



Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner
Fakültesi
Dergisi

**Veterinary Journal of
Mehmet Akif Ersoy University**

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi

Cilt / Volume: 02 . Sayı / Number: 02 . 2017

Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University

Altı ayda bir yayımlanır / Published six monthly

ISSN 2458-9268
E-ISSN 2148-6239

İmtiyaz Sahibi

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Adına

Prof. Dr. Adem KORKMAZ

Rektör

Editörler Kurulu / Editorial Board

Editör / Editor

Prof. Dr. Hakan ÖNER

Editör Yardımcıları / Associate Editors

Doç. Dr. Zafer ÖZYILDIZ

Yrd. Doç. Dr. Ömer Gürkan DİLEK

Yrd. Doç. Dr. Özlem ŞAHAN YAPICIER

Sekreteryası / Secretary

Yrd. Doç. Dr. Özlem ŞAHAN YAPICIER

Redaktör / Redactor

Arş. Gör. Hasbi Sait SALTİK

Mizanpaj, Sayfa Tasarımı ve Dizgi /

Layout, Page Design and Composition

Uzm. Yasemin KAYABAŞI

Teknik Sorumlu / Technical officer

Uzm. Gürkan GÖÇER

Yönetim Yeri

Adres / Address

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

Veteriner Fakültesi Dekanlığı

İstiklal Yerleşkesi 15030 BURDUR

Tel: 0248 213 2000/2010

Yayın Kurulu / Publication Board*

ADANIR Ramazan, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

AKIN Ahmet Cumhuri, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

BALKEVICIUS Mikas, NGO – Problem Based of Learning Institute

BÜYÜKOĞLU Tülay, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

CENGİZ Seyda, Atatürk Üniversitesi

ÇETİN Yunus, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

DIMITROV Rosen, Trakia University

DURO Sokol, Agricultural University of Tirana

KARAKURUM Mehmet Çağrı, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

KART Asım, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

MIGALA- WARCHOL Aldona, University of Technology

OĞUZ Mustafa Numan, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

OTROCKA - DOMAGAŁA Iwona, University of Warmia and Mazury

ÖZGEL Özcan, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

ÖZMEN Özlem, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

ÖZSOY Şule Yurdağül, Mustafa Kemal Üniversitesi

SARI Mehmet, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

STAMATOVA-YOVCHEVA Kamelia, Trakia University

TAŞCI Fulya, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

TUTUN Hidayet, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

URAL Kerem, Adnan Menderes Üniversitesi

YİĞİTARSLAN Kürşat, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

Bu dergi Uluslararası Google Scholar, ResearchBib, International Institute of Organized Researches, Science Library Index ve Ulakbim DergiPark veri tabanları kapsamındadır.

This journal is covered by Google Scholar, ResearchBib, International Institute of Organized Researches, Science Library and Ulakbim DergiPark database systems.

Tüm hakları saklıdır. Bu Derginin tamamı ya da Dergide yer alan bilimsel çalışmaların bir kısmı ya da tamamı Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığının yazılı izni olmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayımlanamaz.

E-posta: veterinerdergi@mehmetakif.edu.tr

Web Adresi: <https://edergi.mehmetakif.edu.tr/index.php/vfd>

Online Makale Gönderme (Online Submission)

<http://dergipark.gov.tr/journal/779/dash-board>

MAE Vet Fak Derg, 2017, 2 (2) Sayısının Hakem Listesi*

(The referee names of Vet J MAEU , 2017, 2 (2))

ASLAN Öznur, *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

AYDOĞAN Ahmet, *Çukurova Üniversitesi Ceyhan Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

BÜYÜKOĞLU Tülay, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

CENGİZ Seyda, *Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

GEYİKOĞLU Fatime, *Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Genel Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Öğretim Üyesi*

KAR Sırrı, *Namık Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi*

KEYVAN Erhan, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

KORKMAZ Musa, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

MAMAK Nuri, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

ÖZDEMİR Nurullah, *Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

ÖZSOY Şule Yurdagül, *Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

ÖZYILDIZ Zafer, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

ŞEKER Esra, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

ŞİŞMAN Turgay, *Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Genel Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

TUTUN Hidayet, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

URAL Kerem, *Anan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

YÜCEL MERCAN Ufuk, *Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

*2017 yılı 2.Cilt, 2. Sayısında yayım kurulu ve görev alan hakemler alfabetik sıraya göre dizilmiştir.

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Araştırma Makalesi / Research Articles

- Protective Mechanism of *Morus nigra* on Carbon Tetrachloride Induced Brain Damage in Rats / Sıçanlarda Karbon Teraklorür İle Uyarılmış Beyin Hasarında *Morus nigra*'nın Koruyucu Mekanizması**
YILDIZ DENİZ.....97
- Şanlıurfa İlinde Üretilen Sadeyağların Reichert Meissl Sayılarının Tespiti / Determination of Reichert Meissl Numbers of Sadeyags (Clarified Butter) Produced in Şanlıurfa**
KILIÇ ALTUN S, SAVRUNLU M, PAKSOY N.....109
- Radyoiodin (¹³¹I) Uygulanan Ratlarda Karaciğerdeki Histopatolojik Bulgular ve Hepatik Satellite Hücrelerde Artış / Hystopathological Findings and Hepatic Satellite Cells Increase in The Liver of the Rats Applied Radioidin (¹³¹I)**
YILMAZ R, YUMUŞAK N, ATILGAN Hİ, KOCA G, KORKMAZ M.....117
- Kedi ve Köpeklerden Dermatofitlerin İzolasyonu / Isolation of Dermatophytes From Cats and Dogs**
ŞAHAN YAPICIER Ö, ŞABABOĞLU E, ÖZTÜRK D, PEHLİVANOĞLU F, KAYA M, TÜRÜTOĞLU H..... 125
- Buzağularda Respiratuar Sinsityal Virus (Brsv) Enfeksiyonlarında Patolojik ve İmmunohistokimyasal İncelemeler / Pathological and Immunohistochemical Studies in Respiratory Cyncitial Virus (Brsv) Infections in Calve**
ÖZYILDIZ Z, ÖZMEN Ö, DOLU H.....131
- Presence of *Escherichia coli* In Urfa Cheese and *In Vitro* Screening of Donkey Milk And Essential Oil of *Micromeria Congesta* For Antibacterial Activity Using Disc Diffusion Method**
DİNÇ H, KILIÇ ALTUN S.....

Olgu Sunumu / Case Report

- Papağanlarda *Dermanyssus gallinae* Kaynaklı Kanibalizm / Cannibalism in Parrot Caused by *Dermanyssus gallinae***
KOÇ N, YÜCESAN B, NALBANTOĞLU N.....147

Derleme / Review

- Sığırlarda Süt Verimini Arttırmada Probiyotiklerin Kullanımı / Probiotic Usage For Increasing Milk Yield in Cattle**
ALIÇ URAL D, TOPLU S.....153
- Röntgenden Klinik Yaklaşım Köpeklerde Radyografik Kardiyomegali / Radiographic Cardiomegaly in Dogs: From Radiography to Clinical Approach**
ALİHOSEİN H, ÇOLAKOĞLU EÇ, HAYDARDEDEOĞLU AE.....163

Yazım Kuralları

PROTECTIVE MECHANISM OF *Morus nigra* ON CARBON TETRACHLORIDE INDUCED BRAIN DAMAGE IN RATS

Gulsah YILDIZ DENİZ 

Vocational School of Health Services, Ataturk University, 25240 Erzurum, TURKEY

Geliş Tarihi: 04.10.2017 Kabul Tarihi: 08.12.2017

Makale Kodu: 341661

ABSTRACT

Morus nigra (MN) is a common fruit used all over the world. Hepatic encephalopathy (HE) is a dangerous neuropsychiatric complication of both acute and chronic liver failure, and is the most common cause of death in patients with end-stage liver disease. To our knowledge, this is the first study investigated the efficiencies of MN on the treatment of HE on cirrhotic rat liver model induced by carbon tetrachloride (CCl₄). In this study it has been used superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities assays, 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) immunohistochemistry and Haematoxylin-Eosin (H&E) staining in the brain, as well as aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) levels in liver tissue. H&E staining was used to examine hippocampal morphology alterations. 8-OHdG staining was employed to measure the expression of apoptotic-related proteins. With this aim, 42 Sprague-Dawley male rats were divided into six groups: control, HE control (1 mL/kg CCl₄/twice a week, intraperitoneal), 125 mg/kg MN, 250 mg/kg MN, CCl₄+125 mg/kg MN and CCl₄+250 mg/kg MN groups. CCl₄ caused a significant increase in serum enzyme levels in rat livers, compared with control. On the other hand, MN treatment restored the biochemical parameters significantly in a dose-dependent manner. 8-OHdG activity was significantly increased in CCl₄ group. However, these increases were significantly decreased by MN treatment. While intraperitoneal administration of MN significantly reduced oxidative stress, prevented apoptosis and caused an increase in the antioxidant defence mechanism activity in brain compared to the control group. Brains of rats treated with MN showed less DNA damage than treated groups with CCl₄. As a result of this study showed that MN has a neuroprotective effect because of its anti-inflammatory, anti-apoptotic, antioxidant properties.

Keywords: *Morus nigra*, hepatic encephalopathy, carbon tetrachloride, neurotoxicity, antioxidant enzymes



İletişim / Correspondence

Vocational School of Health Services, Ataturk University, 25240 Erzurum, TURKEY



+ 90 0 442 231 58 62



gulsah.deniz@ataui.edu.tr

SİÇANLARDA KARBON TERAKLORÜR İLE UYARILMIŞ BEYİN HASARINDA *Morus nigra*' NİN KORUYUCU MEKANİZMASI

ÖZET

Morus nigra (MN) tüm dünyada yaygın olarak kullanılan bir meyvedir. Hepatik ensefalopati (HE) hem akut hem de kronik karaciğer yetmezliğinde tehlikeli bir nöropsikiyatrik komplikasyondur ve son dönem karaciğer hastalığı olan hastalarda en sık görülen ölüm nedenidir. Bilgimize göre bu, karbon tetraklorür (CCl_4) ile indüklenen sirozlu sıçan karaciğeri modeli üzerinde HE tedavisinde MN'nin etkilerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Bu çalışmada, karaciğer dokusunda aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) seviyelerinin yanısıra beyin dokusunda 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) imünohistokimya ve Hematoksilin-eozin (H&E) boyaması, superoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktivite testleri kullanıldı. H&E boyaması, hipokampal morfoloji değişikliklerini incelemek için kullanılmıştır. 8-OHdG boyaması apoptotik ilişkili proteinlerin ekspresyonunu ölçmek için kullanıldı. Bu amaçla 42 Sprague-Dawley erkek sıçan 6 gruba ayrıldı: kontrol, HE kontrol (1 mL/kg CCl_4 /haftada 2, intraperitoneal), 125 mg/kg MN, 250 mg/kg MN, CCl_4 +125 mg/kg MN ve CCl_4 +250 mg/kg MN grupları. CCl_4 sıçan karaciğerlerinde kontrol ile karşılaştırıldığında serum enzim seviyelerinde belirgin bir artışa sebep oldu. Diğer taraftan MN uygulaması biyokimyasal parametreleri doza bağımlı olarak önemli ölçüde düzeltti. 8-OHdG aktivitesi CCl_4 grubunda belirgin olarak arttı. Ancak MN tedavisi ile bu artışlar önemli ölçüde azaldı. MN'nin intraperitoneal olarak uygulanması, kontrol grubuna kıyasla oksidatif stresi önemli ölçüde azaltırken, apoptozisi önledi ve beyindeki antioksidan savunma mekanizması aktivitesinde artışa neden oldu. MN ile tedavi edilen sıçan beyinleri CCl_4 ile tedavi edilen sıçanlara göre daha az DNA hasarı gösterdi. Bu çalışmanın sonucu MN'nin anti-inflamatuar, antiapoptotik, antioksidan özelliklerinden dolayı nöroprotektif etkiye sahip olduğunu gösterdi.

Anahtar kelimeler: *Morus nigra*, hepatik ensefalopati, karbon tetraklorür, nörotoksite, antioksidan enzimler

INTRODUCTION

Medically, metabolic brain disease is defined as acquired or innate metabolic disease that affects the way the brain functions. Hepatic encephalopathy (HE) is associated with hepatic insufficiency and is characterized by a plethora of central nervous system abnormalities and different experimental models have been used to study the HE and liver failure, being the most common the one that uses carbon tetrachloride (CCl₄, a potent hepatotoxic drug that causes cell damage leading to the death of the liver cells and then tissue fibrosis (1). HE occurs due to a combination of distinct pathophysiological mechanisms such as inflammation, oxidative stress, impaired blood-brain barrier (BBB) permeability, neurotoxins, impaired energy metabolism of the brain (2, 3, 4). Animal models can be used to distinguish components of the processes associated with damage to the brain in response to CCl₄ exposure (5, 6, 7). The molecular mechanism underlying the toxic effects of CCl₄ involves lipid peroxidation (LPO), mediated by the free radicals that are generated during its metabolism (5). Lavrentiadou and colleagues have mentioned that CCl₄ intoxication induces oxidative stress-mediated elevation of t-PA and PAI-1 activities in rat brain. Elevated t-PA proteolytic activity may result as a response to increased tissue remodeling requirements in the injured area. The common Greek herbs, oregano and rosemary, when administered in a long-term mode can moderate these effects, thus suggesting their potential to protect the CNS from oxidative damage (8).

Moraceae is a family of flowering plants that comprises about 40 genera and over 1,000 species. Mulberry (*Morus* sp.) has been domesticated over thousands of years and has been adapted to a wide area of

tropical, subtropical and temperate zones of the World. *Morus nigra* (MN) has been used in folk medicine as an analgesic, diuretic, antitussive, sedative, anxiolytic and hypotensive, in addition to its uses in the treatment of a variety of ailments, including inflammatory disorders (9). These actions were reported by the presence of flavonoids, which have powerful antioxidants that are associated with their medicinal properties, including antidiabetic activity (10). Souza and colleagues have also mentioned that Mn extract shows strong antibacterial and antioxidant activities (11). Antioxidants act by removing and scavenging reactive oxygen species (ROS), and its precursors, and binding to metal ions necessary for the catalysis of ROS generation (12). Many reports attest to the fact that increased consumption of medical and aromatic plants is associated with protection against various disorders such as cancer, cardiovascular, hepatic and neurological diseases (13, 14, 15). Moreover, recent reports postulate that pro-inflammatory and oxidative stress pathways may be crucial mechanisms involved in the pathogenesis of this disease (16).

In this context, the present work evaluated the neuroprotective effect of MN extract in CCl₄ induced HE in rats.

MATERIAL AND METHODS

Plant Material and Extract Preparation

MN was collected from Gümüşhane and Erzurum provinces in Turkey during the summer of 2013. The plant was identified and authenticated by experts from Botanical Department (Atatürk University, Erzurum, TURKEY). Identified samples were air-dried. 100 g MN was weighted and splitted with blender device for each treatment. Then, samples were divided into two parts. In the first part, 100 mL-purified water was added to the splitted sample. It was extracted at the

room temperature for a night. Furthermore, it was filtered and the operation was repeated. After alcohol was added to the second part of splitted black mulberry cells, extracted, and it was filtered and removed by an evaporator dissolver. After the extracts were combined, they were filtered into filter paper, and then the filtrates were taken to ballons, and frozen in deepfreeze. The frozen extracts were lyophilized under the pressure of 50 mm-Hg until it dried in lyophilizer. Extracts were incubated at 4 °C until use.

Animals and Experimental Design

Forty two adult male Spraque-Dawley rats (weighing 290–320 g) obtained from Medical Experimental Application and Research Center, Atatürk University, were used. Animals were housed inside polycarbonate cages in an air-conditioned room (22°C± 2 °C) with 12-h light–dark cycle. Standard rat feed and water were provided at libitum. All procedures were performed in conformity with the Institutional Ethical Committee for Animal Care and Use at Atatürk University (protocol number: 36643897-188/13) and the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.

In this experiment, the rats were randomly divided into six groups, each of whom has seven rats. Group 1 (C): Control rats; rats were intraperitoneally injected with physiological saline solution, Group 2 (°C): Rats were intraperitoneally injected with 30 % °C mixed with soybean oil (1 mL/kg body weight), Group 3 (low dose MN): Rats treated with MN 125 mg/kg bw, Group 4 (high dose MN): Rats treated with MN 250 mg/kg bw, Group 5 (°C+low dose MN): Rats with hepatic encephalopathy treated with MN-125 mg/kg bw, Group 6 (CCl4+High dose MN): Rats with HE treated with MN-250 mg/kg bw. The extracts of MN was administered intraperitoneally daily for eight

weeks.

Histopathological examinations and assessments

After anesthetization and getting blood samples from the tail of the rats and their brain was removed for macroscopic, histopathological, and biochemical analyses. Brain sections were fixed in 10% formalin and then embedded in paraffin to form blocks. The samples were then serially-sectioned (5-µm thick) using a Leica RM2135 microtome (Leica, Berlin, Germany), mounted on glass slides and then stained using H&E solution. The pathological changes were assessed and photographed with a light microscope (Nicon Eclipse E600, Olympus) at 10 and 20 magnifications and photographed.

Immunohistochemical examination

Immunohistochemical staining for 8-OHdG proteins were performed by an automated method on the VENTANA BenchMark GX System (Ventana Medical Systems) with an ultraView Universal DAB Detection Kit on 4-µ sections from a representative block in each rat. After deparaffinization to water, the antigenic determinant sites for 8-OHdG, were unmasked in citrate buffer with steam for 60 min. The primary antibody 8-OHdG (Santa Cruz sc-393871) was used at a dilution of 1:300 for 32 min at 37°C. The slides were then incubated with the diluted antibody, followed by application of Ultraview Universal DAB detection kit (Ventana Medical Systems). DAB was used as a chromogen and hematoxylin as a counterstain. The specificity of staining was confirmed by the inclusion of negative control slides processed in the absence of primary antibody on tissue from the same animal.

Biochemical analysis

Estimation of serum biochemical

parameters.

Blood samples from animals were collected in gel-activated tubes for the assessment of specific liver markers. The gel-activated tubes were allowed to clot, then centrifuged at $4000 \times g$ for 10 min at 4°C . The serum samples were collected for measuring liver markers, ALT and AST. (commercial kits on a Beckman Coulter AU5811 device, Japan).

CAT assay

CAT activity was assayed at 25°C using a method based on the decomposition of H_2O_2 (16). Diluted homogenate (1:40; 5 μL) was added to 720 μL of 30 mM H_2O_2 , in 10 mM potassium phosphate solution; the reaction was monitored at 240 nm. Under these conditions, the decomposition of H_2O_2 by the CAT contained in the samples exhibits first-order reaction kinetics according to the equation $k = 2.3/t \log(\text{A}_0/\text{A})$, where k is the first-order reaction rate constant, t is the time period over which the decrease in H_2O_2 as a result of CAT activity was measured (15s), and A_0 and A are the optical densities at 0 and 15 s, respectively. The results were expressed as k/mg protein.

SOD assay

SOD activity was assayed using a previously reported method (7). A competitive inhibition assay was performed using the xanthine-xanthine oxidase system to reduce NBT. In a final volume of 166 μL , the reaction mixture contained the following: 0.122 mM EDTA, 30.6 μM NBT, 0.122 mM xanthine, 0.006% bovine serum albumin and 49 mM sodium carbonate. The liver homogenate (1:50 dilution; 33 μL) was added to the reaction mixture, followed by 30 μL of a xanthine oxidase solution to a final concentration of 2.5 U/L. This reaction mixture was then incubated at room temperature for 30 min. The reaction

was stopped with 66 μL of 0.8 mM cupric chloride, and the optical density was read at 560 nm. Complete NBT reduction (100%) was obtained in a tube in which the sample was replaced by distilled water. The amount of protein that inhibited NBT reduction by 50% was defined as one unit of SOD activity. The results were expressed as U/mg protein.

Statistical Analysis

Data recording and analysis was performed on "SPSS 20.0 for Windows" (SPSS Inc., IL, USA) software. Descriptive data were expressed as mean \pm standard deviation. Compatibility with normal distribution of SOD and CAT levels and serum AST, and ALT results was assessed using the Kolmogorov-Smirnov test. Since all results were normally distributed, comparisons of them among the groups was performed using parametric one-way ANOVA, while degree of significance of differences between groups was determined using the post hoc LSD test. Correlations between results were assessed using Pearson correlation analysis. $P < 0.05$ was regarded as significant.

RESULT

Effect of MN extracts on serum biochemical markers after CCl_4 damage

The administration of CCl_4 significantly increased serum levels of AST and ALT (Table 1). MN (125, 250 mg/kg) caused significant ($P < 0.05$, $P < 0.01$) dose-dependent reductions in CCl_4 -elevated levels of ALT and ALT. In addition, treatment of animals with MN alone did not show any significant change in liver enzymes compared with the control group (Table 1).

Table 1. Effects of CCl₄ and MN on the activity of rat serum ALT and AST.

Group	ALT(U/L)	ALT(U/L)
Control	54.76±7.86	192.19±9.78
LD-MN	50.85±7.58	183.21±15.03
HD-MN	48.72±8.55	171.32±13.09
CCl ₄	193.67±16.04*	320.78±10.01*
CCl ₄ +LD-MN	97.21±23.08	228.51±10.98
CCl ₄ +HD-MN	78.10±32.12	203.12±14.45

Data are expressed as mean ± standard deviation *P<0.05, according to ANOVA followed by the Tukey post hoc test.

Effects of MN extracts on antioxidant enzymes

CCl₄-induced damage in the brain decreased the activity of antioxidant enzymes (p < 0.0001) (Table 2). High dose MN (HD-MN) extract provided the strongest protection in the presence of SOD and CAT; however, low dose MN (LD-MN) extract also showed protective effects for SOD and CAT (Table 2).

Table 2. Effects of Mn extracts on antioxidant enzyme activity in the brain of rats with CCl₄-induced damage.

Group	SOD	CAT
Control	58.17±1.25	0.011±0.002
LD-Mn	62.71±1.02	0.013±0.001
HD-Mn	63.82±1.23	0.012±0.003
CCl ₄	32.01±1.75*	0.003±0.002*
CCl ₄ +LD-Mn	45.93±1.53	0.008±0.005
CCl ₄ +HD-Mn	49.71±1.68	0.009±0.004

CCl₄ effect was compared against all groups. Its effect was significantly different in all groups but with different statistical significances in each antioxidant activity measured: *p < 0.0001 vs all groups (in SOD); *p < 0.0001 vs all groups. Each quantification was performed twice in triplicate on samples from three rats, and the values represent the mean ± SD

Histopathological results

Sections from the brain of control group exhibited normal neuronal structure. Neurons retained their shape and normal cellularity with obvious nuclei (Figure 1A). Sections from the CCl₄-treated rats showed marked neuronal degeneration; neurons decreased in number and had indistinct boundaries. The sections also exhibited irregular damaged cells and cytoplasmic shrinkage. There was evidence of pyknotic nuclei and chromatin

condensation. Necrosis and perineuronal vacuolation were observed (Figure 1B). The Brain tissue of rats coadministered MN and CCl₄ showed few pyknotic nuclei (Figure 1C). Higher doses of Mn (250 mg/kg) protected neurons against the degenerative alterations caused by rotenone (Figure 1D).

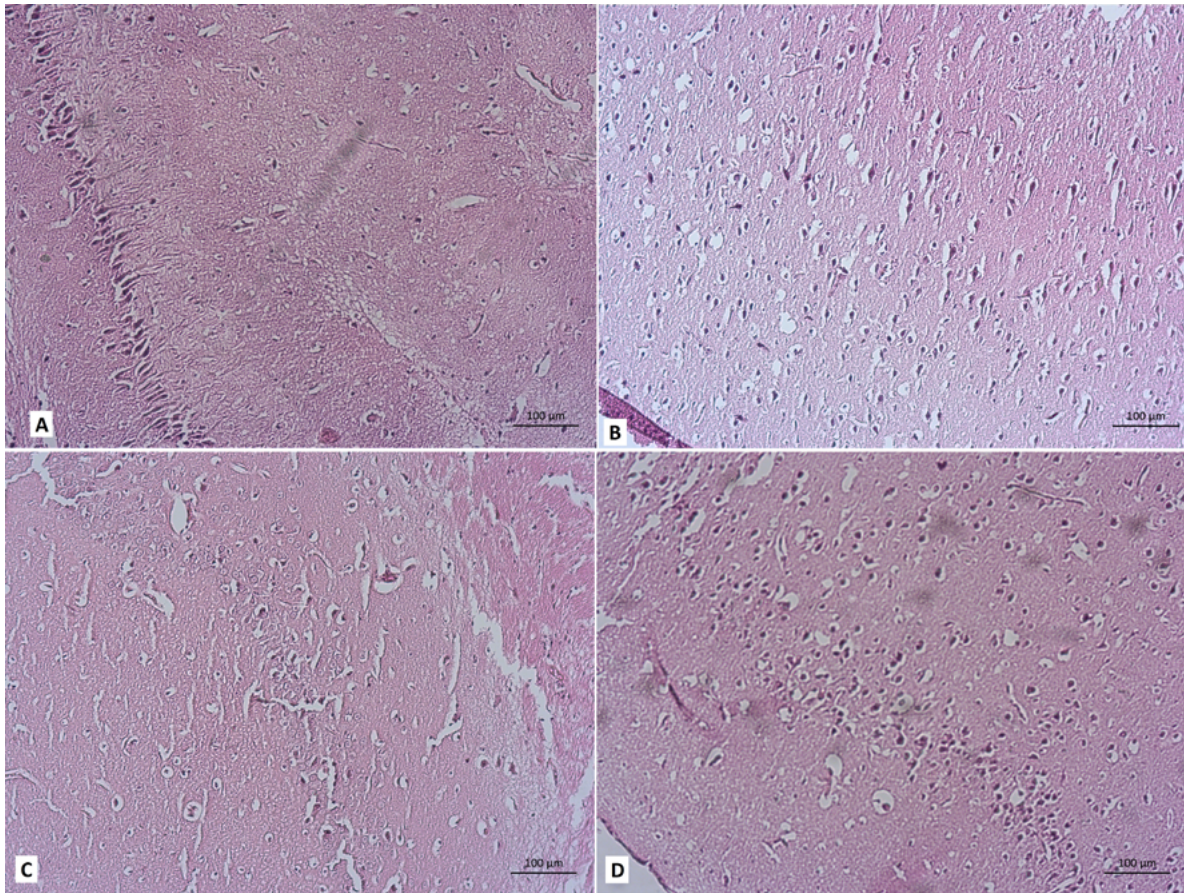


Figure 1. Representative light microphotographs of H&E stained sections from rats brain treated with physiological saline solution, CCl_4 , or $\text{CCl}_4 + \text{MN}$. (A) Control group: neurons with surrounding supporting cells with normal nuclei that showed dispersed chromatin and prominent nucleoli. The cytoplasm of these cells was basophilic. (B) CCl_4 : extensive neuronal damage, degeneration, loss of neurons and surrounding cells. Neurons appear smaller and shrunken with slight vacuolation of neuropil. Pyknotic darkly stained nuclei, apoptotic cells and cytoplasmic vacuolations. (C) $\text{CCl}_4 + \text{MN}-125$: nearly normal morphological appearance of with fewer apoptotic cells and cytoplasmic vacuolation (D): $\text{CCl}_4 + \text{MN}-250$: Mild pyknotic darkly stained nuclei, apoptotic cells, and cytoplasmic vacuolations (magnification at $40\times$).

Immunohistochemistry

Sections from the brain of Normal saline -treated rats did not show immunopositive cells (Figure 2A). However, the CCl_4 -only group displayed extensive immunopositive cells of 8-OHdG (Figure 2B). On the other hand, 8-OHdG positive cells were reduced after cotreatment with Mn and CCl_4 compared with the CCl_4 -only treated group (Figure 2C, 2D).

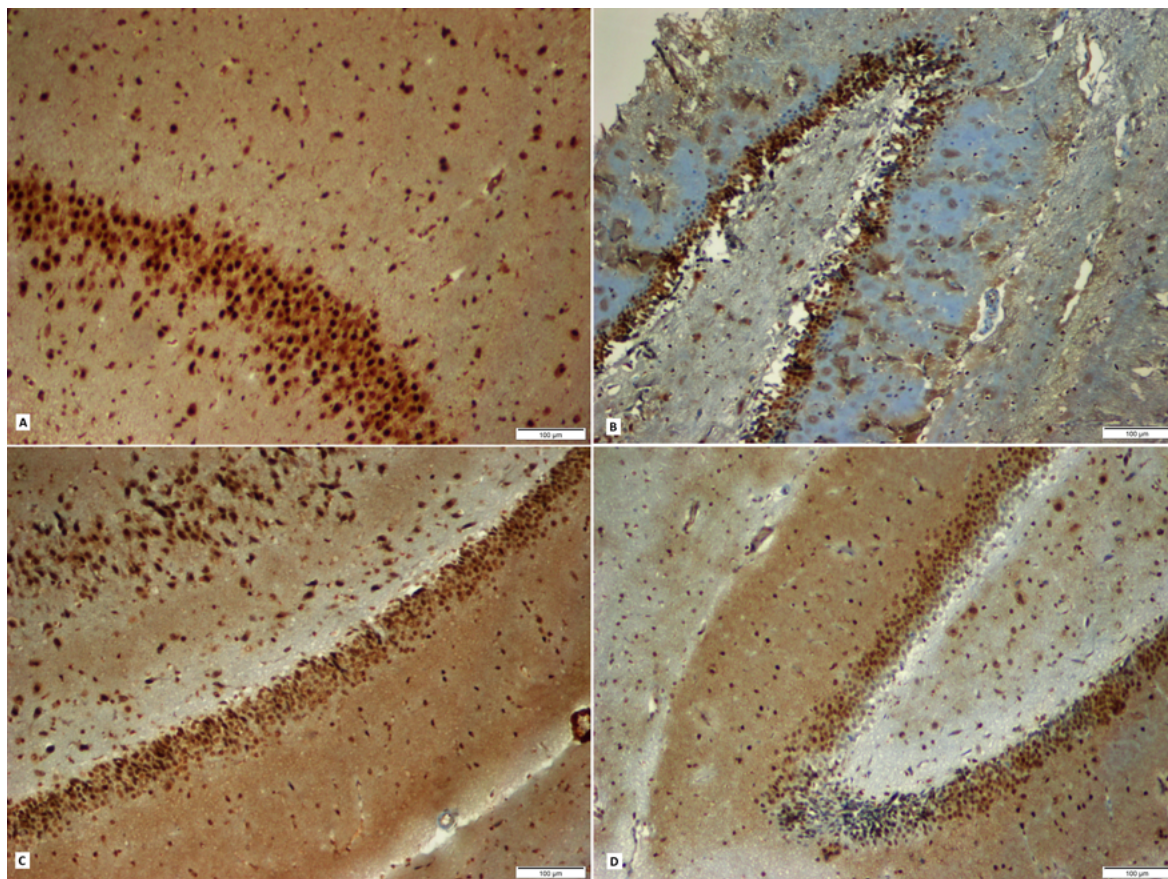


Figure 2. IHC staining showing the protective effect of MN against CCl_4 -induced neurodegenerative disease. High dose Mn treatment significantly reduced 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) expression. (A) control group: no immunopositive reaction. (Normal saline); (B) CCl_4 treated group: Large number of immunopositive cells compared to control. (C) Low dose MN + CCl_4 : gradual increase of immunostaining dependent on the dose compared to CCl_4 treated group. and (D) High dose MN: Less number of immunopositive cells compared with the CCl_4 treated group (magnification at 40 \times).

DISCUSSION

Administration of CCl_4 to rats induces release of hepatic enzymes, hepatocyte necrosis and production of LPO products, such as malondialdehyde (MDA) (18,19). Indeed, in our experiments, administration of CCl_4 increased blood serum ALT and AST activities, in agreement with previous results (7). The recorded rise in liver injury biomarkers in CCl_4 -treated rats indicates the substantial hepatic damage produced by CCl_4 .

In the present study, CCl_4 induced a marked oxidative stress in the brain. The brain tissue is highly vulnerable to oxidative stress (20). Oxidative damage of neuronal

cells has been causatively implicated in multiple neurodegenerative diseases (21).

Over the years CCl_4 has been used as an excellent model for studying experimentally induced neurotoxicity in murine models. CCl_4 an organic industrial solvent used in industry is a vigorous carcinogenic agent that may create lung, liver, kidney and nervous system dysfunction (22, 23). CCl_4 has been demonstrated to play an important role in various neurodegenerative diseases. Our data demonstrated that oxidative stress mediates cytotoxicity induced by the restraint stress in rat's brain. The brain is one of the fetal structures that extremely prone to oxidative stress. MN has been indicated to reverse

brain damage, hyperglycemia and oxidative stress. We also observed that a significant reduction in antioxidant enzyme activities in the chronic stress in rats happened. The neurotoxicity is due to a reaction with the superoxide anion, which results in the formation of peroxy nitrite capable to nitrate and oxidize proteins, lipids, and nucleic acids (24). Results from the present experiments indicate that MN increases antioxidant enzyme activity in different brain regions. High dose MN appeared to be more effective compared to low dose, thus indicating a potential of these diets to provide protection against liver damage. However, none of them could restore enzymatic activities to those of the control (untreated) animals.

A series of experimental studies have demonstrated that MN could reduce the production of ROS and ROS-induced apoptosis (10, 14). Chemo-preventive agents, such as phenolic antioxidants, dithiol ethiones and isothiocyanates, have been shown to selectively induce the activation of antioxidant enzymes through the Nrf2 pathway (25, 26). CCl₄ induced apoptosis that was confirmed by increased 8-OHdG expression in the brain tissue. The results revealed that oxidative stress-induced brain tissues of CCl₄-treated rats evidenced a remarkable elevation in 8-OHdG (marker of DNA oxidation). While CCl₄ increased the number of apoptotic cells, this increase was prevented in CCl₄+125 mg/kg MN and 250 mg/kg MN groups. The mechanism of neurotoxicity is thought to be related to the increased oxidative stress by the toxin. In the present study, we found that MN has marked antioxidant action in the experimental model of brain injury by decreasing the apoptosis. It has been reported that 8-OHdG, which is the most commonly analyzed biomarker of oxidative damage to DNA, showed

higher levels in the brains of AD patients than in subjects with normal aging (27). Results from our study also indicate that 8-OHdG positive cells were reduced after co-treatment with MN and CCl₄ compared with the CCl₄-only treated group. However, further experimental studies are required in order to determine the minimum effective concentration. Nevertheless, the results of the present study indicate a possible pro-oxidant action of MN at higher concentrations. It has been suggested that the learning impairment manifested by cirrhotics with hepatic encephalopathy is restored post-transplant (28).

The lipid solubility of CCl₄ enables it to cross cell membranes, and when it is systemically administered, it is distributed and deposited mainly in the liver and brain. The time course of the elimination of CCl₄ appears to be governed by the blood perfusion rate and the lipid content of the tissue (29). We showed that CCl₄ significantly decreased the activity of the antioxidant enzymes CAT and SOD in the brain, likely due to protein inactivation by free radicals and these findings are in line with those reported previously (30,31). The antioxidant capacity of flavonoids is well known, and they can act as antioxidants in chemical systems due to their extensive conjugated π -electron systems that facilitate the donation of electrons from the hydroxyl moieties to the oxidizing radical (32). Some studies indicated that black mulberry leaf is a rich source of phenolic compounds which provides a potential antioxidant activity (33,34).

The present study demonstrated that CCl₄ treatment elicited toxicological consequences in our animal models. On the other hand, the potential properties of MN extract in restoring these toxicological

consequences were properly investigated. In conclusion, the present study suggests that CCl₄ intoxication induces oxidative stress in rat brain. MN extract when administered in a long-term mode can moderate these effects, thus suggesting their potential to protect the brain from oxidative damage.

REFERENCES

1. Butterworth RF. Hepatic encephalopathy: a neuropsychiatric disorder involving multiple neurotransmitter systems. *Curr Opin Neurol*. 2000;13:721–727.
2. Jalan R, Damink SW, Hayes PC, Deutz NE, Lee A. Pathogenesis of intracranial hypertension in acute liver failure: inflammation, ammonia and cerebral blood flow. *J Hepatol*. 2004;41:613–20. doi:10.1016/j.jhep.2004.06.011.
3. Rao KV and Norenberg MD. Brain energy metabolism and mitochondrial dysfunction in acute and chronic hepatic encephalopathy. *Neurochem Int*. 2012;60:697–706. doi:10.1016/j.neuint.2011.09.007.
4. Bosoi CR and Rose CF. Oxidative stress: a systemic factor implicated in the pathogenesis of hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis*. 2013;28:175–8. doi: 10.1007/s11011-012-9351-5.
5. Basu S. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. *Toxicology*. 2003;189:113–127.
6. Dani C, Pasquali MAB, Oliveira MR, Umezu FM, Salvador M, Henriques JAP, Moreira JCF. Protective effects of purple grape juice on carbon tetrachloride-induced oxidative stress in brains of adult Wistar rats. *J. Med. Food* 2008;11:55–61. doi: 10.1089/jmf.2007.505.
7. Botsoglou NA, Taitzoglou IA, Botsoglou E, Lavrentiadou S, Kokoli AN, Roubies N. Effect of long-term dietary administration of oregano on the alleviation of carbon tetrachloride -induced oxidative stress in rats. *J. Agric. Food Chem*. 2008;56:6287–6293. doi: 10.1021/jf8003652.
8. Lavrentiadou SN, Tsantarliotou MP, Zervos IA, Nikolaidis E, Georgiadis MP, Taitzoglou IA. CCl₄ induces tissue-type plasminogen activator in rat brain; protective effects of oregano, rosemary or vitamin E” *Food and Chemical Toxicology*. 2013;61:196–202.
9. Nomura T and Hano Y. Isoprenoid-substituted phenolic compounds of moraceous plants. *Natural Product Reports*,1994;11:205-218.
10. Almeida AL, Guimarães AP, Oliveira et al., Evaluation of hypoglycemic potential and pre-clinical toxicology of *Morus nigra* l. (Moraceae). *Latin American Journal of Pharmacy*. 2011;30: 96–100.
11. Souza GR, Oliveira RG, Diniz TC, Branco A, Lima SRG et al., Braz. Assessment of the antibacterial, cytotoxic and antioxidant activities of *Morus nigra* L. (Moraceae). *Brazilian Journal of Biology*. 2017;1678-4375.
12. Mecocci P, Polidori MC. Antioxidant clinical trials in mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease. *Biophys. Acta*. 2012;1822:631–638.
13. Almeida JRG, Guimarães AL, Oliveira AP et al., “Evaluation of hypoglycemic potential and pre-clinical toxicology of *Morus nigra* l. (Moraceae),” *Latin American Journal of Pharmacy*, 2011;30:96–100.
14. El-Mawla AMA, Mohamed KM, Mostafa AM. Induction of biologically active flavonoids in cell cultures of *Morus nigra* and testing their hypoglycemic efficacy. *Scientia Pharmaceutica*. 2011;79(4):951–961. doi: 10.3797/scipharm.1101-15.
15. Dalmagro AP, Camargo A, Zeni ALB.

- Morus nigra and its major phenolic, syringic acid, have antidepressant-like and neuroprotective effects in mice. *Metab Brain Dis.* 2017;18: 71-89. doi: 10.1007/s11011-017-0089-y.
16. Bémeur C, Butterworth RF. Liver-brain proinflammatory signalling in acute liver failure: role in the pathogenesis of hepatic encephalopathy and brain edema. *Metab Brain* 2013;28:145–150. doi: 10.1007/s11011-012-9361-3.
 17. Acharya C, Wade JB, Fagan A, White M, Gavis E, Ganapathy D, Gilles H, Heuman DM, Bajaj JS. Overt Hepatic Encephalopathy impairs learning on the Encephalapp Stroop which is Reversible after Liver Transplant. *Liver Transpl.* 2017;10:12-24. doi: 10.1002/lt.24864.
 18. Lesiuk S, Czechowska G, Zimmer M, Słomka M, Madro A, Celinsk K and Wielosz M. Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication. *J. Hepatobiliary. Pancreat.* 2003;10:309–315. doi: 10.1007/s00534-002-0824-5.
 19. Recknagel R, Glende EA, Dolak JA, Waller RL. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacol. Ther.* 1989;43:139–154.
 20. Urrutia E, Chaverri J, Rodríguez N, Gertrudis B, Cruz ME, Morales A, González DJ, Martínez CM, Carranza R, Aguirre JJ. Hepatoprotective effect of acetic and methanolic extracts of *Heterotheca inuloides* against CCl₄ (4)-induced toxicity in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2011;63:363–370. doi: 10.1016/j.etp.2010.02.012.
 21. Halliwell, B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J. Neurochem.* 2006;97:1634–1658.
 22. Bagchi M, Ghosh S, Bagchi D, Hassoun E, Stohs SJ. Protective effects of lazaroid U74389F (16-desmethyl tirilazad) on endrin-induced lipid peroxidation and DNA damage in brain and liver and regional distribution of catalase activity in rat brain, *Free Radic Biol Me.* 1995;6:867–872.
 23. Khan RA. Protective effect of *Launaea procumbens* (L.) on lungs against CCl₄-induced pulmonary damages in rat. *BMC Complement Altern Med* 2012; 12:133. doi: 10.1186/1472-6882-12-133.
 24. Ahmad B, Khan MR, Shah NA. Amelioration of carbon tetrachloride-induced pulmonary toxicity with *Oxalis corniculata*. *Toxicol Ind Health* 2015; 31:1243-1251. doi: 10.1177/0748233713487245.
 25. Korhonen R, Lahti A, Kankaanranta H, Moilanen E. Nitric oxide production and signaling in inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2005;4:471–479.
 26. Boots AW, Kubben N, Haenen GR, Bast A. Oxidized quercetin reacts with thiols rather than with ascorbate: implication for quercetin supplementation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003;308:560–565.
 27. Lotito SB., Frei B. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon? *Free Radical Biol. Med.* 2006;41:1727–1746.
 28. Silva ART, Santos ACF, Farfeto JM. Repair of oxidative DNA damage, cell-cycle regulation and neuronal death may influence the clinical manifestation of Alzheimer's disease. *PLoS ONE.* 2014;9:6-10. doi: 10.1371/journal.pone.0099897.
 29. Sanzgiri UY, Srivatsan V, Muralidhara S, Dallas CE, Bruckner JV. Uptake, distribution, and elimination of carbon tetrachloride in rat tissues following inhalation and ingestion exposures. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1997;143:120–129. doi: 10.1006/taap.1996.8079
 30. Wang M, Zhang XJ, Feng R, Jiang Y,

Zhang DY, He C, Li P, Wan JB. *Biomed Res Int.* 2017;23:52-59.

31. Aceves LM, García O, Martínez LX, Luna KA, Flores H, Martínez M, Medina S, Navarro MD, Oliván LM. Biochemical and molecular modulation of CCl₄-induced peripheral and central damage by *Tilia americana* var. *mexicana* extracts. *Saudi Pharm J.* 2017;25:319–331. doi: 10.1016/j.jsps.2016.06.008.

32. Duthie G, Morrice P. Antioxidant capacity of flavonoids in hepatic microsomes is not reflected by antioxidant effects in vivo. *Oxid. Med. Cell. Longevity.* 2012;16:51-59.

33. Memon AA, Luthria D, Memon N et al. Phenolic acids profiling and antioxidant potential of mulberry (*Morus laevigata* W., *Morus nigra* L., *Morus alba* L.) leaves and fruits grown in Pakistan. *Pol J Food Nutr Sci* 2012;60:25–32.

34. Salcedo EM, Mena P, Viguera C et al., (poly) phenolic compounds and antioxidant activity of white (*Morus alba*) and black (*Morus nigra*) mulberry leaves: their potential for new products rich in phytochemicals. *J Funct Foods.* 2015;18:1039–1046.

ŞANLIURFA İLİNDE ÜRETİLEN SADEYAĞLARIN REICHERT MEİSSL SAYILARININ TESPİTİ

Serap KILIÇ ALTUN¹, Mehmet SAVRUNLU², Nilgün PAKSOY³

¹Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, ŞANLIURFA

²Şanlıurfa Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, ŞANLIURFA

³Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, ŞANLIURFA

Geliş Tarihi:16.10.2017 Kabul Tarihi: 06.12.2017

Makale Kodu: 344667

ÖZET

Sadeyağ; süt yağından üretilen gerek ekonomik gerekse besleyici değeri yüksek olan bir süt ürünüdür. Bu çalışmanın amacı Şanlıurfa ilinde üretilen sadeyağ örneklerinde Reichert-Meissl sayılarını tespit etmektir. Şanlıurfa il ve ilçelerinden 2013 yılında 74 adet, 2014 yılında 182 adet sadeyağ örneği toplanarak çalışma materyalini oluşturmuştur. Örneklerin Reichert-Meissl sayılarının tespiti TS 1331 standardına uygun olarak gerçekleştirilmiştir. 2013 ve 2014 yıllarında toplanan sadeyağ örneklerine ait ortalama Reichert-Meissl sayıları sırasıyla 18.90 ± 7.17 ve 24.14 ± 5.82 olarak bulunmuştur. Analiz edilen tüm sadeyağ örneklerinde en düşük Reichert-Meissl sayısı 0.44, en yüksek Reichert-Meissl sayısı ise 29.96 olarak ölçülmüştür. Sadeyağ örneklerinin Reichert-Meissl sayıları yapılan diğer çalışmalar ile kıyaslandığında ortalama Reichert-Meissl sayısının düşük olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Sadeyağ, Reichert-Meissl sayısı, Şanlıurfa

DETERMINATION OF REICHERT MEISSL NUMBERS OF SADEYAG (CLARIFIED BUTTER) PRODUCED IN SANLIURFA

ABSTRACT

Sadeyag (clarified butter); is a dairy product which is produced from milk fat and is of high economic and nutritious value. The aim of this study was to determine the Reichert-Meissl numbers in the samples of sadeyag produced in Şanlıurfa province. 74 samples in 2013 and 182 samples in 2014 were collected from Şanlıurfa province and towns for create the study material. The Reichert-Meissl numbers of the samples were done in accordance with TS 1331 standard. The mean Reichert-Meissl numbers of sadeyag samples collected in 2013 and 2014 are 18.90 ± 7.17 and 24.14 ± 5.82 respectively. The lowest Reichert-Meissl number was 0.44 and the highest Reichert-Meissl number was 29.96 in all samples analyzed. When the Reichert-Meissl numbers of the sadeyag samples were compared with other research findings, it was found that the average Reichert-Meissl number was lower.

Keywords: Sadeyag (clarified butter), Reichert-Meissl number, Şanlıurfa



İletişim / Correspondence

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Eyyübiye Yerleşkesi, 63300 Merkez/ŞANLIURFA



+90 414 318 39 41

+90 414 318 31 90



skilicaltun@harran.edu.tr

GİRİŞ

Sadeyağ; Türk Gıda Kodeksi, Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliğinde (2005/19) ‘Süt ve/veya süt ürünlerinden elde edilen, su ve yağsız kuru madde unsurlarının tamamına yakın bölümü uzaklaştırılmış, ağırlıkça en az %99 oranında süt yağı içeriğine sahip ürün’ olarak tanımlanmıştır (1). Sadeyağın bileşiminde bulunan oldukça az miktardaki suyun yanı sıra kompleks gliserid yağlar, serbest yağ asitleri, fosfolipidler, steroller ve sterol esterleri, yağda eriyen vitaminler, mineraller, hidrokarbonlar ve karboniller bulunmaktadır (2). Sadeyağın içeriğindeki süt yağı oranının çok yüksek olması ve üretim sürecinin diğer süt yağlarından farklı olması nedeniyle kendine has tat ve tekstürü vardır. Üretiminden itibaren sadeyağ uygun muhafaza şartları altında (18-21°C) tazeliğini iki yıl süreyle koruyabilen bir üründür.

Sadeyağ; ülkemiz genelinde özellikle Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde küçük işletmelerde veya evlerde üretilen bir süt ürünüdür. Türkiye’de sadeyağ olarak bilinen bu ürün, Şanlıurfa ilinde Urfa yağı, Urfa Sadeyağı olarak da tanımlanır. Hindistan’da yaygın olarak inek ve bufalo sütleri karışımından üretilir ve “ghee” olarak isimlendirilir. İran’da ise “roghan” olarak adlandırılmaktadır (3). Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde genellikle koyun sütünden elde edilen sadeyağ, Gaziantep ve Şanlıurfa gibi illerde hem ticari hem de kültürel açıdan oldukça önemli ürünlerin üretiminde kullanımı yaygın ve tercih edilen bir süt ürünüdür (3).

Ekonomik açıdan en kıymetli süt ürünü, süt yağıdır. Sadeyağın üretiminde ham maddenin yalnızca süt yağı olması, ticari işletmelerin maliyeti düşürmek amacıyla ekonomik değeri düşük farklı yağların ilavesi ile hileli ürün üretimine sebep olmaktadır (4). Sadeyağda

yapılan bu tarz hileler gerek tüketici sağlığını, gerekse ülkesel süt ürünleri endüstrisini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Yapılan diğer araştırmalara göre sadeyağ benzeri süt yağlarında palm yağı, koyun iç yağı, margarin gibi ekonomik değeri düşük yağların hile amaçlı kullanıldığı tespit edilmiştir (4,5,6). Sadeyağın fiziko-kimyasal parametrelerinin belirlenmesi hileli ürünlerin tespiti açısından önem kazanmaktadır.

Sadeyağ ve diğer süt yağından üretilen tereyağ gibi ürünlerin içeriğinde farklı yağların bulunup bulunmadığını tespit etmek için pek çok farklı yöntem kullanılmıştır. Bunlardan bazıları Farklılık Görüntüleme Kalorimetresi (Differential Scanning Calorimetry -DSC) (7), Kapillar Kolon Gaz Kromatografi (Capillary Column Gas Chromatography) (8), Hafifletilmiş Toplam Yansıma İnfrared Spektroskopisi (Attenuated Total Reflectance- Mid Infrared Spectroscopy-ATR-MIR)’dir (9). Bu yöntemler hızlı fakat pahalı yöntemler iken Reichert-Meissl (RM) sayısı yöntemi günümüzde halen geçerliliği olan, hızlı ve ucuz bir yöntem olarak uygulanmaktadır. RM sayısı yöntemi, bütirik asit (C4:0) ve kaproik asit (C6:0) gibi yalnızca süt yağında bulunan kısa zincirli yağ asitlerini tespit etme esasına dayanır (4). RM sayısı, 5 g yağın sabunlaştırma, asitleştirme ve buharla damıtılarak uçucu yağ asitlerinin nötralizasyonu için ihtiyaç duyulan 0.1 N alkali çözeltinin mL cinsinden miktarıdır (10). Testin prensibi, sadeyağın sabunlaştırılmasından sonra, süt yağları için karakteristik olan kısa zincirli yağ asitlerinin damıtılması ve damıtma ürününün bir kaptan toplanarak pH’sı bilinen bir alkali çözeltisi ile titrasyonu esasına dayanır (11,12). RM sayısı sadeyağ benzeri ghee örneklerinde 28-35 aralığında olup bitkisel yağlarda en fazla 7 olarak ölçülmektedir (2).

Türkiye İstatistik Kurumu 2016 yılı illere

göre koyun sayısı dağılımına göre Şanlıurfa ili 1.674.055 baş koyun sayısı ile ülkemizde Van ve Konya illerinden sonra üçüncü sırada yer almaktadır. Bu nedenle Şanlıurfa ili koyun süt ve sadeyağ gibi süt ürünlerinin hem üretimi hem de tüketimi açısından ticari bir önem kazanmıştır (13). Bu çalışmanın amacı Şanlıurfa ilinde üretilen sadeyağ örneklerinde RM sayılarını tespit etmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Örneklerin toplanması

Çalışma kapsamında Şanlıurfa il ve ilçelerinden 2013 yılında 74 adet, 2014 yılında 182 adet sadeyağ örneği 300 mL'lik cam numune alma kaplarına alınarak derhal laboratuvara getirilmiş ve aynı gün analiz edilmiştir.

Kimyasallar

1 N H₂SO₄

Gliserin (d= 1.26)

% 44 NaOH çözeltisi

Fenolftalein

0.1 N NaOH çözeltisi

Analiz yöntemi

Sadeyağ örneklerinin RM sayısı TS 1331 Standardına uygun olarak gerçekleştirildi (11). Bu amaçla sadeyağ örnekleri eritildikten sonra suyundan ve tortusundan arıtılmak üzere süzüldü. Süzülen sadeyağ örneklerinden 5 g, 250 mL'lik damıtma balonuna tartıldı. Üzerine 20 g gliserin ve 2 mL % 44'lük NaOH çözeltisi eklendi. Bu aşamada örnekler sabunlaştırılmak üzere köpükler yok olup, limon sarısına dönen sıvı berraklaşana dek ısıtılarak çalkalandı. Ağzı kapatılan balon 90 °C ye kadar soğutuldu. Üzerine 20 dakika kaynatılıp, ortalama 90 °C ye soğutulan distile sudan 90 mL ilave edilip karıştırıldı. Damıtma cihazının destilat toplama kısmına ölçülü balon yerleştirilerek soğutma suyu açıldı. Kaynamayı kolaylaştırmak amacıyla sabun çözeltisi üzerine, 0.6–0.7 g toz sünger taşı

konuldu. Ardından 50 mL 1 N H₂SO₄ çözeltisi eklendi ve damıtma cihazına yerleştirilerek ortalama 20 dakikada 110 mL destilat toplanacak şekilde kaynatılarak damıtıldı. Destilat 110 mL ye yaklaşınca ısıtma işlemine son verildi ve son gelen damlacıklarla 110 mL işaret çizgisine tamamlandı. Balonun ağzı kapatılıp 20°C deki su banyosuna, 110 mL işaret çizgisi su içinde kalacak şekilde yerleştirildi ve bu sıcaklıkta 10–15 dakika bekletildi. Süre sonunda seviye düşmüşse saf su ile 110 mL çizgisine tamamlandı. Destilat süzgeç kağıdından 100 mL' lik bir ölçülü balona süzüldü. Süzüntüden 100 mL alınarak fenolftalein ve 0.1 N NaOH ile titre edildi. Yağ kullanmadan kontrol deney yapıldı ve kontrol deney sonundaki sarfiyat toplam sarfiyattan çıkarıldı.

Hesaplama

$$RM \text{ Sayısı} = (V1 - V0) \times N \times f \times 11$$

V1: Deneyde harcanan NaOH çözeltisi hacmi , mL

V0: Tanık deneyde harcanan NaOH çözeltisi hacmi , mL

N : Titrasyonda kullanılan NaOH çözeltisinin normalitesi

f: Titrasyonda kullanılan NaOH çözeltisinin faktörü

BULGULAR

Analiz edilen örneklerin 2013 ve 2014 yıllarına ait RM sayıları Tablo 1 ve Tablo 2'de gösterilmiştir. 2013 yılında toplanan örneklere ait ortalama RM sayıları 18.90±7.17, 2014 yılında toplanan örneklere ait RM sayısı ise 24.14±5.82 olarak bulunmuştur. Analiz edilen tüm sadeyağ örneklerinde en düşük RM sayısı 0.44, en yüksek RM sayısı ise 29.96 olarak ölçülmüştür (Tablo 3).

Tablo 1: Aylara göre sadeyağ örneklerinin RM sayıları (2013 Yılı)

SADEYAĞ RM ANALİZ SONUÇLARI											
2013											
Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık
26.51	8.36	6.05		28.06	7.70	15.95	22.00	15.95	22.22	0.44	18.37
21.12				28.60	27.61	2.86	21.56	22.00	22.56	21.12	26.23
18.31				27.27	25.30	22.44	17.95	17.93	22.00	19.03	17.71
				16.17	26.12	22.33	15.18	11.44	8.36	28.05	
				26.42	16.52	24.20	18.70			19.69	
				24.31	22.00	24.87	22.22			19.25	
				24.64	3.08		11.99			19.70	
				25.31	28.05		20.90			25.74	
				24.22	19.03		0.63			20.29	
				19.80	2.20		22.11				
				24.21	22.11		23.21				
				3.30	22.55		17.05				
				24.09	22.00		15.07				
				20.90	16.50		22.66				
					8.80						
3	1	1	0	3	14	15	6	14	4	4	9

Tablo 2: Aylara göre sadeyağ örneklerinin RM sayıları (2014 Yılı)

SADEYAĞ RM ANALİZ SONUÇLARI											
2014											
Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık
23.21	26.14	26.07	27.39	25.66	28.19	28.27	20.57	26.79	24.20	27.17	29.04
25.74	25.23	25.85	27.28	27.38	27.64	27.88	22.22	26.90	25.30	26.51	28.05
	19.39	26.29	26.95	26.20	28.25	27.28	28.05	26.79	25.52	27.61	27.72
	17.85	26.18	27.01	5.82	29.02	27.72	27.61	26.79	26.18	28.71	29.26
	24.25	26.02	25.74	27.81	29.07	24.32	27.67	27.55	25.03	28.60	25.63
	24.37	5.28	25.85	15.74	27.53	19.57	26.29	26.90	30.82	16.28	5.06
	25.12	25.08	3.41	25.76	27.31	29.96	19.25	27.01	26.79	26.73	26.40
	26.08	25.03	3.74	26.95	26.64	18.46	27.61	25.59	26.35	25.96	28.05
		24.04	27.28	19.73	20.23	23.66	16.94	20.91	25.92	27.67	28.16
		27.50	27.94	18.65	27.20	27.42	27.83	27.66	26.79		27.72
		25.85	26.73	10.35	29.96	25.43	25.52	26.03	27.01		
		25.05	26.51	13.37	29.07	27.91	26.73	26.57	25.37		
		26.77	26.41	27.27	26.92	25.65	26.29	26.68			
			26.63	26.52	31.69	28.52	28.05	26.68			
			26.03	0.86	27.31		20.79	25.05			
			28.24	26.30	14.59		28.21	26.79			
			27.61	25.44	14.26		0.54	25.65			
			27.39	24.47	25.43		27.01	23.41			
			27.72	26.30	28.02		15.25	25.92			
			27.28	25.12	11.72		26.57				
			25.54	28.35	28.74		26.68				
				27.17	22.77		27.39				
				27.38			28.93				
				26.79			17.49				
				26.84			27.17				
							27.28				
							0.44				
2	8	13	21	25	22	14	27	19	12	9	10

Tablo 3.Örneklerin yıllara göre RM sayıları

Yıl	Numune sayısı	En düşük değer	En yüksek değer	Ortalama ± SS
2013	74	0.44	28.60	18.90±7.17
2014	180	0.44	29.96	24.14±5.82

TARTIŞMA

Bu çalışma bulguları incelendiğinde toplam 256 adet sadeyağ örneğinin RM sayılarının 0.44-29.96 aralığında ve ortalama RM sayısının ise 21.52 olduğu tespit edilmiştir. Ülkemizde yapılan benzer çalışmalardaki RM sayısı incelendiğinde Yalçın ve ark.'nın 1993 yılında Konya ilinden temin ettikleri 15 adet tereyağ örneği ile yaptıkları çalışmada RM sayısının 22.65-28.40 aralığında olduğu ve bu çalışma bulguları ile kıyaslandığında en düşük değer bu çalışmadan çok daha yüksek olduğu, en yüksek değer ise bizim çalışmamızda bulunan en yüksek değere yakın olduğu görülmektedir (14). Margarin ile tereyağın tağışışının tespitine yönelik 2014 yılında Tahmas Kahyaoglu ve Çakmakçı tarafından yapılan bir çalışmada saf tereyağın RM sayısının 26.17 olduğu, saf margarinin ise RM sayısının 0.42 olduğu araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Araştırmada eşit oranlarda tereyağ ve margarin karışımı örneklerinin RM sayısı 0.55 olarak ölçülmüştür. Bu çalışmada tespit edilen en düşük RM sayısının, araştırmacıların tereyağ ve margarinin eşit oranda karıştırıldığı örneğe ait değerden daha düşük olduğu görülmektedir (15). 2004 yılında Sağdıç ve ark.'larının Konya ili piyasasından temin ettikleri keçi, koyun, inek sütlerinden üretmiş oldukları tereyağlarda RM sayılarının sırasıyla 27.27, 27.99, 26.88 bulunduğu bildirilmiştir (6). Araştırmacıların bulguları, bu çalışmada analiz edilen örneklerin büyük çoğunluğunun

RM sayılarından daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Yaptığımız literatür taramaları neticesinde sadeyağlarda RM sayısının araştırıldığı ulusal veya uluslararası makaleye ulaşılamamıştır. Bu sebeple bu çalışma bulguları yapılan ghee araştırmaları ile tartışılmıştır. Kumar ve ark.'nın 2016 yılında Hindistan'ın Meerut ilinde ghee örnekleri ile yapmış oldukları çalışmada RM sayılarının 28.00-40.20 aralığında, ortalama RM sayısının ise 34.10 olduğu bildirilmiştir (2). Araştırmacıların bulgularının Türkiye'de yapılan tereyağ ve sadeyağ analiz sonuçlarından daha yüksek olduğu görülmektedir. Gandhi ve ark.'ları 2014 yılında palm yağı ve koyun iç yağı hileli ghee örnekleriyle yapmış oldukları çalışmada saf inek sütünden üretilen ghee örneklerinin RM sayılarını ortalama 29.50, saf bufalo sütünden üretilen ghee örneklerinin RM sayılarını ortalama 33.30 olarak tespit etmişler, ghee örneklerine % 9 palm yağı ve % 21 koyun iç yağı ilave ettiklerinde RM sayısının inek sütünden üretilen ghee örneklerinde ortalama 23.87, bufalo sütünden üretilen ghee örneklerinde ise ortalama 26.51 olduğunu rapor etmişlerdir (5).

Hindistan'ın Karnal şehrinde 2010 yılının Ağustos ayında marketlerden toplanan ghee örneklerinin RM sayıları en düşük 16.61, en yüksek 33.44 olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar süt yağından üretilen ürünlerde RM sayısının 17 ile 35 arasında değiştiğini, pamuk tohumu ile beslenen hayvanların sütlerinden elde edilen ghee örneklerinde bu sayının 5-6 birim düşebileceğini, farklı hayvan türlerine ait iç yağlarının ve tüm nebati yağların hile amaçlı kullanımında RM sayısını ortalama %10 oranında düşürdüğünü bildirilmişlerdir (16).

Pradhan tarafından 2016 yılında Hindistan'da yürütülen tez çalışmasında inek sütünden üretilen ghee örneklerinde RM

sayısının 27.39 ile 28.71 arasında değiştiği ve ortalama değerin 28.01 olduğu, saf palm yağının 0.11-0.22, saf soya yağının 0.11-0.33, kanola yağının ise 0.11-0.22 RM sayısına sahip olduğu araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. % 2 kanola yağı hileli ghee örneklerinde RM sayısı ortalama 14.30, % 2 soya yağı hileli ghee örneklerinde RM sayısı ortalama 10.27, % 2 palm yağı hileli ghee örneklerinde RM sayısı ortalama 20.75 olarak tespit edilmiştir. Araştırmacı % 1.5 ve üzeri hile amaçlı ilave edilen nebati yağların RM sayısı ile tespitinin kolay ve güvenilir olduğunu bildirmiştir (4).

SONUÇ

Sadeyağ; süt yağından üretilen gerek ekonomik gerekse besleyici değeri yüksek olan süt ürünüdür. Bu araştırmada Şanlıurfa ilinden 2013 ve 2014 yıllarında toplanan sadeyağ örneklerine ait ortalama RM sayıları sırasıyla 18.90 ± 7.17 ve 24.14 ± 5.82 olarak bulunmuştur. Araştırma bulguları, yapılan diğer araştırmaların bulguları ile kıyaslandığında ortalama RM sayısının daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Süt yağı kökenli olmayan diğer yağların ürün bileşimine hile amaçlı girmemesi amacıyla ülkesel RM standardının sadeyağ için oluşturulması ve sadeyağ üretiminin ülke genelinde yaygınlaştırılması hem ülke ekonomisine hem de halk sağlığına fayda sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Anonim, 2005. Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliği Yetki Kanunu Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Yayınlandığı R.Gazete 12.04.2005-25784 Tebliğ No 2005/19.
2. Kumar A, Goyal SK, Munesh, Kumar V, Kumar L. Study of physico-chemical analysis of ghee. South Asian J. of Food Technol. and Environ. 2016; 2(3&4): 448-451.
3. Atasoy AF, Türkoğlu H. Şanlıurfa'da

Üretilen Ve Satışa Sunulan Sadeyağların (Urfa Yağı) Serbest Yağ Asitleri Bileşiminin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi. 2010; 14(2): 9-12.

4. Pradhan P. Effect of addition of palm oil, rapeseed oil, soybean oil on reichert meissl value of cow milk fat (Doctoral dissertation, Kolkata). 2016.

5. Gandhi K, Upadhyay N, Aghav AD, Shanna V, Lal D. Detection of adulteration of ghee (clarified milk fat) with palmolein and sheep body fat using Reichert-Meissl (R.M.) value coupled with solvent fractionation technique. Indian J. of Dairy Sci. 2014; 67(5): 387-393.

6. Sağdıç O, Dönmez M, Demirci M. Comparison of characteristics and fatty acid profiles of traditional Turkish yayık butters produced from goats', ewes' or cows' milk. Food Control. 2004; 15(6): 485-490.

7. Aktaş N, Kaya M. Detection of beef body fat and margarine in butterfat by differential scanning calorimetry. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. 2001; 66: 795-801.

8. Dıraman H. Tereyağı ve zeytinyağında muhtemel tağşişlerin kapiler kolon gaz kromatografisi yöntemi kullanılarak Cis-Trans yağ asitleri düzeyi ile belirlenmesi üzerine bir çalışma. Academic Food Journal. 2006; 4(23): 3-10.

9. Koca N, Kocaoglu-Vurma NA, Harper WJ, Rodriguez-Saona LE. Application of temperature controlled attenuated total reflectance-mid-infrared (ATR-MIR) spectroscopy for rapid estimation of butter adulteration. Food Chemistry. 2010; 121: 778-782.

10. Sözbilir NB, Bayşu N. Biyokimya. s.136. Güneş Tıp Kitabevleri; 2008.

11. Türk Standartları Enstitüsü. Tereyağı. TS 1331, T.S.E., Ankara, 1995.

12. Wollny R. On Reichert–Meissl’s method of butter analysis and its application for the examination of butter and butter substitutes. *Analyst*.1887;12:203–210
13. TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu). Hayvansal Üretim İstatistikleri. Ankara: TÜİK (<http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=21871>).2016.
14. Yalçın S, Tekinşen OC, Doğruer Y, Gürbüz Ü. Konya’da Tüketime Sunulan Tereyağlarının Kalitesi. *S. Ü. Vet. Fak. Derg.* 1993; 9(2): 20-21.
15. Kahyaoğlu DT, Çakmakçı S. Determination of the Adulteration of Butter with Margarine by Using Fat Constants. *Tarım Bilimleri Dergisi*. 2016; 22(1): 1-8.
16. Sherawat BL. A study on physico-chemical qualities of market ghee (Doctoral dissertation, NDRI, Karnal), 2016.

RADYOİODİN (¹³¹I) UYGULANAN RATLARDA KARACİĞERDEKİ HİSTOPATOLOJİK BULGULAR VE HEPATİK SATELLATE HÜCRELERDE ARTIŞ

Rahşan YILMAZ¹, Nihat YUMUŞAK¹, Hasan İkbâl ATILGAN², Gökhan KOCA³, Meliha KORKMAZ²

¹ Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji ABD, Şanlıurfa/Türkiye

² Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nükleer Tıp Bölümü, Ankara/Türkiye

³ Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Bölümü, Hatay/Türkiye

Geliş Tarihi: 03.11.2017 Kabul Tarihi: 22.11.2017

Makale Kodu: 349014

ÖZET

Radyoaktif iyot (¹³¹I) hipertiroidizm ve tiroid kanserlerinin tanı ve tedavisi amacıyla kullanılan bir radyonüklididir. Bu çalışma ile ratlarda radyoiodinden (¹³¹I) kaynaklanan karaciğer hasarının histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmada 20 adet dişi Wistar Albino rat kullanıldı ve bunlar rastgele hiçbir işleme tabi tutulmayan kontrol grubu (n=10) ve ¹³¹I uygulama grubu (n=10) şeklinde ikiye ayrıldı. Üçüncü ayın sonunda nekropsileri yapılan ratların karaciğer dokuları rutin doku takibine alındı. Karaciğerin histopatolojik incelemesinde ¹³¹I grubunda kapsula altında granulom oluşumlarına rastlandı. İmmunohistokimyasal boyamada ¹³¹I grubunda hepatik satellite hücrelerin (HPCs), yoğunluğunu gösteren GFAP boyamalarının kontrol grubundan daha yüksek bir değere sahip olduğu görüldü.

Anahtar sözcükler: ¹³¹I, histopatoloji, karaciğer, HPCs, GFAP, immunohistokimya, rat.

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS AND HEPATIC SATELLITE CELLS INCREASE IN THE LIVER OF THE RATS APPLIED RADIOIODINE (¹³¹I)

ABSTRACT

Radioactive iodine (¹³¹I) is a radionuclide used for the diagnosis and treatment of thyroid cancers and hyperthyroidism. This study was aimed to evaluation by histopathological and immunohistochemical of hepatic damage caused by radioiodine (¹³¹I) in the rat. Twenty female Wistar Albino rats were used in the study and they were randomly divided into two groups as control group (n = 10) and ¹³¹I application group (n = 10). At the end of the third month, the liver tissues were taken of rats at the necropsy, the tissue specimens underwent routine tissue processing. Histopathological examination was observed granuloma formation in the liver in ¹³¹I group. Immunohistochemical staining the GFAP was showed in the ¹³¹I group the higher than in the control group, that showed density of the hepatic satellite cells (HPCs).

Key words: ¹³¹I, histopathology, liver, HPCs, GFAP, immunohistochemistry, rat.



İletişim / Correspondence

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Eyyübiye/ŞANLIURFA



0 414 318 39 09



rahsany@harran.edu.tr

GİRİŞ

Tiroid hastalıklarında radyonüklid tedavi amacı ile radyoaktif iyot (¹³¹I) kullanılmakta olup etkin, pratik, güvenilir ve ucuz olmasının yanısıra cerrahi komplikasyonlar gözönüne alındığında avantajlı bir tedavi modeli olması nedeniyle 1940'lı yıllardan beri başarı ile kullanılmaktadır (1). ¹³¹I tedavisi insan, kedi ve köpeklerde tiroid hastalıklarında, Graves ve toksik nodüler guatr gibi hipertiroidi ile seyreden hastalıklar ile diferansiye tiroid kanserlerinin ablasyon ve tedavileri gibi birçok alanda kullanılmaktadır (1-4). ¹³¹I'nin yarılanma ömrü 8,1 gündür. Yapısındaki beta partiküllerinin minimum enerjisi 69 kiloelektronvolt (keV), ortalama enerjisi 190 keV, maksimum enerjisi 606 keV, gama partiküllerinin enerjisi ise 364 keV ve dokudaki ortalama mesafe aralığı 0.4 mm olan bir radyonükliddir. İçerdiği beta partikülleri hücre hasarına yol açarak tedavide kullanılır iken, gama enerjisi ise sintigrafik görüntülemeye olanak tanımaktadır (5). Oral yolla uygulanan ¹³¹I gastrointestinal sistemden tam ve hızlı bir şekilde emilerek sistemik dolaşım geçmektedir (2,6). Tanı ve tedavi amacı ile kullanılan ¹³¹I'in erken, ara ve geç dönem yan etkileri bildirilmiştir (2, 7). Kısa dönem (ilk 96 saat) yan etkileri kserostomi, bulanıklık, karın ağrısı, kusma, tat alma duyusunda değişiklikler, paratiroid ve submandibular bezlerde hassasiyet ile tiroid çevresinde ağrı sayılabilir (7). Ara dönem yan etkileri (≤ 3 ay) siyaloadenitis, tat alma veya koklama duyusunda kayıp ve geçici alopesiden oluşmaktadır (2). Uzun dönem (> 3 ay) yan etkileri ise kseroftalmi, kronik ve tekrarlayan konjunktivit ve dakriyostenozidir (2, 8-10).

Karaciğer, parenkimal ve nonparenkimal hücrelerden oluşur. Nonparenkimal hücreler arasında endotel hücreleri, Kupffer hücreleri, karaciğere bağlı doğal öldürücü hücreler, hepatik stellate hücreler (HSCs) ve kolangi-

yositlerdir yer almaktadır (11). Hepatic stellate hücreler (HSCs) karaciğerin onarımında önemli role sahiptir (12-14). HSCs'in kolla-gen üretiminde, fibrinogenezis ve dolayısı ile sirozun gelişiminde önemli bir rolü olduğu bilinmektedir (13, 15). Aktive olmuş HSCs normalde A vitamini sentezleyen hücrelerden, hasar görmüş karaciğer dokusunda ekstraselüler matriks (ECM) üreten kontraktil myofibroblastik hücrelere dönüşür (15, 16). HSCs sinüzoidal alanlardaki makrofaj, dentritik hücre veya kuffer hücreleri gibi antijen sunan hücreler (APC) ile etkileşim içerisinde olup, APC'lerin antijen sunma işlevlerini etkileyebilmektedir (17).

HSCs mezenkimal hücreler olarak tanımlanır. Bu hücreler vimentin, α -smooth muscle actin (α -SMA), desmin ve glial fibriler asidik protein (GFAP) gibi sitoskeletal proteinler içermektedir (18, 19). Ratlarda HSCs astrositlerdeki ara filamentlerin ana bileşeni olan Glial Fibrillar Asidik Protein (GFAP) içerirler. Ratlarda GFAP pozitif HSCs lobülde homojen dağılmış bulunurken, normal insan karaciğerinde az sayıda GFAP (+) küçük HSCs grubu portal alanın kenarına veya yakınına yerleşmiştir. Sirozda GFAP ekspresyonu, yeni oluşmuş nodüllerin kenarındaki HSCs veya nodüllerdeki hücre gruplarında artmaktadır (20, 21). Bu çalışmada, HSCs'in varlığını ve yoğunluğunu gösterebilmek için immunohistokimyasal olarak GFAP boyaması yapıldı. Daha önceki çalışmalarda ¹³¹I kullanımına bağlı karaciğerde şekillenen fibrozis, hepatosit degenerasyonu, granülom ve diğer histopatolojik değişikliklerde HSCs'in rolü ortaya konulmamıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hayvanlar:

Bu çalışmanın etik kurul onayı 03.05.2012 /0008-099 tarih ve sayılı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hayvan

Deneyleeri Yerel Etik Kurul Komitesi tarafından verilmiştir. Çalışmada 20 adet (ortalama ağırlığı 225-275 gr, 4-6 aylık) dişi, Wistar albino rat kullanıldı. Ratlar Saki Yenili DeneY Hayvanları Üretim Laboratuvarından sağlandı. Ratların ortama adaptasyonu amacıyla laboratuara bir hafta önceden getirildi. Tüm ratlar, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi DeneY Hayvanları Laboratuvarı'nda, % 65-70 nem, 22±1 °C sıcaklıkta, 12 saat gece ve 12 saat gündüz ışık periyodu olan ortamda barındırıldı. Ratlar polipropilen kafeslerde, radyoaktif bulaştan korunma amaçlı tek kullanımlık absorban bezler konularak barındırıldı ve ad libitum sistemine göre beslendi. Ratlar rastgele 2 gruba ayrıldı. İlki ¹³¹I kullanılmayan kontrol grubu (n=10), diğeri 111 MBq (~3 mCi) nazogastrik sondaj yolu ile (Radyoiyodin MON-IYOT-131Eczacıbaşı/MonrolNükleer Ürünler Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi Gebze, Kocaeli, Türkiye) verilen ¹³¹I grubu şeklindeydi. ¹³¹I grubundaki ratlar 3 ay sonra intraperitoneal olarak 50 mg/kg propofol verildikten sonra etik kurallara uygun olarak dekapite edilerek karaciğeri dokuları alındı.

Histopatolojik inceleme:

Gruplardaki ratlardan nekropsi sonrası alınan karaciğeri dokuları %10'luk nötral tamponlu formaldehit (pH 7.2-7.4) solüsyonu içerisinde tespit edildi. Rutin doku takibinden sonra oluşturulan parafin bloklardan 4 µ kalınlığında kesitler alınıp Hematoksilin-Eozin (H&E) ile boyandı. Boyama sonrası kesitler ışık mikroskobunda (Olympus BX53) ve yüksek çözünürlüklü kamera altında (Olympus DP73) incelendi. Dokular fibrozis ve granülom oluşumu yönlerinden incelendi.

GFAP immunohistokimyasal inceleme:

Mikrotomda 4 µ kalınlığında kesilerek lysinli lama alınan preparatlarda immunohistokimyasal boyamalar için streptavi-

din-biotin-peroksidaz yöntemi kullanıldı. Polyclonal Mouse Anti-Human Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) (DAKO) antikor 1:300 oranında sulandırılarak 37°C'de 1 saat inkube edilerek, Streptavidin Biotin Peroksidaz tekniğine göre boyandı. Antijen açığa çıkarma işlemi için 37 °C'de, 15 dakika, proteinaz K ile gerçekleştirildi, kromojen olarak diaminobenzidine 3 dakika (DAB, TA-012-HDC ve DAB substrate buffer, TA-125-HDS; Lab Vision) ve zemin boyaması için Harris Hematoksilin (Merck) kullanıldı. İmmunohistokimyasal boyama sonuçları ışık mikroskobunda öncelikle pozitif veya negatif boyama şeklinde incelendi. İmmunohistokimyasal skorlamada boyanmanın dağılımı ve yoğunluğu göz önüne alınarak, her kesitte x40 objektifde rastgele seçilen 5 objektif alanındaki pozitif boyanan hücreler sayılarak 0: yok, 1-15:1, 16-30: 2, 31-45: 3, 46≥4 şeklinde derecelendirildi.

İstatistiksel değerlendirme:

Gruplar arasında immunohistokimyasal boyama sonuçlarının değerlendirilmesi için non-parametrik testlerden Wilcoxon-kontesti uygulandı.

SONUÇLAR

Makroskobik olarak, ¹³¹I grubunda karaciğeri yüzeyinde 0,3 mm-1 cm arasında değişen boyutlarda, beyazımsı krem renkte, multifokal granülomlar gözlemlendi.

Histopatolojik inceleme sonuçları:

Mikroskobik incelemede, ¹³¹I grubunda makroskobik olarak karaciğeri yüzeyinde görülen odaklarda granülom oluşumlarına rastlandı. Bu granülomlar karaciğeri kapsülü altına yerleşmiş olup, çevresi bağ doku ile çevrili, bazılarında merkezde pembe renkte düzensiz yapıda nekroz alanlarının olduğu odaklar şeklindeydi. Ayrıca bu alan içerisinde gelişmiş güzel dağılım gösteren bazıları tam mineralize olmuş şekilsiz mor renkte kalsifikasyon alanları ile tam mineralize olma-

mış şeffaf mavimsi renkte kristalize yapılar gözlemlendi. Granulom içerisinde yabancı cisim dev hücrelerine rastlandı (Resim 1.C). Ayrıca karaciğer parankiminde özellikle portal üçgende bağ doku artışı dikkati çekti (Resim 1.B). Kontrol grubunda çok hafif şiddette hiperemi dışında herhangi bir histopatolojik lezyona görülmedi (Resim 1.A).

İmmunohistokimyasal inceleme sonuçları:

Pozitif boyanan GFAP pozitif HSCs hücreler kontrol grubunda sinuzoidlerde düzensiz, ince bantlar şeklinde koyu kahve renkte gözlemlendi (Resim 2.B). ¹³¹I grubunda ise yine sinuzoidlerde düzensiz, ince bantlar şeklinde, portal üçgende perivasküler fibrozis alanları ile granulom çevresindeki dejenerasyon hepatositlerin sitoplazmalarında koyu kahve renkte (Resim 2.C) görüldü. Boyanma sitoplazmada, koyu kahve renkteydi. ¹³¹I grubunda gözlenen pozitif boyanmaların kontrol (Resim 2.A) grubuna göre oldukça yoğun olduğu dikkati çekti.

İstatistiksel değerlendirme sonuçları:

Wilcoxon-kont testine göre gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık tespit edildi $p < 0,01$. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler Tablo 1 ve 2’de belirtilmiştir.

Tablo 1. Gruplar arası istatistiksel değerlendirme

	N	Mean rank	Sum of ranks
Negative ranks	0 ^a	,00	,00
¹³¹ I Positive ranks	10 ^b	5,50	55,00
Ties	0 ^c		
Total	10		

a: ¹³¹I < kontrol, b: ¹³¹I > kontrol, c: ¹³¹I = kontrol.

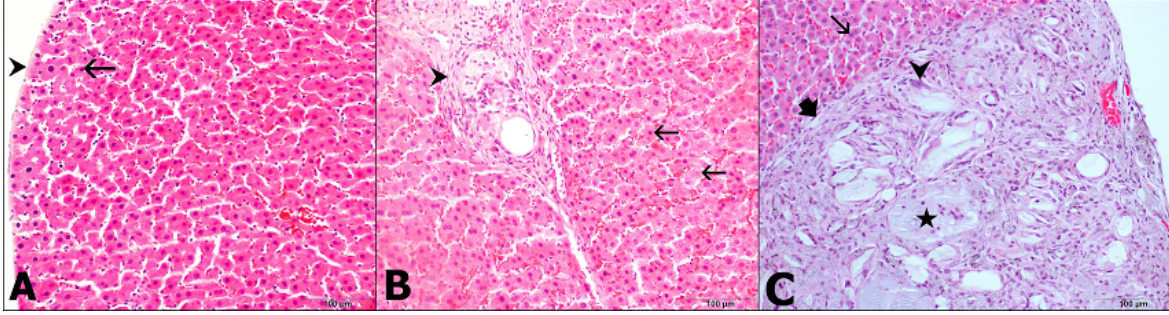
Tablo 2. Gruplar arası istatistik sonucu

Test Statistics ^a	¹³¹ I- kontrol
Z	-2,919 ^b
Asymp Sig. (2-tailed)	,004
a. Wilcoxon Signed ranks test	
b. Based on negative ranks	

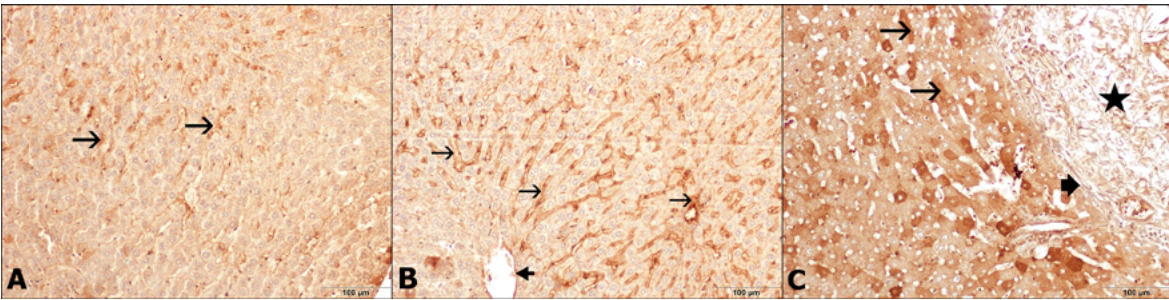
TARTIŞMA

Total vücut iyonize radioiodin uygulamaları hücresel oksidatif stresi artıran serbest oksijen radikallerine bağlı olarak çoklu organ disfonksiyonlarına neden olabilmektedir. Bu durum DNA ve hücre membranında hasara neden olmakta (22), DNA sentezini azaltmakta (23) ve pro-oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengeyi bozmaktadır (24). ¹³¹I tedavisinin karaciğer dokusunda oluşturduğu hücresel hasarın en önemli nedeni lipid peroksidasyonudur. Bugüne kadar ¹³¹I uygulamasında karaciğerde radyasyon hasarını azaltmak için antioksidanlar, sitoprotektif ajanlar, angiotensin-II tip 1 reseptör antagonistleri, immün modülatörler, prostaglandinler ve A, C, E vitaminleri (25) ve montelukast (26) gibi birçok sentetik veya doğal ilaçlar kullanılmıştır. Karaciğerde özellikle kapsula altında oluşan lezyonlar histopatolojik olarak tipik granulom yapısı göstermekteydi (27). Bu çalışma ile Atılğan ve ark.’nın ¹³¹I uygulamasının karaciğerde hiperemi, steatozis, hücresel değişiklik, safra kanalı proliferasyonu, fibrozis, venöz lezyonlar, kapsülde kalınlaşma ve granulom oluşumuna neden olduğunu belirttiği çalışmanın bir ileri aşaması olarak granulomlu alanlarda HSCs’in varlığı ve yoğunluğunun göstergesi olarak GFAP’ın immunohistokimyasal boyanması ile gösterilmiştir. Lezyonlu bölgelerde GFAP’ın dolayısı ile HSCs’in yoğunluğunun artmış olması daha önceki çalışmalar ile uyumluluk göstermektedir (28-30). Bu yoğunluk istatistiksel olarak gruplar arasında farklılık olduğunu göstermektedir $p < 0,01$.

Bu çalışma ile ¹³¹I uygulanan ratların karaciğer dokusunda perivasküler fibrosiz, hepatositlerde dejenerasyon ve kapsülde granulom oluşumlarına bağlı olarak artan HSCs’in varlığı GFAP’ın immunohistokimyasal olarak boyanması işle ilk kez gösterilmiştir.



Resim 1. Karaciğerin H&E boyamaları, A: Kontrol grubu, kapsül (ok başı), hepatosit (ok) X 200; B: ¹³¹I grubu, perivasküler fibrozis (ok başı), dejenere hepatositler (oklar) X 200; C: ¹³¹I grubu, kapsül (kalın ok), hepatosit (ok), dev hücre (ok başı), kristalizasyon (yıldız) X 200.



Resim 2. Karaciğerin IHC boyamaları, A: Kontrol grubu, GFAP pozitif HSCs (oklar) X 200; B: ¹³¹I grubu, vena sentralis (kalın ok), GFAP pozitif HSCs (oklar) X 200; C: ¹³¹I grubu, GFAP pozitif HSCs (oklar), fibröz kapsül (kalın ok), granulom (yıldız) X 200.

KAYNAKLAR

- Hibbert A, Gruffydd-Jones T, Barrett EL, Day MJ, Harvey AM. Feline thyroid carcinoma: diagnosis and response to high-dose radioactive iodine treatment. *J Feline Med Surg.* 2009; 11: 116-124.
- Alexander C, Bader JB, Schaefer A, Finke C, Kirsch CM. Intermediate and long-term side effects of high-dose radioiodine therapy for thyroid carcinoma. *J Nucl Med.* 1998; 39: 1551-1554.
- Liptak JM. Canine Thyroid Carcinoma. *Clin Tech Small Anim Pract,* 2007; 22: 75-81.
- Peremans K, Vandermeulen E, Van Hoek I, Daminet S, Vermeire S, Bacher K. Interference of iohexol with radioiodine thyroid uptake in the hyperthyroid cat. *J Feline Med Surg.* 2008; 10: 460-465.
- Silberstein EB, Alavi A, Balon HR, Clarke SE, Divgi C, Gelfand MJ, Goldsmith SJ, Jadvar H, Marcus CS, Martin WH, Parker JA, Royal HD, Sarkar SD, Stabin M, Waxman AD. The SNMMI practice guideline for therapy of thyroid disease with ¹³¹I 3.0. *J Nucl Med.* 2012; 53(10): 1633-1651.
- Peterson, ME. Radioiodine treatment of hyperthyroidism. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2006; 21 (1): 34-39.
- Lin WY, Shen YY, Wang SJ. Short-term hazards of low-dose radioiodine ablation therapy in postsurgical thyroid cancer patients. *Clin Nucl Med.* 1996; 21: 780-782.
- Markitziu A, Lustmann J, Uziel B, Krausz Y, Chisin R. Salivary and lacrimal gland involvement in a patient who had undergone a thyroidectomy and was treated with radioiodine for thyroid cancer. *Oral Surg Oral Med*

- Oral Pathol. 1993; 75(3): 18–22.
9. Solans R, Bosch JA, Galofré P, Porta F, Roselló J, Selva-O'callagan A, Vilardell M. Salivary and lacrimal gland dysfunction (sicca syndrome) after radioiodine therapy. *J Nucl Med.* 2001; 42: 738–43.
10. Zettinig G, Hanselmayer G, Fueger BJ, Hofmann A, Pirich C, Nepp J, Dudczak R. Long-term impairment of the lacrimal glands after radioiodine therapy: A crosssectional study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2002; 29: 1428–1432.
11. Bouwens L. Proliferation and phenotypic expression of non-parenchymal liver cells. *Scand J Gastroenterol.* 1988; 151: 46–51.
12. Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *PHYSIOL Rev.* 2008; 88: 125-172.
13. Friedman SL, Roll FJ, Boyles J, Bissell DM. Hepatic lipocytes: the principal collagen-producing cells of normal rat liver. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985; 82(24): 8681–8685.
14. Morini S, Carotti S, Carpino G, Franchitto A, Corradini SG, Merli M, et al. GFAP expression in the liver as an early marker of stellate cells activation. *Ital J Anat Embryol.* 2005; 110: 193–207.
15. Rostagi A, Bihari C, Maiwall R, Ahuja A, Sharma M.K, Kumar A, Sarin S.K. Hepatic stellate cells are involved in the pathogenesis of acute-on chronic liver failure (ACLF). *Virchows Arch.* 2012; 461: 393-398.
16. Savaş MC. Hepatik Fibrozisin Patogenezi. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci.* 2005; 1(16): 5-10.
17. Ichikawa S, Mucida D, Tyznik A.J, kronenberg M, Cheroutre H. Hepatic stellate cells function as regulatory bystanders. *J Immunol.* 2011; 186(10): 5549-5555.
18. Sappino AP, Schurch W, Gabbiani G: Biology of disease. Differentiation repertoire of fibroblastic cells: expression of cytoskeletal protein as marker of phenotypic modulations. *Lab Invest.* 1990; 63: 144–161.
19. Tsutsumi M, Takada A, Takase S: Characterization of desmin-positive rat liver sinusoidal cells. *Hepatology.* 1987; 7(2): 277–284.
20. Buniation G, Gebhardt R, Schrenk D, Hamprecht B. Colocalization of three types of intermediate filament proteins in perisinusoidal stellate cells: glial fibrillary acidic protein as a new cellular marker. *Eur J Cell Biol.* 1996; 70: 23-32.
21. Hautekeete ML, Niki T, Van den Berg K, Delvaux G, Geerts A. A fraction of stellate cells in human liver express glial fibrillary acidic protein (GFAP). *J Hepatol.* 1996; 25: 112.
22. Gultekin FA, Bakkal BH, Guven B, Tasdoven I, Bektas S, Can M, Comert M. Effects of ozone oxidative preconditioning on radiation-induced organ damage in rats. *J Radiat Res.* 2013; 54: 36-44.
23. Albert MD, Bucher NL. Latent injury and repair in rat liver induced to regenerate at intervals after xradiation. *Cancer Res.* 1960; 20: 1514-1522.
24. Koc M, Taysi S, Buyukokuroglu ME, Bakan N. Melatonin protects rat liver against irradiation-induced oxidative injury. *J Radiat Res.* 2003; 44: 211-215.
25. Arora R, Gupta D, Chawla R, Sagar R, Sharma A, Kumar R, Prasad J, Singh S, Samanta N, Sharma RK. Radioprotection by plant products: present status and future prospects. *Phytother Res.* 2005; 19: 1-22.
26. Atilgan HI, Yumusak N, Sadic M, Gultekin SS, Koca G, Ozyurt S, Demirel K, Korkmaz M. Radioprotective effect of montelukast sodium against hepatic radioiodine (131I) toxicity: A histopathological investigation in the rat model. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 2015; 62: 37-43.
27. Drebber U. Kasper HU, Ratering J. Wedemeyer I. Schirmacher P. Dienes HP.

- Odenthal M. Hepatic granulomas: histological and molecular pathological approach to diferential diagnosis a study of 442 cases. *Liver International*. 2008; 828-834.
28. Guyot C, Lepreux S, Combe C, Doudnikoff E, Bioulac-Sage P, Balabaud C, et al. Hepaticfibrosis and cirrhosis: the (myo) fibroblastic cell subpopulations involved. *Int J Biochem Cell Biol*. 2006; 38: 135–51.
29. Tennakoon AH. Izawa T. Wijesundera KK. Murakami H. Ichikawa CK. Tanaka M. Golbar HM. Kuwamura M. Yamate J. Immunohistochemical characterization of glial fibrillary acidicprotein (GFAP)-expressing cells in a rat liver cirrhosis model inducedby repeated injections of thioacetamide (TAA). *Exp Toxicol Pathol*. 2014; 67: 53–63.
30. Atmaca HT, Gazyagci AN, Canpolat S, Kul O. Hepatik stellate cells increase in *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Parasit Vectors*. 2013; 6: 135.

KEDİ ve KÖPEKLERDEN DERMATOFİTLERİN İZOLASYONU

Özlem ŞAHAN YAPICIER¹, Ezgi ŞABABOĞLU¹, Dilek ÖZTÜRK¹,
Faruk PEHLİVANOĞLU¹, Mehmet KAYA¹, Hülya TÜRÜTOĞLU¹

¹Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 15030, Burdur,
TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 29.11.2017 Kabul Tarihi: 18.12.2017

Makale Kodu: 359535

ÖZET

Dermatofitozis, fungal etkenler tarafından oluşturulan, kıl folikülleri, tırnak ve epiderminin keratin tabakasını etkileyen infeksiyöz ve zoonoz bir hastalıktır. Dermatofitozise neden olan etkenler *Microsporum*, *Trichophyton* ve *Epidermophyton* cinsinde bulunmaktadır. Bu çalışmada, 2013-2017 yılları arasında, farklı mevsimlerde kedi ve köpeklerden dermatofitozis şüphesi ile alınan toplam 102 deri kazıntısı ve kıl örneği incelendi. Örneklerin mikolojik analizi direkt mikroskopi ve Sabouraud Dekstroz Agara ekim yöntemleri ile yapıldı. Toplam 102 örneğin 56 (%54,90)'sı dermatofitozis yönünden pozitif bulundu. Kedilerden alınan 24 materyalin 5 (%20,83)'inden *Microsporum* sp., 3 (%12,5)'ünden ise *Trichophyton* sp. izole edildi. Köpek orijinli 78 materyalin 47'sinde (%60,25) *Microsporum* sp. ve 1'inde (%1,28) *Trichophyton* sp. teşhis edildi. Kedi ve köpeklerde dermatofitozis olgularına çoğunlukla ilkbahar mevsiminde (%82,75) rastlanıldığı bunu sonbahar (%64,28) ve yaz (%38,88) mevsimlerinin izlediği belirlendi.

Anahtar sözcükler: Dermatofitozis, izolasyon, kedi, köpek

*Bu çalışmanın özeti 1. Uluslararası Türkiye İç Hastalıkları Kongresi (10-12 Ekim 2017, Antalya)'nde poster olarak sunulmuştur.

ISOLATION OF DERMATOPHYTES FROM CATS AND DOG

ABSTRACT

Dermatophytosis is an infectious and zoonotic disease caused by fungal agents that affect the keratin layer of hair follicles, nails and epidermis. The causative agents of dermatophytosis are *Microsporum*, *Trichophyton* and *Epidermophyton* species. In this study, a total of 102 skin scarpings and hair samples taken from cats and dogs with suspected dermatophytosis between 2013 and 2017 at different seasons were investigated. The mycological analyses were conducted by direct microscopy and fungal culture on Sabouraud Dextrose Agar. Fifty six out of 102 samples were positive for dermatophytosis. Five (24.83%) *Microsporum* sp. and 3 (12.50 %) *Trichophyton* sp. were isolated from 24 materials taken from the cats. Fourty seven (60.25%) *Microsporum* sp. and 1 (1.28%) *Trichophyton* sp. were diagnosed from 78 dog based materials. The occurrence of dermatophytosis cases was mostly observed in the spring (82.75%), followed by autumn (64.28%) and summer (38.88%) seasons in cats and dogs. .

Keywords: : Dermatophytosis, isolation, cat, dog



İletişim / Correspondence

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 15030, Burdur, TÜRKİYE



+90 0248 213 2064



ozlemsahan@mehmetakif.edu.tr

GİRİŞ

Evcil hayvanlarda karşılaşılan dermatofitozis; zoofilik, geofilik veya artropofilik fungal etkenlerin özellikle de *Microsporum*, *Trichophyton* ve *Epidermophyton* cinsine ait türlerin neden olduğu tırnak/pençe, kıl ve stratum korneum gibi keratinize dokuların yüzeysel fungal enfeksiyonudur (14, 16-24). Dermatofit etkenlerinin insan ve hayvanlarda meydana getirdiği enfeksiyona aynı zamanda 'Ringworm' olarak da isimlendirilmektedir (29). Dermatofitozis bulaşıcı özelliği ve zoonotik potansiyeli nedeni ile pet hayvan hekimliğinde önemli bir hastalıktır. Yaş, cinsiyet veya hayvan ırkı farketmeksizin tüm kedi ve köpekler enfeksiyona duyarlı olup, genç, hasta ve yaşlı hayvanlarda daha sık görülme eğilimindedir (16). Özellikle immun yetmezliği olan hastalarda dermatofitoz, haftalarca hatta aylarca süren bir deri hastalığı olarak karşımıza çıkmaktadır (24). Dermatofitlerin görülme sıklığı iklim, ısı, bağıl nem ve farklı coğrafi bölgelerin yağış durumuna göre de değişkenlik göstermektedir (3).

Kedi ve köpeklerde hastalığa sebep olan 20 farklı dermatofit türü rapor edilmiştir. Bunlar içerisinde en sık rastlanılan türler *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* ve *Trichophyton mentagrophytes*'tir (5, 32).

Kedi ve köpekler, dermatofit türlerini hasta olan hayvanlardan veya toprakta bulunan artrosporlarla temas yoluyla alırlar. Artrosporların stratum korneum hücrelerine yapışmasından sonra, keratinazların salgılanması yardımıyla stratum korneumu istila eden hifaların üretimi ile germinasyon meydana gelir (25). Kıl shaftının dermatofitlerle istila edilme şekline göre enfeksiyon endotriks ve ektotriks olarak ayrılır (9). Hifalar kıl folikülüne doğru büyür ve shaftı sararsa fungal hifalar kıl shaftında spora dönüşürler ve shaftta sporlar görülür ve böylece endotriks

invazyonu oluşur. Ektotriks tutulumunda ise kıl invazyonu endotriks gibi başlar ancak hifalar kıl yüzeyine saracak şekilde dışarıya doğru büyürler ve kutikula yıkılır (9). İnvazyon sebebi ile yangısal cevap oluşur ve normal şartlarda hastalığın ayırımı 1-3 ayda şekillenir (25). Bunu takiben öncelikli olarak hücresel ve humoral immun yanıt oluşmaktadır (8, 26, 35). Dermatofitozis kedi ve köpeklerde esasen folliküler bir hastalıktır ve klinik bulgular temelde kıl kökü hasarının ve buna bağlı iltihaplanmanın bir yansımasıdır. Pruritusun şiddeti değişkendir. Köpeklerde papül, püstül, fokal veya genişçe bir alopesi, değişken eritem ve kabuklanma görülürken kedilerdeki lezyonlar içerisinde kabuklanma, fokal, multifokal veya generalize alopesi, eritem, milier dermatitis bulunmaktadır (11, 32).

Dermatofitlerin laboratuvar tanısı direkt mikroskopik ve kültür yöntemiyle yapılmaktadır. Mikroskopik muayenede kıl kökü ve deri kazıntılarının incelenmesi ve lezyonlu materyalde hifa ve sporların görülmesi pratikte yardımcı olmaktadır (10, 12, 15, 17, 33). Kesin tanı fungal kültürle yapılır ve bu amaçla çoğunlukla Sabouraud Dekstroz Agar kullanılır. Ekim yapılan besiyerleri 2-4 hafta arasında inkübasyona bırakılır ve üreyen mantarların mikroskopik ve makroskopik morfolojileri incelenir. Bazen üreaz aktivitesi gibi biyokimyasal veya in vitro saç penetrasyon testi gibi fizyolojik testlerin uygulanması gerekebilir (12, 27, 33).

Bu çalışmada, 2013-2017 yılları arasında Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na dermatofitozis şüpheli olarak gönderilen kedi ve köpeklere ait deri kazıntısı ve kıl örneklerinin dermatofitozis yönünden incelenmesi ve mevsimsel izolasyon oranlarının saptanması amaçlandı.

MATERYAL VE METOT

Materyal: Bu çalışmada, 2013-2017 yılları arasında 24 kedi ve 78 köpekten olmak üzere Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na dermatofitozis şüpheli olarak gönderilen toplam 102 deri kazıntısı ve kıl örneği incelendi.

Direkt mikroskopik inceleme: Tüm kıl ve deri kazıntı örnekleri lam üzerinde %10-20'lik potasyum hidroksit (KOH) solüsyonu ile karıştırıldı ve üzerlerine lamel kapatıldı. Oda sıcaklığında 15-20 dakika bekletildikten sonra mikroskopta 40x objektif ile incelenerek hifa ve spor yapıları arandı (1).

Kültür: Örnekler, kloramfenikol supplement (0.05 mg/ml) (Oxoid, UK) eklenmiş Sabouraud Dekstroz Agar (SDA)'a (Oxoid, UK) pens yardımı ile gömülerek ekildi. Besiyerleri 25 °C'de 1-4 hafta süre ile her gün kontrol edilmek üzere inkübasyona bırakıldı (1).

Mantar kolonilerinin makroskopik ve mikroskopik incelenmesi: İnkübasyon sonrası oluşan kolonilerin üreme durumu ve süresi, petrinin ön ve arka yüzündeki koloni rengi kaydedilerek makroskopik incelemesi tamamlandı (1). Mikroskopik inceleme için ise laktofenol pamuk maviseli-selofan bant yöntemi kullanıldı (29). Mantar kolonilerine ait hifa, makrokonidium ve mikrokonidium yapıları incelenerek dermatofitler cins düzeyinde tayin edildi (30).

BULGULAR

Toplam 102 örneğin 56 (%54,90)'sı dermatofitozis yönünden pozitif bulundu (Tablo 1). Kedilerden alınan 24 materyalin 5 (%20,83)'inden *Microsporum* sp., 3 (%12,5)'ünden ise *Trichophyton* sp. izole edildi. Köpek orijinli 78 materyalin 47'sinde (%60,25) *Microsporum* sp. ve 1'inden (%1,28) *Trichophyton* sp. teşhis edildi

(Tablo 2). İzole edilen dermatofit etkenlerinin mevsimsel dağılımı Tablo 3'de gösterildi.

Tablo 1. Dermatofitlerin izolasyon sonuçları

	Örnek Sayısı	Pozitif Örnek Sayısı	(%)
Kedi	24	8	33,33
Köpek	78	48	61,54
Toplam	102	56	54,90

Tablo 2. Dermatofit etkenlerinin örneklenen türlere göre dağılımı

Dermatofit Türü	Kedi	Köpek	Toplam
<i>Microsporum</i> spp.	5 (%20,83)	47 (%60,25)	52 (%50,99)
<i>Trichophyton</i> spp.	3 (%12,5)	1 (%1,28)	4 (%3,9)
Toplam	8 (%33,33)	48 (%61,54)	56 (%54,90)

Tablo 3. Dermatofit etkenlerinin örneklenen mevsimlere göre dağılımı

	Sonbahar		Kış		İlkbahar		Yaz	
	N/n	%	N/n	%	N/n	%	N/n	%
Kedi	10/4	40	2/-	-	6/4	57,14	6/-	-
Köpek	18/14	77,8	7/-	-	23/20	86,95	30/14	46,6
Toplam	28/18	64,28	9/-	-	29/24	82,75	36/14	38,88

TARTIŞMA

Kedi ve köpeklerin dermatofitozis infeksiyon oranlarının birbirinden çok farklı olduğu, köpeklere oranla kedilerde infeksiyona daha fazla rastlandığı belirtilmiştir (13, 22, 23). Köpeklerde dermatofitoz görülme oranının % 4-10 arasında değiştiği (3, 4, 7, 19, 35, 36), kedilerde ise tespit edilen oranların % 20-30 arasında olduğu bildirilmiştir (3, 4, 20, 28, 35). Bu konuda farklı araştırmacıların dermatofitoz şüpheli kedi ve köpeklerde yaptığı çalışmalar değerlendirildiğinde; Lewis ve ark. (19) Amerika Birleşik Devletleri'nde köpeklerden alınan 1824 örnekte (%3,8), kedilerden alınan 408 örnekte (%14,9); Cabanes ve ark. (4) İspanya'da 105 köpekte (%14,3), 56 kedide (%33,9); Brezilya'da Brillhante ve ark. (3) 189 köpekte (%14,3), 38 kedide (%36,8); Mancianti ve ark. (21), 7650 kedide % (24,7); Cafarchia ve ark. (5) 156 kedide (% 28,2) oranında dermatofit izolasyonu gerçekleştirmiştir. İngiltere'de ise 1956-1991 yılları arasındaki bir diğer çalışmada inkesiyon, 4942 köpekte (%9,6),

3407 kedide (%26,2) oranında tespit edilmiştir (34, 35). Bu çalışmada; direkt mikroskopik inceleme ve kültür işlemleri sonucuna göre incelenen 102 örneğin 56 (%54,90)'sı dermatofitozis yönünden pozitif bulundu. İzolasyon oranları kedilerde (% 33,33), köpeklerde ise (% 61,54) olarak saptandı. Elde edilen bu oranlar, konu ile ilgili yapılan diğer çalışmaların sonuçlarından farklılık gösterdi.

Pet hayvanlarında dermatofitozis olgularının %95'inden fazlasına *Microsporum* ve *Trichophyton* türlerinin sebep olduğu belirtilmektedir (4, 6, 38, 39). Bu çalışmada, hayvan türü dikkate alınmadan izolasyon oranlarına bakıldığında toplam örnek sayısının (%50,99)'unun *Microsporum* sp. ve (%3,9)'unun *Trichophyton* sp. olarak tespit edilmiş olması bu sonucu desteklemektedir. Çalışmamızda *Microsporum* sp. kedilerde (%20,83), köpeklerde (%60,25) oranında, *Trichophyton* sp. ise kedilerde (%12,5), köpeklerde (%1,28) oranında tespit edilmesi dünyanın değişik bölgelerinde yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir (3, 4, 23, 28). Nitekim Türkiye'de Babacan ve ark. (2) tarafından yapılan bir çalışmada da *Microsporum* sp. kedilerde %85, köpeklerde (%78,1), *Trichophyton* sp. ise kedilerde (%15), köpeklerde (%21,8) oranında izole edilmiştir.

Dermatofitlerin görülme sıklığının mevsimlere göre değiştiği bildirilmiştir(4, 5, 21). Farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda; özellikle sonbahar ve kış aylarında dermatofit izolasyon oranlarının daha yüksek olduğuna dikkat çekilmiştir (18, 36). Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise kedi ve köpeklerde görülen dermatofitozis olgularının daha çok ilkbahar aylarında yoğunlaştığı görülmektedir (2, 7, 37). Bu çalışmada da, infeksiyon, ülkemizde kedi ve köpek üzerine yapılan çalışmalara benzer olarak özellikle ilkbaharda %82,75 nispeten daha yüksek olmak üzere

sırasıyla sonbahar ve yaz aylarında %64,28 ve % 38,88 olarak tespit edildi. Yaptığımız çalışmada dermatofit izolasyonunun ilkbaharda diğer mevsimlere göre nispeten fazla olmasının, Türkiye'de ilkbahar mevsiminin yağmurlu ve nemli geçmesi ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Buna benzer bir durum da komşu ülke Azerbaycan'da Roshanzamir ve ark. (31)'nin yaptığı çalışmada bildirilmiştir.

SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışmada kıl ve deri kazıntısı örneği alınan dermatofitozis şüpheli kedi ve köpeklerin yaklaşık %50'sine cins düzeyinde dermatofitozis tanısı konulmuştur. Zoonotik önemi nedeniyle şüpheli olgularda laboratuvar teşhisinin gerekli olduğu ve hayvan sahipleri ile veteriner hekimlerin bulaşma olasılığı konusunda daha dikkatli davranması gerektiği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Arda M. Temel Mikrobiyoloji. In: Arda M, ed. Mantarların genel karakterleri. Genişletilmiş 2. Baskı. p.315-367. Ankara: Medisan Yayınevi; 2000.
2. Babacan O, Bas B, Müstak HK, Sahan O, Tekin O, Torun E. Retrospective evolution of dermatophytes isolated from cats and dogs. Etlik Vet Microbiol Derg. 2011; 22:23–26.
3. Brillhante RSN, Cavalcante CSP, Soares-Junior FA, Cordeiro RA, Sidrim JJC, Rocha MFG. High rate of *Microsporum canis* feline and canine dermatophytoses in Northeast Brazil: epidemiological and diagnostic features. Mycopathologia. 2003; 156: 303-308.
4. Cabanes FJ, Abarca ML, Bragulat MR. Dermatophytes isolated from domestic animals in Barcelona, Spain. Mycopathologia. 1997; 137: 107–113.
5. Cafarchia C, Romito D, Sasanelli M, Lia R, Capelli G, Otranto D. The epidemiology

- of canine and feline dermatophyoses in southern Italy. *Mycoses*. 2004; 47: 508-513.
6. Copetti MV, Santurio JM, Cavalheiro AS, Boeck AA, Argenta JS, Aguiar LC, Alves SH. Dermatophytes isolated from dogs and cats suspected of dermatophytosis in Southern Brazil. *Acta Sci Vet*. 2006; 34: 119-124.
 7. Çiftçi A, İca T, Sareyyüpoğlu B, Müştak HK. Kedi ve köpek dermatofitozlarından izole edilen mantarların retrospektif değerlendirilmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*. 2005; 52:45-48.
 8. Deboer DJ, Moreillo KA. The immune response to *Microsporum canis* induced by a fungal cell wall vaccine. *Vet Derm*. 1994; 5: 47-55.
 9. Dicle Ö, Özkesici B. Tinea capitis. *Turk J Dermatol*. 2013; 7: 1-8.
 10. Elewski B. Tinea capitis: a current perspective. *J Am Acad Dermatol*. 2000; 42:1-20.
 11. Foil CS. Dermatophytosis. In: Greene, CE, ed. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. p: 362–370. Philadelphia: W.B. Saunders; 1998.
 12. Fuller LC, Child FJ, Midgley G, Higgins EM. Diagnosis and management of scalp ringworm. *BMJ*. 2003; 326:539-541.
 13. Guzman-Chavez RE, Segundo-Zaragoza C, Cervantes-Olivares RA. Presence of keratinophilic fungi with special reference to dermatophytes on the haircoat of dogs and cats in Mexico and Nezahualcoyotl cities. *Rev Latinoam Microbiol*. 2000; 42:41-44.
 14. Hainer BL. Dermatophyte infections. *Am Fam Physician*. 2003; 67:101-108.
 15. Higgins EM, Fuller LC, Smith CH. Guidelines for the management of tinea capitis. British Association of Dermatologists. *Br J Dermatol*. 2000; 143:53-58.
 16. Ileana N, Adrian M. The fungal microbiota isolated from cats and dogs. *J Anim Sci Biotechno*. 2010; 43: 411-414.
 17. Kanbe T. Molecular approaches in the diagnosis of dermatophytosis. *Mycopathologia*. 2008; 166:307-317.
 18. Kristensen S, Krogh HV. A study of skin diseases in dogs and cat. VII. Ringworm infection. *Nord Vet Med*. 1981; 33: 134-140.
 19. Lewis DT, Foil CS, Hosgood G. Epidemiology and Clinical Features of Dermatophytosis in Dogs and Cats at Louisiana State University: 1981-1990. *Vet Dermatol* 1991; 2:53-58.
 20. Lima SR, da Silve WA, da Siveira MM, Da Silva Machado Neves RC, Dutra V, Sousa VRF. Isolation of dermatophytes from 50 asymptomatic domestic cats treated at the Federal University of Mato Grosso Veterinary – Hospital in Cuiabá, MT. *Ciencias Agrarias*. 2016; 37:2003-2008.
 21. Mancianti F, Nardoni S, Cecchi S, Corazza M, Taccini F. Dermatophytes isolated from symptomatic dogs and cats in Tuscany, Italy during a 15-year period. *Mycopathologia*. 2002; 156:13-18.
 22. Mackenzie DWR, Philpot CM. Isolation and identification of ringworm fungi. Public Health Laboratory Service. Monograph Series No 15. HM Stationary Office London, UK, 1981.
 23. Moriello KA, Kunlke G, DeBoer DJ. Isolation of dermatophytes from the haircoats of stray cats from selected animal shelters in two different geographic regions in the United States. *Vet Derm*. 1994; 5: 57-62.
 24. Moriello KA. Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: review of published studies. *Vet Derm*. 2004; 15: 99-107.
 25. Mnelaos LA. Dermatophytosis in dog and cat. *Buletin USAMV-CN*. 2006; 63: 304-308.
 26. Ogawa H, Summerbell RC, Clemons KV. Dermatophytes and host defence in cutaneous mycoses. *Medical Mycology*. 1998; 36: 166-173.

27. Panasiti V, Borroni RG, Devirgiliis V. Comparison of diagnostic methods in the diagnosis of dermatomycoses and onychomycoses. *Mycoses*. 2006; 49:26-29.
28. Proverbio D, Perego R, Spada E, de Giorgi GB, Pepa AD, Ferro E. Survey of Dermatophytes in Stray Cats with and without Skin Lesions in Northern Italy. *Vet Med Int*. 2014; 2014: 1-4.
29. Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR. *Clinical Veterinary Microbiology*. p: 381-390. London, England: Mosby-Wolfe; 1999.
30. Robert R, Pihet M. Conventional methods for the diagnosis of dermatophytes. *Mycopathologia*. 2008; 166: 295-306.
31. Roshanzamir H, Naserli S, Ziaie B, Fakour M. Incidence of dermatophytes isolated from dogs and cats in the city of Baku, Azerbaijan. *Comp Clin Pathol*. 2016; 25:327-329.
32. Scott DW, Miller WH, Griffin CE., eds. Fungal skin diseases. In: Muller and Kirk's *Small Animal Dermatology*, 6th ed. p: 336-361. Philadelphia: W.B. Saunders; 2001.
33. Seebacher C, Abeck D, Brasch J. Tinea capitis: ringworm of the scalp. *Mycoses*. 2007; 50:218-226.
34. Sparkes AH, Stokes GR, Gruffid-Jones TJ. Humoral immune response in cats with dermatophytosis. *Am J of Vet Res*. 1993; 54: 1869-1873.
35. Sparkes AH, Werret G, Stokes GR, Gruffid-Jones TJ. *Microsporium canis* unapparent carriage by cats and the viability of arthrospores. *J Small Anim Pract*. 1994; 35: 397- 401.
36. Stenwig H. Isolation of dermatophytes from domestic animals in Norway. *Nord Vet Med*. 1985; 37:161-169.
37. Seker E, Dogan N. Isolation of dermatophytes from dogs and cats with suspected dermatophytes in Western Turkey. *Prev Vet Med*. 2011; 98:46-51.
38. Tel OY, Akan M. Kedi ve köpeklerden dermatofitlerin izolasyonu. *Ankara Univ Vet Fak Derg*. 2008; 55:167-171.
39. Wright AI. Ringworm in dogs and cats. *J Small Anim Pract*. 1989; 30: 242-249.

BUZAĞILARDA RESPIRATUAR SİNSİTYAL VİRUS (BRSV) ENFEKSİYONLARINDA PATOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL İNCELEMELER

Zafer ÖZYILDIZ¹, Özlem ÖZMEN¹, Hüseyin DOLU¹

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

Geliş Tarihi: 08.12.2017 Kabul Tarihi: 19.12.2017

Makale Kodu: 363907

ÖZET

Bu çalışmada Burdur İli'ndeki buzağılarda saptanan sığır respiratuar sinsityal virus (BRSV) enfeksiyonları makroskopik, mikroskopik ve immunohistokimyasal bulgularıyla detaylı olarak incelendi. Solunum problemleri ile ölen ve immunohistokimyasal olarak BRSV tespit edilen buzağuların nekropsisinde makroskopik olarak kraniyo-ventral loblarda koyu kırmızı renkli ve sert kıvamlı pnömoni alanları gözlemlendi. Bu alanların kesit yüzlerinden köpüklü ve mukopurulent bir eksudat sızıyordu. Mikroskopik olarak akciğer kesitlerinde interstisyel ve bronko-interstisyel pnömoni bulguları gözlemlendi. Pnömoni bölgelerinde yoğun şekilde karakteristik sinsityal hücreler ve bazı bronş-bronşiyol epitellerinde intrasitoplazmik inklüzyon cisimciklerine rastlandı. İmmunohistokimyasal incelemelerde; bronş, bronşiyol ve alveol epitelleri ile lümenlerindeki yangısal hücre ve özellikle sinsityal hücrelerin sitoplazmalarında immuno-pozitif alanlar dikkati çekti. Bu çalışmanın amacı; Burdur bölgesinde buzağılarda ciddi kayıplara neden olan BRSV hastalığında makroskopik, mikroskopik ve immunohistokimyasal bulgularının detaylı olarak sunulmasıdır.

Anahtar kelimeler: *BRSV, buzağı, patoloji, immunohistokimya*

PATHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDIES IN RESPIRATORY CYNCİTIAL VIRUS (BRSV) INFECTIONS IN CALVES

ABSTRACT

In this study, bovine respiratory syncytial virus (BRSV) infections of calves were examined in detail with macroscopic, microscopic and immunohistochemical findings in Burdur province. At necropsy of calves that died from respiratory findings and immunohistochemically BRSV diagnosed, dark red and hard areas in the cranio-ventral lobes grossly. Foamy and mucopurulent exudate was leaking from the cross-sections of these areas. Microscopically, findings of interstitial and broncho-interstitial pneumonia were observed in the lung sections. At the pneumonic areas, marked characteristic syncytial cells and intra cytoplasmic inclusion bodies were seen in some bronchiolar and bronchial epithelial cells. Immunohistochemically, immuno-positive areas were seen in the bronchial, bronchiolar and alveolar epithelial cells and the cytoplasm of inflammatory cells especially syncytial cells. The aim of this study was detailed presentation of macroscopic, microscopic and immunohistochemical findings of BRSV disease in calves which cause serious economic losses in Burdur province.

Keywords: *BRSV, calf, pathology, immunohistochemistry*

İletişim / Correspondence



Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Burdur/Türkiye



+90 248 213 2175



zozyildiz@mehmetakif.edu.tr

GİRİŞ

Bovine respiratuar sinsityal virus (BRSV) enfeksiyonu sığırların önemli solunum yolu enfeksiyonlarından. Özellikle 2 hafta-6 aylık buzağlarda solunum sisteminde şiddetli klinik ve patolojik değişikliklere neden olmaktadır (1). Respiratuar sinsityal virus (RSV) enfeksiyonu, paramyxoviridea familyasına bağlı bir RNA virusu olan pneumovirüsler tarafından oluşturulur (2). Dünyanın bir çok ülkesinde yaygın olarak bulunan bu enfeksiyon (3,4) ülkemizde de sığır işletmelerinde buzağlarda özellikle solunum sistemi hastalıklarına bağlı kayıpların önemli nedenlerindedir (5-8).

Hastalık adını bronş, bronşiol ve alveol lümenlerinde bolca bulunan ve dökülmüş epitel hücre çekirdeklerinin sinsityumu (birleşmesi) ile oluşan sinsityal hücrelerden almıştır. Ayrıca bahsi geçen bölgelerdeki epitel hücre sitoplazmalarında bulunan eozinofilik pembe-homojen görünümlü inklüzyon cisimciklerinin görülmesi hastalığın tanısında önemli kriterlerdendir (1).

Viral enfeksiyon sırasında virusun solunum sistemi hücrelerine yaptığı patolojik etki sebebiyle oluşan yıkım, solunum yolları florasında bulunan *Pasteurella* sp., *Mycoplasma* sp., *Bordetella* sp. gibi fırsatçı bakterilere zemin hazırlamaktadır. Bu durum ise viral ve bakteriyel etkenlerin işe karıştığı mikts enfeksiyonlara (enzootik pnömoni) neden olmaktadır. Bu sebeple bazı araştırmacılar tarafından hastalık, respiratorik hastalık kompleksi içinde sunulmaktadır (1, 9).

İnsanlarda RSV adı altında ve aynı virüsün neden olduğu ciddi solunum sistemi hastalıklarına rastlanmaktadır. Özellikle immun sistemi zayıf olan ya da sürfaktan proteinlerinde (A,B,C,D) eksikliği bulunan çocuklarda ağır, hatta zaman zaman öldürücü hastalık tabloları görülebilmektedir. RSV'nin bağışıklık hücrelerinde yarattığı hasardan dolayı

immun yetersizliğe neden olduğu konusunda raporlar mevcuttur (10, 11).

Buzağlarda görülen BRSV olgularında klinik olarak burun ve gözyaşı akıntısı ile birlikte yüksek ateşle başlayan, devamında hırıltılı solunum ve solunum güclüğü ile karakterize, değişen şiddette bulgular gözlenmektedir. Nekropsi incelemelerinde akciğerin çoğunlukla kranial, kranio dorsal ve ventral loblarında koyu kırmızı renkli, karaciğer kıvamında alanlara rastlanmaktadır. Kesit yüzünde ödem ve atelektazik alanlar haricinde sekonder enfeksiyonların işe karışması ile bronş, bronşiol ve alveollerde irinli ve yer yer nekrotik alanlar görülmektedir. Fibrinli-nekrotik pnömoniye dönüştüğü durumlarda ise akciğerlerin göğüs kafesine yapıştığı dikkati çekmektedir. Mikroskopik olarak, akut dönemde interalveolar ve interlober septal dokuda kalınlaşma, nekrotik bronşiolitis, deskuamasyon ve ödem, kronik olaylarda ise interstisyel fibrozis gibi interstisyel pnömonin tipik bulgularını göstermektedir (12-15). Bununla birlikte alveol ve bronşiol lümenlerinde dökülmüş epitel hücre çekirdeklerinin birleşmesinden oluşan sinsityal hücre formasyonları ile bronş, bronşiol ve pnömositlerde görülen intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri hastalık için tanıtıcı bulgulardır (10, 11).

Bu çalışmada, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderilmiş, solunum sistemi problemi ile ölen ve immunohistokimyasal olarak BRSV teşhisi konulan buzağı akciğerleri patolojik olarak incelendi.

MATERYAL VE METOT

Çalışmanın materyalini Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na 2014-2017 yılları arasında solunum problemi ile ölen ve teşhis için getirilen BRSV şüpheli 6 hafta ile 5 aylık yaş

aralığındaki 12 adet buzağı akciğeri oluşturdu. Doku örnekleri %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildikten sonra rutin patoloji takip prosedüründen geçirilerek parafine gömüldü. Bu parafin bloklardan 5µ kalınlığında normal ve Poly-l-lisinli lamalara kesitler alındı. Normal lamalara alınan kesitler rutin hematoksilin&eoziin boyama yöntemi ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Poly-l-lisin'li lamalara alınan seri kesitler ise standart ticari Avidin-Biyotin Peroksidaz Kompleks (ABC-P) kiti kullanılarak (UNIVERSAL HRP-DAP KIT 500 TEST, BIOGENEX, Cat. No: QD420-YIK) Anti-Respiratory Syncytial Virus antibody (Abcam, Cat. No: ab20745- 1/500 sulandırma) ile boyandı. Tüm kesitlerin Olympus BX51 ışık mikroskopunda Olympus DP25 kamera sisteminde mikrofotografları çekilerek değerlendirilmesi yapıldı. Ayrıca pnömoni bulgusu göstermeyen aynı yaşlardaki 10 adet buzağı akciğerine ait parafin bloklar histopatolojik olarak pnömoni yokluğu teyit edildikten sonra kontrol grubu olarak kullanıldı.

BULGULAR

Nekropsi Bulguları

Klinik olarak öksürük ve burun akıntısı bulunan buzağuların nekropsilerinde akciğerin çoğunlukla kraniyal loblarında lobüller dağılımlı koyu kırmızı renkli, konsolide alanlar gözlemlendi. Bu alanların kesit yüzünde bronş ve bronşiol lümenlerinde köpüklü bir ödem sıvısı ile birlikte mukopurulent bir ekssudat vardı (Figür 1). Şiddetli olaylarda ise boz beyaz renkli yer yer sekte yapılarındaki nekrotik alanlara rastlandı. Konsolide alanların çevresinde yoğun olmakla birlikte kraniyal loblarda amfizemli alanlar görüldü. Bazı olgularda akciğerde geniş konsolide alanlar bulunduğu ve akciğerlerin göğüs kafesine yapışık durumda olduğu tespit edildi.

Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik incelemelerde, akciğer-

de, viral pnömonilerde görülen interstisyel pnömoni bulgularının yanında muhtemel sekonder enfeksiyonların etkisiyle şekillenen bronkopnömoni bulgularıyla kendini gösteren bronkointerstisyel pnömoni belirgindi. Bunun yanında, interalveoler, interlobuler ve interlober damarların hiperemik olduğu tespit edildi. İnteralveolar septal doku, interlobuler septumlar ve interlober septumların mononükleer hücre infiltrasyonları ve ödemden dolayı genişlediği görüldü. Akut vakalarda bronş, bronşiol ve alveol lümenlerinde homojen, pembe renkli ödem sıvısı ve yer yer fibrin iplikçikleri belirlendi. Alveol lümenleri dökülmüş epitel hücreleri, bazı olgularda nötrofil lökosit ve makrofaj infiltrasyonları ile doluydu. Bazı alveol lümenlerinde 3'lü- 5'li epitel döküntülerinin birleşmesinden oluşan karakteristik "*sinsityal hücre formasyonları*"na rastlandı. Tip 1 pnömositler çoğunlukla yıkılmış olup tip 2 pnömositlerde hiperplazi belirgindi. Alveol duvarları silindirik yapıdaki tip 2 pnömositlerle kaplı olup viral pnömonilere özgü "*epitelizasyon*" ya da "*fötalizasyon*" bulguları mevcuttu. Şiddetli olaylarda bronş ve bronşiol lümenlerinde de dökülmüş epitel hücreleri ile nötrofil lökosit ve makrofaj infiltrasyonlarına rastlandı. Bu olgularda ayrıca parankim içerisinde geniş nekrotik alanlar dikkati çekti. Bu alanların çevresinde yoğun yangısal hücre infiltrasyonları vardı. Sinsityal hücre formasyonlarına bazı bronş ve bronşiyol lümenlerinde de rastlandı. Bazı bronş ve bronşiolde epitelial hiperplaziler gözlemlendi. Bronko-alveoler lenfoid dokuların (BALT) birçoğunda lenfoid folliküllerde hiperplazi dikkati çekti. Özellikle kronikleşen durumlarda interstisyel dokuda fibröz proliferasyonlar mevcuttu. Bu bölgeleri çevreleyen alveollerin ise atelektaziye uğradığı tespit edildi. Buna komşu alveollerde ise amfizemli bölgeler saptandı. Etkilenen bronş

ve bronşiol epitellerinden bazılarında homojen-pembe görünümde intrasitoplazmik "inklüzyon cisimcikleri"ne rastlandı. Özellikle bronko-interstisyel pnömoninin gözleendiği durumlarda interlober, lobuler septumlar ve pleurada ödem, fibrin birikimi, nötrofil ve makrofaj infiltrasyonları mevcuttu (Figür 2)

İmmunohistokimyasal bulgular

Anti RSV boyamalar:

Etkenin varlığını ispat eden anti BRSV poliklonal antikor, immunohistokimyasal boyamalarda bronş, bronşiol epitelleri ve lümenlerindeki epitel döküntüleri içerisinde, ayrıca makrofaj ve lenfosit sitoplazmalarında immuno-pozitif alanlar olarak belirlendi. Bazı alanlarda bronşiol ve alveol lümenlerinde ince bir film tabaka halinde immuno-pozitif alanların varlığı tespit edildi. Alveol lümenlerindeki yangısal eksudat, hücre döküntüleri, makrofaj ve lenfosit sitoplazmaları ile sinsityal hücre formasyonlarında da yoğun immunopozitif alanlar gözleendi. Bunların dışında interstisyel doku içerisinde serbest halde ve makrofaj sitoplazmaları içinde de immunopozitif alanlar belirlendi. Kontrol grubu dokularında ise pozitif boyanma saptanmadı (Figür 3).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sığır respiratuar sinsityal virus (BRSV) ve insan respiratuar sinsityal virus (HRSV) Paramyxoviridae ailesinin Pneumovirus grubundan RNA viruslarıdır (16). BRSV, dünyanın birçok bölgesinde genç sığırlarda oluşturduğu önemli enfeksiyonlar nedeniyle ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (12, 17). Çalışmanın materyalinin temin edildiği Burdur yöresinde de bu enfeksiyonun süt veya besi işletmelerinin önemli bir sorunu olduğu gerek daha önce yapılan serolojik çalışmalarla (8) gerekse bu çalışma ile belgelenmiştir.

BRSV enfeksiyonlarında nazal ve konjunktival akıntı ile birlikte şiddetli öksü-

rük belirgin semptomlardır. Olaya sekonder enfeksiyonların karışmasıyla bu tablo daha da ağırlaşır. 6 aylığa kadar olan buzağlarda yüksek ateş, solunum güçlüğü, yerden kalkamama, hırıltılı solunum, ağızdan köpüklü ödem sıvısının gelmesi, tedavilere zor yanıt vermesi ve enfeksiyonun hızla yayılımı önemli bulgulardandır (1, 18). Anabilim Dalımıza gelen nekropsi materyallerinde hayvan sahibinden alınan anemnez bulgularının da yukarıda bildirilen literatür bilgileriyle uyumlu olduğu dikkati çekti.

Viral kökenli pnömonilerin karakteristik bulgularından olan nekrotik bronşitis, bronşiolitis ve bronşial hiperplazi ile interstisyel dokudaki kalınlaşmalar BRSV enfeksiyonu için de geçerlidir. Ancak Parainfluenza, IBR, ortoreovirus gibi solunum sisteminin diğer viral enfeksiyonlarından bronş, bronşiol ve alveol epitellerinde intrasitoplazmik inklüzyon cisimciklerinin ve hastalığa özgü sinsityal hücre formasyonlarının bulunması ile ayrılır (1, 9). Bu çalışmada akciğerlerin mikroskopik incelemesinde bronş, bronşiol epitellerinde ve tip I pnömositlerde nekroz ve deskuamasyon en belirgin bulgulardan- dı. Birçok alanda interlober, interlobuler ve interalveoler dokunun ödem ve mononükleer hücreler nedeni ile kalınlaştığı görüldü. Özellikle bronş ve bronşiol epitellerinde homojen-pembe renkli intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri sıklıkla gözleendi. Ayrıca, alveol ve bronşiol lümenlerinde çok sayıda sinsityal hücrelere rastlandı.

BRSV enfeksiyonu, sığırların enzootik pnömonisi olarak bilinen hastalığın ana etkenlerinden biridir. Virus, sitopatik etkiye ve immun sistem hücrelerinin yıkılmasına neden olarak hayvanda immun yetersizlik oluşturmakta ve sekonder bakteriyel enfeksiyonlara davetiye çıkarmaktadır. İmmun sistemin depresyonu ise ilaç tedavisinde başarısızlık ile sonuçlanmakta ve ölümcül

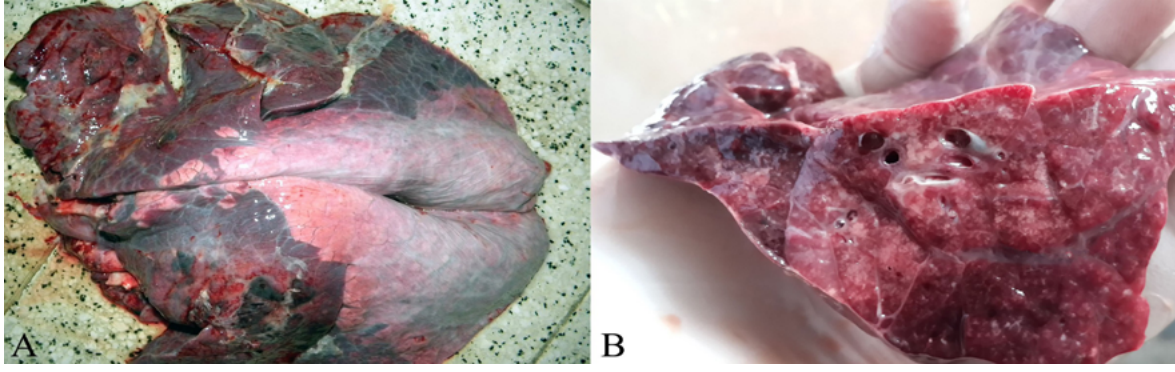
vakalarla karşılaşmaktadır. Bu tür karışık enfeksiyonların sonucunda ise interstisyel pnömoni bronkointerstisyel pnömoniye dönüşmekte ve klinik tablo daha da ağırlaşmaktadır (3, 9, 19). Çalışmada, incelenen akciğer kesitlerinde interstisyel pnömoni yanında bir çok alanda yoğun nötrofil lökosit ve bakteri kümelerinin hatta bazı kesitlerde ise fibrinli pnömoninin önemli bir göstergesi olan plöyritisin görülmesi literatür bilgilerini destekler nitelikteydi.

Hastalığıdaki ana etkenin BRSV olduğunu belgeleyen immunohistokimyasal boyamalarda bronş, bronşiol, alveol epitel ve lümenlerindeki hücre yığınaklarında, mononükleer seriden yangısal hücrelerin sitoplazmalarında immuno-pozitif alanlar bulunduğu bildirilmiştir (4). Çalışma materyalini oluşturan akciğer kesitlerinde de yapılan immunohistokimyasal boyamalarda hem lezyonlu bölgeler (bronş, bronşiol ve alveol epitelleri), hem de alt solunum yolları lümenlerindeki hücre döküntüleri ve yangısal hücrelerde immunopozitif alanlara rastlandı. Bununla birlikte bronş ve bronşiolde gözlenen hiperplastik epitel hücrelerinde de immunopozitif boyanmalar mevcuttu.

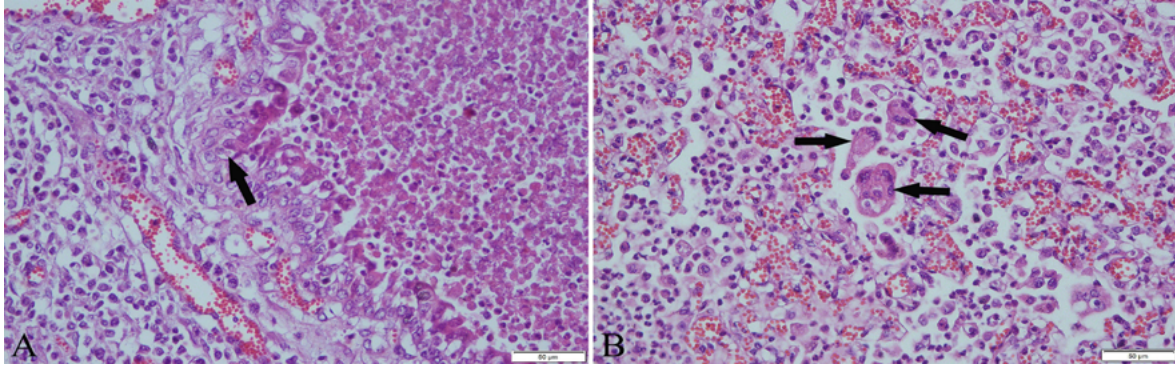
Hastağın viral kökeninden dolayı kemotaktik yanıt oluşmamakta ve immun yanıt geliştikten sonra iyileşme süreci başlamaktadır. Hastalıkta sekonder bakteriyel enfeksiyonların işe karışması akut nötrofilik yanıtın erken başlamasına ve hastalığın şiddetinin artmasına neden olmaktadır. Ancak çeşitli kemotaktik ajanların uyarılarak lezyonlu dokuların ve etkenlerin opsonizasyonunun sağlanması (20-23) ve virusla enfekte hücrelerin şiddetli yangı nedeniyle yıkımlanarak enfekte epitellerin temizlenmesi konularında daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Hastalıkta immun sistemi aktive edici ve solunum yollarını tıkayan ödem ve fibrin çıkışını baskılayıcı ilaçların beraber kullanımının sekonder enfeksiyonlar konusunda

hastalığıdaki tedavi yaklaşımlarını avantajlı duruma getirebileceği düşüncesi için ileri düzeyde araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

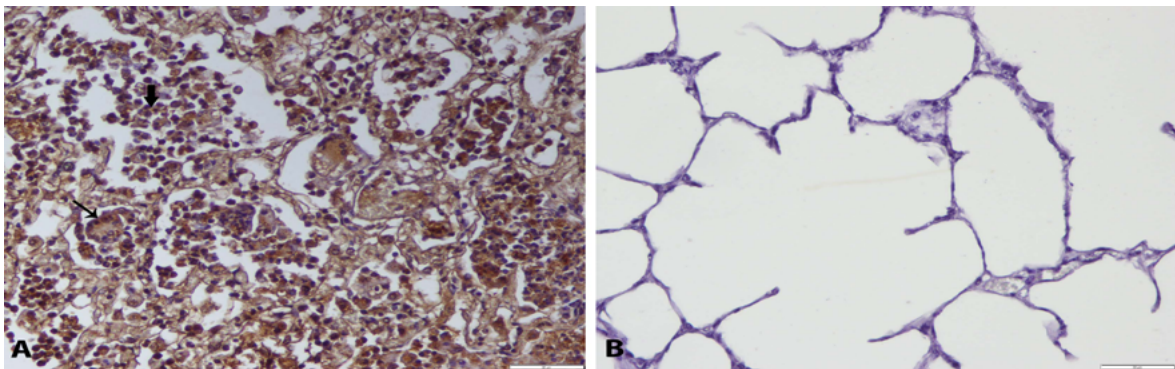
Sonuç olarak, sunulan çalışma ile Burdur bölgesindeki pnömonili buzağılarda BRSV enfeksiyonunun önemi ve patolojik bulguları detaylı olarak incelenip irdelenmiştir. Hastalık her yıl birçok işletmede ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bilinçli ve profesyonel işletmeler hastalığa karşı geliştirilen aşı uygulamalarını kullanarak bu hastalıktan minimal seviyede etkilenmektedir. Ancak halen ilimizde çok sayıda küçük işletme bulunmakta ve bunların da BRSV enfeksiyonu konusunda yeterli bilgisi bulunmamaktadır. Hastalığıdaki patogenetik mekanizmaların açığa çıkarılarak daha iyi anlaşılması ve bunun ışığında üretilecek yeni tedavi ve koruma yaklaşımları enfeksiyona maruz kalan işletmelerde ölüm oranını ve ekonomik kayıpları önemli ölçüde azaltacaktır. Bu çalışma Burdur ili'ndeki BRSV enfeksiyonları konusunda farkındalığı ortaya çıkaracak ve bundan sonra yapılacak çalışmalara ışık tutacak niteliktedir.



Figür 1. Akciğer, buzağı; A. Kranial loblarda konsolide alanlar, B. Konsolide alanların kesit yüzünün görünümü.



Figür 2. Akciğer, buzağı, interstisyel pnömoni (BRSV); A. Şiddetli nekrotik bronşiolitis ve intrasitoplazmik inklüzyon cisimciği (Ok), HE, bar: 50 µm, B. Alveol lümenlerinde yangısal hücre infiltrasyonları ve sinsityal hücre formasyonları (Oklar), HE, bar: 50 µm.



Figür 3. Akciğer, buzağı, bronko-interstisyel pnömoni; A. Alveol lümenlerinde fagositik hücre sitoplazmalarında (kalın ok) ve sinsityal hücre formasyonlarında (ince ok) immuno-pozitif boyanmalar, ABC-P, bar: 50 µm, B. Kontrol, normal akciğer dokusunun histolojik dokusu, ABC-P, bar: 50 µm.

KAYNAKLAR

1. Caswett JL Williams KJ. Respiratory system: Infectious disease of the respiratory system, In Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animal, Volume 3. 5th edition. Edit. Maxie MG. Elsevier Saunders, Edinburgh; pp: 596-598, 2006.
2. McIntosh KR Chanock M. Respiratory syncytial virus, in: Virology, eds. Fields, B. M. & D. M. Knipe, 2nd edn, Raven Press, New York; pp. 1045-1072, 1990.
3. Ellis JA Philbert H West K Clark E Martin K Haines DM. Fatal pneumonia in adult dairy cattle associated with active infection with bovine respiratory syncytial virus, Can VetJ. 1996; 37: 103-105.
4. Flores EF Weiblen R Medeiros Botton MSA Irigoyen LF Driemeier D Schuch LF Morales MA. Retrospective search for bovine respiratory syncytial virus (BRSV) antigens in histological specimens by immunofluorescence and immunohistochemistry, Pesq Vet Bras. 2000; 20(4): 139-143.
5. Çabalar M Şahna KC. Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Süt Sığırlarında Parainfluenza Virus-3, Bovine Herpes Virus-1 ve Respiratory Syncytial Virus Enfeksiyonlarının Seroepidemiolojisi, Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg. 2000; 11(2): 101-105.
6. Duman R Yavru S Kale M Avcı O. Seroprevalence of viral upper respiratory infections in dairy cattle. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2009; 15: 539-542.
7. Yıldırım Y Yılmaz V Majorashin ARF. Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi Sınır İllerinde Bulunan Sığırlarda Viral Solunum Sistemi Enfeksiyonlarının Seroprevalansı, Kafkas Univ Vet Fak Derg 2009; 15(4): 601-606.
8. Kale M Oztürk D Hasırcıoğlu S Pehlivanoglu F Turutoglu H. Some Viral and Bacterial Respiratory Tract Infections Of Dairy Cattle During the Summer Season, Acta Veterinaria (Beograd), 2013; 63 (2): 227-236.
9. Hagglund S Svensson C Emanuelson U Valarcher JF Alenius S. Dynamics of virus infections involved in the bovine respiratory disease complex in Swedish dairy herds. Vet J. 2006; 172(2): 320-8.
10. Tripp RA. Pathogenesis of respiratory syncytial virus infection. Viral Immunology, 2004; 17: 165-181.
11. Leung AKC Kellner JD Davies HD. Respiratory syncytial virus bronchiolitis. Journal of the National Medical Association, 2005; 97: 1708-1713.
12. Baker JC Frey ML. Bovine respiratory syncytial virus, Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 1985; 1: 259-275.
13. Philippou S Otto P Reinhold P Elschner M Streckert HJ. Respiratory syncytial virus-induced chronic bronchiolitis in experimentally infected calves. Virchows Arch. 2000; 436: 617-621.
14. Viuff B Uttenthal A Tegtmeier C Alexandersen S. Sites of replication of bovine respiratory syncytial virus in naturally infected calves as determined by in situ hybridization. Vet Pathol. 1996; 33: 383-390.
15. Viuff B Tjørnehoj K Larsen LE Rontved CM Uttenthal A Ronsholt L Alexandersen S. Replication and clearance of respiratory syncytial virus: apoptosis is an important pathway of virus clearance after experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. Am J Pathol. 2002; 161: 2195-2207.
16. Pringle CR. Virus taxonomy – a bulletin from the Xth International Congress of Virology in Jerusalem. Arch Virol. 1996; 141: 2251-2256.
17. Stott E Taylor G. Respiratory syncytial virus: a brief review, Arch. Virol. 1995; 84:1-52.
18. Van der Fels-Klerx HJ Martin SW Nielen M Huirne RBM. Effects on productivity and risk factors of bovine respiratory disease in dairy heifers; a review for the Netherlands. Neth J Agr Sci 2002; 50: 27-45.
19. Stott E Thomas L Collins A Crouch S

Jebbet J Smith G Luther P Caswell R. A survey of virus infections of the respiratory tract of cattle and their association with disease, *J. Hyg. (Lond.)* 1980; 85: 257-270.

20. Hamvas A. Inherited Surfactant Protein-B Deficiency and Surfactant Protein-C Associated Disease: Clinical Features and Evaluation, *Semin Perinatol.* 2006; 30(6): 316-26.

21. Jack DL Klein NJ. Mannose-binding lectin: targeting the microbial world for complementMalcolm W. Turner attack and opsonophagocytosis. *Immunological Reviews.* 2001; 180: 86-99.

22. Laad AD Thomas ML Fakih AR, Chip-lunkar SV. Human gamma delta T ce lls recognize heat shock protein-60 on oral tumor cells, *Int J Cancer.* 1999; 80 (5): 709-714.

23. Xiong H Pamer EG. Monocytes and infection: Modulator, messenger and effector. *Immunobiology.* 2015; 220: 210-214.

PRESENCE OF *ESCHERICHIA COLI* IN URFA CHEESE AND *IN VITRO* SCREENING OF DONKEY MILK AND ESSENTIAL OIL OF *MICROMERIA CONGESTA* FOR ANTIBACTERIAL ACTIVITY USING DISC DIFFUSION METHOD*

Hikmet DİNÇ¹, Serap KILIÇ ALTUN²

¹Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Harran University, Şanlıurfa, 63200, Turkey

²Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Harran University, Şanlıurfa, 63200, Turkey

Geliş Tarihi: 08.12.2017 Kabul Tarihi: 18.12.2017

Makale Kodu: 363970

**This paper was presented at the International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF) which took place on May 15-17, 2017, in Cappadocia /Turkey*

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the presence and antibiotic resistance profile of *Escherichia coli* strains in Urfa cheeses and comparing the antibacterial activity of donkey milk and essential oil of *Micromeria congesta* plant. For this purpose, 93 fresh Urfa cheese samples were obtained in Şanlıurfa province. Bacteria were isolated and identified by conventional cultural technique. In vitro susceptibility test for antibiotics, donkey milk and essential oil of *Micromeria congesta* were performed with Kirby-Bauer disc diffusion method. Steam distillation was used to provide the essential oil of *Micromeria congesta*. *E.coli* strains were isolated in 43 (46%) of all cheese samples. The *E.coli* were highly resistant to clindamycin (100%), penicillin (100%), oxacillin (100%), tetracycline (100%), neomycin (80%), kanamycin (80%), gentamycin (50%), enrofloxacin (50%), streptomycin (46%) and low level of resistance to imipenem (20%), cefoxitin (16%). This study showed *E.coli* strains developed high rates of multidrug resistance. Antibacterial activity of *Micromeria congesta* essential oil and donkey milk was found to be more effective when compared to reference antibiotics (tetracycline and streptomycin).

Keywords: *Urfa cheese, donkey milk, Micromeria congesta, antibacterial activity*



İletişim / Correspondence

Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Harran University, Eyyübiye Campus, Şanlıurfa, 63200, Turkey.



+90 414 318 39 41



skilcaltun@harran.edu.tr

URFA PEYNİRLERİNDE *ESCHERICHIA COLI*'NİN VARLIĞI VE EŞEK SÜTÜ VE *MICROMERIA CONGESTA* ESANSİYEL YAĞININ ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN DİSK DİFÜZYON YÖNTEMİYLE *IN VITRO* GÖRÜNTÜLENMESİ

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, Urfa peynirlerinde *Escherichia coli* suşlarının varlığını ve antibiyotik direnç profilini belirlemek, eşek sütü ve *Micromeria congesta* bitkisi esansiyel yağının antibakteriyel etkinliğini karşılaştırmaktır. Çalışma kapsamında, Şanlıurfa ilinden 93 adet taze Urfa peyniri örneği toplandı. Konvansiyonel kültür tekniği ile izolasyon ve identifikasyon gerçekleştirildi. Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik, eşek sütü ve *Micromeria congesta* uçucu yağı için in vitro duyarlılık testi yapıldı. *Micromeria congesta*'nın uçucu yağını elde etmek için buhar distilasyon yöntemi kullanıldı. Tüm peynir örneklerinin 43'ünde (% 46) *E. coli* suşu izole edildi. *E. coli* suşları, klindamisin (% 100), penisilin (% 100), oksasilin (% 100), tetrasiklin (% 100), neomisin (% 80), kanamisin (% 80), gentamisin (% 50) enrofloksasin (% 50), streptomisin (% 46)'e yüksek direnç; imipenem (% 20), sefoksitin (% 16)'ine de düşük direnç gösterdi. Bu çalışma *E. coli* suşlarının yüksek oranda çoklu ilaç direnci geliştirdiğini gösterdi. *Micromeria congesta* esansiyel yağı ve eşek sütünün antibakteriyel etkinliği referans antibiyotikler (tetrasiklin ve streptomisin) ile kıyaslandığında antibakteriyel etkinliğinin daha etkin olduğu görüldü.

Anahtar kelimeler: *Urfa peyniri, eşek sütü, Micromeria congesta, antibakterial aktivite*

INTRODUCTION

Milk and dairy products are essential nutrients for the development of the human body. Cheese is a balanced dairy product containing fats, proteins, minerals and most of the required daily vitamins. In addition, it is the most widely consumed dairy product worldwide (1). Milk is comprised of very low levels of microorganisms when milked from healthy animals. On the other hand, many microorganisms such as *Escherichia coli*, can be found in containers used during activities such as milking, distribution and transportation, and from animal's skin, barn's air or milker. In order to minimize the contamination risk, milk should be cooled and transferred to the manufacturing facility immediately. In Şanlıurfa, Urfa cheeses produced with traditional methods from raw milk, that are generally milked in non-hygienic conditions and not subjected to cooling process, may consti-

tute a potential risk for human health (2).

Feces of cows are important reservoir, thus, the milk obtained from these cows are more likely to have *E. coli* contamination (3). *E. coli*, a member of the Enterobacteriaceae family, is a gram-negative bacterium and found in the intestinal flora of human beings and animals, in water, plants, and soil (4). Since it is originated from the intestinal flora, its presence in food, indicates a fecal contamination (5). Pathogenic *E. coli* strains have been reported to cause meningitis, septicemia, food poisoning, intestinal and urinary tract diseases, which is also the second most important cause of mastitis disease seen in high milk yielding cattle (6,7).

For the prevention or the treatment of mastitis, selection of inappropriate antibacterial drugs and their insufficient or high dose usage generates antibiotic resistant *E. coli* strains (8). This type of resistance is called

as acquired resistance. It has been reported that with the transfer of the induced acquired antibacterial resistance and virulence factors to another bacterium by conjugation leads to an increase in the number of resistant strains (9, 10, 11). Moreover, the resistance bacteria display due its innate structure is defined as intrinsic resistance. Essentially, *E. coli* produce broad-spectrum beta-lactamase (ESBL) enzymes. Therefore, by breaking the beta-lactam ring with these enzymes, they eliminate the beta-lactam antibiotics (5, 12). Antibiotic resistance is encountered in bacteria against all antibiotics used in clinics for human or animal health (9). Furthermore, antibacterial resistance is not only a national problem that concerns the present, but also a critical international issue that can negatively affect the whole world in the future (12). Hence, precedence should be given to testing for resistance against commonly used antibiotics such as penicillin, erythromycin, amoxicillin-clavulanic acid, neomycin, gentamycin, cephalosporins, ampicillin, lincomycin and spiramycin applied to the udder during the milking period. For that purpose, antibiograms should be performed to *E. coli* isolated from foods of animal origin all over our country, and drugs that are more effective on the bacteria should be detected (13,14). One of the most common methods for antibacterial resistance detection is the Bauer-Kirby Disk diffusion method (15).

Due to the resistance problem in our country and in the world, many studies on herbal and animal originated materials, that can be alternatives to semisynthetic and synthetic antibacterial drugs, are being conducted. In vivo and in vitro studies showed that plants carry topical antibacterial effects (8). It has been reported that the antibacterial effect of essential oils of the *Micromeria congesta* (*M. congesta*) plant is close to that of synthe-

tic antibiotics (16). *M. congesta* is a member of *Micromeria* genus that belongs to Labiatae family which have 22 taxa and have naturally grown in Turkey (16). *M. congesta* is an endemic plant which is generally named “punge tehta” and “gihaye palug” (17) The plant is often used as a folkloric medicinal treatment against headache, cough, and pulmonary infections (18). In a study, the total bacterial burden in donkey milk was found to be lower than in cow milk, and it was demonstrated that this decrease was due to the natural antibacterial components of donkey milk such as the lactose and lysozyme enzymes (19).

In this study, it was aimed to isolate *E.coli* strains in Urfa cheese produced by traditional methods in Şanlıurfa, to determine the resistance levels of commonly used antibiotics by antibiogram test, and to investigate the antibacterial effects of donkey milk and the essential oils of the *M. congesta* plant, which are potential alternatives to antibacterial medicine in the therapy of infectious diseases, on the *E. coli* strains.

MATERIAL AND METHODS

In this study, 93 fresh Urfa cheese samples were obtained from local markets in Şanlıurfa province between January to March 2017. Samples were collected under aseptic conditions as 250 g each. They were brought to the Department of Food Hygiene and Technologies laboratories of Veterinary Faculty of Harran University in cold chain, and stored at -20 0C until analyze.

Samples were portioned as 25 g each under sterile conditions and were transferred to sterile stomacher bags with an addition of 225 mL of modified Tryptic Soy Broth (mTSB with novobiocin; Merck, Germany) After homogenization samples were incubated for 12 hours at 41°C under aerobic conditions. Chromocult TBX Agar (Merck, Darmstadt, Germany) was used for isolation.

Then the immunomagnetic separation (IMS) method was used according to the manufacturer's instructions (Dynabeads, Inc., Dynal, Norway). Five typical colonies from petri dishes used for identification. Antibiotic susceptibility tests were done by the disc diffusion method as described Bauer et al. (20) with Mueller Hinton agar (Oxoid, UK). Zones of inhibition were measured after 24 hours and again after 48 hours of incubation at 37 °C. A suspension of the tested microorganism (0.1 mL of 10⁸ cells/mL) was spread on media plates. Sterilized discs of 6 mm (Schleicher and Schuell, No. 2668) were soaked with 0.25 µL of oil and donkey milk placed on the inoculated plates and after staying at 4°C for 2 hours were incubated at 37°C for 24 hours. The diameters of the inhibition zones were measured in millimeters.

M. congesta were gathered during the flowering season in June to July 2016, from the Germüş village of Şanlıurfa. Dr. Mustafa Aslan identified all the gathered plants as *M. congesta*. The plants were collected in polyethylene bags. The essential oil of *M. congesta* was provided via hydrodistillation by using a Clevenger type apparatus for 6-8 hours. The essential oil samples were dehydrated by hydrous sodium sulfate and kept at + 4 °C until analysis (16).

RESULTS

In this study 93 Urfa cheese samples were analyzed for the presence of *E. coli* by using the conventional culturing method. All *E. coli* isolates gave Gram-negative, oxidase, and sorbitol negative and catalase positive reactions.

E. coli strains were isolated in 43 (46%) of all cheese samples. *E. coli* strains were highly resistant to clindamycin (100 %), penicillin (100 %), oxacillin (100 %), tetracycline (100 %), neomycin (80 %), kanamycin (80 %), gentamycin (50 %), enrofloxacin (50 %),

streptomycin (46 %) and low level of resistance to imipenem (20 %), cefoxitin (16 %). In vitro, antibiotic sensitivity test was done as per recommendation of the Clinical and Laboratory Standard Institute (21).

DISCUSSION

Food chain has been known as one of the primary passage for antibiotic-resistant bacteria between the animal and human population is an accepted opinion (5).

E. coli is a fecal contamination indicator in foods and classified into subtypes which groups of strains cause diseases that have different virulence factors (22). The most clinical syndromes in humans are hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome (23). Dairy products produced using raw milk contaminated with *E. coli* could be risk to human health, by the bacteria may survive throughout the producing and ripening process of dairy products. The ability of *E. coli* is noted with different kind of traditional dairy products which are made from raw cow milk (24), raw goat milk lactic cheeses (23), yogurt (25), and, moreover Feta cheese (26) has been reported. Previous studies have been reported the antibiotic resistance in *E. coli* strains isolated from milk and dairy products and the described antibacterial resistance levels appear material-specific without the main attitude (27,28). All *E. coli* isolates were found to be resistant to tetracycline and clindamycin which are also used in practice to treat coliform infections (24). Dinç et al.(2012) reported that among the *E. coli* strains which were isolated from milk samples in Ankara, Balıkesir, and Çorum, the highest resistance rates were analyzed against to erythromycin, ampicillin, tetracycline, nalidixic acid, chloramphenicol, trimethoprim-sulfamethoxazole and amoxicillin-clavulanic acid, respectively (8). In this study multidrug resistance of *E. coli* was detected on two or more antibiotics such as

Table 1: Percentage antibiotic resistance of *E. coli* isolates from Urfa cheese samples

Antibiotics	n	R	I	S
Streptomycin(10µg)	24	11(46%)	11(46%)	2(8%)
Gentamycin(10µg)	6	3(50%)	2(33%)	1(17%)
Tetracycline(30µg)	4	4(100%)	0	0
Neomycin(30µg)	5	4(80%)	1(20%)	0
Clindamycin(2µg)	5	5(100%)	0	0
Kanamycin(30µg)	5	4(80%)	1(20%)	0
Penicilline(10U)	5	4(80%)	1(20%)	0
Oxacillin(1µg)	5	4(80%)	1(20%)	0
Enrofloxacin(5µg)	6	3(50%)	1(17%)	2(33%)
Cefoxitin(30µg)	6	1(16%)	1(16%)	4(68%)
Imipenem(10µg)	5	1(20%)	4(80%)	0
Donkey milk(0.25µL)	24	3(12%)	0	21(88%)
<i>M. congesta</i> (0.25µL)	24	1(4%)	0	23(%96)

n: number of *E. coli* isolates R: Resistant I: Intermediate S: Susceptible

tetracycline and clindamycin. Few of *E. coli* strains isolated from Urfa cheeses were not resistant to cefoxitin, imipenem, enrofloxacin used in this research (Table 1).

Our findings were similar to Momtaz et al. (2012) (29) and Stephan et al.,(2008) (30). The multidrug resistance in this study is common among *E. coli* isolate especially to tetracycline and ampicillin as Aslani et al.'s (2011) study (31). Tabaran et al. (2017) reported that the most often resistance was observed to cephalothin, nalidixic acid, doxycycline, tetracycline, and ampicillin (32). Paneto et al. (2007) reported that the toxigenic *E. coli* in cheese and raw milk were found 2 % and 6 % (33).

When we compare the antibacterial activity of the essential oil of *M. congesta* and donkey milk to that of reference antibiotics, results show that the antibacterial activity of *M. congesta* and donkey milk is considered as significant. Our results are similar to Herken et al.'s (2012) study (16).

The antibacterial activity of donkey milk studies in *E. coli* which isolated from cheese samples, we could not find a study showing the antibacterial effect of the donkey milk.

CONCLUSION

To the best of our knowledge, this study represents the first survey of *E. coli* strains in Urfa cheeses produced by traditional methods in Şanlıurfa, and the resistance levels of commonly used antibiotics by antibiogram test, also the antibacterial effects of donkey milk, and the essential oils of the *M. congesta* plant. The percentage of antibiotic resistance of the *E. coli* isolates studied herein are high and also the antibacterial activity of both donkey milk and *M. congesta* are also effectiveness. The results of this study provide knowledge about natural antibacterial sources (*M. congesta* and donkey milk) which are growing demand for natural antibacterials for food protection and human health. Due to the potential damage of antibiotics, most direct and effective measurement for protecting the public health is the practice of preventive medicine or find alternative antibacterials.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors wish to thank to assistant professor doctor Nilgün PAKSOY for laboratory and Grammarly helps.

REFERENCES

1. Yangılar F, Kızılkaya PÇ. Determination of physical, chemical and microbiological properties of aromatic Ardahan cecil cheese. BEU Journal of Science. 2015; 4(2), 122-130.
2. Atasoy FA, Türkoğlu H, Özer BH. Some microbiological properties of raw milk, yogurt and fresh Urfa cheese produced and sold in Şanlıurfa province. J.Agric Fac. HR.U. 2003; 7 (3-4): 77-83.
3. Coia JE. Clinical, microbiological and epidemiological aspects of *Escherichia coli* O157 infection. FEMS Immunology and Medical Microbiology. 1998; 20: 1-9.
4. Ribeiro T, Oliveira M, Fraqueza MJ, Luková A, Elias M, Tenreiro, R, Barreto, AS, Semedo-Lemsaddek T. Antibiotic resistance and virulence factors among enterococci isolated from Chouriço, a traditional Portuguese dry fermented sausage. J. Food Protect. 2011; 74: 465-469.
5. Vrabec M, Lovayová V, Dudriková K, Gallo J, Dudriková E. Antibiotic resistance and prevalence of *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* isolated from bryndza cheese. Ital. J Anim Sci. 2015; 14: 3968.
6. Aslan S, Özdemir F. Extended spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* strains isolated from homemade white cheeses prevalence and antibiotic susceptibility. World J Microbiol Biotechnol. 2008; 24: 2361-2364.
7. Bengtsson B, Unnerstad HE, Ekman T, Artursson K, Nilsson-Öst M, Waller KP. Antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of acute clinical mastitis in dairy cows. Vet Microbiol. 2009; 136: 142-149.
8. Dinç G, Ata Z, Temelli S. Sığır mastitiserinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz aktivitesi ve antibiyotik dirençlilik profilinin incelenmesi. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 2012; 59: 85-88.
9. Srinivasan V, Gillespie BE, Lewis MJ, Nguyen LT, Headrick SI, Schukken YH, Oliver SP. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from dairy cows with mastitis. Vet Microbiol. 2007; 124: 319-328.
10. Sumathi BR, Amitra RG, Krishnappa G. Antibiogram profile based dendrogram analysis of *Escherichia coli* serotypes isolated from bovine mastitis. Vet World. 2008; 1: 37-39.
11. Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiol Mol Biol Rev. 2010; 74(3): 417-33.
12. Shah AA, Hasan F, Ahmet S, Hameed A. Extended -spectrum beta-lactamases (ESBLs) characterization, epidemiology and detection. Crit Rev Microbiol. 2004; 30(1): 25-32.
13. Kaya S, Baydan E. Meme içi ilaç hareketi ve meme hastalıklarının sağaltımı, Türk Vet. Hek. Derg. 1999; 11: 34-47.
14. Yıldız A. Laktasyondaki subklinik ve klinik mastitisli sütçü ineklerde lincomycin-neomycin kombinasyonu ile meme içi tedavinin etkinliği. F.Ü Sağlık Bil. Dergisi. 2003; 17(1): 65-69.
15. Kahlmeter G, Brown DF, Goldstein FW, MacGowan AP, Mouton JW, Odenholt I, Rodloff A, Soussy CJ, Steinbakk M, Soriano F, Stetsiouk O. European Committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST) technical notes on antimicrobial susceptibility testing. Clin Microbiol Infect. 2006; 12: 501-503.
16. Herken EN, Çelik A, Aslan M, Aydınlik N. The constituents of Essential Oil: Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Micromeria congesta* Boiss&Hauksn.ex Boiss. from East Anatolia. J.Med Food. 2012; 15(9): 835-839.
17. Akan H, Korkut MM, Balos MM. Arat Dağı ve Çevresinde (Birecik, Şanlıurfa) Et-nobotanik bir Araştırma. Sci Eng J Fırat Univ. 2008; 20: 67-81.
18. Baytop, T. Therapy with medicinal plants

- in Turkey (Past and Present). Nobel Tıp publishing; 1999.
19. Şahintürk M, Öner Z. Eşek sütünün Özelliklerinin Belirlenmesi. Türkiye 12. Gıda Kongresi. Trakya Üniversitesi, Edirne. 2016; 154.
 20. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turk M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Amer. J. Clin. Pathol.* 1966; 45: 493-496.
 21. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2012). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 32:3, CLSI, Wayne, PA.
 22. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004; 2: 123–140.
 23. Vernozy-Rozand C, Mazuy-Cruchaudet C, Bavai C, Montet MP, Bonin V, Dernburg A, Richard Y. Growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and ripening of raw goat milk lactic cheeses. *Int. J. Food Microbiol.* 2005; 105: 83–88.
 24. Solomakos N, Govaris A, Angelidis AS, Pournaras S, Burriel AR, Kritas SK, Papageorgiou DK. Occurrence, virulence genes and antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from raw bovine, caprine and ovine milk in Greece. *Food Microbiology.* 2009; 26(8): 865-871.
 25. Govaris A, Koidis P, Papatheodorou K. Behaviour of *Escherichia coli* O157:H7 in sour milk, cow's milk yogurt and ewe's milk yogurt. *J. Dairy Res.* 2002; 69: 655–660.
 26. Govaris A, Papageorgiou D, Papatheodorou K. Behaviour of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and ripening of Feta and Teleme cheese. *J. Food Prot.* 2002; 65: 609–615.
 27. Caro I, Mateo J, Garcí'a-Armesto MR. Phenotypical characteristics of Shigalike toxin *Escherichia coli* isolated from sheep dairy products. *Lett. Appl. Microbiol.* 2007; 45: 295–300.
 28. Lira WM, Macedo C, Marin JM. The incidence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in cattle with mastitis in Brazil. *J. Appl. Microbiol.* 2004; 97: 861–866.
 29. Momtaz H, Farzan R, Rahimi E, Safarpour Dehkordi F, Souod N. Molecular characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from ruminant and donkey raw milk samples and traditional dairy products in Iran. *Scientific World J* 2012; 1–13.
 30. Stephan R, Schumacher S, Corti S, Krause G, Danuser J, Beutin L. Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Swiss raw milk cheeses collected at producer level. *J Dairy Sci.* 2008; 91: 2561–2565.
 31. Aslani MM, Alikhani MY, Zavari A, Yousefi R, Zamani AR. Characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) clinical isolates and their antibiotic resistance pattern. *Int J Infect Dis.* 2011; 15: 136–139.
 32. Tabaran A, Mihaiu M, Tăbăran F, Colobatiu L, Reget O, Borzan MM, Dan SD. First study on characterization of virulence and antibiotic resistance genes in verotoxigenic and enterotoxigenic *E. coli* isolated from raw milk and unpasteurized traditional cheeses in Romania. *Folia Microbiologica.* 2017; 62(2): 145-150.
 33. Paneto BR, Schocken-Iturrino RP, Macedo C, Santo E, Marin JM. Occurrence of toxigenic *Escherichia coli* in raw milk cheese in Brazil. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2007; 59: 508–512.

PAPAĞANLARDA *DERMANYSSUS GALLINAE* KAYNAKLI KANİBALİZM

Nafiye KOÇ¹, Banuçiçek YÜCESAN, Serpil NALBANTOĞLU¹

¹Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Ankara

²Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Ankara

Geliş Tarihi: 07.12.2017 Kabul Tarihi: 25.12.2017

Makale Kodu: 363443

ÖZET

Nymphicus hollandicus ve *Amazona amazonica* türlerine ait, iki papağan, sahiplerinin şiddetli kaşıntı ve kanibalistik davranışlar fark etmesi üzerine Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesine Parazitoloji kliniğine getirilmiştir. Fiziksel muayenede yoğun tüy döküntüsü ve bu bölgelerde şekillenmiş eritematöz papüller dışında herhangi bir klinik semptom gözlenmemiştir. Anamnez ve klinik bulguların değerlendirilmesi ile ektoparazitik inceleme uygun görülmüştür. Bu amaçla hem papağanların üzeri hem de kafes ve ekipmanları dikkatli bir şekilde incelenmiş ve 1 mm'den daha küçük çok sayıda akar tespit edilmiştir. Toplanan akar numunelerin mikroskopik analizi sonucunda *Dermanyssus gallinae* olduğu anlaşılmıştır. Bu olgu sunumuyla, evcil kanatlılarda pruritus ve otokanibalizm ile seyreden klinik tablo ile karşılaşıldığında, beslenme eksikliklerinin ve yetiştirme hatalarının yanı sıra ektoparazitler yönünden de incelenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Dermanyssus gallinae*, papağan, kanibalizm

CANNIBALISM IN PARROT CAUSED BY *DERMANYSSUS GALLINAE*

ABSTRACT

Two parrots belong to two different parrot species (*Nymphicus hollandicus* and *Amazona amazonica*) with severe itching and feather loss especially in the evening were submitted to the Ankara University Parasitology clinic at different times. No clinical symptoms other than intense feather loss and erythematous papules in the affected areas of the skin has been observed in physical examination. According to the anamnesis and clinical findings, ectoparasite examination was conducted. For this purpose, both parrots and cages with their equipment were carefully examined and a large number of mites smaller than 1 mm were detected. Microscopic analysis of the collected mite samples revealed to be *Dermanyssus gallinae*. In this report, it is concluded that in case of inspection the symptoms characterized with pruritus and cannibalism, in domestic poultry, the animal should be examined in terms of ectoparasites as well as nutritional deficiencies and breeding errors.

Keywords: *Dermanyssus gallinae*, parrot, cannibalism



İletişim / Correspondence

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Ankara



+90 312 317 0315/4348



nafiyekoc@gmail.com

GİRİŞ

Dermanyssus gallinae, tüm dünyada, evcil ve yabani kanatlılarda yaygın olarak görülen en önemli ektoparazitlerden birisidir. Yapılan çalışmalarda bu ektoparazite, 8 dizideki 12 ailede yer alan tavuk, güvercin, kanarya, muhabbet kuşu, serçe, papağan ve sığırcık dahil en az 30 kanatlı türünde rastlanmıştır (1). Kanatlı hayvanların dışında geçici olarak, insan, kedi, köpek, sığır, fare ve diğer memelilerde de enfestasyona sebep olmaktadır (2). Özellikle geceleri konaklarından kan emen bu ektoparazitler, bakteri ve virüs gibi çeşitli patojenlerin naklinde rol oynayan en önemli vektörlerdendir. Uykusuzluk, irritasyon, anemi, yemden yararlanma kapasitesinde azalma, buna bağlı olarak bağışıklığın zayıflaması ve hatta ölümle sonuçlanabilen doğrudan zararları da bulunmaktadır. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda, *D. gallinae* enfestasyonunun kanatlılarda kanibalizmi tetiklediği de bildirilmiştir (3, 4, 5).

Kanibalizm hem yabani hem de evcil birçok hayvan türünde tespit edilmiş bir davranıştır. Vahşi doğada yiyecek bulmak, hayatta kalma mücadelesi üzerine tanımlanan bu davranış, kafes hayvanlarında çoğunlukla psikopatolojik davranış bozukluğu olarak ortaya çıkmakta ve altında yatan sebepler net olarak anlaşılammaktadır. Ancak, evcil hayvanlarda kanibalizmin beslenme ve yetiştirme hatalarına bağlı ortaya çıkabileceği düşünülmektedir (6, 7).

Bu çalışmada *Dermanyssus gallinae*'nin papağanlarda ağır bir klinik tablo ile seyredebileceği ve kanibalizmi tetikleyebileceği vurgulanmıştır.

OLGU SUNUMU

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Protozooloji ve Entomoloji laboratuvarına farklı zamanlarda özellikle akşamları artan

kaşıntı ve tüylerin yolunması gibi şikâyetlerle iki farklı tür papağan, *N. hollandicus* (Resim 1A) ve *A. amazonica* (Resim 1B), getirilmiştir. Fiziksel muayenede, nerdeyse tüm vücutta yoğun tüy dökülmesi ve şiddetli kaşıntıya bağlı olarak tüylerin koparıldığı bölgelerde eritematöz papüller tespit edilmiştir. Bunların dışında herhangi bir klinik semptom gözlenmemiştir. Her iki vakada da hasta sahipleri, papağanların yaşam alanlarında başka evcil hayvanların olmadığını ve son zamanlarda herhangi bir ortam veya yem değişikliğinin yapılmadığını bildirmişlerdir. Klinik semptomlar ve alınan anamnez doğrultusunda, dış parazit yönünden incelenmiştir.

Kafes ve ekipmanları detaylı olarak incelendiğinde kafes demirleri birleşim yerlerinde, altlık, yemlik ve suluk kenarlarında 1 mm'den daha küçük akarlar göze çarpmıştır. Toplanan bu akarların stereo ve ışık mikroskobu altında incelemeleri yapılmış teşhis için önemli morfolojik özellikleri kaydedilmiştir (Resim 2). Ayrıca yaşam bölgesi ve diğer kanatlı hayvanlarla olan yakınlığı gibi bilgiler not edilmiştir. Yapılan mikroskobik incelemeler sonucunda, *D. gallinae*'nin bütün gelişme dönemleri (yumurta, larva, nimf ve ergin) tespit edilmiştir (8).

Tedavi amacıyla her papağan için 15 mg Selamectin 10 gün ara ile iki kez uygulanmıştır. Ayrıca, kafes ve ekipmanların mekanik temizliğine de dikkat edilmiştir. Tedavi sonucunda klinik bulguların gerilediği gözlemlenmiştir.

TARTIŞMA

Dermanyssus gallinae enfestasyonu günümüzde gerek yumurta tavukçuluğu sektöründe (9, 5), gerekse evcil hayvanlarda (5) ve insanlarda (10) giderek artan bir problem haline gelmektedir. Özellikle evcil hayvanlarda ve insanlarda enfestasyonun ev

çevresinde bulunan kuş yuvaları aracılığıyla ya da enfeste tavuk çiftlikleriyle ilişkili oldukları durumlarda gerçekleştiği belirtilmektedir (11, 5). Sunulan bu olgularda, *A. amazonica* türü papağanın yeni sahiplenildiği için geçmişine dair bilgi edinilemese de *N. hollandicus* türü papağanın büyük olasılıkla balkondaki güvercin yuvası aracılığıyla enfeste olduğu sonucuna varılmıştır.

Kanibalizm kanatlı hayvanların en önemli problemlerinden biri olarak görülmektedir. Kafes hayvanlarında kanamalı açık yaralara, refah sorunlarına hatta ölümlere yol açarken yetiştiriciliği yapılan kanatlılarda bunların sonucu olarak ciddi ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (12, 7). Kanatlılarda bu davranış bozukluğunun, sadece diğer hayvanlara zarar verme şeklinde izlenmediği, etkilenen hayvanların kendi dışkı, tüy, telek, tırnak gibi vücut parçalarını da yeme eylemi gösterdiği bilinmektedir ki söz konusu tutum, otokanibalizm olarak tanımlanmaktadır (6). Gelen iki olguda da kendi kendini gagalamasıyla vücutlarında oluşan derin yaraların, *D. gallinae*'nin kan emme sırasında neden olduğu irritasyon ve kaşıntıya bağlı olarak şekillendiği düşünülmüştür.

Zoonoz bir ektoparazit olan *D. gallinae*'nin insanlarda da enfestasyona sebep olduğu çok kez rapor edilmiş, vücudun ve ekstremitelerin bazı kısımlarında ağrılı ve tipik kırmızı makulopapüler lezyonlara sebep olduğu bildirilmiştir (11, 2). Bu olgularda ise iki papağanın sahibinde de herhangi bir semptom görülmemiştir.

Sonuç olarak papağanlarda *D. gallinae* kaynaklı kanibalizm olgusu ilk kez ortaya konmuştur. Evcil kanatlılarda kanibalizm ile seyreden klinik tablo ile karşılaşıldığında, beslenme eksikliklerinin ve yetiştirme hatalarının yanı sıra ektoparazitler yönünden de incelenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Kanibalizm olgularında, özellikle

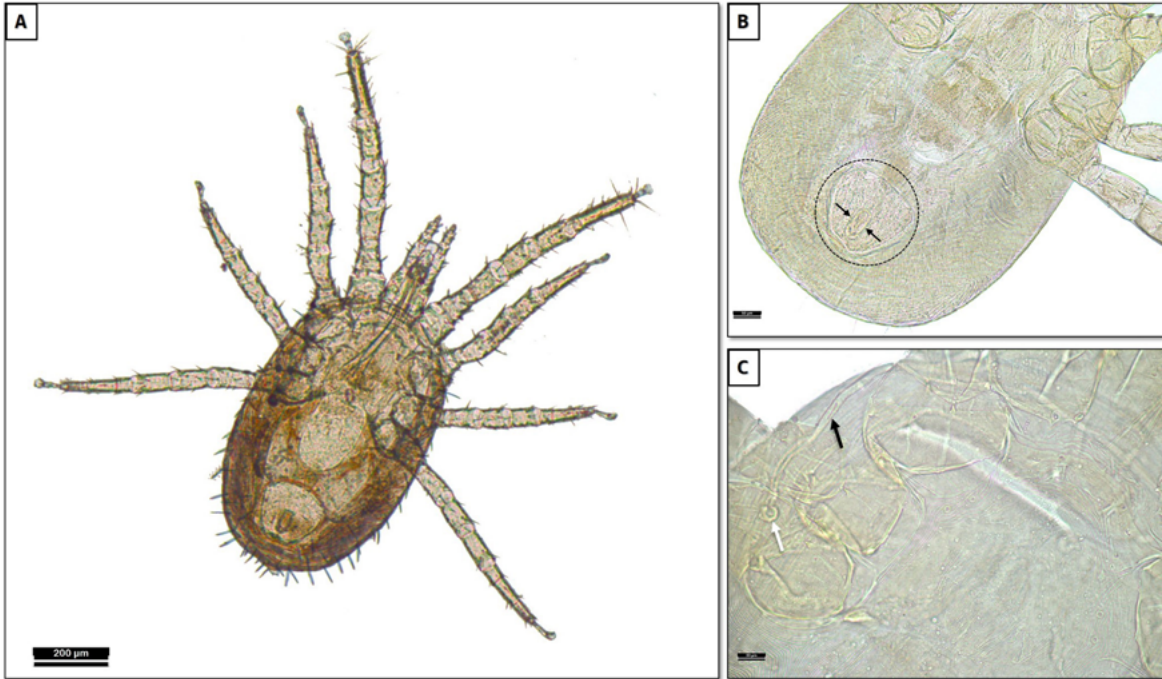
kanatlılarda çok sık rastlanan ve güvercinler aracılığıyla bulaşması çok kolay olan *D. gallinae* de göz ardı edilmemelidir.

TEŞEKKÜR

Fotoğrafların çekimi ve düzenlenmesine katkılarından dolayı Ahmet CEYLAN'a teşekkür ederiz.



Resim 1: A: *Nymphicus hollandicus* B: *Amazona amazonica*



Resim 2: A: *Dermanyssus gallinae* B: Daire: Anal plak, ok: Anüs C: Beyaz ok: Stigma, Siyah ok: Peritreme

KAYNAKLAR

1. Roy L, Chauve C. Historical review of the genus *Dermanyssus* DUGÈS, 1834 (ACARI: MESOSTIGMATA: DERMANYSSIDAE). *Parasite*, 2007; 14: 87-100. DOI: 10.1051/parasite/2007142087.
2. Mullen G, Durden L. *Medical and Veterinary Entomology*. Academic press; 2002.
3. Chauve C. The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778): current situation and future prospects for control. *Vet Parasitol*. 1998; 79: 239–45. DOI: 10.1016/S0304-4017(98)00167-8.
4. Kilpinen O, Roepstorff A, Permin A, Norgaard-Nielsen G, Lawson LG, Simonsen HB. Influence of *Dermanyssus gallinae* and *Ascaridia galli* infections on behaviour and health of laying hens (*Gallus gallus domesticus*). *Br Poult Sci*. 2005; 46: 26–34. DOI: 10.1080/00071660400023839.
5. Sparagano O, George DR, Harrington DWJ, Giangaspero A. Significance and Control of the Poultry Red Mite, *Dermanyssus gallinae*. *Annu Rev Entomol*. 2014; 59: 447-66. DOI: 10.1146/annurev-ento-011613-162101.
6. Lindenbaum S. Thinking about cannibalism. *Annu Rev Anthropol*. 2004; 33: 475–98. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.anthro.33.070203.143758>.
7. Louton H, Bergmann SM, Rauch E, Liebers C, Reese S, Erhard MS, Hoeborn C, Schwarzer A. Evaluation of welfare parameters in laying hens on the basis of a Bavarian survey. *Poultry Science* 2017; 0: 1–15. DOI: <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex156>.
8. Di Palma A, Giangaspero A, Cafiero MA, Germinara GS. A gallery key characters to ease identification of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Gamasida: Dermanyssidae) and allow differentiation from *Ornithonyssus sylviarum* (Acari: Gamasida: Macronyssidae). *Parasit Vector*. 2012; 30: 104-114. DOI: 10.1186/1756-3305-5-104.
9. Karaer Z., Uslu U., Nalbantoğlu, S. *Dermanyssus* enfestasyonları. In Özcel MA, Karaer Z, editors. *Veteriner hekimliğinde parazit hastalıkları cilt 1*. 2nd ed. p. 625-28. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, Meta basım; 2016.
10. Pezzi M., Leis M., Chicca M., Roy L. Gamasoidosis caused by the special lineage L1 of *Dermanyssus gallinae* (Acarina: Dermanyssidae): A case of heavy infestation in a public place in Italy. *Parasitology International*. 2017; 66: 666–670. DOI: 10.1016/j.parint.2017.05.001.
11. Collgros H, Iglesias-Sancho M, Aldunce MJ, Exposito-Serrano V, Fischer C, Lamas N, Umbert-Millet P. *Dermanyssus gallinae* (chicken mite): an underdiagnosed environmental infestation. *Clin Exp Dermatol*. 2013; 38: 374–377. DOI: 10.1111/j.1365-2230.2012.04434.x.
12. Brantsæter M, Nordgreen J, Hansen TB, Muri K, Nødtvedt A, Moe RO, Janczak AM. Problem behaviors in adult laying hens – identifying risk factors during rearing and egg production. *Poult Sci*. 2017; 0: 1–15. DOI: 10.3382/ps/pex276.

SIĞIRLARDA SÜT VERİMİNİ ARTTIRMADA PROBİYOTİKLERİN KULLANIMI

Deniz ALIÇ URAL¹, Songül TOPLU² ✍

¹Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Çiftlik Hayvanları, Işıklı/AYDIN

²Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Işıklı/AYDIN

Geliş Tarihi:26.07.2017 Kabul Tarihi: 06.12.2017

Makale Kodu: 331014

ÖZET

Organik hayvancılığın önem kazandığı günümüz koşullarında, tüketici bilincinin de gelişmesiyle birlikte hem insan hem de hayvan sağlığına zarar vermeksizin hayvansal ürün miktarı ve kalitesini arttırıcı farklı yem katkı maddeleri arayışı gündeme gelmiştir. Bu alternatif yem katkı maddelerinden biri olan probiyotiklerin, hayvan besleme alanında oldukça geniş bir kullanım alanına sahip olduğu görülmektedir. Söz konusu çalışmada, probiyotik kavramı, genel etki mekanizması, süt sığırcılığında kullanım alanları ile süt verimini arttırmadaki rolü incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Süt sığırtı, probiyotik, verim*

PROBIOTIC USAGE FOR INCREASING MILK YIELD IN CATTLE

ABSTRACT

In present conditions that organic livestock gain importance, the search of different feed additives increasing the quantity and quality of animal products without harming human and animal health has become a current issue with the development of consumer awareness. Probiotics, one of these alternative feed additives, are seen to have a wide application in the field of animal nutrition. In this study, probiotic definition, general mechanism of action, usage area in dairy cattle with the role of increasing milk yield were examined.

Keywords: *Dairy cattle, probiotic, yield*



İletişim / Correspondence

Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Eğitim Öğretim Bloğu, Işıklı/AYDIN



+90 0533 669 1718



alicdeniz@gmail.com

GİRİŞ

Türkiye, toplamda 14 milyon 80 bin baş sığır varlığı ile süt üretiminde önemli bir potansiyele sahiptir. Ülkemizde toplam süt üretimi, 2016 yılında bir önceki yıla göre % 0.9 oranında azalma göstererek 18 milyon 489 bin ton olarak gerçekleşmiş olup, söz konusu miktarın % 90.8'ini inek sütü, % 6.3'ünü koyun sütü, % 2.6' sını keçi sütü ve % 0.3'ünü manda sütü oluşturmuştur (1). Süt üretiminde sığırın bu kadar önemli bir yere sahip olmasının nedenleri arasında başlıca bölgesel yetiştirme koşullarına adaptasyon ve kaba yem değerlendirme kabiliyetinin yüksek olması sayılabilir.

Süt sığırı yetiştiriciliğinin önemli gelir kaynaklarından birisi süt üretimidir. Yüksek süt verimi elde etmenin koşullarından birisi olarak görülen yüksek süt verimli inek kapasitesinin doğrudan işletme karlılığında tek başına yeterli olmadığı bilinen bir gerçektir.

Son yıllarda, dünya nüfusunda meydana gelen artışa paralel olarak tarım ürünlerine de olan talebin artışı, bitkisel üretimin yanında hayvansal üretimde de farklı üretim modelleri arayışına neden olmuştur. Bu üretim modellerinden olan entansif üretimde öncelikli hedef birim alandan yüksek miktarda ürün alınması olduğundan, hayvansal üretimde çeşitli katkı maddelerinin kullanımındaki yoğunluk, bilinçsiz kullanımı ve sağlık kriterlerine uymama durumlarını da beraberinde getirmiştir. Öyle ki, gelişimi tetikleyen çeşitli hormon ve antibiyotikler ile rumene yönelik manipulasyon uygulamaları sonucunda antibiyotiğe dirençli gen gelişiminin (2,3) yanı sıra süt ve ette antibiyotik kalıntısını (4) kapsayan iki önemli toplum sağlığı problemiyle karşı karşıya kalınmıştır. Bu gibi sebeplerden ötürü, günümüzde sağlıklı, kaliteli ve risk faktörleri içermeyen ürün elde etmeye yönelik, kontrollü koşullarda gerçekleştirilen sertifikalı bir üretim faaliyeti olan

organik hayvancılığa olan önem ivme kazanmıştır (5,6).

Hayvan beslemede yaygın olarak kullanılan yem katkı maddelerinin hem pahalı olması hem de yanlış kullanımları ile yukarıda bahsedilen olumsuz etkilerden dolayı, değişik biyoteknolojik uygulamalara bir yönelim söz konusu olmuştur. Bu noktadan hareketle, hayvanların verimlerinin artırılmasının yanında sağlığına da olumlu katkılarda bulunan probiyotiklerin farklı kullanım alanlarına yönelik olarak giderek artan sayıda çalışma literatürde yerini almıştır. Söz konusu çalışmada da çiftlik hayvanları arasında ekonomik bakımdan önemli bir yere sahip olan süt sığırlarının verimlerinin artırılması aşamasında son yıllarda önemle üzerinde durulan bir yem katkı maddesi olan probiyotik ele alınmış ve bu alandaki gelişmelere yer verilmiştir.

Probiyotik Nedir?

İlk olarak Kollath (7) tarafından tanımlanan probiyotik kelimesi Yunanca 'da 'yaşam için' anlamındaki kelimedenden türemiştir. Probiyotikler, çiftlik hayvanlarının yemden yararlanmasını artırmak amacıyla sindirim sistemindeki mikrobiyal dengeyi düzenleyen, bunu yaparken de patojen mikroorganizmaların çoğalmasını ve zararlı etki göstermesini önleyen yararlı mikroorganizma kombinasyonları (canlı bakteri, maya, maya kültürleri, mantar ve bir takım enzimler) olup, mikrobiyal katkı maddeleri olarak da tanımlanabilir (8-16).

Probiyotikler, genellikle gram pozitif ve anaerob özellik taşımakta olup, patojenite göstermemektedir (10,11). Probiyotikler laktik asit üretenler (*Lactobacillus* ve *Streptococcus* spp.), laktik asiti kullan bakteriler ya da konakçıda yarar sağlayan diğerleri ile *Aspergillus* ve *Saccharomyces*' i içeren maya ve mantarları kapsamaktadır (2,3). Laktik asit bakterileri içinde de *Bifidobacterium*

ve *Lactobacillus* en çok bilinen probiyotik mikroorganizmaları olup, sırasıyla kalın bağırsakta ve ince bağırsakta fazla miktarda rastlanılmaktadır (16-21). Bunun yanında, ticari probiyotik üretiminde söz konusu mayalardan başlıca *S. cerevisiae* ve mantarlardan *A. niger* ve *A. oryzae*' den de yaygın olarak yararlanılmaktadır (11,22).

Probiyotikler çeşitli formlarda olup hayvan beslemede daha çok sıvı, toz, pelet, granül ve kapsül olarak yem veya içme suyuna karıştırılarak kullanılabilir (10,14). Burada probiyotik mikroorganizmalarının taşınması gereken bir takım özelliklere özetle, toksik ve patojenik etki taşıması, antimikrobiyel özellik göstermesi, bağırsak hücre epiteline tutunabilmesi ve bağırsak florasına adaptasyon kabiliyetine sahip olması, kimi teknolojik uygulamalara uyum sağlaması, mide asidik ortamı ile bağırsak safra ve lizozim enzimine karşı direnç göstermesi olarak değinmek mümkündür (16,23-26).

Probiyotiklerin Etki Mekanizması

Probiyotik bakteriler; laktik asit, asetik asit ve formik asit benzeri organik asitler ile antimikrobiyal madde üreterek pH' ın düşürülmesi neticesinde patojen bakterilerin bağırsak yüzeyine tutunmalarını engelleyerek burada çoğalmalarının önlenmesi (15,27), bağışıklık sisteminin uyarılması (28) ve rumendeki oksijenin kullanılması sonucunda anaerobik özellikteki rumen mikroorganizmalarının sayısının arttırılması (15) şeklinde etki mekanizmalarına sahiptir. Bunun yanında, aerobik patojenlerin gelişimini durdurmak amacıyla redoks potansiyelini düşürmekte ve gelişimlerini engellemektedir (11). Ayrıca, probiyotikler barsaktaki patojen mikroorganizmalara verdikleri hasar ile anti-bakteriyel etki de göstermektedir (29,30).

Bazı araştırmacılar tarafından, probiyotiklerin genç ruminatların rumen florasında erken gelişim sağlayarak yemlerin sindirilebilirli-

ğini arttırarak süttan kesimlerine olumlu katkı sağladığı ve aynı zamanda ishale neden olabilecek enteropatjen oluşumunu önlediği de tespit edilmiştir (31,32). Probiyotiklerin bahse konu etkileri hayvan ve bakteri türüne, uygulama dozu, zamanı ve koşullarına göre farklılık gösterebilmektedir. Yapılan çalışmalarda probiyotiklerin sürekli kullanılması durumunda etkilerinde artış gözlemlendiği bildirilmiştir (13,33,34).

Süt Sığırlarında Kullanım Alanları

Probiyotiklerin çiftlik hayvanlarında kullanımlarına yönelik birçok araştırma mevcut olmakla birlikte, bu çalışmada daha çok süt sığırı yetiştiriciliğindeki yeri ve önemi üzerinde durulmuştur. Bilindiği gibi, hayvan beslemede yem katkı maddesi olarak kullanılan probiyotikler süt sığırlarında yemden yararlanma ve verim performansı artışı, yüksek süt veriminin sağlanması için kuru dönemde karşılaşılan problemlerinin önüne geçilmesi, buzağılama dönemindeki metabolik hastalıkların ve ishal vakalarının azaltılması ile çeşitli stres faktörlerinin olumsuz etkilerinin ortadan kaldırılması gibi çeşitli kullanım alanlarına sahiptir (35-42).

Süt sığırlarında çeşitli faktörler sebebiyle ortaya çıkan stres (hayvan nakilleri, çevre ısı, yem özellikleri, yemleme, barındırma, bakıcı vb.) sonucunda bir takım metabolik olumsuzluklar ortaya çıkabilmektedir. Öyle ki, çeşitli stres faktörleri karşısında başlıca bağırsak mikrobiyal florasında meydana gelen bozulmaya paralel olarak ishal, yem tüketiminde azalma ve buna bağlı olarak verimde düşüş gözlenmektedir (22). Söz konusu stres faktörlerinin azaltılmasına yönelik yürütülen çalışmalarda, sıcak koşullarda süt sığırlarının ısı stresini azaltmak için günde 56-60 g *S. cerevisiae* kültürü ile günde 3 g kadar *A. oryzae* ekstraktının rasyona ilavesi sonucunda rektal sıcaklığın azaldığı (43) ve diğer bir çalışmada da yemden yararlanmanın iyileş-

tiği (% 7) tespit edilmiştir (44). Rasyona *A. oryzae* ekstraktı ilavesi üzerine yapılan diğer bir çalışmada ise, sıcaklık stresi koşullarında süt sığırlarının rektal sıcaklığını düşürücü bir etkisi olmadığı da ifade edilmiştir (33).

Probiyotik kullanımı yönünde yapılan çalışmalara paralel olarak özellikle son yıllarda yürütülen araştırmalar ivme kazanmış ve yeni sonuçlar da elde edilmeye başlanmıştır. Çeşitli araştırmacılar tarafından transgenik formda probiyotik enzimlerin eldesine paralel olarak tasarlanan probiyotik suşlarının kullanımıyla bazı yemlerin (arpa gibi) sindirilebilirliğinin artırılması mümkün olmuştur (22,45).

Neonatal dönemde sıkça görülen buzağı ishallerinin tedavisinde probiyotik kullanımının da uygulanan birçok sağaltım yöntemleri arasındaki yerini aldığı görülmektedir. Bu konuda yürütülen çalışmalar irdelendiğinde, bazı probiyotik preparatlarının (*L. acidophilus*, *S. faecium* ile *Bacillus* sp.) ishal vakalarında daha etkili olduğu tespit edilmiştir (12,46). Işıl ve Ekimler (12) tarafından yapılan bir çalışmada, Siyah Alaca buzağuların kolostrum, süt, süt ikame yemi ve içme sularına katılan probiyotiklerin (*L. acidophilus*, *B. bifidum*, *S. thermophilus* bakterileri, *S. cerevisiae* mayası, ve *A. niger* mantarı içerikli) barsak florasına olumlu etki yaparak ishal vakalarını önlediği, yemden yararlanma ve canlı ağırlık artışına da olumlu etkisi olduğu bildirilmiştir.

Klinik amaçlı olarak probiyotiklerin diğer bir kullanım alanı da büyüme performansı ile verimi arttırmaya yöneliktir (47,48). Ancak, laktasyondaki Siyah Alaca ineklerde 60 gün boyunca kullanılan probiyotik kombinasyonunun canlı ağırlık artışı üzerine etkisi olmadığı belirtilmiştir. Bununla birlikte çeşitli sistemik genlere olan etkinliğine bakıldığında probiyotik kullanımının hemostazis ve immun sistemi içeren çeşitli genler üzerinde

etkisi olduğu belirtilmiştir (42).

Süt sığırlarında kritik bir dönem olarak nitelendirilen erken laktasyon döneminde negatif enerji dengesi önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Söz konusu dönemde gerekli önlemlerin alınmaması durumunda başlıca yem tüketiminde azalma, canlı ağırlık kaybı, verim kaybı ve metabolik hastalıklarla karşılaşılabilir. Bu problemlerin önüne geçebilmek için başta kuru madde tüketimin teşvik edilmesi gerekir ki, bu amaçla rasyona canlı maya ve metabolitlerinin ilavesi önerilmektedir (8). Bu konuyla ilişkili olarak yürütülen bir çalışmada, geçiş dönemi ve erken laktasyon döneminde *S. cerevisiae* içerikli yem katkı maddesiyle beslenen ineklerde serum, rumen ve süt verimi üzerine olumlu etkileri olduğu kaydedilmiştir (49).

Süt sığırlarında meme sağlığında probiyotik dolaylı bir kullanım alanına sahiptir. Bilindiği üzere, sütteki somatik hücre sayısı meme sağlığının göstergesi olup (50) rasyona probiyotik ilavesi sonucunda sütteki somatik hücre sayısında azalma meydana geldiği bildirilmiştir (50,51). Söz konusu somatik hücre sayısındaki azalmanın immun sistemle ilişkili IgA artışı ile bağdaştırıldığı ifade edilmiştir (52). Bahse konu etkileşim kemik iliğindeki plazma ve küffer hücrelerindeki proliferasyona bağlı gama globülin seviyesindeki artış sonucunda somatik hücre sayısında azalmayla açıklanmaktadır (49).

Süt Sığırlarında Probiyotikler Süt Verimini Nasıl Arttırır?

Probiyotiklerin hayvan sağlığı ve verimi üzerindeki etkileri tam olarak anlaşılama-makla birlikte yukarıda da bahsedildiği üzere erken laktasyon dönemindeki iştah artışı, yemden yararlanma oranında artış ve immun sistem üzerindeki etkileri aracılığıyla fayda sağladığı düşünülmektedir (53).

Erken laktasyondaki ineklere verilen pro-

biyotik katkılarının rumen fermentasyon ürünlerini propiyonik asit yönüne kaydırarak uçucu yağ asitleri düzeyini arttırdığı (49,54,55), rumende amonyak konsantrasyonunu azalttığı (49), duedonuma nitrojen akışını değiştirdiği (55-57) böylelikle hayvan verimi ve enerji dengesi için potansiyel fayda sağladığı bildirilmektedir (58). Laktik asit kullanan bakteri stimülasyonu ile laktik asit üretimi azalmakta (59) ve rumen pH stabilizasyonu sağlanmaktadır. Böylelikle rumen ortamında propiyonik asit üretimi desteklenmektedir (60). Yem katkı maddesi olarak kullanılan maya kültürlerinin rumen fonksiyonunu arttırdığı, buna paralel olarak rumende spesifik bakteri üremesini uyarıcı etkisiyle süt üretimini desteklediği ifade edilmektedir (61). Bu durumda selüloolitik bakterilerin varlığını sürdürmesine yardımcı olmakta ve bitkisel liflerin yıkılma oranındaki artış ile yemlerin sindirilebilirliğinde artış meydana gelmektedir (62,63). Bunun yanı sıra gastrointestinal patojen üretimini kısıtlaması sonucu immün mekanizmayı etkileyerek yemden yararlanımı daha da arttırmaktadır (64).

Yemden yararlanmadaki artışa paralel olarak süt verimindeki olumlu etkileri de beraberinde getiren yem katkılarından *S. cerevisiae*, umut vadeden probiyotikler arasında yer almaktadır (49,65). *S. cerevisiae* içeren katkı maddelerinin enzim, vitamin, diğer besin ve kofaktörler açısından zengin olması çeşitli üretim portföyleri üzerinde de yarar sağlamaktadır (3). Siyah Alaca sığırlarda yem katkı maddesi şeklinde kullanıldığında süt verimi, süt yağı ve kanda bazı parametreler üzerinde etkili olduğu belirtilmektedir (66). Bu konuyla ilgili başka bir çalışmada, geçiş dönemi ve erken laktasyon döneminde kullanımıyla benzer etkilerin ortaya çıktığı da görülmüştür (49). Kudrna ve ark. (67) tarafından yapılan çalışmada, rasyona maya

ilavesinin süt verimini önemli derecede arttırırken kuru madde tüketimini azalttığı belirtilmiştir. Farklı bir çalışmada ise, *S. cerevisiae* ve *L. sporogenes* içerikli probiyotiklerin 20 g/gün/hayvan kullanımlarının, 15 g/gün/hayvan şeklinde kullanıma göre süt üretimi ve kompozisyonunu daha çok iyileştirdiği belirtilmektedir (68). Siyah Alaca ineklerde probiyotik kullanımıyla süt üretiminin % 3-16 düzeylerinde arttığı (69), ortalama günlük süt üretiminin probiyotik kullanılmayan gruba göre % 12.7-11.5 oranında daha yüksek olduğu (70) ve melez ineklerde *Lactobacillus*, *Saccharomyces* ve *Propionibacterium* spp. içeren probiyotik kullanımında süt üretiminin 4.65-5.41 kg artış gösterdiği (71) saptanmıştır.

Yapılan araştırmalar sonucunda, probiyotiklerin süt verimi ve süt kompozisyonunda bir takım değişiklikler meydana getirdiği tespit edilmiştir (68,71). Dutta ve ark. (72) çalışmalarında iki farklı maya suşu olan *Enterococcus faecium* ve *S. cerevisiae* içerikli probiyotik katkılarının uçucu yağ asidi üretimindeki artışa bağlı olarak sütteki yağ oranını yükselttiğini tespit etmişlerdir. Başka literatürlerde de farklı oranlarda günlük *S. cerevisiae* ve *L. sporogenes* probiyotik katkısı ile beslenen ineklerde süt yağı ve proteininde artış meydana geldiği belirtilmiştir (68). Bunun yanında, *S. cerevisiae* maya katkılarının süt üretimini günlük 0.9 kg ve süt proteinini % 0.31 oranında arttırdığı da bildirilmiştir (73). Bahsi geçen olumlu etkilerin aksine probiyotiklerin katkı maddesi şeklinde kullanıldığı diğer bir çalışmada süt üretimindeki artışa (+1.2 g/kg) rağmen süt proteinlerine etkisi olmadığı ifade edilmiştir (74).

SONUÇ

Organik hayvancılığın ivme kazandığı günümüz koşullarında, insan ve hayvan sağlığına zarar vermeden hayvanlarda verim miktar ve kalitesini arttırıcı alternatif yollar

aranmaya başlanmıştır. Hayvan beslemede alternatif destekleyici bir yöntem niteliğinde olan probiyotik kullanımında da bu yönde bir artış söz konusu olmuştur. Bu noktadan hareketle mevcut çalışmada; probiyotik kavramı, genel etki mekanizması, süt sığırcılığında kullanım alanları ile süt verimini arttırmadaki rolü üzerinde durularak probiyotik kullanımının süt sığırcılığı alanında da önemli bir yere sahip olduğu vurgulanmaya çalışılmıştır. Öyle ki, yemi değerlendirmeden verim artışına, stres koşullarından bir takım metabolik hastalıklara kadar farklı noktalarda etkisini gösterebilen probiyotik kullanımının sektörel ve ekonomik bazda ne kadar önemli bir konu haline geldiği aşikârdır. Bu sebeple, probiyotik kullanımının süt sığırcılığında geçmişten günümüze sağladığı faydaları özetleyen bu çalışma ile gelecekte bu ve buna benzer konularda yürütülecek olan araştırmalara ışık tutması beklenmektedir.

KAYNAKLAR

1. Türkiye İstatistik Kurumu, Tarım İstatistikleri Özeti; 2017. URL:<http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=24655#>.
2. Seo JK, Kim SW, Kim MH, Upadhaya, SD, Kam DK, Ha JK. Direct-fed microbials for ruminant animals. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2010; 23(12): 1657–1667.
3. Rai V, Yadav B, Lakhani GP. Application of probiotic and prebiotic in animals production: A review. *Environ & Ecol.* 2013; 31(2B): 873—876.
4. Aydın R, Yanar M, Kocyigit R, Diler A, Ozkilicci TZ. Effect of direct-fed microbials plus enzyme supplementation on the fattening performance of Holstein young bulls at two different initial body weights. *AJAR.* 2009; 4(5): 548–552.
5. Pekel E, Ünalın A. Hayvansal Üretimde Ekolojik Tarımın Yeri ve Türkiye İçin Önerimi. Türkiye I. Ekolojik Tarım Sempozyumu, 2001.
6. Ak İ, Kantar F. Türkiye’de Ekolojik Hayvancılık Potansiyeli ve Geleceği; 2007. URL:http://www.bahcesel.net/forumsel/organik-tarim-bilgileri/13054-turkiye-8217ekolojik-hayvanc30_51305k_potansiyeli-ve-gelece287i/.
7. Kollath W. The increase of the diseases of civilization and their prevention. *Munch Med Wochenschr.* 1953; 95: 1260-1262.
8. Vanbelle N, Teller E, Focant M. Probiotics in Animal Nutrition. A Review. *Archiv Anim Nutr.* 1990; 40(7): 543-567.
9. Kullen MJ, Klaenhammer TR. Genetic modification of intestinal lactobacilli and bifidobacteria. In: Tannock G, editör. *Probiotics: a Critical Review.* 1st ed. p. 65-83. Wymondham: Horizon Scientific Press; 1999.
10. Sarıca Ş. Kanatlı hayvan beslemede probiyotik kullanımı. *Hayvansal Üretim.* 1999; 39(40): 105-112.
11. Karademir G, Karademir B. Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanılan Biyoteknolojik Ürünler. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg.* 2003; 43(1): 61-74.
12. Işık M, Ekimler F, Probiyotik kullanımının buzağı büyüme performansı ve sağlığı üzerine etkileri. *Turk J Vet Anim Sci.* 2004; 28(1): 63-69.
13. Antunovic Z, Speranda M, Liker B, Seric V, Steiner Z, Domacinovic M, Influence of feeding the probiotic pioneer to growing lambs on performances and blood composition. *Acta Vet.* 2005; 55(4): 287-300.
14. Diler A. Probiyotik + Enzim Kombinasyonunun Esmer Irkı Buzağılarda Yemden Yararlanma ve Büyüme Performansı Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniv Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 2007.
15. Kocaoğlu B, Kara K. Ruminant Beslemede Alternatif Yem Katkı Maddelerinin Kullanımı: 1. Probiyotik, Prebiyotik ve En-

- zim. Erciyes Üniv Vet Fak Derg. 2009; 6(1): 65-75.
16. Uymaz B. Probiyotikler ve Kullanım Alanları. Pamukkale Univ Muh Bilim Derg. 2010; 16(1): 95-104.
17. Lee YK, Salminen S. The coming age of prebiotics. Trends Food Sci Technol. 1995; 6(7): 241-245.
18. Salminen S, Deighton MA, Benno Y, Gorbach SL. Lactic acid bacteria in health and disease. In: Salminen S, von Wright A. Editors.. Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects. 2nd ed. p. 211-254. New York: Marcel Dekker Inc; 1998.
19. Holzapfel WH, Schillinger U. Introduction to pre- and probiotics. Food Res Int. 2002; 35: 109-116.
20. Billoo AG, Memon MA, Khaskheli SA, Murtaza G, Iqbal K, Shekhani MS, Siddiqi AQ. Role of a probiotic (*Saccharomyces boulardii*) in management and prevention of diarrhoea. World J Gastroenterol. 2006; 12(28): 4557-4560.
21. Kim HS, Park H, Cho IY, Paik HD, Park E. Dietary supplementation of probiotic *Bacillus polyfermenticus*, Bispan strain, modulates natural killer cell and Tcell subset populations and immunoglobulin g levels in human subjects. J Med Food. 2006; (9): 321-327.
22. Kutlu HR, Serbester U. Ruminant Besleme Son Gelişmeler. TURJAF. 2014; 2(1): 18-37.
23. Yalçın S, Çiftçi İ, Önal AG, Yılmaz A. Yem katkı maddelerinde gelişmeler. 3. Uluslararası Yem Kongresi ve Yem Sergisi, 1996.
24. Ewaschuk JB, Dieleman LA. Probiotics and prebiotics in choronic inflammatory bowel diseases. World J Gastroenterol. 2006; 12(37); 5941-5950.
25. Gürsoy O, Kınık Ö. Probiyotik Bakterilerin Klinik Uygulamalarında Yeni Gelişmeler-I Ege Üniv Ziraat Fak Derg. 2006; 43(1): 181-188.
26. Nayir SM. Sütün Yoğurda Dönüşümü Sırasında İçerdiği Fenolik Antioksidan Maddelelere Probiyotik Bakteri Etkisinin İncelenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Edirne, 2008.
27. Bahadıroğlu E. Aviguard (Doğal Sindirim Sistemi Florası). Hayvancılık Yan Sanaayi Ve Veteriner Hekimliği Dergisi. 1997; 17(1): 5-8.
28. Rastall R, Gibson GR, Gill HS, Guarner F, Klaenhammer TR, Pot B, Reid G, Rowland IR, Sanders ME. Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: An overview of enabling science and potential applications. FEMS Microbiol Ecol. 2005; 2: 145-152
29. Dhama K, Mahendran M, Tomar S, Chauhan RS. Beneficial effects of probiotics and prebiotics in livestock and poultry: The current perspectives. Intas Polivet. 2008; 9(1): 1-2.
30. Broadway P, Carroll J, Callaway T. Alternative antimicrobial supplements that positively impact animal health and food safety. Agric Food Anal Bacteriol. 2014; 4(2): 109-121.
31. Krehbiel CR, Rust SR, Zhang G, Gilliland SE. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. J Anim Sci. 2003; 81(14): 120-132.
32. Wallace RJ, Newbold CJ. Microbial feed additives for ruminants. In: Wallace RJ, Chesson A, editors. Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding. p 101-125. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft mbH; 2007.
33. Bertrand JA, Grimes LW, Influence of tallow and *Aspergillus oryzae* fermentation extract in dairy cattle rations. J Dairy Sci.

- 1997; 80(6): 1179-84.
34. Kurtoglu V, Kurtoglu F, Seker E, Coskun B, Balevi T, Polat ES. Effect of probiotic supplementation on laying hen diets on yield performance and serum and egg yolk cholesterol. *Food Add Cont.* 2004; 21(9): 817-823.
35. Sarıpinar D, Sulu N. Ruminantlarda probiyotiklerin kullanımı ve rumene etkileri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg.* 2005; 11(1): 93-98.
36. Maamouri O, Selmi H, M'hamdi N. Effects Of Yeast (*Saccharomyces Cerevisiae*) Feed Supplement on Milk Production and its Composition in Tunisian Holstein Friesian Cows. *SAB.* 2014; 45(3): 170-174.
37. AlZahal O, McGill H, Kleinberg A, Holliday JI, Hindrichsen IK, Duffield TF, McBride BW. Use of a direct-fed microbial product as a supplement during the transition period in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2014; 97(11): 7102-7114.
38. Puniya AK, Salem AZM, Kumar S, Dagar SS, Griffith GW, Puniya M, Ravella SR, Kumar N, Dhewa T, Kumar R. Role of live microbial feed supplements with reference to anaerobic fungi in ruminant productivity: A review. *J Int Agric.* 2015; 14(3): 550-560.
39. Meyer AL, Elmalfa I, Herbacek I, Micksche M. Probiotic, as well as conventional yogurt, can enhance the stimulated production of proinflammatory cytokines. *J Human Nutri Diet.* 2007; 20(6): 590-598.
40. Dubey V, Ghosh AR. Probiotics cross talk with multi cell signaling in colon carcinogenesis. *J Prob Health.* 2013; 1(109): 2-5.
41. Ekwemalor K, Asiamah E, Adjei-Fremah S, Worku M. Effect of a mushroom (*Coriolus versicolor*) based probiotic on goat health. *Am J Anim Vet Sci.* 2016; 11(3): 108-118.
42. Adjei-Fremah S, Ekwemalor K, Asiamah EK, Ismail H, Ibrahim S, Worku M. Effect of probiotic supplementation on growth and global gene expression in dairy cows. *J Appl Anim Res.* 2017; 1-7. DOI:10.1080/09712119.2017.1292913.
43. Higginbotham GE, Collar CA, Aseltine MS, Bath DL. Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* extract on milk yield in a commercial dairy herd. *J Dairy Sci.* 1994; 77(1): 343-348.
44. Schingoethe DJ, Linke KN, Kalscheur KF, Hippen AR. Feed efficiency of midlactation dairy cows fed yeast culture during summer. *J Dairy Sci.* 2004; 87(12): 4178-4180.
45. Onderci M, Sahin N, Cikim G, Aydin A, Ozercan I, Ozkose E, Ekinici S, Hayirli A, Sahin K. β -Glucanase –producing bacterial culture improves performance and nutrient utilization and alters gut morphology of broilers fed a barley-based diet. *Anim Feed Sci Tech.* 2008; 146: 87-97.
46. Kantautaite J, Oberauskas V, Sutkeviciene R, Sederevicius A. The effect of probiotic strains of *Lactobacillus* on the microbiological parameters in the faeces of neonate calves. *Vet Med Zoot.* 2006; 36(58). ISSN 1392-2130.
47. Penna FJ, Calcado AC, Junior HR, Niccolli JR. Up-to-date clinical and experimental basis for the use of probiotics. *J Pediatr.* 2000; 76(2): 209-217.
48. Singh SK, Niranjana PS, Singh UB, Koley S, Verma DN. Effects of dietary supplementation of probiotics on broiler chicken. *Ani Fed Sci.* 2009; 9(1): 23-24.
49. Bakr HA, Hassan MS, Giadinis ND, Pannousis N, Ostajic Andric D, Abd-El-Tawab MM, Bojkovski J. Effect of *saccharomyces cerevisiae* supplementation on health and performance of dairy cows during transition and early lactation period. *Biotechnology in animal husbandry.* 2015; 31(3):349-364.
50. Sretenović L, Petrović MP, Aleksić S, Pantelić V, Katić V, Bogdanović V, Beskorovajni R. Influence of yeast, probiotics and enzymes in rations on dairy cows perfor-

- mances during transition. *Biotechnol Anim Hub.* 2008; 24(5-6): 33-43.
51. Stein DR, Allen DT, Perry EB, Bruner JC, Gates KW, Renberger TG, Mertz K, Jones D, Spicer L. Effects of feeding propionibacteria to dairy cows on milk yield, milk components, and reproduction. *J Dairy Sci.* 2006; 89(1): 111-125.
52. Buts JP, Bernasconi P, Valrman JP, Dive C. Stimulation of secretory IgA and secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*. *Dig Dis Sci.* 1990; 35(2): 251-256.
53. Shriver-Munsch CM. Effect of feeding various dosages of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on health, reproduction, and costs in multiparous dairy cows. MVSc Oregon State University, Doctoral dissertation, Corvallis, 2011.
54. Newbold CJ, Williams PEV, Mckain N, Walker A, Wallace RJ. The effect of yeast culture on yeast numbers and fermentation in the rumen of sheep. *Proc Nutr Soc.* 1990; 49: 474.
55. Dawson KA. Biotechnology in the feed industry, Proceedings of Alltech's 9th Annual Symposium, T P Lyons Ed Alltech's Technical Publications, 1990.
56. Williams PEV, Tait CAG, Innes GM, Newbold CJ. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. *J Anim Sci.* 1991; 69: 3016-3026.
57. Guedes CM, Goncalves D, Rodrigues MAM, Dias-Da-Silva A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fiber degradation of maize silages in cows. *Anim Feed Sci Technol.* 2008; 145(1): 27- 40.
58. Aikman PC, Henning PH, Humphries DJ, Horn CH. Rumen pH and fermentation characteristics in dairy cows supplemented with *Megasphaera elsdenii* NCIMB 41125 in early lactation. *J Dairy Sci.* 2011; 94: 2840–2849.
59. Beauchemin KA, Yang WZ, Morgavi DP, Ghorbani GR, Kautz W. Effects of bacterial direct-fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. *J Anim Sci.* 2003; 81(6): 1628-1640.
60. Auclair E. Yeast as an example of the mode of action of probiotics in monogastric and ruminant species. *CIHEAM.* 2001; 54: 45-53.
61. Harrison GA, Hemken RW, Dawson KA, Harmon RJ, Barker KB. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. *J Dairy Sci.* 1998; 71(11): 2967- 2975.
62. Jounay JP. Optimizing rumen functions in the close-up transition period and early lactation to drive dry matter intake and energy balance in cows. *Anim Reprod Sci.* 2006; 96(3): 250–264.
63. Beev G, Todorova P, Tchobanova S. Yeast cultures in ruminant nutrition. *Bulg J Agric Sci.* 2007; 13: 357-374.
64. Braat H, Van den Brande J, Van Tol E, Hommes D, Peppelenbosch M, Van Deventer S. *Lactobacillus rhamnosus* induces peripheral hyporesponsiveness in stimulated CD4+ T cells via modulation of dendritic cell function. *Am J Clin Nutr.* 2004; 80(6): 1618–1625.
65. Rautray AK, Patra RC, Sardar KK, Sahoo G. Potential of probiotics in livestock production. *EAMR.* 2011; 1: 20-28.
66. Ayad MA, Benallou B, Saim MS, Sma-di MA, Meziane T. Impact of feeding yeast culture on milk yield, milk components, and blood components in Algerian dairy herds. *J Vet Sci Technol.* 2013; 4(2): 135-140.

67. Kudrna V, Polakova K, Lang P, Doleřal J. The effect of different yeast strains on milk yield, fatty acids profile and physiological parameters in dairy cows. 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production Meeting, Stořarstvo, 2007.
68. Shreedhar JN, Patil M, Kumar P. Effect of Probiotics Supplementation on Milk Yield and Its Composition in Lactating Holstein Friesian and Deoni Cross Bred Cows. *J Med Biol Eng.* 2016; 5(1): 19-23.
69. Yasuda K, Hashikawa SS, Tomita Y, Shibala S, Tsuneo F. A new symbiotic consisting of lactobacillus casei casei and dextran improves milk production of Holstein dairy cows. *J Vet Med Sci.* 2007; 69: 205-208.
70. Diler A, Kocyigit R, Yanar M, Aydin R. Effect of feeding direct-fed microbials plus exogenous feed enzymes on milk yield and milk composition of holstein friesian cows. *Vet Met Zoot.* 2014; 65(87): 11-16.
71. Vibhute VM, Shelke RR, Chavan SD, Nage SP. Effect of probiotics supplementation on the performance of lactating crossbred cows. *Vet World.* 2011; 4(12): 557-561.
72. Dutta TK, Kundu SS, Kumar M. Potential of direct-fedmicrobials on lactation performance in ruminants - a critical review. *LRRD.* 2009; 21(10): 160.
73. Bitencourt LL, Silva JRM, Oliveira B, Dias Júnior GS, Lopes F, Sićcola Júnior S, Pereira MN. Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. *Sci Agric.* 2011; 68(3): 301-307.
74. Desnoyers M, Giger-Reverdin S, Bertin G, Duvaux-Ponter C, Sauvant D. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *Journal of Dairy Science.* 2009; 92(4): 1620-1632.

RÖNTGENDEN KLİNİK YAKLAŞIMA KÖPEKLERDE RADYOGRAFİK KARDİYOMEGALİ

Hadi Alihosseini¹, Ekrem Çağatay Çolakoğlu², Ali Evren Haydardedeoğlu³

¹Terapist Veteriner Tıp Merkezi, İstanbul, TÜRKİYE

²Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, TÜRKİYE

³Aksaray Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Aksaray, TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 25.10.2017 Kabul Tarihi: 06.12.2017

Makale Kodu: 346468

ÖZET

Radyografik Kardiyomegali, toraks röntgenlerinde kalp silüetinin normal referans değerlerin üstünde olması anlamına gelmektedir. Kardiyomegali tek başına bir hastalık belirtisi olmayıp, altta yatan diğer hastalıklar sonucunda da oluşabilmektedir. Toraks röntgenlerinde rastlanan Radyografik Kardiyomegali bulgusu genelde kalp hastalıkları ile ilişkilendirilmekte, çoğu kez kalp hastalıkları dışındaki durumlar göz ardı edilmektedir. Bu derleme; Radyografik Kardiyomegali'nin saptanmasıyla başlayan tanısal ve klinik yaklaşımları ve teşhise kadar uzanan süreci klinisyen gözüyle değerlendirmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Kardiyomegali, köpek, radyografi, teşhis*

RADIOGRAPHIC CARDIOMEGALY IN DOGS: FROM RADIOGRAPHY TO CLINICAL APPROACH

ABSTRACT

Radiographic cardiomegaly means that the heart silhouette is above the normal reference values in thorax radiographs. Cardiomegaly is not a symptom of a disease alone, but it can also occur as a result of other underlying diseases. Although physicians usually rule out secondary disease related to radiographic cardiomegaly, cardiomegaly sign in chest X-rays are usually associated with heart diseases. This review consider the diagnostic and clinical approaches starting with the detection of radiographic cardiomegaly and the process leading up to the diagnosis.

Keywords: *Cardiomegaly, diagnosis, dog, radiography*



İletişim / Correspondence

Terapist Veteriner Tıp Merkezi, İstanbul, TÜRKİYE



+90 534 202 65 08



hadi.alihosseini@gmail.com

GİRİŞ

Kardiyomegali; toraks röntgenleri ile belirlenebilen, kalbin tamamı ya da bazı kısımlarının genişlemesi veya büyümesi olarak ifade edilmektedir (1). Radyografik Kardiyomegali'ye Veteriner Hekimler toraks röntgenlerinde sıklıkla rastlamaktadır. Genellikle Radyografik Kardiyomegali bulgusunun kalp hastalıkları ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Konjenital kalp hastalıkları, Dilate Kardiyomyopati ve Konjestif kalp yetmezliği gibi kardiyak hastalıklar Radyografik Kardiyomegali'ye yol açabilmektedir (2). Bununla birlikte; radyografik çekim hataları, overhidrasyon, pulmoner tromboembolizm, kronik bronşit, atlet kalp sendromu ve sistemik lupus eritematozus gibi durumlarda da Radyografik Kardiyomegali görülebilmektedir (3). Bu derleme ile köpeklerin toraks radyografisinde kardiyomegali görülmesiyle başlayan klinik yaklaşımlar anlatılmakta, tanıya uzanan sürecin klinisyen gözümüyle değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

Doğru Toraks Radyografisi

Toraks röntgenlerinin latero-lateral (LL) (Genelde sağ LL pozisyon tercih edilir) ve dorso-ventral (DV) pozisyonda çekilmesi önerilmektedir (4). DV pozisyonda özellikle derin ve geniş göğüs boşluğuna sahip ırklarda; anatomik olarak kalbin göğüs kafesine yerleşimi daha uygun olmaktadır. DV pozisyonda akciğer lobları oksijen ve hava ile doygun olduğundan akciğerin kaudalinde bulunan pulmoner arter ve venlerin daha belirgin görülmesi sağlanmaktadır. Ayrıca, kalp hastalığı nedeni oluşan pulmoner infiltrasyonlar ventrodorsal pozisyona göre DV pozisyonda daha erken görüntülenebilmektedir (5).

Toraks radyografisinde akciğer detayının daha iyi değerlendirilebilmesi için yüksek kilovolt (kV) ve düşük miliamper (mA) ışınlama kullanılmaktadır. Yüksek kV ile iyi

derecede kontrast sağlanırken, düşük mA ise ışına maruz kalma süresini sınırlandırarak solunum hareketlerinden kaynaklanan artefaktların giderilmesini sağlamaktadır (4).

İnspirasyon sonunda çekilen toraks filmlerinde akciğerlerin hava ile genişleyip ekspirasyon sonrasında göğüs kafesinin küçülmesi göreceli olarak kalp boyutlarını etkilemektedir (4). İdeal çekim olarak hastanın ekspirasyon sırasında ışınlama işleminin yapılması önerilmektedir (6).

Radyografik Kardiyomegali'nin Belirlenmesinde Kriterler

Toraks radyografisi LL görüntülemeye; kalp silüetinin göğüs kafesine nazaran büyümesi, kaudal kalp konturunun diyafram sınırı ile temas noktalarının artışı, kranial kalp konturunun sternum üzerinde doğru yatışı, trakeal elevasyon, karaciğer ve dalğın radyografik boyutlarında artış, büyük damarların radyografik çaplarında artış ve akciğerlerde interstisyel pattern gibi bulgular Radyografik Kardiyomegali bugusunu desteklemektedir (3) (Şekil 1). DV pozisyonda ise; göğüs boşluğunda kalp silüetinin büyümesi, kalbin kaudal konturu ile diyafram arasında temas noktalarının artışı, büyük damarların radyografik çaplarında artış ve akciğerlerde interstisyel patern gibi bulgular Radyografik Kardiyomegaliyi göstermektedir (3) (Şekil 1).

Gerçekten Radyografik Kardiyomegali Var Mı?

Köpeklerde Radyografik kalp boyutlarının kardiyomegali yönünden değerlendirilmesi için Vertebral Kalp Skorlaması (VHS) ve Torasik Derinlik Ölçümü (TDÖ) kullanılmaktadır (1,7).

Vertebral Kalp Skorlaması

Vertebral Kalp Skorlaması; farklı boyut ve ırklardaki köpeklerde, kalp büyüklüğünü değerlendirmek ve radyografik ölçümü gerçekleştirmek için kullanılan objektif bir

metottur (1). Bu yöntemde köpeğin LL pozisyonunda çekilen toraks radyografisinde iki eksen çizgisi kullanılmaktadır. Uzun eksen, trakea'nın karina kısmından kalbin apeks ucuna kadar uzanmakta; kısa eksen ise kalbin yatay olarak en geniş kısmından çizilmekte ve uzun eksene dik şekilde uzanmaktadır. Sonrasında, kısa ve uzun eksen çizgileri 4. torakal vertebranın kranial sınırından başlayarak omurlar hizasında geriye doğru uzatılmaktadır. İki eksenin toplam uzunluğu kaç vertebra'ya denk geliyorsa VHS olarak kaydedilmektedir (1) (Şekil 2).

Köpeklerde VHS için yayınlanmış çeşitli referans aralıkları bulunmaktadır (1) (Tablo 1). Bu referans aralıkların küçük ırk köpekler için geçerli olmayabileceğini bildiren yayınlar da mevcuttur (7). Bazı çalışmalarda ise VHS'nin kalbin gerçek boyutlarını yansıtmadığı bildirilmiştir (8). Ayrıca, sağ LL pozisyonunda alınan toraks radyografileri ile belirlenmiş VHS değerinin sol LL pozisyonunda çekilenlere göre anlamlı derecede büyük olduğu bildirilmiştir (9). Diğer bazı çalışmalarda ise; aynı ırk ve boyuttaki köpeklerde dahi erkek köpeklerin VHS değerinin dişilerden daha büyük olduğu saptanmıştır (10). Yapılan çalışmalarda (11) trakeal kollaps olan bazı küçük ırk köpeklerin normal ekokardiyografik kalp boyutlarına sahip olmalarına rağmen VHS değerlerinin normal sınırların üstünde olması dikkat çekici bulunmuştur. Diğer bir araştırmada ise (7) kondrodistrofik ve brahisefalik ırk köpeklerde VHS'nin gerçek değerinden daha yüksek olacağı bildirilmiştir.

Sağlıklı Bulldog ve Boston Terrier gibi anatomik vertebrae anormallikleri sahip olan köpeklerde VHS değerinin yüksek çıkabileceği dikkate alınmalıdır (7). Şiddetli lordoz veya kifoza bulunan köpeklerde de VHS ölçümünün normalden yüksek çıkabileceği belirlenmiştir (8,12). Vücut kondisyon skoru

ile VHS arasında Lhasa Apso ırkı dışındaki diğer köpek ırklarında herhangi bir anlamlı ilişki bulunmamıştır. Perikardiyal yağ dokusunun da VHS ölçümünü etkilemediği bildirilmiştir (7).

Torasik Derinlik Ölçümü

Farklı köpek ırklarında toraks röntgenlerinde kalp boyutlarının değerlendirilmesi için LL pozisyonunda torasik derinlik ölçümünün kullanılması önerilmektedir (7). Buna göre; bir çizgi trachea'nın karina kısmından kalbin apeksine kadar uzatılmaktadır. İkinci çizgi ise ilkine paralel olacak şekilde kalp apeksinden torasik vertebranın ventraline kadar uzatılmaktadır. İlk çizginin ikincisine oranının %66 (2/3) olması normal kalp boyutu olarak kabul edilmektedir (13) (Şekil 3). Aynı işlem DV pozisyonunda çekilmiş toraks grafisinde de yapılabilmektedir. DV pozisyonunda kalbin en geniş kısmından bir çizgi çekilir. İkinci çizgi ilkine paralel olacak şekilde göğüs boşluğunun iç kısımlarından çizilmektedir. İlk çizginin ikincisine oranının %66 (2/3) olması normal kalp boyutu olarak kabul edilmektedir (13) (Şekil 3).

Radyografik Kardiyomegalinin Nedenleri

Köpeklerde radyografik kardiyomegali kalp hastalıklarına bağlı ya da kalp hastalıklarından bağımsız olarak şekillenebilmektedir (Tablo 2).

Kalp Hastalıklı Köpeklerde Radyografik Kardiyomegali

Radyografik Kardiyomegali primer ve sekonder kalp hastalıklarına bağlı olarak şekillenebilmektedir. Primer kalp hastalıklarından kapak hastalıkları, Dilate Kardiyomyopati, konjenital kalp hastalıkları ve Konjestif kalp yetmezliği Radyografik Kardiyomegali'ye yol açmaktadır (Şekil 4). Sekonder kalp hastalıklarından pulmoner hipertansiyon da sağ kalp yetmezliğine neden olarak Kardiyomegali'ye yol açmaktadır. Hipotiroidizmi olan

köpeklerin toraks radyografilerinde Dilate Kardiyomyopati nedenli kardiyomegali bulgusuna rastlanmıştır (3).

Kalp Hastalıklarından Bağımsız Radyografik Kardiyomegali

Köpeklerde kalp hastalıkları olmaksızın kronik anemi ve overhidrasyon gibi durumlarda da toraks radyografilerinde kardiyomegali bulgusuna rastlanmaktadır (14). Kronik anemi nedenli; sol ventriküler disfonksiyonu, kalp yetmezliği ve Radyografik Kardiyomegali'nin geliştiğini rapor eden bildirimler de mevcuttur (15). İnsan ve köpeklerde belirlenen Atlet kalp sendromunda da Radyografik Kardiyomegali sol ventrikülün hipertrofisine bağlı gelişmektedir. Bu durum kalbin ağır ve devamlı egzersize karşı verdiği fizyolojik bir tepki olmaktadır (16).

Bir çalışmada, pulmoner tromboembolizmi olan 29 köpeğin toraks grafilerinde 7 köpekte Radyografik Kardiyomegali bulgusuna rastlanmıştır (17). İnsanlarda da akut pulmoner tromboembolizm'de Radyografik Kardiyomegali yaygın bir bulgu olarak bildirilmektedir (18). Farklı çalışmalarda, kronik akciğer hastalıkları (19) ve gebelik gibi durumlarda da (20) Radyografik Kardiyomegali bulgusuna rastlanıldığı rapor edilmiştir.

Radyografik Kardiyomegalisi Bulunan Köpeklere Klinik Yaklaşım

Radyografik Kardiyomegali lokalize ya da generalize olarak şekillenebilmektedir (21). Lokalize kardiyomegali kalbin bir bölgesinin boyutlarındaki değişim nedeniyle oluşurken, generalize kardiyomegali ise kalbin genelindeki büyümeyi ifade etmektedir (21). Radyografik olarak belirlenebilen lokalize nedenlerden kaynaklı kardiyomegali kalbin sağ ya da sol boşluklarındaki yapısal değişim nedeniyle şekillenebilmektedir (Tablo 3). Generalize kardiyomegaliler ise konjestif kalp yetmezliği, kardiyomyopati ve perikardiyal efüzyon gibi nedenlerden

kaynaklanmaktadır (Tablo 4).

Veteriner Hekimler köpeklerde Radyografik Kardiyomegalinin belirlenmesi sonrası teşhis ve klinik muayeneyi derinleştirmelidirler. Bu amaçla; kalbin oskültasyonu, abdominal palpasyon, mukozaların kontrolü, hastanın performans köpeği olup olmadığı, hastanın hidrasyon durumu ve solunumunun şekli değerlendirilecek ilk klinik göstergeler olmaktadır. Kardiyak muayenede üfürüm ve juguler pulzasyonun bulunması, kalp atım sayısı ve ritmindeki patolojik değişiklikler, hipokinetik femoral nabız, kapiller dolum zamanının uzaması; anamnezinde egzersiz intolerans, gece öksürüğü, erken yorulma, dispne, ortopnea ve senkopun varlığı Radyografik Kardiyomegali'nin kalp hastalıkları kaynaklı olduğunu göstermektedir. Bu tür hastalarda Ekokardiyografi ile yapısal kalp hastalığı teşhisi netleştirilmektedir. Performans köpeklerinde ekokardiyografik muayenede sol ventrikülün hipertrofik olabileceği akılda tutulmalıdır. Kardiyak ritim ile ilgili sorunların değerlendirilmesinde de elektrokardiyografi ve holter kaydı endikasyon bulunan köpeklerde uygulanmalıdır.

Veteriner Hekimler; Radyografik Kardiyomegali'nin olası diğer nedenlerini de elemine etmek durumundadırlar. Sistemik lupus eritematozus gibi hastalıkların kesin teşhisi için kan analizleri ve deri biyopsilerinin alınması gerekmektedir. Rutin kan analizleri ve klinik muayene ile kronik aneminin muhtemel primer ya da sekonder nedenleri ayırıcı tanıda değerlendirilmelidir. Toraks grafilerinin incelenmesinde sadece kardiyak büyüklüğe odaklanılmamalı, akciğer dokusu, plevral efüzyon ve olası yabancı cisimler açısından da alınan radyografiler değerlendirilmelidir.

SONUÇ

Radyografik Kardiyomegali'nin değerlendirilmesi; doğru toraks röntgen çekimi, pulmoner yapıların doğru yorumlanması, VHS ve TDÖ ile yapılmaktadır. Kalp boyutlarının ölçümünde kullanılan VHS sistemi ile belirlenen radyografik kalp boyutlarının mutlaka ekokardiyografik muayeneler ile desteklenmesi önerilmektedir. Konjenital veya edinsel kalp hastalıklarının teşhisi için

mutlaka ekokardiyografik muayeneden yararlanılmalıdır. Bununla birlikte; klinik kardiyolojik muayene, oskültasyonda kardiyak ritim, üfürüm sesleri ve tipleri, akciğer sesleri, juguler venin pulzasyon durumu, femoral arterin nabız kalitesi göz önünde bulundurulmalıdır ve toraks röntgenlerinde sağ kalp büyümesi ile karakterize Dirofilaria tanıda unutulmamalıdır.

Tablo 1. Farklı köpek ırklarında VHS değerleri (Jepsen-Grant ve ark., 2013)

Köpek Irkları	Normal VHS değeri
Boxer	10.8 – 12.4
Bulldog (İngiliz veya Fransız)	11.0 – 14.4
Boston Terrier	10.3 – 13.1
Cavalier King Charles Spaniel	10.1 – 11.1
Labrador Retriever	10.2 – 11.4
Pug	9.8 – 11.6
Pomeranian	9.6 – 11.4
Whippet	10.5 – 11.8

Tablo 2. Radyografik Kardiyomegali'nin nedenleri

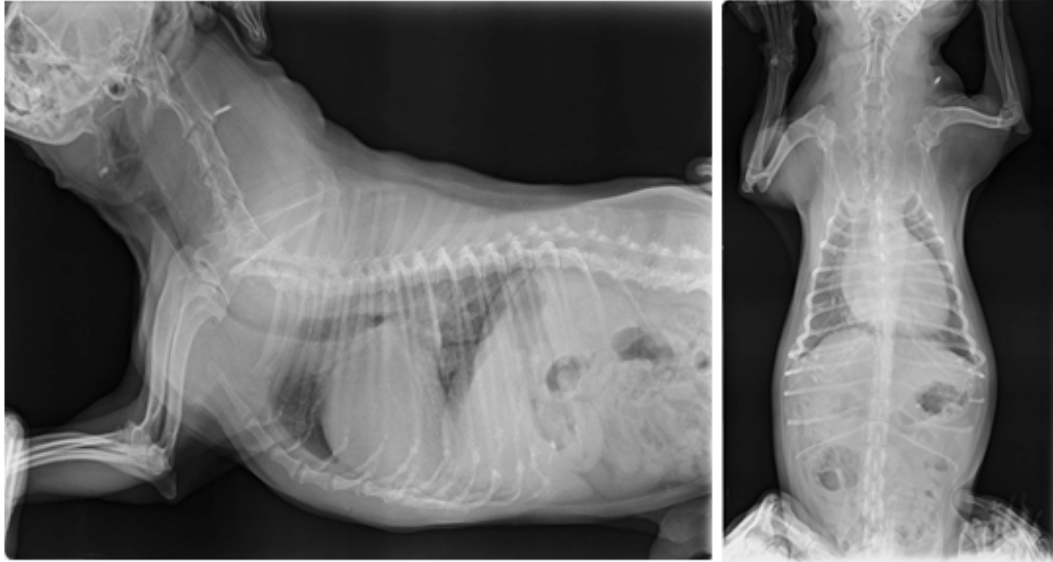
Kalp hastalıklarına bağlı olan nedenler		Kalp hastalıklarından bağımsız olan nedenler
Primer Kalp Hastalıkları	Sekonder Kalp Hastalıkları	
<ul style="list-style-type: none"> • Kapak hastalıkları • Dilate Kardiyomyopati • Konjenital kalp hastalıkları • Konjestif kalp yetmezliği 	<ul style="list-style-type: none"> • Pulmoner hipertansiyon • Hipotiroidizm • Radyasyon maruz kalması nedenli oluşan kardiyomyopatiler 	<ul style="list-style-type: none"> • Kronik anemi • Overhidrasyon • Demir eksikliği anemisi • Atlet kalp sendromu • Pulmoner tromboembolizm • Kronik akciğer hastalıkları • Sistemik lupus eritematozus • Gebelik

Tablo 3. Lokalize Kardiyomegali'nin nedenleri (Boswood, A, 2010)

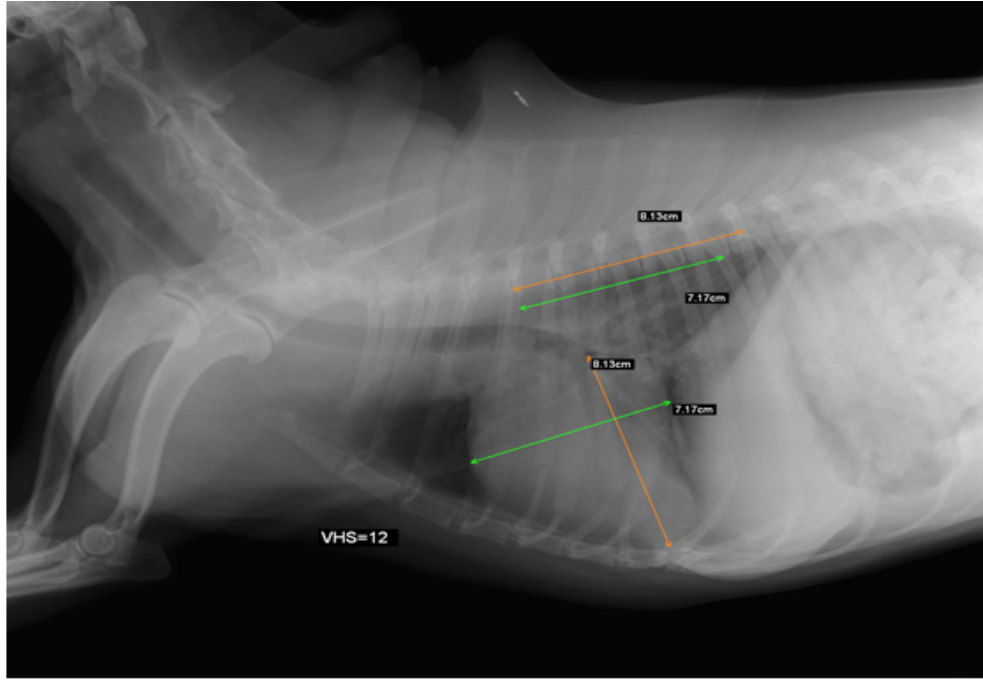
Sağ kalp boşluklarının genişlemesi nedeni kardiyomegali	Konjenital	Pulmoner Stenoz, Triküspit displazisi, Atriyal ve ventriküler septal defekt, Patent duktus arteriozus
	Edinsel	Triküspit kapak yetmezliği, Pulmoner hipertansiyon
Sol kalp boşluklarının genişlemesi nedeni kardiyomegali	Konjenital	Patent duktus arteriozus, Mitral displazisi, Ventriküler septal defekt, Aortik stenoz
	Edinsel	Mitral kapak yetmezliği, Dilate Kardiyomyopati

Tablo 4. Generalize Kardiyomegali'nin nedenleri (Boswood, A, 2010)

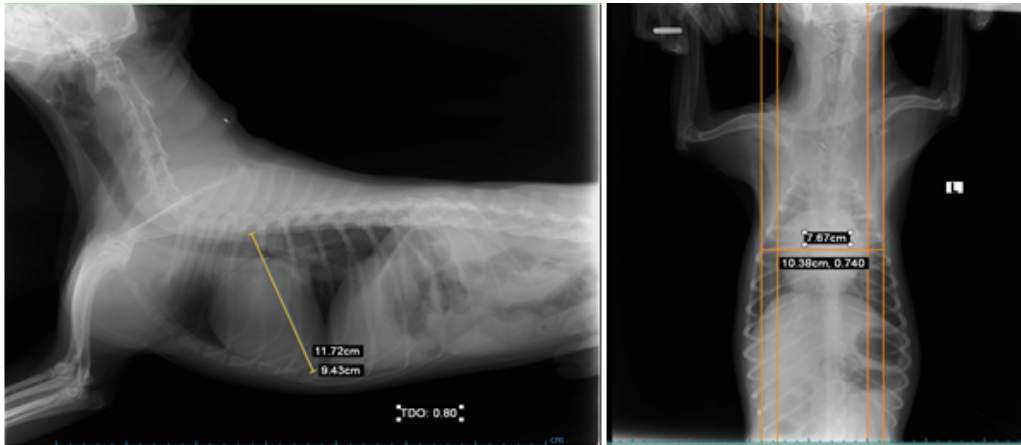
Konjestif kalp yetmezliği	Konjenital	Patent duktus arteriozus, Ventriküler septal defekt
	Edinsel	Atriyoventriküler kapak hastalıkları, Dilate Kardiyomyopati
Kardiyomyopati	Dilate ve hipertrofik Kardiyomyopati, Boxer Kardiyomyopatisi	
Perikardiyal efüzyon	Konjenital	Peritonenoperikardiyal diyaframatik herni, Perikardiyal kistler
	Edinsel	İdiyopatik, neoplazi, üremi ve travma



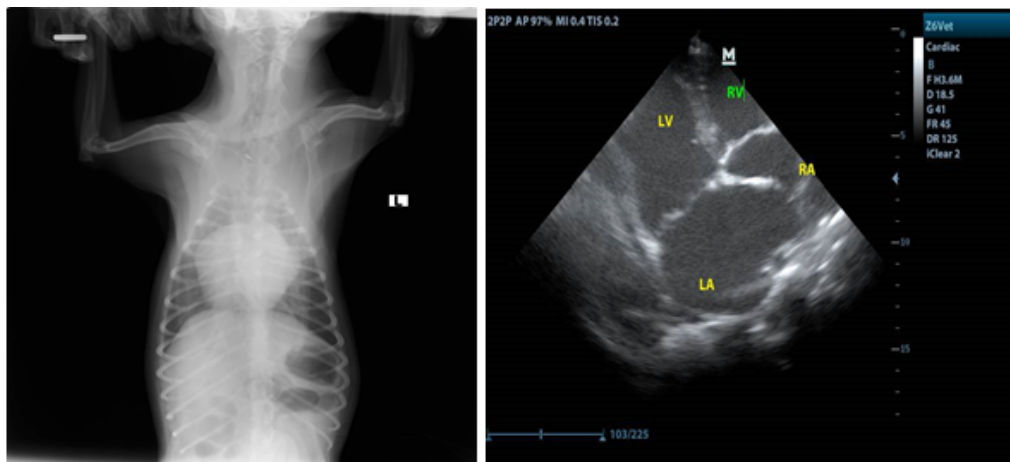
Şekil 1. Mitral yetmezliği bulunan 5 yaşlı Chihuahua ırkı bir köpeğe ait sırasıyla LL ve DV pozisyonda Radyografik Kardiyomegali görünümü



Şekil 2. VHS'nin belirlenmesi (LL, VHS: 12.0)



Şekil 3. Torasik Derinlik Ölçümü (Sırasıyla LL ve DV pozisyon)



Şekil 4. Radyografik Kardiyomegalisi bulunan bir köpekte (DV, VHS=12), eko-kardiyografik muayenede (Sağ parasternal 4 boşluk görünüm) belirlenen Dilate Kardiyomyopati. Dilate sol atriyum (LA) ve sol ventriküle (LV) dikkat.

KAYNAKLAR

1. Buchanan JW, Bucheler J. Vertebral scale system to measure heart size in radiographs. *J Am Vet Med Assoc.* 1995; 206:194–199.
2. Monnet E, Orton EC, Salman M, Boon J. Idiopathic Dilated Cardiomyopathy in Dogs: Survival and Prognostic Indicators. *J Vet Intern Med.* 1995; 9(1): 12-7.
3. Ware AW. Cardiomegaly, In: Ware AW, editör. *Cardiovascular Disease in Small Animal Medicine.* p. 98-100. Francis Group; 2013.
4. Rudorf H, Taeymans O, Johnson V. Basics of thoracic radiography and radiology. In: Tobias S, Victoria J, editors. *BSAVA Manual of Canine and Feline Thoracic Imaging*
5. Poteet BA. Radiology of the Heart. In: Tilley LP, Smith JR, FWK, Oyama MA, Sleeper MM, editors. *Manual of Canine and Feline Cardiology.* 4th ed. p. 26. Saunders, USA; 2008.
6. Kealy JK, McAllister H. Diagnostic radiology and ultrasonography of the dog and cat. p. 149-150. WB. Saunders Company, USA.
7. Jepsen-Grant K, Pollard, R.E, Johnson, LR. Vertebral heart scores in eight dog breeds, *Vet Radiol Ultrasound.* 2013; 54(1): 3–8.
8. Bavegems V, Van Caelenberg A, Duchateau L, Sys SU, Van Bree H, De Rick A. Vertebral heart size ranges specific for whippets. *Vet Radiol Ultrasound.* 2005; 46: 400–403.
9. Greco A, Meomartino L, Raiano V, Fatone G, Brunetti A. Effect of left vs. right recumbency on the vertebral heart score in normal dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* 2008; 49: 454–455.
10. Lamb CR, Wikeley H, Boswood A, Pfeiffer DU. Use of breed-specific ranges for the vertebral heart scale as an aid to the radiographic diagnosis of cardiac disease in dogs. *Vet Rec.* 2001; 148: 707–711.
11. Singh MK, Johnson LR, Kittleson KD, Pollard RE. Bronchomalacia in Dogs with Myxomatous Mitral Valve Disease. *J Vet Intern Med.* 2012; 26: 312–319.
12. Marin LM, Brown J, McBrien C, Baumwart R, Samii VF, Couto CG. Vertebral heart size in retired racing Greyhounds. *Vet Radiol Ultrasound.* 2007; 48: 332–334.
13. Bodh D, Hoque M, Saxena AC, Gugjoo MS, Bist D, Chaudhary JK. Vertebral scale system to measure heart size in thoracic radiographs of Indian Spitz, Labrador retriever and Mongrel dogs. *Vet World.* 2016; 9(4): 371–376.
14. Thrall DE. *Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology.* St. Louis: Saunders; 2013.
15. Yaphé W, Giovengo S, Moise NS. Severe cardiomegaly secondary to anemia in a kitten. *J Am Vet Med Assoc.* 1993; 202(6): 961-4.
16. Constable PD, Hinchcliff KW, Olson J, Hamlin RL. Athletic heart syndrome in dogs competing in a long-distance sled race. *J Appl Physiol.* 1985; 76(1):433-8.
17. Johnson LR, Michael RL, Dale CB. Pulmonary thromboembolism in 29 dogs: 1985–1995. *JVIM.* 1999; 13 (4): 338-345.
18. Elliott CG, Goldhaber SZ, Visani L, DeRosa M. Chest radiographs in acute pulmonary embolism. Results from the International Cooperative Pulmonary Embolism Registry. *Chest.* 2000; 118(1): 33-8.
19. Corcoran BM, Cobb M, Martin MW, Dukes-McEwan J, French A, Fuentes VL, Boswood A, Rhind S. Chronic pulmonary disease in West Highland white terriers. *Vet Rec.* 1999; 144(22):611-6.
20. Stoneham AE, Graham J, Rozanski EA, Rush JE. Pregnancy-associated congestive heart failure in a cat. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2006; 42(6): 457-61.
21. Boswood A. www.cliniciansbrief.com/sites/default/files/sites/cliniciansbrief.com/files/DiagnosticManagementTree.pdf; Erişim tarihi: 21.05.2017

MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ
YAYIN BAŞVURU VE YAZIM KURALLARI

YAYIN POLİTİKASI

Dergimiz Ulakbim DergiPark

tarafından taranan; Veteriner Hekimliği, Sağlık Bilimleri, Zootekni ve Biyoloji alanlarındaki bilimsel içerikli özgün araştırma makaleleri, olgu sunumu, kısa bilimsel çalışma, derleme, editöre mektup türünden yayınları kabul etmektedir. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne DergiPark Akademik sistemi üzerinden gelen yayınlar, editör incelemesine tabi tutulur. Editör; yayının bilimsel nitelik, özgünlük, dergi yazım kurallarına uygunluğu kriterlerini göz önünde bulundurarak ön değerlendirmeye tabi tutar. Ön değerlendirme sürecinde “dergi içeriği arama motoru” kullanılarak daha önce yayınlanmış makalelere atıf yapılan çalışmalar önceliklidir. Ön değerlendirmesi yapılan bilimsel çalışmalar hakkında eser sahibine bilgi verilir. Editör değerlendirmesi sonucu yayınlanabilir nitelikte olduğuna karar verilen çalışmalar dergi sekreteryası aracılığıyla ilgili en az iki, en fazla üç adet hakeme gönderilir. Hakemler yayın değerlendirme teklifini kabul edip etmediklerini 15 gün içerisinde bildirmek zorundadırlar. Bu süre içinde yanıt vermedikleri takdirde yayın kurulu tarafından yeni bir hakem atanır. Hakemler kendilerine gönderilen yayınlara yaptıkları değerlendirmeleri ve değerlendirme sonucunda “yayınlanabilir, düzeltmelerden sonra yayınlanabilir, yayınlanması uygun değildir” kararlarından birini gerekçeleriyle birlikte Dosya Ekle/Gönder ikonuna tıklayarak dergi yayın kuruluna en fazla 1 ay içerisinde bildirmek zorundadırlar.

Hakem değerlendirmesinden olumlu sonuç alınamayan çalışmalar hususunda son karar editöre ait olup, eser hakkındaki son karar yazara bildirilir. Yayınlanmasına karar verilen eserler geliş tarihine göre sıralamaya tabi tutularak hangi sayıda yayınlanacağı belirtilmek kaydıyla yayına kabul edilir. Yayına kabul edilen eserlerin basım öncesi son hali, pdf formatında yazara gönderilerek onay alınır.

Dergimiz TÜBİTAK, DergiPark sistemi ve Google Akademik tarafından taranmaktadır.

YAZIM KURALLARI

Amaç ve kapsam

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 6 ayda bir ve yılda 2 sayı olarak yayımlanan, tüm ulusal veteriner hekimliği kurumları ve kişilerine elektronik ortamda ücretsiz olarak ulaşmayı hedefleyen, bilimsel ve hakemli bir dergidir. Kısaltılmış adı “MAEÜ Vet. Fak. Derg.” dir. Derginin yayım dili Türkçe ve İngilizce'dir. Derginin amacı; veteriner hekimlik ve hayvancılıkla ilgili olarak Temel Bilimler, Klinik Öncesi Bilimler, Klinik Bilimler, Zootekni ve Hayvan Besleme ile Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bilimlerini kapsayacak şekilde yapılan tüm çalışmaları yayımlamaktır. Bu dergide yer alan makaleler, bağımsız hakemlik (“peer-review”) ilkeleri doğrultusunda bir yayın kurulu tarafından değerlendirilir. Yayın kurulu, yayım kurallarına uymayan makaleleri yayımlamamak, düzeltmek üzere yazarına geri göndermek ve biçim olarak yeniden düzenlemek yetkisine sahiptir. Gönderilen makaleler, en az 2 hakem tarafından değerlendirildikten sonra Yayın kurulu kararıyla yayımlanır. Fiziki ortamda basılmış halinden Türkiye'deki Veteriner Fakülteleri Dekanlıklarına birer adet gönderilir. Yayım ücreti bulunmamaktadır. Dergiye gönderilen makalelere telif hakkı ödenmez ve yazar makalenin tüm yayım haklarının Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne ait olduğunu kabul eder. Yayınlanan makalelerin bilimsel ve hukuksal sorumluluğu yazarlara aittir.

Bilimsel sorumluluk

Makalelerin tüm bilimsel sorumluluğu yazarlara aittir. Gönderilen makalede belirtilen yazarların çalışmaya belirli bir oranda katkısının olması gereklidir. Yazarların isim sıralaması ortak verilen bir karar olmalıdır. Sorumlu yazar, yazar sıralamasını “Yazar Sorumluluk ve Yayım Hakkı Devir Formu’nu” doldurarak tüm yazarlar adına kabul etmiş sayılır. Yazarların tümünün ismi makale başlığının altındaki bölümde yer almalıdır.

Etik sorumluluk

Makalelerin etik kurallara uygunluğu yazarların sorumluluğundadır. Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda, çalışma protokolünün çalışmanın yapıldığı kurumdaki hayvan deneyleri etik kurulu tarafından onaylandığı belirtilmelidir. Yazarlar etik kurul onayını makale ile birlikte göndermelidir. Eğer makalede daha önce yayımlanmış alıntı yazı, tablo, resim vs. var ise yazarlar; yayım hakkı sahibi ve yazarlarından yazılı izin alarak bu durumu makalede belirtmek zorundadır. Makalenin değerlendirilmesi aşamasında yayın kurulunun gerek görmesi halinde, makale ile ilgili araştırma verilerinin ve/veya etik kurul onayı belgesinin sunulması yazarlardan talep edilebilir.

Makale türleri

Dergide yukarıda bildirilen amaçlara uygun olarak özgün araştırma makalesi, olgu sunumu, derleme, kısa bildiri ve editöre mektup türünde makaleler yayımlanır.

Özgün araştırma makaleleri: Yeterli bilimsel inceleme, gözlem ve deneylere dayanarak bir sonuca ulaşan özgün çalışmalardır.

Olgu sunumları: Uygulama, klinik veya laboratuvar alanlarında ender olarak rastlanılan olguların sunulduğu makalelerdir.

Derlemeler: Güncel ve önemli bir konuda, yazarın kendi görüş ve araştırmalarından elde ettiği bulguların da değerlendirildiği özgün yazılardır.

Kısa bildiri: Konu ile ilgili yeni bilgi ve bulguların bildirildiği fakat orjinal araştırma olarak sunulamayacak kadar kısa olan yazılardır.

Editöre mektup: Bilimsel veya pratik yararı olan bir konunun veya ilginç bir olgunun resimli ve kısa sunumudur.

Metin kısmı, figür, çizelge ve tablolar dâhil olmak üzere özgün araştırma makalesi ve derleme 15, olgu sunumu 8, kısa bildiri 6 ve editöre mektup 2 sayfayı geçmeyecek şekilde hazırlanmalıdır.

Makalelerin hazırlanma kuralları

Yayımlanmak üzere gönderilen makalelerin daha önce basılı-elektronik formatta yayımlanmamış olması, yayımlanma amacıyla gönderildiği sırada bir başka dergide veya elektronik ortamda yayımlanmaya yönelik değerlendirme aşamasında bulunmaması ve tarafımızdan kabul edildiğinde benzer bir formda herhangi bir dilde yayımlanmamış olması gerekmektedir. Kongre, sempozyum veya elektronik ortamda sunulmuş bildirimler veya ön çalışmalar, bu durumun belirtilmesi koşuluyla yayımlanabilir. Yayım için gönderilmiş makalelerini, gecikme ya da herhangi bir nedenle dergiden çekmek isteyen yazarların, durumu bildiren bir yazı ile başvurmaları gerekmektedir.

Tüm makaleler, ‘Microsoft Word’ yazılım programı ile ‘Times New Roman’ yazı karakteri kullanılarak, 12 punto, 1.5 satır aralığı, sayfa kenarlarında 2.5 cm boşluklu, A4 kâğıt boyutunda (210 x 297 mm), tek sütun halinde ve iki yana yaslanmış olarak yazılmalıdır. Her sayfaya satır numarası eklenmelidir. Sayfa numarası, ilk sayfaya numara verilmeden, ikinci sayfadan sayfa numarası 2’den başlayarak her sayfaya üst ortada hizada olacak şekilde verilmelidir.

Makaleyi oluşturan bölümler:

a. Başlık sayfası: Gönderilen makalenin kategorisini, başlığını (Türkçe-İngilizce ve büyük harfle), yazarların adlarını (sadece baş harfleri büyük yazılır), çalıştıkları kurumları (rakamla dipnot olarak belirtilmeli), yazışmaların yapılacağı sorumlu yazarın adı, açık adresi, telefon ve faks numaraları ile e-posta adresini içermelidir. Sorumlu yazar yıldız (*) ile belirtilir. Makale daha önce bilimsel bir toplantıda sunulmuş ise toplantının adı, tarihi ve yeri belirtilerek yazılmalıdır.

b. Özet ve anahtar sözcükler: Türkçe özgün araştırma makalesi, derleme ve olgu sunumları İngilizce özet; İngilizce özgün araştırma makalesi, derleme ve olgu sunumları da Türkçe özet içermelidir. Özet, 250 kelimeyi aşmamalı ve tek paragraf halinde yazılmalıdır. Kısa bildirimlerde özet 100 kelimeyi aşmamalıdır. Türkçe ve İngilizce özetler; amaç, gereç ve yöntem(ler), bulgular ve sonuç(lar) hakkında kısa bilgiler içermelidir. Özetle kısaltma kullanılmamalıdır. Özetlerin altına en fazla 7 kelimelelik “anahtar kelimeler” (İngilizce özet için “keywords”) eklenmelidir.

c. Metin: Özgün araştırma makaleleri ve kısa bildirimler giriş, gereç ve yöntem, tartışma ile sonuçları içerecek şekilde dört ana başlık altında düzenlenmelidir. Giriş kısmında makalenin konusu ile doğrudan ilgili bilgiler yazılmalı ve araştırmanın amacı belirtilmelidir. Gereç ve yöntem mümkün olduğunca detaylı yazılmalıdır ve birden çok yöntem kullanılmışsa alt bölümlere ayrılmalıdır. Ancak klasikleşmiş ve sık kullanılan yöntemlerin detaylı açıklanmasına gerek yoktur. Eğer bir marka belirtiliyorsa üretici firmanın adı ve adresi (şehir, ülke) verilmelidir. Bulgular; metin, tablo, grafik ve figür olarak sunulabilir. Tartışma yeterli ve doğrudan ilgili kaynaklarla yazılmalıdır. Sonuç kısmında araştırmanın sonuçları ile temel önerileri bulgular tekrar edilmeden verilmelidir. Kısaltmalar; metinde, tablo, figür ve grafiklerde ilk geçtiği yerde açıklanmalıdır. Derlemelerde; giriş, metin ve sonuç başlıkları bulunmalıdır. Olgu sunumlarında; giriş, olgu/olgular ve tartışma bölümleri yer almalıdır. Makalenin sonunda kaynaklardan önce varsa araştırmaya veya makalenin hazırlanmasına katkıda bulunanlara “teşekkür metni” eklenebilir. Teşekkür metni; kişisel, teknik ve materyal yardımı için kullanılacak ifadeleri içermelidir. Eğer finansal destek, bağış ve diğer bütün editoryel (istatistiksel analiz, İngilizce/Türkçe değerlendirme) ve/veya teknik yardım varsa, metnin sonunda sunulmalıdır.

d. Kaynaklar: Kaynaklar “International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE)” tarafından geliştirilen “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals” kurallarına göre düzenlenmelidir. Bu çerçevede sıklıkla kullanılan kaynaklar için aşağıda örnekler verilmiştir. Burada belirtilmeyen diğer kaynak biçimleri için ilgili web sitesi “http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html” rehber olarak kullanılmalıdır. Her kaynak metinde kullanım sırasına göre ayrı ayrı numaralandırılmalı ve numaralar metinde cümlelerin sonunda, parantez içinde belirtilmelidir. Kaynakların doğruluğundan yazar(lar) sorumludur. Dergi isimleri Index Medicus’a uygun olarak kısaltılmış biçimde verilir. Dergi isimlerinin kısaltmaları için Index Medicus’da dizinlenen dergiler listesine veya “<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>” adresine bakınız. Index’e girmeyen dergi isimlerinde kısaltma yapılmaz. Sadece yayımlanmış veya yayımlanmak üzere (basıkıda) olan makaleler kaynaklarda gösterilebilir. Makale kaynakları verilirken eğer varsa kaynaklara ait DOI ve PMID numaralarının da kaynağın sonuna eklenmesi gerekmektedir. Dergiye gönderilen makalelerin, araştırma makalesi 35 kaynak; derleme 45; kısa bildirimler 15 kaynak ve olgu sunumları için 10 kaynağı geçmemesine özen gösterilmelidir.

Örnek kaynak yazımları:

Dergiler: Hokugo A, Christensen R, Chung EM, Sung EC, Felsenfeld AL, Sayre JW, Garrett N, Adams JS, Nishimura I. Increased prevalence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with vitamin D deficiency in rats. J Bone Miner Res. 2010; 25: 1337-49. DOI: 10.1002/jbmr.23.

Kitaplar: Percy DH, Barthold SW. Pathology of laboratory rodents and rabbits. 3rd ed. p.14-15. Iowa: Blackwell Publishing; 2007.

Kitap bölümleri: Goldschmidt MH, Hendrick MJ. Tumors of the skin and soft tissues. In: Meuten DJ, editor(s). Tumors in Domestic Animals. 4th ed. p. 81-83. Iowa: Iowa State Press; 2002.

e. Şekil, resim, tablo ve grafikler: Şekil, resim, tablo ve grafiklerin metin içinde geçtiği yerler ilgili cümlelerin sonunda numaralandırılarak belirtilmelidir. Şekil, resim, tablo ve grafiklerin açıklamaları makale sonuna her biri ayrı sayfada olacak şekilde eklenmelidir. Tablo başlığı tablonun üstünde, tablo açıklamaları ve kısaltmalar ise altta yer almalıdır. Tablolar metin içindeki bilgileri tekrarlamaktan ziyade kendini açıklayıcı nitelikte olmalıdır. Şekil ve resimler metin içinde kullanım sıralarına göre numaralandırılmalı ve metinde parantez içinde gösterilmelidir. Resimler, JPEG olarak kaydedilmeli ve ayrı dosya olarak gönderilmeli, metin dosyasına eklenmemelidir. Elektronik fotoğraflar, radyograflar ve taranmış görüntülerin en az 300 dpi ve 1200x960 piksel çözünürlükte olmalıdır. Bütün resim ve şekiller için alt yazı yazılmalıdır. Alt yazılar kısa ve öz bir şekilde yazılmalı, kullanılan boya/yöntem ve orijinal büyütme belirtilmelidir. Şekillerde kullanılan semboller ve kısaltmalar tanımlanmalıdır. Grafikler metin içinde kullanım sıralarına göre numaralandırılmalı ve metinde parantez içinde gösterilmelidir. Açıklama ve alt yazı karakterleri resim ve şekillerdeki yazı karakterleri ile aynı olmalıdır.

Makale süreci

Makale başvurusu yalnızca online olarak “<http://dergipark.gov.tr/journal/779/dash-board>” adresi üzerinden kabul edilmektedir. Sorumlu yazar, makale ile birlikte göndereceği tüm dosyaları ve “Yazar Sorumluluk ve Yayım Hakkı Devir Formu’nu” yukarıdaki internet adresinde bulunan yeni makale gönder ikonunu tıklayarak sisteme ekleyebilir. İstenilen düzeltmeler 1 ay içinde tamamlanıp gönderilmediği takdirde makale otomatik olarak iptal edilecektir.

Dergimize makale başvurusunda bulunmayı düşünüyorsanız; ana sayfadaki Hakkımızda butonuna tıklayarak Dergi Yayın Politikası ve Yazım Kuralları’nı incelemenizi öneririz. Yazarlar dergiye gönderi yapmadan önce kayıt olmalıdır. Kaydı olduktan sonra, ana sayfadaki Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergi ikonuna tıklayarak; yazım kurallarına göre düzenlenmiş bilimsel çalışmayı dergi panelindeki Makale Gönder kısmından 3 basamaklı (başlarken, makale, önizleme&gönder) gönderi işlemini yapabilir. Gönderilen makalede ön değerlendirme aşaması sırasında yazar künnyeleri, çalışmanın yapıldığı kurum, etik kurul ya da özel izin adres bilgileri gibi tanıtıcı bilgiler içermemelidir. Ön değerlendirmeden (bilimsel nitelik, ön dil ve yazım kuralları kontrolü) geçen bilimsel çalışmaların hakem ataması yapılır. Sorumlu yazar makalenin hangi aşamada olduğunu sistem panelindeki Süreçteki Makaleler kısmından takip edebilir.

Atanan hakemlere, kör hakemlik kuralları çerçevesinde çalışmanın tam metni, şekil, tablo, grafik ve resimleri sistem üzerinden yüklenerek e-posta aracılığıyla makale değerlendirme talebi gönderilir. Hakemler e-posta aracılığıyla gönderilen linke tıklayarak talebi kabul ya da reddederler. Talebi kabul eden hakemler değerlendirmeleri süreçteki makaleler kısmından ilgili makale linkine tıklayarak açılan mesaj kutusunun sağ tarafındaki turuncu renkli Dosya Ekle/Gönder ikonuna tıklayarak yayınlara yaptıkları değerlendirmeleri ve değerlendirme sonucunda “yayınlanabilir, düzeltmelerden sonra yayınlanabilir, yayınlanması uygun değildir” kararlarından birini gerekçeleriyle birlikte en fazla 1 ay içerisinde yüklemek zorundadırlar. Ayrıca makale hakkında merak ettikleri veya anlayamadıkları konuları mesaj olarak iletebilirler.

Derginin gizlilik bildiriminde belirtildiği gibi, yazarların kimlik bilgileri ve e-posta adresleri hiç bir şekilde başka amaçlar için kullanılmayacaktır. Yazarlar bu dergide yayınlanan çalışmalarını, yayın öncesinde ve sonrasında, kişisel web sitelerinde veya kurumsal arşivlerde, bu dergiye kütüphanecilik kurallarına uygun şekilde referans vererek yayımlayabilirler. Makaleler PDF formatında ilgili sayıda DOI numarası ile birlikte yayınlanır. Bu dergi; bilimsel araştırmaları halka ücretsiz sunmanın bilginin küresel paylaşımını artıracığı ilkesini benimseyerek, içeriğine anında açık erişim sağlamaktadır.