

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



*Atatürk Üniversitesi
Veteriner Bilimleri Dergisi*

*Atatürk University Journal of
Veterinary Sciences*

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

Yıl/Year: 2015

Cilt/Volume: 10

Sayı/Number: 3

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

*Atatürk Üniversitesi
Veteriner Bilimleri Dergisi*

*Atatürk University Journal of
Veterinary Sciences*

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

Aralık / December

Yıl/Year: 2015

Cilt/Volume: 10

Sayı/Number: 3



Atatürk Üniversitesi
Veteriner Bilimleri Dergisi

ISSN 1306 – 6137
e-ISSN 2147 – 9615

Atatürk University
Journal of Veterinary Sciences

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ ADINA SAHİBİ / OWNER

Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
Dekan / Dean

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Editör / Editor-in-Chief
Doç. Dr. Mustafa Sinan AKTAŞ

Editör Yardımcıları / Associate Editors
Doç. Dr. Ertan ORUÇ
Doç. Dr. Emre KARAKUŞ
Yrd. Doç. Dr. Emrah Hicazi AKSU
Yrd. Doç. Dr. Elif DOĞAN

YAYIN KURULU ÜYELERİ / EDITORIAL BOARD MEMBERS

Dr. Zekai HALICI, TÜRKİYE / TURKEY
Dr. Aleksandra Gorecka-Bruzda, POLONYA / POLAND
Dr. Ardita Jahja-Hoxha, KOSOVA / KOSOVO
Dr. Daniel Zahner, ALMANYA / GERMANY
Dr. Eva Voslarova, ÇEK CUMHURİYETİ / CZECH REPUBLIC

**İngilizce Danışmanı / English
Adviser**

Prof. Dr. Ömer UÇAR

Web Tasarım / Web Designer

Doç. Dr. Adem KARA

Dizgi / Typesetter

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Serkan EROL

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

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

Yazışma Adresi / Correspondence Address

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

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

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

Yıl / Year: 2015

Cilt / Volume: 10

Sayı / Number: 3

DANIŐMA KURULU – ADVISORY BOARD

- Dr. A. Doğan mr, TÜRKİYE.
- Dr. A. Krsat Azkur, TÜRKİYE.
- Dr. A. Mohamed Safiullah, HİNDİSTAN.
- Dr. Abuzer Acar, TÜRKİYE.
- Dr. Adem Kara, TÜRKİYE.
- Dr. Ahmet Ayyıldız, TÜRKİYE.
- Dr. Ahmet Dodoloğlu, TÜRKİYE.
- Dr. Ahmet Gmen, TÜRKİYE.
- Dr. Ahmet Yıldız, TÜRKİYE.
- Dr. Akın KırbaŐ, TÜRKİYE.
- Dr. Ali Belge, TÜRKİYE.
- Dr. Ali Karadeniz, TÜRKİYE.
- Dr. Ali Kaygısız, TÜRKİYE.
- Dr. Ali Rıza Aksoy, TÜRKİYE.
- Dr. Ali Yiđit, TÜRKİYE.
- Dr. Alkan Kamiloğlu, TÜRKİYE.
- Dr. Arif Kurtdede, TÜRKİYE.
- Dr. Armağan olak, TÜRKİYE.
- Dr. Asım Kart, TÜRKİYE.
- Dr. Ayhan Ata, TÜRKİYE.
- Dr. Ayhan Dzler, TÜRKİYE.
- Dr. Aysun evik, TÜRKİYE.
- Dr. Aytekin Gnl, TÜRKİYE.
- Dr. Bahri Bayram, TÜRKİYE.
- Dr. BarıŐ Sarı, TÜRKİYE.
- Dr. BaŐak Hanedan, TÜRKİYE.
- Dr. Betül Apaydın Yıldırım, TÜRKİYE.
- Dr. Bülent Polat, TÜRKİYE.
- Dr. Cahit Kalkan, TÜRKİYE.
- Dr. Canan Bölükbaşı Aktaş, TÜRKİYE.
- Dr. Cavit Aslan, TÜRKİYE.
- Dr. Ceyhan zbeyaz, TÜRKİYE.
- Dr. D. Ali ınar, TÜRKİYE.
- Dr. Demet Çelebi, TÜRKİYE.
- Dr. DervıŐ zdemir, TÜRKİYE.
- Dr. Dilek Muz, TÜRKİYE.
- Dr. Duygu Baki Acar, TÜRKİYE.
- Dr. E. Hicazi Aksu, TÜRKİYE.
- Dr. E. mran Bozkurt, TÜRKİYE.
- Dr. Ebru etin, TÜRKİYE.
- Dr. Ebru Karadađ Sarı, TÜRKİYE.
- Dr. Ekrem Kireci, TÜRKİYE.
- Dr. Ekrem Laçın, TÜRKİYE.
- Dr. Elif Doğan, TÜRKİYE.
- Dr. Emre Karakuş, TÜRKİYE.
- Dr. Emrullah Eken, TÜRKİYE.
- Dr. Erdoğan Uzlu, TÜRKİYE.
- Dr. Erhan zen, TÜRKİYE.
- Dr. Ertan Oruç, TÜRKİYE.
- Dr. Ertuğrul Elma, TÜRKİYE.
- Dr. F. Mehmet Kandemir, TÜRKİYE.
- Dr. Faruk Bozkaya, TÜRKİYE.
- Dr. Fatih Hatipođlu, TÜRKİYE.
- Dr. Fatih Yıldırım, TÜRKİYE.
- Dr. Ferda Belge, TÜRKİYE.
- Dr. Feyyaz nder, TÜRKİYE.
- Dr. Fikret Çelebi, TÜRKİYE.
- Dr. Filiz Akdađ, TÜRKİYE.
- Dr. Funda Bağcıgil, TÜRKİYE.
- Dr. Gaffari Türk, TÜRKİYE.
- Dr. Gökhan Doğruer, TÜRKİYE.
- Dr. Gökhan Eraslan, TÜRKİYE.
- Dr. Güler Yenice, TÜRKİYE.
- Dr. GülŐah anakı Adıgüzel, TÜRKİYE.
- Dr. Gültekin Yıldız, TÜRKİYE.
- Dr. H. Hüseyin Dönmez, TÜRKİYE.
- Dr. Hakan Uslu, TÜRKİYE.
- Dr. Hakan Yalçın, TÜRKİYE.
- Dr. Halis Ođuz, TÜRKİYE.
- Dr. Halit İmik, TÜRKİYE.
- Dr. Hasan Hüseyin Dönmez, TÜRKİYE.
- Dr. Hasan Solmaz, TÜRKİYE.
- Dr. Hatice Erdost, TÜRKİYE.
- Dr. Hayrunnisa Nadarođlu, TÜRKİYE.
- Dr. Hüdaverdi Erer, TÜRKİYE.
- Dr. Hüsamettin Ekici, TÜRKİYE.
- Dr. Hüseyin Karadađ, KIRGIZIĐTAN.
- Dr. Hüseyin Serkan Erol, TÜRKİYE.
- Dr. Hüseyin Yıldız, TÜRKİYE.
- Dr. Irena Celeska, MAKEDONYA.
- Dr. İbrahim Akın, TÜRKİYE.
- Dr. İhsan KeleŐ, TÜRKİYE.
- Dr. İlkey Yalçınkaya, TÜRKİYE.
- Dr. İlker amkerten, TÜRKİYE.
- Dr. İsmail Aytekin, TÜRKİYE.
- Dr. İsmail Bayram, TÜRKİYE.
- Dr. İsmail Hakkı Ekin, TÜRKİYE.
- Dr. İsmail Kaya, Türkiye.
- Dr. K. Kaan TekinŐen, TÜRKİYE.
- Dr. K. S-Genswein, KANADA.
- Dr. Kamran Sharifi, İRAN.
- Dr. Kemal Kırıkı, TÜRKİYE.
- Dr. Kerem Ural, TÜRKİYE.
- Dr. Kübra Terim Kapakin, TÜRKİYE.
- Dr. L. Emrah Yanmaz, TÜRKİYE.
- Dr. Levan Makaradze, GRCİĐTAN.

DANIŐMA KURULU – ADVISORY BOARD

- Dr. Levent Altıntaş, TÜRKİYE.
- Dr. Levent Ergün, TÜRKİYE.
- Dr. M. Akif Yörük, TÜRKİYE.
- Dr. M. Bünyamin Halıcı, TÜRKİYE.
- Dr. M. Çağrı Karakurum, TÜRKİYE.
- Dr. M. Karan Yıldız, TÜRKİYE.
- Dr. M. Özkan Arslan, TÜRKİYE.
- Dr. M. Özkan Timurkan, TÜRKİYE.
- Dr. Mahir Hajiyev, AZERBAYCAN.
- Dr. Mehmet Akan, TÜRKİYE.
- Dr. Mehmet Çay, TÜRKİYE.
- Dr. Mehmet Elmalı, TÜRKİYE.
- Dr. Mehmet Gül, TÜRKİYE.
- Dr. Mehmet Topal, TÜRKİYE.
- Dr. Melih Aksoy, TÜRKİYE.
- Dr. Meral Aydenizöz, TÜRKİYE.
- Dr. Meryem Aydemir Atasever, TÜRKİYE.
- Dr. Meryem Eren, TÜRKİYE.
- Dr. Mete Cihan, TÜRKİYE.
- Dr. Mete Yanar, TÜRKİYE.
- Dr. Metin Bayraktar, TÜRKİYE.
- Dr. Mihai Mares, ROMANYA.
- Dr. Miyase Çınar, TÜRKİYE.
- Dr. Muammer Tilki, TÜRKİYE.
- Dr. Muhamed Katica, BOSNA-HERSEK.
- Dr. Mukadderat Gökmen, TÜRKİYE.
- Dr. Murat Kanbur, TÜRKİYE.
- Dr. Murat Selçuk, TÜRKİYE.
- Dr. Musa Özgür Özyiğit, TÜRKİYE.
- Dr. Mustafa Atasever, TÜRKİYE.
- Dr. Mustafa Garip, TÜRKİYE.
- Dr. Mustafa İssi, TÜRKİYE.
- Dr. Mustafa Kemal Çiftçi, TÜRKİYE.
- Dr. Mustafa Özkaraca, TÜRKİYE.
- Dr. Mustafa Salman, TÜRKİYE.
- Dr. Mustafa Sönmez, TÜRKİYE.
- Dr. Mustafa Tayar, TÜRKİYE.
- Dr. Mürvet Tuncel, TÜRKİYE.
- Dr. N. Deniz Ayaz, TÜRKİYE.
- Dr. Naci Tüzemen, TÜRKİYE.
- Dr. Nazmi Çetin, TÜRKİYE.
- Dr. Necmi Özdemir, TÜRKİYE.
- Dr. Nejdet Şimşek, TÜRKİYE.
- Dr. Nilüfer Sabuncuğlu, TÜRKİYE.
- Dr. Numan Akyol, TÜRKİYE.
- Dr. Nurcan Dönmez, TÜRKİYE.
- Dr. Nurgül Atmaca, TÜRKİYE.
- Dr. O. İrfan İlhak TÜRKİYE.
- Dr. Okan Ertuğrul, TÜRKİYE.
- Dr. Orhan Akman, TÜRKİYE.
- Dr. Ömer Akbulut, TÜRKİYE.
- Dr. Ömer Atalar, TÜRKİYE.
- Dr. Ömer Çoban, TÜRKİYE.
- Dr. Ömer Uçar, TÜRKİYE.
- Dr. Özgür İşleyici, TÜRKİYE.
- Dr. Özgür Kaynar, TÜRKİYE.
- Dr. Pınar Tatlı Seven, TÜRKİYE.
- Dr. S. Serap Birinciöğlü, TÜRKİYE.
- Dr. Sait Şendağ, TÜRKİYE.
- Dr. Savaş Sarıözkan, TÜRKİYE.
- Dr. Seçkin Özkanlar, TÜRKİYE.
- Dr. Sedat Yıldız, TÜRKİYE.
- Dr. Selina Aksak Karameşe, TÜRKİYE.
- Dr. Semiha Dede, TÜRKİYE.
- Dr. Semin Gedikli, TÜRKİYE.
- Dr. Semra Gümüşova, TÜRKİYE.
- Dr. Serkal Gazyağcı, TÜRKİYE.
- Dr. Serpil Sarıözkan, TÜRKİYE.
- Dr. Seval Dağalp, TÜRKİYE.
- Dr. Seyda Cengiz, TÜRKİYE.
- Dr. Seyyal Ak, TÜRKİYE.
- Dr. Songül Çakmakçı, TÜRKİYE.
- Dr. Ş. Hakan Atalgın, TÜRKİYE.
- Dr. Şaban Çelebi, TÜRKİYE.
- Dr. Şahin Aslan, TÜRKİYE.
- Dr. Şükriye Aras Hisar, TÜRKİYE.
- Dr. Taylan Aksu, TÜRKİYE.
- Dr. Tatiana Siskova, RUSYA.
- Dr. Tayfur Bekyürek, TÜRKİYE.
- Dr. Telman İsgenderov, AZERBAYCAN.
- Dr. Turan Karaca, TÜRKİYE.
- Dr. Uğur Uslu, TÜRKİYE.
- Dr. Urfan Turabov, AZERBAYCAN.
- Dr. Ünal Kılıç, TÜRKİYE.
- Dr. Yavuz Cevger, TÜRKİYE.
- Dr. Yıldray Kalkan, TÜRKİYE.
- Dr. Yunusemre Özkanlar, TÜRKİYE.
- Dr. Yusuf Özşensoy, TÜRKİYE.
- Dr. Z. Gökalp Ceylan, TÜRKİYE.
- Dr. Zafer Bulut, TÜRKİYE.
- Dr. Zafer Okumuş, TÜRKİYE.
- Dr. Zahid Ağaoglu, TÜRKİYE.
- Dr. Zekeriya Özüdoğru, TÜRKİYE.
- Dr. Zeynep Karapınar, TÜRKİYE.

Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 2015; 10(3)

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

- Prof. Dr. Ahmet DODOLOĞLU, Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Arif KURTDEDE, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Armağan ÇOLAK, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Gaffari TÜRK, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Ömer UÇAR, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Yunusemre ÖZKANLAR, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Ali Haydar KIRMIZIGÜL, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Gökhan DOĞRUER, Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. İlkey YALÇINKAYA, Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. İsmail Hakkı EKİN, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Levent ALTINTAŞ, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Mehmet TOPAL, Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Mustafa SALMAN, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Naim Deniz AYAZ, Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Özgür KAYNAR, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Serkan ERAT, Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Ünal KILIÇ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Zafer BULUT, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Yrd. Doç. Dr. Dilek MUZ, Namık Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Yrd. Doç. Dr. Yusuf ÖZŞENSOY, Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Yrd. Doç. Dr. Zeynep KARAPINAR, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.

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

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Araştırma Makaleleri / Research Articles

Sayfa
Page

► Ferhat POLAT, Taylan AKSU. Determination of Aflatoxin Levels of Feeds Used in Dairy Cow Farms and Their Effects on Blood Parameters and Milk Aflatoxin Levels in Hatay Province (<i>Hatay İli Süt İneği İşletmelerinde Kullanılan Yemlerin Aflatoksin Düzeylerinin Belirlenmesi ve Bu Yemlerin Kan Parametreleri ile Sütteki Aflatoksin Düzeyleri Üzerine Etkisi</i>).	146-155
► Ertan Emek ONUK, Yüksel DURMAZ, Alper ÇİFTÇİ, Gökmen Zafer PEKMEZCİ, Yunus KILIÇOĞLU. Çeşitli Balık Türlerinden İzole Edilen Patojen Bakteriler ve Antibiyotik Direnç Profilleri (<i>Antibiotic Resistance Profiles of Bacterial Pathogens Isolated from Various Fish Species</i>).	156-164
► Berna AKMAN, İlkay YALÇINKAYA. Sarıkamış Yöresinde Yetiştirici Bilgilerine Dayanarak Büyükbaş Hayvan Beslenme Durumunun Değerlendirilmesi (<i>The Evaluation of Feeding Status of Large Animals Based on Farmers Knowledge in Sarikamis Region</i>).	165-170
► Kayacan SEYRANOĞLU, Öznur ASLAN. Kazeöz Lenfadenitise Karşı Aşılama Kuzularda E Vitamini ve Selenyum Kombinasyonunun Oksidatif Cevap Üzerine Etkileri (<i>Effects of Vitamin E and Selenium Combination on Oxidative Response in Lambs Vaccinated Against Caseous Lymphadenitis</i>).	171-178
► M. Kuddusi ERHAN, Ş.Canan BÖLÜKBAŞI AKTAŞ, Hilal ÜRÜŞAN. Etlik Piliç Yemlerine İlave Edilen Yarpuz'un (<i>Mentha Pulegium L</i>) Doku Yağ Asidi Kompozisyonu ve Raf Ömrüne Etkileri (<i>The Effects of Supplementation of Pennyroyal (Mentha Pulegium L) on Meat Fatty Acid Composition and Shelf-Life in Broilers</i>).	179-185
► Mehmet Özkan TİMURKAN, Hakan AYDIN, Sema BELEN. Erzurum Bölgesinde Sığırlarda Respiratorik Coronavirus Enfeksiyonunun RT-PCR ile Tespiti ve Moleküler Karakterizasyonu (<i>The Detection and Molecular Characterization of Bovine Respiratory Coronavirus Infection by RT-PCR in Erzurum</i>).	186-192
Olgu Sunumları / Case Reports	
► Mükremin Özkan ARSLAN, Ali Haydar KIRMIZIGÜL, Nilgün PARMAKSIZOĞLU, Ekin Emre ERKILIÇ. Eimeria zuernii ile Doğal Enfekte Buzağılarda Kış Koksidiyozisi Olgusu (<i>A Case of Winter Coccidiosis in Calves Naturally Infected by Eimeria zuernii</i>).	193-197
Derlemeler / Reviews	
► Orçun CANNAZİK, Bülent POLAT. İneklerde Postpartum Dönemde Endometritisin Sınıflandırılması ve Tanımlanmasında Kullanılan Muayene Yöntemleri (<i>Examination Methods for Characterization and Definition of Endometritis in Postpartum Period in Cows</i>).	198-204
► Deniz PEKÇOK, Emrah Hicazi AKSU. Sığırlarda Östrus Senkronizasyonu ile Birlikte Kullanılan Döl Tutma Oranını Etkileyen Faktörler (<i>Practices Affecting the Conception Rates Following Oestrus Synchronisation in Cattle</i>).	205-210
► Mustafa HİTİT, Ercan KURAR, Aydın GÜZELOĞLU. MikroRNA Biyogenezisi (<i>MicroRNA Biogenesis</i>).	211-218



Determination of Aflatoxin Levels of Feeds Used in Dairy Cow Farms and Their Effects on Blood Parameters and Milk Aflatoxin Levels in Hatay Province*

Ferhat POLAT¹✉, Taylan AKSU²

1. Central Research Institute of Food and Feed Control, Bursa, TURKEY.

2. Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutritional Disease, Van, TURKEY.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
15.01.2015	18.04.2015	20.12.2015

Abstract: In the study, AFB₁ and total aflatoxin levels of roughages and concentrates from twenty dairy farms in Hatay, AFB₁ carry over rate (CO) from feed to milk as AFM₁ and correlation between total aflatoxin intake and blood parameters were investigated. In none of the roughage samples, AFB₁ levels was over 5 ppb while the concentrates of 9 farms were found to be above 5 ppb legal limit. The average AFB₁ levels of concentrates and roughages, and the average AFB₁ intake were 4.496 ppb, 1.282 ppb and, 15.987 µg/day, respectively. A total of one hundred milk samples were collected by taking five dairy cows from each farm. The two of milk samples were found to be exceeded the level of 0.05 ppb of the AFM₁ level that is the statutory limit in Turkey. The average AFM₁ level of the farms was 0.0214 ppb and none exceeded the legal limit. The average CO rate of farms was found to be 2.66%. The correlation coefficients were not significant between total aflatoxins intake and blood parameters. As a result, the AFM₁ excretion in milk was related to AFB₁ intake and milk yield. In dairy cows, a daily intake of AFB₁ 37.3 µg at maximum level should not be exceeded to stay in the statutory limit for AFM₁ in milk.

Keywords: AFB₁, AFM₁, Blood Parameters, HPLC, Total Aflatoxin.

Hatay İli Süt İneği İşletmelerinde Kullanılan Yemlerin Aflatoksin Düzeylerinin Belirlenmesi ve Bu Yemlerin Kan Parametreleri ile Sütteki Aflatoksin Düzeyleri Üzerine Etkisi

Öz: Araştırmada, Hatay ilinde faaliyet gösteren 20 süt sığırcı işletmesinde kullanılan kaba ve konsantre yemlerde AFB₁ ve total aflatoksin düzeyleri, yemle tüketilen AFB₁'in süte taşınma oranı (SO) ve alınan total aflatoksin düzeyleri ile kan parametreleri arasındaki korelasyon incelendi. Dokuz işletmede konsantre yem AFB₁ düzeyi 5 ppb üzerinde yer alırken, kaba yem örneklerinin hiçbirinde AFB₁ miktarı 5 ppb düzeyini aşmadı. Konsantre ve kaba yemlerdeki ortalama AFB₁ düzeyi ile ortalama AFB₁ tüketimi sırasıyla 4.496 ppb, 1.282 ppb ve 15.987 µg/gün olarak tespit edildi. Her işletmeden 5 baş süt sığırcı olmak üzere toplam 100 baş hayvandan süt örnekleri alındı. İncelenen süt örneklerinden sadece ikisinde AFM₁ miktarı Türkiye için yasal limit olan 0.05 ppb üzerinde tespit edildi. İşletmelerin ortalama AFM₁ düzeyi 0.0214 ppb olarak tespit edilirken, hiçbir işletmenin ortalama AFM₁ miktarı yasal limiti aşmadı. Süte AFM₁ taşınma oranı ortalama % 2.66 olarak belirlendi. Yemle alınan total aflatoksin miktarları ile kan parametreleri arasındaki korelasyon katsayıları önemsiz bulundu. Sonuç olarak, sütle AFM₁ atılımının süt verimi ve yem tüketimi ile bağlantılı olduğu ve süte yasal AFM₁ düzeyinin aşılmaması için sütçü ineklerde günlük 37.3 µg'ın altında AFB₁ tüketilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: AFB₁, AFM₁, HPLC, Kan Parametreleri, Total Aflatoksin.

✉ Ferhat POLAT

Central Research Institute of Food And Feed Control, Bursa, TURKEY.

e-mail: polatum@gmail.com

* This study was summarized from PhD thesis of Ferhat Polat entitled as "Determination of Aflatoxin Levels of Feeds Used in Dairy Cow Farms in Hatay Province and Their Effects on Blood Parameters and Milk Aflatoxin Levels".

INTRODUCTION

Mycotoxins are secondary fungal metabolites synthesized by toxigenic fungi species in the presence of appropriate chemical, physical and biological factors. They can be produced in crops and food commodities during the pre- or post-harvesting period (1,2). Aflatoxins, ochratoxins, trichothecenes, zearalenones, fumonisins, tremorgenic toxins and ergot alkaloids are the mycotoxins of greatest agro-economic importance (3,4).

The maximum tolerated levels of AFB₁ in feedstuffs range from 5 to 50 µg/kg (5). The acceptable critical aflatoxin levels are 0.20 mg/kg (ppm) for single feedstuffs like corn, barley and soybeans, and 0.05 mg/kg (ppm) for mixed rations of sheep, goats and cattle (6). AFM₁ levels in milk and milk products are also quite important when human daily milk consumption is considered. In order to protect the consumer from the harmful effects of aflatoxin, the maximum level of AFM₁ in milk and milk products is restricted by many governments, as is the level of AFB₁ in feedstuffs (7). The defined maximum limit is 0.5 µg/kg in the USA and 0.05 µg/kg in the European Union, Africa, Asia and Latin America (8,9).

After biotransformation of AFB₁ in the liver, it is secreted into milk in the mammary gland as AFM₁ (10). Small amounts of AFM₁ are known to appear in milk within a few hours after the feed containing AFB₁ is consumed (11). The absorption of aflatoxin and its excretion with milk as AFM₁ varies between individuals, days and lactation periods. In the literature, it was found that 3% of consumed aflatoxin in feed is transferred into milk (8,12). However, milk yield may have a large effect on the AFM₁ excretion (8,13). High-yielding dairy cows could show high excretion rates up to 6%. This is due to the relatively high consumption of concentrates and the alteration of the blood-milk barrier due to high milk production or various systemic diseases and mammary infections (9,14,15). As a rule, it is said that animals should consume less than 40 µg/d of AFB₁ in

order not to exceed the allowed limits of AFM₁ in Europe (13).

Intense global commercial activity of vegetal food and raw feed materials, changing climatic conditions, increasing environmental pollution and traditional and poor agricultural practices of many developing countries could all increase the mycotoxin contamination risk in feed materials produced. In this context, it is also quite important to follow worldwide prevalence of mycotoxins for Turkey, as a food and feed importing country (16). In addition to this, it is essential for Turkey to create a local mycotoxin map to prepare a national mycotoxin strategy.

The present study was carried out to determine the presence and intensity of aflatoxin in the feed used in dairy cow farms in Hatay and in the milk of animals that consume those feeds.

MATERIALS and METHODS

For the study, a total of five Holstein cows with similar characteristics (aged from 3 to 6 years-old, weighed 350-450 kg and had passed peak lactation period) were selected from 20 different dairy farms. Every farm was considered to be one group. Procedures for management and animal care were approved by the Animal Ethics Committee of Mustafa Kemal University on 05.02.2010 (approval number; 2010/1/14).

Feed materials consisted of roughages and concentrated feeds served to animals for daily consumption. Singly collected roughage and concentrated feed samples were subjected to extraction processes according to a method as described by the AOAC (17) and analyzed with a high-performance liquid chromatography (HPLC) device (Shimadzu Class VP).

Each milk sample from the animals was taken into a 250 ml container 3-5 h after feeding. Samples were subjected to extraction processes according to the method offered by EN ISO 14501 (18) and R-Biopharm (19) and analyzed with an HPLC device

(Shimadzu Class VP). The carry over rate was calculated by using the proportion of the daily amount of consumed AFB₁ to excreted AFM₁ with daily milk production (13,14,20).

The blood samples were taken from each animal simultaneously with milk samples. After the syneresis, blood sera were analyzed to test the levels of serum triglyceride (TG), blood urea nitrogen (BUN), creatinine (CR) and total protein (TP) using the Konelab 60i Clinical Chemistry Analyzer (Thermo Electron Co, Finland) and the enzyme activities of serum aspartate aminotransferase (AST), alanine amino transferase (ALT), alkaline phosphatase (AP), gamma-glutamyl transferase (GGT) using the Autoanalyzer (Refletron Roche). Total cholesterol (TC) was tested using Refletron brand kits.

Statistical Analysis

Spearman's correlation was applied to the values not showing a normal distribution after a normality test to determinate the correlation between the total aflatoxins (AFB₁, AFB₂, AFM₁, AFM₂) consumed and blood parameters, and also between the amount of AFB₁ consumed and the amount of AFM₁ formed in milk (21). All the statistical analyses were performed with the SPSS 16.0 (2007) software package.

RESULTS

A total of 68 feed samples were analyzed: 46 concentrated feed samples (67.7%) and 22 roughage samples (32.3%) collected from the farms. Detected AFB₁ and total aflatoxin levels in the feeds are given in Table 1.

None of the concentrated feed samples had an AFB₁ level exceeding 20 ppb, while samples from 9 farms (45%) had an AFB₁ level over 5 ppb. The AFB₁

level was unable to be determined in one farm's concentrates (Farm 9).

The highest AFB₁ value in concentrated feeds was 7.503 ppb (Farm 7) and the mean AFB₁ was 4.496 ppb. Commercial compound feeds had the highest AFB₁ levels among the 46 concentrated feed samples examined. The mean AFB₁ level of all samples was 3,812 ppb. Four of 15 commercial compound feeds' (27%) AFB₁ levels were determined to be above 5 ppb.

It was observed that both AFB₁ and total aflatoxin levels of roughage samples were lower than in concentrated feeds. None of the measured values of roughages exceeded an AFB₁ level of 20 ppb, as the statutory limit for feed commodities in Turkey. However, in roughage samples gathered from 8 farms (40%), no AFB₁ level could be determined. None of the 22 samples were over 5 ppb. The highest value of AFB₁ in the roughage samples was 4.711 ppb (Farm 11), and the mean was 1.282 ppb.

In the study, 2% of 100 total milk samples gathered from 20 farms were above the 0.05 ppb limit AFM₁ level (Table 2). The average AFM₁ level (0.0214 ppb) of all farms was under 0.05 ppb, as the statutory limit in Turkey and the EU. AFM₁ levels were detected to be between the 0.02-0.04 ppb range in 11 farms (55%) and under 0.02 ppb in 8 farms (40%). Only one farm's AFM₁ level reached 0.04-0.05 ppb, which is on the verge of unacceptable level of AFM₁.

Farm-based means of blood parameters analyzed including the activities of AST, ALT, AP, GGT, and the levels of creatinine, cholesterol, triglycerides, total protein and blood urea nitrogen were given in Table 3. No correlation was found between the total amounts of aflatoxin consumed with feed and blood parameters (Table 4).

Table 1. Detected AFB₁ and total aflatoxin levels of feed samples in farms.**Tablo 1.** İşletmelerdeki yem örneklerinde tespit edilen AFB₁ ve toplam aflatoxin düzeyleri.

Farms	AFB ₁ (ppb)			Total AFB ₁ Values of Farms	Total Aflatoxin (ppb)			Total Aflatoxin Values of Farms
	Concentrates	/	Roughages		Concentrates	/	Roughages	
1	3.543	/	ND	3.543	7.151	/	ND	7.151
2	0.098	/	1.571	1.669	0.118	/	2.596	2.714
3	2.823	/	ND	2.823	2.897	/	ND	2.897
4	4.983	/	1.314	6.297	17.235	/	3.241	20.476
5	7.396	/	ND	7.396	21.640	/	ND	21.640
6	4.758	/	ND	4.758	5.512	/	ND	5.512
7	7.503	/	2.418	9.921	16.342	/	4.107	20.449
8	0.722	/	ND	0.722	1.297	/	ND	1.297
9	ND	/	3.131	3.131	ND	/	4.914	4.914
10	7.166	/	ND	7.166	18.192	/	ND	18.192
11	3.882	/	4.711	8.593	4.013	/	11.132	15.145
12	6.260	/	ND	6.260	6.581	/	ND	6.581
13	7.239	/	2.420	9.659	22.033	/	2.420	24.453
14	5.341	/	2.466	7.807	12.920	/	5.855	18.775
15	6.735	/	ND	6.735	14.750	/	ND	14.750
16	5.484	/	1.436	6.920	12.807	/	3.532	16.339
17	4.134	/	2.158	6.292	4.492	/	2.840	7.332
18	5.217	/	0.536	5.753	10.381	/	1.074	11.455
19	4.797	/	1.968	6.765	5.662	/	5.615	11.277
20	1.847	/	1.506	3.353	4.281	/	1.506	5.787
Average	4.496	/	1.282	5.778	9.415	/	2.442	11.857

ND: Not Determined (Tespit Edilmedi).

Table 2. General profile of animals presented in farms and transition rate of AFB₁ into milk as AFM₁ (carry over rate).**Tablo 2.** İşletmelerde mevcut hayvanlara ait genel profil ve AFB₁'in süte AFM₁ olarak geçiş düzeyi (süte geçiş oranı).

Farm	AFB ₁ of Roughages (µg/day)	AFB ₁ of Concentrates (µg/day)	Total AFB ₁ Intake (µg/day)	Milk AFM ₁ Levels (µg/l)	Average Milk Yield (kg/day)	Carry Over Rate (%)
1	0.000	6.838	6.838	0.0091	21.0	2.81
2	6.928	0.283	7.211	0.0104	19.0	2.75
3	0.000	8.006	8.006	0.0128	17.4	2.99
4	4.625	11.628	16.253	0.0214	21.0	2.77
5	0.000	29.769	29.769	0.0368	25.0	3.09
6	0.000	10.420	10.420	0.0126	23.0	2.77
7	8.777	18.182	26.959	0.0372	20.4	2.81
8	0.000	1.537	1.537	0.0018	20.8	2.41
9	17.189	0.000	17.189	0.0204	27.0	3.21
10	0.000	27.870	27.870	0.0337	27.0	3.26
11	24.627	13.509	38.136	0.0462	26.0	3.15
12	0.000	19.144	19.144	0.0234	21.0	2.57
13	5.881	11.707	17.588	0.0254	10.8	1.56
14	5.129	7.421	12.550	0.0211	12.4	2.08
15	0.000	13.317	13.317	0.0182	20.0	2.73
16	4.480	11.381	15.861	0.0231	17.0	2.48
17	5.697	7.288	12.985	0.0208	15.0	2.40
18	2.231	14.608	16.839	0.0211	23.4	2.94
19	5.156	8.452	13.608	0.0197	14.0	2.03
20	4.202	3.454	7.656	0.0108	16.8	2.37
Average	4.746	11.241	15.987	0.0214	19.9	2.66

Table 3: Farm-based means of blood parameters analyzed.**Tablo 3:** Analiz edilmiş kan parametrelerinin işletme bazlı ortalamaları.

Farm	AST	ALT	ALP	GGT	TC	BUN	CR	TP	TG
	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(g/dl)	(mg/l)
1	93.76	24.48	50.60	20.04	211.00	20.20	1.12	7.30	19.20
2	166.60	40.90	64.56	37.48	272.00	17.00	0.76	5.84	16.00
3	119.80	54.00	48.26	43.42	217.60	27.60	0.94	6.28	18.20
4	129.20	50.62	44.46	23.92	277.80	11.20	0.98	6.96	21.00
5	128.32	30.90	47.76	41.66	140.20	18.40	1.04	6.60	10.60
6	101.22	32.04	34.04	51.52	136.60	15.60	0.96	6.62	18.40
7	126.46	60.24	54.10	30.92	252.00	15.40	0.98	6.28	18.20
8	128.34	47.88	63.04	37.68	239.20	8.40	1.06	6.46	14.80
9	119.80	50.62	59.34	33.04	273.60	17.80	0.84	6.88	13.80
10	115.60	49.84	58.78	33.20	215.80	19.80	0.90	6.44	15.20
11	135.32	52.76	54.84	30.20	268.80	15.40	0.90	6.80	9.40
12	117.54	35.98	63.40	27.44	240.20	14.60	0.98	6.46	7.40
13	113.94	31.72	63.06	27.72	189.80	12.80	0.98	6.46	24.80
14	105.62	31.08	64.04	42.38	162.60	16.60	0.98	6.82	7.80
15	128.40	39.28	41.44	28.62	287.80	19.20	1.04	6.86	8.80
16	96.82	40.20	62.52	23.44	193.60	12.80	0.98	6.96	15.00
17	113.78	31.72	52.40	26.44	124.00	14.60	1.14	6.84	14.00
18	106.00	20.28	66.08	32.10	205.40	16.20	1.08	6.52	6.60
19	107.58	31.44	42.24	23.56	156.60	13.40	0.94	7.14	15.80
20	127.04	33.02	40.44	26.28	211.20	10.00	1.20	7.38	7.60
Average	119.06	39.45	53.77	32.05	213.79	15.85	0.99	6.70	14.13

AST: Aspartate Aminotransferase; ALT: Alanine Amino Transferase; AP: Alkaline Phosphatase; GGT: Gamma-glutamyl Transferase; TC: Total Cholesterol; BUN: Blood Urea Nitrogen; CR: Creatinine; TP: Total Protein, TG: Triglyceride.

Table 4. Farm-based correlations between total aflatoxin intake and blood parameters.**Tablo 4.** Toplam aflatoksin tüketimi ile kan parametreleri arasındaki işletme bazlı korelasyon.

Total Aflatoxin Intake	Parameters								
	AST	ALT	AP	GGT	TC	BUN	CR	TP	TG
Correlation Coefficients	0,110	0,062	0,050	-0,146	0,057	0,045	-0,109	0,010	-0,070
P	0,322	0,398	0,418	0,27	0,405	0,425	0,324	0,484	0,385
N	20	20	20	20	20	20	20	20	20

AST: Aspartate Aminotransferase; ALT: Alanine Amino Transferase; AP: Alkaline Phosphatase; GGT: Gamma-glutamyl Transferase; TC: Total Cholesterol; BUN: Blood Urea Nitrogen; CR: Creatinine; TP: Total Protein, TG: Triglyceride.

DISCUSSION and CONCLUSION

Nutritional materials with available carbohydrate and fat contents get moldy faster (22). Because concentrated feeds have more available carbohydrate and fat contents, they generally have more aflatoxin than roughages.

The findings of the present study are in parallel with the findings of similar previous studies (23-26) showing that the concentrates, primarily commercial compound feeds, had a higher proportion of aflatoxin level compared to other feed materials. In contrast with these findings, Polat (27) found higher AFB₁ rates in roughages compared to the concentrated feeds. However, the higher amount of mycotoxins in roughages could have been based on the tough climatic conditions of the area and/or warehousing feeds contaminated with rainwater or snow that were not well-dried after harvesting.

The term carry-over (CO) refers to the passage of undesired compounds from contaminated feed into food of animal origin (28). It is determined by the proportion of the daily amount of consumed AFB₁ to excreted AFM₁ with daily milk yield by many researchers (13,14,20). In a meta-analysis of transition rates, Pettersson (29) found that the CO rate of AFB₁ to milk was between 0.18-3.24% before 1985 and 0.32-6.2% after. Similarly, Polovinski-Horvatovic et al. (30) reported a CO level from feed to milk ranging from 0.3 to 6.2%. Several researchers reported that there was a linear relationship between the amount of AFM₁ in milk and AFB₁ in feed consumed by dairy cattle (31). Similarly, Karakaya and Atasever (32) reported a positive correlation (+0.329) between the AFB₁ contents of

feed and the AFM₁ level of milk. Even so, it was stated that milk yield is the major factor affecting the AFM₁ excretion. Thus, higher milk yield results in higher AFM₁ excretion (8,14,15). Veldman et al. (13) reported that 40 kg/d milk yielding cows show a higher CO rate (3.8%) than lower yielding cows with 16 kg/d. Similarly, Britzi et al. (33) determined that the average CO rate was 2.5% for under 35 kg/d milk yielding cows in late lactation, while it was 5.4% for over 35 kg/d milk yielding cows in mid-lactation. In the present study, the mean milk yield of 100 cows as all passed the peak lactation period was 19.9 kg/d, and the measured carry-over rate was 2.66% (min. 1.56%, max: 3.26%). There was a linear relationship between the consumed AFB₁ and the excreted AFM₁ into milk (r^2 : 0,940).

A seasonal effect of aflatoxin M₁ concentration has been reported in some studies, in which it was observed a higher concentration of AFM₁ in cold seasons than in hot seasons because farmers tend to use higher amounts of compound feeds in winter (34). In other words, animals consume less concentrated feeds in summer because they also graze on pasture. In a previous study, Çeçen (35) showed that pasturing has an important effect on the decrease of AFM₁ in milk. In that study, 30 samples from animals feeding with compound feeds in the barn and 31 samples from pasturing animals were investigated. It was found that only one milk sample of pasturing animals had AFM₁ (3.22%), while 23 samples from animals feeding in the barns (76.66%) had AFM₁. The present study was carried out in summer, so it is likely that the AFM₁ data obtained was affected by pasturing and the use of a lower amount of concentrates in the rations. It was determined that 0.0214 ppb AFM₁ was formed in the milk of cows consuming 15.987 µg/d of AFB₁. In accordance with this, it was determined that in order not to exceed the 0.05 ppb statutory limit of AFM₁ for Turkey and the EU, animals should consume below 37.3 µg/d AFB₁. These results are similar to the findings of Veldman et al. (13) who reported that daily consumption of AFB₁ levels should be less than 40 µg so as not to exceed the maximum AFM₁ limit.

In the present study, no correlation was observed between the total aflatoxin intake, the activities of AST, ALT, AP and GGT, and the levels of creatinine, cholesterol, triglycerides, total protein and blood urea nitrogen. These results are similar to those of previous studies indicating that the parameters studied were also unaffected by aflatoxin intake (36,37). However, there were different results for some of these parameters in some previous studies (24,38). The reason for these differences is likely due to the individually varying effects of aflatoxin intake on blood parameters or the intensity of the dose received, as well as whether there was chronic or acute aflatoxin exposure.

As a result, the average carry-over rate of AFB₁ in feedstuffs to AFM₁ in milk was measured as 2.66% in the present study; therefore, it is concluded that animals should consume AFB₁ below 37.3 mg/d so as not to exceed the statutory AFM₁ limit of dairy cows in Turkey.

REFERENCES

1. Agag Bl., 2004. Mycotoxin in food and feeds 1-aflatoksin. The Assiut University Bulletin For Environmental Researches, Vol. 7 No: 1.
2. Bryden WL., 2007. Mycotoxins in the food chain: human health implications. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 16, 95-101.
3. Hussein HS., Brasel JM., 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology, 167, 101-134.
4. Zain ME., 2011. Impact of mycotoxins on humans and animals. Journal of Saudi Chemical Society, 15, 129-144.
5. FAO (Food and Agriculture Organization), 2004. Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003; FAO Food and Nutrition Paper 81. FAO/ UN; Rome, Italy.
6. Aydın N., 2007. Hayvan sağlığında mikotoksinler ve mikotoksikozis. İnfeksiyon Dergisi, 21, 37-46.
7. Van Egmond HP., Schothorst RC., Jonker MA., 2007. Regulations relating to mycotoxins in food: perspectives in a global and European context. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 389, 147-157.
8. Masoero F., Gallo A., Moschini M., Piva G., Diaz D., 2007. Carryover of aflatoxin from feed to milk in dairy cows with low or high somatic cell counts. Animal, 1, 1344-1350.
9. Fink-Gremmels J., 2008. Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: a review. Food Additives & Contaminants, 25, 172-180.
10. Oruç HH., 2003. Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M1 (AFM1) ve Türkiye'deki durumu. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 1-2-3, 121-125.
11. Harris B., Staples CR., 2003. The problems of mycotoxins in dairy cattle rotations. Department of Animal Science document DS31. University of Florida/IFAS, Gainesville, FL 32611.
12. Diaz DE., Hagler Jr WM., Blackwelder JT., Eve JA., Hopkins BA., Anderson KL., Jones FT., Whitlow LW., 2004. Aflatoxin binders II: reduction of aflatoxin M1 in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. Mycopathologia, 157, 233-241.
13. Veldman A., Meijs JAC., Borggreve GJ., Heeresvan der Tol JJ., 1992. Carry-over of aflatoxin from cows' food to milk. Animal Production, 55, 163-168.
14. EFSA, 2004. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to aflatoxin B₁ as undesirable substance in animal feed. The EFSA Journal, 39, 1-27.
15. Jouany JP., Yiannikouris A., Bertin G., 2009. Risk assessment of mycotoxins in ruminants and ruminant products. In "Nutritional and foraging ecology of sheep and goats", Eds., Papachristou TG., Parissi ZM, Ben Salem H., Morand-Fehr P., 85, 205-224. Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens, CIHEAM/FAO/NAGREF; Zaragoza, Spain.
16. Aksu T., Baytok E., 2011. İnsan ve hayvan sağlığı açısından bitmeyen tehlikeye güncel bir yaklaşım (Yem-gıda maddelerinde mikotoksin bulaşıklığı). Yem Magazin, 61, 59-64.

17. AOAC, 2003. Official method 2003.02; Aflatoxin B₁ in cattle feed immunoaffinity column liquid chromatography method first action. Association of Official Analytical Chemists; Washington DC, USA.
18. EN ISO 14501, 2007. Milk and milk powder- Determination of aflatoxin M₁ content- Clean-up by immunoaffinity chromatography and determination by high-performance liquid chromatography. International Organization for Standardization; Geneva, Switzerland.
19. R-Biopharm, 2005. Aflatoxin M₁ Test, Ref:A11-RP71/70N.V2. R-Biopharm Rhone ltd; Darmstadt, Germany.
20. Frobish RA., Bradley BD., Wagner DD., Long-Bradley PE., Hairston H., 1986. Aflatoxin residues in milk of dairy cows after ingestion of naturally contaminated grain. *Journal of Food Protection*, 49, 781-785.
21. Failla LJ., Lynn D., Niehaus Jr WG., 1986. Correlation of Zn²⁺ content with aflatoxin content of corn. *Applied and Environmental Microbiology*, 52, 73-74.
22. Şanlı Y., 2002. Veteriner Klinik Toksikoloji. Genişletilmiş 2.Baskı, 487-548. Medipres Yayınları, Ankara.
23. Juszkiwicz T., Piskorska-Pliszczynska J., 1992. Occurrence of mycotoxins in animal feeds. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 11, 211-215.
24. Bingöl NT., Tanrıtanır P., Dede S., Ceylan E., 2007. Influence of aflatoxin present in forages and concentrated feedstuffs on milk and some serum biochemical parameters in goats. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 51, 65-69.
25. Sugiyama K., Hiraoka H., Sugita-Konishi Y., 2008. Aflatoxin M₁ contamination in raw bulk milk and the presence of aflatoxin B₁ in corn supplied to dairy cattle in Japan. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, 49, 352-355.
26. Udom IE., Ezekiel CN., Fapohunda SO., Okoye ZSC., Kalu CA., 2012. Incidence of aspergillus section flavi and concentration of aflatoxin in feed concentrates for cattle in Jos. Nigeria. *Journal of Veterinary Advances*, 2, 39-46.
27. Polat N., 2012. Erzurum ili süt sığırcı işletmelerinde alınan kaba ve konsantre yem örneklerinde total aflatoxin, aflatoxin B₁ ve okratoksin ile sütte aflatoxin M₁ düzeylerinin tespiti. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
28. Völkel I., Schröer-Merker E., Czerny CP., 2011. The Carry-Over of mycotoxins in products of animal origin with special regard to its implications for the European food safety legislation. *Food and Nutrition Sciences*, 2, 852-867.
29. Pettersson H., 2004. Controlling mycotoxins in animal feed. In "mycotoxins in food, detection and control", Eds., Magan N., Olsen M., 262-304, Woodhead Publication, Cambridge.
30. Polovinski-Horvatovic MS., Juric VB., Glamocic D., 2009. The frequency of occurrence of aflatoxin M₁ in milk on the territory of vojvodina. *Proc Nat Sci Matica Srpska Novi Sad*, 116, 75-80.
31. Yitbarek MB., Tamir B., 2013. Mycotoxines and/or aflatoxines in milk and milk products: review. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Science (ASRJETS)*, 4, 1-32.
32. Karakaya Y., Atasever M., 2010. Mısır silajında aflatoxin B₁ varlığının ve süte geçme durumunun araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16, 123-127.
33. Britzi M., Friedman S., Miron J., Solomon R., Cuneah O., Shimshoni JA., Soback S., Ashkenazi R., Armer S., Shlosberg A., 2013. Carry-over of aflatoxin B₁ to aflatoxin M₁ in high yielding Israeli cows in mid- and late-lactation. *Toxins*, 5, 173-183.
34. Mohammadi H., 2011. A review of aflatoxin M₁, milk, and milk products. In "Aflatoxins - Biochemistry and Molecular Biology", Ed., Ramon G. Guevara-Gonzalez, 397-414. InTech Open Access.
35. Çeçen A., 2009. Ahırda ve merada beslenen hayvanların sütlerinde aflatoxin M₁ oluşumunun

- karşılaştırılması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
36. Applebaum RS., Marth EH., 1983. Responses of dairy cows to dietary aflatoxin: concentration of blood serum constituents and hormones associated with liver-kidney dysfunction and maintenance of lactation. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 18, 381-386.
37. Battacone G., Nudda A., Palomba M., Mazzette A., Pulina G., 2009. The transfer of aflatoxin M₁ in milk of ewes fed diet naturally contaminated by aflatoxins and effect of inclusion of dried yeast culture in the diet. *Journal of Dairy Science*, 92, 4997-5004.
38. Akkaya MR., 2011. Süt sığırlarında aflatoksin B₁ içeren yemlerin toksin bağlayıcılar ile kontrolü ve aflatoksin M₁ oluşumunun saptanması. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.



Çeşitli Balık Türlerinden İzole Edilen Patojen Bakteriler ve Antibiyotik Direnç Profilleri*

Ertan Emek ONUK¹, Yüksel DURMAZ², Alper ÇİFTÇİ³, Gökmen Zafer PEKMEZCİ¹, Yunus KILIÇOĞLU²

1. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun, TÜRKİYE.
2. Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü, Samsun, TÜRKİYE.
3. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
13.01.2015	20.03.2015	20.12.2015

Öz: Bu çalışma, Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü, Balık Hastalıkları Teşhis Laboratuvarı'na 2009-2014 yılları arasında hastalık teşhis amacıyla kabul edilen yabancı, çiftlik ve akvaryum balıklarının bakteriyolojik identifikasyon sonuçlarını ve izole edilen bakteri türlerinin antibiyotik duyarlılık profillerini retrospektif olarak değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bakterilerin identifikasyonunda konvansiyonel kültür çalışmalarını takiben Vitek 2 otomatize sistemi kullanılmıştır. Çalışmada 132 balık örneği incelenmiş ve 7'si Gökkuşuğu alabalıklarından (4 *Aeromonas sobria*, 2 *Yersinia ruckeri* ve 1 *Hafnia alvei*), 4'ü Sazanlardan (2 *A. sobria* ve 2 *A. salmonicida*), 2'si Tatlısu Kefallerinden (1 *A. sobria* ve 1 *H. alvei*), 2'si Diskus balıklarından (1 *Citrobacter freundii* ve 1 *Pseudomonas aeruginosa*), 1'i Levreklerden (*Listonella anguillarum*), 1'i Karadeniz alabalıklarından (*P. fluorescens*), 1'i Mersin balıklarından (*L. anguillarum*) ve 1'i Yunus balığından (*A. salmonicida*) olmak üzere toplam 19 bakteri tür düzeyinde tanımlanmıştır. Disk Difüzyon metodu ile izolatların 14 antibiyotiğe karşı *in vitro* duyarlılık testi yapılmıştır. Kullanılan antibiyotikler içerisinde en yüksek direnç oranlarının amoksisilin (%89.5), ampisilin (%82.3) ve eritromisin'e (%78.9), karşı şekillendiği, en düşük direnç oranının ise enrofloksasin'e (%5.3) karşı şekillendiği saptanmıştır. Akvaryum balıklarından izole edilen iki izolatın en az 11 antibiyotiğe karşı direnç gösterdiğinin saptanması dikkat çekici bir bulgu olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, balık hastalıklarının tedavisinde uygun antimikrobiyel ajanların seçilmesinin önemini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, Balık, Retrospektif çalışma.

Antibiotic Resistance Profiles of Bacterial Pathogens Isolated from Various Fish Species

Abstract: The present study was performed to evaluate retrospectively the bacteriological identification results from wild, culture and aquarium fish admitted to the Fish Diseases Diagnostic Laboratory at the Veterinary Control Institute of Samsun for disease diagnose from 2009 to 2014 as well as the antimicrobial susceptibility profile of isolated bacteria. Vitek 2 automated systems were used following bacterial identifications with conventional culture methods. In the study, 132 samples were analyzed and a total of 19 isolates were identified. Of the isolates, 7 were isolated from Rainbow trout (4 *Aeromonas sobria*, 2 *Yersinia ruckeri* and 1 *Hafnia alvei*), 4 from Common carp (2 *A. sobria* and 2 *A. salmonicida*), 2 from Chub (1 *A. sobria* and 1 *H. alvei*), 2 from Discus fish (1 *Citrobacter freundii* and 1 *Pseudomonas aeruginosa*), 1 from Sea bass (*Listonella anguillarum*), 1 from Black Sea trout (*P. fluorescens*), 1 from Sturgeon (*L. anguillarum*), and 1 from Dolphin (*A. salmonicida*). The isolates were analyzed using 14 different antibiotics by Disc Diffusion method for *in vitro* susceptibility test. Among the antibiotics used, the highest resistance rates were detected against amoxicillin (89.5%), ampicillin (82.3%) and erythromycin (78.9%), while the lowest resistance rate was detected against enrofloxacin (5.3%). The remarkable finding of the study was two aquarium fish originated isolates showed antibiotic resistance against at least 11 antimicrobials. The present results showed the importance of choosing appropriate antimicrobial agents for treatment of fish diseases.

Keywords: Antibiotic resistance, Fish, Retrospective study.

[✉]Ertan Emek ONUK

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun, TÜRKİYE.
e-posta: eonuk@omu.edu.tr

* Bu çalışma XI. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi'nde (uluslararası katılımlı) poster olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Akuakültür en hızlı büyüyen hayvansal kökenli gıda üreten sektör olmaya devam etmektedir (1). Bilimsel ve teknolojik gelişmelerin su ürünleri sektörüne uyarlanması ile ülkemiz su ürünleri üretiminde de hızlı bir artış görülmektedir (2) ve her yıl su ürünleri yetiştiriciliği ile sağlanan ürün miktarı giderek artmaktadır. Nitekim 2011 ve 2012 yılı verileri karşılaştırıldığında toplam üretim içerisinde yetiştiricilik yoluyla elde edilen üretimin yaklaşık %6'lık bir artışla %26.8'den %32.9'a yükseldiği görülmektedir (3,4). Su ürünleri üretiminde yaşanan hızlı gelişim sürecini olumsuz yönde etkileyen faktörlerin başında enfeksiyöz hastalıklar ile bunların yol açtığı sağlık sorunları ve ekonomik zararlar yer almaktadır. Akvaryum balıkçılığında da benzer durum söz konusudur. Özellikle balıkların çoğunun ithal edilmesi ve çevre kirliliğinin artması gibi nedenler, ülkemizde gerek kültür gerekse akvaryum balıkları arasında tehlikeli enfeksiyonların çıkma olasılığını arttırmaktadır (5).

Türkiye'de kültür, akvaryum ve doğa balıklarda görülen bakteriyel hastalıklar genellikle *Aeromonas* sp., *Yersinia ruckeri*, *Lactococcus garvieae*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Vibrio* sp., *Photobacterium damsela* subsp *damsela*, *Pseudomonas* sp., türlerinden kaynaklanmaktadır (6-14).

Günümüzde, balıkların farklı bakteriyel hastalıklara karşı korunmasında kemoterapetik ajanların kullanımı ve aşılama uygulamaları sıklıkla başvurulan yöntemlerdir. Ancak bu yöntemler sağlıklı intestinal mikrofloranın profilini değiştirebilmekte ve balıklarda strese neden olmaktadır. İlaçların aşırı kullanımı immunsupresyon, nefrotoksitite, büyüme geriliği, antibakteriyel direnç kazanımı, çevresel problemler ve balık dokusunda kalıntı gibi bir çok tehlikeli sonucu da beraberinde getirmektedir

(15,16,17). Bununla birlikte su ürünleri yetiştiriciliğinde antimikrobiyal ajanların kullanımı balık patojenlerinden ve diğer akuvatik bakterilerden kazanılmış tipte antimikrobiyal direnç gelişimine neden olması sebebiyle halk sağlığı açısından da bir risk oluşturmaktadır. Akuvatik ortamda bulunan dirençli bakteriler direnç genleri için rezervuar olarak görev yapabilir ve bu genleri insan patojenlerine yayabilirler. Bu durum akuvatik çevreden insanlara horizontal gen transferi ile antimikrobiyal direncin indirekt yayılması olarak gösterilmektedir. Ayrıca, bazı akuvatik bakteriler (örneğin, bazı *Vibrio* türleri) insan patojenleri olarak kabul edilmekle birlikte, diğer bakteriyel türler insanlarda fırsatçı patojenler olabilmektedirler. İnsanlarda bu gruptaki antimikrobiyal ajanlara karşı dirençli bakteriler tarafından oluşturulan enfeksiyonlar antimikrobiyal direncin akuvatik çevreden direkt yayılması olarak gösterilmektedir (18).

Hastalıkların önlenmesi ve kontrolü için en etkin stratejilerden biri ulusal hastalık izleme ve bildirim sistemlerinin kurulmasıdır. Bu bağlamda yapılacak epidemiyolojik çalışmalar büyük önem taşımaktadır. Bu çalışma ile Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü, Balık Hastalıkları Teşhis Laboratuvarında 2009-2014 yılları arasında identifiye edilen bakteriyel balık patojenlerinin ve antibiyotik duyarlılık profillerinin retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmanın materyal kısmını Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü, Balık Hastalıkları Teşhis Laboratuvarına 2009-2014 yılları arasında hastalık teşhis amacıyla kabul edilen farklı türdeki (72 Gökkuşluğu alabalığı, 9 Karadeniz alabalığı, 18 Sazan, 3 Mersin balığı, 15 Levrek, 10 Tatlısu kefalı, 4 Diskus balığı, 1 Yunus) toplam 132 balık örneği

oluşturmuştur. Örneklerin mikrobiyolojik analizi klasik kültür metotları ve otomatize sistemler kullanılarak yapılmıştır.

Bakteriyel İzolasyon ve İdentifikasyon

Bakteriyel izolasyon için balık örneklerinin vücut yüzeyi %70'lik etil alkolle silindikten sonra aseptik bir şekilde iç organlarından (karaciğer, dalak ve böbrek) ve varsa vücut yüzeyindeki lezyonlu bölgelerden Trypticase soy agar, Brain Heart Infusion (BHI) agar, Thiosulfate Citrate Bile Sucrose agar, McConkey agar (Oxoid, İngiltere) ve Shotts-Waltman agar'a ekimleri yapıp besiyerleri 22 °C'de 24-72 saat inkubasyona bırakılmıştır. Deniz balıklarından bakteriyel izolasyon için besi yerlerine % 1.5 NaCl ilave edilmiştir (19,20).

Bakterilerin identifikasyonunda konvansiyonel kültür çalışmalarını takiben Vitek 2 (bio-Merieux, Fransa) otomatize sistemi kullanılmıştır. Bakteriyel identifikasyon Gram boyama, hareket muayenesi, oksidaz ve katalaz testleri, Vibriostat ajan (O/129) duyarlılık testi, orto-nitrofenil-beta-galaktosidaz testlerini takiben glikoz fermantasyon, gaz oluşturma, laktoz fermantasyon, mannitol fermantasyon, üre hidroliz, oksidasyon, arjinin dihidrolaz, lizin dekarboksilaz, ornitin dekarboksilaz, nitrat redüksiyon, Voges-Proskauer, metil red, indol ve jelatin hidrolaz testlerinin değerlendirilmesiyle yapılmıştır (20,21).

Antibiyotik Duyarlılık Testi

İzolatların antibiyotiklere olan duyarlılıklarının belirlenmesinde disk diffüzyon yöntemi kullanılmıştır (22). İzolatların amoksisilin (10 µg), ampisilin (10 µg), enrofloksasin (5 µg), eritromisin (15 µg), florfenikol (30 µg), kanamisin (30 µg), neomisin (30 µg), oksitetrasiklin (30 µg), oksolinik asit (2 µg), sefoperazon (75 µg), trimetoprim (5 µg), trimetoprim+sulfametoksazol (25 µg) (Oxoid, İngiltere), flumekuini (30 µg) ve gentamisin (10 µg) (Bioanalyse, Türkiye) olmak üzere 14 farklı antibiyotiğe karşı direnç profilleri belirlendi. Bu

amaçla her bir bakteri BHI agarda 22 °C'de 24-48 saat inkubasyona bırakılarak subkültüre edilmiştir. Elde edilen bakteri subkültürleri McFarland 0.5 standardına göre hazırlanmış ve süspansiyonlarının her birinden 0.1 ml alınarak Müeller-Hinton agara yayma tarzında ekimleri yapılmıştır. Daha sonra ekim yapılan petrilere antibiyotik diskleri yerleştirilerek 22 °C'de 24-48 saat inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon sonrası diskler etrafında oluşan inhibisyon zon çapları ölçülmüş, sonuçlar referans değerlerle karşılaştırılmıştır (23).

BULGULAR

Çalışmada 132 balık örneği incelenmiş ve 7'si Gökkuşuğu alabalıklarından (4 *A. sobria*, 2 *Y. ruckeri* ve 1 *H. alvei*), 4'ü sazanlardan (2 *A. sobria* ve 2 *A. salmonicida*), 2'si tatlısu kefallerinden (1 *A. sobria* ve 1 *H. alvei*), 2'si Diskus balıklarından (1 *C. freundii* ve 1 *P. aeruginosa*), 1'i levreklerden (*L. anguillarum*), 1'i Karadeniz alabalıklardan (*P. fluorescens*), 1'i Mersin balıklarından (*L. anguillarum*) ve 1'i Yunus balığından (*A. salmonicida*) olmak üzere toplam 19 bakteri tür düzeyinde identifiye edilmiştir. İdentifiye edilen bakteriler, konakçı dağılımları ve antibiyotik direnç profillerine ait bilgiler Tablo 1'de sunulmuştur. Bu türlerden 14'ü yetiştiriciliği yapılan türlerden (grup 1-14), 3'ü doğadaki vahşi balıklardan (grup 15-17) ve 2'si akvaryum balıklarından (grup 18, 19) elde edilmiştir. İzole edilen bakteri türlerinin çalışmada kullanılan antibiyotiklere karşı değişik oranda direnç profillerine sahip oldukları belirlenmiştir. En yüksek direnç oranlarının %89.5 ile amoksisilin'e, %82.3 ile ampisilin ve %78.9 ile eritromisin'e, karşı şekillendiği, en düşük direnç oranının ise %5.3 ile enrofloksasin'e, takiben %10.5 ile florfenikol, gentamisin, kanamisin ve neomisin'e karşı şekillendiği görülmüştür. İzolatlar karşı orta düzeyde direnç saptanamamıştır (Tablo 2).

Tablo 1. Çalışmada identifiye edilen bakteriyel türler, izolasyon yılları, konakçı dağılımları ve antibiyotik direnç profilleri.**Table 1.** Bacterial strains identified in the study, isolation years, host ranges and antibiotic resistance profiles.

Balık Türü	Yer	İzolasyon Yılı	İzole Edilen Bakteri	Dirençli Bulunan Antibiyotikler	Duyarlı Bulunan Antibiyotikler	
1	Levrek	Samsun	2009	<i>L. anguillarum</i>	E, AMP, AML	CN, CFP, K, FLM, W, OT, N, OA, ENR, SXT, FFC
2	Sazan	Samsun	2011	<i>A. sobria</i>	E, AMP, AML	CN, CFP, K, FLM, W, OT, N, OA, ENR, SXT, FFC
3	Sazan	Samsun	2011	<i>A. sobria</i>	E, AMP, AML, SXT	CN, CFP, K, FLM, W, OT, N, OA, ENR, FFC
4	Sazan	Samsun	2011	<i>A. salmonicida</i>	AML, SXT	CN, CFP, K, FLM, W, E, AMP, OT, N, OA, ENR, FFC
5	Mersin Balığı	Amasya	2012	<i>L. anguillarum</i>	AMP, AML	CN, CFP, K, FLM, W, E, OT, N, OA, ENR, SXT, FFC
6	Alabalık	Giresun	2012	<i>H. alvei</i>	E, AMP, AML	CN, CFP, K, FLM, W, OT, N, OA, ENR, SXT, FFC
7	Alabalık	Amasya	2012	<i>A. sobria</i>	CN, CFP, W, AMP, AML, OT, OA	K, FLM, E, N, ENR, SXT, FFC
8	Alabalık	Samsun	2013	<i>Y. ruckeri</i>	E	CN, CFP, K, FLM, W, AMP, AML, OT, N, OA, ENR, SXT, FFC
9	Alabalık	Samsun	2013	<i>Y. ruckeri</i>	E, SXT	CN, CFP, K, FLM, W, AMP, AML, OT, N, OA, ENR, FFC
10	Alabalık	Rize	2013	<i>A. sobria</i>	E, AMP, AML	CN, CFP, K, FLM, W, OT, N, OA, ENR, SXT, FFC
11	Sazan	Samsun	2013	<i>A. salmonicida</i>	E, AMP, AML	CN, CFP, K, FLM, W, OT, N, OA, ENR, SXT, FFC
12	Karadeniz Alabalığı	Sivas	2014	<i>P. fluorescens</i>	FLM, W, E, AMP, AML, SXT, FFC	CN, CFP, K, OT, N, OA, ENR,
13	Alabalık	Sivas	2014	<i>A. sobria</i>	E, AMP, AML, OT, N, SXT	CN, CFP, K, FLM, W, OA, ENR, FFC
14	Alabalık	Sivas	2014	<i>A. sobria</i>	AML	CN, CFP, K, FLM, W, E, AMP, OT, N, OA, ENR, SXT, FFC
15	Tatlısu Kefali	Ordu	2012	<i>H. alvei</i>	CFP, K, E, AMP, AML	CN, FLM, W, OT, N, OA, ENR, SXT, FFC
16	Tatlısu Kefali	Giresun	2012	<i>A. sobria</i>	W, E, AML	CN, CFP, K, FLM, AMP, OT, N, OA, ENR, SXT, FFC
17	Yunus	Samsun	2012	<i>A. salmonicida</i>	CFP, E, AMP, AML	CN, K, FLM, W, OT, N, OA, ENR, SXT, FFC
18	Diskus	Samsun	2012	<i>C. freundii</i>	CN, CFP, FLM, W, E, AMP, AML, OT, OA, SXT, FFC	K, N, ENR,
19	Diskus	Samsun	2012	<i>P. aeruginosa</i>	K, FLM, W, E, AML, N, OA, ENR, AMP, SXT	CN, CFP, OT, FFC

AML: Amoksisilin (10µg), AMP: Ampisilin (10µg), CFP: Sefoperazon (75µg), CN: Gentamisin (10µg), E: Eritromisin (15µg), ENR: Enrofloksasin (5µg), FFC: Florfenikol (30µg), FLM: Flumequin (30µg), K: Kanamisin (30µg), N: Neomisin (30µg), OA: Oksolinik asit (2µg), OT: Oksitetrasiklin (30µg), SXT: Trimetoprim+sulfametoksazol (25µg), W: Trimetoprim (5µg).

Tablo 2. İzolatların antibiyotik direnç oranları.**Table 2.** Antibiotic resistance rates of isolates.

İzole Edilen Bakteriler	<i>A. sobria</i> (n=7)		<i>A. salmonicida</i> (n=3)		<i>C. freundii</i> (n=1)		<i>H. alvei</i> (n=2)		<i>L. anguillarum</i> (n=2)		<i>P. fluorescens</i> (n=1)		<i>P. aeruginosa</i> (n=1)		<i>Y. ruckeri</i> (n=2)		Toplam (n=19) R (%)
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R			
Amoksisilin	-	7	-	3	-	1	-	2	-	2	-	1	-	1	2	-	17 (89.5)
Ampisilin	2	5	1	2	-	1	-	2	-	2	-	1	-	1	2	-	14 (82.3)
Enrofloksasin	7	-	3	-	1	-	2	-	2	-	1	-	-	1	2	-	1 (5.3)
Eritromisin	2	5	1	2	-	1	-	2	1	1	-	1	-	1	-	2	15 (78.9)
Florfenikol	7	-	3	-	-	1	2	-	2	-	-	1	1	-	2	-	2 (10.5)
Flumequin	7	-	3	-	-	1	2	-	2	-	-	1	-	1	2	-	3 (15.8)
Gentamisin	6	1	3	-	-	1	2	-	2	-	1	-	1	-	2	-	2 (10.5)
Kanamisin	7	-	3	-	1	-	1	1	2	-	1	-	-	1	2	-	2 (10.5)
Neomisin	6	1	3	-	1	-	2	-	2	-	1	-	-	1	2	-	2 (10.5)
Oksitetrasiklin	5	2	3	-	-	1	2	-	2	-	1	-	1	-	2	-	3 (15.8)
Oksolinik asit	6	1	3	-	-	1	2	-	2	-	1	-	-	1	2	-	3 (15.8)
Sefoperazon	6	1	2	1	-	1	1	1	2	-	1	-	1	-	2	-	4 (21)
Trimetoprim	5	2	3	-	-	1	2	-	2	-	-	1	-	1	2	-	5 (26.3)
Trimetoprim-sulfametoksazol	5	2	2	1	-	1	2	-	2	-	-	1	-	1	1	1	7 (36.8)

TARTIŞMA ve SONUÇ

Su ürünleri yetiştiriciliği yoluyla besin üretimi dünyada en hızlı büyüyen gıda üreten sektör olmasına rağmen, hastalıklar dünyanın birçok bölgesinde sektörün büyümesini birincil olarak sınırlamakta ve ülkelerin hem ekonomik hem de sosyo-ekonomik gelişimini ciddi şekilde engellemektedir (1,24). Patojen etkenlerin coğrafik dağılım ve konakçı aralığının hızlı bir şekilde değişim göstermesi, potansiyel tehlikelere karşı hızlı bir şekilde yanıt verilmesi veya gelecekteki epizootilerin engellemesinde hastalıkların izlenmesinin önemini göstermektedir.

Ülkemizde kültür balıklarının türlere göre dağılımı incelendiğinde en yüksek yetiştiriciliği yapılan balık türünün, toplam su ürünleri yetiştiriciliğinin %52.4'ünü oluşturan, iç sulardaki alabalık olduğu görülmektedir, Bunu % 30.8 ile levrek, %14.5 ile çipura takip etmektedir. Alabalık (deniz) ve aynalı sazan (iç su) üretimleri de diğerlerini takip etmektedir (3). Yetiştiricilik sistemlerinde görülen hastalık etkenlerinin büyük bir bölümü de bu türler üzerinde saptanmaktadır. Yetiştiricilik sistemlerinden identifiye edilen bakteriyel etkenlerin konakçı dağılımı incelendiğinde bu türlerin Mersin balığı hariç başlıca yetiştiriciliği yapılan türlerden elde edildiği görülmektedir. Alabalık (*A. sobria*, *Y. ruckeri*, *P. fluorescens* ve *H. alvei*), sazan (*A. sobria* ve *A. salmonicida*) ve levreklerden (*L. anguillarum*) izole edilen bakteri türlerinin, genellikle en sık bildirim yapılan hastalık etkenleri arasında yer aldığı görülmektedir (9-11,14,25,26). Genç Rus Mersin balıklarında (*Acipenser gueldenstaedtii*) daha önceden *A. hydrophila*'nın tek başına veya *F. hydatis* ile karma enfeksiyon şeklinde bakteriyel hemorajik septisemi oluşturduğu bildirilmiştir (27). Ancak Türkiye'de Mersin balıklarından *L. anguillarum*'un elde edildiğine dair bir bulguya rastlanılmamıştır.

Çiftlik balıkları ile yabani balık popülasyonları arasında patojen mikroorganizma transferi kaçınılmazdır. Çiftliklerdeki yüksek stok yoğunluğu enfeksiyonların hızlı bir şekilde bulaşmasına ve klinik hastalıkların görülmesine neden olmaktadır. Patojenler su yoluyla çiftlik içerisinde ve çiftlikler arasındaki kafesler veya havuzlarda yayılabilmektedirler. Dolayısıyla, su ürünleri yetiştiriciliği yeni patojenlerin ortaya çıkması, yerleşmesi ve bulaşması için uygun bir ortam sağlamaktadır (28). Çalışmamızda doğadaki yabani kefallerden *A. sobria* ve *H. alvei* ve yunus balığından ise *A. salmonicida* izole edilmiştir. Yabani balık popülasyonlarından izole edilen bu izolatların ekonomik öneme sahip kültür balıkları için potansiyel bir enfeksiyon kaynağı olabileceği düşünülmektedir.

Akvaryum balıklarında zoonotik potansiyele sahip bakteri türleri bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda ülkemizde lepistes ve Japon balığı gibi ornamental balık türlerinde *P. fluorescens*, *Aeromonas* spp. ve *Mycobacterium* spp. gibi zoonoz öneme sahip bakterilerin izole edildikleri bildirilmiştir (7,8,29). Bu çalışmada Diskus balıklarından *C. freundii* ve *P. aeruginosa* gibi hem insanlarda hem de balıklarda enfeksiyona yol açan bakteriyel türler identifiye edilmiştir.

Su ürünleri yetiştiriciliğinde antimikrobiyal ajanların yoğun kullanımı ilaç dirençli bakterileri, transfer edilebilen direnç genleri taşıyan balık patojenleri ve akuvatik çevredeki diğer bakterileri içeren rezervuarlarının oluşturulmasında seçici bir baskı sağlamaktadır. Bu rezervuarlardan, direnç genleri horizontal gen transferi yoluyla yayılarak insan patojenlerine ulaşabilir veya akuvatik çevredeki ilaç dirençli patojenler direkt olarak insanlara ulaşabilmektedir. Horizontal gen transferi akuvatik çevrede, besin zincirinde veya insanların intestinal kanalında gerçekleşebilir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal ajanlar

arasından bazıları Dünya Sağlık Örgütü tarafından insanlarda kullanımı kritik önemli olarak sınıflandırılmıştır. İnsan patojenlerinde bu antimikrobiyal ajanlara direncin varlığı meydana gelecek enfeksiyonlarda tedavi seçeneklerini ciddi olarak sınırlamaktadır (18). Dolayısıyla antibakteriyel dirençliliğin ve yoğun antibakteriyel ilaç kullanımının izlenmesi hayati önem taşımaktadır.

Çalışmada kullanılan antibiyotik diskleri içerisinde en yüksek direnç oranının amoksisilin'e (%89.5) karşı şekillendiği, en düşük direnç oranının ise enrofloksasin'e (%5.3) karşı şekillendiği saptanmıştır. İki hariç (8 ve 14 numaralı izolatlar) izolatların tamamının iki veya daha fazla sayıda antibiyotiğe karşı çoklu ilaç direnci gösterdiği saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda yetiştiricilik sistemlerinden elde edilen izolatlarda farklı derecede antibiyotik dirençlilikleri bildirilmiştir. Akşit ve Kum (30) Gökkuşığı alabalıklarından izole ettikleri *A. salmonicida*, *Y. ruckeri* ve *L. anguillarum* izolatlarının enrofloksasin ve florfenikol'e karşı %80'nin üzerinde duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda kültür balıklarından izole edilen tüm etkenlerinin enrofloksasin'e karşı %100, florfenikol'e karşı ise %92.8 oranında duyarlı olduğu saptanmıştır. Bir başka çalışmada Korun ve Toprak (31) gökkuşığı alabalıklarının barsağından izole ettikleri hareketli *Aeromonas* etkenlerinin tamamının (*A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*) ampicillin'e karşı dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Gökkuşığı alabalıklarından izole edilen 36 *A. sobria* izolatının antimikrobiyel direnç profillerinin değerlendirildiği başka bir çalışmada da %60'ın üzerinde izolatın ampicillin'e karşı dirençli olduğu, izolatlarının %97.2'sinin oksolonik asit'e %91.7'sinin florfenikol'e duyarlı olduğu saptanmıştır (32). Bu çalışmada alabalıklardan izole edilen *A. sobria* (n=4) izolatlarından 14 numaralı izolat hariç hepsi ampicillin'e karşı dirençli bulunmuştur. *A. sobria* izolatlarının oksolonik asit ve florfenikol'e karşı

sırasıyla %75 ve %100 oranında yüksek düzeyde duyarlı olduklarının belirlenmesi Çiftçi ve ark., (32)'in sonuçlarıyla uyum sağlamaktadır. Türkiye'de Karadeniz, Akdeniz, Ege ve Orta Anadolu bölgelerinde yetiştiriciliği yapılan Gökkuşığı alabalıklardan izole edilmiş 97 *Y. ruckeri* izolatının antimikrobiyel direnç profillerinin değerlendirildiği çalışmada Onuk ve ark. (10) izolatların 52'sinin eritromisin'e, 42'sinin neomisin'e karşı dirençli olduğunu, izolatların %75.3'ünün ise amoksisilin, ampicillin, enrofloksasin, oksitetrasiklin ve trimetoprim'e karşı duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda benzer sonuçlar elde edilmekle birlikte neomisin'e karşı direnç saptanamamıştır. Ayrıca akvaryum balıklarından izole edilen iki izolatın en az 11 antibiyotiğe karşı direnç gösterdiğinin saptanması çalışmada elde edilen dikkat çekici bir bulgu olarak değerlendirilmiştir.

Ege bölgesi ve çevresinden sağlanmış olan doğa ve kültür balığı izolatları üzerinde yapılan bir çalışmada, kültür balıklarından izole edilen bakterilerin doğa balıklarından izole edilen bakterilere oranla antibiyotiklere daha dirençli oldukları belirlenmiş ve bunun muhtemel sebebi kültür balıkçılığı sektöründeki aşırı ya da yanlış antibiyotik uygulamaları olduğu bildirilmiştir (9). Ancak bu çalışmada doğa ve kültür balığı izolatlarının antimikrobiyel direnç profilleri arasında Avsever ve ark. (9)'un bildirdiği gibi kesin bir sınır çizilmemiştir. Doğa balığı izolatlarının tamamının amoksisilin ve eritromisin'e karşı dirençli olduğu, kültür balığı izolatlarının ise bu iki antibiyotiğe karşı sırasıyla %85.7 ve %71.4 oranında dirençli olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, çalışmada kültürü yapılan balık türlerinden izole edilen *A. salmonicida*, *A. sobria*, *H. alvei*, *L. anguillarum*, *P. fluorescens* ve *Y. ruckeri* gibi patojen bakterilerde çoklu ilaç direncinin yüksek oranda saptanması balık hastalıklarının tedavisinde

uygun antimikrobiyel ajanların seçilmesinin önemini ortaya koymaktadır. Özellikle akvaryum balığı kökenli izolatların (18 ve 19 nolu) yüksek düzeyde çoklu direnç profiline sahip olmaları, insanlarda olası hastalıkların tedavi sürecinde güçlükler yaşanmasına neden olabileceğini düşündürmektedir. Çoklu ilaç direncine sahip bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların sayısının en aza indirilmesi için tedavi bakteriyolojik tanıya dayandırılmalıdır. Ayrıca su ürünleri yetiştiriciliğinde antibiyotik dirençli bakterilerin yayılmasının engellenmesi için aşırı ve bilinçsiz antibiyotik kullanımının yasal sınırlamalar ve düzenli kontrollerle önüne geçilmelidir.

KAYNAKLAR

- Subasinghe R., 2009. Disease control in aquaculture and the responsible use of veterinary drugs and vaccines: the issues, prospects and challenges. *Options Mediterraneennes*, 86, 5-11.
- Harlioglu AG., 2011. Present status of fisheries in Turkey. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 21, 667-680.
- Türkiye İstatistik Kurumu (TUİK), 2012. Su Ürünleri İstatistikleri 2011, Türkiye İstatistik Kurumu Matbaası, Ankara.
- Türkiye İstatistik Kurumu (TUİK), 2013. Su Ürünleri İstatistikleri 2012, Türkiye İstatistik Kurumu Matbaası, Ankara.
- Arda M., Seçer S., Sarıeyyüpoğlu M., 2005. Balık hastalıkları, II. Baskı, 209-218, Medisan Yayınevi, Ankara.
- Tanrıkul TT., Çağırğan H., 2001. Doğadaki kefal balıklarında görülen Pasteurellosis salgını. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 18, 509-512.
- Akaylı T., Korun J., 2004. Bir lepistes üretim ünitesindeki balıklarda (*Poecilia reticulata*) *Pseudomonas fluorescens* ile birlikte görülen flavobacteriosis olgusu. *İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dergisi*, 30, 133-142.
- Korun J., Toprak BH., 2007. Japon (*Carassius auratus*) balıklarından izole ve identifiye edilen *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae* ve *A. sobria* türlerinin antibiyotik hassasiyetleri, hemolitik aktiviteleri ve siderofor üretimleri üzerine bir çalışma. *Türk Sucul Yasam Dergisi*, 3, 776-782.
- Avsever ML., Türk N., Tunalıgil S., 2010. Akuakültür sektöründe artan antibiyotik dirençliliği ve insan sağlığına etkileri. *Bornova Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 32, 19-23.
- Onuk EE., Çiftçi A., Fındık A., Çiftçi G., Altun S., Balta F., Özer S., Çoban AY., 2011. Phenotypic and molecular characterization of *Yersinia ruckeri* isolates from Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) in Turkey. *Berliner und Munchener Tierärztliche Wochenschrift*, 124, 320-328.
- Avsever ML., Onuk EE., Türk N., Tunalıgil S., Eskiizmirliler S., İnçoğlu Ş., Yabanlı M., 2012. Ege bölgesinde kültüre edilen levrek ve çipuralardaki pasteurellosis vakaları ve bu vakalardan izole edilen diğer bakteriler. *Bornova Veteriner Bilimleri Dergisi*, 34, 9-16.
- Durmaz Y., Onuk EE., Çiftçi A., 2012. Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi gökkuşağı alabalığı çiftliklerinde (*Oncorhynchus Mykiss* Walbaum, 1792) *Flavobacterium psychrophilum* varlığının ve antibiyotik duyarlılıklarının incelenmesi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 59, 141-146.
- Altun S., Onuk EE., Çiftçi A., Büyükekiz AG., Duman M., 2013. *Lactococcus garvieae* suşlarının fenotipik, genotipik karakterizasyonu ve antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19, 375-381.
- Onuk EE., Fındık A., Turk N., Altun S., Korun J., Ozer S., Avsever ML., Ciftci A., 2013. Molecular identification and determination of some virulence genes of *Aeromonas* spp. in fish and water from Turkish coastal regions. *Revue de Medecine Veterinaire*, 164, 200-206.
- Smith P., Hiney MP., Samuelsen OB., 1994. Bacterial resistance to antimicrobial agents used in fish farming: a critical evaluation of method

- and meaning. Annual Review of Fish Diseases, 4, 273-313.
16. Björklund HV., Rabergh CMI., Bylund G., 1991. Residues of oxolinic acid and oxytetracycline in fish and sediments from fish farms. Aquaculture, 97, 85-96.
 17. Inglis V., Robertson D., Miller K., Thompson KD., Richards RH., 1996. Antibiotic protection against recrudescence of latent *Aeromonas salmonicida* during furunculosis vaccination. Journal of Fish Diseases, 19, 341-348.
 18. Heuer OE., Kruse H., Grave K., Collignon P., Karunasagar I., Angulo FJ., 2009. Human health consequences of use of antimicrobial agents in aquaculture. Clinical Infectious Diseases, 49, 1248-1253.
 19. Waltman WD., Shotts EB., 1984. A medium for the isolation and differentiation of *Yersinia ruckeri*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 41, 804-808.
 20. Austin B., Austin DA., 2007. Bacterial Fish Pathogens: disease of farmed and wild fish, 4th ed., 215-235, Praxis Publishing, Chichester, UK.
 21. Buller NB., 2004. Bacteria from fish and other aquatic animals: A practical identification manual. 117-138, CABI Publishing, Wallingford.
 22. Bauer AW., Kirby WM., Sherris JC., Turck M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinic Pathology, 45, 493-496.
 23. CLSI, 2013. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-third informational supplement. CLSI document M100-S23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
 24. Subasinghe RP., 2005. Epidemiological approach to aquatic animal health management: opportunities and challenges for developing countries to increase aquatic production through aquaculture. Preventive Veterinary Medicine, 67, 117-124.
 25. Özkök S., 2005. Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) görülen önemli bakteriyel etkenlerin tespiti ve antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Enstitüsü Dergisi, 16, 1-11.
 26. Tel OY., İrgare G., Karahan M., Keskin O., 2007. Şanlıurfa Balıklıgöl balıklarından *Aeromonas hydrophila* izolasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanması. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi, 18, 1-4.
 27. Timur G., Akaylı T., Korun J., Yardımcı RE., 2010. Türkiye'de genç kültür Rus Mersin balıklarında (*Acipenser gueldenstaedtii*) görülen bakteriyel hemorajik septisemi üzerinde bir çalışma. İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 25, 19-27.
 28. Murray AG., Peeler EJ., 2005. A framework for understanding the potential for a emerging diseases in aquaculture. Preventive Veterinary Medicine, 67, 223-235.
 29. Baş B., 2013. Japon balıklarında (*Carrasius auratus*) *Mycobacterium* spp. izolasyonu. Bornova Veteriner Bilimleri Dergisi, 5, 25-30.
 30. Akşit D., Kum C., 2008. Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) sık görülen patojen mikroorganizmaların tespiti ve antibiyotik duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 19, 1-7.
 31. Korun J., Toprak BH., 2010. Kültürü yapılan gökkuşluğu alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*)'nın barsağından izole edilen hareketli *Aeromonas* suşlarının antibiyotik hassasiyetleri üzerine NaCl'ün etkisi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 16, 193-198.
 32. Çiftçi A., Onuk EE., Çiftçi G., Fındık A., Söğüt MÜ., Gülhan T., 2015. Gökkuşluğu alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1972) izole edilen *Aeromonas sobria* suşlarının fenotip ve genotip yönünden karşılaştırmalı analizi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 21, 585-592.



Sarıkamış Yöresinde Yetiştirici Bilgilerine Dayanarak Büyükbaş Hayvan Beslenme Durumunun Değerlendirilmesi*

Berna AKMAN¹, İlky YALÇINKAYA²✉

1. Gıda Tarım ve Hayvancılık İlçe Müdürlüğü, Sarıkamış, Kars, TÜRKİYE.
2. Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Kırıkkale, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
04.04.2015	29.05.2015	20.12.2015

Öz: Bu çalışma, Sarıkamış ilçesinde büyükbaş hayvan yetiştirici bilgilerine dayanarak işletme yapıları, hayvanların beslenmesinde kullanılan yem çeşitleri, miktarları, analizleri ve hayvan besleme alışkanlıklarını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Anket çalışması Sarıkamış'ta bulunan 68 işletmede yapılmıştır. İşletmelerin %77.94'ü büyük (11 ve üzeri), %14.7'si (6-10 baş) orta işletmelerden oluşurken, %7.35'i küçük (1-5 baş) işletmelerden oluşmaktadır. Kesif yem olarak, fabrika yemi kullanan işletmeler (%79.41), buğday-arpadan oluşan karışımı satın alanlar (%2.90) ve kendi ürettiği hammadde yemi kullananlar (%17.64) tespit edilmiştir. Yem örneklerinde kuru madde (KM), ham protein (HP), ham kül (HK), ve ham yağ (HY) analizleri Weende analiz sistemine göre ve ham selüloz (HS) analizleri ise Crampton ve Maynard metoduna göre yapılmıştır. Fiğ, korunga ve yonca otunda sırasıyla KM %93.4, 92.3 ve 94.7, HP %16.7, 19 ve 19.5, HY %5.4, 3.8 ve 2.2, HK %10.8, 6.4 ve 5.1, HS %22, 26.30 ve 25.1 ve ME 2525.42, 2372.16 ve 2414.93 kcal/kg olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, ilçe ve bölgedeki yetiştiricilerin, hayvan beslemeye ilişkin teknik bilgi ve bilinçlerinin artırılması sağlanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Besin maddesi, Hayvan besleme, Kaba yem, Sarıkamış, Yem bitkisi.

The Evaluation of Feeding Status of Large Animals Based on Farmers Knowledge in Sarikamis Region

Abstract: This study was aimed to determine the structural characteristics of enterprises, the usage of feed types, quantities and their analyses, and animal feeding habits based on the knowledge obtained from large ruminant breeders in Sarikamis district. The survey was conducted in 68 enterprises; of them 77.94% were considered to be large, 14.7% to be medium, and 7.35% to be small farms. It was determined that the 79.42% of farms have been buying manufactured (concentrated) feeds, 2.90% of them have been utilizing the mixture of wheat and barley while 17.64% of the farms have been using the feeds produced by themselves. Dry matter (DM), crude protein (CP), ether extracts (EE) and ash levels in feed samples were determined by Weende Analysis methods while crude fibre (CF) quantities were determined by Crampton and Maynard's method. Wetch, sainfoin and alfalfa had 93.4, 92.3 and 94.7% DM, 16.7, 19 and 19.5% CP, 5.4, 3.8 and 2.2% EE, 10.8, 6.4 and 5.1% ash, 22, 26.30 and 25.1% CF and 2525.42, 2372.16 and 2414.93 kcal/kg ME contents, respectively. In conclusion, the knowledge and awareness of the breeders about technical animal nutrition should be enhanced in the district and region.

Keywords: Animal nutrition, Feed sources, Forage, Nutrients, Sarikamis.

✉ İlky YALÇINKAYA

Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Kırıkkale, TÜRKİYE.
e-posta: ilkayyalcinkaya@hotmail.com

* Bu çalışma Berna Akman'ın Yüksek Lisans tezinden alınmıştır.

GİRİŞ

Ülkemizde hayvan yetiştiriciliği geçmişte olduğu gibi günümüzde de büyük uğraş alanı ve geçim kaynağıdır. Hayvanların yaşamlarını devam ettirebilmeleri ve onlardan istenen verimin alınabilmesi için ihtiyaçları olan çeşitli besin maddeleriyle beslenmeleri gerekmektedir (1). Doğal çayır ve meralarımız, yıllardır yapılan erken ve yoğun otlatmalar nedeni ile kalitesiz hale gelmiştir. Kaliteli kaba yem tarımı da yetersizdir. Türkiye yaklaşık 14.2 milyon büyük baş hayvan birimi varlığına sahiptir (2). Bunların sadece yaşama payı besin madde gereksinimlerini kaba yemlerle karşılamak için yılda ortalama 57 milyon ton kaliteli kaba yem ihtiyacı bulunmasına rağmen ülkemizin kaliteli kaba yem üretimi ise 33 milyon ton düzeyinde kalmaktadır (3).

Hayvansal üretim yapan işletmelerde hayvanlardan istenilen verimin elde edilmesi için uygun rasyonla beslenmeleri gerekmektedir. Kaliteli kaba yem ve karma yem kullanılması ve hayvanların bulunduğu çevresel koşulların düzeltilmesi hayvancılık verimi için temel şartlarından biridir. İşletmelerde yeme bağlı harcamalar toplam işletme giderlerinin %60-70'ini oluşturmaktadır. Bu yüzden yemleme konusunda yapılacak ekonomik düzenlemeler yeni, ucuz ve kaliteli yem kaynaklarının araştırılıp, geliştirilmesi hayvancılığın geleceği açısından çok önemlidir (4,5).

Kars ve yöresi ruminant beslenmede önemli olan çayır-mera varlığı bakımından diğer bölgelere göre zengindir. Çayır ve mera bitkileri kaba yemlerin başında gelmektedir. Bunlar hayvanların otlatılması ya da biçilmiş olarak kış yemlemesi için kurutulması şeklinde kullanılır. Bölge hayvancılığının en önemli problemleri düşük kaliteli yem kaynakları ve bunların hayvan beslemede kullanılmasıdır (6-9).

Kars ili, Türkiye'de var olan sığır miktarının %3.2'sine ve arazisinin %39.2 gibi bir kısmı olan çayır-mera alanlarından oluşmaktadır. Ayrıca toplam aktif nüfusun ortalama %68.2'si gibi büyük bir bölümünün tarım ve hayvancılıkta uğraşmakta

olması bölgenin hayvancılık açısından önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (10).

Kars'ta, kullanılan arazi ve üretilen ürün düzeyinin düşük olması ve yüksek oranda çayır ve meranın olması, ilin bitkisel üretime göre hayvancılık için uygun olduğunu göstermektedir. Meraların kapasiteleri dahilinde otlatılmaması, yem bitkileri tarımının yaygınlaşmaması, kurutma ve depolama koşulları ile ilgili çiftçinin yeterli bilgisinin olmamasından dolayı kaba yem açığı sorunu ortaya çıkmaktadır. Bölgede hayvanlar yazın meraya çıkarılmakta, kışın ise kaba yem olarak saman verilmektedir (10).

Bu çalışma Sarıkamış yöresinde büyük baş hayvan yetiştirici bilgilerine dayanarak hayvanların beslenmesinde kullanılan yem çeşitleri, miktarları ve hayvan besleme alışkanlıklarını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Araştırmanın materyali, Kars ili Sarıkamış ilçesinde 68 sığır işletmesinde Eylül-Nisan ayları arasında uygulanan anket çalışması ile elde edilen verilerden oluşmuştur. Araştırma alanı olarak, Sarıkamış ilçesinin sınırları içerisindeki köyler belirlenmiştir. Sarıkamış Gıda Tarım ve Hayvancılık İlçe Müdürlüğü kayıtlarından işletmeler belirlendikten sonra, ilçeye bağlı köylerdeki yetiştiricilerle yüz yüze görüşülerek, anket formundaki sorulara alınan yanıtlar kaydedilmiştir. Toplanan verilerin dökümü yapıldıktan sonra işletmeler büyüklüğüne göre 1-5 baş (küçük), 6-10 baş (orta) ve 11 baş ve üzeri (büyük) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Ayrıca ilçenin yem bitkilerine örnek oluşturacağı planlanarak alınan fiğ, korunga, yonca kuru ot örnekleri laboratuvar ortamında besin değeri analizleri yapılmıştır.

Kafkas Üniversitesi Yem Bitkileri Analiz Laboratuvarında uygun koşullarda kurutulup öğütülerek yemler analize hazırlanmıştır. Yem maddelerinin kuru madde (KM-934.01), ham protein (HP-954.01), ham yağ (HY-920.39), Ham kül

(HK-942.05) Weende analiz sistemine (11) göre, ham selüloz (HS) düzeyleri Crampton ve Maynard (12) göre belirlenmiştir. Metabolik Enerji düzeyleri; MEHS, kcal/kg KM = 3309.5 – 35.64 x HS formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler, özet istatistik şeklinde sunulmuştur. Herhangi bir analiz yapılmamıştır.

BULGULAR

İşletme Büyüklüğü

Seçilen köylerden 68 işletmede yapılan anket sonuçlarına göre işletmelerin 53 tanesi (%77.94) büyük işletmelerden, 10 tanesi (%14.7) orta işletmelerden oluşurken, 5 tanesi (%7.35) küçük işletmelerden oluşmaktadır. Sarıkamış ilçesindeki hayvancılık işletmelerinin büyüklüğü ve dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Sarıkamış'ta büyükbaş hayvancılık işletmelerinin büyüklüğü ve dağılımı.

Table 1. Size and distribution of large ruminant farms in Sarikamis.

İşletme Büyüklüğü	İşletme Sayısı	%
Küçük (1-5 Büyükbaş)	5	7.35
Orta (6-10 Büyükbaş)	10	14.7
Büyük (11 ve üzeri)	53	77.94

İşletmelerde Kullanılan Bazı Yem Örnekleri ve Analizleri

İlçedeki köy işletmelerinde yoğun yem olarak besi yemi, kepek, buğday-arpa kırığı, kaba yem olarak kuru ot (fiğ, korunga, yonca), saman ve kes (kıyılmış çayır otu) gibi yemler kullanılmaktadır. İlçede hayvanlar yıl içerisinde ortalama 6-7 ay merada kalmakta, 5-6 ay ahırda arpa-buğday kırması, saman, kuru ot ve fabrika yemi ile beslenmektedir.

Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarında yapılan bölgedeki köyden alınmış ve grubu temsil edeceği düşünülen fiğ, korunga, yonca gibi bazı kaba yem örneklerinde KM, HP, HY,

HK, HS ve ME analiz sonuçları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Yem bitkilerinin kimyasal analiz sonuçları.

Table 2. Chemical composition of feedstuffs.

Yem bitkileri	KM (%)	HP (%)	HY (%)	HK (%)	HS (%)	ME (Kcal/kg KM)
Fiğ	93.40	16.70	5.40	10.80	22.00	2525.42
Korunga	92.30	19.00	3.80	6.40	26.30	2372.16
Yonca	94.70	19.50	2.20	5.10	25.10	2414.93

KM: Kuru Madde, HP: Ham Protein, HY: Ham Yağ, HS: Ham Selüloz, ME: Metabolik Enerji

İşletme Dışından Temin Edilen Yemler

İşletme sahiplerinden 64'ü (%79.41) fabrika yemi, 2'si (%2.90) ise arpa, buğday gibi tane yem hammaddelerini satın alırken 12'si (%17.64) dışarıdan alınan fabrika ya da hammadde yemi kullanmamaktadır. Konsantre yem oranı, sağılan hayvan sayısı ve süt verimi ortalamaları miktarları Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 3. Konsantre yem oranı, sağılan hayvan sayısı ve süt verimi ortalamaları.

Table 3. Percentages of concentrate feedstuffs, the average numbers of animals milked, and average milk production per enterprise.

	Konsantre yem (%)	Sağılan Ortalama Hayvan Sayısı	Ortalama Süt Verimi (İşletme başına) (kg/gün)
Fabrika Yemi	79.41	7.83	41.25
Hammadde alan	2.94	13.5	35
Ürettiği yemi kullanan	17.64	7.41	30.11

Çalışmada fabrika yemi kullanımının yaygın olduğu görülmüştür. Sağılan hayvan sayısı en fazla olan işletmelerin dışardan hammadde alanlar olduğu gözlenirken, günlük toplam süt verimi en fazla olan işletmelerin fabrika yemi kullananlar olduğu tespit edilmiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bölgede yapılan bu araştırma sonuçlarına göre, yarı ekstansif olarak değerlendirilen işletmelerin %77.94'ünün büyük (11-üzeri baş), %14.7'sinin orta (6-10 baş) ve %7.35'inin küçük (1-5 baş)

işletmelerden oluştuğu tespit edilmiştir. Samsun ve Tokat yöresinde entansif süt sığırcılığı işletmelerinde yapılan araştırmada, işletmelerin %56.2'sinin 1-5 baş, %21.9'unun 6-10 baş ve %21.9'unun da 11'den fazla ineğe sahip olduğunu saptamıştır (13). Bakır (14)'ün Van ili ve ilçelerinde yapmış olduğu çalışmada, 320 işletmenin %92.5 gibi büyük bir kısmını 1-5 ineğe sahip küçük işletmeler oluştururken, %5.6'sını orta büyüklükteki işletmeler, %1.9'unu (11 baş ve üzeri) ise büyük işletmeler oluşturmaktadır. Sarıkamış'ta büyük işletme sayısı Bakır (14) ve Şekerden (13) tarafından bildirilen değerlerden yüksek bulunmuştur. Orta ve küçük işletme sayısı bakımından ise Şekerden (13)'ün yapmış olduğu çalışmanın sonuçlarından düşük olduğu görülmüştür. İşletmelerin daha büyük ölçekli olmasının sebebi Sarıkamış'ta mera varlığının geniş olmasından kaynaklanabilmektedir.

Analizler, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarında yapılmış ve bölgeden alınmış fiğ, korunga ve yoncanın besin madde içerikleri belirlenmiştir.

Fiğ, korunga ve yonca otunun ham protein düzeyleri KM bazında, sırasıyla %16.70, %19.00 ve %19.50 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçların, Canbolat ve Karaman (15)'in çalışmasından (HP %18.46) düşük, Güngör ve ark. (16)'nın çalışmasından (HP %12.85) daha yüksek olduğu görülmektedir. Korunganın HP'ni, Canbolat ve Karaman (15)'in bulmuş oldukları düzeyden (HP, %18.46) yüksek tespit edilmiştir. Yoncanın HP düzeyi ise (% 19.50) Canbolat ve Karaman (15)'in Bursa'da yaptığı çalışmadan (%15.78) yüksek, Güngör ve ark. (16)'ın Kırıkkale'de yapmış olduğu çalışmasından (%20.26) düşük olduğu saptanmıştır. Yemlerin ham protein düzeyleri bakımından farklılıklar, bitkilerin vejetasyon dönemi, gübreleme ve biçim zamanına bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir.

Yemlerin Ham Yağ düzeyleri incelendiğinde, KM bazında, sırasıyla fiğ (%5.40), korunga (%3.80), yonca (%2.20) olarak saptanmıştır. Fiğ, korunga ve yonca da HY düzeyleri sırasıyla Canbolat ve Karaman

(15)'in yapmış olduğu çalışmada %2.72, %2.73 ve %1.08 olarak belirlenmiştir. Güngör ve ark. (16)'ı fiğ ve yoncada HY %0.94, %2.33 olarak bulunmuştur. Yemlerden elde edilen fiğ ve korunga HY sonuçlarının, yapılan her iki çalışmanın sonucundan yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yonca HY düzeyi ise Canbolat ve Karaman (15)'in çalışmasından yüksek, Güngör ve ark.(16)'nın çalışmasından düşük olduğu görülmektedir.

Fiğ, korunga, yoncanın Ham Kül düzeyleri incelendiğinde KM bazında, sırasıyla %10.80, 6.40, 5.10 olarak belirlenmiştir. Canbolat ve Karaman (15)'in Bursa'da yaptığı çalışmada fiğde, korungada ve yoncada HK düzeyi sırasıyla %8.05, %6.19, %5.10 olarak saptanmıştır. Güngör ve ark.(16)'ları fiğ ve yoncada HK düzeyini %7.70 ve 8.74 olarak belirlenmiştir. Fiğ ve korungada HK düzeyleri her iki çalışmanın sonucundan yüksek bulunmuştur.

Bölgedeki yoğun mera kullanımına ilave olarak ekimi ve biçimi yapılan yem bitkileri de hayvan beslemede kullanılmaktadır. Bu yemlere ait örneklemelerde fiğ, korunga ve yonca kaba yemleri kullanılmaktadır. Bölgeyi örnekleyecek kaba yemlerin besin değerleri vejetasyonun en iyi olduğu dönemlerde alınması sebebiyle araştırmanın sonunda metabolik enerji (ME) düzeyleri (yoncada 2414.93, korungada 2372.16 ve fiğde 2525.42 kcal/kg KM) yüksek olduğu tespit edilmiştir. KM ve HP miktarı yoncada daha yüksek, HK ve HY fiğde, HS korungada ve ME fiğde yüksek olduğu görülmektedir. Selüloz kaynağının mera bitkilerinden temin edilebileceği değerlendirilerek bölgedeki hayvancılık işletmelerine protein kaynağı olarak yonca tarımının yapılması ham yağ düzeyinin yüksek olmasıyla enerji içeriğinin zengin olacağı değerlendirilen fiğ tarımı yapılması önerilebilir.

Konsantre yem ihtiyaçlarını işletmelerin %79.41'i yem fabrikalarından karşılarken %17.64'ünün kendi ürettiği yemi kullandığı, %2.94'ünün ise dışarıdan hammadde satın aldığı tespit edilmiştir. Yemlerinde kesif yem olarak fabrika yemi kullanan işletmeler Tugay ve Bakır (17)'in yaptığı çalışmada %83.4, Tümer ve Ağmaz (18)'in

çalışmada %79.9 ve Uçak (19)'ın yaptığı çalışmada ise %63.33 oranında belirlenmiştir. Sarıkamış'ta yaptığımız araştırmanın sonucu, yapılan bazı çalışmalardan düşük bulunurken (17,18) bazı çalışmalardan ise yüksek bulunmuştur (19).

Bakır ve Demirel (20)'in yaptıkları çalışmada fabrika yemi kullanan işletmelerden Van ilinde 1-5 kg ile 11-15 kg arası süt üretimi tespit edildiği belirtilmiştir. Giresun'da yapılan çalışmada işletmelerin %90.9'unda ineklerden 3-7 kg arasında süt alındığı, işletmelerde 7 kg'dan fazla süt elde edenlerin de çok az olduğu tespit edilmiştir. Çetin ve Özdemir (21)'un Van ili Erciş ilçesinde 32 sığır işletmesinde yaptıkları çalışmada inek başına 3-9 (%82.5) ve 10-20 kg (%17.5) süt üretimi tespit etmiştir. Yapılan anket sonucuna göre, dışardan yem almayan işletmelerle, fabrika yemi kullanan işletmelerdeki sağılan hayvan sayısı birbirine yakındır. Ancak süt veriminin fabrika yemiyle besleyenlerde daha yüksek olduğu görülmektedir. Buda fabrika yemi karışımının, süt verimi için gerekli besin maddelerinin yeterli oranda içerdiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, ilçede yem bitkileri üretiminin desteklenmesine 2000'li yıllarda başlanmıştır. Destekten yararlanmak isteyen üretici sayısı arttıkça yem bitkileri ekim alanı az da olsa artmıştır. Hayvanlarını kendi imkânlarıyla elde ettikleri hammaddelerden oluşan yemle besleyen işletmelerde, yemlerin besin madde içerikleri ve hayvanların ihtiyaçları dikkate alınmamaktadır. İşletmelerin ve hayvanların besin madde ihtiyaçlarını karşılayacak dengeli karmaların oluşturulması için teknik bilgilerle donatılması gerekir. Bu konuda işletmecilerin eğitilmesinin, verimliliğin artırılması ve pazarlama probleminin çözülmesi, işletmecilerin daha çok kazanmaları ve sürdürülebilirlikleri açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Anonim, 2011. Serhat Kalkınma Ajansı. Büyükbaş hayvancılığa yönelik sorun alanları. Doğu Anadolu bölgesi büyükbaş hayvan çalıştay, 27.
2. Anonim, 2015. GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi, Hayvancılık Raporu. Sayı:2.
3. Yolcu, H., Tan, M., 2008. Ülkemiz yem bitkileri tarımına genel bir bakış. Tarım bilimleri Dergisi 14, 303-312.
4. Ergün A., Tuncer Ş.D., Çolpan İ., Yalçın S., Yıldız G., Küçükersan M.K., Küçükersan S., Şehu, A.,2004. Yemler, Yem Hijyeni ve Teknolojisi, Pozitif Matbaacılık, Ankara.
5. Kutlu H., Gül A., Görgülü M., 2003. Türkiye hayvancılığın sorunları ve çözüm yolları. I.Damızlık hayvan-kaliteli yem. Yem Magazin Dergisi, 34, 40-46.
6. Aral S., 1995. Konya'nın Hayvancılık Potansiyeli ve İl Kalkınmasındaki Rolü. Konya İlinin Ekonomik Kalkınması Semineri. İktisadi Araştırmalar Vakfı, İstanbul.
7. Alçiçek A., 2001. Süt ineklerinin yemlenmesinde yeni teknikler. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, No:100.
8. Kaya İ., Karademir B., 2002. Çayır-meranın Kars yöresi çiftlik hayvanlarının beslenmesi ve hastalık oluşturma-bulaştırmadaki rolü. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi, 42, 59-66.
9. Alçiçek A., Karaayvaz K., 2003. Sığır besisinde mısır silajı kullanımı. Animalia, 20, 18-76.
10. Demir P., Aral S., 2009. Kars ilinde faaliyet gösteren süt sığırcılık işletmelerinin karşılaştıkları sorunlar ve çözüm önerileri. Veteriner Hekimler Derneği Dergisi, 80, 17-22.
11. AOAC, 2005. Official Methods of Analysis. 14th Ed. Association of Official Agricultural Chemists, Washington. D.C.18-76.
12. Crampton EW., Maynard L., 1983. The relation of cellulose and lignin content to nutritive value of animal feeds. Journal of Nutrition, 15, 383-395.
13. Şekerden Ö., 1986. Samsun ve Tokat yöresinde besi ve süt sığırcılığının durumu. Hayvancılık Sempozyumu. Sivas, Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, 16, 159-177.

14. Bakır G., 2002. Van ilindeki özel süt sığırcılığı işletmelerinin yapısal durumu. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 12, 1-10.
15. Canbolat Ö., Karaman Ş., 2009. Bazı baklagil kaba yemlerinin in vitro gaz üretimi, organik madde sindirimi, nispi yem değeri ve metabolik enerji içeriklerinin karşılaştırılması. Tarım Bilimleri Dergisi, 15, 188-185.
16. Güngör T., Başalan M., Aydoğan İ., 2008. Kırıkkale yöresinde üretilen bazı kaba yemlerde besin madde miktarları ve metabolize olabilir enerji düzeylerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 55, 111-115.
17. Tugay A., Bakır G., 2009. Giresun yöresindeki sığırcılık işletmelerinde kullanılan yem çeşitleri ve hayvan besleme alışkanlıkları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 40, 37-47.
18. Tümer S., Ağmaz A., 1989. Ege bölgesi süt ve besi sığırcılığı işletmelerinin çeşit verim özellikleri üzerinde araştırması. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü. Menemen, İzmir.
19. Uçak A., 1992. Samsun ilinde ithal ineklerle çalışan işletmelerin durumu ve sorunları üzerine araştırma. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
20. Bakır G., Demirel M., 2001. Van ili ve ilçelerindeki sığırcılık işletmelerinde kullanılan yem çeşitleri ve hayvan besleme alışkanlıkları. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 11, 29-37.
21. Çetin E., Özdemir Ş., 1999. Erciş ilçesinde süt sığırcılığı işletmelerinin durumu (basılmamış lisans tezi). Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Van.



Kazeöz Lenfadenitise Karşı Aşıl原因an Kuzularda E Vitamini ve Selenyum Kombinasyonunun Oksidatif Cevap Üzerine Etkileri*

Kayacan SEYRANOĞLU^{1✉}, Öznur ASLAN²

1. Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Pınarbaşı, Kayseri, TÜRKİYE.
2. Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
09.04.2015	13.06.2015	20.12.2015

Öz: Çalışmada, kazeöz lenfadenitise (KLA) karşı aşıl原因an kuzularda E vitamini ve selenyum (Se) kombinasyonunun oksidatif cevap üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla, 2 aylık, 40 adet sağlıklı ve KLA'ya karşı aşıl原因anmamış dişi Akkaraman ırkı kuzu kullanıldı. Kuzular rastgele dört eşit gruba ayrıldı; Grup I: Kontrol, Grup II: Aşı, Grup III: E vitamini+Se, Grup IV: Aşı+E vitamini+Se. Kuzulardan 0. ve 21. günlerde kan örnekleri alındı. Oksidatif cevabı ölçmek için süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri ile malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri ölçüldü. Günler arası değerler karşılaştırıldığında; MDA seviyesi değişmedi ($P>0.05$); GSH-Px ($P<0.05$) ve NO ($P<0.001$) tüm gruplarda düştü; SOD Grup I'de diğer gruplara göre yükselme gösterdi ($P<0.05$), CAT ise Grup I, II ve IV'te düştü ($P<0.001$). Gün içi değerler karşılaştırıldığında; GSH-Px aktivitesi ile MDA ve NO düzeylerinde fark tespit edilmedi ($P>0.05$). 0. günde CAT aktiviteleri bakımından, Grup III ile Grup I, II, IV arasındaki fark önemli bulundu ($P<0.05$). 21. günde diğer gruplara göre, Grup I'de SOD aktivitesi daha yüksek ($P<0.05$), CAT aktivitesi ise daha düşük ($P<0.05$) bulundu. Sonuç olarak; kazeöz lenfadenitise karşı aşıl原因an Akkaraman ırkı kuzularda, uygulanan dozda E vitamini+Se kombinasyonunun SOD, CAT, GSH-Px aktiviteleri ile MDA ve NO düzeyleri üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı belirlendi.

Anahtar Kelimeler: E vitamini, Kazeöz lenfadenitis, Kuzu, Oksidatif cevap, Selenyum.

Effects of Vitamin E and Selenium Combination on Oxidative Response in Lambs Vaccinated Against Caseous Lymphadenitis

Abstract: The objective of this study was to investigate the effects of vitamin E and selenium (Se) combination on the oxidative response in lambs vaccinated against caseous lymphadenitis (CLA). For this purpose, 40 healthy female Akkaraman lambs, aged two-month-old, unvaccinated against the CLA were used. Lambs were randomly divided into 4 equal groups. Group I: Control, Group II: Vaccine; Group III: Vitamin E+Se; Group IV: Vaccine + Vitamin E+Se. Blood samples were collected from the lambs on days zero and 21st. In order to determine the oxidative response, catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) activities, as well as malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) levels were measured. When the values between days zero and 21st compared: the MDA levels showed no change ($P>0.05$); the GSH-Px ($P<0.05$) and NO ($P<0.001$) decreased in all groups; the SOD activity increased in Group I ($P<0.05$) as compared to other groups while the CAT activity decreased in Group I, II and IV ($P<0.001$). When the values within the same day compared; the GSH-Px activity, the MDA and NO levels showed no difference ($P>0.05$). On day zero, the CAT activity showed significant difference between Group III and Group I, II and IV ($P<0.05$). On day 21st, the SOD activity in Group I was higher ($P<0.05$) while the CAT activity was lower ($P<0.05$) than those in other groups. In conclusion, in Akkaraman lambs vaccinated against caseous lymphadenitis, the administrated dose of vitamin E+Se combination had no marked effect on the SOD, CAT, GSH-Px activities as well as the MDA and NO levels.

Keywords: Caseous lymphadenitis, Lamb, Oxidative response, Selenium, Vitamin E.

✉ Kayacan SEYRANOĞLU

Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Pınarbaşı, Kayseri, TÜRKİYE.
e-posta: kseyranoglu@gmail.com

* Bu çalışma, Kayacan SEYRANOĞLU'nun EUBAP tarafından TSD-12-3811 proje kodu ile desteklenen, "Kazeöz Lenfadenitise Karşı Aşıl原因an Kuzularda E Vitamini ve Selenyum Kombinasyonunun Oksidatif Cevap Üzerine Etkileri" başlıklı Doktora Tezinin bir kısmından özetlenmiştir.

GİRİŞ

C *orynebacterium pseudotuberculosis* koyunlarda kazeöz lenfadenitis (KLA) hastalığının etkenidir (1,2). Deride oluşan apseler deri kalitesini ve yapağı verimini olumsuz etkilemekte, iç organlarda oluşan lezyonlar hayvanlarda verimin azalmasına yol açarak koyunculuk endüstrisinde önemli kayıplara neden olmaktadır (3-5).

Oksidatif stres, hücrelerde çeşitli hasarlara yol açan reaktif oksijen türleri (ROT) ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir (6,7). Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve biyomoleküller ile reaksiyona girme eğilimi gösteren reaktif moleküllerdir (7). Organizmada doğal süreçler sonucunda meydana gelen ROT ile antioksidan moleküller arasındaki denge ROT lehine değiştiğinde hücrede oksidatif stres ve bunun sonucunda patolojik bozukluklar meydana gelir (6). Oksidatif strese karşı mücadele, vücudun her yerindeki farklı hücre yapılarında, karmaşık antioksidan mekanizmalar ile durmaksızın hayat boyu devam eder (6,7).

Çalışmamızda, saha şartlarında, KLA'ya karşı bakterin ve toksoid kökenli bir monovalan aşıyla aşılanan kuzularda, aşılamayla birlikte tek doz deri altı E vitamini ve Se kombinasyonunun (100 IU E Vitamini + 1.03 mg Se) oksidatif cevap üzerindeki etkisi incelendi. Bu amaçla malondialdehit (MDA), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve nitrik oksit (NO) ölçümleri yapıldı.

MATERYAL ve METOT

Çalışma materyali olarak, Kayseri İli Pınarbaşı İlçesi Avşarpotuklu Mahallesi yaylasında yetiştirilen 40 adet sağlıklı ve 2 aylık dişi Akkaraman ırkı kuzu kullanıldı. Çalışmaya daha önce KLA'ya karşı aşılanmamış kuzular dahil edildi.

Çalışma kapsamına alınan hayvanlar, her biri 10 hayvandan oluşan rastgele 4 eşit gruba ayrıldı: Grup I: Kontrol, Grup II: Aşı, Grup III: E vitamini+Se, Grup

IV: Aşı + E vitamini + Se. Grup I'e % 0.09 NaCl solüsyonundan 2 ml deri altı yolla uygulandı ve bu grup kontrol grubu olarak ayrıldı. Grup II'ye bakterin ve toksoid içeren detoksifiye ve purifiye aşından koltukaltı bölgesinden deri altı yolla 2 ml dozunda uygulandı. Grup III'deki kuzulara, sadece Se ve E vitamini içeren solüsyondan 1 ml (100 mg vitamin E asetata eşdeğer 100 I.U. Vitamin E ve 1.03 mg saf selenyuma eşdeğer 3.0 mg sodyum selenit/1 ml çözelti) koltukaltı bölgesinden deri altı yolla uygulandı. Grup IV'deki hayvanlara 2 ml aşı ile Se ve E vitamini içeren solüsyondan koltuk altı bölgesinden deri altı yolla 1 ml dozunda uygulandı. Hayvanlar çalışma boyunca aynı bakım ve beslenme şartlarında tutuldu.

Kan Örneklerinin Alınması ve İşlenmesi

Gruplarda bulunan tüm hayvandan uygulama öncesi 0. günde ve uygulamadan sonraki 21. günde *Vena jugularis* yoluyla lityum heparinli ve kuru tüplere kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden hazırlanan serum, plazma ve eritrosit örnekleri analize kadar -80°C 'de saklandı.

Eritrositlerin Hemoliz Edilmesi

Eritrosit numuneleri analiz öncesi oda ısısında tutularak çözdürüldü. Oda ısısındaki eritrosit örneklerinden otomatik pipet yardımıyla 0.8 ml alındı ve üzerine 3.2 ml soğuk distile su ilave edilip hızla karıştırılarak eritrositler hemolize edildi. Elde edilen hemolizat, hemoglobin (Hb), CAT ve GSH-Px aktivitesi ölçümü için kullanıldı. Hemolizattan 300 ml alınarak ayrı bir ependorf tüpüne konuldu üzerine 1200 ml kloroform-etanol karışımı (3:5 oranında hazırlanmış) ilave edildi. Tüpler 30 saniye vortekslendi, ardından 3000 rpm/2000 g devirde 24°C sıcaklıkta 10 dakika süreyle santrifüj edildi ve üst kısım SOD aktivitesi ölçümü için kullanıldı.

Eritrosit Hb düzeyi Fairbanks ve Klee (8), plazma MDA düzeyi Yoshioka ve ark., (9) ve NO aktivitesi Tracey ve ark., (10), eritrosit SOD aktivitesi Sun ve

ark., (11), CAT aktivitesi Luck (12), GSH-Px aktivitesi Paglie ve Valentie (13) tarafından bildirilen yöntemlere göre belirlendi.

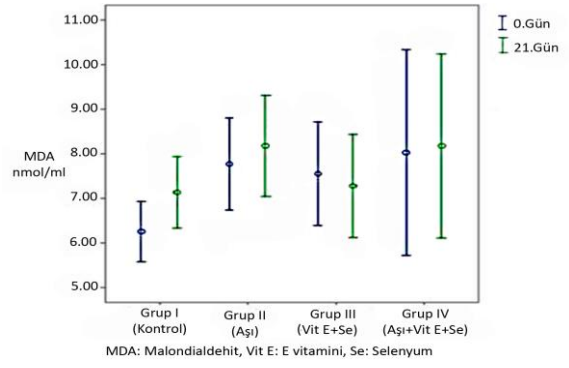
İstatistiksel Analiz

Çalışmadaki verilerin istatistiksel önemliliklerinin analizinde, genel doğrusal model-tekrarlı ölçümlerde varyans analizi kullanıldı. Çalışmada veriler aritmetik ortalama ve standart sapma ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$) olarak ifade edildi ve $P < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizlerde SPSS 13.00 istatistik programı kullanıldı.

BULGULAR

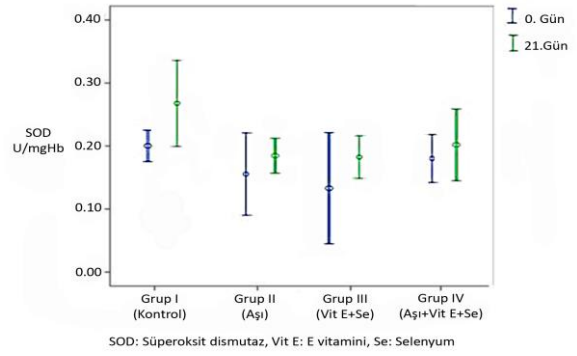
Aynı gün içinde, gruplar arası değerler karşılaştırıldığında; MDA düzeyi bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmedi ($P > 0.05$) (Tablo 1). SOD aktivitesinde, 21. günde Grup I ile diğer gruplar arasında tespit edilen fark istatistik açıdan önemli bulundu ($P < 0.05$) (Tablo 1). CAT aktivitesi açısından 0. günde Grup III ile Grup I, II, IV arasında, 21. günde ise Grup I ile diğer gruplar arasındaki fark önemli bulundu ($P < 0.05$) (Tablo 1). Aynı günde GSH-Px aktivitesinde ve NO düzeyinde gruplar arasında önemli bir fark tespit edilmedi ($P > 0.05$) (Tablo 1).

Grup içi 0. gün ile 21. gün değerleri karşılaştırıldığında; MDA düzeylerinde önemli bir değişim tespit edilmedi ($P > 0.05$) (Tablo 1, Şekil 1). Grup I'de SOD aktivitesinde meydana gelen artış istatistiksel olarak önemli bulundu ($P < 0.05$) (Tablo 1, Şekil 2). CAT aktivitesinde Grup I, II ve IV'de meydana gelen azalma istatistiksel olarak önemli bulundu ($P < 0.001$) (Tablo 1, Şekil 3). Tüm gruplarda GSH-Px aktivitesinde ($P < 0.05$) (Tablo 1, Şekil 4) ve NO düzeyinde ($P < 0.001$) (Tablo 1, Şekil 5) meydana gelen azalma istatistik açıdan önemli bulundu.



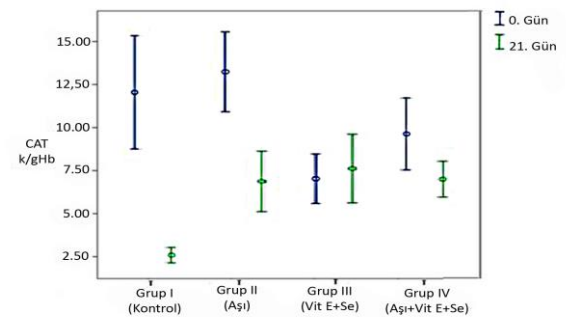
Şekil 1. MDA düzeyinin grup ve günlere göre Error-Bar grafiği.

Figure 1. Error-Bar graphic of MDA level according to groups and days.



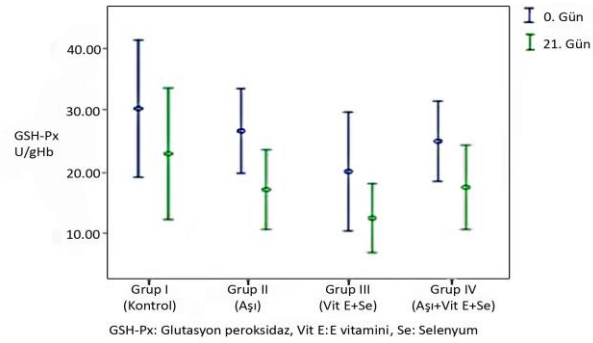
Şekil 2. SOD aktivitesinin grup ve günlere göre Error-Bar grafiği.

Figure 2. Error-Bar graphic of SOD activity according to groups and days.

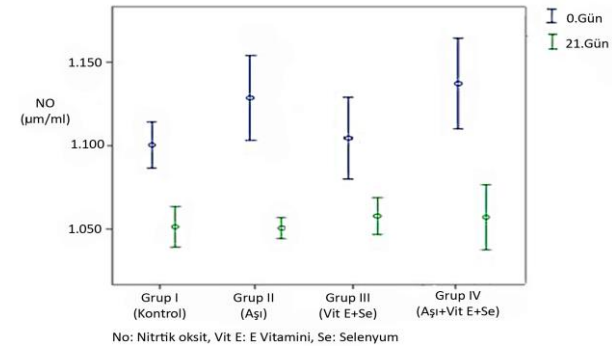


Şekil 3. CAT aktivitesinin grup ve günlere göre Error-Bar grafiği.

Figure 3. Error-Bar graphic of CAT activity according to groups and days.



Şekil 4. GSH-Px aktivitesinin grup ve günlere göre Error-Bar grafiği.
Figure 4. Error-Bar graphic of GSH-Px activity according to groups and days.



Şekil 5. NO düzeyinin grup ve günlere göre Error-Bar grafiği.
Figure 5. Error-Bar graphic of NO level according to groups and days.

Tablo 1. SOD, CAT, GSH-Px aktiviteleri ile MDA ve NO düzeylerinin gruplar ve günlere göre istatistiksel önemi.

Table 1. Statistical significance of the SOD, CAT, GSH-Px activities as well as of the MDA and NO levels according to groups and days.

GRUPLAR	n	MDA (nmol/ml)		SOD (U/mgHb)		CAT (k/gHb)		GSH-Px (U/gHb)		NO (µm/ml)	
		0. Gün	21. Gün	0. Gün	21. Gün	0. Gün	21. Gün	0. Gün	21. Gün	0. Gün	21. Gün
Grup I Kontrol	10	6.25±0.29 ^{Aa}	7.13±0.35 ^{Aa}	0.20±0.01 ^{Aa}	0.26±0.03 ^{Ab}	12.04±1.45 ^{Aa}	2.58±0.19 ^{Ab}	30.53±4.94 ^{Aa}	23.18±4.73 ^{Ab}	0.10±0.006 ^{Aa}	0.05±0.005 ^{Ab}
Grup II Aşı	10	7.77±0.45 ^{Aa}	8.17±0.50 ^{Aa}	0.15±0.02 ^{Aa}	0.18±0.01 ^{Ba}	13.24±1.02 ^{Aa}	6.87±0.77 ^{Bb}	27.02±3.05 ^{Aa}	17.22±2.87 ^{Ab}	0.12±0.01 ^{Aa}	0.05±0.003 ^{Ab}
Grup III VitE+Se	10	7.55±0.51 ^{Aa}	7.27±0.51 ^{Aa}	0.13±0.03 ^{Aa}	0.18±0.01 ^{Ba}	7.02±0.63 ^{Ba}	7.61±0.88 ^{Ba}	20.92±4.27 ^{Aa}	12.83±2.48 ^{Ab}	0.10±0.01 ^{Aa}	0.05±0.005 ^{Ab}
Grup IV Aşı+VitE+ Se	10	8.02±1.02 ^{Aa}	8.17±0.91 ^{Aa}	0.18±0.01 ^{Aa}	0.20±0.02 ^{Ba}	9.63±0.92 ^{ABa}	6.99±0.46 ^{Bb}	25.35±2.88 ^{Aa}	17.85±3.03 ^{Ab}	0.13±0.01 ^{Aa}	0.05±0.009 ^{Ab}

MDA: Malondialdehit, SOD: Süperoksit dismutaz, CAT: Katalaz, GSH-Px: Glutatyon peroksidad , NO: Nitrik oksit, Vit E: E vitamini, Se: Selenyum, n: denek sayısı

^{A,B,C}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur

TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışmada, KLA'ya karşı aşılanan kuzularda, aşılamayla birlikte Se ve E vitamininin kombine olarak uygulanmasının oksidatif cevap üzerine etkileri incelendi. Bu amaçla uygulamadan önce ve uygulamadan 21 gün sonra plazma MDA ve NO düzeyleri ile eritrosit SOD, GSH-Px ve CAT aktiviteleri belirlendi.

Literatürde MDA düzeyinin hastalık ve stres şartlarında yükseldiğinin bildirildiği çalışmalar olmasına rağmen (14,15), KLA'ya karşı aşılama sonrası MDA düzeyleri ile bağışıklık arasında ilişkinin incelendiği bir çalışma bulunamadı. Kızıl ve Gül (16), besi sığırlarında yaptıkları denemede A grubuna sadece trivalan şap aşısı (Tip A, O ve Asia 1), B grubuna şap aşısı + aşılama sırası ve sonrası 3. günde C vitamini; C grubuna şap aşısı + aşılama sırasında AD₃E vitamini ve D grubuna şap aşısı + aşılama sırası AD₃E vitamini + C vitamini ve aşılama sonrası 3. günde C vitamini uygulamışlardır. Araştırmacılar tarafından yapılan vitaminlerin antioksidan etkileri ve lipid peroksidasyon düzeyleri ile ilgili bu çalışmada, şap aşısı + aşılama sırasında AD₃E vitamini uyguladıkları A grubu ile şap aşısı + aşılama sırası AD₃E vitamini + C vitamini ve aşılama sonrası 3. günde C vitamini uyguladıkları C grubunda 0. ile 21. gün ortalamaları karşılaştırıldığında MDA düzeylerinde meydana gelen artış önemli bulunmuştur. Çalışmamızdaki grupların 0.gün ile 21.gün değerleri karşılaştırıldığında, MDA düzeyleri açısından güne bağlı istatistiksel olarak önemli bir değişim tespit edilmedi (P>0.05). Bunun nedeni çalışmamızda tek suş içeren inaktif bir aşı kullanılmış olması nedeniyle kullanılan aşının oksidan/antioksidan dengede önemli bir değişime yol açmadığına bağlandı.

Katalaz enzimi, H₂O₂'yi oksijen ve suya parçalar, böylece hücreleri H₂O₂'ye bağlı oksidatif hasara karşı korur (17-20). Kızıl ve Gül (16) tarafından besi sığırlarında şap aşılması sonrası vitaminlerin antioksidan etkileri ve lipid peroksidasyon düzeyleri ile ilgili yapılan çalışmada, sadece trivalan şap aşısı uygulanan A grubunda, şap aşısı + aşılama sırası ve sonrası 3. günde C vitamini uygulanan B grubunda ve

şap aşısı + aşılama sırası AD₃E vitamini + C vitamini ve aşılama sonrası 3. günde C vitamini uygulanan D grubunda 0. ile 21. gün ortalamaları karşılaştırıldığında CAT aktivitelerinde önemli artışlar tespit edilmiştir. Çalışmamızda, I, II ve IV. Gruplarda CAT aktivitesinde önemli bir düşüş belirlendi (P<0.001). CAT aktivitesinde aşı uygulanan gruplardaki bu düşüş, immun sistemin aktivasyonu sırasında CAT üretiminin azaldığını ya da aşılama nedeniyle oluşan oksidatif cevabın etkilerinin azaltılması için rezerv CAT enzimlerinin kullanılmış olabileceğini; CAT aktivitesindeki düşüşün Grup IV'de Grup I ve II'ye göre daha az olması ve Grup III'de düşüş olmaması ise E vitamini+Se kombinasyonunun CAT aktivitesindeki düşüşü azalttığını düşündürdü.

Çalışmamızda gün içi ortalama değerler karşılaştırıldığında 0. günde CAT aktivitesi bakımından Grup III ile Grup I, II, IV arasındaki farkların önemli olduğu tespit edildi (P<0.05). 21. günde CAT aktivitesi Grup I'de diğer gruplara göre önemli derecede düşük bulundu (P<0.05). Bu durumun, çalışmada kullanılan hayvanların bir örnek olmayışları ile ilişkili olması muhtemeldir.

Süperoksit dismutaz, süperoksiti H₂O₂ ve moleküler oksijene çeviren reaksiyonu katalize eden bir enzimdir. Hücresel kompartımanlardaki O₂⁻ düzeyleri bu sistem sayesinde kontrol altında tutulur (19). Kızıl ve Gül (16), besi sığırlarında vitaminlerin antioksidan etkileri ve lipid peroksidasyon düzeyleri ile ilgili yapıları çalışmada tüm gruplarda 0 ve 21. günler arasında SOD aktivitelerinde meydana gelen azalmanın önemli olduğunu bildirmişlerdir. Subbaiah ve ark., (21), Newcastle virüs (NDV) ile enfekte tavuklarda SOD aktivitelerinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu, NDV ile enfekte ve E vitamini takviyesi yapılan tavuklarda ise SOD aktivitelerinde yükselme tespit etmişlerdir. Marikovsky ve ark., (22), SOD aktivitesinin organizmada özellikle hücresel bağışıklığın meydana gelmesinde önemli rol oynadığını söylemiştir. SOD enziminin, makrofajların TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi proinflatör sitokinleri üreterek yangı süreçlerinin aktivasyonunda ve bağışıklığın düzenlenmesinde önemli görevleri

olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda, 0. gün ile 21. gün sonuçları karşılaştırıldığında, grup I 'de SOD aktivitesinde artış meydana geldiği ($P<0.05$), diğer grupların SOD aktivitelerinde ise bir değişim olmadığı tespit edildi. Grup I 'de meydana gelen bu değişim, denemenin saha şartlarında yapılması ve gruplarının rastgele oluşturulması nedeniyle görülebilen bireysel farklılıklarla ilişkilendirildi.

Glutasyon peroksidaz enzimi yapısında Se elementi içerir. Dolayısıyla dokulardaki Se düzeyi enzimin işlevi için önemli bir unsurdur. Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin yıkımını katalize eder (19). Kızıl ve Gül (16), şap aşısı uygulaması yaptıkları besi sığırlarında, sadece trivalan şap aşısı uygulanan A grubu; şap aşısı + aşılama sırasında AD₃E vitamini uygulanan C grubu ve şap aşısı + aşılama sonrası AD₃E vitamini + C vitamini ve aşılama sonrası 3. günde C vitamini uygulanan D grubunda 0. ile 21. Gün ortalamaları arasında GSH-Px aktivitelerinde meydana gelen değişimin önemli olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda tüm gruplarda GSH-Px aktivitelerinin zamana bağlı olarak azaldığı gözlemlendi ($P<0.05$). Özellikle sadece aşı uygulanan grup II 'de 21. günde CAT ile birlikte GSH-Px aktivitelerinde meydana gelen azalma, hayvanlarda aşıya bağlı bir oksidatif cevabın gelişmiş olabileceğini düşündürdü.

Corynebacterium pseudotuberculosis'in makrofajların içerisinde, bakteriyel hücre zarı lipidlerinin özelliği ve bakteriyeye ait bazı antijenik elemanların, makrofajlardaki NO üretimini engellemesi yoluyla canlı kaldığı ifade edilmiştir (23). Ayrıca, NO'nun lenfositlerin aşırı çoğalmasının engellenmesi ve konakçı hücrelerine karşı hasarın bastırılmasında da rol oynadığı bildirilmiştir (24).

Organizmada makrofajlar tarafından üretilen NO, virüs, bakteri, mantar, protozoa, helmint ve tümör hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterir. NO'nun *C. neoformans*, *T. gondii*, *M. bovis* gibi birçok patojene karşı mikrobiyostatik ve mikrobisidal etki gösterdiği bildirilmiştir (25). Diğer taraftan, makrofajlar tarafından salgılanan ve antibakteriyel özellikler sergileyen NO'nun sadece bakteriyel ve

tümör hücrelerinin tahribatına yol açmadığını, makrofajların kendilerinin ve çevredeki normal hücrelerin de hasarlanmasına ve fonksiyonlarının zayıflamasına yol açabileceği de bildirilmiştir (26).

Ralph ve ark., (27), tüberkülozlu hastalarda dışarıya verilen nefes içerisindeki NO seviyesini ölçmüş ve NO düzeyi düşük olan hastaların, yüksek olan hastalara göre daha şiddetli bir hastalık tablosu sergilediklerini tespit etmişlerdir. Grasemann ve ark., (28), pnömönili çocukların bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısında yüksek düzeyde NO bulunduğunu tespit etmiştir. Nisbet ve ark. (29), *B. abortus* ile enfekte sığırlarda, NO düzeyinin daha yüksek olduğunu tespit etmişler, bu yükselmeyi bakteriyel liposakkaritler yüzünden makrofajlardaki NO üretiminin artışına bağlamışlardır.

Sonuç olarak; elde edilen bulgulara göre, çalışmamızda lipid peroksidasyonun önemli bir göstergesi olan MDA düzeylerinde önemli değişimler olmasa da; özellikle CAT ve GSH-Px aktivitelerindeki azalma ve SOD aktivitesindeki yükselme, aşılamanın kuzularda oksidan/antioksidan dengede bozulmaya neden olabileceğini düşündürdü. Ancak, çalışmada aşı ve antioksidanların birlikte uygulandığı saha şartlarında kuzular için enjeksiyon olarak tavsiye edilen dozlarda, antioksidan amaçla E vitamini ve Se takviyesinin SOD, CAT, GSH-Px aktiviteleri ile MDA, NO düzeylerinde önemli bir değişime yol açmadığı belirlendi. Konu ile ilgili daha detaylı bulguların elde edilmesi için kontrollü olarak ve bir örnek yetiştirilen hayvanlar üzerinde ve E vitamini+Se uygulamalarının farklı doz ve sürelerde verileceği çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

1. Batey RG., 1986. Pathogenesis of caseous lymphadenitis in sheep and goat. Australian Veterinary Journal, 63, 269-272.
2. Fontaine MC., Baird GJ., 2008. Caseous lymphadenitis. Small Ruminant Research, 76, 42-48.

3. Batey RG., 1986. The effect of caseous lymphadenitis on body condition and weight of merino's mutton carcasses. *Australian Veterinary Journal*, 63, 268.
4. Paton MW., Mercy AR., Wilkinson FC., Gardner JJ., Sutherland SS., Ellis TM., 1988. The effects of caseous lymphadenitis on wool production and body weight in young sheep. *Australian Veterinary Journal*, 65, 117-119.
5. Paton MW., Walker SB., Rose IR., Watt GF., 2003. Prevalence of caseous lymphadenitis and usage of caseous lymphadenitis vaccines in sheep flocks. *Australian Veterinary Journal*, 81, 91-95.
6. Gutteridge JM., 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41, 1819-1828.
7. Mercan U., 2004. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15, 91-96.
8. Fairbanks VF., Klee GG., 1987. Biochemical Aspect of Hematology. In "Fundamentals of Clinical Chemistry", Ed., NW Tiez, 3rd ed., 803-804, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
9. Yoshioka T., Kawada K., Shimada T., 1979. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 135, 372-376.
10. Tracey WR., Tse J., Carter G., 1995. Lipopolysaccharide-induced changes in plasma nitrite and nitrate concentrations in rats and mice: pharmacological evaluation of nitric oxide synthase inhibitors. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 272, 1011-1015.
11. Sun J., Chen B., Yao P., 2000. Assessment on acute toxicity of combined pesticides. *Wei Sheng Yan Jiu*, 29, 65-68.
12. Luck H., 1963. Catalase. In "Methods of Enzymatic Analysis", Ed., HU Bergmeyer, 2nd ed., 885-888, Verlag Chemical and Academic Press, New York.
13. Paglie DE., Valentie WN., 1967. Studies on the qualitative and quantitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70, 158-169.
14. Safarian MD., Karagezian KG., Karapetian ET., Avanesian NA., 1990. The efficacy of antioxidant therapy in patients with tuberculosis of the lungs and the correction of lipid peroxidation processes. *Problemy Tuberkuleza*, 5, 40-44.
15. Demir S., Yılmaz M., Köseoğlu M., Akalin N., Aslan D., Aydın A., 2003. Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 154, 39-43.
16. Kızıl Ö., Gül Y., 2004. Şap aşısı uygulanan besi sığırlarında antioksidan vitaminlerin klinik ve bazı hematolojik parametreler ile antioksidan enzim ve lipid peroksidasyon düzeylerine etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 18, 97-106.
17. Kelly FJ., 1988. Use of antioxidants in the prevention and treatment of disease. *Journal of the International Federation of Clinical Chemistry*, 10, 21-23.
18. Michiels C., Raes M., Toussaint O., Remacle J., 1991. Importance of Se-Glutathione Peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD cell survival against oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 17, 235-248.
19. Halliwell B., Gutteridge JMC., 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. 246-351, Oxford University Press., New York.
20. Fang YZ., Yang S., Wu G., 2002. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*, 18, 872-879.
21. Subbaiah KC., Raniprameela D., Visweswari G., Rajendra W., Lokanatha V., 2011. Perturbations in the antioxidant metabolism during Newcastle disease virus (NDV) infection in chicken: protective role of vitamin E. *Die Naturwissenschaften*, 98, 1019-1026.
22. Marikovskiy M., Ziv V., Nevo N., Harris-Cerruti C., Mahler O., 2003. Cu/Zn superoxide dismutase plays important role in immune response. *Journal of Immunology*, 170, 2993-3001.
23. Stefańska I., Gieryńska M., Rzewuska M., Binek M., 2010. Survival of *Corynebacterium*

- pseudotuberculosis within macrophages and induction of phagocytes death. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 13, 143-149.
24. MacMicking J., Xie QW., Nathan C., 1997. Nitric oxide and macrophage function. *Annual Review of Immunology*, 15, 323-350.
25. Granger DL., Hibbs JB Jr., Perfect JR., Durack DT., 1988. Specific amino acid (L-arginine) requirement for the microbistatic activity of murine macrophages. *The Journal Clinical Investigation*, 81, 1129-1136.
26. Genuardi JA., Eskew ML., Zeligs BJ., Bellanti JA., 1999. The effects of vitamin E and selenium on the Nitric Oxide production of macrophages. *Pediatric Research*, 45, 771-771.
27. Ralph AP., Yeo TW., Salome CM., Waramori G., Pontororing GJ., Kenangalem E., Sandjaja., Tjitra E., Lumb R., Maguire GP., Price RN., Chatfield MD., Kelly PM., Anstey NM., 2013. Impaired pulmonary nitric oxide bioavailability in pulmonary tuberculosis: association with disease severity and delayed mycobacterial clearance with treatment. *The Journal of Infectious Diseases*, 208, 616-626.
28. Grasemann H., Ioannidis I., de Groot H., Ratjen F., 1997. Metabolites of nitric oxide in the lower respiratory tract of children. *European Journal of Pediatrics*, 156, 575-578.
29. Nisbet C., Yarım GF., Çiftçi A., Çenesiz S., Çiftçi G., 2007. Investigation of serum nitric oxide and malondialdehyde levels in cattle infected with *Brucella abortus*. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 54, 159-163.



Etlık Piliç Yemlerine İlave Edilen Yarpuz'un (*Mentha Pulegium* L) Doku Yağ Asidi Kompozisyonu ve Raf Ömrüne Etkileri

M. Kuddusi ERHAN¹, Ş.Canan BÖLÜKBAŞI AKTAŞ², Hilal ÜRÜŞAN³

1. Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Ağrı, TÜRKİYE.
2. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Erzurum, TÜRKİYE.
3. Bayburt Üniversitesi, Bayburt Meslek Yüksekokulu, Bayburt, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
18.04.2015	11.06.2015	20.12.2015

Öz: Bu çalışmada yarpuzun (*Mentha Pulegium* L) etlik piliçlerde doku yağ asidi kompozisyonu ve raf ömrüne etkisi araştırılmıştır. Araştırmada bir günlük yaşta toplam 150 adet Ross 308 civciv kullanılmış, civcivler üç gruba ayrılmış (her grup beş tekrarlı) her alt grupta on adet hayvan olacak şekilde rastgele dağıtılmıştır. Kontrol grubu bazal yemle beslenmiştir. Diğer gruplar ise sırasıyla bazal yeme %0.25 ve %0.50 yarpuz ilave edilerek beslenmiştir. Deneme sonunda kesilen hayvanların göğüs ve but kaslarının yağ asit kompozisyonu ve TBARS değerlerine bakılmıştır. Yarpuzun en yüksek seviyesinin (%0.50) verildiği grupta, göğüs etlerine ait TBARS değerlerinin tüm günlerde en düşük olduğu bulunmuştur. But etlerinde ise %0.25 yarpuz en yüksek antioksidan etkiye sahip olmuştur. Diyetle yarpuz ilavesinin but etlerinde laurik asit, linoleik asit, dokosaheksaenoik asit (DHA) ve n-6 seviyesini, göğüs etlerinde ise laurik, ekosaheksaenoik asit (EPA) ve DHA'yı artırdığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, diyetle yarpuz ilavesi etin raf ömrünü olumlu yönde etkilemiş ve EPA ve DHA'yı artırmıştır.

Anahtar Kelimeler: Etlık piliç, TBARS, Yağ asit kompozisyonu, Yarpuz.

The Effects of Supplementation of Pennyroyal (*Mentha Pulegium* L) on Meat Fatty Acid Composition and Shelf-Life in Broilers

Abstract: This research was conducted to determine the effects of dietary pennyroyal (*Mentha Pulegium* L) on meat fatty acid composition and shelf -life in broilers. One hundred fifty day-old Ross 308 chickens were assigned into one of three dietary groups (five replicates each), as each treatment with 10 birds per replicate, in a completely randomized experimental design. The control group received the basal diet. In addition to the basal diet, the two experimental diets included one of the following supplements: 0.25% and 0.50% pennyroyal. At the end of the study, fatty acid composition and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels of tissues were measured. At higher doses of pennyroyal (0.50%), TBARS values in breast meat were numerically lower at all storage times. The diet containing 0.25% pennyroyal had a higher ($P<0.05$) antioxidant effect in leg meat than the other diets. The addition of pennyroyal to compound feed significantly increased the lauric acid, linoleic acid, docosahexaenoic acid (DHA) and n-6 in the leg tissues and lauric acid, eicosapentaenoic asit (EPA) and the DHA in the breast tissues. In conclusion, dietary supplementation of pennyroyal positively affected the meat shelf-life and increased the EPA and DHA.

Keywords: Broiler, Fatty acids composition, Pennyroyal, TBARS.

GİRİŞ

Et hayvancılığında büyümeyi hızlandırmak, yemden yararlanmayı iyileştirmek, karkas ağırlığını artırmak öncelikli hedefler arasında yer almaktadır. Son yıllarda et kalitesini iyileştirmeye yönelik çalışmalara ağırlık verilmiştir. Et kalitesini iyileştirmek amacıyla başvuru uygulamalardan birisi de farklı yem katkı maddelerinin kullanılmasıdır (1).

Günümüz dünyasında bilinçli tüketicilerin ne yedikleri konusunda daha dikkatli ve daha seçici davranmaları, temiz ve herhangi bir kimyasal kullanılmadan beslenen hayvanlardan elde edilen et ve et ürünlerini tercih etmeleri nedeniyle kanatlı beslemede doğal yem katkı maddelerinin kullanımlarını neredeyse zorunlu hale getirmiştir.

Bu bağlamda kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde insan sağlığına zarar vermeyen, patojenlerden kaynaklanan birçok problemi önleyerek, performansı iyileştirip karlılığı artıran doğal ve aromatik bitkiler ile bunlardan elde edilen esansiyel yağların kanatlı hayvan beslenmesinde alternatif yem katkı maddesi olarak kullanımına başlanmıştır (2).

Ramakrishna ve ark. (3) ile Williams ve Losa (4) fitojeniklerin lipaz ve amilaz gibi sindirim enzimlerinin üretimini artırarak çeşitli hayvan türlerinin besin maddelerinden daha etkin yararlandıklarını rapor etmişlerdir. Bazı araştırmacılar bitkisel ekstraktların antibakteriyel, antioksidan ve antifungal etkilere sahip olduklarını tespit etmişlerdir (5-7).

Aromatik bir bitki olan yarpuz (*Mentha Pulegium* L), anavatanı Orta Avrupa ve Asya olarak bilinen *Mentha Labiatae* familyasının bir üyesi olup, tarih boyunca geleneksel tedavilerde kullanılmıştır (8). Yarpuzun antioksidan ve antibakteriyel etkilere sahip olduğu çeşitli çalışmalarla bildirilmiştir (9-13).

Bu çalışma, Türkiye’de doğal yayılış gösteren ve halkın günlük diyetlerinde, sıklıkla operatif amaçlı dahilen kullanım şeklinde, yer verdiği yarpuzun (*Mentha Pulegium* L) etlik civcivlerde etin raf ömrü ve

yağ asidi kompozisyonu üzerine etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Araştırmada bir günlük yaşta 150 adet (Ross 308) karışık cinsiyette etlik civciv kullanılmıştır. Denemede 3 grup oluşturulmuş, her grup beş alt gruba ayrılmıştır (5 adet erkek, 5 adet dişi). Birinci grup kontrol olup mısır-soyaya dayalı bazal yemle (Tablo 1), 2. ve 3.gruplar ise 1-7.günler arası bazal yemle, 7-42.günlerde ise sırasıyla bazal yeme %0.25 ve 0.50 yarpuz ilave edilerek oluşturulan rasyonlarla, 6 hafta süreyle *ad-libitum* olarak beslenmişlerdir. Çalışma etik kurul ilkelerine uygun olarak yürütülmüştür. Denemede kullanılan yarpuz (*Mentha pulegium* L.) Temmuz ayında Erzurum ili çevresinden toplanıp gölgede kurutulduktan sonra toz haline getirilip diyetlere ilave edilmiştir. Yarpuzun etken madde düzeyleri Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü Analitik Laboratuvarında GC-MS (Gas Chromatography ve Mass Spectrometry) yapılmıştır (%38.32 menthone,%3.57 izomenthone, %7.77 menthol, %45.67 piperiton oksit, %2.1 pulegon).

Deneme sonunda hayvanlar bütün hayvanlar kesilmiş, kesilen hayvanların but ve göğüs kısımlarından dört örnek alınarak + 4°C de depolanmış, 1 ve 4. günlerde TBARS (tiyobarbuturik asit reaktif madde) değerlerine bakılmıştır (14). Ayrıca but ve göğüs kısmından alınan örneklerde yağ asit kompozisyonu incelenmiştir (15).

İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin varyans analizi Genel Linear Model prosedürü ile ve önemli bulunan verilerin önem kontrolleri SPSS 10.01 (16) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir.

Tablo 1. Denemede kullanılan bazal yemin içeriği ve besin madde kompozisyonu.
Table 1. Ingredient of basal feed and nutrient composition of experimental diet.

İçerik	Başlangıç (0-21 günler arası)	Bitiş (22-42 günler arası)
Mısır	575.50	635.02
Soyafasülyesi küspesi	175.50	28.72
Tam yağlı soya	160.00	240.00
Et ve kemik unu	34.00	34.00
Tavuk unu	35.00	35.00
Kireçtaşı	2.00	-
DCP	2.20	-
Vitamin premix ¹	2.00	2.00
Mineral premix ²	1.50	1.50
Tuz	1.80	2.00
DL-Metiyonin	2.00	1.02
Lisin	3.00	1.80
Bitkisel yağ	4.00	17.18
Soda	1.50	1.76
Toplam	1000	1000
Hesaplanan besin madde kompozisyonu (%)		
Ham protein	23	19.40
Ham yağ	8.03	11.00
Ham selüloz	4.22	4.45
Ham kül	5.59	4.98
ME (MJ/kg)	12.70	13.54
Ca	1.05	0.95
P	0.56	0.51
Metiyonin	1.22	1.00
Lisin	1.50	1.10
Analizle bulunan besinmadde kompozisyonu (%)		
Ham protein	22.70	19.11
Ham yağ	8.13	11.91
Ham selüloz	3.96	4.23
Ham kül	5.24	4.61
Kuru madde	88.94	89.82

¹Diyetin her kilogramında: vitamin A, 12,000 IU; vitamin D3, 3500 IU; vitamin E, 100 mg; vitamin K3, 3.0 mg; vitamin B1, 2.5 mg; vitamin B2, 6 mg; niasin, 25.0 mg; kalsium-D-pantotenat, 12 mg; vitamin B6, 4 mg; vitamin B12, 0.015 mg; folik asit, 1.5 mg; D-biotin, 150 mg; askorbik asit, 100 mg; vekolin klorid,375mg.
²Diyetin her kilogramında: Mn, 100 mg; Fe, 25 mg; Zn, 65 m g; Cu, 15 mg; I, 1 mg; Co, 0.25 mg; ve Se, 0.2 mg.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Göğüs ve but etlerinde TBARS değerleri diyetten ve günlerden önemli derecede ($P<0.05$) etkilenmiştir. Hem birinci ve hemde dördüncü günlerde göğüs etlerinde en düşük MDA değeri %0.50 yarpuz ilave edilen grupta tespit edilmiştir. But etlerinde ise

rasyona %0.25 yarpuz ilave edilen grupta MDA değeri diğer gruplara göre önemli derecede ($P<0.05$) düşük bulunmuştur. Her iki doku örneğinde de deneme faktörleri arası interaksiyonlara göre yem x gün interaksiyonu istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu belirlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Rasyona yarpuz ilavesinin but ve göğüs etlerinde TBARS (mg MDA/kg doku) değeri üzerine etkisi.
Table 2. Effect of dietary supplementation of pennyroyal on TBARS (mg MDA/kg tissue) values in leg and breast muscles of broilers.

Depolama süresi	Göğüs			But		
	Kontrol	%0.25 Yarpuz	%0.50 Yarpuz	Kontrol	%0.25 Yarpuz	%0.50 Yarpuz
1.gün	2.38b	2.54b	1.50c	2.88b	2.49c	2.89b
4.gün	3.10a	3.13a	2.54b	4.70a	2.94b	4.87a
SH		0.04			0.03	
Yem		*			*	
Günler		*			*	
Yem x Günler		*			*	

*P<0.05.MDA: mg malondialdehide. SH: standart hata

Labiatae familyasına ait cinslerin antioksidan ve antimikrobiyel gibi önemli fizyolojik aktivitelere sahip oldukları bildirilmiştir (17,18). Esansiyel yağların antioksidan etkisine sahip oldukları fenolik bileşiklerin sebep olduğu belirtilmiştir (19,20). Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi serbest radikalleri temizleme, metal iyonlarla bileşik oluşturma ve singlet (tekli) oksijen oluşumunu engelleme veya azaltma gibi özelliklerinden kaynaklanmaktadır (21).

Yarpuzun antioksidan etkisi çeşitli in vitro çalışmalarla rapor edilmiştir (11-13). Bölükbaşı ve ark. (22), etlik piliç yemlerine kekik yağı ilavesinin kaslarda oksidatif stabiliteyi artırdığını tespit etmişlerdir. Botsoglou ve ark. (23), kekik uçucu yağı veya α -tokoferol asetat ilave edilen yemlerle beslenen etlik piliçlerin göğüs ve but etlerindeki malondialdehit (MDA) düzeyinin kontrol grubuna göre azaldığını ve bu azalmanın ilave edilen kekik uçucu yağı arttıkça belirginleştiğini tespit etmişlerdir.

Gruplar arasında göğüs eti miristik asit, palmitik asit, palmitoleik asit, stearik asit, oleik asit, linoleik asit, linolenik asit, eikosadienoik asit, doymuş yağ asitleri (SFA), tekli doymamış yağ asitleri (MUFA), çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), n3, n6 ve n6/n3 yağ asiti kompozisyonu bakımından istatistik olarak önemli bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 3). Yarpuz ilavesinin eikosaenoik asit, laurik asit, araşidik, araşidonik, eikosaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) oranını önemli derecede etkilediği tespit edilmiştir. Eikosaenoik asit

oranı rasyona yarpuz (*Mentha pullegium L*) ilavesiyle önemli derecede (P<0.05) artış göstermiştir. En yüksek laurik asit konsantrasyonu %0.25 yarpuz ilave edilen grupta tespit edilmiştir. Araşidik (P<0.01), araşidonik, EPA ve DHA (P<0.05) oranları ise diyetle %0.50 yarpuz (*Mentha pullegium L*) ilave edilen grupta en yüksek saptanmıştır (Tablo 3).

But etlerinde yağ asidi kompozisyonuna ait değerler Tablo 3 de verilmiştir. Myristik, palmitoleik, stearik, oleik, linolenik, araşidik, EPA, MUFA, PUFA, n3 ve n6/n3 seviyelerinin hiçbir muamele grubundan etkilenmediği tespit edilmiştir. But etlerinde yüzde yağ oranı diyetle yarpuz oranının artmasıyla belirgin bir şekilde artış göstermiştir. En yüksek laurik asit seviyesi diyetle %0.25 yarpuz (*Mentha pullegium L.*) ilave edilen grupta (P<0.01) bulunmuştur. Diyetle yarpuz (*Mentha pullegium L.*) ilavesiyle palmitik, eikosadienoik, araşidonik, dokosadienoik asit (P<0.05), eikosenoik ve SFA (P<0.01) oranları azalırken; linoleik asit ve n6 oranı artış eğilimi (P<0.05) göstermiştir (Tablo 4). Diyetle %0.50 yarpuz (*Mentha pullegium L.*) ilavesi butlarda DHA oranını önemli derecede (P<0.05) yükseltmiştir.

Yapılan literatür taramasında yarpuzun etlik piliçlerde kullanımıyla ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Diğer aromatik birkilere ait esansiyel yağlarla ilgili olarak yapılan çalışmalarda; Youdim ve Deans (24) kekik yağının ratların beyin dokularında palmitik asit, stearik asit ve araşidonik asit seviyesini düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Bölükbaşı ve ark. (22), araştırmalarında hem but hem

de göğüs dokularında SFA, PUFA, myristik, palmitik ve stearik asit seviyelerinin kekik yağı ilavesiyle önemli düzeyde azaldığını göstermişlerdir. Benzer olarak Youdim ve Deans (24) ratların beyin dokularında palmitik ve stearik asit seviyesinin azaldığını; oleik ve palmitoleik asit seviyelerinin ise arttığını tespit etmişlerdir. Bu araştırmada göğüs ve but kaslarında DHA oranının rasyona %0.50 yarpuz ilavesiyle önemli

derecede yükseldiği gözlemlenmiştir. Benzer olarak Bölükbaşı ve ark. (25) yumurta tavuğu rasyonlarına bergamot yağı ilavesinin yumurta sarısı DHA, EPA ve n-3 seviyesini artırdığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda elde edilen bulguların aksine biberiye ekstraktının yumurta tavuklarında yumurta sarısı yağ asidi kompozisyonu üzerine hiçbir etkisinin olmadığı rapor edilmiştir (26).

Tablo 3. Rasyona yarpuz ilavesinin göğüs eti yağ asiti kompozisyonu üzerine etkisi.

Table 3. Effect of dietary supplementation of pennyroyal on fatty acid composition in breast muscles of broilers.

	Kontrol	%0.25 Yarpuz	%0.50 Yarpuz	SH	P
%Yağ oranı	1.86	1.50	1.82	0.08	ÖS
%Yağ asitleri					
Laurik	0.22c	0.43a	0.28b	0.03	**
Myristik	0.25	0.24	0.27	0.007	ÖS
Palmitik	15.89	15.18	15.58	0.13	ÖS
Palmitoleik	1.80	1.71	1.76	0.026	ÖS
Stearik	8.12	8.07	8.10	0.14	ÖS
Oleik	30.25	29.63	28.49	0.37	ÖS
Linoleik	33.73	33.08	34.01	0.38	ÖS
Linolenik	2.20	2.25	2.31	0.074	ÖS
Araşidik Asit	0.28b	0.27b	0.36a	0.01	**
Eikosenoik asit	0.41b	0.49a	0.49a	0.01	*
Eikosadienoik	3.13	3.70	3.54	0.19	ÖS
Araşidonik	0.08b	0.07b	0.15a	0.015	*
EPA	0.015b	0.030b	0.066a	0.008	*
Dokosadienoik	0.77	0.88	0.79	0.04	ÖS
DHA	0.41b	0.46b	0.56a	0.02	*
SFA	24.76	24.21	24.60	0.16	ÖS
MUFA	32.47	31.84	30.75	0.39	ÖS
PUFA	40.35	40.48	41.45	0.36	ÖS
n3	2.63	2.74	2.94	0.096	ÖS
n6	33.81	33.15	34.17	0.38	ÖS
n6/n3	12.89	12.27	11.64	0.38	ÖS

^{a-b} Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasında fark önemli bulunmuştur P < 0.01 (***) ve P < 0.05 (*); SH: standart hata; ÖS önemsiz; EPA: Ekosapentaenoik asit, DHA: Dokosaheksaenoik asit, SFA: Doymuş yağ asitleri, MUFA: Tekli doymamış yağ asitleri, PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri

Tablo 4. Rasyona yarpuz ilavesinin but eti yağ asiti kompozisyonu üzerine etkisi.**Table 4.** Effect of dietary supplementation of pennyroyal on fatty acid composition in leg muscles of broilers.

	Kontrol	%0.25 Yarpuz	%0.50 Yarpuz	SH	P
%Yağ oranı	2.49c	2.70b	3.98a	0.23	**
%Yağ asitleri					
Laurik	0.21b	0.25a	0.14c	0.011	**
Myristik	0.30	0.27	0.26	0.008	ÖS
Palmitik	15.88a	14.88b	15.22b	0.17	*
Palmitoleik	2.09	2.24	2.08	0.05	ÖS
Stearik	7.64	6.41	7.08	0.23	ÖS
Oleik	29.22	30.39	30.04	0.33	ÖS
Linoleik	34.70b	36.13a	36.64a	0.35	*
Linolenik	2.40	2.73	2.51	0.07	ÖS
Araşidik Asit	0.32	0.27	0.31	0.01	ÖS
Eikosenoik asit	0.43a	0.37b	0.35b	0.01	**
Eikosadienoik	2.72a	1.99b	2.06b	0.13	*
Araşidonik	0.14a	0.05b	0.07b	0.01	*
EPA	0.025	0.030	0.030	0.002	ÖS
Dokosadienoik	0.64a	0.47b	0.42b	0.03	**
DHA	0.33b	0.24b	0.41a	0.02	*
SFA	24.36a	22.02b	23.02b	0.36	**
MUFA	31.75	33.00	32.47	0.34	ÖS
PUFA	40.96	41.66	42.15	0.32	ÖS
n3	2.74	3.01	2.95	0.10	ÖS
n6	34.85b	36.19a	36.71a	0.34	*
n6/n3	12.89	12.12	12.44	0.4	ÖS

^{a-b} Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasında fark önemli bulunmuştur P < 0.01 (***) ve P < 0.05 (*) ÖD; önem durumu; ÖS önemsiz; EPA: Ekosapentaenoik asit, DHA: Dokosaheksaenoik asit, SFA: Doymuş yağ asitleri, MUFA: Tekli doymamış yağ asitleri, PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri

Sonuç olarak, etlik piliç yemlerine %0.50 yarpuz ilavesinin, göğüs etlerinde, %0.25 yarpuz ilavesinin ise but etlerinde TBARS değerlerini önemli ölçüde düşürdüğü tespit edilmiştir. Diyete yarpuz ilavesinin but etlerinde laurik asit, linoleik asit, DHA ve n-6 seviyesini, göğüs etlerinde ise laurik, EPA ve DHA'yı artırdığı belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre etin raf ömrünü artırmak için etlik civciv yemlerinde %0.25-0.50 arası yarpuz kullanılması önerilebilir ise de hayvan sağlığı üzerindeki etkileri konusunda daha geniş kapsamlı ve birçok parametrenin incelendiği çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Özdoğan M., Soycan Önenç S., Turhaner K., Önenç A., 2007. Uçucu yağların kuzu eti kalitesine etkisi. 5.Ulusal Zootekni Bilim Kongresi. 74, Van.
- Gemici İ., 2006. Origanum Vulgare SSP. Hirtum bitki ekstraktının broyler piliçlerinin

performansına etkileri. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.

- Ramakrishna RR., Platel K., Srinivasan K., 2003. In vitro influence of species and spice-active principles on digestive enzymes of rat pancreas and small intestine. Nahrung, 47, 408-412.
- Williams P., Losa R., 2001. The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition. World Poultry, 17, 14-15.
- Cowan MM., 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12, 564-582.
- Craig WJ., 1999. Health-promoting properties of common herbs. The American Journal of Clinical Nutrition, 70, 491-499.
- Faleiro ML., Miguel MG., Ladeiro F., Venancio F., Taveres R., Brito JC., Figueiredo AC., Barroso JG., Pedro LG., 2003. Antimicrobial activity of

- essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. *Letters in Applied Microbiology*, 36, 35-40.
8. Öztürk B., Konyalıoğlu S., Ertaş H., Gökğünneç L., 2002. Türkiye’de doğal yayılış gösteren bazı *Mentha* L. taxonlarının karşılaştırmalı uçucu yağ bileşenleri ve antioksidan etkileri. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Eskişehir.
 9. Sivropoulou A., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M., 1995. Antimicrobial activity of mint essential oils. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 43, 2384-2388.
 10. Mahboubi M., Haghi G., 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 119, 325-327.
 11. Guimaraes R., Barreira JCM., Barros L., Carvalho AM., Ferreira ICFR., 2011. Effects of oral dosage form and storage period on the antioxidant properties of four species used in traditional herbal medicine. *Phytotherapy Research*, 25, 484-492.
 12. Kamkar A., Javan AJ., Asadi F., Kamalinejad M., 2010. The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food Chemistry Toxicology*, 48, 1796-1800.
 13. Lopez V., Martin S., Gomez-Serranillos MP., Carretero ME., Jager AK., Calvo MI., 2010. Neuroprotective and neurochemical properties of mint extracts. *Phytotherapy Research*, 24, 869-874.
 14. Lemon D.W., 1975. An improved TBA test for rancidity new series circular. No:51, 1-4, Halifax, Nova Scotia.
 15. Anonymous, 2000. Sherlock microbial identification system, version 4 MIS Operating Manuel, Newark, DE, USA.
 16. *SPSS for windows* release 10.0, 1999. *SPSS Inc. Chicago*.
 17. Singhal RS., Kulkarni PR., Rege DV., 2001. University of Mumbai Handbook of Herbs and Spices. Volume 1, 22-34, Woodhead Publishing Limited, England.
 18. Perez- Mateos M., Lanier TC., Boyd LC., 2006. Effects of rosemary and green tea extracts on frozen surimi gels fortified with omega-3 fatty acids. *Journal of Science Food and Agriculture*, 86, 558-567.
 19. Farag RS., Badei AZMA., Hewedi FM., El-Baroty GSA., 1989. Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. *Journal of American Oil Chemists Society*, 66, 792-799.
 20. Deighton N., Glidewell SM., Deans SG., Goodman BA., 1993. Identification by EPR spectroscopy of carvacrol and thymol as the major sources of free-radicals in the oxidation of plant essential oils. *Journal of Science Food and Agriculture*, 63, 221-225.
 21. Rice-Evans NJ., Miller NJ., Balwell PG., Bromley PM., Pridham JB., 2005. The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavanoids. *Free Radical Research*, 22, 375-383.
 22. Bölükbaşı ŞC., Erhan MK., Özkan A., 2006. Effect of dietary thyme oil and vitamin E on growth, lipid oxidation, meat fatty acid composition and serum lipoproteins of broilers. *South African Journal of Animal Science*, 36, 189-196.
 23. Botsoglou NA., Florou-Paneri P., Christak E., Fletouris DJ., Spais AB., 2002. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *British Poultry Science*, 43, 223-230.
 24. Youdim KA., Deans SG., 2000. Effect of thyme oil and thymol dietary supplementation on the antioxidant status and fatty acid composition of the ageing rat brain. *British Journal of Nutrition*, 83, 87-93.
 25. Bölükbaşı ŞC., Erhan MK., Ürüşan H., 2010. The effects of supplementation of Bergamot Oil (*Citrus bergamia*) on egg production, egg quality, fatty acid composition of egg yolk in laying hens. *The Journal of Poultry Science*, 47, 163-169.
 26. Galobart J., Barroeta AC., Baucells MD., Codony R., Ternes W., 2001. Effect of dietary supplementation with rosemary extract and α -tocopheryl acetate on lipid oxidation in eggs enriched with omega3-fatty acids. *Poultry Science*, 80, 460-467.



Erzurum Bölgesinde Sığırlarda Respiratorik Coronavirus Enfeksiyonunun RT-PCR ile Tespiti ve Moleküler Karakterizasyonu

Mehmet Özkan TİMURKAN¹✉, Hakan AYDIN¹, Sema BELEN¹

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

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
10.07.2015	06.10.2015	20.12.2015

Özet: Sığırların coronavirusları (BCoV) dünya genelinde sığırcılık işletmelerini etkileyerek ciddi solunum ve sindirim sistemi enfeksiyonlarına yol açmaktadır. Bu çalışmada, sığır yetiştiriciliği yapılan işletmelerinde coronavirusların varlığını/yaygınlığını göstermek ve tespit edilen virusların diğer coronaviruslarla ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Erzurum ili ve ilçelerinde solunum sistemi semptomları gösteren, farklı ırk ve yaş gruplarında 54 adet sığır çalışmaya dahil edildi. Materyal olarak hayvanlardan burun sıvabı ve mezbahada kesilen hayvanlardan pnömonili akciğer dokusu alındı. Toplanan örneklerde viral nükleik asit ekstraksiyonu, RT-PCR ve nested-PCR reaksiyonları gerçekleştirildi. Bölgeyi temsilen bir amplicon dizi analizine tabi tutuldu. Yöremize ait coronavirus suşu ile gen bankasından sağlanan aşı ve çeşitli coronavirus suşlarına ait nükleik asit dizilimi karşılaştırılarak karakterize edildi. Coronavirus yönünden yapılan moleküler incelemeler sonucunda solunum sistemi enfeksiyonu bulunan 54 sığırdan alınan akciğer doku ve sıvab örneğinin 11 (%20.4)'inde etken pozitif olarak belirlenmiştir. Ayrıca dizi analizi sonucu bölgede sirküle olan virusun *Betacoronavirus A* grubunda yer aldığı ve aşı suşuyla aynı clusterda yer aldığı tespit edilmiştir. Bu çalışma ile bölgemiz ve ülkemiz açısından mevcut durum güncellenerek epidemiyolojik verilere katkıda bulunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Erzurum, Respiratorik Coronavirus, RT-PCR, Sığır.

The Detection and Molecular Characterization of Bovine Respiratory Coronavirus Infection by RT-PCR in Erzurum

Abstract: Bovine coronavirus (BCoV) cause severe respiratory and gastrointestinal infections affecting the animal breeding industry worldwide. In this study, we aimed to evaluate the presence/currency of coronavirus, and to identify the relationship with other coronaviruses. Fifty-four cattle (in different breeds and ages) with respiratory symptoms that have been breeding in the surrounding districts and Erzurum were included in this study. Samples of nasal swap and lung tissue with pneumonia were taken, as material, from the animals slaughtered. The samples collected were subjected to viral nucleic acid extraction, RT-PCR and Nested-PCR. The amplicon representing the region was sequenced. Coronavirus strains that were identified in our region and those obtained from the Gene Bank (as vaccine and reference strains) were compared by sequencing process. As a result of molecular analyses, 11 (20.4 %) samples (swap and lung tissue) collected from 54 cattle with respiratory system infection were positive. Moreover, it was determined that the circulating virus in the region was belonging to the group of betacoronavirus A and it was in the same cluster with the vaccine strain. By this study, the current situation has been updated both in our region and the country and also contributed to the epidemiological data.

Keywords: Cattle, Erzurum, Respiratory Coronavirus, RT-PCR.

GİRİŞ

Coronavirus enfeksiyonları solunum ve sindirim sistemini etkileyerek sığır yetiştiriciliği açısından ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (1). Bu enfeksiyonların başında da pnömoniler gösterilebilir. Pnömonilerin oluşmasında kötü ahır koşulları, transportlar, yem değişiklikleri ve kötü bakım - besleme gibi fiziksel şartlar rol oynamaktadır. Ayrıca bakteriler, virüsler ve parazitlerde pnömonilerin oluşmasında etiyolojik ajan olarak karşımıza çıkmaktadır. Bunun yanı sıra hastalığın seyrinde aktif ve pasif bağışıklık düzeyleri de önemli rol oynar (2). Enfeksiyöz ajanlar içerisinde viral ajanlar; tedavilerinin çok güç olması, bulaşmalarının hızlı olması ve sekonder etkenlere zemin hazırlaması gibi nedenlerden dolayı daha da önem kazanmaktadır. Solunum sistemini etkileyen viral etkenler içerisinde Bovine Respiratorik Sinsityal Virus, Parainfluenza Virus-3, Bovine Herpes Virus 1, Bovine Viral Diyare Virus, Bovine Adenovirus ve Bovine Respiratory Coronaviruslar sayılabilir (3, 4).

Bovine coronaviruslar sindirim sistemine yerleşerek yeni doğan buzağılarda kış dizanterisine, yine buzağılarda ve besi sığırlarında solunum sistemine yerleşerek solunum sistemi enfeksiyonlarına sebep olmaktadır (5). Ayrıca son yıllarda ülkelerin korkulu rüyası haline gelen coronavirusların sebep olduğu SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) (6) ve deve-yarasa-insan üçgeni teorileriyle gündeme oturan zoonoz karakterli MERS (Middle East Respiratory Syndrome) orta doğuda birçok insanı etkileyerek ölümlere yol açmıştır (7,8).

Coronaviruslar, *Coronaviridae* ailesinde bulunan hem insan hem de hayvanları etkileyen zarlı, pozitif polariteli RNA virüsleridir. Bu virüsler genetik olarak 4 gruba ayrılır. Bunlar alfa, beta, gama ve delta gruplarıdır. Coronaviruslar, 5 önemli proteinden oluşur. Bunlar nükleocapsit proteini (N), transmembran proteini, spike proteini (S), small membran ve hemaglutinin/esterazdır (HE) (9).

Virolojik çalışmalarda teşhis amaçlı olarak bazı genler hedef alınarak PCR yapılabilir. Bu genler genellikle mutasyonel açıdan korunaklı gen bölgeleridir. Coronaviruslar açısından Center for Disease Control and Prevention (CDC) kuruluşunun belirttiği gibi virüsün teşhisi açısından nükleoprotein (N) geni hem izleme hem de doğrulama amaçlı olarak PCR çalışmalarında kullanılabilir. Betacoronaviruslar; başta sığır ve insan olmak üzere, domuz, köpek, deve, ve tavşanları etkileyen, SARS ve MERS gibi zoonotik potansiyele sahip virüsleri de kapsayan bir gruptur (10).

Dünyada ve ülkemizde coronavirusların enterik sisteme olan etkilerinin incelendiği birçok çalışma bulunsa da (1,2,5,11), respiratorik sisteme yerleşim gösteren virüsün teşhisi ve karakterizasyonuna ilişkin çalışmalar sınırlıdır. (12,13). Güncel veriler kapsamında Alkan ve ark. (12) en detaylı çalışmayı yapmış ve ülke genelinde elde edilen virüslardan S gen bölgesi düzeyinde sadece gaitadan moleküler karakterizasyon çalışması gerçekleştirilmişlerdir.

Bu çalışmada, Erzurum yöresinde coronavirus varlığının araştırılması, yaygınlığının belirlenmesi ve ayrıca tespit edilen suşun diğer sığır kökenli coronaviruslarla ve aşı suşuyla benzerliğinin genomik düzeyde ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Örnekler

Çalışmanın materyalini Eylül 2013 – Mart 2014 yılları arasında, Erzurum ili (Mezbaha, n=8; hayvan pazarı, n=7; tuzcu köyü, n=5, Atatürk Üniv. Vet. Fak. Klinikleri, n=2) ve ilçelerinden (Merkez, n=2; Tekman, n=2; Oltu, n=5; Şenkaya, n=1; Horasan, n=10; Hasankale, n=12) farklı hayvanlara ait toplam 54 adet akciğer dokusu ve burun sıvab örnekleri oluşturmuştur. Çalışmanın materyalini oluşturan örnekler anabilim dalımıza rutin tanı faaliyetleri çerçevesinde gelen örneklerdir. Rutin tanı faaliyetleri

kapsamında gelen örneklerin yaş, ırk ve cinsiyet bilgileri elde edilememiştir. 54 adet örneğin 8 adedi akciğer dokusu geri kalan örnekler nasal sıvab örnekleridir.

RNA Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon öncesi nasal sıvab örnekleri 1 ml steril su ile sulandırılıp, bir ependorf tüpe konuldu. 3000 rpm'de santrifüj sonrası süpernant alınarak ekstraksiyona geçildi. Akciğer doku örnekleri ise ekstraksiyon öncesinde 100 mg olarak küçültüldü ve bir ependorf tüpe konuldu. Üzerine manyetik boncular konularak TissueLyser LT (Qiagen, Almanya) doku homojenizatörü ile 5000 rpm'de 15 dk boyunca parçalandı. Süre sonunda santrifüj edilen örneklerin sıvı kısmı toplanarak ekstraksiyon işlemi uygulandı. Çalışma materyalini oluşturan 54 adet örnekten coronavirus RNA'sının izolasyonu Chomczynski ve Sacchi (14) tarafından bildirilen yöntemine uygun olarak gerçekleştirildi. İzolasyon sonunda 37°C de kurutulan nükleik asit pelleti 20µl DNAaz-RNAaz

içermeyen su ile re-süspanse edilerek cDNA eldesi için kalıp olarak kullanmak için hazır hale getirildi.

Viral RNA'nın Revers Transkripsiyonu (RT)

RT-PCR amacıyla kullanılacak olan viral RNA'ların komplementer DNA'ya (cDNA) dönüştürülmesi işlemi amacıyla Revertaid First Strand cDNA kiti (Thermo Scientific, Almanya) kullanıldı. Firmanın öngördüğü şekilde yapılan prosedür sonunda cDNA elde edildi.

PCR

PCR reaksiyonu için Cho ve ark., (15) tarafından bildirilen primerler ve yöntem kullanıldı. Etkene spesifik primer dizileri, PCR sonrası agaroz jelde ki ürün büyüklükleri ve PCR bağlanma derecesi tablo 1'de gösterilmiştir. Reaksiyon sonrası elde edilen ürünler agaroz jel elektroforez işlemine tabi tutularak moleküler ağırlıklarına göre ayrıştırılıp ardından UV ışık altında 406 bp büyüklüğünde bantlar coronavirus N geni yönünden pozitif olarak değerlendirildi.

Tablo 1. PCR amplifikasyon ürünleri, primer dizileri ve uzunlukları.

Table 1. PCR amplification products, primer sequences and lengths.

Primer	Primer Dizisi (5'-3')	Büyükük (bp)	Bağlanma Derecesi	Literatür
N gen-F	GCAATCCAGTAGTAGAGCGT	700	50 °C	Cho ve ark., 2001
N gen-R	CTTAGTGGCATCCTTGCCAA			
N gen-nestedF	GCCGATCAGTCCGACCAATG	406	55 °C	
N gen-nestedR	AGAATGTCAGCCGGGGTAG			

Dizi Analizi ve Filogenetik Analiz

PCR ve elektroforez işlemleri sonrası elde edilen ampikonlardan dizi analizi için uygun olan, yöreyi temsilen bir örnek sekans reaksiyonuna tabi tutuldu. Bu amaçla hizmet alımı şeklinde (Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü, Genetik Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye) DNA dizi analizi yaptırıldı. Dizi analizi sonrası elde edilen işlenmemiş veriler ile gen bankasından elde edilen referans suşlara ait nükleik asit dizisinin BioEdit version 7.0.5 (16) bioinformatik programlarla Clustral W yazılımı kullanılarak karşılaştırıldı. Aynı

programın çoklu hizalama (multiple alignment) özelliğinden yararlanılarak gen bankasından elde edilen diğer referans viruslarla ve referans olmayan diğer ülkelerde bildirilen yerel virusların kısmi ve komple genom dizileri ile hizalandı ve sonuçlar karşılaştırıldı. Ardından MEGA v6.0 (17) programı ile filogenetik analizi gerçekleştirildi (Şekil 1). Bu amaçla fasta formatına çevrilen tüm verilere Neighbour-Joining metoduna göre bootstrap analizi (1000 replicates) yapıldı. Analizde Tamura'nın 2'li parametresi kullanıldı ve bootstrap değerleri filogenetik harita üzerinde gösterildi.

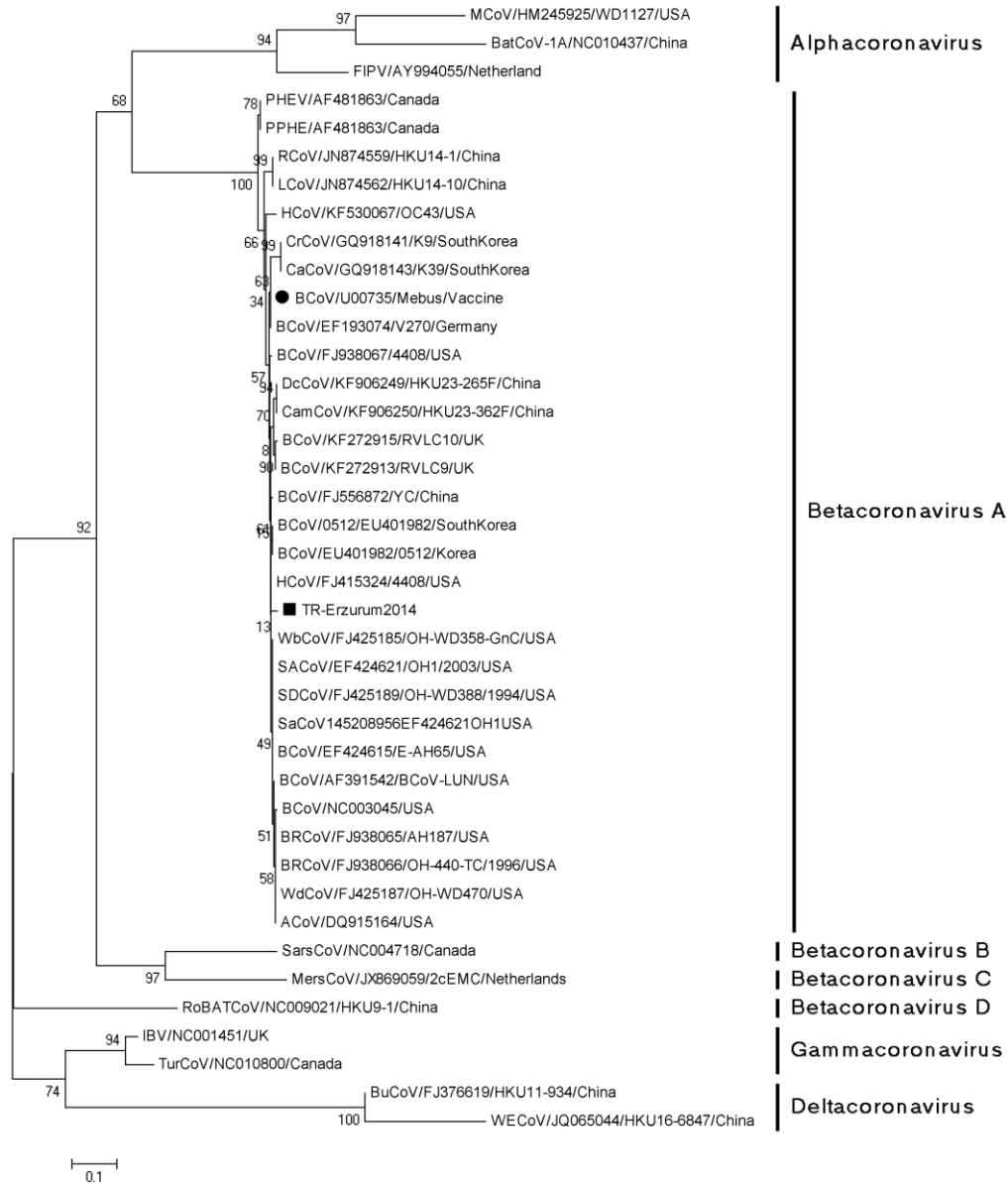
BULGULAR

Erzurum ve çevresinde bulunan 6 farklı bölgeden sağlanan (Merkez, Oltu, Şenkaya, Tekman, Horasan, Hasankale) 54 örnekte yapılan PCR sonuçlarına göre nasal sıvab ve doku örneklerinden 11 (11/54, %20.4) tanesinde coronavirus nükleik asidi tespit edildi (Hayvan pazarı, 1/7 (%14.3); Merkez ilçe 2/2 (%100); Tuzcu köyü, 3/5 (%60); Şenkaya ilçesi 1/1 (%100) ve Horasan ilçesi, 4/10 (%40). Yapılan

incelemede akciğer doku örneklerinin hiç birinde pozitiflik elde edilemezken, pozitiflik sadece sıvab örneklerinde bulunmuştur (11/46, %23.9). PCR sonrası elde edilen ampliconun dizi analizi sonrası filogenetik analizi gerçekleştirildi. Coronavirusların 4 genogruba ayrıldığı gerçeğiyle, elde edilen suşun genelde sığır coronaviruslarının da bulunduğu grup olan betacoronavirus A genogrubunda olduğu tespit edildi (Şekil 1).

Şekil 1. Coronavirusların gen bankasından alınan referans suşları ile elde edilen virusun filogenetik analizi.

Figure 1. The phylogenetic analysis of coronavirus novel virus and reference strains obtained from Gene Bank.



TARTIŞMA ve SONUÇ

Bovine Herpesvirus-1 (BHV1), Bovine respiratory syncytial virus (BRSV), Parainfluenza virus-3 (PIV-3), Bovine adenovirus (BAV-1), BAV-3, ve Sığır Coronavirus enfeksiyonları tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de yaygın olarak gözlenmekte ve meydana gelen ekonomik kayıplar nedeniyle özellikle geçimini hayvancılıkla sağlayan bölgelerde daha da önem kazanmaktadır. Türkiye’de ve dünyada sözü edilen enfeksiyonların ayrı ayrı ya da bir arada incelendiği birçok araştırma bulunmaktadır (1,18).

Bu çalışmada Erzurum ili ve ilçelerinden anabilim dalımıza gönderilen 8 adet akciğer örneği ve 46 adet nasal sıvab örneğine nested-RT-PCR testi yapılmış ve % 20.4 pozitiflik elde edilmiştir. Ayrıca bu örneklerden birinin dizi analiz sonrası coronavirus ailesinin *Betacoronavirus A* grubunda olduğu filogenetik olarak tespit edilmiştir. Alkan ve arkadaşlarının (12) İç Anadolu bölgesinde yaptığı çalışmada 199 sıvab örneğinden 2 tanesinde respiratory coronavirusu tespit etmişlerdir. Bu durum bizim sonucumuzla kıyaslandığında yöremizin respiratorik coronavirus varlığı açısından endemik bir bölge olduğu sonucunu düşündürmektedir.

Ülkemizde özellikle enterik coronavirusla mücadelede gebe ineklere gebeliğin son döneminde *Corona*, *Rota* ve *E. coli* kombine aşuları uygulanmaktadır. Ancak ülkemizde direkt respiratorik coronavirus’a yönelik aşı bulunmamaktadır (19). Yaptığımız N geni tabanlı filogenetik analiz sonucunda hem enterik hem de respiratorik sistemi etkileyen sığır coronavirusu yakın ilişkili olarak bulunmuş olması mevcut enterik aşının solunum sistemi enfeksiyonları içinde koruyucu olabileceğini düşündürse de diğer gen bölgelerinin de değerlendirileceği geniş kapsamlı deneysel çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Mevcut çalışmada BCoV nükleik asit varlığı, çalışma materyali olarak seçilen akciğer doku örneği ve nasal sıvab örneklerinde araştırıldı. Bu örneklerden sadece nasal sıvablarda pozitiflik tespit

edildi. Bu yönüyle önceki çalışmalarla tutarlı olduğu tespit edildi. (12, 13).

Bovine coronaviruslar, Amerikada, birçok Avrupa ülkesinde (2,4,20,21) ve Japonya’da (22) erişkin sığırlar ve yenidoğan buzağılarda solunum sistemi enfeksiyonu ve/veya diyare etkeni olarak tanımlanmıştır. Türkiye’de de sığırlarda coronavirus enfeksiyonu ile ilişkili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (12,13). Bu çalışmalarda virusun varlığı ve yaygınlığı serolojik ve virolojik olarak araştırılmıştır. Bu çalışmalardan moleküler olarak en kapsamlı çalışma Alkan ve ark.’nın (12) yaptığı çalışmadır. Moleküler tabanlı olarak gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda bölgede elde edilen suşun genel sığır ve insan suşlarının olduğu *Betacoronavirus A* grubunda olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda bazı ülkelerde aşı suşu olarak kullanılan mebus suşuda bu clusterda yer almıştır. Nükleotid benzerliği olarak insan suşuyla %94.3 (HCoV/KF530067/OC43/USA), aşı suşuyla %96.8 (BCoV/U00735/Mebus/Vaccine) ve diğer sığır coronaviruslarıyla en yakın %97.7 (BCoV/EU401982/0512/Korea) olarak tespit edilmiştir. Filogeni üzerinde farklı bir clusterda yerleşim göstermediğinden ve grup olarak da hem tespit edilen suş hem de aşı suşunun aynı grupta yerleşim gösterdiğinden dolayı, ülkemizde solunum sistemi karma aşularına coronavirus mebus suşu eklenerek bölgemizde korunma sağlanabileceği kanısına varılabilir.

Bu araştırma ile yöremizde solunum sistemi enfeksiyonları içerisinde coronavirusların yeri, yaygınlığı ve genetik karakterizasyonu moleküler yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda saha örneklerinin BCoV yönünden hızlı ve doğru bir şekilde tespit edilmesi, bu enfeksiyonun kontrolünde oldukça önemlidir. Moleküler tekniklerin ilerlemesi ile BCoV enfeksiyonunun hızlı ve duyarlı teşhisi, hastalığın kontrolünde alınacak aşılama ve karantina gibi tedbirlerin hızlı bir şekilde uygulanmasında oldukça değerlidir. Böylece salgınların neden olduğu ciddi ekonomik kayıpların önüne geçilebileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak yapılan bu çalışma coronavirusların moleküler olarak irdelendiği Türkiye’de ikinci ve ilimizde (Erzurum) ilk çalışma olması açısından da önem arz etmektedir. Bu çalışmadan elde edilen veriler ışığında BCoV’un ilimiz hayvancılığı açısından önemli bir problem olduğu ve ekonomik olarak yöremiz çiftçisini etkileyebileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca prototip olarak Doğu Anadolu bölgesi içerisinde sadece bir ilde (Erzurum) yapılan bu çalışmanın perspektifinin genişletilerek tüm Doğu Anadolu’yu kapsayacak şekilde yapılması düşüncesindeyiz. Solunum sistemi viral aşı içeriklerinde bulunmayan coronavirusların özellikle bölgesel olarak geliştirilebilecek karma aşı mixlerinde olması gerektiği kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Alkan F., 1998. Buzağı ishallerinde rotavirus ve coronavirusların rolü. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 45, 29-37.
2. Decaro N., Campolo M., Desario C., Cirone F., D’Abramo M., Lorusso E., Greco G., Mari V., Colaianni ML., Elia G., Martella V., Buonavoglia C., 2008. Respiratory disease associated with bovine coronavirus infection in cattle herds in Southern Italy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20, 28-32.
3. Kirchhoff J., Uhlenbruck S., Goris K., Keil GM., Herrler G., 2014. Three viruses of the bovine respiratory disease complex apply different strategies to initiate infection. *Veterinary Research*, 18, 20-32.
4. O’Neill R., Mooney J., Connaghan E., Furphy C., Graham DA., 2014. Patterns of detection of respiratory viruses in nasal swabs from calves in Ireland: a retrospective study. *Veterinary Record*, 11, 351-355.
5. Cho KO., Halbur PG., Bruna JD., Sorden SD., Yoon KJ., Janke BH., Chang KO., Saif LJ., 2000. Detection and isolation of coronavirus from feces of three herds of feedlot cattle during outbreaks of winter dysentery- like disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 217, 1191-1194.
6. To KKW., Hung IFN., Chan JFW., Yuen K-Y., 2013. From SARS coronavirus to novel animal and human coronaviruses. *Journal of Thoracic Disease*, 5, 103-108.
7. Corman VM., Ithete NL., Richards LR., Schoeman MC., Preiser W., Drosten C., Drexler JF., 2014. Rooting the phylogenetic tree of middle East respiratory syndrome coronavirus by characterization of a conspecific virus from an African bat. *Journal Virology*, 88, 11297-11303.
8. Chu DK., Poon LL., Goma MM., Shehata MM., Perera RA., Abu Zeid D., El Rifay AS., Siu LY., Guan Y., Webby RJ., Ali MA., Peiris M., Kayali G., 2014. MERS coronaviruses in dromedary camels, Egypt. *Emerging Infectious Diseases*, 20, 1049-1053.
9. Lai MMC., Holmes KV., 2001. Coronaviridae: the viruses and their replication. In “Fields virology”, Ed., DM. Knipe, PM. Howley, DE. Griffin, MA. Martin, RA. Lamb, B. Roizman, SE. Straus, 4th ed., 1163–1185, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
10. Woo PCY., Lau SKP., Wernery U., Wong EYM., Tsang AKL., Johnson B., Yip CCY., Lau CCY., Sivakumar S., Cai JP., Fan RYY., Chan KH., Mareena R., Yuen KY., 2014. Novel betacoronavirus in dromedaries of the Middle East. *Emerging Infectious Diseases*, 20, 560-572.
11. Akgül G., Mecitoğlu Z., Ertürk A., Çatik S., Temizel EM., Gülyaz V., Gülaçtı İ., Özdemir S., Onat K., Şenlik B., Şentürk S. 2013. Isolation of first local coronavirus from cattle with winter dysentery in Turkey. *Uludag University Journal of Faculty Veterinary Medicine* 32, 63-69.
12. Alkan F., Ozkul A., Bilge-Dagalp S., Karaoglu T., Oguzoglu TC., Caliskan E., Burgu I., 2011. The detection and genetic characterization based on the S1 gene region of BCOVs from respiratory and enteric infections in Turkey. *Transboundary and Emerging Diseases*, 58, 179-185.
13. Hasöksüz M., Kayar A., Dodurka T., Ilgaz A., 2005. Detection of respiratory and enteric shedding of bovine coronaviruses in cattle in Northwestern Turkey. *Acta Veterinaria Hungarica*, 53, 137-146.

14. Chomczynski P., Sacchi N., 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical Biochemistry*, 162, 156-159.
15. Cho KO., Hasöksüz M., Nielsen PR., Chang KO., Lathrop S., Saif LJ., 2001. Cross-protection studies between respiratory and calf diarrhea and winter dysentery coronavirus strains in calves and RT-PCR and nested PCR for their detection. *Archives of Virology*, 146, 2401-2419.
16. Hall T., 2011. BioEdit: an important software for molecular biology. *GERF Bulletin of Bioscience*, 2, 60-61.
17. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 *Molecular Biology and Evolution*, 30, 2725-2729.
18. Yavru S., Simsek A., Yapkiç O., Kale M., 2005. Serological evaluation of viral infections in bovine respiratory tract. *Acta veterinaria*, 55, 219-226.
19. Altuğ N., Özdemir R., Cantekin Z. 2013. Ruminantlarda Koruyucu Hekimlik: I. Aşı Uygulamaları. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 10, 33-44.
20. Liu L., Hägglund S., Hakhverdyan M., Alenius S., Larsen LE., Belák S., 2006. Molecular epidemiology of bovine coronavirus on the basis of comparative analyses of the S gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 44, 957-960.
21. Hasöksüz M., Hoet AE., Loerch SC., Wittum TE., Nielsen PR., Saif LJ., 2002. Detection of respiratory and enteric shedding of bovine coronaviruses in cattle in an Ohio feedlot. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 14, 308-313.
22. Kanno T., Hatama S., Ishihara R., Uchida I., 2007. Molecular analysis of the S glycoprotein gene of bovine coronaviruses isolated in Japan from 1999 to 2006. *Journal of General Virology*, 88, 1218-1224.



Eimeria zuernii ile Doğal Enfekte Buzağılarda Kış Koksidiyozisi Olgusu

Mükremin Özkan ARSLAN¹✉, Ali Haydar KIRMIZIGÜL², Nilgün PARMAKSIZOĞLU¹, Ekin Emre ERKILIÇ²

1. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.
2. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received:
05.05.2015

Kabul Tarihi/Accepted:
06.08.2015

Yayın Tarihi/Published:
20.12.2015

Öz: Bu klinik olguda amaç, doğal enfekte altı aylık buzağıda görülen kış koksidiyozisi olgusunu sunmaktır. Olgu materyalini, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Kliniğine, klinik olarak ishalin görüldüğü ve iki buzağının öldüğü çiftlikten getirilen diyareli bir buzağı oluşturdu. Klinik ve parazitolojik muayenede *Eimeria zuernii* türünün neden olduğu perakut koksidiyozis teşhisi koyuldu. Gram dışındaki oocyst sayısı 78.000 olup, oocystlerin %95'i *E. zuernii* ve %5'ini ise *E. bovis* oluşturdu. Kış mevsiminde görülen bu vaka 'kış koksidiyozisi' olarak tanımlandı. Buzağıya sulphamezathine ve destek tedavi uygulandı ve iyileşme görüldü. Sonuç olarak; kış aylarında *E. zuernii* ile doğal enfekte buzağılarda perakut koksidiyozis olguları dikkate alınmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Buzağı, *Eimeria zuernii*, Kış koksidiyozisi, Perakut koksidiyozis.

A Case of Winter Coccidiosis in Calves Naturally Infected by *Eimeria zuernii*

Abstract: In this clinical case report, winter coccidiosis was aimed to present in a six months old calf. The material of this case was one of the diarrheic calves brought to the Clinic of Internal Medicine unit of Veterinary Faculty of Kafkas University from a farm in which two of the calves had died. At the clinical and parasitological examination of the calf, it was diagnosed that peracute coccidiosis caused by *Eimeria zuernii*. The number of oocysts per gram of faeces (OPG) was determined as 78.000. Oocysts were composed of 95% *E. zuernii* and 5 % *E. bovis*. This case occurred in winter season was described as 'winter coccidiosis'. Sulphamezathine and supportive therapy were used for treatment of the case and recovery was observed. As a result, the cases of peracute coccidiosis in calves naturally infected by *E. zuernii* should be considered in winter.

Keywords: Calf, *Eimeria zuernii*, Peracute coccidiosis, Winter coccidiosis.

GİRİŞ

Sığırlarda koksidiyozis *Eimeria* türlerinin neden olduğu intestinal bir hastalıktır. Çiftlik hayvanlarında ekonomik kayıplara yol açar. Sığırlarda klinik olgulara *Eimeria bovis* ve *Eimeria zuernii* neden olur (1). Klinik koksidiyozis olguları 1-3 aylık buzağılarda görülür. İshalli buzağılarda ölüm oranı %10'lar düzeyindedir (2).

Hastalık subklinik, akut ve perakut koksidiyozis olarak görülür. Klinik belirtiler akut koksidiyozisin görüldüğü buzağılarda dikkati çeker. İshal, kilo kaybı, dehidrasyon ve tenesmus görülür. Daha yaşlı sığırlarda subklinik enfeksiyonlar şeklindedir (3,4). *Eimeria* etkenleri bağırsak epitelyum hücrelerinde merogonik çoğalır. Patolojik olarak bağırsak epitel hücrelerinin yıkımı, villus kaybı, emilimin bozulması, enterit, dehidrasyon ve ishal oluşur (1).

Koksidiyozis epidemiyolojisinde yetiştirme tipi, ahır tipi, hijyen durumu, beslenme, hayvanın yaşı, enterik enfeksiyonlar, nakiller, süttten kesilme, doğum sezonu ve periparturient dönem etkilidir (5-8). Mevsim geçiş dönemleri ile soğuk havalarda buzağılarda akut koksidiyozis olgularının görülmesine neden olur. Kış aylarında perakut koksidiyozis vakaları dikkat çeker (9-11).

Bu vaka bildiriminde Türkiye'nin Kars yöresinde doğal enfekte olan buzağılarda, *E. zuernii* türünün neden olduğu kış koksidiyozis olgusu sunuldu. Buzağı ve genç sığırlarda özellikle kış mevsiminde klinik koksidiyozis olgularına dikkat çekildi.

OLGU SUNUMU

Buzağılarda kış koksidiyozisi olgusu olarak teşhis edilen bu olgu; 19 Aralık 2014'de Kars İli Merkez köylerinden olan Çerme Köyü'nde bir sığır ahırında belirlendi. Kars ili Türkiye'nin Kuzey Doğu Anadolu Bölgesi'nde yer alan, rakımı 1750 metre üzerindeki platoda olup, kış mevsimi uzun ve sert olarak geçer. Sığırlar Mayıs-Ekim'de merada, Kasım-Nisan arasında ise ahırda bulunur. Bu vaka havaların soğuması ve kış başlangıcını takiben iki ay içerisinde görülmüştür.

Olgunun bulunduğu ahırda inek ve buzağılar bir arada olup, 15 sığır bulunmaktadır. Ahır modern tipte olmayıp, bakımsız, hijyeni kötü olan küçük ölçekli bir aile işletmesidir. Olgu; Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Kliniklerine getirilen klinik olarak ishalleri olan altı aylık bir buzağıdır. Hasta sahibinden alınan anamneze göre daha önce ahırında bulunan buzağılar ishal olmuş ve iki buzağı ölmüştür. Bu ölen buzağılara herhangi bir müdahale yapılmamıştır. Bunun üzerine yine aynı ahırda ishal olan yani bu olguyu oluşturan buzağı Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Kliniklerine getirilmiştir. Hastanın klinik muayenesinde, vücut sıcaklığı, nabız ve solunum sayısının normal sınırlar içerisinde olduğu, tenesmus, kanlı ishal ve perineal bölgenin kanlı dışkı ile bulaşık olduğu görüldü. Görülebilir mukozalarda herhangi bir anormal renk değişikliğine rastlanmadı, lenf yumrularının normal büyüklükte olduğu belirlendi. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası yapılan hematolojik muayene sonucunda değerlerin normal sınırlar içerisinde olduğu görüldü (Tablo 1, Şekil 1).

Tablo 1: Tedavi öncesi ve sonrası hematolojik bulgular.

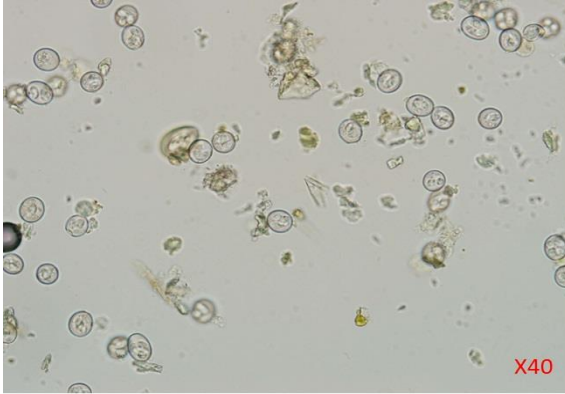
Table 1. Haematological findings before and after treatment.

Parametre	Tedavi öncesi (19.12.2014)	Tedavi sonrası (29.12.2014)
WBC m/mm ³	7.99	9.46
RBC M/mm ³	6.16	8.28
Hct %	38.5	30.3
Hb g/dl	9.7	11.3
THR m/mm ³	968	358



Şekil 1. Klinik koksidiyozisli buzağı.
Figure 1. Calves with clinical coccidiosis.

Hastalığın kesin tanısı için rektumdan alınan dışkı *Eimeria* oocystleri yönünden incelendi. Doymuş tuzlu su flotasyon tekniği ile hazırlanan örnekler 2000 devir/ 3 dakika santrifüj edildi. Yapılan kalitatif inceleme sonucu *Eimeria* oocystleri görüldü (Şekil 2, Şekil 3).



Şekil 2. *Eimeria zuernii* ve *E.bovis* sporlanmış oocystleri.
Figure 2. The sporulated oocysts of *Eimeria zuernii* and *E.bovis*.



Şekil 3. *Eimeria zuernii* sporlanmış oocystleri.
Figure 3. The sporulated oocysts of *Eimeria zuernii*.

Coccidia oocystlerin yoğunluğunu ve enfeksiyon şiddetini belirlemek için McMaster tekniği ile gram dışkıdaki oocyst sayıları (OPG) belirlendi. Yapılan bu kantitatif inceleme sonucu gram dışkıda oocyst sayısı 78.000 olarak bulundu.

Hastalığa neden olan *Eimeria* türlerinin identifikasyonu için dışkı örnekleri %2,5'lük potasyum dikromat solüsyonunda ($K_2Cr_2O_7$) 27°C'de etüvde üç gün tutularak oocystlerin sporlanmaları sağlandı (1,4,12).

Oocystlerin morfolojik olarak büyüklüğü, cidar yapısı, şekli, mikropil durumu, sporokist şekli ve özellikleri incelendi. Mikroskopik sahadaki oocystlerin %95'inin renksiz, küresel şekilde ve 18.06 X 15.48 mikron olduğu tespit edildi. Bu oocystler *E. zuernii* olarak tanımlandı. Ayrıca mikroskopik sahada %5 kadar görülen oocystlerin ise piriform şekilde, mikropili belirgin, sarı-kahverenkli ve 28.38 X 20,64 mikron olduğu belirlendi. Bu özellikleri olan oocystler ise *E. bovis* olarak identifiye edildi (Şekil 2, Şekil 3).

Yapılan parazitolojik incelemeler sonucu olgu; *E. zuernii* türünün neden olduğu per akut koksidiyozis ya da kış koksidiyozisi olarak teşhis edildi. Tedavi amacıyla sulphamezatine (CEVA-DİF®), berovit®B12 (CEVA®), injacom-C (CEVA®) uygulandı. Ayrıca hasta sahibine koksidiyozis kontrol tedbirleri konusunda tavsiyelerde bulunuldu.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Buzağuların koksidiyozisi klinik olarak iştahsızlık, ani başlayan kötü kokulu, sulu, kan ve mukus içeren ishal, tenesmus, perineal bölgesinin kanlı dışkı ile bulaşık olması, anemi ve kalp frekansında artışla karakterize bir hastalıktır (13). Bu olguda da kanlı ishal, tenesmus ve perineal bölgenin kanla bulaşık olması bu bilgilerle uyumlu bulunurken hematolojik muayenede bütün değerlerin normal sınırlar içinde olması özellikle RBC ve Hb değerlerinin normalliği hastada anemi şekillenmediğini gösterdi. Ayrıca görülebilen mukozaların normal görünümde olması bunu destekler niteliktedir. Bu olguda anemi şekillenmemesinin nedeni akut vaka olmasından kaynaklandığı düşünüldü.

Buzağılarda klinik coccidiosis olgularına rastlanmaktadır. Olgunun görüldüğü Kars yöresinde

yaz mevsiminde (Mayıs-Ekim) sığırlar merada bulunurlar. Doğum mevsimi Mart ayında başlar. Bu nedenle buzağılarda koksidiyozis olguları ilkbahar mevsiminde yaygın olarak görülür (5,14). Ancak bu olgu hayvanların meradan dönmesini takiben yaklaşık iki ay sonra görüldü. Bu nedenle buzağılarda kış koksidiyozisi olarak isimlendirildi.

Akut ve perakut koksidiyozis olguları çoğunlukla buzağı (6 aylığa kadar) ve danalarda (7-12 aylık) görülür. Kış koksidiyozisi perakut seyredir. Genellikle kış aylarında ve stres faktörlerinin de devreye girdiği dönemlerde ortaya çıkar. Klinik olarak ishal, tenesmus, dehidrasyonun yanında sinirsel belirtiler de görüldüğü için nervous koksidiyozis adı da verilmektedir. Bu tip koksidiyozis vakalarında ölüm oranı %80-90'lara kadar çıkabilir (11,15,16). Altı aylık buzağıda saptanan bu olguda mera sezonunu takiben ahıra alınan buzağılarda görüldü. Küçük bir işletmede ishal görülmüş ve iki buzağı ölmüştür. Bunu takiben aynı ahırda hastalanan ve ishal olan bir buzağı hastaneye getirilmiş ve bu vakaya koksidiyozis tanısı koyulmuştur. Hayvanların meradan kapalı yetiştirmeye geçmesini takiben iki ay içinde bu olgu saptandı. Bu olguda soğuk havaların (11) etkili olduğu ve perakut koksidiyozisin geliştiği belirlendi.

Deneysel olarak yapılan bir çalışmada soğuk buzağılarda klinik koksidiyozise duyarlılığı arttırdığı bildirilmiştir (17). Bu çalışmada da soğuk havaların yani kış ortamının buzağılarda klinik koksidiyozis olgularını ortaya çıkardığı düşünüldü. Koksidiyoziste predispoze faktör olan soğuk ortamın ve mevsim olarak kış sezonunun önemli risk faktörü olduğu gözlemlendi. Ayrıca bu olgu *E.zuernii* ile doğal enfekte buzağılarda saptandı. Doğal enfekte buzağılarda ilk defa bildirilen olgu özelliğini taşımaktadır. Türkiye'de kış mevsiminin etkili olduğu Kars yöresinde kış aylarında buzağılarda klinik koksidiyozis olgularına dikkat çekildi ve pratikte önemi vurgulandı.

Klinik olarak ishal, mukuslu ve hatta kanlı ishal görülmesi, gram dışkıdaki oocyst sayısını 50.000 üzerinde bulunması akut koksidiyozis olgularına işaretler. Klinik olgularda çoğunlukla *E.bovis* ve *E.zuernii* türleri görülür. İshalli olan buzağılarda oocyst sayısı normal dışkı olanlara göre daha yüksek olmaktadır (5,6,12). Bildirilen bu vakada gram dışkıdaki oocyst sayısı 78.000 bulundu. Sporlandırma

sonrası yapılan oocyst identifikasyonu sonucu *E.zuernii* ve *E.bovis* türleri tespit edildi. *Eimeria zuernii* oocystleri dominant tür (oocystlerin %95) olduğu için *E.zuernii*'nin neden olduğu kış koksidiyozisi olarak tanımlandı.

Sonuç olarak, buzağı ve danalarda mevsim geçiş dönemleri ve kış aylarında *E.zuernii* türünün neden olduğu doğal enfekte koksidiyozis olguları dikkate alınmalı. Özellikle buzağılarda ve genç sığırlarda perakut koksidiyozisin görülebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Levine ND., 1985. Veterinary Protozoology. Iowa State University Press, Ames.
2. Erdoğan HM., Ünver A., Çitil M., Güneş V., Arslan MÖ., Tuzcu M., Gökçe Hİ., 2009. Dairy farming in Kars district, Turkey: III. Neonatal calf health. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science, 33, 185-192.
3. Çitil M., Arslan MÖ., Güneş V., Erdoğan HM., 2004. Neonatal buzağı ishallerinde *Cryptosporidium* ve *Eimeria* enfeksiyonlarının rolü. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 10, 59-64.
4. Arslan MÖ, Sarı B., 2013. Coccidiosis. In "Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları", Ed., MA Özcel, Cilt 1, 123-134, Türkiye Parazitoloji Derneği, Yayın No 24, İzmir.
5. Arslan MÖ., 1997. Kars yöresi buzağılarında *Eimeria* türlerinin yaygınlığı. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 3, 141-149.
6. Arslan MÖ., Tüzer E., 1998. Prevalence of bovine eimeriosis in Thracia, Turkey. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science, 22, 161-164.
7. Jolley WR., Bardsley KD., 2006. Ruminant coccidiosis. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 22, 613-621.
8. Arslan MÖ., Sarı B., Kara M., Taşçı GT., İtik Ekinci A., Gündüz N., 2012. Kars yöresinde periparturient dönemdeki ineklerde *Eimeria* ve *Cryptosporidium* türlerinin yaygınlığı üzerine araştırmalar. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 18, 65-70.
9. Parker RJ., Jones GW., 1990. Destruction of bovine coccidial oocysts in simulated cattle yards

- by dry tropical winter weather. Veterinary Parasitology, 35, 269-272.
10. Ernst JV., Stewart TB., Witlock DR., 2006. Quantitative determination of coccidian oocysts in beef calves from the coastal plain area of Georgia (U.S.A.). Veterinary Parasitology, 23, 1-10.
 11. Merck Veterinary Manual (MVM)., 2014. Coccidiosis of cattle. Online kitap.
 12. Kaufmann J., 1996. Parasitic Infections of Domestic Animals. Birkhauser Verlag, Berlin.
 13. Batmaz H., 2010. Sığırların İç Hastalıkları Semptomdan Tanıya Tanıdan Sağaltıma. VETAR Bursa Ltd.Şti. Nilüfer, Bursa.
 14. Aktaş MS., Sarı B., Arslan MÖ., 2008. Erzurum ve çevresinde sütçü işletmelerdeki buzağılarda *Eimeria* türlerinin yaygınlığı. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 14, 25-29.
 15. Isler CM., Bellamy JE., Wobeser GA., 1987. Labile neurotoxin in serum of calves with "nervous" coccidiosis. Canadian Journal of Veterinary Research, 51, 253-260.
 16. Jubb TF., 1988. Nervous disease associated with coccidiosis in young calves. Australian Veterinary Journal, 65, 353-354.
 17. Niilo L., 1970. Experimental winter coccidiosis in sheltered and unsheltered calves. Canadian Journal Comparative Medicine, 34, 20-25.



İneklerde Postpartum Dönemde Endometritisin Sınıflandırılması ve Tanımlanmasında Kullanılan Muayene Yöntemleri

Orçun CANNAZİK^{1✉}, Bülent POLAT¹

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

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
09.06.2014	01.07.2014	20.12.2015

Öz: İneklerde uterus enfeksiyon ve yangıları daha çok normal veya güç doğumlar sonucunda oluşan negatif basınç etkisiyle veya doğuma yardım girişimlerinin ardından mikroorganizmalarca kontaminasyon sonucunda şekillenmektedir. Ayrıca erken postpartum sorunlara bağlı olarak da uterus enfeksiyonları görülmektedir. Erken postpartum süreçte şekillenen enfeksiyonların tanısında; inspeksiyon, rektal muayene, vajinoskopik muayene, histereskopi, ultrasonografi, sitoloji, endometrial biyopsi, bakteriyoloji, polimeraz zincir reaksiyon yöntemi, reagent test stripleri ve kan değerlerinin incelenmesi gibi birçok muayene yöntemi kullanılmaktadır. Sunulan bu derlemede; ineklerde postpartum dönemdeki enfeksiyonların sınıflandırılması ve tanımlanmasında kullanılan muayene yöntemlerine değinilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Muayene yöntemleri, Postpartum dönem, Uterus enfeksiyonları.

Examination Methods for Characterization and Definition of Endometritis in Postpartum Period in Cows

Abstract: Uterine infection and inflammation occur as a result of contamination by microorganisms under the influence of the negative pressure in normal or difficult labor or after delivery assistance initiative in cows. In addition, uterine infections are seen depending on the problems in the early postpartum. For the diagnosis of infections in early postpartum period; several testing methods such as inspection, rectal examination, vaginal examination, hysteroscopy, ultrasonography, cytology, endometrial biopsy, bacteriology, polymerase chain reaction method, reagent test strips and examining blood values are used. In the presented review, the examination methods used in the classification and identification of infections in postpartum period in cows was reviewed.

Keywords: Examination methods, Postpartum period, Uterine infections.

✉ Orçun CANNAZİK

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
e-posta: ocannazik@atauni.edu.tr

GİRİŞ

Doğum veya abortus sonrası genital organların anatomik, histolojik ve fonksiyonel olarak gebelik öncesi durumuna dönmesine *involüsyon*, involüsyonun gerçekleştiği zaman dilimine ise *postpartum (pp) dönem* veya *puerperium* denir (1).

İneklerde pp dönem süresince; uterusun involusyonu, myometrial kontraksiyonlar ve loşiyanın atılması, endometriumun rejenerasyonu, ovaryumda siklik faaliyetlerin tekrar başlaması ve uterus lümenindeki bakterilerin eliminasyonu süreçleri gerçekleşir (2,3).

Hayvanın yaşı, sağım sıklığı ve emzirme, mevsim, doğum öncesi ve sonrası dönemde görülen hastalıklar, bakım-besleme ve yetiştirme şekli, doğum sonrası ovaryum aktivitesinin başlama zamanı ve verim düzeyi gibi faktörler uterusun involusyon süresini etkilemektedir (1).

Sunulan çalışmada postpartum dönemde gözlenen uterus enfeksiyonlarının sınıflandırılması ve bu enfeksiyonların tanısı için kullanılan yöntemler hakkında bilgi vermek amaçlanmıştır.

1. UTERUS ENFEKSİYONLARI

Uterusun enfeksiyon ve yangıları çoğunlukla normal ve güç doğumlar sırasında ve sonrasında oluşan negatif basınç etkisiyle veya doğuma yardım girişimlerinin ardından mikroorganizmalarca kontamine olması sonucu, retensiyon sekondinarum, prolapsus uteri, metabolik hastalıklar gibi erken dönem pp sorunlara bağlı olarak şekillenirler. Ayrıca genital organların muayenesi sırasında ya da sağaltım girişimlerine bağlı olarak gelişen uterus enfeksiyonlarıyla da karşılaşılabilir (1).

Uterus enfeksiyonları, patojenik mikroorganizmaların mukozaya yerleşmesi, epitel tabakaya kolonize olması ve bu mikroorganizmaların toksin üretmesi sonucunda oluşmaktadır (4).

Uterus enfeksiyonlarının tanımlanması ve klinik sınıflandırılması; pp 21 gün içerisinde şekillenen, uterusu genişleme ile seyreden, ateş ($\geq 39,5^{\circ}\text{C}$), kırmızı-kahverengi ve kötü kokulu vaginal akıntı gözlenen, durgunluk, süt veriminde düşme veya diğer

toksemi belirtileri ile karakterize uterus enfeksiyonları *puerperal metritis* olarak adlandırılırlar. Postpartum 21 gün içerisinde, hastalık belirtileri olmaksızın uterusu genişleme ve vaginada purulent karakterde uterus akıntısı tespit edilen inekler *linik metritis* olarak adlandırılabilirler (4). Postpartum 3. haftadan sonra, sistemik enfeksiyon belirtisi olmaksızın çeşitli yoğunlukta purulent veya mukopurulent karakterli vaginal akıntı gözlenen uterus enfeksiyonları *endometritis (linik endometritis, kronik endometritis)* olarak tanımlanmaktadır (4,5). Vaginada purulent bir akıntının olmadığı, genellikle sitoloji ile belirlenebilen uterus endometriumunun yangısı ise *sublinik endometritis* olarak adlandırılır (4).

Uterusun yangısal değişikliklerinin patolojik sınıflandırılmasında; yangı endometriumla sınırlıysa "*endometritis*"; uterus duvarının iç katmanını da içine alacak kadar yaygınsa "*metritis*", serozaya ulaşmışsa "*perimetritis*" ve asıcı ligamenti de içeriyorsa "*parametritis*" olarak isimlendirilmektedir (5).

Pyometra ise aktif bir korpus luteum (CL) varlığında, uterusun lümeninde purulent veya mukopurulent karakterde bir akıntı birikimi gözlenen ve uterusu genişlemenin şekillendiği olgulara verilen isimdir (4).

2. POSTPARTUM SÜREÇTE KULLANILAN MUAYENE YÖNTEMLERİ

2.1. İnspeksiyon

Puerperal metritisin şekillendiği durumlarda lokal ve sistemik hastalık semptomları görülmektedir. Postpartum 20. gün civarında irinli veya kirli akıntının görülmesi veya postpartum 25 - 26. günlerde kuyruk ve perivaginal bölgeye bulaşmış halde mukopurulent akıntının görülmesi ile klinik endometritis tanısı konulabilir (6,7). Östrus döneminde artan myometrial kontraksiyonların da etkisi ile uterusu içeriğin açık olan serviksten dışarıya akması inspeksiyonla endometritis tanısı konulmasını sağlar (5).

2.2. Rektal Muayene

Kronik endometritislerin tanısında pratikte en çok kullanılan muayene yöntemlerinden biri olan rektal palpasyonla, uterustaki asimetri, genişleme ve içerik varlığı ile uterus duvarındaki kalınlaşmalar belirlenebilir (8,9).

2.3. Vajinal Muayene

Vajinal muayenede, serviks girişi veya vagina tabanında purulent karakterli akıntının gözlenmesi subakut ve kronik endometritisin varlığını göstermektedir (10).

Klinik ve subklinik metritislerin teşhisinde vaginoskopi kullanımı rektal muayeneye göre daha doğru ve daha spesifiktir (6). Rektal muayene eşliğinde yapılan vaginoskopi, endometritis tanısında daha iyi sonuç verir (11).

Vajinal akıntıların muayenesinde "Methricheck aracı" kullanılmaktadır. Araç vulvanın kaudal kommissurasından vagina içerisine yerleştirilir ve akıntı fincan gibi olan bu araçla dışarı alınarak muayenesi yapılır (7).

Endometritisli hayvanlarda uterus akıntı skoruna bakılarak da enfeksiyonun şiddeti tahmin edilebilmektedir (12). Vajinal akıntı skoruna göre; temiz geçirgen mukusa sahip vaginal akıntılar; skor=0, geçirgen mukus oranı daha yüksek olmakla beraber az miktarda irin içeren akıntılar; skor=1, < % 50 az sarı ve beyaz irin parçaları içeren akıntılar; skor=2, > % 50 sarı ve beyaz pıhtı içeren akıntılar; skor=3 olarak sınıflandırılmaktadır (4,6).

2.4. Histeroskopi

Histeroskopi, muayene için geliştirilmiş endoskopi cihazı ile uterus lümeninin gözlenmesi işlemidir. Bu muayenede özel olarak üretilmiş rijit endoskop kullanılmaktadır. Endoskop, servikal mukustan korumak amacıyla tek kullanımlık plastik bir kılıf içerisinde serviks geçilerek uterusu yerleştirilir. Yerleştirme işlemi takiben görüntüleme kolaylığı için uterus içerisine hava verilir. Bu muayenede uterusta sıvının varlığı ve endometriumda skar dokusu veya kızarıklık olup olmadığı incelenebilir. Endoskopi yardımıyla herhangi bir vaginal akıntı olmayan ve histeroskopide

pus görüntüsü belirlenemeyen ineklerden endoskobun çalışma kanalı vasıtasıyla sitolojik örnekleme de yapılabilmektedir (13).

Pozitif ve negatif tahmin sonuçlarına dayanılarak histeroskopi rektal palpasyon ve vajinoskopiye göre endometritis teşhisinde referans metod olarak gösterilmektedir (13).

2.5. Ultrasonografik Muayene

Ultrasonografi ile kornu uteri ve serviks uterinin çapı, endometrium kalınlığı ölçülebilir, uterus lümenindeki sıvı birikimi belirlenebilir, böylece endometritis varlığı ve şiddeti hakkında bilgi sahibi olunabilir (5,10,12,14-17). Uterus enfeksiyonu durumunda lümeninde biriken sıvı, kar tanesi benzeri, hiperekojen görüntü alır ve yangının şiddeti arttıkça beyaz renk yoğunluğu da artar (5).

Uterusta bulunan sıvının miktarı uterusun yalnız bir bölümünde tespit edilebileceği gibi şiddetli olgularda her iki kornuda da boylu boyunca birkaç santimetre kalınlığında sıvı birikimine rastlanabilir (5).

2.6. Sitoloji ve Endometrial Biyopsi

İneklerde endometrial sitolojik muayeneler endometritis olgularında önemli tanı yöntemlerinden biri olarak kabul edilmektedir (16). Sitolojik inceleme amacıyla endometrium ve yangı hücrelerinin toplanmasında steril pamuklu svaplar, uterus biyopsisi, uterus lavajı veya cytobrush teknikleri kullanılabilir (4,5,9,16,18).

Hafif şiddetteki endometritis olgularında biyopsi örneklerinin histopatolojik olarak değerlendirilmesinde, epitel hücre katmanında erozyon ve lamina propria katında orta yoğunlukta nötrofil ve lenfosit birikimi tespit edilmiş, bazı endometrial bezlerde ise dejenerasyon ve bu bezlerin epitel hücrelerinde nekrozlara rastlanmıştır. Orta şiddetteki endometritis olgularında ise; stratum compactum tabakasında yoğun lenfosit ve plazma hücresi birikimi gözlenmiş ve endometrial bezlerin bir kısmının çevresinde fibroblastik üremeler ve kistik yapılar belirlenmiştir (19).

Endometriumun sitolojik muayenesinde ya cytobrush ya da uterus lavajı yapılarak alınan örneklerdeki polimorfnükleer lökosit (nötrofil) sayısı

belirlenerek endometritis tanısı yapılmaktadır (9,16,20). Cytobrush yönteminde, örnekler özel fırçalar yardımıyla serviks uteri geçildikten sonra, kalınlaşmış olan kornu uteriden alınmaktadır (16).

Uterus lavajı ise; uygun bir katater ile serviks geçildikten sonra uterus içerisine yaklaşık 60 ml % 0,9 sodyum klorür verilip, tekrar toplanması şeklinde yapılmaktadır (16).

Uterusun lavajı ile yapılan sitolojide cytobrush tekniğine göre daha fazla oranda kırmızı kan hücresi görülmektedir. Uterus lavajında hücreler sıvı ile birlikte alındığından elde edilen hücre miktarı cytobrush yöntemine göre daha az, hücrelerdeki bozulma oranı ise daha yüksektir (16). Ayrıca cytobrush yönteminin bir diğer avantajı ise tekrarlanabilir olmasıdır (20).

Sitolojik olarak sublinik endometritisi tespit edebilmek için, vaginada herhangi bir puslu akıntı olmadığı durumlarda, pp 21 ve 33. günler arasında alınan örneklerde nötrofil oranının > % 18, pp 34 ve 47. günler arasında ise > % 10 olması gerekmektedir (4).

2.7. Bakteriyolojik Muayene

İneklerde pp dönemde uterustan bakteri izolasyonu amacıyla endometrial svap ve endometrial biyopsi yöntemleri kullanılabilir (21). Genellikle uterusta enfeksiyon etkeni olarak; *Arcanobacterium pyogenes* (*A. pyogenes*) ve Gram negatif anaerobik mikroorganizmalar saptandığından, alınan bu örneklerin hem aerobik hem de anaerobik ortamlarda kültüre edilmeleri gerekmektedir (10). Yapılan bir araştırmada subakut/kronik endometritis olduğu belirlenen ineklerden pp 21. günde alınan uterus svaplarından %65 oranında *A. pyogenes*, %77 oranında *Bacteroides spp.* ve %61 oranında *Fusobacterium necrophorum* (*F. necrophorum*) izole edilmiştir (2).

2.8. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Kullanımı

Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR) ile doğal ortamdan veya laboratuvar kültürlerinden elde edilen deoksiribo nukleik asid (DNA) genomunun küçük bir parçası olan ribozomal ribonukleik asid (rRNA) sekansı alınarak kültüre edilmemiş mikroorganizmaların tanısı konulabilir ve

mikroorganizma kolonisindeki genetik çeşitlilik belirlenebilir (22,23).

Bakteri ayrımının yanında real-time PCR (RT-PCR) yöntemi ile endometritislerin tanısında bazı önemli yangı öncesi (TNF α , IL-1 β , IL-6) sitokinler ve ana nötrofil kemokin (IL-8) düzeylerine de bakılabilmektedir. Endometritisli ineklerde, yeni doğum yapmış veya doğumunun üzerinden 1 hafta geçmiş ineklere oranla uterus dokusundan elde edilen TNF α geninin azaldığı gözlenmiştir. İnterlökin 1 β geninin ise endometritisli ineklerde, doğumunun üzerinden 1 hafta geçmiş ineklere oranla düştüğü, sonrasında doğumunun üzerinden 5 ve 7 hafta geçmiş ineklere oranla ise yükseldiği gözlenmiştir. Endometritisli ineklerde IL-6 gen düzeyi, doğum ve doğum sonrası 7. haftalardaki ineklere oranla yüksek olarak bulunmuştur. İnterlökin 8 düzeyi ise endometritis gözlenen ineklerde doğum sonrası 7. haftadaki ineklere oranla yüksek bulunmuştur (24).

İneklerde uterustaki prostaglandin profiline göre de klinik ya da sublinik endometritis teşhisi yapılabilir. Luteotropik etkili olan prostaglandin E (PGE) gebeliğin anne tarafından tanınmasında önemli rol oynamaktadır. Sublinik endometritisli hayvanlarda gebelik oranındaki azalmaya, PGE salınımındaki düşüşün sebep olabileceği düşünülmektedir (25).

2.9. Reagent Test Stripleri

Reagent test stripleri ile uterus lavajının pH değeri, lökosit esteraz (LE) ve protein oranı incelenebilmektedir (26). Bu yöntem uterustaki nötrofil oranını indirekt olarak belirlemek için kullanılabilir. Temel prensibi; indoksil karbonik asit esteri ile nötrofillerden açığa çıkan esterazların reaksiyona girmesi sonucu mor renk oluşmasıdır. Vaginoskopi eşliğinde serviksin ilk halkasına yerleştirilen strip 5 sn sonra çıkarılır. Bu işlemden 2 dakika sonra ped üzerindeki renk değişikliğine bakılarak tanı konulabilir (27). Ayrıca serviks geçildikten sonra uterus içerisine 20 mililitre (ml) steril % 0.9 sodyum klorür verilip, 5-8 ml'sinin aspire edilmesi sonucunda elde edilen aspiratlarda da test yapılabilir. Endometritis tanısı konulabilmesi için LE miktarının orta yoğunlukta veya daha fazla, protein miktarının 300 ng/dl veya daha

fazla ve pH değerinin ise 7.0 veya daha fazla olması gerekmektedir (26).

2.10. Diğer Yöntemler

Akut faz proteinleri; yangı, enfeksiyon ve travma sırasında karaciğerden salınan hepatik glikoprotein grubuna dahil proteinlerdir (28). Akut faz proteinlerinden olan haptoglobulin (Hp) ve serum amiloid A (SAA) kan serum konsantrasyonlarının erken pp dönemde, geç pp döneme oranla daha yüksek olduğu gözlenmiştir (29). Klinik ve subklinik endometritisli hayvanlarda β -hidroksibütirat, Hp ve total sialik asit konsantrasyonu sağlıklı ineklere oranla daha belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Yine klinik endometritisli ineklerde, subklinik endometritisli olanlara kıyasla, serum kalsiyum oranı düşük, serum aspartat aminotransferaz aktivitesi ise yüksek bulunmuştur (30). Şiddetli metritis durumunda serum Hp düzeyinin arttığı, fakat yangının sadece endometrium tabakasında sınırlı olduğu durumlarda serum Hp düzeyinin enfeksiyonu yansıtmadığı belirlenmiştir (31). Birçok ciddi uterus yangısının kendiliğinden iyileştiği gözlenmektedir. Bu durum erken pp dönemde Hp ve SAA konsantrasyonunun yüksek olması ile açıklanabilir (32).

Creatine kinase (CK); kas spesifik bir enzimdir. Bu enzimin iskelet ve kalp kasından sonra en fazla bulunduğu organ uterustur. Plazma CK seviyesi endometritisli hayvanlarda sağlıklılara oranla daha yüksek olarak belirlenmiştir ve enfeksiyonun şiddetine bağlı olarak ta seviyesi artmaktadır (33).

Aspartate aminotransferase (AST); ineklerde karaciğer ve kas spesifik bir enzimdir. Uterusta makroskobik olarak belirlenebilen bu enzimin serumdaki miktarı, uterus patolojisinin şiddetine bağlı olarak artmaktadır (5).

Serum CK ve AST düzeyleri ile endometritis tanısının, herhangi bir kas doku yıkımlanması ya da karaciğer dejenerasyonunun söz konusu olmadığı olgularda geçerli olduğu bildirilmektedir (31).

Doğuma yakın dönemde kuru madde alımının azalmasına bağlı olarak yağ dokudan non-esterifiye yağ asitleri (NEFA) mobilize olur. Kuru madde alımının azalması ve NEFA düzeyinin yükselmesi ile bağışıklık sistemi baskılanır, inekler enfeksiyonlara

yatkın hale gelirler. Yapılan in-vitro çalışmalarda üre, bilirubin, NEFA ve β - Hidroksi butirik asitin (BHBA) serum düzeylerinin endometritis teşhisinde veteriner sahada kullanılabileceğini göstermiştir (34).

Subklinik endometritisli ve puerperal metritisli hayvanlarda serum NEFA ve BHBA düzeylerinin sağlıklı hayvanlara göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir (35). Ayrıca, prepartum dönemde plazma NEFA ve BHBA seviyesinin yüksek olmasının endometritis için risk oluşturduğu, kan üre nitrojen (BUN) seviyesindeki artışın endometritis riskini azalttığı belirlenmiştir (36).

Kaufmann ve ark. (37) tarafından yapılan bir çalışmada ise, vaginal muayene uygulanarak endometritis tanısı konulan hayvanlarda serum BHBA düzeyinin artmadığı fakat sütteki aseton miktarının yükseldiği tespit edilmiştir.

Yangısal bir mediatör olan nitrik oksit (NO); makrofaj, nötrofil, endotelial ve epitelyal hücreler tarafından salgılanır. Kan veya uterus sıvısındaki nitrik oksit düzeyindeki artışa bakılarak da endometritis teşhisi yapılabilmektedir (38).

Plazminojen aktivatörleri (PAs); Plazminojen aktivatörlerinin iki çeşidi olan urokinaz (u-PA) ve doku tipi (t-PA); endometrial doku ve uterus sıvısında bulunmaktadır. Endometrial biyopsi yöntemiyle alınan uterus dokularının incelenmesi sonucunda; yaygın endometritis gözlenen ineklerde PAs aktivitesi yüksek seyrederken, PAs inhibitörü ve plazminojen inhibitör değerleri düşük seyretmektedir. Fakat hafif endometritis vakalarında PAs aktivitesi, PAs inhibitörü ve plazminojen inhibitör değerleri endometritis gözlenmeyen ineklerle aynı seyretmektedir (39).

SONUÇ

Sonuç olarak postpartum uterus enfeksiyonlarının tanımlanmasında birçok yöntem kullanılmaktadır. Fakat kullanılan bu yöntemlerin birçoğu tek başlarına başarılı sonuçlar vermemektedir. Bu nedenle birkaç farklı yöntemin bir arada kullanılmasıyla daha başarılı sonuçlar elde edilebilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Öcal H., 2010. Puerperal dönem ve sorunları. "Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite", Yedinci Baskı, 213-230, Medisan, Ankara.
2. Noakes DE., 2001. The puerperium and the care of the newborn. In "Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics", 8th ed., 189-202, Saunders Company, Philadelphia.
3. Senger PL., 2003. The puerperium and lactation. In "Pathways to Pregnancy and Parturition", 2nd ed., 326-345, Current Conceptions, Pullman.
4. Sheldon IM., Lewis GS., LeBlanc S., Gilbert RO., 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65, 1516-1530.
5. Kaya D., 2008. İneklerde kronik endometritis olgularında Lotagen ®, Eucacomp ® ve PGF₂α uygulamalarının fertilité parametreleri üzerine etkilerinin araştırılması. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
6. LeBlanc SJ., Duffield TF., Leslie KE., Bateman KG., Keefe GP., Walton JS., Johnson WH., 2002. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 2223-2236.
7. McDougall S., Hussein H., Aberdein D., Buckle K., Roche J., Burke C., Mitchell M., Meier S., 2011. Relationships between cytology, bacteriology and vaginal discharge scores and reproductive performance in dairy cattle. *Theriogenology*, 76, 229-240.
8. LeBlanc SJ., Duffield TF., Leslie KE., Bateman KG., Keefe GP., Walton JS., Johnson WH., 2002. The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 2237-2249.
9. Gilbert RO., Shin ST., Guard CL., Erb HN., Frajbla, M., 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 64, 1879-1888.
10. Youngquist RS., Shore MD., 1997. Postpartum uterine infections. In "Current Therapy in Large Animal Theriogenology", 2nd ed., 335-340, Saunders Company, Philadelphia.
11. LeBlanc SJ., 2008. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *Veterinary Journal*, 176, 102-114.
12. Gorzecka J., Friggens NC., Ridder C., Callesen H., 2011. A universal index of uterine discharge symptoms from calving to 6 weeks postpartum. *Reproduction Domestic Animals*, 46, 100-107.
13. Madoz LV., De la Sota RL., Suzuki K., Heuwieser W., Drillich M., 2010. Use of hysteroscopy for the diagnosis of postpartum clinical endometritis in dairy cows. *Veterinary Record*, 167, 142-143.
14. Mateus L., Costa LL., Bernardo F., Silva JR., 2002. Influence puerperal of uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reproduction Domestic Animals*, 37, 31-35.
15. Kasimanickam R., Duffield TF., Foster RA., Gartley CJ., Leslie KE., Walton JS., Johnson WH., 2004. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 62, 9-23.
16. Kasimanickam R., Duffield TF., Foster RA., Gartley CG., Leslie KE., Walton JS., Johnson WH., 2005. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Canadian Veterinary Journal*, 46, 255-259.
17. Senosy W., Uchiza M., Tameoka N., Izaike Y., Osowa T., 2009. Association between evaluation of the reproductive tract by various diagnostic tests and restoration of ovarian cyclicity in high-producing dairy cows. *Theriogenology*, 72, 1153-1162.
18. Bonnett BN., Martin SW., Gannon VPJ., Miller RB., Etherington WG., 1991. Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows III. Bacteriological analysis and correlations with histological findings. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 55, 168-173.
19. Javed MT., Khan MZ., 1991. Bacteriological and bio-histopathological studies in repeat breeding cows. *Journal of Islamic Academy Science*, 4, 242-244.
20. Baran'ski W., Podhalez-Dziegielewska M., Zdun'czyk S., Janowski T., 2012. The diagnosis and prevalence of subclinical endometritis in cows evaluated by different cytologic thresholds. *Theriogenology*, 78, 1939-1947.
21. Foldi J., Kulcsár M., Pécsi A., Huyghe B., Sa C., Lohuis JACM., Cox P., Huszenicza G., 2006. Bacterial complications of postpartum uterine

- involution in cattle. *Animal Reproduction Science*, 96, 265-281.
22. Muzer G., Waal ECD., Uitterlinden AG., 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 695-700.
23. Nubel U., Engelen B., Felske A., Snaird J., Wieshuber A., Amann, RI., Ludwig W., Backhouse H., 1996. Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by temperature gradient gel electrophoresis. *Journal of Bacteriology*, 178, 5636-5643.
24. Galvão KN., Santos NR., Galvão JS., Gilbert RO., 2011. Association between endometritis and endometrial cytokine expression in post partum Holstein cows. *Theriogenology*, 76, 290-299.
25. Gabler C., Drillich M., Fischer C., Holder C., Heuwieser W., Eispazier R., 2009. Endometrial expression of selected transcripts involved in prostaglandin synthesis in cows with endometritis. *Theriogenology*, 71, 993-1004.
26. Cheong SH., Nydam DV., Galvão KN., Crosier BM., Ricci A., Caixeta LS., Sper RB., Fraga M., Gilbert RO., 2012. Use of reagent test strips for diagnosis of endometritis in dairy cows. *Theriogenology*, 77, 858-864.
27. Couto GB., Vaillancourt DH., Lefebvre RC., 2013. Comparison of a leukocyte esterase test with endometrial cytology for diagnosis of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 79, 103-107.
28. Chan JPW., Chu CC., Fung HP., Chuang ST., Lin YC., Chu RM., Lee SL., 2004. Serum haptoglobin concentration in cattle. *Journal of Veterinary Medical Science*, 66, 43-46.
29. Kováč G., Tóthová C., Nagy O., Seidel H., Konvičná J., 2009. Acute phase proteins and their relation to energy metabolites in dairy cows during the pre- and postpartal period. *Acta Veterinaria Brno*, 78, 441-447.
30. Heidarpour M., Mohri M., H Fallah-Rad A., Dehghan Shahreza F., Mohammadi M., 2012. Acute-phase protein concentration and metabolic status affect the outcome of treatment in cows with clinical and subclinical endometritis. *Veterinary Record*, 171, 219.
31. Hirvonen J., Huszenicza G., Kulczár M., Pyörälä S., 1999. Acute-phase response in dairy cows with acute postpartum metritis. *Theriogenology*, 51, 1071-1083.
32. Tóthová C., Nagy O., Seidel H., Konvičná J., Farkašová Z., Kováč G., 2008. Acute phase proteins and variables of protein metabolism in dairy cows during the pre- and postpartal period. *Acta Veterinaria Brno*, 77, 51-57.
33. Sattler T., Füll M., 2004. Creatine kinase and aspartate aminotransferase in cows as indicators for endometritis. *Journal of Veterinary Medical Science*, 51, 132-137.
34. Kask K., Kurykin J., Lindjärv R., Kask A., Kindahl H., 2003. Assessment of early postpartum reproductive performance in two high producing Estonian dairy herds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 44, 131-143.
35. Hammon DS., Evjen IM., Dhiman TR., Goff JP., Walters JL., 2006. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 113, 21-29.
36. Giuliodori MJ., Magnasco RP., Becu-Villalobos D., Lacau-Mengido IM., Risco CA., de la Sota RL., 2013. Clinical endometritis in an Argentinean herd of dairy cows: Risk factors and reproductive efficiency. *Journal of Dairy Science*, 96, 210-218.
37. Kaufmann TB., Drillich M., Tenhagen BA., Heuwieser W., 2010. Correlations between periparturient serum concentrations of non-esterified fatty acids, beta-hydroxybutyric acid, bilirubin, and urea and the occurrence of clinical and subclinical postpartum bovine endometritis. *BMC Veterinary Research*, 6, 47.
38. Li DJ., Liu YF., Li YF., Lv Y., Pei XY., Guo DZ., 2010. Significance of nitric oxide concentration in plasma and uterine secrets with puerperal endometritis in dairy cows. *Veterinary Research Communications*, 34, 315-321.
39. Moraitis S., Taitzoglou IA., Tsantarliotou MP., Boscós CM., Kaldrimidou E., Saratsis Ph., 2004. Involvement of the plasminogen activation system in cow endometritis. *Theriogenology*, 61, 337-349.



Sığırlarda Östrus Senkronizasyonu ile Birlikte Kullanılan Döl Tutma Oranını Etkileyen Faktörler*

Deniz PEKÇOK¹, Emrah Hicazi AKSU²✉

1. Veteriner Hekim, Niğde, TÜRKİYE.
2. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
02.09.2014	28.09.2014	20.12.2015

Öz: Suni tohumlama (ST), sığır yetiştiriciliğinde en yaygın şekilde kullanılan biyoteknolojik bir yöntemdir. ST başarısını etkileyen en önemli faktörlerden birisi de östrusun doğru tespitidir. Sığırlarda kullanılan çeşitli östrus senkronizasyonu yöntemleri ile bu sorun aşılma çalışılmaktadır. Bu konuyla ilgili pek çok araştırmacı farklı senkronizasyon yöntemlerinin gebelik oranı üzerine başarısını kıyaslamak amacıyla araştırmalar yapmışlardır. Bazı bilim adamları da farklı senkronizasyon yöntemleriyle birlikte bir takım maddelerin kullanımının gebelik başarısı üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bazı araştırmacılar, senkronizasyon yöntemleri arasında elde edilen gebelik oranları açısından fark olmadığını belirtmişlerdir. Ancak, diğer bazı araştırmacılar da senkronizasyon yöntemlerinden farklı gebelik oranı elde edilebileceğini, hatta aynı ırk içinde aynı senkronizasyon yönteminin uygulandığı inek ve düvelerde dahi farklı başarı oranlarının olabileceğini bildirmişlerdir. Senkronizasyonun başarısını ve gebelik oranını artırmak için senkronizasyon yöntemleri ile birlikte Vitamin E, GnRH, Flunixin meglumin, Beta-karoten ve eCG gibi vitamin ve hormonlar birçok araştırmada kullanılmıştır. Bu derlemede, sığırlarda senkronizasyon ile birlikte kullanılan ve döl tutma oranını etkileyen faktörler ile ilgili güncel bilgiler sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Döl verimi, Östrus senkronizasyonu, Sığır, Suni tohumlama.

Practices Affecting the Conception Rates Following Oestrus Synchronisation in Cattle

Abstract: Artificial insemination (AI) is the most common biotechnological method used in cattle breeding. One of the most important factors on the success of AI is true determination of the oestrus. By using various oestrus synchronisation methods in cattle, the problem concerned can be resolved. Numerous researchers conducted comparative studies about the effects of different synchronisation methods on the pregnancy rate. Also, some workers investigated the effects of different synchronisation methods by using certain substances on the pregnancy rate. Considering pregnancy, some researchers stated that there was no difference between different synchronisation methods. On the other hand, some expressed that there was a marked difference between different synchronisation methods based on the pregnancy rate. Further, they indicated that there was difference between heifers and cows of same breeds exposed to the same synchronisation method. To increase the pregnancy rate and success of synchronisation, some vitamins and hormones such as Vitamin E, GnRH, Flunixin meglumine, Beta-carotene and eCG are used along with synchronisation methods in numerous studies. In this review, an up-to-date data about the factors being used along with synchronisation methods and affecting the fertility rates are presented.

Keywords: Artificial insemination, Cattle, Oestrus synchronisation, Reproductive performance.

✉ Emrah Hicazi AKSU

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
e-posta: emrahaksu@atauni.edu.tr

*Bu derleme Deniz PEKÇOK'un mezuniyet tezinden özetlenmiştir.

GİRİŞ

Sürü reproduktif verimliliği, sütçü işletmelerde karlılığın en önemli göstergesidir. Ekonomik karlılığın sağlanabilmesi için, ticari sütçü işletmelerde her inekten yılda bir buzağı alınması gerekmektedir (1). Belirtilen bu hedefin yakalanabilmesi için öncelikle östrus tam olarak belirlenmeli, tohumlama zamanında yapılmalı ve kayıt sistemi titiz olarak uygulanmalıdır (2). Ancak, birçok sütçü sürüde östrus tespit oranı %50'den az düzeyde olmaktadır (3). Bu nedenle, senkronizasyon protokolleri belli zamanlarda kızgınlıkları uyardıklarından veya östrus tanısı konulmaksızın belirlenmiş bir zamanda tohumlamaya olanak verdiklerinden dolayı bu amaç için uygundur (4,5).

Hayvancılık sektöründe vazgeçilmez öneme sahip olan reproduksiyon biyoteknolojisi; sun'i tohumlama, *in vitro* fertilizasyon (IVF), gen transferi ve klonlama gibi birtakım yenilikleri kapsar. Bu teknikler arasında en etkin ve yaygın olanı, spermanın dondurulması ve dişi hayvanların suni yolla tohumlanması esasına dayanan suni tohumlama (ST) biyoteknolojisidir.

Östrus tespit oranı üreme performansı üzerine doğrudan etki gösterir. Yetersiz ve yanlış tespit, gebelik başına tohumlama sayısını, boş geçen günleri ve buzağılama aralığını artırır. Bu nedenle, hem tohumlamaların uygun zamanda yapılabilmesi hem de fertilitiyi artırmak için çeşitli senkronizasyon yöntemleri geliştirilmiştir (6). Östrus ve ovulasyonun istenilen zamana göre planlanmasına "östrus senkronizasyonu" denir (7). İneklerde seksüel senkronizasyonun başlıca amaçları; a) östrusun belirlenebilmesi için gerekli olan girişimleri kolaylaştırıp zaman kaybını azaltmak, b) ekstansif yetiştirme koşullarında ST'nin kullanımını arttırmak, c) embriyo nakli için verici ve taşıyıcı hayvanların östrusları arasındaki zaman farkını ortadan kaldırmak, d) östrusları kısa bir süre içinde toplulaştırmak, e) postpartum 45-56. günde tohumlamaların yapılarak yılda bir yavru alımının temin edilmesi ve f) inekleri östrus belirtilerini

gözlemeden tohumlayabilmek şeklinde özetlenebilir (8).

Kızgınlık senkronizasyonu veya ovulasyonu uyarmayı amaçlayan protokoller, laktasyondaki sütçü ırk ineklerde kızgınlık tespitine gerek kalmaksızın etkili bir ST yapılmasına olanak sağlamaktadır (9,10). İneklerde östrus senkronizasyonu iki farklı esasa göre yapılmaktadır. Bunlardan biri; sıklık hayvanlarda luteolitik etkili hormonlar kullanılarak korpus luteumun lutelize edilmesi, diğeri ise progesteron uygulamaları ile kan progesteron hormonu düzeyinin yüksek tutularak, östrus ve ovulasyonun engellenmesidir (11). Etkili bir östrus senkronizasyon yönteminde, a) östrusların 12-24 saat içinde toplanması, b) yüksek östrus ve ovulasyon yanıtının oluşması ve c) bir ST uygulamasıyla yüksek gebelik oranının elde edilmesi istenir (7).

Sığırlarda östrus senkronizasyonu amacıyla prostaglandinF2 α (Kontrollü veya Kontrolsüz), ovsynch protokolü ve modifikasyonları (Co-synch, Heat-synch, Select synch) ve progesteronlar (intravaginal veya deri altı implantı) gibi yöntemler ile bu yöntemlerin farklı kombinasyonları kullanılabilir.

Evciil sığırlarda, yukarıda bahsi geçen senkronizasyon yöntemleri ve bunların çeşitli modifikasyonları kullanılarak ST uygulamaları yapılmaktadır. Pek çok bilim adamı, bu yöntemlerin birbirine karşı ve aynı tür içindeki farklı gruplar açısından yavru verimine etkisini karşılaştırmak amacıyla bilimsel çalışmalar yürütmüştür. Bu çalışmalar sonucunda değerli sonuçlar elde edilmiştir.

SENKRONİZASYON KARŞILAŞTIRILMASI

PROTOKOLLERİNİN

Cosynch protokolü, ovsynch protokolünde olduğu gibi östrus gözlemine gerektirmeyen bir programdır. Ancak, ovsynch ile karşılaştırıldığında inekler için daha az zaman ve işgücü gerektirmesi avantaj olarak nitelenebilir. Gözlem sayısı ile birlikte

iş gücü de 1/3 oranında azalır. Cosynch protokolü sonrası elde edilen gebelik oranları, ovsynch protokolünde 12-18 saat sonra yapılan tohumlamalardan elde edilen gebelik oranları kadar olamamaktadır (12).

Ovsynch ve presynch protokolleri, kistik ovaryumlu ineklerde daha etkili olmasına karşın, heatsynch normal siklus gösteren ineklerde daha iyi sonuç vermektedir. Anovulatör hayvanlarda siklusu presynch - ovsynch kombinasyonu kadar uyaramamaktadır. Heatsynch protokolü, ahır ve gezinti alanları zemini uygun olmayan işletmelerde uygulanmamalıdır. Yoğun östrus davranışları sonucu kazalar oluşabilir (12).

Nonsiklik ineklerde, selectsynch ve cosynch protokolleri ile aynı oranda gebelik elde edilirken, siklik ineklerde selectsynch protokolü ile daha yüksek oranda (%70) gebelik elde edilmiştir. Selectsynch protokolüne başlamadan 7 gün önce, ilave GnRH verilip protokolün sürdürülmesi anöstrik ineklerde siklusu uyarabildiği gibi, siklik ve nonsiklik hayvanlarda foliküler gelişimi daha iyi senkronize etmektedir.

Presynch, siklik ineklerde ovsynch ve heatsynch uygulamasında gebelik oranını artıran etkili bir yöntemdir. İlk prostaglandin (PG) uygulaması esnasında, özellikle postpartum dönemde, hayvanın siklik olması gebelik oranını artırmaktadır. Presynch, iyi bir resenkronizasyon yöntemi değildir (13).

Progesteron destekli uygulamaya, ovsynch, cosynch ve heatsynch protokollerinde ulaşılan gebelik oranlarını yükseltmek, nonsiklik olma şüphesi olan hayvanlarda fertilitiyi düzeltmek, doğal östrus oluşumunda belirtileri artırmak ve repeat breeder (RB) hayvanlar için başvurulmaktadır. İlave progesteron, FSH ve LH salınımını tetiklemekte, gebeliğin şekillenme oranını artırmakta ve sürdürülmesini desteklemektedir (1).

Erdem ve Güzeloğlu (14), Holstein ırkı düvelerde kulak implantı ile modifiye ovsynch senkronizasyon yöntemini uyguladıkları çalışmada, elde edilen gebelik oranını ovsynch yönteminde %57.9, kulak implantında ise %48.2 olarak belirlemişler ve oranlar arasında istatistiksel bir fark olmadığını belirtmişlerdir.

Cordoba ve Fricke (15), sütçü ineklerde yapmış oldukları çalışmada ovsynch protokolü ve ovsynch protokolünden 12 gün önce PGF_{2α} uygulaması yapmışlardır. Bu uygulamalar sonucunda, gebelik oranlarını kontrol grubunda %45.8, ovsynch protokolünde %28 ve ovsynch protokolünden 12 gün önce PGF_{2α} uygulaması yapılan hayvanlarda ise %30.7 olarak belirlemişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda, ineklere 12 gün önce PGF_{2α} enjekte edilmesinin gebelik oranlarını önemli derecede artırmadığı ve gebelik oranları arasında istatistiksel olarak fark olmadığı gözlemlenmiştir.

Yılmazbaş-Mecitoğlu ve ark. (16), 920 baş sütçü inekte yapmış oldukları çalışmada modifiye ovsynch (1. GnRH + 6 gün sonra PGF_{2α} + 56 saat sonra 2. GnRH + 16-18 saat sonra ST) yöntemi ile ovsynch yöntemini (1. GnRH + 7 gün sonra PGF_{2α} + 56 saat sonra 2. GnRH + 16-18 saat sonra ST) uygulamışlardır. Çalışmalar sonucu elde edilen gebelik oranları sırasıyla %40.9, %43.8 olarak tespit edilmiştir. Ovsynch yöntemi sonucu elde edilen gebelik oranının modifiye ovsynch yönteminden fazla olduğunu ve bu farkın istatistiksel olarak önemli bulunduğunu belirtmişlerdir.

Kara ve ark. (17), 48 baş Holstein ırkı inek ve düvelerde yaptıkları çalışmada ovsynch senkronizasyon yöntemini uygulamışlardır. Çalışmalar sonucunda gebelik oranlarını ineklerde %50, düvelerde %29.2 olarak tespit etmişler; ayrıca, ineklerde ovsynch yönteminin gebelik oranını önemli derecede artırdığını ve bu farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu belirtmişlerdir.

DÖL TUTMA ORANINI ARTIRMAK AMACIYLA SENKRONİZASYONLA BİRLİKTE YAPILAN UYGULAMALAR

Aksu ve ark. (18), 84 baş Holstein ırkı inekte senkronizasyon amacıyla yapmış oldukları çift doz PGF_{2α}, ovsynch ve CIDR yöntemlerini birbiri ile ve her bir grubu kendi arasında kontrol ve E vitamini (600 mg) grubu olarak karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, bu yöntemlerle elde edilen gebelik oranlarını sırasıyla %40, %23.1, %46.2, %53.3, %46.7 ve %53.8 tespit etmişlerdir ve vitamin E uygulamasının gebelik oranlarını sayısal olarak artırdığını, ancak bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını bildirmişlerdir.

Emre ve ark. (19), 55 baş sağmal ineğe uygulanan ovsynch protokolü ve ovsynch protokolünden 16 saat sonra ST yapmak amacıyla çalışmaları iki gruba ayırmışlardır. Tedavi grubundaki ineklere tohumlamadan sonraki 13. günün akşamı ve 14. günün sabahında 12 saat arayla iki kez flunixin meglumin (FM) (1,1 mg/kg, im) enjeksiyonu uygulanmış, kontrol grubuna ise herhangi bir uygulama yapılmamıştır. ST'den sonraki 35. günde transrektal ultrasonografi ile gebelikler tespit edilmiş ve kontrol ve tedavi grupları için sırasıyla %53.84 ve %65.51 olarak belirlemişlerdir. Çalışmacılar, FM ve kontrol grupları arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığını, ancak tedavi grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek gebelik oranı elde edildiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, ovsynch protokolü ile kombine tarzda uygulanan tohumlamadan 13 ve 14 gün sonra yapılan FM uygulamalarının gebelik oranını artırmadığını bildirmişlerdir.

Sönmez ve ark. (20), yaptıkları çalışmada yaşları 11-13 ay arasında değişen 114 baş düve kullanmışlardır. Senkronize edilen hayvanlara tohumlamadan hemen sonra GnRH uygulanması sonucu elde edilen gebelik oranı (%71.4), GnRH uygulanmayan senkronize edilmiş düvelerin gebelik oranlarına göre (%45.8) artış göstermesine rağmen, aradaki farkı istatistiksel olarak önemsiz bulmuşlardır. PGF_{2α} ile senkronize edilen pubertal düvelerde ilk tohumlama sonucu elde edilen gebelik oranı azalmıştır. Bununla birlikte, tohumlamadan hemen sonra GnRH uygulanması gebelik oranını önemli derecede artırmamasına rağmen, fertilitiyi olumlu yönde etkileyebileceğini belirtmişlerdir.

Elibol ve ark. (21), postpartum 50-75. günler arasında bulunan 60 baş Holstein ırkı inekte yapmış oldukları çalışmada hayvanların doğal östrus, ovsynch ve ovsynch + 12. gün GnRH programı ile yapılan ST sonucunda gebelik oranlarını sırasıyla %75, %55 ve %65 olarak elde etmişlerdir. Gruplar arasında belirlenen gebelik oranları arasında istatistiksel bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Süt ineklerinde reproduktif sürü idaresini kontrol edebilmek ve luteal yetersizlikleri gidererek embriyonik ölümlerin oluşturacağı döl verimi kayıplarında daha erken tedbir alabilmek için, ovsynch ve ovsynch

uygulamalarına ek olarak ST sonrası 12. günde yapılan GnRH enjeksiyonlarının yararlı olabileceği kanaatine varmışlardır.

Kaçar ve ark. (23), 225 baş inekte yapmış oldukları çalışmada ineklerde β-karoten + Vitamin E uygulamasıyla kombine edilen ovsynch ve cosynch senkronizasyon programlarının ST sonrası gebelik oranlarını nispeten artırdığı, dolayısıyla β-karoten + Vitamin E ile senkronizasyon protokolüne destek uygulamasının postpartum dönemde yüksek yavru verimi yönünden, sınırlı düzeyde de olsa, faydalı olabileceği kanısına varmışlardır.

Campos ve ark. (23), sabit zamanlı ST uygulamasını takip eden 23. günde DIB (bovine intravaginal device.) yöntemiyle senkronize edilen 814 baş sığırdaki DIB'nin çıkarılması ve ST, DIB'nin çıkarılması sırasında 300 IU eCG, 200 IU eCG uygulaması ve DIB'nin çıkarılmasını takiben buzağının geçici olarak anneden uzaklaştırılması şeklinde gruplar oluşturmuşlardır. Gebelik oranlarını sırasıyla %61.3, %76.6, %63.3 ve %74 olarak tespit etmişlerdir. Gebelik oranları arasında farklılık olmasına rağmen, istatistiksel olarak sadece 300 IU eCG uygulaması ve buzağının geçici olarak anneden uzaklaştırılmasının önemli olduğunu belirtmişlerdir.

Nak ve ark. (4), 331 baş sütçü inekte ovsynch, PRID+ PGF_{2α} +PMSG, kulak implantı+ PGF_{2α} +PMSG uygulaması yapmışlar ve gebelik oranlarını sırasıyla %42.2, %39.63 ve %45.94 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmalar sonucunda gebelik oranları arasında farklılık olmasına rağmen, istatistiksel olarak bir fark olmadığını belirtmişlerdir.

Brusveen ve ark. (24), 927 baş Holstein ırkı inekte ovsynch, cosynch + 48 saat sonra GnRH + ST ile cosynch + 72 saat sonra GnRH + ST çalışması yapmışlar ve gebelik oranlarını sırasıyla %38.6, %29.2 ve %25.4 olarak belirlemişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucu elde edilen gebelik oranları arasında fark olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir.

SONUÇ

Sonuç olarak, yapılan çalışmalar göz önüne alındığında sığırlarda kullanılan senkronizasyon yöntemlerinden elde edilen gebelik oranları farklılık göstermektedir. Bazı araştırmacılar senkronizasyon yöntemleri arasında elde edilen gebelik oranları

açısından fark olmadığını belirtmişlerdir. Ancak, bazı araştırmacılar da senkronizasyon yöntemlerinde farklı gebelik oranı elde edilebileceğini, hatta aynı ırk içinde aynı senkronizasyon yönteminin uygulandığı inek ve düvelerde dahi farklı başarıların ortaya konulabileceğini bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalarda kullanılan senkronizasyon yöntemleriyle birlikte bir takım uygulamaların gebelik oranını etkilemesi ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Çeşitli senkronizasyon yöntemleri ile birlikte uygulanan Vitamin E, GnRH, Fluniksin meglumin ve β karoten + vitamin E uygulamalarının gebelik oranlarında sadece sayısal bir artışa neden olurken, DIB protokolü resenkronizasyon uygulamasıyla birlikte uygulanan 300 IU eCG ve buzağının geçici süreyle anneden ayrılmasının gebelik oranını önemli ($P < 0.05$) derecede arttırdığını bildirmişlerdir. Hem senkronizasyon başarısını hem de gebelik oranlarını artırmak amacıyla sığırlarda senkronizasyonla birlikte ilave uygulamaların faydalı olacağı önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Xu ZZ., Burton LJ., McDougall S., Jolly PD., 2000. Treatment of noncyclic lactating dairy cows with progesterone and estradiol or with progesterone, GnRH, prostaglandin $_2\alpha$ and estradiol. *Journal of Dairy Science*, 83, 464-470.
- Stephen JL., Leslie KE., Ceelen HJ., Kelton DF., Keefe GP., 1998. Measures of estrus detection and pregnancy in dairy cows after administration of gonadotropin releasing hormone within an estrus synchronization program based on prostaglandin F $_2\alpha$. *Journal of Dairy Science*, 81, 375-381.
- Senger PL., 1994. The estrus detection problem: New concepts, technologies, and possibilities. *Journal Dairy Science*, 77, 2745-2753.
- Nak Y., Nak D., Seyrek İntaş K., Tek HB., Keskin A., Tuna B., 2005. Ovsynch, PRD + PGF 2α + PMSG ve norgestomet içeren kulak implantı + PGF 2α PMSG ile sağıtılan siklik ve asiklik sütçü ineklerde kızgınlık ve gebelik oranlarının karşılaştırılması. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24, 33-39.
- Pursley JR., Silcox WR., Wiltbank CM., 1998. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81, 2139-2144.
- Baumann LE., 1988. Monitoring and predicting reproductive performance in dairy herds. Vol I and II. *Dissertation Abstracts International, B-Sciences and Engineering*, 49, 1049.
- Diskin MG., Austin EJ., Roche JF., 2002. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, 23, 211-228.
- Demirci E., 2000. Evcil hayvanlarda reproduksiyon, suni tohumlama ve androloji ders notları. *Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Elazığ*.
- Foot RH., 1975. Estrus detection and estrus detection aids. *Journal of Dairy Science*, 58, 248-256.
- Williamson NB., Morris RS., Blood DC., 1972. A study of oestrus behaviour and oestrus detection methods in a large commercial dairy herds. *Veterinary Record*, 91, 58-62.
- De Rensis F., Peters AR., 1999. The control of follicular dynamics by PGF 2α , GnRH, hCG and oestrus synchronization in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 34, 49-59.
- Geary TW., Whittier JC., 1998. Effects of a timed insemination following synchronization of ovulation using the Ovsynch or Co-Synch in beef cows. *Proc Animal Science*, 1998, 217-220
- Nebel RL., Jobst SM., 1998. Evaluation of systematic breeding programs for lactating dairy cows: A review. *Journal of Dairy Science*, 81, 1169-1174.
- Erdem H., Güzeloğlu A., 2008. Holstein ırkı düvelerde sabit zamanlı tohumlama amacıyla iki farklı östrüs senkronizasyon yönteminin değerlendirilmesi. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 24, 7-13.
- Cordoba MC., Fricke P., 2001. Evaluation of two hormonal protocols for synchronization of ovulation and timed artificial insemination on dairy cows managed in grazing-based dairies. *Journal of Dairy Science*, 84, 2700-2708.

16. Yılmazbaş-Mecitoğlu G., Karakaya E., Keskin A., Alkan A., Gumen A., 2013. Reducing the duration between gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and prostaglandin F₂ treatment in the ovsynch protocol to 6 days improved ovulation to second GnRH treatment, but inclined to reduce fertility. *Journal of Dairy Science*, 96, 3817-3824.
17. Kara U., Ayaşan T., Hizli H., Gök K., 2011. Ovsynch protokolünün inek ve düvelerin gebelik oranı üzerine etkisi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 8, 1-8.
18. Aksu EH., Bozkurt T., Türk G., 2010. Farklı senkronizasyon uygulamaları ile senkronize edilen ineklerde üreme performansı üzerine vitamin E'nin etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 24, 71-76.
19. Emre B., Zonturlu AK., Korkmaz Ö., 2012. Sütçü ineklerde Ovsynch protokolünü takiben uygulanan Flunixin Meglumin'in gebelik oranı üzerine etkisi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1, 88-91.
20. Sönmez M., Gür S., 2004. PGF₂ ile östrusları senkronize edilen düvelerde tohumlama sonrası uygulanan GnRH'nin fertilité üzerine etkisi. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 20, 47-52.
21. Elibol E., Uçar M., Yılmaz O., 2009. Ovsynch uygulanan ineklerde sun'î tohumlama sonrası 12. günde yapılan GnRH enjeksiyonunun gebelik oranına etkisi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 2, 13-18.
22. Kaçar C., Kamiloğlu NN., Uçar Ö., Arı UÇ., Pancarcı ŞM., Güngör Ö., 2008. İneklerde β-karoten + E vitamini uygulamasıyla kombine edilen Ovsynch ve Cosynch senkronizasyon programlarının gebelik oranı üzerine etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 14, 45-50.
23. Campos JT., Marinho LSR., Lunardelli PA., Morroti F., Seneda FF., 2013. Resynchronization of estrus cycle with eCG and temporary calf removal in lactating *Bos Indicus* cows. *Theriogenology*, 80, 619-623.
24. Brusveen Dj., Cunha AP., Silva CD., Cunha PM., Sterry RA., Guenther JN., Wiltbank MC., 2008. Altering the time of the second gonadotropin-releasing hormone injection and artificial insemination (AI) during Ovsynch affects pregnancies per AI in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91, 1044-1052.



MikroRNA Biyogenez

Mustafa HİTİT¹, Ercan KURAR²✉, Aydın GÜZELOĞLU¹

1. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE.
2. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
24.09.2014	07.11.2014	20.12.2015

Öz: MikroRNA'lar (miRNA) kodlama yapmayan 21-24 nükleotid uzunluğunda RNA molekülleridir. Genel olarak translasyonun baskılanmasına veya mRNA'nın yıkılmasına neden olurlar. MikroRNA ilk keşfedildiğinde solucanlarda olağandışı spesifik gen ekspresyon mekanizması olarak düşünülmeye rağmen, artık günümüzde ökaryotlarda önemli gen ekspresyon düzenleyicisi olarak kabul edilmektedir. MikroRNA biyogenez çekirdekte RNA polimeraz II aracılığında transkripsiyon ile başlar ve hairpin yapısında olgun miRNA dizisini içeren uzun miRNA (pri-miRNA)'dan oluşur. Hairpin yapısı Drosha (RNAaz III enzimi) ve kofaktörü DiGeorge kritik sendrom bölgesi 8 (DGCR8)'den oluşan mikroprosesör tarafından kesilir. Oluşan prekürsör miRNA (pre-miRNA) nükleustan Exportin-5 ile sitoplazmaya taşınır ve diğer RNAaz III enzimi olan Dicer tarafından 21-24 nükleotid uzunluğundaki dubleks miRNA'ya kesilir. Olgun diziyi kesilecek olan iplik miRNA, RNA indüklenmiş susturma kompleksinde (RISC) Argonaute'a yüklenir. MikroRNA'nın 2-8 nükleotidlik çekirdek dizisi hedef mRNA ile tam olarak eşlendiğinde mRNA'nın destabilizasyonu sağlanır. Ancak tam olarak eşlenmediği zaman translasyon baskılanmaya neden olur. MikroRNA'ların gelişim, farklılaşma ve diğer fizyolojik fonksiyonlarda önemli rol aldığı gösterilmesine rağmen, düzensiz ifadesi durumunda farklı patolojik olaylar ile ilişkilendirilmiştir. MikroRNA biyogenezinin farklı fizyolojik süreçlerde ve hastalıklarda epigenetik etkisinin moleküler düzeyde anlaşılmasının potansiyel önemi bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Biyogenez, Gen ekspresyonu, MikroRNA.

MicroRNA Biogenesis

Abstract: MicroRNAs (miRNA) are non-coding RNA molecules with 21-24 nucleotide length. Basically, miRNAs cause either inhibition of protein translation or degradation of mRNA. Although it was thought to be an unusual specific gene expression mechanism when first discovered, it is now accepted as a pivotal regulator of gene expression. Biogenesis of miRNA begins with RNA polymerase II in nucleus and turns out to be long hairpin that contains mature long miRNA sequence (pri-miRNA). Hairpin structure is cleaved by microprocessor complex composed of Drosha (RNase III) and DiGeorge critical syndrome region 8 (DGCR8). Pre-miRNA is transported by Exportin 5 from nucleus to cytoplasm and in turn cleaved to 21-24 nucleotide long miRNA duplex by RNase III (Dicer). The strand converted to mature sequence is loaded to Argonaute on RNA induced silencing complex (RISC). MicroRNAs has seed a sequence, 2-8 nucleotide in length. When the seed sequence binds to target mRNA with a perfect complementarity, it destabilizes the mRNA. However, when it binds to target mRNA with imperfect complementarity, causes the inhibition of translation. Although miRNAs play role in development, differentiation, and other physiological events, aberrant expression of miRNA is associated with different pathological conditions. The understanding of epigenetic effect of miRNA biogenesis on different physiological processes and diseases has potential importance at the molecular level.

Keywords: Biogenesis, Gene expression, MicroRNA.

GİRİŞ

MikroRNA (miRNA), 1993 yılında iki bağımsız çalışmada (1,2) eş zamanlı olarak *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*)'da gen ekspresyonunun postranskripsiyonel düzenleyicisi olarak keşfedilmiştir. Lin-4 olarak keşfedilmiş miRNA, hedef genin ekspresyonunu azalttığı ve DNA dizi analizinde protein ürününün bulunmadığı gözlenmiştir (1). Protein kodlayan genlerin genomun küçük bir kısmından (%0.5-2) ifade edildiği bilinmesine rağmen, miRNA'lar memeli, sinek ve solucan genlerinin sadece %1-2'sini oluşturmaktadır. Ayrıca, her bir miRNA'nın yüzlerce hedef geni kontrol edebildiği tahmin edilmektedir (3). İnsan genomunda kodlanan binlerce miRNA vardır ve bu miRNA'ların hedef genlerinin hücre gelişimi, farklılaşması, proliferasyonu ve apoptosis yollarında düzenleyici rolü bulunmaktadır. Ancak, düzensiz miRNA ekspresyonunun birçok hastalık patogeneziinde yer aldığı bildirilmektedir (4). Bu açıdan bakıldığında, miRNA aracılı gen ekspresyonu önemli ve vazgeçilmez bir mekanizma olarak kabul edilmektedir.

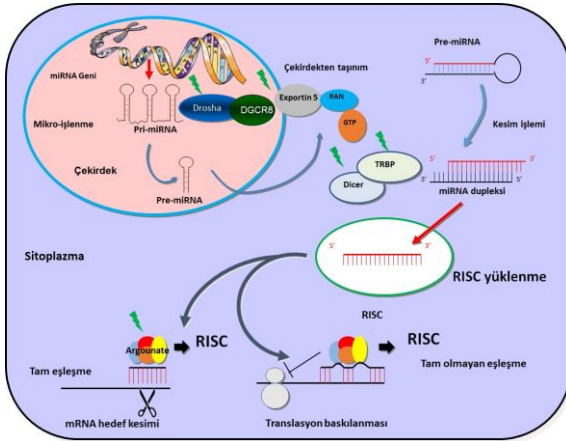
Aslında, miRNA aracılı gen düzenlenmesi RNA interferans (RNAi) olarak bilinen mekanizmanın bir parçasıdır ve bazı küçük RNA'lardan (örn; siRNA, piRNA) oluşmaktadır. siRNA'lar komplementer nükleotid diziler olarak spesifik hedef genlerin ekspresyonunu baskımlarken, piRNA'lar germ hattı bütünlük ve fertilitiyi sürdüren aktif mobil elementlerin fonksiyonunu engellemektedir (5).

Lin-4'ün, Lin-14 mRNA'sının 3'-UTR (untranslated region) bölgesinin (2) tamamlayıcı olan 22 ve 61 nükleotidlik (1) iki transkripti mevcuttur. Lin-14 mRNA'sı farklı türlerin embriyosunda ve *C. elegans*'ın 1. larva aşamasında mevcut LIN-14 proteinini kodlamaktadır (2). Lin-14'ün RNA-RNA interaksyonu Lin-4 ile baskılanır ve LIN-14 protein seviyesinde önemli oranda azalışa neden olur, ancak Lin-14 mRNA seviyesi sabit kalır. Bu bulgular, Lin-4'ün Lin-14'ün kodlama yapmayan bölgesine eşlenmesi, LIN-14 proteinini'nin baskılanması sonucunda 1. larva

aşamasından 2. larva aşamasına geçişe neden olan bir modeli ortaya çıkarmıştır (1,2). Daha sonra, geç larva döneminden yetişkin hücre dönemine geçişe izin veren Let-7 keşfedilmiştir. Lin-4'e benzer olarak, Let-7'de Lin-41'in translasyonu baskılayan 21 nükleotidlik düzenleyici bir RNA kodlamaktadır. Northern blot analizinde, Let-7'ninde 21 ve 70 nükleotidlik iki transkripti tespit edilmiştir (6). *Drosophila*, insan ve diğer türlerde de Let-7 RNA'sının varlığı tespit edilmiştir (7). Daha sonra, gelişim aşamalarından ziyade sadece belli hücre tiplerinde ifade edilen, 21 nükleotidlik, küçük düzenleyici RNA'lar *D. melanogaster*'de keşfedilmiş ve bu küçük düzenleyici RNA'lar mikroRNA'lar olarak isimlendirilmiştir (8). miRNA'ların keşfinden sonra diğer hayvan ve bitki türleri ile tek hücreli canlılarda da varlığı saptanmıştır. İlk zamanlarda, insan genomunda 250 miRNA'nın varlığı tahmin ediliyordu (7). Ancak, güncel miRNA veritabanının 21. Versiyonunda, 223 canlı türünde 28645 hairpin prekürsörü ve 35828 olgun miRNA'nın gen ifadesi bulunmaktadır (9).

1. MikroRNA Biyogenezi

miRNA biyogenezi, çekirdekte RNA polimeraz II aracılığında transkripsiyon ile başlamakta ve hairpin yapısında olgun miRNA dizisini içeren uzun miRNA (pri-miRNA) oluşmaktadır (10). Hairpin yapısı, Drosha (RNAaz III enzimi) ve kofaktörü DiGeorge kritik sendrom bölgesi 8 (DGCR8)'den (Pasha) oluşan mikroprosesör tarafından kesilir ve 60-70 nükleotid uzunluğunda prekürsör miRNA'nın (pre-miRNA) oluşmasına neden olur. Prekürsör hairpin nükleustan Exportin-5 (XPO5) ile sitoplazmaya taşınır ve diğer bir RNAaz III enzimi olan Dicer tarafından 21-24 nükleotid uzunluğunda dubleks miRNA'ya kesilir. Olgun diziyeye kesilecek olan iplik, miRNA indüklenmiş susturma kompleksini oluşturan (RISC) Argonaute'a yüklenir. Eksik baz eşleşmesiyle, miRNA RISC'i indükler ve mRNA destabilizasyonu ya da translasyonel baskılanmaya neden olur (Şekil 1).



Şekil 1. Genel mikroRNA yolu (Yang ve Lai'den düzenlenmiştir, 11).

miRNA: mikroRNA, DGCR8: DiGeorge kritik sendrom bölgesi 8, Drosha: RNAaz III enzimi, GTP: guanozin trifosfat, RAN: RAS-ilişkili Nükleer protein, RISC: RNA indüklenmiş susturma kompleksi, pri-mikroRNA: primer mikroRNA, TRBP: HIV-1 TAR RNA-bağlanma proteini.

Figure 1. General microRNA pathway (Adapted from Yang and Lai, 11).

miRNA: microRNA, DGCR8: DiGeorge critical syndrome region 8, Drosha: RNase III enzyme, GTP: guanosine triphosphate, RAN: RAS-related Nuclear protein, RISC: RNA-induced silencing complex, pri-microRNA: primary microRNA, TRBP: HIV-1 TAR RNA-binding protein.

2. MikroRNA Genleri

Ökaryotik organizmalar yüzlerce miRNA genini kodlamaktadır. Bazı miRNA'lar protein kodlayan genlerde, bazıları ise kodlama yapmayan transkripsiyon ünitelerinde bulunurlar (12). Memeli miRNA'larının %70'i intronlarda ve çoğunluğu protein kodlayan genlerde yer alır. Geriye kalan miRNA'lar kodlama yapmayan transkripsiyon ünitelerinde eşit oranlarda ekzonik ve intronik bölgelerde bulunmaktadır. Alternatif olarak *C. elegans*'ta miRNA'ların %15'i konakçı genin promotorunun kontrolü altındadır. Geri kalanlar ise bağımsız promotorlar tarafından düzenlenmektedir (13). miRNA genlerinin %30'u protein kodlayan genleri antisense yönünde üst üste getirir ve miRNA'yı kendi promotorları ile bırakır. Bazı durumlarda, konakçı gen ile miRNA arasında ekspresyonda karşılıklı direkt bir ilişki bulunmaktadır (14).

"Kümeler" olarak bilinen ve uzun transkripsiyonel üniteler halinde ifade edilen çoklu miRNA'lar yaygın olarak bulunmaktadır (15).

Genomik düzen içindeki miRNA'lar bazı durumlarda bir miRNA ailesinin üyeleri olarak ele alınır. Tipik olarak, genomik lokalizasyona bakılmaksızın bir miRNA ailesi 2-7 nükleotid uzunluğunda çekirdek dizisini paylaşan bütün miRNA'ları kapsamaktadır (3). Örneğin, insan genomunda Let-7 ailesinin 13 farklı üyesi vardır ve bunların 7 tanesi kümeler içinde diğer Let-7 miRNA'ları ile birlikte bulunmaktadır (16). miR-34 ailesi özdeş çekirdek dizisi olan üç miRNA'dan (a, b, c) oluşmakta ve birçok türün gametlerinde gametogeneze önemli rol oynayan değişken ekspresyon profiline sahiptir (17). Hedefin tanınmasında çekirdek dizisi belirleyici olduğu için, miRNA aileleri ortak genleri düzenleme kapasitesine sahiptir (12). Örneğin, protein kodlayan dynamin-3 anlamlı ipliğinin intronu içinde miR-3120'yi buldururken, aynı introna sahip antisense ipliğinde ise miR-214'ü buldurmaktadır (18).

3. MikroRNA'nın Transkripsiyonu

miRNA'ların büyük çoğunluğu RNA polimeraz II tarafından ifade edilmektedir. miRNA primer transkripti olarak bilinen ilk RNA'lar diğer RNA polimeraz II transkriptleri gibi 5' metillenmiş şapka ve 3' poliadenillenmiş kuyruk alırken (19), Alu tekrarlarına yakın olan miRNA'ların RNA polimeraz III tarafından transkribe olduğu gösterilmiştir (20). miRNA'nın intronik olduğu durumlarda, prekürsörün salınımı mRNA splicingden önce meydana gelebilmektedir (21). İnsan miRNA'larının genom kapsamlı analizleri miRNA'ların kendi promotor haritalarını ve kromatin imzalarını ortaya çıkarmıştır. Ayrıca bu çalışmalarda intronik miRNA'ların 1/3'ünün konakçı genlerinden bağımsız ifadesi gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, miRNA'lar transkripsiyon başlangıç bölgelerinin upstream dizilerindeki binlerce nükleotid içinde lokalize olabilir. Birçok promotor, Pol II protomolarının özelliklerine benzer TATA kutusu ve başlangıç elemanlarını kapsamaktadır (22).

Transkripsiyon faktörlerini miRNA'lar ile karşılaştırmak için genom kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. Fare embriyonik kök hücrelerinde, Oct4, Sox2, Nanog ve Tcf3'ün de içinde bulunduğu pluripotent transkripsiyon faktörleri fare embriyonik kök hücrelerinde ifade edilen miRNA'lar ile ilişkilendirilmiştir (23). miR-3960'ın transkripsiyon

faktörlerini kodlayan 73 mRNA'nın 3'-UTR'ında hedef bağlanma bölgesi bulunmaktadır (24). Transkripsiyon faktörleri miRNA ekspresyonunu pozitif veya negatif olarak düzenleyebildiği için, geri besleme döngüsü miRNA'nın kendi ekspresyonunu baskılayabilir veya artırabilir.

3.1. Pri-mikroRNA'nın İşlenme Süreci

RNA polimeraz II tarafından pri-miRNA transkriptlerine kesilen miRNA'lar, mikroprosesör kompleks tarafından prekürsör formuna dönüştürülmektedir (25). Mikroprosesör kompleks RNAaz III enzimi Drosha ve DGCR8'den (DiGeorge syndrome critical region 8 ve ayrıca Drosha'nın partneri Pasha olarak bilinir) meydana gelmektedir (25,26). RNAaz III enzimi RNA'yı kesmekte ve karakteristik olarak pre-miRNA'nın 3' ucunda 2 nükleotidlik bir çıkıntı bırakmaktadır (26). Drosha, primer transkriptten hairpin yapısının salınması için bir kesik yapımından sorumlu iki tane RNAaz III domaini içermektedir (26). Drosha bir tane tanınabilir çift-iplikli RNA bağlanma domainine (dsRBD) sahiptir. Ancak, Drosha RNA substratına direk olarak bağlanan iki dsRBD'li DGCR8'e ihtiyaç duymaktadır (27).

Mikroprosesör kompleks, hücre içinde çok sayıda miRNA'nın işlenmesinden sorumludur. Bu nedenle, RNA'nın yapısı, mikroprosesör kompleks tarafından tanınma açısından RNA dizisinden daha önemlidir. Primer transkript içinde, yaklaşık 65 nükleotidlik prekürsör dizisi terminal loop'u takiben kısmi baz-eşleşmesi olan kök bölgesini kapsar. miRNA'da birkaç önemli yapısal komponentin varlığı bildirilmiştir. Bu komponentin oluşumunda ise; prekürsör hairpin yapısının, çift iplikli kökün, kökü yanlarından destekleyen tek iplikli RNA segmentinin (ssRNA) ve 10 nükleotide sahip olan terminal ilmiğin önemi vurgulanmıştır (28,29). Drosha'nın kesim bölgesinin genel olarak tek iplik bazal bölgeden kökün temelini olan mesafenin belirlenmesiyle ayarlandığı ve bunun için ilmik yapısına gerek duyulmadığı gösterilmiştir (29). Ancak, terminal ilmiğin kesim reaksiyonunun etkinliği üzerine büyük derecede etkisi bildirilmiştir (30). *In vivo* olarak primer miRNA'dan prekürsör miRNA'nın tam olarak saptanması ve işlenmesi için tek iplikli yan dizi (flanking), hairpin kökü ve terminal ilmik

mikroprosesörün çalışmasına katkıda bulunmaktadır.

Primer-miRNA'nın işlenmesi hücredeki mikroprosesör miktarı ile düzenlenmektedir. Drosha ve DGCR8 post-transkripsiyonel olarak birbirlerini düzenlediği için mikroprosesör seviyesi otomatik olarak düzenlenmiştir. Mikroprosesör kompleks daha sonra, DGCR8 mRNA'sının 5'-UTR ucunda prekürsör miRNA'ya benzeyen hairpin yapısına bağlanmakta ve mRNA'yı kesmektedir (31).

3.2. Prekürsör MikroRNA'ların Nükleustan Sitoplazmaya Taşınması

In vitro ve *in vivo* ortamlarda XPO5, Ran-GTP bağımlı durumlarda pre-miRNA'lara yüksek afinite ile bağlanmakta ve prekürsör miRNA'lar Dicer tarafından işlenmek için hücre çekirdeğinden sitoplazmaya taşınmaktadır (32). Nükleer taşıma reseptörü, kofaktör Ran-GTP kullanılarak RNA hücre çekirdeğinden taşınır. GTP sitoplazmada GDP'ye hidrolize olmakta ve RNA'nın salınmasına izin vermektedir (33). XPO5'in taşıyıcı rolü dışında, ekzonükleazlar tarafından meydana gelen degradasyonu engelleyerek pre-miRNA'ları dengelemektedir (28). Genel olarak bakıldığında, XPO5 prekürsör miRNA'yı çekirdekten sitoplazmaya taşınmanın yanı sıra Dicer mRNA'sının da sitoplazmaya taşınmasına aracılık etmektedir (34).

3.3. MikroRNA Olgunlaşması

Pre-miRNA'lar 21-24 nükleotidlik olgun forma dönüşebilmek için çekirdekten sitoplazmaya taşınınca Dicer tarafından işlenirler. Aslında, Dicer uzun çift zincirli RNA'ları (dsRNA) RNA susturma yolağındaki 22 nükleotidlik küçük susturucu RNA'lara kesmekle sorumludur (35). Farklı hayvan ve bitki türlerinde helikaz, PAZ, dsRNA bağlanma ve 2 tane RNAaz III domainin varlığı ile karakterize olan Dicer proteini sentezlenir. PAZ domaini prekürsör miRNA'nın kök kısmında çıkıntı yapan 2 nükleotidlik diziyi tanır. Prekürsör miRNA'lar Dicer'a düzgün bir şekilde yüklenince, her bir RNAaz domaini ipliklerden birini keserek ilmik yapısının serbest bırakılmasını sağlamaktadır (36). Dicer'ın helikaz domaininin nükleaz domaini çevresinde olduğu ve prekürsör miRNA'da bulunan ilmik bölgesini tanımaya katkıda bulunabileceği bildirilmiştir (37).

3.3.1. MikroRNA Olgunlaşmasındaki Önemli Faktörler

Dicer aktivitesi çok sayıda farklı protein etkileşimi ile düzenlenebilmektedir. Dicer stres yanıtının bir parçası olabilir ve interferonlar Dicer ekspresyonunun önemli bir düzenleyicisi olarak tanımlanmaktadır (38). Dicer'in kesim etkisini artıran bir etkileşimci protein HIV-1 TAR RNA-bağlanma (TRBP) proteini olabilir. Dicer memelilerde prekürsör miRNA'yı olgun forma herhangi bir kofaktör olmadan kesebilme yeteneğinde olmasına karşın, TRBP bu kesim aktivitesini artırmaktadır (39,40). TRBP'nin prekürsör miRNA kesiminde oynadığı rol tam olarak bilinmese de, bazı çalışmalar TRBP ve Dicer etkileşiminin Dicer proteinini dengelediğini göstermiştir (40). Ancak, TRBP'nin olmadığı durumlarda Dicer seviyesinde herhangi bir etki gözlenmemiştir (41).

Birçok durumda ise Dicer aktivitesi bazı proteinler tarafından düzenlenmektedir. Bunlar arasında RNA bağlanma proteini AUF1 (AU bağlanma faktörü 1) endojen Dicer mRNA'sına bağlanarak karşılıklı ilişki kurmakta ve Dicer mRNA'sının stabilitesini bozarak miRNA üretimini baskılamaktadır (42). Bunun yanı sıra, diğer bir RNA bağlanma proteini olan RNA bağlanma motifi proteininin (RBM3) pre-miRNA işlenmesini uyardığı tespit edilmiştir (43). Prekürsör miRNA'ların olgun forma çevrilmesi ayrıca monosit kemoatraktan protein indüklenmiş protein-1 (MCP1P1) ile uyarılabilir (44). Hücre iskeleti ilişkili endoplazmik membran protein (CLIMP-63), Dicer ile yüksek moleküler ağırlıklı kompleks yaparak Dicer proteininin ayarlanmasına katkıda bulunmaktadır (45).

Bazı durumlarda Dicer proteini kendi katalitik aktivitesini helikaz domaini yardımı ile negatif olarak düzenleyebilir. Ancak, Dicer'in helikaz domaininin delesyonu veya de mutasyonların kesim aktivitesinin artmasınaneden olduğu ancak bu durumun miRNA'lara bağlanma duyarlılığını etkilemediği bildirilmiştir (39). Ayrıca insan Dicer mRNA'sının kendisi de 3 tane korunmuş Let-7 bağlanma dizisinin hedefidir (46). Bu açıdan bakıldığında prekürsör miRNA'nın olgunlaşması genel olarak Dicer seviyesinin ve aktivitesinin ayarlanması ile birçok

yoldan düzenlenmektedir.

3.3.2. Argonaute Proteini Aracılı MikroRNA Olgunlaşması

miRNA'ların olgunlaşmasında kaçınılmaz olan Dicer aktivitesinin yanısıra Argonaute proteinin de miRNA olgunlaşmasında önemi göz ardı edilemez. Prekürsör miRNA'nın *in vivo* olarak işlenmesi olgun miRNA ürünlerinin miRISC'a (miRNA ile indüklenmiş susturma kompleksi) birikimi ile ilişkilendirilir ve bu yükleme kompleksi Dicer, TRBP ve Argonaute'dan meydana gelmektedir (47). Birçok miRNA'nın işlenmesi için Argonaute'ın katalitik aktivitesine ihtiyaç duyulmamasına karşın, kompleksteki Argonaute'ın varlığı olgun miRNA'nın yüklenmesine olanak sağlamaktadır. Bazı durumlarda Argonaute, endonükleotik aktivitesini pre-kürsör miRNA'lar üzerine gerçekleştirmektedir. Memeli hücrelerinde Ago2'nin Dicer'in işlenmesinden önce Ago2-kesilmiş prekürsör miRNA üreten 3' hairpin yapısını kestiği gösterilmiştir (48).

Argonaute ayrıca bazı miRNA'ların Dicer tarafından işlenmesinin atlanmasına izin verir. Memeli hücrelerinde Ago2, endonükleaz aktivitesine sahip tek Argonaute'tır. Ayrıca, Dicer'in kaybindan etkilenmeden olgun miRNA'nın katalizlenmesini sağlayabilir (49). Dicer, 21-24 nükleotidlik miRNA dupleksi oluşturduktan sonra bir iplik, miRNA ile indüklenmiş sessizleştirme kompleksini (miRISC) şekillendiren Argonaute proteinine yüklenir. Olgun miRNA, Argonaute içinde bir kılavuz olarak görev görür ve hedef mRNA'ya kofaktörü gibi davranarak, mRNA'nın stabilizasyonu bozar veya translasyonu baskılar (50).

Dicer kesimi dsRNA ürünü oluşturmaktadır. İpliklerden birinin fonksiyonel olarak aktif olması için Argonaute kompleksine girebilmesi, dolayısıyla sarılmış olan dupleksin açılması gerekir. miRISC'a yüklenen tek iplikli olgun miRNA "kılavuz" olarak isimlendirilirken, diğeri yolcu "iplik" olarak parçalanır. miRNA dupleksinin termodinamik stabilitesi hangi ipliğin miRISC'a dahil olacağını belirler. Birçok miRNA dupleksinin stabilizasyonu eksik baz eşleşmesi ile bozulur. 5' ucunda daha az istikrarlı baz eşleşmesi yapan iplik Argonaute yüklemesi için seçilir (51).

Argonaute proteinlerinin miRNA yüklenmesi için PAZ, PIWI ve MID olarak isimlendirilen üç domaini vardır. Kılavuz RNA'nın 3' ucu PAZ domaini ile bağlantı halindedir ve birinci nükleotid üzerindeki 5' ucu monofosfat ise MID domaini tarafından stabilize edilir. Kılavuz RNA'nın merkez bölgesi ise PIWI domaininde bulunur. Bu bölge katalitik olarak aktiftir ve kılavuz iplik ile kusursuz eşleşme yapan mRNA hedefinin kesilmesine aracılık eder. Hayvanlarda miRNA'lar, mRNA hedeflerinin kesilmesi için yeteri kadar baz eşleşmesinden yoksundur. Bunun yerine, Argonaute kofaktörler ile etkileşim halinde olup mRNA'nın deadenilasyonunu veya kesimini kolaylaştırır. Ayrıca protein translasyonunu baskılar (50).

SONUÇ

mRNA'ların farklı fizyolojik süreçlerde ve hastalıklarda gen ekspresyonu üzerine etkileri tespit edilmiştir. Son yıllarda, farklı hastalıkların teşhisinde miRNA'ların potansiyel markör olabileceği ve miRNA'ların alternatif terapötik uygulamalarını kapsayan bazı gelişmeler sağladığı bildirilmektedir. Farklı fizyolojik olaylar ve hastalıkların patogenezi, epigenetik mekanizmaların moleküler düzeyde anlaşılması ve alternatif uygulamalar için miRNA biyogenez yoluyla potansiyel hedef olarak gözükmektedir.

KAYNAKLAR

- Lee RC., Feinbaum RL., Ambros V., 1993. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 75, 843-854.
- Wightman B., Ha I., Ruvkun G., 1993. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*, 75, 855-862.
- Bartel DP., 2009. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 136, 215-233.
- O'Connell RM., Rao DS., Chaudhuri AA., Baltimore D., 2010. Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system. *Nature Review Immunology*, 10, 111-122.
- Yousef M., Allmer J., 2014. *miRNomics: MicroRNA Biology and Computational Analysis*. 1st ed., 1-2, Humana Press, Springer Protocols.
- Reinhart BJ., Slack FJ., Basson M., Pasquinelli AE., Bettinger JC., Rougvie AE., Horvitz HR., Ruvkun G., 2000. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 403, 901-906.
- Bartel DP., 2004. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116, 281-297.
- Lagos-Quintana M., Rauhut R., Lendeckel W., Tuschl T., 2001. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*, 294, 853-858.
- Kozomara A., Griffiths-Jones S., 2014. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acid Research*, 42 (Database issue): D68-D73.
- Winter J., Jung S., Keller S., Gregory RL., Diederichs S., 2009. Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nature Cell Biology*, 11, 228-234.
- Yang JS., Lai EC., 2011. Alternative miRNA biogenesis pathways and the interpretation of core miRNA pathway mutants. *Molecular Cell*, 43, 892-903.
- Rodriguez A., Griffiths-Jones S., Ashurst JL., Bradley A., 2004. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. *Genome Research*, 14, 1902-1910.
- Martinez NJ., Ow MC., Barrasa MI., Hammell M., Sequerra R., Doucette-Stamm L., Roth FP., Ambros VR., Walhout AJ., 2008. A *C. elegans* genome-scale microRNA network contains composite feedback motifs with high flux capacity. *Genes & Development*, 22, 2535-2549.
- Baskerville S., Bartel DP., 2005. Microarray profiling of microRNAs reveals frequent coexpression with neighboring miRNAs and host genes. *RNA*, 11, 241-247.
- Lee Y., Jeon K., Lee JT., Kim S., Kim VN., 2002. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *European Molecular Biology Organization*, 21, 4663-4670.

16. Mondol V., Pasquinelli AE., 2012. Let's make it happen: the role of let-7 microRNA in development. *Current Topics in Developmental Biology*, 99, 1-30.
17. Bouhallier F., Allioli N., Laval F., Chalmel F., Perrard MH., Durand P., Samarut J., Pain B., Rouault JP., 2010. Role of miR-34c microRNA in the late steps of spermatogenesis. *RNA*, 16, 720-731.
18. Scott H., Howarth J., Lee YB., Wong LF., Bantounas I., Phylactou L., Verkade P., Uney JB., 2012. MiR-3120 is a mirror microRNA that targets heat shock cognate protein 70 and auxilin messenger RNAs and regulates clathrin vesicle uncoating. *Journal of Biological Chemistry*, 287, 14726-14733.
19. Lee Y., Kim M., Han J., Yeom KH., Lee S., Baek SH., Kim VN., 2004. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *European Molecular Biology Organization*, 23, 4051-4060.
20. Borchert GM., Lanier W., Davidson BL., 2006. RNA polymerase III transcribes human microRNAs. *Nature Structural Molecular Biology*, 13, 1097-1101.
21. Morlando M., Ballarino M., Gromak N., Pagano F., Bozzoni I., Proudfoot NJ., 2008. Primary microRNA transcripts are processed co-transcriptionally. *Nature Structural Molecular Biology*, 15, 902-909.
22. Monteys AM., Spengler RM., Wan J., Tecedor L., Lennox KA., Xing Y., Davidson BL., 2010. Structure and activity of putative intronic miRNA promoters. *RNA*, 16, 495-505.
23. Marson A., Levine SS., Cole MF., Frampton GM., Brambrink T., Johnstone S., Guenther MG., Johnston WK., Wernig M., Newman J., Calabrese JM., Dennis LM., Volkert TL., Gupta S., Love J., Hannett N., Sharp PA., Bartel DP., Jaenisch R., Young RA., 2008. Connecting microRNA genes to the core transcriptional regulatory circuitry of embryonic stem cells. *Cell*, 134, 521-533.
24. Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R., Atambayeva S., 2014. MiR-3960 binding sites with mRNA of human genes. *Bioinformatics*, 10, 423-427.
25. Denli AM., Tops BB., Plasterk RH., Ketting RF., Hannon GJ., 2004. Processing of primary microRNAs by the microprocessor complex. *Nature*, 432, 231-235.
26. Han J., Lee Y., Yeom KH., Kim YK., Jin H., Kim VN., 2004. The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing. *Genes & Development*, 18, 3016-3027.
27. Yeom KH., Lee Y., Han J., Suh MR., Kim VN., 2006. Characterization of DGCR8/Pasha, the essential cofactor for Drosha in primary miRNA processing. *Nucleic Acids Research*, 34, 4622-4629.
28. Zeng Y., Cullen BR., 2005. Efficient processing of primary microRNA hairpins by Drosha requires flanking nonstructured RNA sequences. *Journal of Biological Chemistry*, 280, 27595-27603.
29. Han J., Lee Y., Yeom KH., Nam JW., Heo I., Rhee JK., Sohn SY., Cho Y., Zhang BT., Kim VN., 2006. Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex. *Cell*, 125, 887-901.
30. Zhang X., Zeng Y., 2010. The terminal loop region controls microRNA processing by Drosha and Dicer. *Nucleic Acids Research*, 38, 7689-7697.
31. Triboulet R., Chang HM., Lapierre RJ., Gregory RI., 2009. Post-transcriptional control of DGCR8 expression by the microprocessor. *RNA*, 15, 1005-1011.
32. Bohnsack MT., Czaplinski K., Gorlich D., 2004. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs. *RNA*, 10, 185-191.
33. Lei EP., Silver PA., 2002. Protein and RNA export from the nucleus. *Developmental Cell*, 2, 261-272.
34. Bennasser Y., Chable-Bessia C., Triboulet R., Gibbings D., Gwizdek C., Dargemont C., Kremer EJ., Voinnet O., Benkirane M., 2011. Competition for XPO5 binding between Dicer mRNA, pre-miRNA and viral RNA regulates human Dicer levels. *Nature Structural & Molecular Biology*, 18, 323-327.
35. Bernstein E., Caudy AA., Hammond SM., Hannon GJ., 2001. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature*, 409, 363-366.

36. MacRae IJ., Doudna JA., 2007. Ribonuclease revisited: structural insights into ribonuclease III family enzymes. *Current Opinion in Structural Biology*, 17, 138-145.
37. Lau PW., Guiley KZ., De N., Potter CS., Carragher B., MacRae IJ., 2012. The molecular architecture of human Dicer. *Nature Structural & Molecular Biology*, 19, 436-440.
38. Wiesen JL., Tomasi TB., 2009. Dicer is regulated by cellular stresses and interferons. *Molecular Immunology*, 46, 1222-1228.
39. Ma E., MacRae IJ., Kirsch JF., Doudna JA., 2008. Autoinhibition of human dicer by its internal helicase domain. *Journal of Molecular Biology*, 380, 237-243.
40. Koscianska E., Starega-Roslan J., Krzyzosiak WJ., 2011. The role of Dicer protein partners in the processing of microRNA precursors. *PLoS One*, 6, 28548.
41. Haase AD., Jaskiewicz L., Zhang H., Lainé S., Sack R., Gatignol A., Filipowicz W., 2005. TRBP, a regulator of cellular PKR and HIV-1 virus expression, interacts with Dicer and functions in RNA silencing. *European Molecular Biology Organization*, 6, 961-967.
42. Abdelmohsen K., Tominaga-Yamanaka K., Srikantan S., Yoon JH., Kang MJ., Gorospe M., 2012. RNA-binding protein AUF1 represses Dicer expression. *Nucleic Acids Research*, 40, 11531-11544.
43. Dresios J., Aschrafi A., Owens GC., Vanderklish PW., Edelman GM., Mauro VP., 2005. Cold stress-induced protein RBM3 binds 60S ribosomal subunits, alters microRNA levels, and enhances global protein synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, 1865-1870.
44. Suzuki HI., Arase M., Matsuyama H., Choi YL., Ueno T., Mano H., Sugimoto K., Miyazono K., 2011. MCPIP1 ribonuclease antagonizes dicer and terminates microRNA biogenesis through precursor microRNA degradation. *Molecular Cell*, 44, 424-436.
45. Pépin G., Perron MP., Provost P., 2012. Regulation of human Dicer by the resident ER membrane protein CLIMP-63. *Nucleic Acids Research*, 40, 11603-11617.
46. Forman JJ., Legesse-Miller A., Collier HA., 2008. A search for conserved sequences in coding regions reveals that the let-7 microRNA targets Dicer within its coding sequence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105, 14879-14884.
47. Gregory RI., Chendrimada TP., Cooch N., Shiekhattar R., 2005. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell*, 123, 631-640.
48. Diederichs S., Haber DA., 2007. Dual role for argonautes in microRNA processing and posttranscriptional regulation of microRNA expression. *Cell*, 131, 1097-1108.
49. Rivas FV., Tolia NH., Song JJ., Aragon JP., Liu J., Hannon GJ., Joshua-Tor L., 2005. Purified Argonaute2 and an siRNA form recombinant human RISC. *Nature Structural & Molecular Biology*, 12, 340-349.
50. Pasquinelli AE., 2012. MicroRNAs and their targets: recognition, regulation and an emerging reciprocal relationship. *Nature Reviews Genetics*, 13, 271-282.
51. Schwarz DS., Hutvagner G., Du T., Xu Z., Aronin N., Zamore PD., 2003. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex. *Cell*, 115, 199-208.

YAZARLARA BİLGİ

1. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nin hakemli bilimsel yayın organı olup, Nisan, Ekim ve Aralık aylarında olmak üzere yılda 3 kez yayımlanır. Derginin kısaltılmış ismi "Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg." dir.
2. Bu dergide, Türkçe veya İngilizce dillerinden birinde hazırlanmış ve daha önce başka bir dergide yayınlanmamış veya başka bir dergiye eşzamanlı olarak sunulmamış Temel Veteriner Bilimleri (Anatomi, Biyokimya, Fizyoloji, Histoloji, Mesleki Etik ve Deontoloji), Klinik Öncesi Veteriner Bilimleri (Farmakoloji ve Toksikoloji, Mikrobiyoloji, Parazitoloji, Patoloji, Viroloji), Klinik Veteriner Bilimleri (İç Hastalıkları, Cerrahi, Doğum ve Jinekoloji, Dölerme ve Suni Tohumlama), Zootečni ve Hayvan Besleme Bilimleri (Biyoistatistik, Genetik, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları, Hayvancılık İşletme Ekonomisi, Zootečni), Hayvansal Orjinli Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Egzotik Hayvanlar Bilimi ve Laboratuvar Hayvanları Bilimi alanlarında hazırlanmış orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu ve davetli veya editörün onayı alınmış derlemeler yayımlanır.
3. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'ne yayımlanması amacıyla gönderilen hayvan deneylerine dayalı bilimsel çalışmalarda; makalenin Materyal ve Metot kısmında "Yerel Etik Kurulu onayı alınmıştır" veya "Yerel Etik Kurulu ilkelerine uyulmuştur" ifadesi yer almalıdır. Eğer yerel etik kurulu onayı alınmış ise Yazar(lar) etik kurul onayı aldıkları kurumu ve onay numarasını belirtmelidirler. Tez çalışmalarından özetlenen makalelerde ise etik kurul kararı aranmaz.
4. Yazarlar, başka kaynaklardan alınan ve kullanılan materyal ile ilgili telif hakkı şartlarına uymak ve telif hakkının dergiye devrini ifade eden sözleşmeyi imzalamakla yükümlüdürler. Dergide yer alan yazılardan doğacak her türlü sorumluluk yazar(lar)ına aittir.
5. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'na belirtilen "İhbarı Mecburi Hastalıklar" ile ilgili her türlü makalenin (Orijinal Araştırma Makalesi, Olgu Sunumu, Derleme) değerlendirmeye alınabilmesi için T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan alınmış izin yazısının Dergi Editörlüğüne sunulması zorunludur.
6. Makaleler değerlendirme için en az iki danışmana gönderilir. Makalenin yayına kabulü, danışmanların ve dergi editörlüğünün kararına bağlıdır.

MAKALENİN HAZIRLANMASI

1. Makaleler, A4 dosya kâğıdına (tek yüz), çift satır aralıklı olarak, kenarlarından 3 cm boşluk bırakarak yazılmalı, şekil, tablolar ve kaynaklarda dahil olmak üzere sayfa sayısı orijinal bilimsel araştırmalarda ve derlemelerde 16, olgu sunumu gibi kısa bilimsel çalışmalarda ise 5 sayfayı geçmemelidir.

2. Makale, Microsoft Word 6.0 veya daha üst versiyonda, Calibri karakterinde ve 12 punto ile hazırlanmalıdır.

3. Makaleye satır numaraları (makalenin 2. sayfasından başlamak üzere sürekli olacak şekilde) ve sayfa numaraları (sayfa altında ve ortalı) eklenmelidir.

4. Makale ile ilgili açıklayıcı bilgiler (tez, proje, vb.) makale başlığının sonuna üst simge olarak * işareti konulup makale başlığı altında italik yazıyla açıklanmalıdır.

5. Araştırmaya konu olan maddelerin ve ürünlerin ticari adları kullanılmamalıdır.

Orijinal Bilimsel Araştırma Makaleleri İçin:

Birinci Sayfa: makalenin birinci sayfası başlık, yazar isimleri ve adresleri, yazarların e-posta adresleri, sorumlu yazar iletişim bilgileri ve eğer varsa makale ile ilgili açıklayıcı bilgidir oluşmalıdır.

Başlık: Türkçe ve İngilizce başlıklar sadece ilk harfleri büyük olacak şekilde yazılmalıdır. Makalenin dili Türkçe ise önce Türkçe sonra İngilizce başlık, makalenin dili İngilizce ise önce İngilizce sonra Türkçe başlık yazılmalıdır.

Yazar İsimleri ve Adresleri: Yazar(lar)'ın adı ve soyadının (akademik ünvanlı) sadece baş harfleri büyük ve başlığın altına ortalı gelecek şekilde yazılmalıdır. Sorumlu yazar (*) ile işaretlenmeli, yazarların isminin sağ üst köşesine sayı eklenmeli ve bu sayılar adresler bölümünde kullanılmalıdır. Yazarların adresinde; bağlı olduğu kurum, birim, şehir ve Ülke belirtilmelidir.

Yazarların e-posta Adresleri: makalede ismi bulunan tüm yazarların ismi ve e-posta adresleri yazılmalıdır.

Sorumlu Yazar İletişim Bilgileri: Makalenin sorumlu yazarına ait isim-soyisim, e-posta, adres, telefon, GSM ve fax numaralarını içeren bilgiler yazılmalıdır.

Makale ile İlgili Açıklayıcı Bilgi: Eğer varsa makale ile ilgili açıklayıcı bilgiler (tez, proje vb.) birinci sayfanın sonunda italik yazıyla açıklanmalıdır.

İkinci Sayfa: Makalenin ikinci sayfası Türkçe özet ve anahtar kelimeler ile İngilizce özet ve anahtar kelimeleri içermelidir. Makale yazım dili Türkçe ise öncelikli olarak Türkçe özet ve anahtar kelimeler; eğer makale yazım dili İngilizce ise öncelikli olarak İngilizce özet ve anahtar kelimeler sunulmalıdır.

Özet: Kısaca amaç, materyal, metot, bulgular ve sonuçları içermelidir. Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 170-200 kelime arasında olmalıdır ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Anahtar kelimeler "Türkiye Bilimleri Terimleri" nden seçilmelidir (<http://www.bilimterimleri.com/tr-index.html>). En fazla 5 adet olmalıdır. Türkçe anahtar kelimeler Türkçe'ye göre, İngilizce anahtar kelimeler İngilizce'ye göre alfabetik olarak

sıralanmalıdır. Her anahtar kelime arasına (,) işareti konulup, sonuncu anahtar kelimeden sonrada (.) işareti konulmalıdır.

Üçüncü Sayfa: Makale üçüncü sayfadan itibaren GİRİŞ, MATERYAL ve METOT, BULGULAR, TARTIŞMA ve SONUÇ ve KAYNAKLAR bölümleri halinde tamamlanmalıdır. Bulgular ve tartışma birlikte verilebilir. Gerekli olduğu takdirde, teşekkür de eklenebilir. Bölüm başlıkları büyük harflerle yazılmalıdır. Bölümlere ait alt başlıklar yalnız ilk harfleri büyük olacak şekilde yazılmalıdır. Tüm başlıklar koyu tonda ve 12 punto ile satırbaşı hizasında yazılmalıdır.

İstatistiksel Analiz bilgileri: makalenin MATERYAL ve METOT bölümünün sonunda “İstatistiksel Analiz” başlığı altında verilmelidir.

Birimler ve Kısaltmalar: Her bir kısaltmanın açılımı metinde ilk geçtiği yerde verilmelidir. Birimler ve ölçülerde Uluslar Arası Standart birimleri (SI-sistem) kullanılmalıdır. Cins ve tür isimleri italik olarak yazılmalıdır. Makale içerisinde kullanılan rakamsal ve istatistiki verilerde nokta kullanılmalıdır (örnek: 44.5; 0.82; % 97.7; $P<0.01$ vb.).

Tablo ve Şekiller: Şekil, grafik, fotoğraf ve resimler başlıklarda ve metin içerisinde Şekil olarak ifade edilmelidir. Şekil ve tablolar metin içerisindeki sırasına göre numaralandırılmalı ve metin içerisinde kısaltılmadan yazılmalıdır (Örn; Şekil 1, Tablo 1). Tablo ve şekiller makale içerisinde bulunması gereken bölümlere yerleştirilmeli, başlık ve açıklamaları da Türkçe ve İngilizce olarak eklenmelidir. Tablo ve şekillerde kullanılan her türlü kısaltma tablo ve şekil altında açıklanmalıdır.

Sonuç: Makaleye ait elde edilen/varılan sonuç, TARTIŞMA ve SONUÇ kısmının sonunda “sonuç olarak...” ifadesiyle başlayan tek bir paragrafla belirtilmelidir.

Olgu Sunumları İçin:

Birinci ve ikinci sayfalar orijinal bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde hazırlanmalıdır. Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 120’den daha az olmamalı ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

Üçüncü sayfadan itibaren GİRİŞ, OLGU SUNUMU (olgu sunumu başlığı altında materyal, metot ve bulgulardan bahsedilmelidir) TARTIŞMA ve SONUÇ ve KAYNAKLAR şeklinde tamamlanmalıdır.

Olgu sunumu içerisinde eğer varsa İstatistiksel analiz bilgileri, birimler ve kısaltmalar, tablo ve şekiller bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde sunulmalıdır.

Olgu sunumuna ait elde edilen/varılan sonuç, TARTIŞMA ve SONUÇ kısmının sonunda “sonuç olarak...” ifadesiyle başlayan tek bir paragrafla belirtilmelidir.

Derlemeler İçin:

Birinci ve ikinci sayfalar orijinal bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde hazırlanmalıdır. Derlemeler için hazırlanan özet derlemenin konusu hakkında bilgi ve

derlemenin amacından oluşmalıdır. Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 170-200 arasında olmalıdır ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

Derleme üçüncü sayfadan itibaren GİRİŞ ile başlamalı, yazar/lar tarafından belirlenecek ara başlıklarla devam etmeli, SONUÇ ve KAYNAKLAR ile tamamlanmalıdır.

Derleme içerisinde eğer varsa birimler ve kısaltmalar, tablo ve şekiller bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde sunulmalıdır.

Derlemeye ait sonuç, KAYNAKLAR bölümünden hemen önce SONUÇ başlığı altında belirtilmelidir.

Kaynaklar

Kullanılan kaynak sayısı olgu sunumları için 10'dan az, araştırma makaleleri için 20'den az ve derlemeler için 40'dan fazla olmamalıdır.

Makale türü ne olursa olsun (orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu, derleme) kaynaklar aşağıda belirtildiği şekilde sunulmalıdır:

Metin içerisinde:

Metin içerisinde kaynaklara 1'den başlamak üzere numara verilmelidir ve bu numaralar (1), (1,2), (1,4-7,13) şeklinde parantez içerisinde belirtilmelidir. Yazar isminin kullanılacağı yerlerde ise yazarın soyadı ve parantez içerisinde kaynağın numarası Aktaş (22), Aktaş ve ark. (13) örneklerinde olduğu gibi yazılmalıdır.

Kaynaklar Bölümünde:

Metin içerisinde numaralandırılan kaynaklar, makalenin kaynaklar bölümünde numaralarına göre sıralandırılmalıdır.

Kaynak verilen bilimsel dergilerin isimlerinin yazılmasında derginin ismi açık olarak yazılmalı, kısaltma kullanılmamalıdır.

Kaynak makale ise; Barbour AH., Rampling A., Hormaeche CE., 2001. Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infection and Immunity*, 69, 4657-4660.

Kaynak kitap ise; Lawrie RA., 2002. *Lawrie Meat Science*. 6th ed., 330-335, Woodhead Publication, Cambridge.

Kaynak kitapta bir bölüm ise; Mark E., 1989. Thyroid diseases. In "Textbook of Veterinary Internal Medicine", Ed., SJ Ettinger, 6th ed., 230-250, W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Kaynak bir tez ise; Aktaş MS., 2005. Köpeklerde antibiyotiklerin neden olduğu ishallerde probiyotiklerden Saccharomyces boulardii'nin etkisi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.

Kaynak bir kuruluşun yayını ise; FAWC, 1991. Report on the european commission proposals on the transport of animals. London, MAFF Publication.

Kaynak bir yazılım ise; SAS, 1990. SAS user's guide: Statistics, 4th ed., Sas Institute, Cary.

Web tabanlı kaynaklar kullanılmamalıdır.

MAKALENİN GÖNDERİLMESİ

Makale online sistem (<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/ataunivbd/>) veya dergi e-postaları aracılığıyla (vetdergisi@atauni.edu.tr yada atavetderg@hotmail.com) ya da yazılı doküman halinde dergi editörlüğüne ulaştırılabilir.

Orjinal makale ve Tablolar.doc uzantılı olmalıdır.

Şekiller (grafik, fotoğraf, şekiller ve resim) JPEG formatında 300 DPI çözünürlükte ayrı dosya halinde gönderilmelidir.

DERGİ BASKISI

Baskı aşamasında olan çalışmalar en kısa sürede dergimize ait WEB alanına eklenecektir.

Kabul edilen çalışmalar **ücretsiz** basılacaktır.

Yazarlara ayrı baskı gönderilmeyecektir.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

- 1.** Atatürk University Journal of Veterinary Sciences is a refereed scientific publication organ of Atatürk University Faculty of Veterinary Sciences and is published tri-annually in April, October and December. The abbreviation of the journal's title is "Atatürk University J. Vet. Sci."
- 2.** Original research papers, case reports and invited or Editor-approved reviews to be submitted should be prepared either in Turkish or in English, must not be published elsewhere or submitted concomitantly to any other journal, within the scope of Veterinary Medicine and relevant Departments, i.e. Basic Veterinary Sciences (Anatomy, Biochemistry, Physiology, Histology, Occupational/Professional Ethics and Deontology), Preclinical Veterinary Sciences (Pharmacology and Toxicology, Microbiology, Parasitology, Pathology, Virology), Clinical Veterinary Sciences (Surgery, Internal Medicine, Obstetrics and Gynecology, Reproduction and Artificial Insemination), Animal Science and Nutritional Sciences (Biostatistics, Genetics, Animal Nutrition and Nutritional Disorders, Animal Enterprises Economy, Animal Science), Animal-Originated Food Hygiene and Technology, with, exotic animal science and laboratory animals, are published in this journal.
- 3.** For scientific studies based on the animal experiments to be published within the Atatürk University Journal of Veterinary Sciences, the statements of "The approval from the Local Board of Ethics has been obtained" (Author(s) should give the name of foundation and number of approval) or "The instructions of general ethics have been complied with" are warranted within the Materials and Methods section. However, no such warranty is required for those manuscripts summarised from the studies of theses.
- 4.** Authors are responsible for complying with the copyright conditions related with the material cited (taken) from other resources or used and signing the agreement contract declaring transfer of the copyright to the journal. The full responsibility of the texts to be appeared within the journal belongs to the author(s).
- 5.** Manuscripts to be considered are sent to the two referees at least. Acceptance of the manuscripts depends on both suggestion of the referees and final decision of the Editorial Board.

MANUSCRIPT PREPARATION

- 1.** Manuscripts should be written in A4-sized paper (one-sided), double-spaced, with 3 cm space from the margins of the paper and should not exceed 16 pages for original scientific researches and reviews or 5 pages for short scientific studies such as case reports.
- 2.** Manuscript should be prepared using Microsoft Word 6.0 or upper versions, in Calibri characters with 12 point typing size.

3. Line numbers (be started from the 2nd page onwards) and page numbers (at the middle of the bottom of the page) should be given in the manuscript.

4. Details (thesis, project, etc.) related with the manuscripts should be given at the end of the title of the manuscript with the sign of superscript (*) with further explanation below the title in italic format.

5. Trademarks of substances (materials) and products of the subject of the study should not be used.

For Research Articles:

First page: The first page of the manuscript should contain title, authors' name-surname and addresses, e-mail addresses of the authors, corresponding authors' explanatory details related with the manuscripts, if any.

Title: Titles in Turkish and English should be written in small letters with only the first letter to be in capital. In case of the Turkish language of the main text, firstly titles in Turkish then in English should be given, while the opposite should be given for manuscripts written in English.

Names of authors and addresses: The first letters of name and surnames (without academic titles) of author(s) should be written in capital and aligned at the middle below the title. Corresponding author (*) should be pointed, a value should be added as a superscript at the right and these values should be used in the section of addresses. In that section, the body/authority, unit/department, city and country of the authors should be described.

E-mail addresses of the authors: All the names and e-mail addresses of authors mentioned within the manuscript should be written.

Contact details of the corresponding author: The name-surname, e-mail, address, phone, mobile and fax numbers of the corresponding author should be written.

Explanatory details of the manuscripts: If any, the explanatory details (thesis, project, etc.) should be written in *italic* letters at the end of the first page.

Second page: The second page of the manuscript should contain summary in Turkish and English with key words each. If the language of the main text is in Turkish, the summary and the key words should first be in Turkish while the opposite should be given for those manuscripts written in English.

Summary: Briefly, it should contain the aim, material, method, results and conclusions. The number of word to be used should be between 170-200 words and be written in single-space.

Key words: The number should be 5 at maximum in the alphabetic order of the language used either in Turkish or in English. Between each of the words, a comma (,) sign should be put while a full stop (.) sign should be put at the end of the last one.

Third page: From this page onwards, the manuscript should continue with the sections of INTRODUCTION, MATERIALS and METHODS, RESULTS, DISCUSSION and CONCLUSION and REFERENCES in the following order. The sections of results and discussion may be given together. A section of acknowledgement may also be added, if needed. Section titles should be written in capital letters. Sub-headings of the sections should be written with the first letters in capital only and aligned with the beginning of paragraph. All the headings should be written in black 12-point typing-size and aligned with the beginning of paragraph.

Data from Statistical analyses: This section should be given at the end of MATERIALS and METHODS section and under the title of “Statistical Analysis”.

Units and Abbreviations: The meaning of each abbreviation should be given where it appears first. For units and measurements, International Standard units (SI-system) should be used. The names of genus (breeds) and species should be written in italic style. For numerical and statistical values, full stop (.) sign should be used (e.g. 44.5; 0.82; 97.7 %; $P < 0.01$, etc.).

Tables and Figures: Figures, graphics, photos and pictures/plates within the headings and text should all be given as Figure. Figures and tables should be numbered according to their orders within the text and written without any abbreviation within the paragraph (e.g. Figure 1, Table 1). Tables and figures should be placed into the sections appropriately, and their headings and explanations should also be included in Turkish and English. All types of abbreviations used within tables and figures should be explained below them.

Conclusion: The ultimate result obtained should be described as “In conclusion,…” in a single paragraph at the end of DISCUSSION and CONCLUSION section.

For Case Reports:

The first and second pages should be prepared according to details given for the scientific research manuscripts. The number of words to be used in summary should not be less than 120 words and be written in single-spaced type.

From the third page onwards, INTRODUCTION, CASE REPORT (materials, methods and results should be mentioned under the title of case report) should be followed by DISCUSSION and CONCLUSION and REFERENCES.

If any, data from the statistical analysis, units and abbreviations, tables and figures should be presented as given for scientific research manuscripts.

For case report, the ultimate result obtained should be described as “In conclusion,...” in a single paragraph at the end of DISCUSSION and CONCLUSION section.

For Reviews:

The first and second pages of reviews should be prepared according to details given for the scientific research manuscripts. The summary should involve data on the subject and aim of the review. The number of words used in summary should be between 170-200 words and be written in single-spaced type.

From the third page onwards, reviews should start with introduction, continue with subheadings to be determined by the author(s) and be completed with CONCLUSION and REFERENCES.

If any, the units and abbreviations, tables and figures within the review should be presented as given for scientific research manuscripts.

For reviews, the ultimate result should be described as CONCLUSION section in a single paragraph just before the section for REFERENCES.

References

The number of references used for case report should not be less than 10, for research article should not be less than 20, and for review should not be more than 40.

Regardless of the type of manuscript (original research paper, case report, review), references should be given, as follows:

For Text section:

Within the text, reference numbers should be given as numbers starting from 1, and these numbers should be indicated within the brackets as (1), (1,2), and/or (1,4-7,13). Where the name of the author is to be given, the surname of the author and reference number should be written as Aktas (22), and/or Aktas et al. (13).

For References section:

The references given within the text should be given as numbers in numerical order within the reference section.

For writing the scientific journals, its international title recommended by the journal should be used. The journal title abbreviation must not be used.

For manuscripts; Barbour AH., Rampling A., Hormaeche CE., 2001. Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infection and Immunity*, 69, 4657-4660.

For books; Lawrie RA., 2002. *Lawrie Meat Science*. 6th edn., 330-335, Woodhead Publication, Cambridge.

For chapters of a book; Mark E., 1989. Thyroid diseases. In “Textbook of Veterinary Internal Medicine”, Ed., SJ Ettinger, 6th edn., 230-250, W.B. Saunders Co., Philadelphia.

For theses; Aktas MS., 2005. Efficacy of *Saccharomyces Boulardii* as a probiotic in Dogs with lincomycin induced diarrhoea. Ankara University, Graduate School Health Science, Turkey.

For publications of a Foundation; FAWC, 1991. Report on the european commission proposals on the transport of animals. London, MAFF Publication.

For softwares; SAS, 1990. SAS user’s guide: Statistics, 4th edn., SAS Institute, Cary.

Web-based references should not be used.

MANUSCRIPT SUBMISSION

Manuscript can be submitted by on-line system (<http://e-dergi.atauni.edu.tr/index.php/VBD/index>) or by journals’ e-mail addresses (vetdergisi@atauni.edu.tr or atavetderg@hotmail.com) or written document can be sent to the journal’s address.

The file names of original manuscripts and tables should involve a “.doc” extension.

Figures (graphs, photos, figures and pictures/plates) should be submitted, as a separate file, in JPEG format with 300 DPI resolutions.

JOURNAL’S PRESS

Articles in press will be added into the web page of the journal immediately.

Articles accepted for publication will be published free of charge.

No offprints will be sent to the authors.

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER BİLİMLERİ DERGİSİ

YAYIN HAKLARI DEVRİ SÖZLEŞMESİ

Makale Türü: Araştırma Derleme Olgu Sunumu Diğer

Makale Başlığı:

.....

Biz türü ve başlığı yukarıda belirtilmiş makalenin yazarları olarak; Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi yazım ve yayın şartlarını bilerek ve kabul ederek hazırlayıp yayımlanması dileğiyle Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğüne gönderdiğimiz makalenin orijinal olduğunu, kısmen veya tamamen daha önce yayımlanmadığını veya eşzamanlı olarak başka bir yayın kuruluşuna gönderilmediğini, makale yayımlandıktan sonra ortaya çıkabilecek her türlü bilimsel ve etik sorumluluğun bize ait olduğunu ve Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'nin hiçbir sorumluluk taşımayacağını, danışman ve dergi editörü tarafından gerekli görülen düzeltmelerle birlikte her türlü yayın hakkını, yazının yayımlandığı tarihten itibaren Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'ne devrettiğimizi taahhüt ederiz.

Bununla birlikte yazarların telif hakkı dışında kalan patent vb. tescil edilmiş hakları, yazarların kitap ve dersler gibi çalışmalarında makalenin tümü ya da bir bölümünü ücret ödemeksizin kullanım hakkı, ticari amaçla kullanmamak üzere makaleyi çoğaltma hakkı saklıdır.

Yazarın Adı ve Soyadı
(Makaledeki İsim Sırasına Göre)

İmza

Tarih

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8

Sorumlu Yazar

Adı ve Soyadı:

Adres:

Telefon/Fax:

E-posta:

Tarih:.....İmza:.....

Not: Lütfen formu doldurduktan sonra e-posta adreslerimizden herhangi birine gönderiniz.

DERGİ ADRESİ

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

Tel: +90 442 2360880, Fax: +90 0442 2360881, E-posta: vetdergisi@atauni.edu.tr/ atavetderg@hotmail.com

ATATÜRK UNIVERSITY JOURNAL OF VETERINARY SCIENCES

COPYRIGHT DECLARATION FORM

Type of Manuscript: () Research () Review () Case Report () Other

Title of Manuscript:.....
.....

We, as the authors of manuscript having type and title aforegiven, declare that; i) this manuscript submitted to The Editor of Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication, as prepared in complying with the instructions for authors, is original, ii), it has not been published partially or totally or submitted synchronously to other publishing body, iii) all the possible scientific and ethical responsibilities, without any further responsibility of The Journal of Ataturk University Veterinary Sciences at all, following the publication of manuscript are belong to us, iv) we transfer all the copyrights along with the corrections recommended by the advisor and Editor to The Journal of Ataturk University Veterinary Sciences following the date of publication of the manuscript.

However, other than the copyright conditions described; i) the authenticated rights (such as patent), ii) the right of use of the manuscript, totally or partially, for scientific activities such as books and lectures, with no charge and iii) dissemination of the manuscript by the authors without commercial purposes are all reserved.

**Name and Surname of the author
(in the manuscript's order)**

Signature

Date

1
2
3
4
5
6
7
8

Corresponding Author

Name and Surname:

Address:

Phone/Fax:

E-mail:

Date:.....

Signature:.....

Note: Please send the form to either of our e-mail addresses after filling in the blanks.

JOURNAL'S ADDRESS

Atatürk University Faculty of Veterinary Sciences, The Editor of Atatürk University J. Vet. Sci., 25240-Campus/Erzurum-TURKEY

Phone: +90 442 2360880, Fax: +90 0442 2360881, E-mail: vetdergisi@atauni.edu.tr or atavetderg@hotmail.com

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Sayfa
Page

Araştırma Makaleleri / Research Articles

- **Ferhat POLAT, Taylan AKSU.** Determination of Aflatoxin Levels of Feeds Used in Dairy Cow Farms and Their Effects on Blood Parameters and Milk Aflatoxin Levels in Hatay Province (*Hatay İli Süt İneği İşletmelerinde Kullanılan Yemlerin Aflatoksin Düzeylerinin Belirlenmesi ve Bu Yemlerin Kan Parametreleri ile Sütteki Aflatoksin Düzeyleri Üzerine Etkisi*). 146-155
- **Ertan Emek ONUK, Yüksel DURMAZ, Alper ÇİFTÇİ, Gökmen Zafer PEKMEZCİ, Yunus KILIÇOĞLU.** Çeşitli Balık Türlerinden İzole Edilen Patojen Bakteriler ve Antibiyotik Direnç Profilleri (*Antibiotic Resistance Profiles of Bacterial Pathogens Isolated from Various Fish Species*). 156-164
- **Berna AKMAN, İlkay YALÇINKAYA.** Sarıkamış Yöresinde Yetiştirici Bilgilerine Dayanarak Büyükbaş Hayvan Beslenme Durumunun Değerlendirilmesi (*The Evaluation of Feeding Status of Large Animals Based on Farmers Knowledge in Sarikamis Region*). 165-170
- **Kayaçan SEYRANOĞLU, Öznur ASLAN.** Kazeöz Lenfadenitise Karşı Aşılama Kuzularda E Vitamini ve Selenyum Kombinasyonunun Oksidatif Cevap Üzerine Etkileri (*Effects of Vitamin E and Selenium Combination on Oxidative Response in Lambs Vaccinated Against Caseous Lymphadenitis*). 171-178
- **M. Kuddusi ERHAN, Ş.Canan BÖLÜKBAŞI AKTAŞ, Hilal ÜRÜŞAN.** Etlik Piliç Yemlerine İlave Edilen Yarpuz'un (*Mentha Pulegium* L) Doku Yağ Asidi Kompozisyonu ve Raf Ömrüne Etkileri (*The Effects of Supplementation of Pennyroyal (Mentha Pulegium L) on Meat Fatty Acid Composition and Shelf-Life in Broilers*). 179-185
- **Mehmet Özkan TİMURKAN, Hakan AYDIN, Sema BELEN.** Erzurum Bölgesinde Sığırlarda Respiratorik Coronavirus Enfeksiyonunun RT-PCR ile Tespiti ve Moleküler Karakterizasyonu (*The Detection and Molecular Characterization of Bovine Respiratory Coronavirus Infection by RT-PCR in Erzurum*). 186-192

Olgu Sunumları / Case Reports

- **Mükremin Özkan ARSLAN, Ali Haydar KIRMIZIGÜL, Nilgün PARMAKSIZOĞLU, Ekin Emre ERKILIÇ.** Eimeria zuernii ile Doğal Enfekte Buzağlarda Kış Koksidiyozisi Olgusu (*A Case of Winter Coccidiosis in Calves Naturally Infected by Eimeria zuernii*). 193-197

Derlemeler / Reviews

- **Orçun CANNAZİK, Bülent POLAT.** İneklerde Postpartum Dönemde Endometritisin Sınıflandırılması ve Tanımlanmasında Kullanılan Muayene Yöntemleri (*Examination Methods for Characterization and Definition of Endometritis in Postpartum Period in Cows*). 198-204
- **Deniz PEKÇOK, Emrah Hicazi AKSU.** Sığırlarda Östrus Senkronizasyonu ile Birlikte Kullanılan Döl Tutma Oranını Etkileyen Faktörler (*Practices Affecting the Conception Rates Following Oestrus Synchronisation in Cattle*). 205-210
- **Mustafa HİTİT, Ercan KURAR, Aydın GÜZELOĞLU.** MikroRNA Biyogenezisi (*MicroRNA Biogenesis*). 211-218