980).
17. Marth EH: *Standart methods for the examination of dairy products*. American Public Health Association Inc 95-105 (1978).
18. T O K İ B: *Gıda maddeleri muayene ve analiz yöntemleri kitabı*, Yay No:65, Merkez İkmal Müdürlüğü Basımevi, Ankara (1983).
19. Report: A comparative assessment of media for the isolation and enumeration of coagulase positive staphylococci from foods, *Areport from Working Party of the Public Health Laboratory Service*, *J Appl Bac*, 35: 673-679 (1972).
20. British Standart: BS. 4285-1968. *Methods of microbiological examination for dairy purposes*. British Standart Institution. London (1968).
21. Oxoid Manual: *The Oxoid Manual of Culture Media. Ingredients and Other Laboratory Services*. 5 th ed Oxoid Ltd. Basingtoke, Hampshire, p.285-286 (1982).

# Van'da Tüketime Sunulan Yerli Ve İran Ballarının Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Niteliklerinin İncelenmesi\*

Mehmet AKYÜZ<sup>1</sup>Emrullah SAĞUN<sup>1</sup>

## Özet

Bu araştırma, Van piyasasında tüketime sunulan yerli ve İran ballarının kalitesini belirleyerek, kalite farklılıklarının bulunup bulunmadığını ortaya koymak ve standartlara uygunluğunu saptamak amacıyla yapıldı. Bu amaçla, 20 adet yerli ve 20 adet de İran bal numunesi kimyasal, fiziksel ve duyuşal yönlerden incelendi.

Kimyasal ve fiziksel analizler sonucunda yerli ve İran bal numunelerinin ortalama kurumadde, rutubet, kül, invert şeker, sakkaroz, toplam şeker ve azot miktarları sırasıyla; % 83.17, % 82.38; % 16.82, % 17.61; % 0.10, % 0.08; % 70.71, % 65.10; % 6.69, % 12.77; % 77.40, % 77.88; % 0.04, % 0.03; yerli ve İran ballarında diastaz sayısı, hidroksimetilfurfural, protein çöktelti hacmi, pH ve total asitlik değerleri sırasıyla; 13.50 G, 11.08 G; 12.81 mg/kg, 19.10 mg/kg; 0.74 ml, 0.65 ml; 4.29, 4.04; 21.78 meq/kg, 21.19 meq/kg olarak bulundu.

Duyusal analiz sonucunda; yerli bal örneklerinin % 30'unun seçme, % 45'inin standart, % 25'inin ise standart dışı olduğu, İran ballarının ise % 30'unun seçme, % 50'sinin standart, % 20'sinin ise standart dışı olduğu saptandı.

Van şehir merkezinde satışa sunulan yerli bal örneklerinin % 10'unun rutubet oranı, % 10'unun asitlik, % 35'inin diastaz sayısı, % 10'unun hidroksimetilfurfural içeriği, % 15'inin ticari invert şeker, % 20'sinin ticari glikoz varlığı, çiçek balları dikkate alındığında % 15'inin invert şeker, % 30'unun sakkaroz miktarı, salgı balları dikkate alındığında % 15'inin invert şeker, % 25'inin sakkaroz miktarı yönünden; İran balı örneklerinin ise % 5'inin rutubet oranı, % 45'inin diastaz sayısı, % 20'sinin hidroksimetilfurfural içeriği, % 10'unun ticari invert şeker ve % 30'unun ticari glikoz varlığı, çiçek balları dikkate alındığında % 25'inin invert şeker, % 80'inin sakkaroz miktarı, salgı balları dikkate alındığında % 25'inin invert şeker, % 40'ının sakkaroz miktarı yönünden TS 3036 Bal Standardı'na uymadığı belirlendi.

Sonuç olarak, kimyasal nitelikler yönünden incelenen yerli balların % 50'sinin, İran ballarının ise % 80'inin TS 3036 Bal Standardı'na uymadığı saptandı.

**Anahtar Kelimeler:** Yerli Bal, İran Balı, Fiziksel-Kimyasal, Duyusal özellikler.

## Summary

### Studies On The Physical, Chemical and Organoleptical Properties of Local and Iran Honey Consumed in Van

The purpose of this study was to determine the quality of local and Iran honeys consumed in Van to compare their appropriateness to standards and to show their quality differences, if any. 20 samples of local and 20 samples of Iran honey were examined physically, chemically and organoleptically.

In the chemical and physical analysis of local and Iran honey samples, the average values of dry matter, moisture, ash, invert sugar, sucrose, total sugar and total nitrogen were found to be 83.17 %, 82.38 %; 16.82 %, 17.61 %; 0.10 %, 0.08 %; 70.71 %, 65.10 %; 6.69 %, 12.77 %; 77.40 %, 77.88 %; 0.04 %, 0.03 % respectively. In the local and Iran honey samples, the average values of diastase number, hydroxymethylfurfural (HMF), precipitated protein, the average values of pH and total acidity were 13.50 G, 11.08 G; 12.81 mg/kg, 19.10 mg/kg; 0.74 ml., 0.65 ml; 4.29, 4.04; 21.78 meq/kg, 21.19 meq/kg respectively.

The organoleptical analysis proved that 30 % of local samples were selected, 45 % were standard, 25 % were out of standard while 30 % of Iran samples were selected, 50 % standard, 20 % out of standard.

It was determined that the local and Iran honey consumed in Van did not meet the standards in respect of following features and rates; 10 % in respect of moisture, 10 % in respect of acidity, 35 % in respect of diastase number, 10 % in respect of hydroxymethylfurfural content, 15 % in respect of commercial invert sugar and 20 % in respect of commercial glucose presence. When flower honey is considered, 15 % in respect of invert sugar, 30 % sucrose rate, when honeydew is considered, 15 % in respect of invert sugar, 25 % in respect of sucrose rate; In Iran samples, 5 % in respect of moisture, 45 % in respect of diastase number, 20 % in respect of hydroxymethylfurfural content, % 10 in respect of commercial invert sugar, and 30 % in respect glucose presence, when flower honey is considered, 25 % in respect of invert sugar, 80 %, of sucrose; when honeydew is considered, 25 % in respect of invert sugar, 40 % in respect of sucrose respectively.

As a result, of the local honey samples examined chemically 50 % , and of the Iran honey samples 80 % did not fit TS 3036 Honey Standards.

**Keywords:** Local Honey, Iran Honey, Physical-Chemical, Organoleptical properties

\* Bu araştırma Y.Y.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenen Yüksek Lisans Tezi'nden özetlenmiştir (96 VF 003).

<sup>1</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, VAN.

## Giriş

Çok değerli bir besin maddesi olan bal, arıların çiçeklerde bulunan nektarı ya da bazı bitkiler üzerinde yaşayan böceklerin çıkardıkları salgıyı toplayarak vücudunda değiştirip petek gözlerine depolayarak burada olgunlaşması sonucu oluşan kıvamlı ve tatlı bir üründür (1).

Bal, Bal arıları (*Apis mellifera*, *Apis dorsata*) tarafından bitkilerin nektar ve tatlı salgularından elde edilerek (toplanarak) değişime uğratılan ve peteklerde depolanan, su oranı % 25'i, kül oranı % 0.25'i, sakkaroz miktarı % 8'i geçmeyen ve polarize ışığı sola çeviren bir maddedir, şeklinde tanımlanmıştır. Türk Standartları Enstitüsü Bal Standardımızda ise "Bal, bitkilerin çiçeklerinde bulunan nektarların veya bitkilerin canlı

kısımlarıyla bazı eşkanatlı böceklerin salgıladığı tatlı maddelerin bal arıları (*Apis mellifera*, *Apis mellifica*) tarafından toplanması, vücutlarında bileşimlerinin değiştirilip petek gözlerine depo edilmesi ve buralarda olgunlaşması sonucu meydana gelen koyu kıvamda tatlı bir üründür" şeklinde tarif edilmektedir (2,3).

TS 3036 Bal Standardı (3), balın bileşimi ve özellikleriyle ilgili bazı sınırlamalar getirmiştir. Kalite ölçüsü olarak getirilen bu sınırlamalarda nem oranı en çok % 21, asitlik en çok 40 meq/kg, hidroksimetilfurfural en çok 40 mg/kg ve diastaz sayısı en az 8 G olarak belirlenmiştir. Ayrıca ballar bozuk ve tağşiş edilmiş olmamalı, yabancı madde ihtiva etmemeli, koku, tad, acıcılık, renk ve görünüm bakımından grup ve tipine özgü durumda bulunmalıdır (Tablo 1)

**Tablo 1.** T.S.E. Bal Standardı'na Göre Balların Kimyasal Bileşimi.

Gruplar	Tipler	Sakkaroz % En çok	İnvert Şeker % En az	Kül % En çok	Suda Çözünmeyen Katı madde % En çok	Diğer Özellikler	Renk
Çiçek Balı	Petekli	5	65	0.6	0.1	Enzimler ve polen-ler bulunmalıdır. Görünüşleri genel-likle saydam olmalıdır.	Su beyazından koyu kahve-rengine kadar
Çiçek Balı	Süzme	5	65	0.6	0.1		
Çiçek Balı	Pres	5	65	0.6	0.5		
Salgı Balı	Petekli	10	60	1.0	0.1	Reçine bulunabilir	Genellikle kah-verengi koyu.
Salgı Balı	Süzme	10	60	1.0	0.1		
Salgı Balı	Pres	10	60	1.0	0.5		

Balın başlıca fiziksel özellikleri şöyle özetlenebilir: Bal, higroskopik bir madde olup havadan nem alma özelliğine sahiptir. Balın, havadan nem alması onun özel yapısına, şeker muhteviyatına ve içerisindeki su miktarına bağlıdır. Balın özgül ağırlığı, içerisindeki su miktarı ve sıcaklığa bağlı olup 20 °C'de 1.42 gr/cm<sup>3</sup> olarak bulunmuştur. Bal, renksiz durumdan koyu kırmızıya kadar sarı, kehribar, kahverengi, yeşilimsi ve kırmızımsı renklerde olmaktadır. Bala renk veren maddeler klorofil, karoten, ksantofil ve bileşimi bilinmeyen sarı ve yeşil rengi meydana getiren bitki pigmentleridir (4,5). Her balın kendine özgü bir lezzeti ve kokusu vardır. Bir kovanda bile bir kaç çeşit lezzette bal bulunabilir. En fazla sevileni beyaz oğul balıdır (6). Bala lezzet ve koku veren maddeler bal çeşidine ve çiçek kaynağına göre farklılıklar gösterir. Balın tadının fruktoz, glikoz, glukonik asit, esterler, aldehytler, ketonlar ve serbest asitlerden; kokusunun ise formaldehit, asetaldehit, aseton metil etil keton, etanol, n-bütanol, benzil alkol ve bazı esterlerden ileri geldiği bildirilmiştir (5,7,8). Çok ısıtılan ballar aroma maddelerinin büyük bir kısmını kaybederler ve ısıtma sonucu kötü lezzet meydana gelir. Eğer bal şiddetli kokan bir maddenin yanında bekletilirse o maddenin kokusunu da çekebilir (6,8).

Balın acıcılığının yavaş veya hızlı olması içerisindeki su miktarıyla yakından ilgilidir (4). Koyu renkli, yavaş akan, sıkı yapılı balların viskozitesi yüksek; açık renkli, gevşek yapılı ballarda ise viskozite düşüktür.

Balın viskozitesi 2.652-2.914 değerleri arasındadır (6). Balın önemli bir özelliği de kristalleşmesidir.

Kristalleşme bala özgü bir olay olup, balın genel özelliklerini bozmaz (4).

Balın hazmı kolay olduğu için, doğrudan doğruya kana karışır ve karaciğeri yormaz. Bundan dolayı sıhhat için değeri büyüktür (9).

Bal, temelde karbonhidrat sağlayan bir besindir. Baldaki karbonhidratların büyük çoğunluğu sindirimi gerektirmeyen glikoz ve fruktoz denilen monosakkaritlerdir. Petek balının 100 gramı ortalama 305 kalori enerji verir. Gömeçlerinden ayrılarak süzülüş balın 100 gramı ise ortalama 330 kalori sağlar. Balın besleyici özelliği, sindirimi gerektirmeden hemen kana geçip kişiye enerji sağlamasıdır. Bu nedenle zayıf, iştahsız ve beden çalışması çok olanların artan enerji gereksinmelerinin kolayca karşılanması için iyi bir besindir (10,11,12). Ayrıca bal, kan dolaşımını ve sinir sistemini uyarıcı etki de yapar (13).

Balın; bel ağrıları için, havanda dövülen kuyruk yağı ile iyice karıştırılıp bele sürüldüğünde, 3 gün devam edildiği takdirde ağrıyı durdurduğu; soğuk su ile karıştırılıp içildiğinde ishali durdurduğu; mikrop öldürücü özelliğe sahip olduğu; göz ağrılarına iyi geldiği; bebek ve çocuk beslenmesinde çok önemli bir rol oynadığı; uykusuzluk ve yüksek tansiyondan şikayetçi olanlara yararlı olduğu; asidoz meydana getirmediği; taze kan yapımı için enerji temin ettiği; kansızlar için kan yapımını hızlandırdığı, kanın temizlenmesine

yardımcı olduğu; çocuklarda kusma, öksürük, bronşit gibi hastalıklarda kaynatılmış arpa suyu ile karıştırılıp içildiğinde tedavi edici özellik gösterdiği; hem sabah hem akşam devamlı yendiğinde sarılığı tedavi ettiği; süte bol miktarda karıştırılıp içildiğinde tenya (şerit) parazitini düşürdüğü, boğaz ağrılarına iyi geldiği; bir miktar tuzla karıştırılıp devamlı içildiğinde balgam söktürdüğü; karın ağrılarını kestiği; mideye ferahlık verdiği; gastrit ve ülseri tedavi edici özellik taşıdığı; sırt ağrılarında ağrıyan yere sürülüp üzerine karabiber ekildiğinde ağrıyı derhal kestiği; bademcik iltihaplarında iyileşmeye sebep olduğu; ciddi yanıkları tedavi edici özelliği olduğu; sporculara enerji sağladığı ve yorgunluklarını giderdiği; kalp, karaciğer ve kemik hastalıklarını iyi edici özellik taşıdığı bildirilmiştir (13,14,15,16,17,18,19,20).

Çok kıymetli ve değerli bir besin maddesi olan bal hilelere, taklit ve taşışlere oldukça müsait bir gıda maddesidir. En çok yapılan hileler de, çeşitli şekerlerin ve şeker bakımından zengin bazı meyve suları ve şuruplarının değişik şekillerde bala katılması şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Bu tür ürünlere yapay bal denilmektedir. Ancak çoğu zaman doğal bal olarak satılmaktadır. Bu şekilde üretilen ürünleri doğal bal olarak kabul etmek mümkün değildir. Çünkü, Gıda Maddeleri Tüzüğü'ne göre bala dışarıdan herhangi bir madde katılması yasaktır. Çoğu zaman da fazla çiçeğin bulunmadığı dönemlerde, çeşitli tatlı şerbetleri kovanların etrafına konularak arıların bunlarla beslenmesi ve bal yapması sağlanmaktadır. Bu şekilde elde edilen ballar da normal bal olarak kabul edilmemektedir (15,21).

Bitki kaynağına, üretim, depolama ve pazarlama metodlarına göre değişik şekil ve görünüşte olan balların kaliteleri arasında farklar mevcuttur (16,22).

Her ne kadar ülkemiz bal ihraç eden bir ülke ise de; son yıllarda doğu komşumuz olan İran ile sınır ticaretinin yapılmaya başlanmasıyla bu ülkede üretilen bir çok gıda maddesiyle birlikte bal da ülkemize getirilmektedir. Bu ülkeden getirilen ballar bölgemizde satışa sunulmaktadır.

Van piyasasında her geçen gün İran ballarının artış gösterdiği ve yerli ballardan daha ucuz fiyatlarla satıldığı görülmektedir. Halkımızın genelde alım gücünün düşük olması bu ballara rağbeti artırmaktadır.

Zaman zaman İran balları, yerli bal diye daha yüksek fiyatlarla satılmakta ve tüketiciler aldatılmaktadır.

Bölgemizde satılan İran ballarının fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerinin araştırılması ve aynı şekilde yerli ballarımızın da incelenmesi gerekmektedir. Van piyasasında satışa sunulan gerek İran ballarının ve gerekse yerli ballarımızın fiziksel, kimyasal ve organoleptik özellikleri ortaya konularak bunların mukayeselerinin yapılması ve ilgili standart ve tüzüklere uygun olup olmadığının belirlenmesi gerekmektedir.

Bu araştırma, Van piyasasında tüketime sunulan yerli ve İran ballarının kalitesini belirleyerek, varsa kalite farklılıklarını ortaya koymak ve standartlara uygunluğunu saptamak amacıyla yapıldı.

### **Materyal ve Metot**

#### **Materyal:**

Araştırmada, Van piyasasındaki market, şarküteri ve seyyar satıcılardan temin edilen süzme ve petekli ballardan 20 adet İran ve 20 adet yerli bal numunesi materyal olarak kullanıldı. Materyali oluşturan toplam 40 adet numune 01.02.1996 - 30.09.1996 tarihleri arasında ağızı kapalı cam kavanozlara alınmak suretiyle en kısa sürede laboratuvara getirildi ve analiz süresince oda ısısında muhafaza edildi. Numunelerden 2 seri halinde olmak üzere ilk gün duyuşal, en geç üç gün içinde de kimyasal ve fiziksel analizler yapıldı.

#### **Metot:**

Bal numunelerinin alımı ve hazırlanmasında Türk Standartları Enstitüsü'nün öngördüğü metodlar uygulandı (3).

**Kimyasal ve Fiziksel Analizler:** Numunelerin rutubet, pH, asidite, dekstrin tayinleri ve proteinli maddelerin çöktürülmesi Keskin (23)'in; kül ve ticari glikoz tayini T.O.K.İ.B. (24)'ünün; invert şeker, ticari invert şeker ve sakkaroz tayini T.S.E. (3)'nin; toplam azot miktarının tayini İnal (25)'in; hidrosimetilfurfural tayini Sidney (26)'in ve diastaz aktivitesi tayini de Menemencioğlu (27)'nin önerdiği şekilde yapıldı.

**Duyusal Analizler:** Bal numunelerinin duyuşal analizleri White (28)'in belirttiği şekilde yapıldı ve sınıflandırıldı. Değerlendirmede White'ın Tablo 2'de gösterilen puan baremi kullanıldı.



**Tablo 2. Sıvı balların değerlendirilmesinde kullanılan puan skalası (28)**

ETMENLER					
Şekerlenme durumu.....	20	Kusurlu maddelerden arılık ve berraklık 30	Akıcılık 20	Tat ve aroma 30	Toplam puanlar 100
Sıvı durum (Şekerlenme yok).....	20	Son derece kusursuz ve berrak 30-26	Sıvı durum parmak sokulduğunda uzayan koyulukta 20-18	Çok iyi 30-26	Fantazi A>90
		Yeterli derecede kusursuz ve berrak 25-22	Orta koyulukta zor akıcı 17-16	İyi 25-22	Seçme B>80
İnce dağılmış şeker tanecikleri.....	19	Az kusurlu ve bulanık 21-19	Koyu yapışkan	Orta	Standart
Derinliğin 1/8-1/16'sı şekerlenmiş (0.75-1.5 cm.).....	18		15	21-19	C>70
Küme kristaller.....	17				
Dipte 1.6-2.9 cm şekerlenme.....	16	Kusurlu ve bulanık	Hoşa gitmeyen koyuluk (sulu ya da taş gibi sert)	Tatsız ve aromasız hoşa gitmeyen tatta ve aromada	Standart dışı
Derinliğin 1/4'ü şekerlenmiş (3cm.)....	12-15				
Derinliğin 1/2'si şekerlenmiş (6cm.)...	8-14				
Derinliğin 3/4'ü şekerlenmiş (9cm.)....	4-7		14-0		
Tümüyle yumuşak şekerlenme.....	2-3	18-0		18-0	60-0
Tümüyle katı şekerlenme.....	0-1				

Not: Tablodaki sayılar değer puanlarıdır.

## Bulgular

### Yerli ve İran Ballarının Kimyasal Analiz

**Bulguları:** Van piyasasında tüketime sunulan yerli ballara ait kimyasal analiz sonuçları Tablo 3'de, İran ballarına ait sonuçlar ise Tablo 4'de toplu olarak gösterilmiştir.

**Duyusal Analiz Bulguları:** Balların bir kısmının çiçek kokusunu andırdığı, bir kısmının hissedilmesi güç bir koku taşıdığı, renklerinin ise, oldukça açık sarıdan koyu kahverengine kadar değiştiği tespit edildi.

Yerli ballardan % 30'nun seçme, % 45'nin standart, % 25'nin standart dışı; İran ballarının ise, % 30'nun seçme, % 50'nin standart ve % 20'sinin standart dışı grubu oluşturduğu tespit edildi.

## Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, Van şehir merkezinden toplanan 20 adet yerli bal ve 20 adet de İran balı kimyasal bileşim ve duyusal özellikler yönünden incelenmiştir.

Ballardaki rutubet miktarının tesbiti, balın olgunlaşma derecesi, şeker muhtevası, kalitenin belirlenmesi, ve sınıflandırma yönünden önem taşımaktadır. Ballardaki rutubet oranının % 22-25'den fazla olması balın olgunlaşmadığının veya bala su katılmış olabileceğinin bir delili olarak gösterilmektedir (29). Gerek Avrupa'da, gerekse ülkemizde ballardaki rutubet miktarı en fazla % 21 ile sınırlandırılmıştır (1,3).

Bu çalışmada incelenen yerli ballardaki rutubet oranları en az % 11.37, en çok % 24.68, ortalama % 16.82; İran ballarındaki rutubet oranları ise en az % 14.61, en çok % 22.04 ve ortalama % 17.61 olarak bulunmuştur.

Ortalama değerler dikkate alındığında rutubet miktarı yönünden yerli ballar ile İran balları arasında çok fazla bir fark bulunmadığı görülmektedir.

Tablo 3 ve Tablo 4 incelendiğinde, yerli balların iki tanesinin, İran ballarından ise bir tanesinin rutubet miktarı yönünden standartlara uymadığı görülmektedir.

Ülkemizde yapılan araştırmalarda ballardaki rutubet miktarlarını, Akyüz ve ark. (30) en az % 15.15, en çok % 20.70 ve ortalama % 17.80, Aydoğan (31) en az % 13.00, en çok % 18.40 ve ortalama % 15.84. Tetik (15) % 13.52 - 21.68 arasında, Yılmaz (32) en az % 14.6, en çok % 19.4 ve ortalama % 16.0 olarak bildirmişlerdir.

Ülkemiz dışında yapılan çalışmalarda ortalama rutubet miktarlarını; Sporns ve ark. (33) Kanada ballarında % 16.5, Serra Bonhevi ve Coll (34) İspanya ballarında % 17.02, Hankin (35) Amerika ballarında % 16.0, Barbattini ve ark. (36) % 16.0, Stefanini (37) İtalya'daki çiçek ballarında % 17.29 oranında bulduklarını belirtmektedirler.

Görüldüğü gibi bulunan değerler, arada çok az farklılık olmasına rağmen yukarıdaki değerlerle benzerlik göstermektedir. Çok fazla olmamakla beraber ortaya çıkan farklılıkların nedenleri, balın elde edildiği kaynakların farklılığı, olgunlaşma düzeyleri ve depo edildikleri yerlerin rutubet oranı şeklinde sıralanabilir.

Yapılan çalışmada kuru madde miktarları yerli ballarda en az % 75.32, en çok % 88.63 ve ortalama % 83.17, İran ballarındaki kuru madde miktarı ise en az % 77.96, en çok % 85.39 ve ortalama % 82.38 olarak bulunmuştur. Bu değerlerden anlaşıldığı gibi yerli ballarımızdaki kuru madde oranı, İran ballarındaki kuru madde oranından biraz yüksek olmakla birlikte arada çok az bir farklılık vardır. Ülkemizde yapılan araştırmalarda ortalama kuru madde miktarlarını; Akyüz ve ark. (30) % 82.20, Kurt ve Yamankaradeniz (29) % 83.17, Aydoğan (31) % 84.15 olarak bulduklarını bildirmişlerdir. Elde edilen sonuçlar, bu değerlerle karşılaştırıldığında sonuçların benzer olduğu görülmektedir.

Ballardaki kül miktarı bitki kaynağına göre değişiklik göstermektedir. Salgı balları, çiçek ballarından daha fazla oranda kül ihtiva eder. GMT ve TS 3036 Bal Standardı'na göre, kül oranı çiçek ballarında en çok %

0.6, salgı ballarında ise en çok % 1.0 olmalıdır (3, 38). Yapılan çalışmada kül oranı; yerli ballarımızda en az % 0.01, en çok % 0.46 ve ortalama % 0.10, İran ballarında ise en az % 0.02, en çok % 0.25 ve ortalama % 0.08 oranında bulunmuştur. Bulunan bu değerler % 0.6 sınırının altında olup, tüm örnekler standarda uygundur.

Ortalama değerler dikkate alındığında yerli balları ile İran balları kül miktarı yönünden benzerlik göstermektedir. İncelenen örneklerdeki kül miktarlarının standart değerler dahilinde çok farklı olması, balların değişik botanik orijinli olmasından kaynaklanmış olabilir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda kül miktarlarını; Akyüz ve ark. (30) % 0.03-0.48 arasında ve ortalama % 0.18, Yılmaz (32) % 0.02-0.43 arasında ve ortalama % 0.11, Kurt ve Yamankaradeniz (29) % 0.06-0.38 arasında ve ortalama % 0.11 olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Ülkemiz dışında yapılan çalışmalarda ise kül miktarlarını; Sporns ve ark. (33), Kanada ballarında % 0.012-0.078 arasında ve ortalama % 0.039, Serra Bonhevi ve Coll (34) İspanya'daki ballarda % 0.06-0.39 arasında ve ortalama % 0.14, Hankin (35), Amerikan ballarında % 0.04-0.63 arasında ortalama % 0.23, Sancho ve ark. (39) Kuzey İspanya'daki ballarda % 0.05-0.50 değerleri arasında bulduklarını bildirmişlerdir.

pH değeri; incelenen yerli bal örneklerinde en az 3.28, en fazla 6.72 ve ortalama 4.29, İran ballarında ise en az 3.14, en fazla 4.46, ortalama 4.04 olarak bulunmuştur. Ortalama değerler dikkate alındığında yerli balların pH'sı, İran balların pH'sından biraz yüksek bulunmuştur. Gerek TS 3036 Bal Standardı'nda ve gerekse GMT'de ballarda pH ile ilgili bir hüküm yoktur. Ülkemizde yapılan çalışmalarda pH değerini; Akyüz ve ark. (30) 3.69-4.60 arasında ve ortalama 4.11, Yılmaz (32) 3.15 - 4.30 arasında ortalama 3.80, Kurt ve Yamankaradeniz (29) 4.06 - 4.67 arasında ve ortalama 4.32 olarak bulmuşlardır.

pH değerini; Barbattini ve ark. (36) İtalya ballarında 4.3 - 5.9 arasında ve ortalama 5.0, Serra Bonhevi ve Coll (34) İspanya ballarında 3.31 - 4.03 arasında ve ortalama 3.55 olarak bulmuşlardır.

Balların yüksek asiditede olması, bakterilerin yaşamasını engellemektedir. Ancak, baldaki yüksek şeker konsantrasyonuna dayanıklı mayaların fermentasyona sebep oldukları bilinmektedir (31). Ballarda asidite; pH, serbest asitlik, lakton ve toplam asitlik şeklinde değerlendirilir. Daha çok serbest asitlik kullanılmaktadır.

GMT'ne göre ballarda asidite 4'ü geçmemelidir. TS 3036 Bal Standardı'na göre ise asitlik 40 meq/kg'dan fazla olmamalıdır.

Asitlik Değeri; yerli ballarımızda en az 7.99 meq/kg, en çok 57.96 meq/kg ve ortalama 21,78 meq/kg, İran ballarında ise en az 7.60 meq/kg, en fazla 38.92 meq/kg ve ortalama 21.19 meq/kg olarak bulunmuştur. Bu değerler dikkate alındığında, yerli balların asitliğinin İran ballarından biraz yüksek olmasına rağmen arada çok fazla farkın olmadığı görülmektedir. Tablo 3 ve Tablo 4 incelendiğinde, yerli ballardan iki tanesinin TS 3036 Bal

Standardı'na uymadığı, İran ballarının ise tamamının bu standarda uygun olduğu görülmektedir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda asiditeyi; Akyüz ve ark. (30) 11.65-33.49 meq/kg arasında ve ortalama 24.61 meq/kg, Yılmaz (32) 10.2-50.0 meq/kg arasında ve ortalama 21.7 meq/kg olarak bulmuşlardır.

Balların asitlik değerini; Sporns ve ark. (33) Kanada ballarında 11.8-32.3 meq/kg arasında ve ortalama 20.9 meq/kg, Serra Bonhevi ve Coll (34) İtalya ballarında 25.00-61.70 meq/kg arasında ve ortalama 41.64 meq/kg olarak bulduklarını bildirmişlerdir.

Analiz edilen balların total azot miktarları, yerli ballarda en az % 0.01, en çok % 0.09 ve ortalama % 0.04, İran ballarında en az % 0.01, en fazla % 0.07 ve ortalama % 0.03 olarak bulunmuştur. Bu değerlerden de anlaşıldığı gibi, yerli ballarla İran balları karşılaştırıldığında total azot oranının birbirine çok yakın olduğu görülmektedir. Gerek GMT'de, gerekse TS 3036 Bal Standardı'nda ballarda bulunması gereken azot miktarı hakkında herhangi bir hüküm yoktur.

Yapılan çalışmalarda toplam azot miktarını; Akyüz ve ark. (30) % 0.06 - 0.11, arasında ve ortalama % 0.07, Echigo ve ark. (40) Japonya ballarında ortalama % 0.03, White ve Kushnir (41) ise % 0.03 - 0.13 arasında ve ortalama % 0.04 olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

İncelenen örneklerdeki protein çökelti hacmi; yerli ballarımızda en az 0, en çok 1.5 ml. ve ortalama 0.74 ml, İran ballarında en az 0.3, en fazla 1.1ml ve ortalama 0.65 ml olarak bulunmuştur. Yerli ballarla İran balları arasında, protein çökelti hacmi bakımından çok az bir fark olduğu görülmüştür. GMT'ne göre, ballarda çökelti hacmi 0.6 ml'den aşağı olamaz. Keskin (23), saf ballarda protein çökelti hacminin 1-4 ml arasında olduğunu, suni ballarda ise çok az veya hiç çökelti oluşmayacağını belirtmektedir.

Tablo 3 incelendiğinde yerli ballardan 5 tanesinin, Tablo 4 incelendiğinde de İran ballarının 5 tanesinin protein çökelti hacminin, GMT'de belirtilen değerin altında olduğu görülmektedir.

Protein çökelti hacmini; Aydoğan (31) 0.4 - 1.0 ml. arasında ve ortalama 0.63 ml., Kurt ve Yamankaradeniz (29) 0.4 - 1.4 ml arasında ve ortalama 0.8ml, Bozkurt ve Aydoğan (42) ise 0.5 - 0.7 ml. arasında ortalama 0.63 ml. olarak bulmuşlardır.

Glikoz ve fruktozun toplamı olarak ele alınan invert şeker; yerli ballarda en az % 37.26, en çok % 83.07 ve ortalama % 70.71, İran ballarında ise en az % 37.59, en çok % 77.49 ve ortalama % 65.10 olarak tespit edilmiştir. Ortalama değerler dikkate alındığında, İran ballarındaki invert şeker oranının yerli ballarımızdan yaklaşık % 5 daha düşük olduğu görülmektedir. GMT ve TS 3036 Bal Standardı'na göre invert şeker miktarı çiçek balında en az % 65, salgı balında ise en az % 60 olmalıdır.

Tablo 3 ve Tablo 4 incelendiğinde invert şeker miktarı bakımından yerli ballardan 3 tanesinin, İran ballarından da 4 tanesinin % 60'ın altında olduğu görülmektedir. Aynı örneklerden bir tanesi hariç

diğerlerinde sakkaroz oranlarının da yüksek olması, bala direkt olarak sakkaroz ilave edilmiş olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, balların uzun süre bekletilmesinin de invert şeker oranının düşmesine sebep olacağı bildirilmiştir (6).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda invert şeker oranını; Akyüz ve ark. (30) % 63.38-78.72 arasında ve ortalama % 74.77, Aydoğan (31) % 61.10-78.83 arasında ve ortalama % 71.41, Yılmaz (32) % 35.71-75.30 arasında ve ortalama % 68.01, Kurt ve Yamankaradeniz (29) ise % 62.38-73.68 arasında ve ortalama % 68.33 olarak bulmuşlardır.

Invert şeker oranını; Tilde ve ark. (43) Filipinler'de yaptıkları bir çalışmada, % 35.84-75.76 arasında ve ortalama % 59.66, Barbattini ve ark. (36) İtalyan ballarında % 45.6-64.8 arasında ve ortalama % 55.6 oranında bulmuşlardır.

Bal örneklerine uygulanan Fiehe Testi sonucunda yerli ballardan 3 tanesi, İran ballarından ise iki tanesi ticari invert şeker varlığı yönünden şüpheli olarak değerlendirilmiştir. Aynı şekilde yerli ballarımızın 4'ünde İran ballarının 6'sında ticari glikoz olduğu tespit edilmiştir. TS 3036 Bal Standardı'na göre, ballarda ticari glikoz bulunmamalıdır.

Akyüz ve arkadaşları (30), 20 örnekten 5 tanesini ticari invert şeker varlığı yönünden şüpheli olarak bulmuşlar ve bir örnekte de ticari glikoz olduğunu tespit etmişlerdir. Kurt ve Yamankaradeniz (29), inceledikleri 12 adet örnekten hiçbirisinde ticari invert şekere rastlamamışlardır.

Balın bileşimini teşkil eden nektarda ortalama % 20 civarında sakkaroz bulunmaktadır. Ancak, bal olgunlaştıkça sakkarozun büyük bir kısmı hidrolize olur. Böylece sakkaroz oranı azalır, fruktoz ve glikoz oranı artar (31).

Bu çalışmada, yerli ballardaki sakkaroz oranı en az % 0.00, en çok % 38.87 ve ortalama % 6.69, İran ballarındaki sakkaroz oranı en az % 1.23, en çok % 39.21 ve ortalama % 12.77 oranında bulunmuştur. Ortalama değerler dikkate alındığında sakkaroz oranı, İran ballarında yerli ballardan yaklaşık % 50 oranında daha yüksek bulunmuştur.

GMT ve TS 3036 Bal Standardı'na göre, sakkaroz oranı çiçek balında % 5, salgı balında ise % 10'dan fazla olmamalıdır.

İncelenen yerli bal örneklerinin 5 tanesi % 10'un üzerinde sakkaroz içermektedir. Özellikle 18,19 ve 20 nolu örneklerde sırasıyla % 38.87, % 23.2, % 15.5 oranlarında sakkaroz bulunması ve aynı örneklerin invert şeker oranlarının da düşük olması bu ballara sakkaroz katılmış olabileceğini göstermektedir.

İncelenen İran ballarının 8 tanesi % 10'un üzerinde sakkaroz içermektedir. Bu bal örneklerinden özellikle 5, 6, 12, 13 ve 20 nolu örneklerin sırasıyla % 21.90, % 39.21 % 24.40 % 32.67 ve % 27.82 oranında sakkaroz içermesi ve invert şeker oranlarının standardın altında olması bu ballara sakkaroz ilave edilmiş olabileceğini göstermektedir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda, Akyüz ve ark. (30) % 1.77 - 7.33 arasında ve ortalama % 3.56; Bozkurt ve Aydoğan (42) % 1.87 - 11.6 arasında ve ortalama % 5.6; Yılmaz (32) % 0.14 - 37.61 arasında ve ortalama % 3.48 oranında sakkaroz bulmuşlardır.

Serra Bonhevi ve Coll (34) İspanya ballarında % 0.0 - 1.29 arasında ve ortalama % 0.26; Barbattini ve ark. (36) İtalya ballarında % 0.03 - 0.35 arasında ve ortalama % 0.13 oranında sakkaroz bulduklarını bildirmişlerdir.

İncelenen bal örneklerinde toplam şeker miktarı; yerli ballarda en az % 39.40, en fazla % 83.97 ve ortalama % 77.40, İran ballarında en az % 60.29, en çok % 84.42 ortalama % 77.88 olarak bulunmuştur. Ortalama değerler dikkate alındığında yerli ballarla İran ballarının toplam şeker miktarlarının birbirine çok yakın olduğu görülmektedir.

TS 3036 Bal Standardı'nda ballarda bulunması gereken toplam şeker miktarı hakkında bir hüküm yoktur. Toplam şeker miktarını; Akyüz ve ark. (30) % 70.71 - 80.68 arasında ve ortalama % 76.33, Kurt ve Yamankaradeniz (29) % 71.44 - 76.42 arasında ve ortalama % 74.44 oranında bulduklarını bildirmişlerdir.

Diastaz aktivitesi, ballarda diastaz sayısı olarak değerlendirilir. GMT ve TS 3036 Bal Standardı'na göre, diastaz sayısı en az 8.0 olmalıdır. Diastaz sayılarının düşük olması, bu balların ısı işlemine maruz kaldığının bir delili olarak değerlendirilebileceği bildirilmiştir (31).

İncelenen yerli ballardaki diastaz sayıları en düşük 2.50, en yüksek 30.0 ve ortalama 13.50; İran ballarındaki diastaz sayıları en az 2.94, en çok 25.0, ortalama 11.08 olarak bulunmuştur. Ortalama değerler dikkate alındığında, İran ballarının diastaz sayılarının yerli ballardan biraz daha düşük olduğu görülmektedir.

Yerli ballardan 7 tanesinin, İran bal örneklerinden de 9 tanesinin diastaz sayıları 8'in altında olup bu bal örnekleri TS 3036 Bal Standardı'na uygun değildir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda diastaz sayılarını; Aydoğan (31) 2.00 - 25.0 arasında ve ortalama 7.79, Yılmaz (32) 1.5 - 26.1 arasında ve ortalama 13.5, Bozkurt ve Aydoğan (42) 4.40 - 20.0 arasında ve ortalama 10.59 olarak bulduklarını bildirmişlerdir.

Diastaz sayılarını; Barbattini ve ark. (36) İtalyan ballarında 14.2 -62.1 arasında ve ortalama 31.0, Aldcorn ve ark. (44) Batı Kanada ballarında 9.6 - 20.7 arasında ve ortalama 14.3, Tilde ve ark. (43) Filipin ballarında 3.3-15.50 arasında ve ortalama 8.2 olarak bulmuşlardır.

Balda hidroksimetilfurfural normal bileşen olmamakla birlikte yüksek sıcaklık ve uzun süre bekletme sonucunda meydana geldiği için bal kalitesi bakımından önemli bir kriterdir (31, 32).

GMT ve TS 3036 Bal Standardı'na göre, balların hidroksimetilfurfural değeri 40 mg/kg'dan fazla olmamalıdır (3, 38).

İncelenen yerli ballardaki hidroksimetilfurfural değerleri, 0.00 - 44.11 mg/kg arasında ve ortalama 12.81 mg/kg; İran ballarındaki hidroksimetilfurfural değerleri

ise, 0.00-74.40 mg/kg arasında ve ortalama 19.10 mg/kg olarak bulunmuştur. Ortalama değerler dikkate alındığında, İran ballarındaki hidroksimetilfurfural değerlerinin yerli ballardan yüksek olduğu görülmektedir. Yerli ballardan 2, İran ballarından 4 tanesinin standartta belirtilen 40 mg/kg'ın üzerinde olduğu görülmektedir. Bu durum, balların yüksek ısıya maruz kaldığını veya uzun süre bekletildiğini göstermektedir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda hidroksimetilfurfural miktarını; Akyüz ve ark. (30) 1.34 - 115.20 mg/kg arasında ve ortalama 25.87 mg/kg, Aydoğan (31) 0.00 - 93.11 mg/kg arasında ve ortalama 21.49 mg/kg, Yılmaz (32) 0.00 - 46.8 mg/kg arasında ve ortalama 4.70 mg/kg olarak bulmuşlardır.

Barbattini ve ark. (36) İtalya ballarında 0.0 - 7.6 mg/kg arasında ve ortalama 2.2 mg/kg, Thrasvoulou (45) Yunanistan'daki çiçek ballarında 0.0 - 15.2 mg/kg arasında ve ortalama 4.6 mg/kg, Tilde ve ark. (43) Filipin'deki ballarında 3.3- 13.50 mg/kg arasında ve ortalama 8.2 mg/kg hidroksimetilfurfural bulmuşlardır.

Duyusal Analizler sonucunda, White (28)'in değerlendirme skalasına göre yerli balların % 30'unun seçme, % 45'inin standart, % 25'inin ise standart dışı olduğu, İran ballarının ise % 30'unun seçme, % 50'sinin standart, % 20'sinin ise standart dışı olduğu belirlenmiştir. Bu yönden, yerli ballarla İran balları arasında önemli bir fark olmadığı anlaşılmıştır.

Sonuç olarak; yapılan genel bir değerlendirme ile Van İl Merkezinde satışa sunulan yerli bal örneklerinin % 10'unun rutubet oranı, % 10'unun asitlik, % 35'inin diastaz sayısı, % 10'unun hidroksimetilfurfural içeriği, % 15'inin ticari invert şeker varlığı ve % 20'sinin ticari glikoz varlığı, çiçek balları dikkate alındığında % 15'inin invert şeker, % 30'unun sakkaroz miktarı; salgı balları dikkate alındığında % 15'inin invert şeker, % 25'inin sakkaroz miktarı yönünden TS 3036 Bal Standardı'na uygun olmadığı belirlenmiştir.

Van İl Merkezinde satışa sunulan İran ballarının % 5'inin rutubet oranı, % 45'inin diastaz sayısı, % 20'sinin hidroksimetilfurfural içeriği, % 10'unun ticari invert şeker varlığı, % 30'unun ticari glikoz varlığı, çiçek balları dikkate alındığında % 25'inin invert şeker, % 80'inin sakkaroz miktarı; salgı balları dikkate alındığında % 25'inin invert şeker, % 40'unun sakkaroz miktarı yönünden TS 3036 Bal Standardı'na uygun olmadığı belirlenmiştir.

## Kaynaklar

1. Anon: Codex Alimentarius Commission Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Recommended European-Regional Standard for honey (1969).
2. Siddiqui IR: The Sugars of honey, adv carbohydr, Chem Biochem 25: 285-309 (1970).
3. Türk Standartları Enstitüsü: Bal Standardı, TS 3036, Ankara (1990).
4. Balcı F: Arıcılık, Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı, İkinci Baskı, Ankara (1988).
5. Crane E: Honey, A Comprehensive Survey, International Bee Research Association, Chalfont st Peter, Buckinghamshire, England (1979).

6. Şengonca M, Temiz İ: İzmir ve Çevresinde Üretilen Bazı Balların Yapı Özellikleri Üzerinde Bir Araştırma, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ofset Ünitesi, Bornova-İzmir (1981).
7. Öder E: Balın biyolojik orjini, Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi 7 (3): 167-178 (1976).
8. Thawley AR: Bal içerisindeki maddeler ve bunların balın özelliklerine etkileri, Çeviren: Enver Öder, Gıda 6 (5): 31-38 (1981).
9. Aytaç MN: Denenmiş Teknik Arıcılık, Kardeş Matbaası, Ankara (1964).
10. Baysal A: Genel Beslenme, Hacettepe Üniversitesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Hatipoğlu Yayınları, Ankara (1993).
11. Akbay R: Arı ve İpekböceği Yetiştirme, AÜ Ziraat Fak. Zootehni Bölümü, Ziraat Fakültesi Yayınları: 956, Ders kitabı: 276, Ankara (1986).
12. Doner LW: The Sugars of honey, a review, J Sci Fd Agric 28: 443-450 (1977).
13. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı: Arıcılık, Ankara (1987).
14. Şenocak C: Kolay Arıcılık, Güzel Sanatlar Matbaası, Ankara (1963).
15. Tetik İ: Yerli, Tabii, Süzme Ballarımızın Besleyici Değeri ve Gıda Tüzüğü Yönünden Kimyasal Bileşimleri Üzerinde Araştırmalar, Yargıçoğlu Matbaası, Ankara (1968).
16. Sorkun K: Arı ürünleri, Bilim ve Teknik 20: 237 (1987).
17. Akay MT: Doğanın harika maddesi : Bal, Bilim ve Teknik 17: 198 (1984).
18. Kayral N: Yeni Teknik Arıcılık, 6. Baskı, İnkılap Kitabevi, İstanbul (1993).
19. Anon: Teknik Arıcılık, Mart 22, Önder Matbaası, Ankara (1989).
20. Anon: Arıcılık yeniden yapılanmalı, Agro-Tech, Uluslararası Tarım ve Hayvancılık Haber Araştırma Dergisi 2: 31-33 (1995).
21. Hışıl Y, Börekçiöğlü N: Balın bileşimi ve bala yapılan hileler, Gıda 11 (2): 79-82 (1986).
22. Sönmez R: Arıcılık, Ege Üniveritesi, Ziraat Fakültesi, Ofset Basımevi, Bornova-İzmir (1984).
23. Keskin H: Besin Kimyası, 4. Baskı, Cilt: II, 101-117, Fatih Yayınevi ve Matbaası, İstanbul (1982).
24. Tarım Orman Köyişleri Bakanlığı: Gıda Maddeleri Muayene ve Analiz Yöntemleri, Gıda İşleri Genel Müdürlüğü, Genel Yayın No: 65, Özel yayın No: 62-105, Ankara (1983).
25. İnal T: Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü, Final Ofset, İstanbul (1992).
26. Sidney W: Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 14 th Ed Arlington, Virginia 22209 USA, p 588-599 (1984).
27. Menemenciöğlü M: Ballarda diastaz aktivitesi (sayısı) hesaplanması, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi 1 (1): 75-77 (1978).
28. White JW: Honey, pp 491-526, From the Hive and the Honey Bee Ed RA Grout (Hamilton, III: Dadant and Sons) (1975).
29. Kurt A, Yamankaradeniz R: Erzurum ili merkezinde tüketilen süzme ballar üzerinde bir araştırma, Gıda 7 (3): 115-120 (1982).
30. Akyüz N, Bakırcı İ, Ayar A, Tunçtürk Y: Van piyasasında satışa sunulan balların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri ve bunların ilgili standartlarda uygunluğu üzerine bir araştırma, Gıda 20 (5): 321-326 (1995).
31. Aydoğan A: Yerli Ballarımızın Kimyasal Yapıları Üzerinde Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara (1990).
32. Yılmaz H: Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi Ballarının Kimyasal Bileşimlerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Erzurum (1994).
33. Sporns P, Plhak L, Friedrich J: Alberta honey composition, Food Research International 25: 93-100 (1992).
34. Serra Bonhevi J, Call FV: Physico-chemical properties composition and pollen spectrum of French lavender (Lavandula Stoechas L.) honey produced in Spain, Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung 6 (196): 511-517 (1993).
35. Hankin L: Analysis of Honey, The Connecticut Agricultural Experiment Station, New Haven. Bulletin 847, March (1987).
36. Barbattini R, Greatti M, Iob M, Sabatini AN, Marazzan GL, Colombo R: Osservazioni Su Metcalfa Pruinosa (say) E indagine sulle caratteristiche del miele derivato dalla sua melata, Apicoltura 7: 113-135 (1991).
37. Stefanini R: Variability and cluster analysis of Italian honeys, Apiacta 19 (4): 109-114 (1984).

38.Ercoskun A: Çevre Sağlığı ve Gıda Maddeleri Mevzuatı, Fon Matbaası, Ankara (1987).

39.Sancho MT, Muniategui S, Sanchez MP, Huidobro JE, Simal J: Relationships between electrical conductivity and total and sulphated ash contents in basque honeys, Apidologie 22: 487-494 (1991)

40.Echigo T, Taknaka T, Yatsunami K: Comparative Studies on Chemical Composition of Honey, Royal Jelly and Polen Loads, Laboratory of Food Chemistry and Technology, Faculty of Agriculture, Tamagawa University, Macdiha-Shi, Tokyo 194, Japan (1986).

41.White JJR, Kushnir I: Composition of honey, VII. Proteins, J Apicultural Research 6 (3): 163-178 (1967).

42.Bozkurt M, Aydoğan A: Research on the chemical composition of honeys from different regions of Turkey, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 43 (1): 1-22 (1986).

43.Tilde AC, Payawal PC: Commercial Honey in The Philippines II.Physical And Chemical Properties, The Philippine Agriculturist 75 (1-2): 89-91 (1992).

44.Aldcorn DL, Wandler E, Sporns P: Diastase (alpha and beta amylase) and alpha glucosidase (sucrase) activity in western Canadian honeys, Canadian Institute of Food Science And Technology Journal 18 (3): 268-270 (1985).

45.Thrasylvoulou AT: The use of HMF and diastase as criteria of quality of greek honey, Journal of Apic Res 3 (25): 186-195 (1986).

Tablo 3. Yeri Balların Kimyasal Bileşimi

Örnek No	Kuru Madde %	Rutubet %	Kıtlı Mik. %	pH	Total Asitlik meq/kg	Protein Çökelti Hacmi ml.	Invert Şeker %	Sakkaroz %	Toplam Şeker %	Azot Mik. %	Diastaz Sayısı	HMF mg/kg	Ticari Invert Şeker	Ticari Glukoz	Dekst.
1 Süzme	87,84	12,16	0,01	4,56	15,58	0,6	76,53	2,40	78,93	0,05	23,07	2,80	-	-	-
2 Süzme	85,01	14,99	0,03	4,41	17,98	0,7	80,68	0,46	81,14	0,09	7,89	17,29	-	-	-
3 Süzme	83,09	16,91	0,02	4,60	13,99	0,8	73,38	3,27	76,65	0,06	8,57	18,55	-	-	-
4 Süzme	82,43	17,57	0,09	4,43	13,10	0,9	80,68	0,00	80,68	0,03	37,5	42,54	-	-	-
5 Süzme	79,65	20,35	0,23	6,72	7,99	0,1	37,26	2,14	39,40	0,01	4,61	42,54	-	-	-
6 Süzme	80,87	19,13	0,10	4,49	16,78	0,7	76,38	0,95	77,33	0,06	6,97	21,34	-	-	-
7 Süzme	83,14	16,86	0,04	3,40	43,97	0	66,48	13,45	79,93	0,04	4,47	44,11	-	-	-
8 Süzme	81,73	18,27	0,12	4,10	36,37	0,2	65,48	13,55	79,03	0,02	5,17	37,57	-	-	-
9 Süzme	75,32	24,68	0,17	4,20	57,96	0,9	71,99	2,25	74,24	0,04	9,37	15,71	-	-	-
10 Süzme	84,10	15,90	0,03	3,28	24,98	0,7	75,04	3,96	79,00	0,04	8,33	18,71	-	-	-
11 Petek	84,12	15,88	0,11	4,60	16,14	0,8	76,81	5,71	82,52	0,04	13,04	4,02	-	-	-
12 Petek	88,63	11,37	0,07	4,42	11,39	0,9	81,58	2,39	83,97	0,05	15,78	5,23	-	-	-
13 Petek	84,99	15,01	0,14	4,50	22,78	1,5	83,07	0,00	83,07	0,07	30,0	0,00	-	-	-
14 Petek	83,48	16,52	0,12	4,58	12,34	0,8	74,61	3,59	78,20	0,04	21,42	2,24	-	-	-
15 Petek	82,76	17,24	0,07	3,94	17,08	1,1	79,37	0,93	80,30	0,04	18,75	5,98	-	-	-
16 Petek	78,87	21,13	0,46	4,27	24,68	1,3	73,09	0,24	73,33	0,05	13,63	3,74	-	-	-
17 Petek	84,53	15,47	0,08	3,87	30,37	1,2	81,88	0,99	82,87	0,05	27,27	0,00	-	-	-
18 Petek	83,20	16,80	0,03	3,66	18,98	0,4	40,87	38,87	79,74	0,01	2,50	0,00	-	-	-
19 Petek	85,51	14,49	0,07	4,26	11,50	0,5	54,79	23,2	77,99	0,03	2,94	2,99	-	-	-
20 Petek	84,14	15,86	0,09	3,68	21,83	0,7	64,35	15,5	79,85	0,04	8,82	13,47	-	-	-
Minimum	75,32	11,37	0,01	3,28	7,99	0	37,26	0,00	39,40	0,01	2,50	0,00	-	-	-
Maximum	88,63	24,68	0,46	6,72	57,96	1,5	83,07	38,87	83,97	0,09	30,0	44,11	-	-	-
X	83,17	16,82	0,10	4,29	21,78	0,74	70,71	6,69	77,40	0,04	13,50	12,81	-	-	-
S $\bar{x}$	2,98	2,98	0,09	0,70	12,30	0,38	12,91	9,87	9,35	0,01	9,87	14,27	-	-	-

Tablo 4.: İnan Ballarının Kimyasal Bileşimi

Örnek No	Kuru Madde %	Rutubet %	Kalı Milk. %	pH	Total Asitlik meq/kg	Protein İçeriği %	Invert Şeker %	Sakkaroz %	Toplam Şeker %	Azot Milk. %	Diastaz Sayısı G	HMF mg/kg	Ticari Invert Şeker	Ticari Glukoz	Dekst.
1 Süzme	82.89	17.11	0.06	3.86	35.97	0.3	74.15	7.97	82.12	0.02	3.75	66.91	+	+	-
2 Süzme	82.76	17.24	0.05	3.63	18.96	0.4	70.42	11.22	81.64	0.02	14.28	12.57	-	-	-
3 Süzme	82.88	17.12	0.02	4.18	15.65	0.8	66.72	6.79	73.31	0.03	6.66	19.16	-	-	-
4 Süzme	80.48	19.52	0.14	4.29	19.94	0.6	77.49	1.23	78.72	0.06	5.76	47.10	-	-	-
5 Süzme	81.26	18.74	0.03	4.15	15.66	1.1	38.39	21.90	60.29	0.01	8.82	15.94	-	-	-
6 Süzme	81.42	18.58	0.06	4.22	15.18	0.5	37.59	39.21	76.80	0.02	2.94	74.40	+	+	-
7 Petek	82.62	17.38	0.80	4.14	19.93	1.0	71.23	7.83	79.06	0.03	21.42	2.06	-	-	-
8 Petek	82.51	17.49	0.09	4.30	14.23	0.8	69.70	7.93	77.63	0.07	25.00	0.00	-	-	-
9 Petek	83.31	16.69	0.07	3.93	15.19	0.7	76.68	5.00	81.98	0.02	7.50	10.47	-	-	-
10 Petek	84.26	15.74	0.06	4.08	8.65	0.6	74.38	6.57	80.65	0.02	20.0	2.24	-	+	-
11 Petek	83.91	16.09	0.05	4.19	7.60	0.6	67.89	11.47	79.36	0.03	17.64	2.99	-	+	-
12 Petek	84.11	15.89	0.04	3.93	36.65	0.6	58.48	24.40	82.88	0.02	16.62	1.49	-	+	-
13 Petek	83.57	16.43	0.06	4.05	29.52	0.6	46.29	32.67	78.96	0.05	18.75	4.49	-	+	-
14 Petek	83.26	16.74	0.05	4.16	38.92	0.3	65.80	1.85	67.65	0.02	12.50	8.98	-	-	-
15 Petek	79.92	20.08	0.08	3.58	15.18	0.7	69.12	10.09	79.21	0.05	6.97	17.21	-	-	-
16 Petek	81.20	18.80	0.25	3.14	26.58	0.4	71.93	8.70	80.63	0.03	4.91	52.76	-	-	-
17 Petek	81.11	18.89	0.16	4.46	16.13	0.8	73.19	4.99	78.38	0.06	8.10	11.90	-	-	-
18 Petek	82.95	17.05	0.04	4.21	29.43	0.6	70.46	9.97	80.43	0.02	6.97	9.74	-	-	-
19 Petek	85.39	14.61	0.17	4.34	23.73	0.9	76.53	7.89	84.42	0.04	9.37	14.22	-	-	-
20 Petek	77.96	22.04	0.11	4.10	20.88	0.8	45.73	27.82	73.55	0.06	3.65	7.48	-	-	-
Minimum	77.96	22.04	0.02	3.14	7.60	0.3	37.59	1.23	60.29	0.01	2.94	0.00	-	-	-
Maximum	85.39	14.61	0.25	4.46	38.92	1.1	77.49	39.21	84.42	0.07	25.0	74.40	-	-	-
X	82.38	17.61	0.08	4.04	21.19	0.65	65.10	12.77	77.88	0.03	11.08	19.10	-	-	-
SX	1.72	1.72	0.05	0.30	8.99	0.21	12.74	10.55	5.62	0.01	6.68	22.37	-	-	-

# Farmakoloji ve Toksikolojide Bilgisayar Kullanılması

Hanefi ÖZBEK<sup>1</sup>

## Özet

*Bu makalede, farmakoloji, toksikoloji ve diğer sağlıkla ilgili bilim dallarında bilgisayar kullanımı araştırılmıştır. Ayrıca "zehirlenmelerin teşhis ve tedavisi" konusunda tarafımızdan Turbo Pascal 7.0 With Object'le yapılan bilgisayar paket programı tanıtılmıştır.*

**Anahtar kelimeler:** Bilgisayar, Farmakoloji, Toksikoloji.

## Summary

### *The Use of Computers in the Pharmacology and Toxicology*

*In this article, the use of computers in the fields of pharmacology, toxicology and other medical sciences were investigated. In addition, a new packet program produced by using Turbo Pascal 7.0 with object was presented.*

**Key Words:** Computer, Pharmacology, Toxicology.

## Giriş

İnsan yaşamında iletişimin, bilgi akışının, enformasyonun çok önemli bir yer tutmaya başladığı bir dünyada yaşamaktayız. Bilim bu hızlı akışa erişmek için durmadan gelişiyor ve genişliyor. Eğitimi bitmeyen ve hiç bitmeyecek bir bilim alanında çalışmakta olan bizler her yeniliği, her gelişmeyi nasıl öğrenip en çabuk bir şekilde kendimizi buna uyduracak ve bize başvuran hastaya nasıl bu yeni bilgileri uygulayacağız? Tüm bunlar, bilgisayar dediğimiz bu küçük aletin gelişmesiyle olanaklı hale gelmiştir (1).

Bilgisayar, giriş verilerinin türlü yalın ya da karmaşık işlemlerden sonra kullanıcının gereksindiği biçimde çıkış bilgisi olarak sağlandığı bir makinedir (2).

Başka bir tarifile bilgisayar, önceden ve özel olarak kodlanmış çeşitli bilgileri, çok hızlı olarak erişilebilecek şekilde içinde barındırabilen; bizim uzun bir süre içinde ve çeşitli zamanlarda yüklediğimiz bilgileri, hiç birini kaybetmeden ya da unutmadan, her istediğimiz anda ve çok kısa sürede bize geri verebilen ya da anımsatan, aslında sanıldığı gibi pek de akıllı olmayan bir alettir. Yapay zeka konusundaki son gelişmeleri bir yana koyduğumuzda, bu aletin fonksiyonu açısından belki de en basit tanımı budur ve bu aleti kullanmak için hiç de öyle özel bir bilgi ya da eğitim gerekli değildir (1).

Bilgisayarın en önemli nitelikleri:

- Programlanabilmesi
- İşlem yapabilmesi
- Belleğinin bulunması

d) Çok hızlı ve güvenilir olmasıdır.

Bilgisayarın mekanik kesimine "donanım" adı verilir. Ana parçaları:

- Giriş birimi
- Bellek birimi
- İşlem birimi
- Çıkış birimidir.

Program, akış şeması ve işletim yönergesi gibi mekanik özelliği olmayan ancak makinaya yapılacak işleri tanımlayan kesimine ise "yazılım" denir (2).

### **Tıp, Diş Hekimliği, Veteriner Hekimliği, Eczacılık ve İlaç Endüstrisinde Bilgisayar Kullanımı**

Kullanıma girdiği ilk günden beri, özellikle 1960'lı yıllardan sonra tıpta bilgisayar kullanımı konusunda çalışmalar başlamıştır. Günümüzde bu amaçla, ekspert sistemler ve/veya paket programlar aracılığıyla genel amaçlı bilgisayarlar çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Tıpta bilgisayar uygulamaları enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyoloji ile ilgili olarak başlamıştır. Bugün de bu konularda diğer tıp dallarından daha çok kullanım alanı bulmaktadır.

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Ünitesinde, bilgisayar programcıları tarafından ismarlama hazırlanan veya hazır paket program olarak elde edilen programlar yerine, bölümün ihtiyaçlarına uygun programların bölümün bireyleri tarafından hazırlanmasının daha yararlı olduğu ilkesi benimsenmiştir. Bu amaçla enfeksiyon hastalıkları

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, VAN



ekibince hazırlanarak, kullanıma giren programlar aşağıda sıralanmıştır:

- 1) Hastane enfeksiyon kontrol programı
- 2) Antibiyotik uyarı sistemi
- 3) Enfeksiyon hastalıkları hasta izlem ve veri değerlendirme programı
- 4) Nötropenik hastaya yaklaşım ve veri değerlendirme programı
- 5) Bakteriemi hasta veri değerlendirme programı
- 6) Pnömoni ayırıcı tanı programı
- 7) Gastroenterit ayırıcı tanı programı
- 8) Antibiyotik duyarlılık testleri ve veri değerlendirme programı
- 9) Enterik bakteriler, koagülaz negatif stafilokoklar, viridan streptokokların tanımlanmasına yönelik programlar.

Enfeksiyon hastalıklarıyla ilgili bu tür programların kullanımı özellikle eğitim, veri değerlendirme, bilgi alışverişi ve hastaya yaklaşımın standardizasyonunda önemli yararlar sağlamaktadır (3).

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Kültür ve Spor Dairesi'nde de hastaların takibi amacıyla 1995 yılından itibaren Özbek tarafından yapılan "Hasta Takip Programı" ile bilgisayara geçilmiştir. Ayrıca yine Özbek tarafından yapılan öncekinden farklı bir "Hasta Takip Programı", halen Ege Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalında kullanılmaktadır (4).

Günümüzde bilgisayar, istatistik analiz uygulamaları için temel bir gereksinim haline almıştır. Tıp alanında kullanılan istatistik uygulamaları kendine özgü nitelikler taşır. Bu nedenle, biyoistatistik ya da biyometri adı ile anılan ayrı bir bilim dalı gelişmektedir. Bilgisayar bu alanlarda da yoğun bir şekilde kullanıma girmiştir (5).

Stuttgart'taki Fraunhofer Üretim Tekniği ve Otomasyon Enstitüsü, insan bedeninin anatomik bir modelini geliştirmiştir. "Digihom" adı verilen bu dijital insan, derisi, kemikleri, damarları ve organları ile büyük bir bilgisayara aktarılmıştır. Bilgisayarlı tomografi ile elde edilmiş tabaka resimlerinden bilim adamları CAD (Computer-Aided Design, Bilgisayar Yardımıyla Çizim) modelleri üreterek, bir insan veritabanı konstrüksiyonu yapıp insanlığın hizmetine sunacaktır. Böylece insan vücudunun fizyolojisinin incelenmesinden tutun da bir cerrahın eğitilmesine kadar birçok şey sanal gerçeklik ile yapılabilir hale gelecektir. "Digihom"un beş yıl içinde hizmete gireceği sanılmaktadır (6).

Diş hekimleri için hazırlanan "Dr. Organizer Diş" paket programı; tedavi planı, fatura, hastanın ilk gelişteki ağız durumu, hastayı otomatik kontrole çağırma, süt dişleri, ödeme planı, vs. gibi bölümler içermektedir (7).

Serbest eczacılık ve hastane eczacılığında bilgisayar kullanımı ise "yönetsel uygulamalar" ve "klinik uygulamalar" şeklindedir. Yönetsel uygulamalar; 1) Genel muhasebe (faturalama, stok kontrol, senet izlenmesi, vs.) 2) Yönetim muhasebesi (finansal analizler, vs.) 3) Satın alma

- 4) Talep analizi
- 5) Personel yönetimi
- 6) İşyükü dağılımı analizi
- 7) İlaç utilizasyonuna (ilaç kullanımının önceden belirlenmiş standartlarla karşılaştırılarak analizi ve yorumlanması) ilişkin bilgiler ve özet raporlar hazırlanmasıdır (2).  
Klinik uygulamalar ise;
  - 1) İlaç bilgi danışma ve zehirlenme kontrol hizmetleri (8).
  - 2) İlaç etkileşmelerinin taranması: Sayıları binlerle ifade edilen bu etkileşmelerin taranmasında bilgisayar kullanımı, sonucun hızlı ve doğru biçimde alınmasını sağlamaktadır (9).
  - 3) İlaçların istenmeyen etkilerinin izlenmesi
  - 4) Yatan hastalara ilaç sağlanmasında kullanılan ilaç dağıtım sistemleri; İlaçların serviste depolanması, eczanelerden serviste yatan her hastaya ilaç gönderilmesi, ayrıca narkotik ilaçların denetimi gibi konular bu gruba girmektedir (10).
  - 5) Geniş hacimli i.v. sıvılara katkılar (11).
  - 6) Farmakokinetik uygulamalar:
    - i) Kinetik model kurulması
    - ii) İlaç doz rejiminin ilacın emilim, dağılım, plazma düzeyi, metabolizma ve atılma özelliklerine göre düzenlenmesi
    - iii) Hastanın böbrek ve karaciğer fonksiyonlarının izlenmesi ve ilaç dozunun buna göre ayarlanması (12).
  - 7) Eczane ve tedavi kurulu.  
İlaç endüstrisinde bilgisayar kullanımı şu alanlarda olmaktadır:
    - 1) Yönetsel uygulamalar
    - 2) İlaç geliştirilmesi
    - 3) Klinik ilaç araştırmaları
    - 4) Üretim ve kalite kontrol (2).Bilgisayarın bir sağlık kuruluşu ya da daha genel olarak tıp alanında hangi konularda kullanılabileceği aşağıdaki şekilde sistematize edilebilir:
    - 1) Sağlık kurumlarının yönetiminde bilgisayar kullanımı
    - 2) Hasta kaydı ve izlenmesinde bilgisayar kullanımı
    - 3) Tıpta bilimsel ve akademik amaçlı bilgisayar kullanımı (1).

#### Tıpta Bilimsel ve Akademik Amaçlı Bilgisayar Kullanımı

Buna ilişkin konular sırasıyla şunlardır:

- 1) Tanıda bilgisayar kullanımı (expert systems)
- 2) Tedavide bilgisayar kullanımı (assistant systems)
- 3) Bilimsel araştırmalarda bilgisayar kullanımı
- 4) Tıbbi bilgi bankası oluşturulması
- 5) Mesleki bilimsel iletişimde bilgisayar kullanımı
- 6) Tıpta görüntü işleyen ve oluşturan aletlerle birlikte bilgisayar kullanımı
- 7) Tıp eğitiminde bilgisayar kullanımı (1).

#### Zehirlenmelerin Teşhis ve Tedavisinde Bilgisayar Kullanılması

Hayatta her an zehirlenmelerle karşı karşıya kalabilmekteyiz. Hava kirliliğinden çeşitli tarım ürünlerine, içme suyundan tüpgaza, hatta kullandığımız ilaçlara kadar her şey, bir zehirlenme potansiyelini de beraberinde taşımaktadır. Zehirlenmelerin bir an önce teşhisi ve tedavisi, hastanın prognozunu çok önemli ölçüde etkilemekte, doğru teşhis, doğru ve zamanında tedavi hayati önem taşımaktadır. Zehirlenmelere bir göz atıldığında yüzlerle hatta binlerle ifade edilebilecek sayıda farklı zehirlenme nedeni ile karşılaşmaktadırlar. Bunlar incelendiğinde, 600'den fazla bulgu görülmektedir. Tedavileri , antidotları da hesap edildiğinde bir zehirlenmenin teşhisi ve tedavisinin ne kadar ayrıntılı bir uzmanlık işi olduğu ortaya çıkacaktır. Küçük bir atlama, hastanın ölümüne veya sakat kalmasına sebep olabilecektir. Bu amaçla İlaç Bilgi Danışma Merkezleri (İBDM) ve Zehir Kontrol Merkezleri (ZKM) kurulmuştur. Hastalarda karşılaşılan problemlerin ve bilginin kazanılması ve yayılmasında izlenen yöntemin aynı olması, bu iki servisin bazı kurumlarda tek bir programda birleştirilmesine neden olmuştur. Çocuk ölümlerinde trafik kazalarından sonra ikinci sırayı zehirlenmelerin alması bu merkezlerin önemini artırmaktadır (8).

Bugün eczacılık pratiğinin ilaç danışma alanındaki durumunu tayin eden, dolayısıyla bu geleneksel kalıbı değiştiren iki önemli değişiklik vardır:

1. İlaç sayısında çok büyük artışlar olmuştur ve yeni ilaçlar genellikle daha potent ve selektiftir, ilaç preparatları daha komplikedir.
2. İlaçlarla ilgili literatür şartıcı boyutlarda artmış durumdadır. Her yıl yayınlanan biyomedikal literatürün 100.000'in üzerinde olduğu bildirilmektedir.

İlaçların güvenli ve etkin bir şekilde kullanılmaları için tüm bu bilgilerin çok iyi değerlendirilmesi gerekir. Oysa bu iş, yukarıda sözü edilen nedenlerle gerek ilacı tavsiye eden hekim, gerekse geleneksel görevi ilaç bilgisi sağlamak olan eczacı için kaldırılması güç, hatta olanaksız bir yük teşkil edecek boyutlara ulaşmıştır. Artık ilaçla ilgili soruları cevaplayabilmek, sorunları çözebilmek için farmakopelere veya formüllerle başvurmak yeterli olmamaktadır (13).

Bu kurumlarda ve hastanelerde, tanı ve tedavi yönünden hekime yardımcı olabilecek, en azından onun zamandan maksimum faydalanmasını sağlayacak bilgisayar programlarının gerekliliği de kendiliğinden ortaya çıkmaktadır. Bu ve başka amaçlarla birçok bilgisayar programı geliştirilmiş ve hizmete sunulmuştur. Bunlardan bazıları:

**Medline:** 1971'de Ulusal Tıp Kütüphanesi (National Library of Medicine) tarafından hazırlanan ve devam ettirilen bir sistemdir. Dünyada yayınlanan 3.000 civarında biyomedikal dergiyi tarayarak hazırlanmış, 2.6 milyonu aşkın citation referansını içerir.

**Toxline:** Ulusal Tıp Kütüphanesinin diğer bir kompüterize data bazlı sistemidir. İnsan ve hayvan

toksiste çalışmalarına ilgili 645.000'den çok referansı içerir.

**Chemline:** 240.000'in üzerinde çeşitli kimyasal maddelerin patent numaraları, molekül ağırlıkları, nomenklatürleri, jenerik isimleri, halka yapıları ve sayıları, halka büyüklüğü, halka elemanlarının analizleri ve formülleri gibi konularda bilgi içerir.

**Cancerline:** International Cancer Research Data Bank Program ile National Library of Medicine'nin işbirliği ile hazırlanmıştır. Çeşitli bilimsel ve biyolojik kaynaklardan taranmış kanserle ilgili 90.000'in üzerinde citation'u içerir.

**MYCIN System:** Stanford Üniversitesi tarafından geliştirilmiş bir programdır. Antibiyotik tedavisiyle ilgili bilgileri içerir.

**Ring Doc System:** İlaçlar ve kimyasalların araştırılmasında, aralarında kimyasal yapı ve biyolojik aktivite ilişkilerini değerlendirme çalışmalarında yararlıdır.

**DeHaen Service:** İlaçların klinik farmakolojisi, terapötik kullanımları ve faydaları, toksikoloji konusunda bilgi verir. Ayrıca istenmeyen ilaç reaksiyonları hakkında ve araştırılmakta olan ilaçlar konusunda da bilgi sağlar.

**PROPHET System:** National Institutes of Health Division of Research bölümü tarafından yönetilen ve ilaç etki mekanizmaları ile diğer kimyasal / biyolojik ilişkilerle ilgili bilgileri içeren bir bilgisayar programıdır.

**Viewdata System:** Londra'da Guy's Hospital'deki National Poisons Information Service tarafından hazırlanmıştır. Bilgisayar bazlı ilaç enformasyon erişim sistemidir.

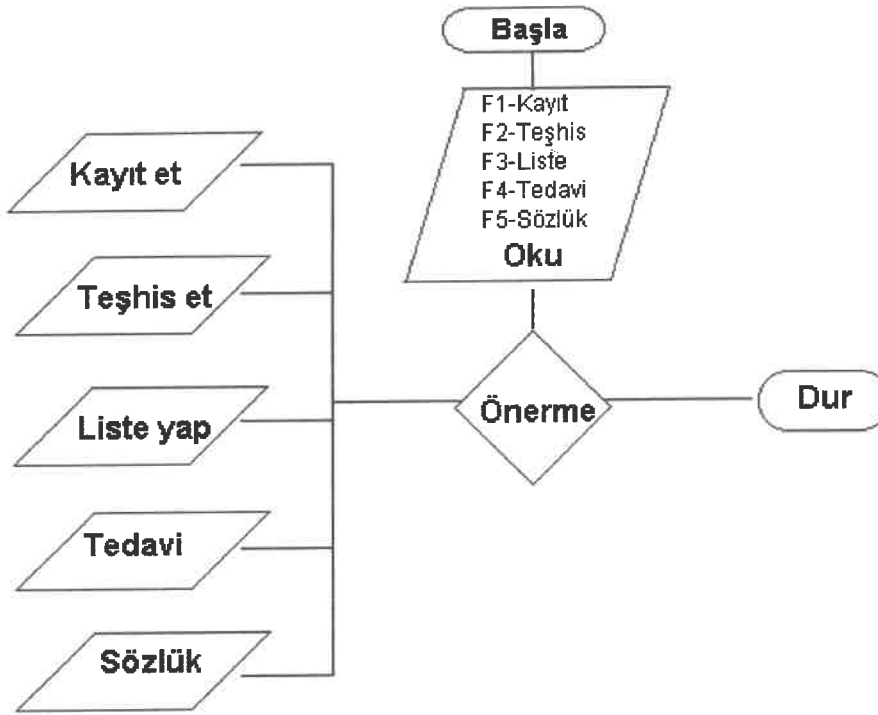
**Poisindex:** Detaylı toksikoloji bilgisi içeren bir programdır. 30.000'in üzerinde ticari, endüstriyel, farmasötik ve botanik maddelerin bileşimi konusunda bilgi sağlar.

**Drugindex:** Farmakoloji ve Tedavi konusunda yenilenmiş referansları veren ilaç bilgisi sistemidir. Bu sistem 3.700'ün üzerinde incelenmiş ve yabancı, FDA tarafından onaylanmış ve reçetesiz satılan (OTC) preparatlara ait bilgileri içerir.

**Identindex:** Yegane tablet ve kapsül tanımlama sistemi olup tabletler üzerine basılı kodlar tablet / kapsül renkleri ve fiziksel görünümüne göre tanımlama etkili ve kolay hale getirmektedir (8). Acil servisler ve anesteziyoloji birimleri zehirlenme olgularının teşhis ve tedavisinin yapıldığı yerlerdir. Bu birimlerde bilgisayara geçilip, teşhis ve tedavide bilgisayardan yararlanılabilir. Ayrıca tüm zehirlenme olguları ile ilgili geriye dönük araştırmalar ve istatistiksel bilgiler de kolayca yapılabilir.

### Zehirlenmelerde Teşhis ve Tedavi Programı

Acil servis veya anesteziyoloji birimlerine başvuran herhangi bir zehirlenme olgusunun bulguları bilgisayara verildiğinde, olası tanıları liste halinde ekrana döken ve bunların ayırıcı tanısı yapıp asıl teşhis konulduğunda da tedavisini önünüze seren bir program geliştirilmesi düşünüldü ve bu amaçla tarafımızdan



Şekil 1. Programın Genel Akış Şeması (3).

### Kaynaklar

1-Sütlaş M.: Dermatoloji Alanından Örneklerle Tıp ve Sağlık Hizmetlerinde Bilgisayar, Doğan Ofset, İstanbul, (1990).  
 2-Üstel İ., Eczacılıkta bilgisayar kullanımı. FABAD Farm. Bil. Der., 10: 151-156, (1985).  
 3-Hayran M.: İnfeksiyon hastalıklarında bilgisayar kullanımı. ANKEM, 5(2): 150, (1991).  
 4-Özbek H.: Hasta Takip Programı. (1995).  
 5-Hayran M., Özdemir O.: Bilgisayar İstatistik ve Tıp, Hekimler Yayın Birliği, Ankara, (1995).  
 6-Anonim: Siber uzayda safra kesesi ameliyatı. Chip, 1: Nisan, 40-44, (1996).  
 7-Anonim: Dr. organizör dış 2.0. PC World Türkiye, 5(58): 58, (1995).  
 8- Özer A. Y.: Zehir kontrol ve ilaç bilgi danışma hizmetlerinde bilgisayar. FABAD Farm. Bil. Der., 10: 226-232, (1985).  
 9-Üstel İ.: İlaç etkileşimlerinin bilgisayarla taranması. FABAD Farm. Bil. Der., 11: 53-58, (1986).  
 10-Üstel İ.: Hastane eczanesinde narkotiklerin denetiminde bilgisayar. FABAD Farm. Bil. Der., 10: 299-301, (1985).  
 11-Üstel İ.: Hastanelerde intravenöz sıvılara katkı hizmetinin bilgisayarla desteklenmesi. FABAD Farm. Bil. Der., 11: 120-125, (1986).  
 12-Ağaoğlu İ., Ocak Ö.H.: Klinik farmakolojide bilgisayar uygulaması 1: İki kompartımanlı model mikrohız değişmezlerinin saptanması. FABAD Farm. Bil. Der., 14: 355-364, (1988).  
 13-Hıncal F.: Modern sağlık hizmetlerinde ilaç bilgi ve kontrol merkezlerinin rolü. H.U. Ecz. Fak. Derg., 8(2):77-84, (1988).  
 14-Kayaalp O.: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Cilt 1, Güneş Kitabevi, Ankara, (1994).  
 15-Kayaalp O.: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Cilt 2, Feryal Matbaacılık, Ankara, (1995).  
 16-Kayaalp O.: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Cilt 3, Feryal Matbaacılık, Ankara, (1993).  
 17-Kurtoğlu S.: Zehirlenmeler Teşhis ve Tedavi, Erciyes Üniv. Matbaası, Kayseri, (1992).

18-Dökmeci İ.: Toksikoloji, ehirlenmelerde Tanı ve Tedavi. Nobel Tıp Kitabevi Yayn., Fatih Gençlik Vakfı Matbaası İşl., İstanbul, (1988).  
 19-Abaoğlu C., Aleksanyan V.: Teşhiste Temel Bilgi, Filiz Kitabevi, İstanbul, (1982).  
 20-Abaoğlu C., Aleksanyan V.: Semptomdan Teşhise, Filiz Kitabevi, İstanbul, (1985).  
 21-Abaoğlu C., Aleksanyan V.: Teşhisten Tedaviye, Filiz Kitabevi, İstanbul, (1981).  
 22-Andreoli T.E., Carpenter C.C.J., Plum F., Smith L.H.: Cecil Essentials of Medicine (Çevirmen ed.: Bagatur A.E., Baktıroğlu S., Çalangu S., Gündoğdu S., Keskin H., Ökten A., Siva A., Tözün N., Tuzcu M., Ülkü U.), Yüce Yayınları A.Ş., İstanbul, (1989).  
 23-Berkow R.: The Merck Manual, Teşhis/Tedavi El Kitabı (Çevirmen ed.: Pekus R.M.), Cilt 1, Merck Yayıncılık, İstanbul, (1985).  
 24-Berkow R.: The Merck Manual, Teşhis/Tedavi El Kitabı (Çevirmen ed.: Pekus R.M.), Cilt 2, Merck Yayıncılık, İstanbul, (1986).  
 25-Tüzün Y., Kotoğyan A., Saylan T.: Dermatoloji, Nobel Tıp Kitabevi, 1.baskı, (1985).  
 26-Neyzi O.: Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Cilt 3, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, (1984).  
 27-Tuğlacı P.: Tıp Sözlüğü, Ar Basın Yayımları ve Dağıtım A.Ş., İstanbul, (1983).  
 28-Erduran L.: Yapısal Programlama ve Turbo Pascal 7.0, (Matthaus W.G.'den çeviri), 1. baskı, Beta Basım Yayımları Dağıtım A.Ş., İstanbul, (1993).  
 29-Akgöbek Ö.: Turbo Pascal ve Programlama Sanatı, Beta Basım Yayımları Dağıtım A.Ş., İstanbul, (1995).  
 30-Özmen C., Eroğlu İ., Güler A.: Turbo Pascal 5.5, Ekonomist Yayınevi, Ankara, (1991).  
 31-Orkun C.: Programlamaya Giriş. Ornas Yayınları, ABC Matbaacılık, Ankara, (1991).

# Stafilokokkal Toksin ve Enzimler

Timur GÜLHAN<sup>1</sup>

Banur BOYNUKARA<sup>1</sup>

## Özet

*Bu makalede, Stafilokokkal toksin ve enzimlerin özellikleri ile insan ve hayvan sağlığına etkileri araştırıldı.*

*Stafilokoklar, doğada yaygın bir şekilde bulunurlar. Ayrıca insan ve hayvanların derileri üzerinde ve mukoz membranlarında doğal floranın oluşumuna katılırlar. Stafilokokların çoğu saprofitik karakterdedir, ancak, bazı türleri insan ve hayvanlarda çeşitli lokal ve generalize suppuratif enfeksiyonlara neden olurlar.*

*Stafilokoklarda patojeniteyi belirleyen önemli karakterler Tablo 1 'de sunuldu.*

**Anahtar kelimeler:** Stafilokok, Toksin, Enzim.

## Summary

### *Toxins and Enzymes of Staphylococci*

*In this paper, the properties of Staphylococcal toxins and enzymes and adverse effects of them to human and animal health have been reviewed.*

*Staphylococci are present widespread in nature. In addition, most of the Staphylococci participate the formation of natural flora on skin and mucosal membranes of humans and animals. Most of them are saprophytic but some species cause to suppurative local and general infections in humans and animals. In Staphylococci the important characters which determine pathogenicity have been presented in Table 1*

**Key words :** *Staphylococcus, Toxin, Enzyme.*

## Giriş

Stafilokoklar, Gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz (bazı suşları mikrokapsül içerir), aerob veya fakültatif anaerob, 0.5 ile 1.5 µm çapında, özellikle katı besi yerlerinden hazırlanan preparatlarda üzüm salkımı şeklinde kümeler oluşturan mikroorganizmalardır. Katı besi yerlerinde yuvarlak, düzgün ve beyazdan limon sarısına kadar değişen pigmentli koloniler oluştururlar. Pigment, en iyi 20°C'de oluşur. Anaerobik koşullarda ve sıvı besi yerlerinde pigment oluşmaz. Tüm stafilokoklar, katalaz pozitifler(1). Stafilokoklar, 6.5 ile 45°C aralığında üreme yeteneğine sahiptirler. Ancak, optimum üreme sıcaklığı 30°C - 37°C arasındadır. Üreme ortam-larındaki optimum pH 7.0 - 7.5 olmasına rağmen pH'nın 4.3'e düşmesi durumunda bile üreme görülebilir. % 15'lik NaCl bulunan ortamlarda üreyebilmelerinden dolayı halofilik bakteriler grubunda yer alırlar. Patojen stafilokokların çoğu, sahip oldukları koagülaz enzimi ile plazmayı pıhtılaştırırlar(1,2). Kanlı agarda değişik hemoliz(α,

β, δ, γ, ε)'li koloniler oluştururlar. Hemoliz, kültürlerin CO<sub>2</sub>'li ortamlarda inkübe edilmeleri halinde çok daha belirgindir (3,1). Sporsuz bakteriler içinde stafilokoklar, çevre şartlarına en dirençli olan bakterilerdir. 50 °C'lik ısıya 30 dakika dayanabilirler (4,5). Stafilokoklar, antibiyotiklere karşı genellikle duyarlıdır. Bazı patojen stafilokok türleri, ürettikleri penisilinaz enzimi sayesinde penisilinlere karşı direnç kazanabilirler. Ayrıca gelişigüzel antibiyotik kullanımları sonucunda streptomisin, auromisin, terramisin ve kloramfenikol'a karşı direnç kazandıkları saptanmıştır (2,6).

Stafilokoklar, *Micrococcaceae* familyasındadırlar. Bu familya ayrıca *Stomatococcus*, *Micrococcus* ve *Planococcus* cinsleri bulunmaktadır. Bu cinslerden planokoklar, genellikle insanlarda enfeksiyon yapmazlar. Stomatokoklar ise stafilokoklardan farklı olarak, katalaz negatiftirler. *Micrococcaceae* familyasındaki bu dört cinsin ayırt edici özellikleri Tablo 2'de gösterilmiştir (5,7).

Stafilokok suşları, oluşturdukları pigmente göre ; 1-*S.aureus* (altın sarısı), - 2-*S. albus* (beyaz), 3-*S.citreus* (limon sarısı) olmak üzere üç varyete gösterirler(2).

<sup>1</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, VAN.

**Tablo 1.** Stafilokok Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri.

Özellikler	S.aureus	S.epidermidis	S.capitis	S.warneri	S.haemolyticus	S.hominis	S.auricularis	S.saprophyticus	S.hyicus subsp. hyicus	S.simulans	S.intermedius
Pigment	+/w	-	-	d	d	d	-	d	-	-	-
Aerop üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Anaerop üreme	+	+	(+)	+	(+)	-/w	-/w	(+)	+	+	(+)
%10 NaCl'de üreme	+	w	+	+	+	w	+	+	+	+	+
%15 NaCl'de üreme	w	-	-/w	w	d	-	w	d	-w	w	d
Asetoin oluşturma	+	+	d	+	d	d	d	+	-	w	-
Sukroz	+	+	(+)	+	+	(+)	d	+	+	+	+
Maltoz	+	+	-	(+)	+	+	(+)	+	-	w	w
D-Mannitol	+	-	+	d	d	-	-	d	-	+	d
D-mannoz	+	(+)	+	-	-	-	-	-	+	d	+
D-Trehaloz	+	-	-	+	+	d	(+)	+	+	d	+
$\alpha$ -Laktöz	+	d	-	d	d	d	-	d	+	+	d
Hyaluronidaz	+	d	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND
Üreaz	+/w	+	-	+	-	+	-	+	d	+	+
Koagulaz	+	-	-	-	-	-	-	-	d	-	+
Hemoliz	+	-/w	-/w	d	(+)	-/w	-	-	-	-/w	d
DN ase	+	-/w	w	d	d	-/w	-/w	-	+	w	+
Isiya dirençli nükleaz	+	-/w	-	-	-	-	-	-	+	-/w	+
Novobiocine -direnç	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
15° C'de Üreme	+	-w	-	d	-w	-w	-	+	+	+	+
45° C'de üreme	+	+	+	+	+	+	+	d	-w	+	+
L-Arabinoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Cellobiose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salicine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Galaktöz	+	d	-	d	d	d	-	-	+	-w	+
$\beta$ -D-Fruktoz	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+
D-Riboz	+	d	-	d	d	-	-	-	+	ND	d
Nitrat Redüksiyon	+	+w	d	-w	d	d	d	-	+	w	+
Alkalin Fosfataz	+	+	-	-	-	-	-	-	+	w	+
Arjinin Dehidrolaz	+w	+w	d	d	+	d	d	-w	+	+	-
Clumping Faktör	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d
Fibrinolizin	d	d	ND	ND	ND	ND	ND	ND	d	ND	-

\* (Bergey's Manual of, Systematic Bacteriology, 1986)'dan alınmıştır.

+ : %90 Pozitif

- : %90 Negatif

+w : Haftalık Reaksiyonda Pozitif

d : %11- 89 Pozitif

ND : Hakkında Bilgiler Net Değil

-w : Haftalık Reaksiyonda Negatif

w : Haftalık Reaksiyon,

**Tablo 2.** *Micrococcaceae* familyasındaki cinslerin ayırt edici özellikleri

Özellikler	<i>Micrococcus</i>	<i>Stomatococcus</i>	<i>Planococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>
Kapsül	-	+	-	-
Hareket	-	-	+	-
Furazolidon Agarda Üreme	+	-	-	-
Glukoz Fermentasyonu	Oksidatif	Fermentatif	Oksidatif	Fermentatif
Oksidaz ve Benzidin Testi	+	-	a	b
Lizostafin'e Duyarlılık	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Duyarlı
Teikoik Asit	-	-	-	+
Basitrasin'e Duyarlılık	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Dirençli

+ : %90 pozitif- : %90 Negatif , a : Hakkında bilgiler net değil,

b : *S. sciuri* ve *S. caseolyticus*, bu iki test yönünden pozitifler.

\*Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteriyel Enfeksiyonlar (Bilgehan,H. 1992)'den alınmıştır

Stafilokokların, çeşitli karakterler bakımından farklılık gösteren ve Veteriner Hekimliği yönünden önem taşıyan 5 türü bildirilmiştir. Bunlar :

***Staphylococcus epidermidis*** : Daha çok insanlar ve sıcak kanlı hayvanların deri ve mukoza florasında bulunurlar. Bazen patojenik özellik kazanarak lokal apseler ve nadiren endokarditis gibi ağır enfeksiyonlara neden olabilirler(8).

***Staphylococcus saprophyticus*** : Apatojen, koagulaz negatif, mannitole etkisiz,  $\alpha$ - toksin oluşturamayan ve novobiosine dirençli olan stafilokoklar bu grupta yer alır(5).

***Staphylococcus aureus*** :İnsan ve sıcak kanlı hayvanlarda geniş çapta piyojenik ve besin zehirlenmesi şeklinde enfeksiyonlara neden olan stafilokoklar, bu grup altında toplanmaktadır. Bu gruptaki stafilokoklar, ayrıca proteaz, lipaz, fosfolipaz, lipoprotein lipaz ve esteraz üretirler. Suşların çoğu, hemoglobin, fibrin, yumurta sarısı, kazein polipeptidleri ve jelatini hidrolize ederler(9).

*S. aureus*,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  ve  $\gamma$  hemolizin üretir. Ayrıca ürettiği epidermolitik toksin ile "haşlanmış deri sendromuna" neden olur. Diğer stafilokoklar ve belli bazı bakteriler üzerine bakteriyostatik etkili stafilotoksin sentezler(10,11).

***Staphylococcus intermedius*** : *S. aureus* ve *S. epidermidis* ile bazı karakterler bakımından ortak özelliklere sahiptir. *S.intermedius*, *S. aureus*'ta olduğu gibi koagulaz enzimi sentezleyebilir(2). İnsan ve çoğu hayvan türünün normal burun mukozasında bulunur. Ayrıca etcillerde otitis eksterna, pyoderma, mastitis ve çeşitli yara enfeksiyonlarına neden olur(5).

***Staphylococcus hyicus*** : Domuz, sığır ve kanatlı gibi hayvan türlerinin vücut yüzeyinde apatojen olarak bulunur. Bazı suşları,patojenite kazanarak eksudatif dermatitis ve septik poliartritis gibi oportunistik enfeksiyonlara neden olabilirler(2). *S. hyicus subsp. hyicus* ve *S. hyicus subsp. chromogenes* olmak üzere iki alt türü vardır. *S. hyicus subsp. hyicus*; *S. hyicus subsp. chromogenes*'ten farklı olarak hyaluronidaz enzimine sahiptir ve pigment oluşturmaz (7,8).

## Stafilokokkal Toksin Enzim ve Metabolitler: A-Toksik Olmayan Metabolitler

### a. Yüzey Yapıları

**a.1-Kapsül** : Stafilokokların katı besi yerinde üretildikleri zaman nadiren görülen, daha çok in vivo koşullarda oluşan polisakarit yapısında bir mikrokapsülü vardır. Bu komponent, bakteri komplemanını çevre koşullarından, antikorların ve fagositik hücrelerin olumsuz etkilerinden korumakla birlikte immunolojik spesifiteye sahip olup haptin karakteri gösterir(2,5).

### a.2- Hücre duvarı antijenleri

**a.2.1- Protein -A:** Protein -A, bazı *S. aureus* suşlarının protein karakterinde ve antijenik spesifiteye sahip bir komponentidir ve epidemiyolojik olarak da önem taşır(1,2). *S. aureus* suşlarının çoğunun yüzeyleri Protein-A (Sp-A) ile kaplıdır. Bu protein, kovalent bağlarla peptidoglikan tabakasına bağlıdır. İmmunoglobulinlerden IgG<sub>1</sub> ve IgG<sub>4</sub>'ün Fc kısmı ile reaksiyon verdiği halde, Fab kısmı ile bağlantı yapmaz(5,8). Önceleri, insan ve tavşan serum globulinleri ile vermiş olduğu reaksiyon, bir antijen-antikor reaksiyonu olarak değerlendirilmiş, ancak Forsgren ve Sjöquist bunun pseudoimmun bir reaksiyon olduğunu açıklamışlardır(12,15).

*S. aureus* suşlarının hücre duvarı yüzeyi faj reseptörleri, clumping faktör ve Protein-A yönünden Scanning Electron Mikroskop (SEM) ile incelenmiş, faj reseptörlerinin ve clumping faktörün, üreme dönemi sonunda Protein-A'nın ise üreme döneminin başında sentezlendiği ve Protein-A'nın bütün bakteri yüzeyinde bulunduğu saptanmıştır(12). Saf bir Protein-A molekülü, iki molekül IgG'ye bağlanabilme yeteneğine sahiptir. *S. aureus*'taki Protein-A'nın, Grup-A streptokoklardaki Fc reaktif proteinin ve Grup-C ve -G streptokoklardaki, protein-G olarak tanımlanan Fc reaktif proteinin insan ve farklı hayvan türlerinin IgG alt sınıflarının Fc reseptörleri ile verdiği spesifik reaksiyonlar Tablo 3'de gösterildi (12).

Protein -A, stafilokok suşlarında hücre duvarına bağlı olduğu gibi, ekstrasellüler olarak da bulunabilir. Hücre duvarına bağlı olan Protein -A, lam, aglutinasyon testi ile, soluble yapıdaki ekstrasellüler Protein -A ise, tüp aglutinasyon, mikroplate testleri ya da ELISA ve FAT ile saptanabilir(8,15).

**a.2.2- Teikoik asit :** Hücre duvarının yüzeyine yerleşmiş olup yüzey antijenini meydana getirirler. Gram negatif bakterilerdeki lipopolisakaridin karşılığı olarak kabul edilir(2). Teikoik asit, gliserol fosfat ve ribitol fosfat molekülünü içeren membran polimerlerini de kapsar. Teikoik asitler, polisakaritler olarak da tanımlanır(5). İlk olarak Wieghard ve Julierelle (1939), virulent ve avirulent stafilokok hücre duvarındaki teikoik asitlerin antijenik özelliğini, bunlara bağlanan şeker, amino asit, kolin ve D-alanin tarafından belirlendiğini tespit etmişlerdir(2). Daha sonraki çalışmalar ile, *S.aureus* suşlarında N- Asetilglukozamin ve ribitol komponentlerinin immunolojik determinantlar olduğu ve

glukozamin atomlarının yerleşimine bağlı olarak spesifite gösterdiği ortaya konulmuştur(13). Hücrede buldukları yerlere göre, membran teikoik asitleri ve duvar teikoik asitleri diye iki büyük sınıf altında toplanırlar. Membran teikoik asitleri, duvar teikoik asitlerinin biyosentezinde "lipoteikoik asit taşıyıcısı" olarak görev yapar. Membranda lokalize olmuş teikoik asitler, hücre duvarındaki otolitik enzimler ile etkileşim halindedir ve eksternal litik enzimlere karşı bakteriyi korur. Duvar teikoik asitlerinde, temel yapı, poliribitol fosfat (*S. aureus*) ya da poligliserol fosfat (*S. epidermidis*)'tır (2,12).

**Tablo 3.** Fc Reaktif Faktöre sahip Gram (+) kokların İnsan ve çeşitli hayvan IgG ' lerinin Fc fragmentlerine bağlanma oranları

İmmünglobulin	Fc Reaktif Faktör Tipleri		
	Tip -I <i>S.aureus</i> (Protein -A)	Tip -II Grup -A Streptokoklar	Tip -III Grup -C ve -G Streptokoklar (Protein -G)
İnsan IgG <sub>1</sub>	++	++	++
İnsan IgG <sub>2</sub>	++	++	++
İnsan IgG <sub>3</sub>	-	++	++
İnsan IgG <sub>4</sub>	++	++	++
Fare IgG <sub>1</sub>	+	-	+
Fare IgG <sub>2a</sub>	++	-	++
Fare IgG <sub>2b</sub>	++	-	++
Fare IgG <sub>3</sub>	++	-	++
Rat IgG <sub>1</sub>	+	-	+
Rat IgG <sub>2a</sub>	-	-	++
Rat IgG <sub>2b</sub>	-	-	+
Rat IgG <sub>2c</sub>	++	-	++
Tavşan IgG	++	+	++
Siğir IgG <sub>1</sub>	-	-	++
Siğir IgG <sub>2</sub>	++	-	++
Koyun IgG <sub>1</sub>	-	-	++
Koyun IgG <sub>2</sub>	++	-	++
Keçi IgG <sub>1</sub>	+	-	++
Keçi IgG <sub>2</sub>	++	-	++
At IgG <sub>(ab)</sub>	+	-	++
At IgG <sub>(c)</sub>	+	-	++
At IgG <sub>(T)</sub>	-	+	+

\*Björck,L.,Kronvall,G. Purification and some properties of streptococcal protein G, a novel IgG-binding reagent (1984)'den alınmıştır.

(+) :Zayıf reaksiyon, (++) :Kuvvetli reaksiyon, (-) : Reaksiyon yok

*S. aureus*'ün hücre duvarında bulunan teikoik asitlerin antijenik özelliklerini göstermek amacıyla, hücre duvarının aglutinasyonu, hemaglutinasyon ve agar jel difüzyon metodu kullanılır (12).

#### B. Stafilokokkal Enzimler :

**1- Koagulaz :** Koagulaz enzimi, termostabil ve filtrelerden geçebilme özelliğine sahiptir. Kanda fibrinojenden fibrin oluşturur. Patojen stafilokokların çoğu, okzalatl ve sitratlı insan ya da tavşan plazmasını koagule edebilme yeteneğine sahiptirler(2). Bu tip stafilokoklar, girdikleri organizmada sentezledikleri koagulaz enziminin etkisiyle bir fibrin tabakasıyla kaplanarak fagositozdan korundukları gibi normal

serumun bakterisid etkisini de engelleyerek patojenite kazanmış olurlar. Bu nedenle koagulaz pozitif suşlar, patojen olarak kabul edilirler(5). Koagulaz, plazmadaki antistafilotoksik faktörü de hidrolize edebilir(14). Koagulaz enzimi, stafilokoklardan başka *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* ve *Bacillus subtilis* gibi bakteriler tarafından da oluşturulabilir (15).

Koagulaz testi, stafilokok türlerini birbirinden ayırt etmede de önemli bir kriterdir. Pigment, hemoliz ve mannitole etki gibi karakterlerin hiçbiri koagulaz testi kadar ayırt edici değildir(2). *S. aureus* suşları, bağlı ve serbest olmak üzere iki ayrı koagulaz oluştururlar. Bağlı koagulaz (clumping faktör), fibrinojeni doğrudan fibrin

haline dönüştürür. Serbest koagulaz ise aynı sonuca hemen her serumda bulunan Coagulase-Reacting Factor(CRF) yardımıyla ulaşabilir (14,15).

Koagulaz testi, tüpte ve lamda olmak üzere iki şekilde yapılır.

Tüpte koagulaz testi ile, besi yerinde üreyen stafilocokların oluşturdukları ve ortama saldıkları bağımsız koagulaz araştırılır. Bu enzim niteliğindeki madde, plazmada bulunan bir faktör (CRF = Coagulase Reacting Factor) ile ilişki kurar ve trombokinaza benzeyen bir etki ile fibrinojeni pıhtılaştırır. Bu işlem için  $Ca^{++}$  iyonlarına gerek yoktur(2,14).

*S. aureus* dışındaki bazı bakteriler (*Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* ve özellikle *Strept. faecalis* gibi bazı enterokoklar), koagulaz aktiviteleriyle değil de sitratı metabolize etme yeteneklerinden dolayı, plazmayı pıhtılaştırıp yanlış pozitif sonuç alınmasına sebep olabilirler. Bu istenmeyen faktörün ortadan kaldırılması için plazmanın pıhtılaşmasını önleyici olarak, sitrat yerine EDTA ( Ethylene Diamine Tetra Aceticacid = Versene ) kullanılabilir(2,5).

Lam koagulaz testi ( Clumping Factor ) ile, bağlı koagulaz (kümeleşme faktörü / clumping factor) araştırılmaktadır(2). Bu faktör, hücreye bağlı olduğundan, kültür filtratına geçmez. Etkinliğinin ortaya çıkarılması için, plazmadaki CRF'e gereksinim yoktur(5). Bakteri yüzeyindeki bu faktör, plazmadaki fibrinojeni pıhtılaştırıp, stafilocokların kümeleştirmelerine neden olur (14,15).

Tüpte koagulaz testiyle lam koagulaz testi arasında sonuç olarak bir paralellik vardır. Tüp koagulaz, lam koagulaza göre daha güvenlidir. Özellikle metisiline dirençli suşlarda lam koagulaz, olumsuz sonuç verebilir. Lam koagulaz testinde genellikle tavşan plazmasıyla çalışılır. İnsan plazması ile yapılan testlerde bazı inhibitör maddelerin etkisiyle, yanlış pozitif sonuçlar görülebilir. Ancak, bu sonuçların yeniden incelenmesi şartıyla, insan plazması kullanılabilir. Lam koagulaz testi için kullanılacak plazma, sitrat ya da EDTA ile elde edilmiş olabilir(14).

**2- Hyaluronidaz :** *S. aureus* suşlarının % 90'ı tarafından sentezlenen bir enzimdir(2). Bu enzim, konnektif (bağ ) doku'nun mukoid bir korunma faktörü olan hyaluronik asidi hidrolize ederek depolimerizasyonunu ve böylece stafilocokların enfeksiyon sırasında dokular arasına kolayca yayılmasını sağlar. Stafilocokal yayılma faktörü (spreading faktör) olarak da bilinen hyaluronidaz, etkenin patojenitesini artırır(5). Stafilocokal hyaluronidaz, streptokokal hyaluronidazdan yapı ve antijenik olarak farklıdır(9).

**3- Stafilokinaz (Fibrinolizin) :** Bakteriler tarafından sentezlenen kinazlar, plazmada bulunan plazminojeni (profibrinolizin) aktive ederek plazmini (fibrinolizin) oluştururlar. Fibrinolitik etki bu plazmin sayesinde gerçekleşir(2). Stafilokinaz, *S. aureus*'un bir çok suşu tarafından, kültür ortamında üredikten sonra sentezlenen ve plazminojeni plazmine dönüştüren bir enzimdir(1). Molekül ağırlığı, 15.000 dalton ve izoelektrik noktadaki pH'sı 6.7'dir (17).

Lack ve ark. (1976), stafilokinazın fibrinolitik etkisini, etanol ile presipite ettikten sonra hazırladıkları enzimi kullanmak suretiyle göstermişlerdir. Bu in vivo denemeler ile köpeklerde meydana gelen trombo-embolik oluşumların çözülmesi için ne kadar stafilokinaz hazırlanması gerektiği araştırılmıştır(17). Daha sonraki çalışmalar, stafilokinazların jel immunodiffüzyon yöntemi ile tanımlanabileceğini göstermiştir(18).

Stafilokinaz aktivitesi, direkt olarak fibrin digesyonuna bağlı değildir. Ancak, plazminin aktive edilmesi için stafilokinaz aktivitesi gereklidir. Stafilokinaz aktivitesi, optimal pH (6-8) ve metal iyonları varlığında, iki aşamada gerçekleşir. İlk olarak stafilokinaz yardımıyla plazminojenin plazmine aktivasyonu ve daha sonra plazmin tarafından fibrinin digesyonu şeklindedir. Stafilokinaz plazminojen kompleksi, fizyolojik plazmin aktivasyonundan daha az fibrinolitik aktiviteye sahiptir. 37°C'de 24 saat sonunda, stafilokinaz aktivitesinin azaldığı ve 100°C'de 45 dakika içinde bu aktivitenin % 40' ının kaybolduğu görülür. Isıya karşı dirençlilik, konsantre solüsyonlarda ve özellikle doğal solüsyonlarda, dilüe solüsyonlardan daha fazladır(17).

Stafilokinaz, genellikle insan orijinli stafilocokların koagulaz pozitif olan suşları tarafından üretilir. Aynı suşların büyük bir çoğunluğu, β-hemolizin üretirler. β-hemolizin üretimi, stafilokinaz aktivitesini artırır. Stafilokinaz üreten bazı suşlar, koagulaz ve hemoliz yönünden negatif olabilirler (17,18).

**4- Jelatinaz :** Jelatin, bir protein olup kollagenin hidrolizasyonu sonucu oluşur. Genellikle patojen mikroorganizmaların üremelerini artırıcı bir özellik göstermez (1). Mikroorganizmalarca sentezlenen proteolitik enzimler tarafından jelatin hidrolize olunca eski katı özelliğini kaybederek sıvı haline dönüşür. Yüksek ısı altında uzun süre kalırsa kısmen hidrolize olur ve polimerize olma yeteneğini yitirir (6). Koagulaz ve mannitol pozitif olan *S. aureus* suşlarının hemen hepsi kollagenin hidrolizasyonu sonucu oluşan jelatini eritme yeteneğine sahip olan jelatinaz enzimini sentezlerler (5). Bir mikroorganizmanın jelatinaz üretilmediğini anlamak amacıyla jelatinli ortamlara ekim yapılır. Jelatinin eriyip erimemesine göre sonuç değerlendirilir (6).

**5- Nükleaz :** Nükleaz, *S. aureus*'un hemen hemen bütün suşları tarafından sentezlenen termostabil bir enzimdir. Bu enzim, yüksek konsantrasyonlarda dahi, tek başına hücre duvarı üzerine toksik etkili değildir (14). α-hemolizin, nükleaz aktivitesini artırıcı etkiye sahiptir (3). Nükleaz'ın antijenitesi, kalsiyum iyonları ve deoksitimidin 3, 5- difosfat ile, aktivitesi ise 100°C'de 2dk. ısıtma ile inaktive edilebilir(14). Enterotoksin üretimi ile nükleaz üretimi arasında bir paralellik vardır. Enterotoksijenik olan tüm stafilocok türleri, nükleaz üretebilirler (1,14). DNA'ase ve RNA'ase olmak üzere ikiye ayrılan nükleazlar, konakçı dokularını ve aynı zamanda bakteri hücrelerinin DNA ve RNA'larını lize etme yeteneğine sahiptirler(2). DNA'daki deoksitimidilik asit yerine, RNA'da uridilik asit olması nedeni ile



RNA'nın hidrolizasyonu, DNA'nın hidrolizasyonundan daha yavaş gerçekleşir(14).

**DNase (Deoksiribonükleaz) :** Enzim niteliğindeki bu madde, DNA'yı hidrolize eder(1). Koagulaz pozitif stafilocokların birçoğu, DNase oluşturur. Ancak çeşitli özellikleri ( $\alpha$ -toksin oluşturma, stafilokinaz ve hyaluronidaz sentezleme, *S. aureus* suşları ile erime v.b.) ile, *S. aureus* oldukları anlaşılan stafilocokların nadir de olsa bazı suşları, koagulaz negatif bulunabileceğinden, bunların DNase testi ile de pozitif sonuç vermeleri, patojen *S. aureus* olduklarını ispat eder(6,19).

**6- Proteaz :** Koagulaz pozitif stafilocokların çoğu ve koagulaz negatif stafilocokların çok azı tarafından sentezlenen bir enzimdir(1). Bu enzim, kazein, jelatin, at serumu proteinleri, at ve tavşan fibrinleri üzerine proteolitik etkilidir(6). Aktivasyonun anaerobik ortamlarda azaldığı görülür. Proteazların, kazeini dijest edebileceği optimum pH, 7.0'dır. Bu etki, EDTA,  $Zn^{++}$  ve  $Co^{++}$  iyonları ile inaktive edilebilir (16).

**7-Lipaz :** Logaritmik üreme safhasında sentezlenen bu enzimin molekül ağırlığı, 100.000- 400.000 dalton ve izoelektrik noktadaki pH'sı, 4.2 ile 8.2 arasındadır(9). Koagulaz pozitif stafilocokların hemen hepsi ve koagulaz negatif stafilocokların % 30'undan fazlası çeşitli lipazlar sentezleyebilirler(1). Stafilocoklar, lipaz ve esteraz olmak üzere iki tip lipolitik enzim sentezlerler. Bu enzimler, vücudun yağlı bölgelerindeki lipidleri hidrolize ederek stafilocokların kutanöz ve subkutanöz dokulara girmelerini sağlar. Yüzeysel stafilocok enfeksiyonlarından olan frünkül, karbonkül (kan çıbanı) ve arpacık oluşumu gibi durumlarda lipazlar aktif olarak görev yaparlar(5). Stafilocokal lipaz aktivitesi, yüksek sıcaklıkta inaktive edilebilir(1).

**8- Yumurta Sarısı Faktörü (Lesitinaz) :** Bazı stafilocok suşları tarafından sentezlenen bu enzim, yumurta sarısı ve insan serumunda bulunan lipoprotein komplekslerini ayrıştırma özelliğine sahiptir(6). EDTA, lesitinaz üzerinde inhibitör etkiye sahiptir(7).

**9- Fosfataz :** Koagulaz pozitif stafilocokların hemen hepsi tarafından sentezlenir(1). Fosfataz enziminin tespiti için fenoltaleyinli agara ekimler yapılır. Fosfataz enzimine sahip olan stafilocoklar, fenoltaleyndifosfatı fenoltaleyin ve difosfata ayrıştırır. Genellikle bu enzim, stafilocoklarda patojeniteyi belirleyici etkiye sahip değildir(6).

**10- Lizozim :** Koagulaz pozitif stafilocokların çoğunda bulunan bir enzimdir. Lizozim prodüksiyonu ile patojenite arasında belirgin bir ilişkinin olup olmadığı tespit edilememiştir(1). Bu enzim, birçok bakterinin hücre duvarında bulunan peptidoglikamı hidrolize ederek etkir. Lizozim, bakteriler için otolitik bir enzimdir(2).

**11- Penisilinaz :** *S. aureus*'ta özellikle penisiline karşı dirençliliği belirleyen ekstrakromozomal elementler (penisilinaz plazmidi) vardır(6). Penisilinaz, *S. aureus*'un bazı patojen suşlarında bulunan endo ya da ekstrasellüler bir enzimdir. Stafilocoklarda bulunan penisilinaz enzimi, bakteri biyosentezinde ve

transpeptidaz reaksiyonunun inhibisyonunda önemli bir role sahip olan  $\beta$ -laktam halkasının hidroksil grubunu hidrolize ederek etkisini gösterir(2). Stafilocoklar, bu enzimleri vasıtasıyla hücre duvarının sentezini inhibe ederek etki gösteren penisilin gibi antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirirler. Antibiyotiklere karşı direnç kazanan stafilocokların aksine, penisilinaz enzimine sahip suşlar, penisilinün uygulanmasından önce de bu özelliğe sahiptirler. Bunun nedeni, gen den gene penisilinaz plazmidinin aktarılmasıdır(1,6).

Penisilinaz plazmidi, kolisin, F- ve R- faktörlerinden farklıdır. Diğerleri gibi otonom olarak replike olabilirler. Penisilinaz plazmidinde hem regülatör hem de strüktürel genler bulunur(6).

Penisilinaz plazmidi, eritromisin, inorganik iyon merkürü, arsenit, arsenat, kadmiyum, kurşun ve bizmut'a karşı dirençlilik gibi bazı özelliklere de sahiptir. Bu determinantlar, hücreden hücreye konjugasyonla değil, transdüksiyonla aktarılırlar(6).

## C-Stafilocokkal Toksinler

### I. Ekzotoksinler

Stafilocoklar,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$ ,  $\delta$  ve lökositin olmak üzere sitolitik ve hemolitik toksin meydana getirirler. İlk 5 toksinin aktivitesi sadece eritrositlerle sınırlı değildir. Lökositin ise eritrositleri eritmeyip lökositler üzerine sitolitik etkiye sahiptir. Bu sitotoksinler, etrafta bulunan zedelenmiş dokulardan salınan lizozomal enzimlerle birlikte nötrofilleri eritirler(1,2).

**a. Hemoliziner :** Stafilocoklar,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$ ,  $\delta$  olmak üzere başlıca beş hemolizin oluştururlar(1). Koagulaz pozitif stafilocokların hepsinde  $\alpha$ - ya da  $\gamma$ - hemolizin bulunur. Çoğu zaman ayrıca  $\beta$ -hemolizin de üretirler(2). Hayvan orjinli stafilocoklarda  $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ - ,  $\beta$ - $\gamma$ - ya da  $\alpha$ - $\gamma$ - hemoliziner bulunmaktadır(8). Koagulaz negatif stafilocoklar,  $\alpha$ - ya da  $\gamma$ - hemolizin sentezlemezler. Sadece  $\beta$ - ya da  $\epsilon$  hemolizin sentezleyebilirler(10).

**a.1-Alfa ( $\alpha$ -) Toksin :** Bu toksin, eritrosit, lökosit, hepatosit, trombosit, insan diploid fibroblastları, HeLa hücreleri ve Ehrlich asid Karsinoma hücreleri gibi birçok hücre için sitotoksik özellik gösterir(2).  $\alpha$ - toksinine karşı değişik canlıların eritrositleri arasında duyarlılık farkı vardır. Tavşan eritrositleri,  $\alpha$ - toksine, insan eritrositlerinden yüz kez daha fazla duyarlıdır. Tavşan, koyun ve sığır eritrositlerini 37°C'de hemoliz ettiği halde, at ve insan eritrositlerine etkimez ya da çok az etkir (1). Bu toksin, sıcak-soğuk lizis özelliğine sahip değildir (3). Hücredeki zararlı etkileri üç aşamada gerçekleşir : İlk olarak hücre yüzeyine tutunma, ikinci olarak hücre membranında dejenerasyon, son aşama ise hücrenin koloidal olarak lize olmasıdır(15).

$\alpha$ -toksinin invivo etkileri şunlardır :

1. İnsanlarda öldürücü etki,
2. Sinir sistemine etkileri : Sinir hücresi membranında polarizasyon ve depolarizasyonda aksaklıklar, hipotalamus, serebral korteks ve nervus vagusta dejenerasyonlar,

3. Düz kaslar üzerine etkileri : Histamin ve serotonin salınmasına neden olarak küçük kan damarlarında permeabilite artışını sağlar. İntestinal bölgede ve büyük kan damarlarında spastik kontraksiyon oluşturur,
4. Dolaşım sistemine etkisi : Ketakolamin'in serbest kalmasını sağlayarak hipertansiyona neden olur,
5. Diğer etkileri : Renal kortikal nekroz, deri nekrozları v.b(15).

$\alpha$ -toksinin hemolitik aktivitesi, spesifik antiserum ile inhibe edilebilir(1). Deri içi enjeksiyonunda dermonekroz etki oluşturur(4). Ayrıca Alon ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada,  $\alpha$ - toksinin, doku kültürlerinde embriyonik tavuk kalp fibroblastlarına toksik etki gösterdiği saptanmıştır(3). 100°C'de 30 dakika ya da 120°C'de 15 dakika ısıtmakla insan eritrositlerini lize etme aktivitesinde kısmî bir azalma görülür(15).

$\alpha$ -toksin ile benzer özellik gösteren diğer toksinler :

**Nekrotoksin :** Bu toksin,  $\alpha$ - hemolizin ile aynıdır. Tavşan ya da kobaylara deri içi enjekte edilirse 12-24 saat içinde dermonekroza neden olur. Bu etki, spesifik anti-nekrotoksin ile nötralize edilebilir(1).

**Letal Toksin :**  $\alpha$ -toksinin aynıdır. Toksin i.v. verildiğinde fareleri öldürür. Toksine spesifik antikor, onu nötralize eder(1).

**a.2- Beta ( $\beta$ -) Toksin (Hemolizin) :** Sfingomyelinaz (fosfolipaz-C) olarak da bilinen bu toksin, büyümenin logaritmik safhası boyunca üretilir Termolabil (100°C'de 10 dakikada inaktive olabilir) bir protein olup eritrositler, lökositler ve makrofajlar gibi çeşitli hücreler için toksik etki gösterir(2). Hemolitik aktivitesi bulunup, bu etki eritrositlerin duvarındaki sfingomyelin miktarına bağlıdır. Katalaz enzimi ile birlikte duyarlı hücrelerin membran fosfolipidlerini hidrolize eder. Hemoliz'in oluşması,  $Mg^{++}$  ve  $Ca^{++}$  iyonları varlığında gerçekleşir (21). Koyun ve sığır eritrositlerinde kısmî ya da tam olmayan hemoliz yapar. Hemoliz alanı, oldukça geniştir ve sınırları kesinlikle belirgindir. Hemoliz olayı, 37°C'de bakterinin inkübasyonundan sonra, kanlı agarın soğukta bekletilmesiyle daha belirgin hale gelir (22). Bu olay, Glenni ve Stevens tarafından "Hot-Cold = Sıcak-Soğuk Lizis" olarak tanımlanmıştır.  $\beta$ -hemoliz'in tespiti, immunoelktroforez ile de yapılabilir (21).  $\beta$ -hemolizin, tavşanlara i.v. olarak 40-160 mg dozunda verildiğinde letal, deri içi verildiğinde ise, dermonekrotik etki görülür. Letal etki, her zaman tam olarak görülmez. Dermonekrotik etki, spesifik antitoksinlerle önlenemez (1).  $\beta$ -hemolizin,  $\alpha$ -hemolizinden daha az toksiktir. Bu nedenle genellikle yalnız başına öldürücü etki göstermeyebilir.  $\beta$ - hemolizin,  $\alpha$ - hemolizin ile birlikte stafilokokal apse oluşumunda doku tahribatından sorumludur (21). Hayvan orijinli stafilokokların hemen hepsi  $\beta$ -hemolizine sahipken, insan orjinlilerde bu toksinin bulunması değişkendir (1).  $\beta$ -hemolizine sahip bir stafilokok, streptokoklarda CAMP faktörünün tespitinde kullanılır. Streptokok, CAMP faktörüne sahipse (özellikle *Strept. agalactiae*),  $\beta$ -hemolizimli stafilokok'a dik olarak kanlı agar ekim yapıldığında iki

bakterinin birbirine yaklaştığı noktalarda semi sirküler bir zon oluştuğu görülür(1,10).

**a.3- Delta ( $\delta$ -) Hemolizin :** Termostabil, büyük moleküllü ( $6.8 \times 10^4$  ile  $2 \times 10^5$  dalton), heterojen bir proteindir(2). Toksinin geniş bir sitolitik aktivitesi vardır. Delta toksininin, hücre zarının tahribatında deterjan benzeri etkiye sahip olduğu ileri sürülmektedir(3). Delta toksin, i.v. verildiğinde dermonekroz yapar. Bu etki, anti-deltatoksin ile inhibe edilebilir (23).

**a.4- Gamma ( $\gamma$ -) Hemolizin :** Molekül ağırlığı,  $2 \times 10^5$  dalton ve izoelektrik noktadaki pH'sı, 9.6 - 9.9'dur.  $\gamma$ -hemolizin, logaritmik büyüme safhasında sentezlenir (20). İnsan, tavşan ve koyun eritrositleri gibi çeşitli eritrositleri hemolize ederek kanlı agarda büyük ve belirgin bir hemoliz alanı oluşturur(2). Aynı zamanda insan lenfoblastik hücrelerini de eritir(1).  $\gamma$ -hemolizinin aktivitesi, kimyasal ajanlar ve  $Na^{++}$  iyonları vasıtası ile inhibe edilebilir(24).

**b. Lökositinler :** Molekül ağırlığı, 32.000-38.000 dalton ve izoelektrik noktadaki pH'sı 9.0 olan termolabil bir toksindir(2). Koagulaz pozitif stafilokokların hemen hepsi ve insan orjinli koagulaz negatif stafilokokların çok azı tarafından sentezlenen bu toksinin bir F-, bir de S-komponenti vardır(1). Bunların hiçbiri tek başına lökosit membranına etkili değildir. İkiisi birlikte hücre membranında hasar oluşturmada etkilidir ve permeabilitesini arttırmada önemli role sahiptir (2). Lökositinler, bakterilerin fagositoz ve çeşitli etkilere karşı korunmaları için gereklidir. Lökositin yapan stafilokoklar, lökositler tarafından fagosite edilseler bile lökositin yapmayan stafilokokların aksine hücre içinde üremelerini sürdürürler (1,5). Bugün için bilinen üç tip lökositin vardır. Bunlardan birincisi,  $\alpha$ -hemolizine. ikincisi,  $\gamma$ -hemolizine benzeri etki gösterir. Ayrıca ikinci tip lökositin ısıya dayanıklı olup, koyun lökositleri dışında bütün hayvanların lökositlerinde belirli morfolojik değişiklikler oluşturur. Üçüncüsü ise, Pantan-Valentine lökositin olarak bilinir. Bu lökositinin hemolitik etkisi olmayıp, yalnızca insan ve tavşan orjinli granulosit ve makrofajlar üzerine sitolitik etkilidir(15,18).

**c. Lökosit Sitotoksinleri :** Stafilokoklar tarafından üretilen ve çoğu hayvan türünün lökositleri ile insan lökositleri üzerine lökositidal etkisi olan bu sitotoksik madde hakkındaki bilgiler, henüz açıklık kazanmamıştır(1).

**d. Eksfoliyatif Toksin (Exfoliyatif Toksin=Epidermolitik Toksin) :** Faj II tipindeki stafilokokların çoğu tarafından sentezlenen bu toksinin molekül ağırlığı, 24.000-33.000 dalton ve izoelektrik noktadaki pH'sı, 7.0-7.2'dir (2). Yeni doğan ve süt çocuklarında görülen "Staphylococcal Scalled Skin Syndrome (SSSS)/ haşlanmış deri sendromunu"na neden olan toksindir. İnsan orjinli stafilokoklar tarafından sentezlenen bu toksin, intradermal dokunun ayrılmasına (separasyonuna) ve derinin pul pul dökülmesine (eksfoliyasyonuna) neden olur(19).

Antijenik ve biyolojik özellikleri bakımından en az iki çeşit epidermolitik toksin olduğu saptanmıştır:

**Epidermolitik Toksin A:** Bakteri kromozomundaki bir gen tarafından oluşturulan, termostabil (100°C'de 20 dak.) ve EDTA ile inaktive olan, zayıf immunolojik karakterde ve aside karşı dirençsiz bir toksindir(2,19).

**Epidermolitik Toksin B:** Plazmid tarafından oluşturulan, termolabil (60°C'de 20 dak.) ve EDTA'ya dayanıklı olan bir toksindir. Patojen stafilocokların yaklaşık %30'u bu toksinlerden biri ya da ikisini birden oluşturur. Bu toksin, yavru farelere deri içi enjekte edildiğinde lokal olarak epidermisin soyulduğu ve kızardığı, haşlanmış deri görünümü aldığı görülür. Toksinlere karşı elde edilen antitoksik serumlar bu olayı önler(2,19).

**e. Toksik Şok Sendromu Toksin I (TSST-I) :** Önceleri pirojenik ekzotoksin C ve enterotoksin F olarak bilinirdi. Şimdi bunlardan farklı olduğu ispatlanmıştır (5). Koagülaz negatif ve pozitif stafilocoklar ve diğer bazı bakteriler tarafından üretilir(2). Özellikle *S. aureus* tarafından oluşturulan ateş, hipotansiyon, çeşitli organlarda konjesyon ve insanlarda letal şok oluşturan bir toksindir(5). Ayrıca insanlarda şiddetli diare, deride yaygın kırmızı döküntüler, bilinç kaybı ve böbrek yetmezliği şeklinde seyreden stafilocokal kızıl hastalığının sebebi bu toksindir. TSST-I üreten stafilocokların infekte doku ve klinik örneklerden direk olarak izolasyonu ve tespiti için PCR (Polymerase Chain Reaction) kullanılmaktadır (25).

**f. Pirojenik Toksin C :** Toksik şok sendromundan sorumlu pirojen bir maddedir. Toksik şok sendromunda görülen ateş, bu maddeden dolayı ortaya çıkar(8).

**II. Enterotoksinler :** Stafilocokal enterotoksinler, 1914'te Barbera tarafından stafilocokal mastitisli bir ineğin sütünün içilmesi sonucu mide bulantısı ile kendini gösteren akut gastrointestinal bir enfeksiyonun oluşmasıyla fark edilmiş, 1930'da Dack tarafından yapılan çalışmalarla stafilocok suşlarının sentezlediği enterotoksinlerin alınmasıyla hastalığın oluştuğu kesinleşmiştir(1,4).

Enterotoksinler, suda ve tuz solüsyonlarında eriyebilen, higroskopik özelliğe sahip, termostabil (100°C'de 30 dak.) ve özel antijen yapısında maddelerdir(1). Piyojenik enterotoksinler, asidik ve nötral formaldehit solüsyonu ile muamele edildiğinde toksoid hale dönüşürler(5).

A, B, C, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, D, E ve F diye adlandırılan değişik antijen yapısında 8 çeşit stafilocokal enterotoksin saptanmış olup soyutlanan patojen stafilocokların %50'sinin bu toksinleri yapabildikleri görülmüştür. Stafilocoklar tarafından en çok enterotoksin A oluşturulur. Bir *S. aureus* suşu bu enterotoksinlerden sadece birini yapabildiği gibi birkaçını da birlikte sentezleyebilir(4). Enterotoksin A, logaritmik üreme safhasında, enterotoksin B ise, duraklamanın başladığı safhada sentezlendiği için enterotoksin A, besin zehirlenmelerinde enterotoksin B'den daha fazla oranda izole edilir(1).

Gıda içinde stafilocokların üremesi sonucu oluşan enterotoksinler, stafilocokal gıda zehirlenmesine yol açarlar(4). Stafilocokal enterotoksinler, insanlardaki gıda zehirlenmelerinin %25'ini oluştururlar(2). Koagülaz pozitif stafilocokların hemen hepsi enterotoksin oluştururlar ve enterotoksijenik stafilocok suşları olarak nitelenirler. Enterotoksijenik suşlar, Voges-Proskauer, yumurta sarısı, laktöz ve galaktöz fermentasyonu yönünden pozitif reaksiyon verir ve yüksek sıklıkla β- hemolizin oluştururlar. Koagülaz negatif stafilocokların enterotoksinleri yoktur(18,26).

Stafilocokal enterotoksinler, CO<sub>2</sub> konsantrasyonunun yüksek olduğu karbonhidrat ve proteinden zengin yarı katı besi yerinde bazı stafilocokların üremesi sırasında sentezlenirler(1). Önceden hazırlanıp bekletilen yemek veya salatalar stafilocok zehirlenmelerinin başlıca kaynağıdır. Stafilocoklar bu tür besin maddelerinde kolaylıkla üreyerek enterotoksin salgırlar. Stafilocokal enterotoksinlerin 1-25 mg alınması, kusma ve ishale neden olur(19).

Enterotoksinler, barsağın basal lumenindeki suyun absorpsiyonunu ya da lumen içindeki sıvının geçiş hızını inhibe ederek ishale neden olur. Evcil hayvanlarda 100 mg/kg enterotoksinin i.v. enjeksiyonu, barsak lumeninin bozulmasına ve ishale neden olan faktörlerin transferine neden olur(4).

Enterotoksin zehirlenmelerinde etkenin alınmasından sonra 1-6 gün içinde kusma, ishal, salivasyon, mide bulantısı, öğürme ve abdominal kasılmalar gibi semptomlar görülür(1). Zehirlenme sonunda insanlarda ölüm nadiren görülür. Hayvanlar ise, insanlara nazaran daha duyarlıdır. Kedi ve köpekler, parenteral yolla aldıkları enterotoksinlere karşı tümüyle duyarlıdır(4). Toksinin etkisi, alınış yoluna bağlı olarak değişir. İ.V. yolla küçük dozda dahi alınsa semptomlar görülürken, oral yolla alındığında semptomların görülmesi için daha fazla miktarlarda toksine gereksinim vardır. Oral dozların tekrarlanmasıyla hayvanlarda dirençlilik şekillenir. Çünkü enterotoksin antikorları ancak parenteral enjeksiyon sonrası oluşur(26).

Konservelerde, konserveleme işlemleri sırasında inaktive olurlar. Ancak, enterotoksin B, sütün pastörizasyonu ve süt tozu hazırlanması sırasında aktivitesini kaybetmez. Enterotoksin A, 100°C'de 1 dakikada inaktive olurken, enterotoksin B, 99°C'de 87 dakikada inaktive olur. Dolayısıyla enterotoksin B, enterotoksinlerin arasında ısıya en dayanıklı olan toksindir(1,4).

Enterotoksijenik suşlarda enterotoksin üretimi ile metisilin'e dirençlilik arasında büyük bir paralellik vardır. Metisilin'e dirençli olan stafilocokların büyük bir çoğunluğu enterotoksijeniktir(1).

Sadece enterotoksin A üreten enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının, penisilin G ve metisilin ile muamele edilmiş besi yerleinde üretilen L formları, enterotoksin üretmezler. Ayrıca mikroorganizmaların üremelerini

engelleyen Tween 80, oleik asit, D-sikloserin, deterjan v.b. maddeler, enterotoksin B üretimini inhibe eder(4).

Enterotoksin, aerobik ve anaerobik olarak 9-12 saat inkübe edildikten sonra FAT ile bakterilerin çevresinde tespit edilebilir. Ayrıca enterotoksinlerin tespiti için mikroslide testi, presipitasyon testi, pasif hemagglutinasyon ve ELISA gibi tekniklerden yararlanılabilir(1,4).

Düzensiz antibiyotik kullanımı, Stafilokok suşlarının aktif hale geçerek enterotoksin üretmelerine neden olacağı için mümkün olduğunca bundan sakınılmalıdır.

## Kaynaklar

- 1.Arda,M., Minbay, A., Leloğlu,N., Aydın,N., Akay,Ö.: Özel Mikrobiyoloji. A.Ü. Vet. Fak. Yayn. No:741, Ders Kitapları Serisi 243, A.Ü. Basımevi, Ankara, (1992).
- 2.Krieg,N,R and Holt,J.G.: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 2, Williams and Wilkins. 1021-1035, Baltimore,U.S.A., (1986).
- 3.Alon,W., Bernheimer, K., Lois,S. and Grushofl,A.P.: Lytic effects of staphylococcal alpha toxin and delta toxin, J. Bacteriol., 487-491, (August,1968).
- 4.Ayhan, H.: Stafilokokal Enterotoksinler, Seminer, A. Ü. Vet. Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, (1984).
- 5.Bilgehan,H.: Klinik Mikrobiyoloji (Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları), 2. Basım, Barış Yayn., Fakülte Kitabevi, İzmir, (1995).
- 6.Arda,M.: Genel Bakteriyoloji, Ders Kitabı. A.Ü. Vet. Fak. Yayn., No:404, A.Ü. Basımevi, Ankara, (1992).
- 7.Bilgehan,H.: Klinik Mikrobiyolojik Tanı, 2. Basım, Barış Yayn., Fakülte Kitabevi, İzmir, (1995).
- 8.Erganiş,O.: Mikrobiyoloji ve İmmunoloji. Konya Sağlık Eğitim Enst. Yayn., No:11, Konya, (1994).
- 9.Devriese,L. and Oeding,P.: Characteristics of Staphylococcus aureus strains isolated from different animal species., Res. Vet.Sci.,21:284, (1976).
- 10.Williams,R.E.O. and Herper,G.J.: Staphylococcal hemolysis on sheep blood agar with evidence for a fourth hemolysins. J. Pathol. Bacteriol., 59:69-78, (1974).
- 11.Gagliano,V.J. and Hinsdill,R.D.: Characterization of a Staphylococcus aureus bacteriocine. J.Bacteriol., 8:104-197, (1974).
- 12.Forsgren,A., Sjöquist,J.: "Protein-A" from Staphylococcus aureus I-Pseudoimmun reaction with human gamma globulin. J.İmmunol., 97:822, (1966).
- 13.Lambert,P.A., Hancock,I.C. and Baddiley,J.: Occurence an function of membrane teichoic acids. Bio. Biophys. Acta., 472:1, (1977).
- 14.Jasper,D.E.,Infante,F.,Dellinger,J.D.: Relationships among the results of coagulase, staphylococcal toxin, and thermonuclease tests on staphylococci from cow milk. J. Clin. Microbiol., 21: 4, 582-584, (1985).
- 15.Jonsson,P.: Virulence determinants of Staphylococcus aureus, virulence studies of alpha-toxin, coagulase, and protein A mutants and recombinants and studies of cell-surface hydrophobicity. Fac. Vet. Med., Univ. Agric. Sci., Uppsala, Sweden, 68:6, (1986).
- 16.İzğür,M., Akay,Ö., Uslanoğlu,B., Esendal,Ö., Aydın,F.: Mikrotiter plate'leri kullanarak S.aureus suşlarının protein-A ve koagulaz ativiterinin tanımlanması. İnfeksiyon Derg., 2: 3, 3977-4077, (1988).
- 17.Lack,C.,Glovoville,H.,Kitty,L.A.: Staphylokinase. In methods in enzymology, 19:706, (1976).
- 18.Johnson,W.M., Tyler,S.D., Ewan,E.P., Ashton,F.E., Pollard,D.R. and Rozee,K. R.: Enterotoxigenity of staphylococci. J.Clin. Microbiol., 9:426-430, (1991).
- 19.Kılıçturgay,K., Gökırmak,F., Töre,O., Gedikoğlu,S., Göral,G., Helvacı,S.: Klinik Mikrobiyoloji, 2. Basım, Güneş ve Nobel Tıp Kitabevi, Bursa, (1994).
- 20.Skalka,B., Smalo,J. and Pillich.J.: A simple method of detecting staphylococcal hemolysins. Zbl. Bact. Hyg. I Ab. Orig. A., 245:283-286, (1979).
- 21.Bryce,L.M. and Rauntree,P.M.: The production of beta toxin by staphylococci. J.Pathol.Bacteriol., 43:173-189, (1996).
- 22.Tabassum,R. and Ajmal,M.: Beta-toxin production by Staphylococcus aureus strains from different sources., Pakistan-Vet.J.,3:3,115-118, (1983).
- 23.Edward,M., Hoffman A. and Murray,M.: The antibiotic activity associated with preparations of delta hemolysin of Staphylococcus aureus. Canadian J. Microbiol., 2;115-118, (1985).
- 24.Edwardo,C., Albert,P., Guidry,J., Warren,P., Marquardt,W.: Role of milk productions, serum and divalent cations in protections of mammary epithelial cells of cows against damage by Staphylococcus aureus toxins. AJVR., 57:3, (March,1996).
- 25.Takeuchi,S., Ishiguro,K., Ikegoma,M., Kaidoh.T. and Hayakawa.Y.: Detection of toxic shock syndrome toxin-I gene in Staphylococcus aureus bovine isolates and bulk milk by the polymerase chain reaction. J.Clin. Microbiol., 13:4, (1996).
- 26.Kenny,K.,Reiser,R.F. and Marcos,N.L.: Enterotoxins production of Staphylococcus aureus and properties some of them. J.Clin. Microbiol., 31:706-717, (1993).

## Veteriner Hekimliği Alanında Yayınlanan Makalelerde Kullanılan İstatistik Metodları

Hazırlayan:

Yrd. Doç. Dr. Abdurrahman AKSOY, Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, VAN.

**Alan S. Hammer and C.A. Buffington: Survey of statistical methods used in veterinary medical literature( JAVMA, Vol 205, No. 2, July 15, 1994)'dan özetlenmiştir.**

1992 yılı boyunca Veteriner Hekimliği alanında yayınlanan 6 tane dergi ( JAVMA, AJVR, Journal of the American Animal Hospital Association, Journal of Veterinary Internal Medicine, Veterinary Radiology and Ultrasonography ve Veterinary Surgery ) taranmıştır. İstatistik metodları açısından dergilerde yayınlanan editöre mektuplar, derlemeler, yorumlar ve vaka takdimleri değerlendirmeye alınmamıştır. İncelenen toplam 1062 makalenin 541 (%51) tanesinde ya hiç bir istatistiki metod kullanılmamış veya sadece tanımlayıcı istatistik ( yüzde, ortalama, ortanca ve standart hata gibi değerler ) kullanılmıştır. 305 (%29) makalede yalnız bir metod kullanılmıştır. 206 ( %19) makalede ise birden fazla istatistiki metod kullanılmıştır. 10 ( %1) makalede ise bilinen istatistik metodların dışında metodlar kullanılmıştır (Tablo 1). Varyans analizi en çok kullanılan istatistik metodu olmuştur (249). Veteriner hekimliği alanında 5 istatistiki metod makalelerde kullanılan metodların % 90'ını teşkil etmektedir. Bu metodlar sırasıyla ANOVA ( Varyans analizi ), t-testi, nonparametrik testler, ihtimal tabloları ve basit doğrusal regresyondur.

Tablo 1: 1992 yılı boyunca 6 tane Veteriner Hekimliği'yle ilgili dergide yayınlanan 1062 makalede kullanılan istatistiki metodların dağılımları.

Kullanılan istatistiki metodlar	makale sayısı ve yüzdesi *
Hiç istatistik uygulanmamış veya sadece tanımlayıcı istatistik kullanılmış	541 (%51)
ANOVA	249 (%23)
t-testi	168 (%16)
İhtimal tabloları	118 (%11)
Nonparametrik testler	101 (%9.5)
Basit doğrusal regresyon	35 (%3)
Çoklu regresyon	34 (%3)
Epidemiyolojik istatistikler	27 (%2.5)
Pearson korelasyonu	16 (%1.5)
Güven aralığı	13 (%1.2)
Survey analizi	11 (%1.1)
Nonparametrik korelasyon	6 (%0.6)
Çok yönlü testler	15 (%1.4)
Spesifik olmayan	10 (%1)

\* Parantez içindeki oranların toplamı 100'ü geçmektedir. Bunun sebebi bazı makalelerde 1 den fazla metod kullanılmasından ileri gelmektedir.

olduğu ortaya çıkmıştır. Benzer şekilde New England Journal Medicine'de yayınlanan bir çalışmada, t-testi ve ihtimal tablolarının en çok kullanılan metodlar olduğu ortaya çıkmıştır. Tıp hekimliği ve Veteriner hekimliğinde hiç bir istatistik metodun kullanılmadığı veya sadece tanımlayıcı istatistiğin kullanıldığı makalelerin yüzdesinin birbirine yakın olması çok ilginçtir ( Tıp hekimliğinde % 58 ve Veteriner Hekimliğinde % 51). Veteriner ve Tıp hekimliğinde kullanılan istatistik metodlarının kategorileri Tablo 2'de gösterilmiştir. Kullanılan istatistik metodları zamanla değişebilmektedir. Bu çalışmadaki amaç veteriner hekimliğinde en çok kullanılan istatistik metodların ortaya konulmasıdır.

Tablo 2: Tıp ve Veteriner hekimliğinde kullanılan istatistik metodları ve kategorileri.

Kategori	İstatistiki test ve parametreler
Tanımlayıcı istatistik	Ortalama, ortanca, standart sapma, standart hata ve yüzde.
ANOVA	ANOVA, Kovaryans analizi, F-testi,
t-testi	t-testi (eşli ve eşsiz)
İhtimal tabloları	Ki-kare testi, Fisher testi, McNemar testi.
Nonparametrik testler	İşaret testi, Wilcoxon işaret testi, Mann-Whitney U testi, Kruskal Wallis testi, Kolmogorov-Smirnov testi, Friedman testi
Basit linear regresyon	
Çoklu regresyon	
Epidemiyolojik istatistik	
Pearson korelasyonu	Duyarlılık, Spesifiklik, relatif risk, eşitsizlik oranları
Survey analizi	
Nonparametrik korelasyon	Kaplan-meir g, logaritma, lojistik regresyon
Çok yönlü testler	Spearman's rho, Kendall's tau
	Yukarıda sayılan testlerin dışındaki çok yönlü testler.

Yapılan bu taramada, makalelerde en sık kullanılan istatistiki metodların ANOVA ve t-testi